



## ДИНАМИКА БИОСИНТЕЗА БЕЛКА РАЗЛИЧНЫМИ ШТАММАМИ ПОЧВЕННЫХ АКТИНОМИЦЕТОВ

З.Р. Ахмедова<sup>1</sup>

Б.Ф. Арипов<sup>2</sup>

З.Т.Хамраева<sup>3</sup>

И.Ш.Садыков<sup>4</sup>

И.Т.Гулямова<sup>5</sup>

Received 15<sup>th</sup> May 2021,

Accepted 26<sup>th</sup> May 2021,

Online 28<sup>th</sup> May 2021

Институт микробиологии Академии наук Республики Узбекистан,  
уш.А.Кадири-7 Б.  
Бухарский Государственный университет.  
Бухарский инженерно – технологический институт  
г. Бухара, Узбекистан.

**Abstract:** В статье рассматривается динамика биосинтеза антибиотических веществ белковой природы местными штаммами почвенных актиномицетов рода *Streptomyces*, выделенных из посевных площадей предназначенных для возделывания хлопчатника и пшеницы. Приводятся данные по подбору питательных сред различных вариаций, условий культивирования 6-ти штаммов почвенного актиномицета *Streptomyces* sp., динамика роста культур и процессы оптимизации в 4-вариантах питательных сред для максимального образования белка в культивируемой среде. Определены высокоактивные представители актиномицетов – продуценты белков.

**Keywords:** актиномицеты,, питательная среда, культивирование, динамика роста, развития, белки, ферменты, оптимизация.

### I. Аннотация

Экономическое развитие Узбекистана, как аграрной Республики во многом зависит от сельскохозяйственного производства, высоко урожайности посевных площадей на которых культивируются стратегически важные культуры, такие как хлопчатник, пшеница кукуруза, подсолнечник и др.,

Продукция культурных биоценозов, урожайность и качество сельхоз продукции напрямую связана с биологической активностью почвы, которая определяется численностью и качеством общей микрофлоры, суммарно включающей как полезную так и патогенную[1.2]. Продуктивность и её повышение на прямую связаны с высоким содержанием биосинтетически активных микроорганизмов, включающих ферменты, белки, низкомолекулярные углеводы и др., продукты микробного синтеза. Среди них особое место отводится антибиотик синтезирующим микроорганизмам, которые подавляют рост и развитие почвенных

фитопатогенов, защищают растения от корневой гнили, гомоза, вертицелллёза, фузариоза и др., иногда и от действия насекомых вредителей [3.4]. Однако, не все почвенные микроорганизмы образуют антибиотические и другие физиологически активные вещества. Неактивные штаммы актиномицетов при соответствующих условиях способны в той или иной степени образовывать антибиотические вещества.[5,6]

Учитывая эту характерную черту актиномицетов исследователи овладели технологией приготовления препаратов, используемых в сельском хозяйстве, как непосредственных активаторов роста, развития и плодородия сельскохозяйственных растений [7,8,9].

Исходя из вышеизложенного, целью наших исследований явилось изучение способности некоторых штаммов актиномицетов, выделенных из почвы под хлопчатник и пшеницы к образованию белка на различных питательных средах.

## II. Материалы и методы исследований.

Для изучения способностей актиномицетов продуцировать белки были использованы культуры *Streptomyces* sp.:124, *Streptomyces* sp.:113, *Streptomyces* sp.:166, *Streptomyces* sp.:165, *Streptomyces* sp.:307 и *Streptomyces* sp.:115, выделенные их почв под хлопчатник в Берунийском районе Республики Каракалпакстан и под пшеницу Уйчинского района Наманганской области..

Культивирование проводили глубинным способом при температуре 28°-32°С в конических колбах Эрленмейра объемом 1 л содержащей 300 мл питательной среды различного состава, при рН 7,0-7,5 на круговых качалках, со скоростью вращения 240 об/мин. в течение 72-240 часов в зависимости от появления максимального количества белка. С целью оптимизации питательной среды для роста, развития, образования белка, использовали среды следующих составов:.

1. Пептоновая среда – пептон – 1,0 %, глюкоза – 0,2 %,  $\text{NaNO}_3$  – 0,3 %,  $\text{MgSO}_4$  – 0,05%,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  – 0,1%,  $\text{KCl}$  – 0,05%,  $\text{FeSO}_4$  – следы;
2. Органическая среда – глюкоза 1,0 %, пептон 1,0 %, гидролизованный казеин – 0,2 %, дрожжевой экстракт – 0,2 %,  $\text{NaCl}$  – 0,6 %;
3. Крахмал-аммиачная среда – растительный крахмал – 1,0%,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  – 0,1 %,  $\text{MgSO}_4$  – 0,1 %,  $\text{NaCl}$  – 0,1 %,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  – 0,2 %, остальное водопроводная вода;
4. Мучная среда – мука – 2,0 %, послеспиртовая барда – 10%,  $\text{CaCO}_3$  – 0,1 %, остальное водопроводная вода.

Для инокуляции на простерилизованные питательные среды использовали культуры, хранящиеся в коллекции культур в пробирках со средой скошено магаре

Аликвоты из среды с растущей культурой отбирали через каждые 6- часов.

рН-культуральной среды определяли потенциометрическим методом. .

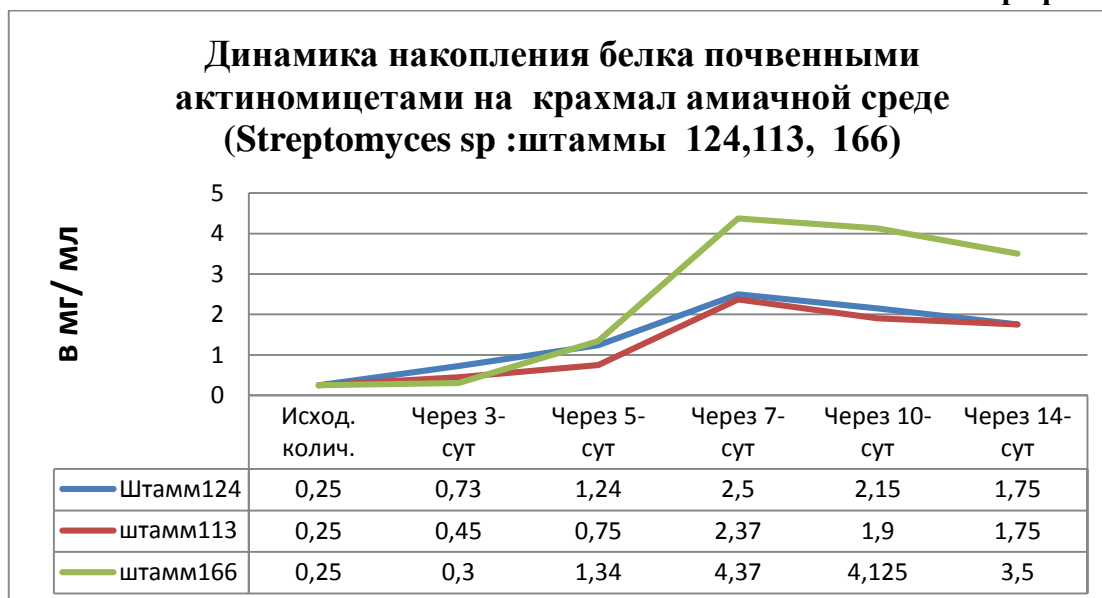
Количество белка на фильтрате культуральной жидкости (КЖ) определяли по методу Лоури[10].

## III. Результаты исследований и их обсуждение

Изучение зависимости роста и образование белка актиномицетами от питательной среды показали, что испытываемые 6- штаммов культур отличаются между собой как по росту, так и по накоплению белка в используемых 4-х питательных средах. Так например, при

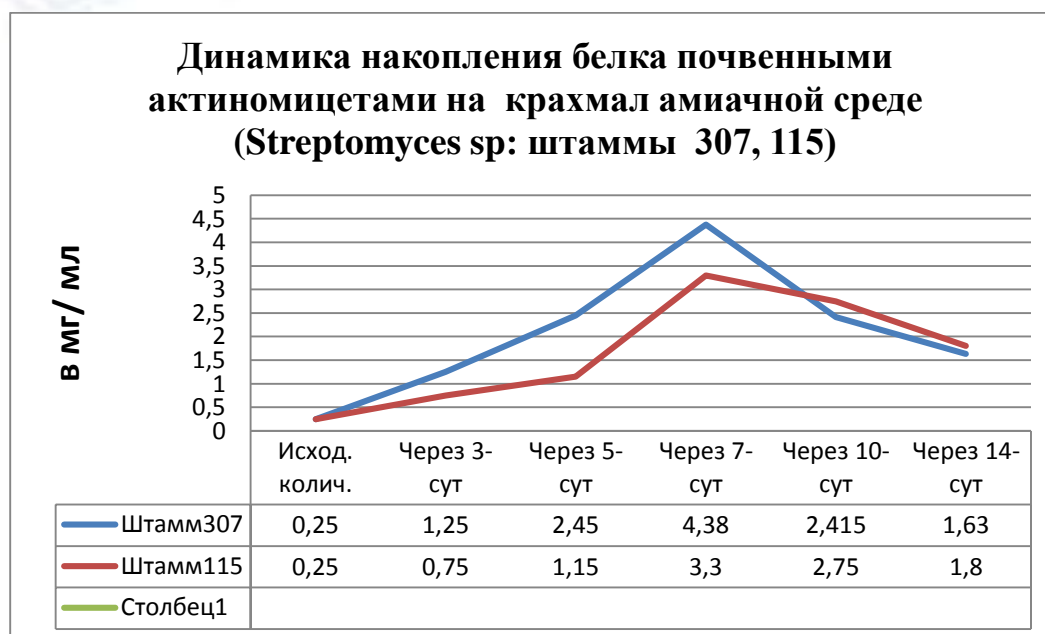
наблюдении накопления белка в испытуемых средах обнаружили высокие результаты на крахмал –амиачной, затем на мучной среде. Изучение динамики накопления белка в зависимости от времени показали, что к 72 часам роста почти все штаммы актиномицетов рода *Streptomyces*, по сравнению к исходному варианту образовали такое количества белка, который превышал количество исходного уровня среды в 2-5 раз (График -1).

График - 1



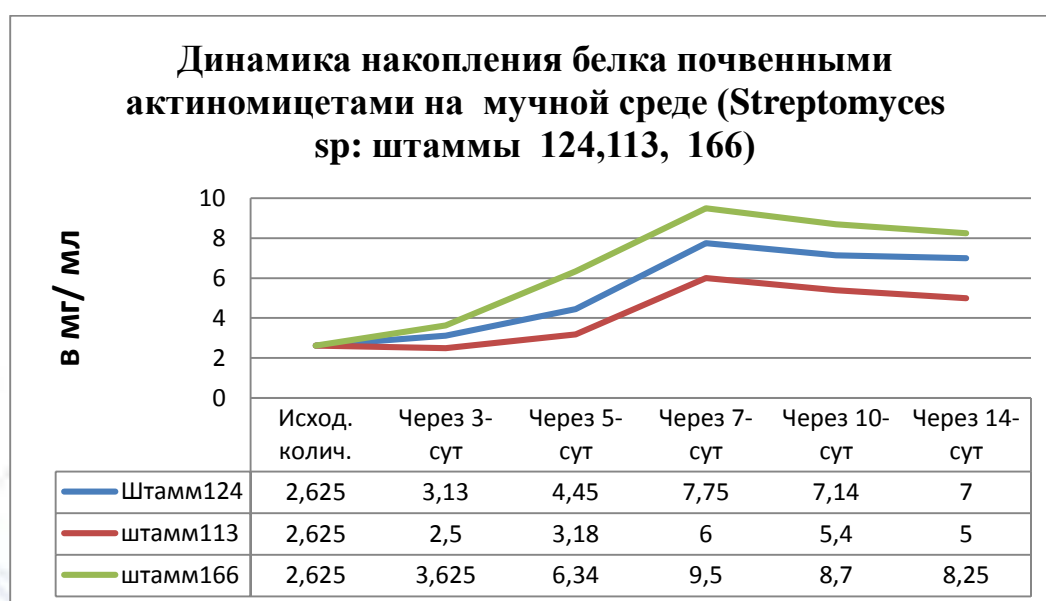
Штамм *Streptomyces* sp 165 в мучной среде повысил содержание белка в 5 сутки на 300% по сравнению с исходным уровнем и составлял 10,8 мг/мл. Однако, на протяжении 14 суток роста этот показатель постепенно снижался, хотя превышал исходный уровень белка на 200%. (График - 2)

График - 2



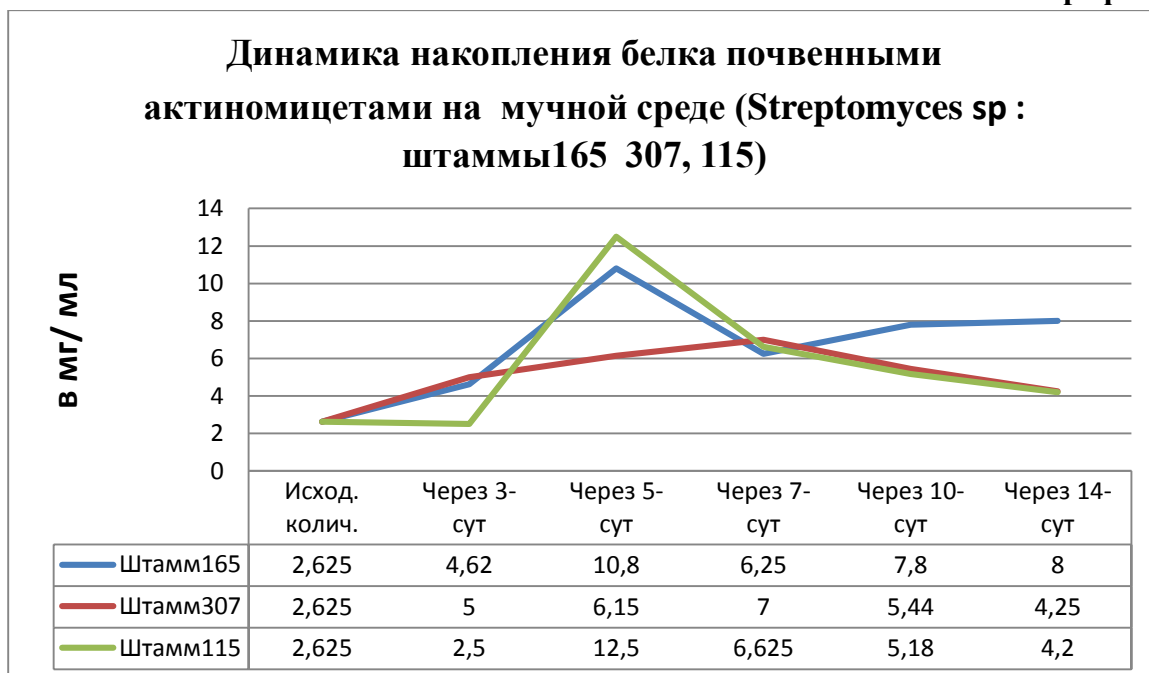
Активность по накоплению белка в мучной среде культурой *Streptomyces* sp 115 достигал максимума на 5 сутки культивирования, образуя белок в количестве 12,5 мг/мл среде, что превысило исходный показатель в 4 раза (График-3). Дальнейшие наблюдения за динамикой роста и образованием белка данной культурой показало, что на 14 сутки содержание белка в КЖ составлял 4,2 мг/мл, но, превышал исходный уровень белка всего только на 59%. Активность биосинтеза белка этого же штамма в крахмал- аммиачной среде (по сравнению к исходному, где исходное содержание белка было 0,25 мг/мл) на 7 сутки составлял 3,3 мг/мл, т.е. увеличился в 13 раз (Графики-1 и 2).

График – 3.



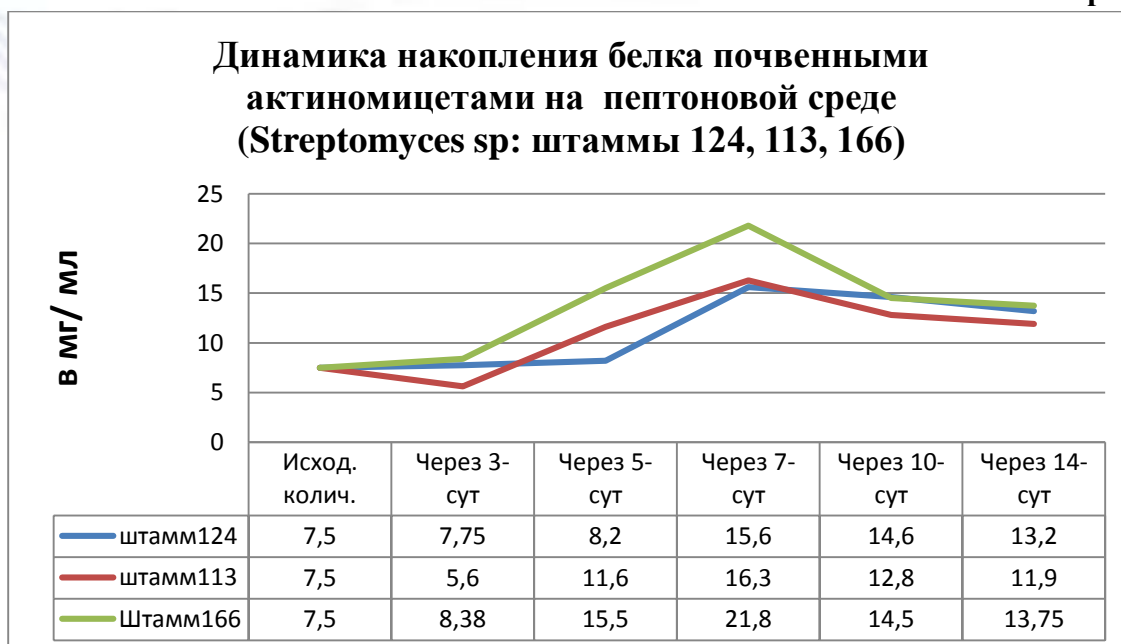
Следует отметить, что максимальный уровень синтеза белка штаммом *Streptomyces* sp.:307 на крахмально – аммиачной среде через 168 часов роста (7 сутки) от начала культивирования, увеличился в 17 раз в сравнении с исходным показателем (Графики -1, 2, 3 и 4). Показатели синтеза белка актиномицетами штаммов *Streptomyces* sp. 124, 113, 307 и 115 на крахмально - аммиачной среде на 14 сутки идут на спад, но все же с исходным уровнем оказываются выше в 7 раз. Закономерности спада синтеза белка у актиномицета *Streptomyces* sp.:166 в этой же среде на 14 сутки не наблюдается и составляет 3.5мг/мл по отношению к исходному уровню - 0,25 мг/мл. У штаммов *Streptomyces* sp.:124, 166 и 165, культивируемых на мучной среде, к окончанию сроков культивирования (14 сутки) синтез белка всё же остаётся высоким, равным в среднем – 7,75 мг/мл. (Графики-3 и 4).

График – 4.



Накопление белка актиномицетами в пептоновой и органической средах к 72 часам наблюдался незначительный подъем в количестве 0,05-2,5 мг/мл у штаммов 124 и 166, а понижение в штаммах *Streptomyces* sp 113 и 165 от 7,5 мг/мл до 4,75-5,625 мг/мл (Графики-5, 6, 7, 8).

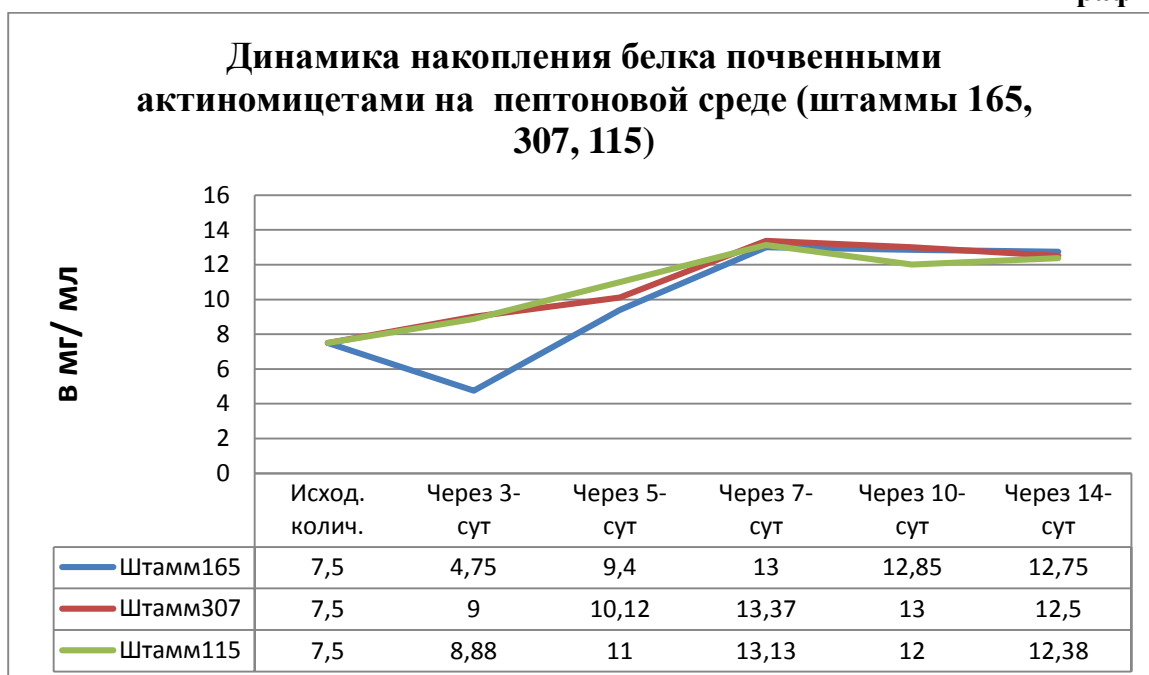
График 5.



На 5 сутки культивирования *Streptomyces* sp штамм 166 на пептоновой среде увеличивает синтез белка в 2 раза по сравнению с исходным уровнем. Максимальное

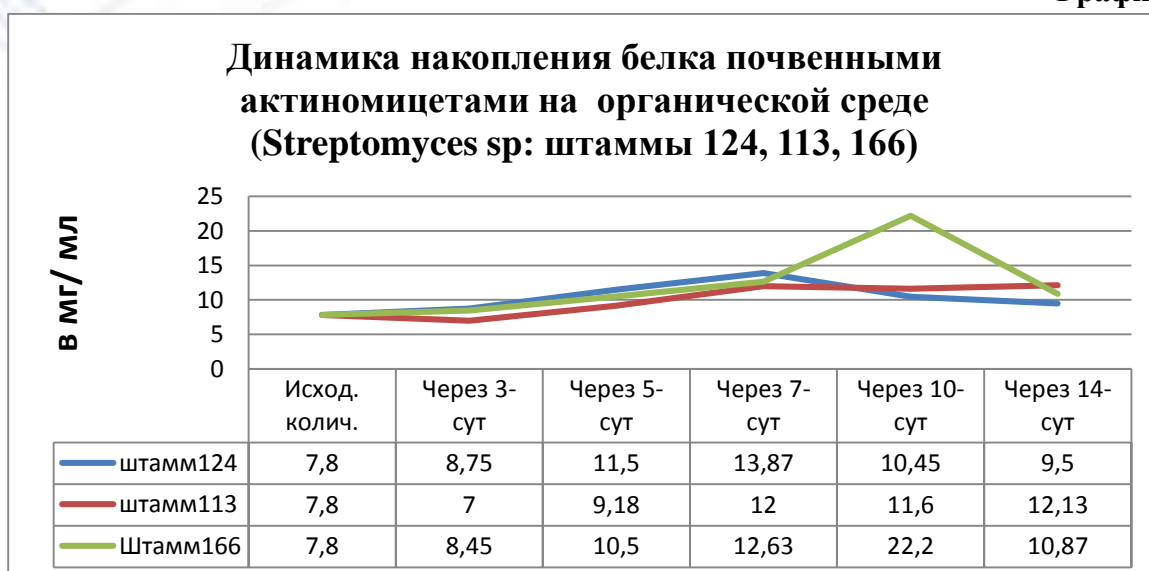
количество белка синтезируемого актиномицетами на пептоновой среде отмечается на 7 сутки (168 дней).

График -6.



Концентрация белка в пептоновой среде штамма 165 на 3 суток падает на 37%, однако через 5 суток наблюдений возрастает по сравнению с исходным уровнем на 25%. Эта тенденция роста синтеза белка штаммом 165 продолжается до 7 суток, но последующие измерения показывают незначительное снижение биосинтеза.

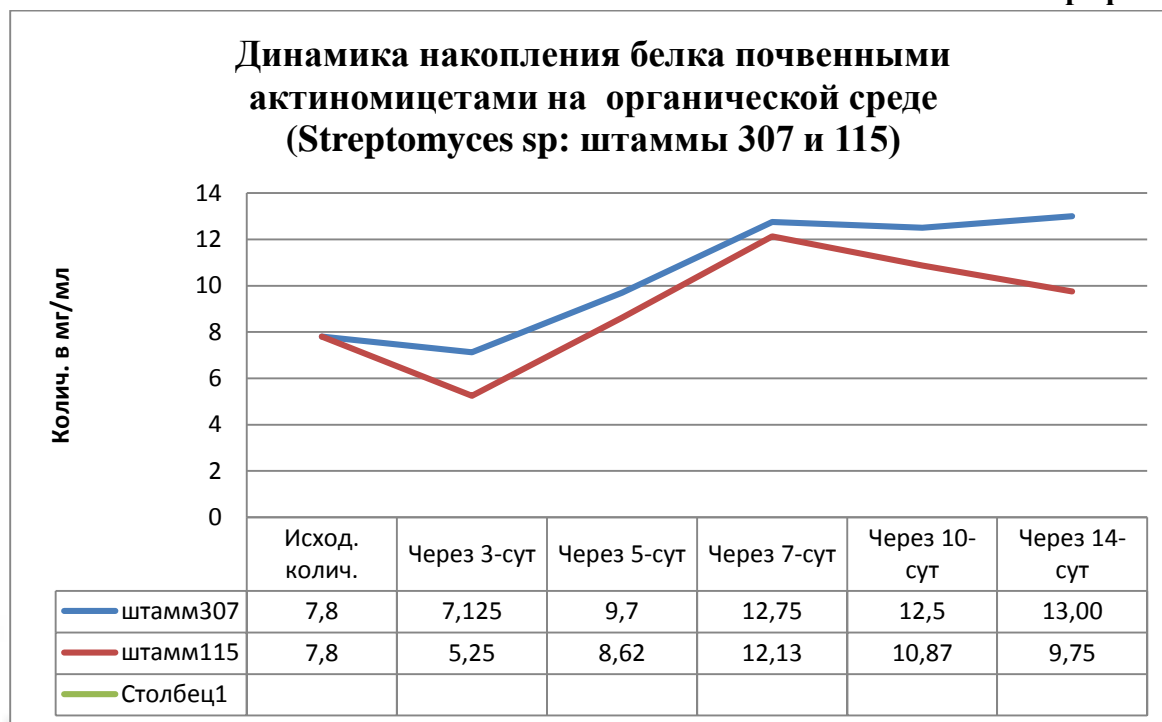
График - 7



Штамм *Streptomyces* sp 166 продуцирует 21,75 мг/мл белка, что составляет увеличение на 200% биосинтеза. На 10 сутки идет снижение накопления белка, но всё же на 14 сутки уровень синтеза превышает исходный на 70%. На органической среде синтез белка штаммом 307

достигает максимума (13мг/мл) на 14 сутки культивирования (График- 8). Внимание привлекает штамм 115 для которого характерно начальное снижение (3сутки), а затем постепенное (за 4сутки) повышение продукции белка в органической среде культивирования.

График – 8.



Таким образом, различная интенсивность биосинтеза белков различными штаммами актиномицетов рода *Streptomyces* sp на средах с крахмалом или глюкозой может объясняться не ролью углеводов в биосинтезе, а общим неспецифическим влиянием промежуточных углеводов на рост и развитие культур, оказывающий индуцирующее влияние на биосинтез белка в течение пролонгированной времени.

Следует особо отметить, что при использовании микроорганизмов, в частности и актиномицетов в промышленных целях, прежде всего необходимо обратить внимание на подбор компонентов питательных сред для их культивирования. Поэтому, нами было обращено внимание на экономические показатели состава, ибо в производственных условиях выпуска продукции использование питательных сред с дорогими компонентами неэффективно, более того использование актиномицетов в сельскохозяйственных целях из-за требуемого большого объема нецелесообразно дорогой состав культивируемой среды.

### Заключение

Поэтому, исходя из того, что наблюдения динамики накопления белка и расхода (потребления) общих углеводов динамике роста актиномицетов следует сделать вывод о целесообразности использования мучную среду с низкими концентрациями минеральных солей..



Также, проведенные исследования показали, что многотоннажный отход бродильного производства Республики - после спиртовая зерновая барда может служить основным компонентом питательной среды в подобранных нами концентрациях благодаря ценным составом, которые могут служить источником углерода, азота и минеральных веществ.

Из исследуемых 6-ти штаммов актиномицета, относящиеся к роду *Streptomyces* самым активным ростом и белоксинтезирующей способностью отличался *Streptomyces* штамм165 и штамм166, которые далее могут служить потенциальными источниками получения ценных белков микробного синтеза в кратчайшие сроки роста.

#### Список используемой литературы.

1. Калакуцкий Л.В., Шарая Л.С. Актиномицеты и высшие растения. Успехи микробиол. 1990, вып. 2, с. 26-65.
2. Красильников И.А. Микробы – антагонисты и антибиотические вещества в растениеводстве. Изд-во АН СССР, 1953, 2.
3. Налбандян А.Д. Применение эпифитов-антагонистов для борьбы с фузариозом пшеницы. В кн. Применение антибиотиков в растениеводстве., Ереван, 1961.
4. Barher D.A., Zynch L.M. Microbiol. Growth in the Rhizohjspore, Soil.And. Biochem. 1977. V.9. 5.P.305.
5. Звенигородский В.И., Кузин А.И., Шагов Е.М. и др. Микробы-антогонисты (стрептомицеты и бациллы) выделение из почв водных типов. Ж. Почвоведение, 2004. 7, с. 80-83.
6. Гаузе Г.Ф., Преображенская Т.Т., Свешникова М.А., Терехова А.П., Максимова Т.С. Определитель актиномицетов. – М.: Издательство Наука, 1989.
7. Глемжа А.А., Людьюс Л.Л., Петрова Л.И. “Микробные ферменты в народном хозяйстве”. Вильнюс, 1985.
8. Прокофьев А.Х., Расулев С. Использование физиологически активных веществ для регулирования плодоношения хлопчатника. Физиология растений, 1977, Т.24, вып. 4, 732-737 с.
9. Муромцев Г.С., Бутенко Р.Г., Тихоненко Т.Н., Прокофьев М.И. Основы сельскохозяйственной биотехнологии. 1 М., 1990.с. 384.
10. Lowry O.H., Rosenbrough N.J., Farr,etal. *J. Biol. Chem.*, V.193, 265-275 (1951)