

NEWS

OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

SERIES OF BIOLOGICAL AND MEDICAL

ISSN 2224-5308

Volume 3, Number 321 (2017), 146 – 149

A. A. Abubakirova, R. P. Kurbanova, K. U. Sultangaliyeva, A. A. Ospanova, Zh. N. Baimirzayeva

M. Auezov South Kazakhstan state university, Shymkent, Kazakhstan.
E-mail: azhar.baikal79@mail.ru, swallow0101@mail.ru, aika_7788@mail.ru

STUDYING THE IMMOBILIZED PREPARATION TERM TO COMBAT MOSQUITO LARVAE

Abstract. Immobilization of microorganisms was carried out with the help of a special injector system. The pre-prepared immobilization solution was forced through peristaltic pump through capillary at rate of 500 ml/h, and flow of air was fed into the coaxial tube with velocity of $2 \cdot 10 \sim 3 \text{ m}^3/\text{Mi}$. The air stream tore off the liquid phase droplets from the capillary cutoff. Drops flowed into 2% solution of calcium chloride, where they polymerized forming microgranules of calcium – alginate gel, with enclosed inside by microorganisms cells, 0.1-0.3 mm in size. The solution for immobilization was prepared as follows: pre-prepared alginate solution of the required concentration was mixed with deep-grown suspension of microorganism cells and buoyancy agent in ratio of 10: 1: 1. In experiments with the addition of substrate, pre-prepared substrate solution was additionally added to the pre-prepared sodium alginate solution immediately before immobilization. The larvicidal activity of *T. cylindrosporium* was studied in the immobilized state. For this purpose, the microorganism was immobilized in floating granules according to the procedure described in paragraph 3.2.1. As agents giving granules the property of positive buoyancy, the same substances were used at concentration of 10%. After immobilization, the larvicidal activity of the resulting granules was evaluated according to standard procedure. The concentration of granules was calculated proceeding from the assumption of 1 granule per 1 cm^2 of the surface of the container with larvae. Estimation of the larvicidal activity of the fungus *T. cylindrosporium* in the immobilized state was performed in comparison with the free cells of *T. cylindrosporium* grown in deep aerobic way to the middle of the exponential phase at concentration of 106 cfu/ml. The counting of live and dead larvae was carried out every day for 8 days and the death rate was calculated.

Keywords: immobilization, microorganisms, *T. cylindrosporium*, mosquito larvae, larvicidal activity.

УДК 573.6

А. А. Абубакирова, Р. П. Құрбанова, К. У. Султанғалиева, А. А. Оспанова, Ж. Н. Баймирзаева

М. Әуезов атындағы Оңтүстік Қазақстан мемлекеттік университеті, Шымкент, Қазақстан

МАСАЛАРДЫҢ ЛИЧИНКАЛАРМЕН КҮРЕСТЕ ИММОБИЛИЗАЦИЯЛАНҒАН ДӘРІЛІК ЗАТТАРДЫҢ МЕРЗІМІН ЗЕРТТЕУ

Аннотация. Микроорганизмдер иммобилизациясы арнайы инжектор жүйесін пайдалана отырып жүзеге асырылды. Иммобилизациялау үшін алдын ала дайындалған ерітінді әуе ағынын жылдамдығы $2 \cdot 10 \sim 3 \text{ м}^3/\text{Ми}$ коаксиалды түтікке жіберіліп, 500 мл/сағ жылдамдықпен капилляр арқылы перистальтикалық сорапты пайдалана отырып төмендетілді. Ауа ағымы сұйық фазасының тамшыларын капилляр қиығынан бөлді. Үзілген тамшылар кальций хлоридінің 2% ерітіндісіне түседі, ол жерде өлшемі 0,1-0,3 мм. микроағза жасушаларының ішіне бекітілген кальций альгинатты гель микрогранулаларын түзе отырып, оның полимеризациясы жүзеге асады. Иммобилизациялауға арналған ерітінді төмендегідей дайындалды: қажетті концентрациядағы альгинаттың алдын-ала дайындалған ерітіндісі 10:1:1 қатынаста микроағза жасушаларының тереңнен өсірілген суспензиясымен және гранулаларға балқығыштық беретін агентпен

араластырылды. Субстратты қосу бойынша тәжірибелерді жүргізуде алдын-ала дайындалған натрий альгинаты ерітіндісіне иммобилизациялаудан алдын дайындалған субстрат ерітіндісі қосылады. *T. Cylindrosporium* иммобилизацияланған жағдайдағы ларвицидтік белсенділігі зерттелді. Ол үшін 3.2.1. бөлімде сипатталған әдіспен микроағзалар жүзіп жүрген гранулаларға иммобилизацияланды. Гранулаларға оң жүргіштік қасиетімен жабдықтайтын агент ретінде сол заттар 10% концентрацияда қолданылды. Алынған гранулалардың ларвицидтік белсенділігі стандартты әдістеменен иммобилизациядан кейін бағаланды. Гранула концентрациясы 1 гранула дернәсілдер салынған ыдыс бетінің 1 см. 2 деп есептелінді. *T. Cylindrosporium* саңырауқұлағының иммобилизацияланған жағдайдағы ларвицидтік белсенділігі *T. Cylindrosporium* 106 КОЕ/мл концентрацияда экспоненциальды фазаның ортасына дейін аэробты әдіспен тереңнен егілген бос жасушаларымен салыстыру арқылы бағаланды. Тірі және өлі дернәсілдер тәулік сайын 8 күн бойы саналды және өлім пайызы есептелінді.

Түйін сөздер: иммобилизация, микроорғанизмдер, *T. cylindrosporium*, масалардың құрттары, ларвицидтік белсенділік.

Кіріспе. Мақалада маса дернәсілдерімен күресуге арналған иммобилизденген препараттарды ұзақ сақтау мерзімін зерттеу жүргізіледі. Кез-келген препаратты, әсіресе құрамында тірі ағзалары бар препараттарды сақтау ережесі ең маңызды мәселелердің бірі. Субстратпен бірге альгинатты гельге иммобилизденген микроағзалардың жасушалары грануланьң ішінде дами алады. Өз кезегінде, бұл жасушалардың лизиске (еруіне) ұшырауына және микроағзалардың субстратты тұтынуы мен өсуінің нәтижесінде бөлінетін метоболизм өнімдерінің есебінен белсенділіктерін жоғалтуына әкеп соғады.

Жасушаларда метоболиттік процесстерді төмендету үшін қанттар мен спирттердің жоғары концентрациялы ерітінділері қолданылатындығы белгілі. Мұндай жағдайларда жасушалар дамымады және тыныштық күйінде болады, ал консервациялаушы ерітінділердің концентрациясын төмендеткен жағдайда, оларды сұйылтқан жағдайда жасушалардағы метоболиттік процесстер қайта қалпына келеді. Жасушалар тынышқыт күйде болатын және метоболиттік процесстері төмендейтін консервілеуші ерітінділердің концентрациясы әр микроағзалар үшін түрліше болады. Сонымен қатар, бір агенттің әсерінен, тіпті өте жоғары концентрациясында да барлық микроағзалар өздерінің белсенділіктерін төмендете бермейді.

Препараттың сақталу мерзімін анықтау бойынша жүргізілген тәжірибелерде консервілеуші агенттер ретінде глицерин мен лактоза ерітінділері зерттелді. Глицерин *T. viride* саңырауқұлағы мен *P. fluorescens* бактерияларының иммобилизденген жасушалары негізіндегі препаративті форманы консервілейтін агент ретінде қолданылды. Лактоза - жоғарыдағы мәліметтер бойынша, *T. cylindrosporium* саңырауқұлағымен метаболиздемейтіндіктен таңдалды.

Осылайша, ұзақ сақтау барысында микроағзалардың иммобилизденген жасушаларын тұрақтандырудың келесі нұсқалары зерттелді:

- иммобилизденген жасушалар физиологиялық ерітіндіде;
- иммобилизденген жасушалар физиологиялық ерітіндідегі глицериннің 15% ерітіндісінде;
- иммобилизденген жасушалар физиологиялық ерітіндідегі глицериннің 30% ерітіндісінде;
- иммобилизденген жасушалар физиологиялық ерітіндідегі лактозаның 15% ерітіндісінде;
- иммобилизденген жасушалар физиологиялық ерітіндідегі глицериннің 30% ерітіндісінде.

Зерттеу нысаны мен әдістері. Сақтау процесінде барлық нұсқалардың тұрақтылығын зерттеу екі нұсқада жүргізілді. Бірінші нұсқада - препаратты жоғарыда көрсетілген препараттарға салып, бір жылға сақтауға қояды. Бір жыл бойы белгілі бір уақыт аралығында одан үлгілер алынады және ол үлгілерден микроағзалардың концентрациясы анықталады. Жылдың соңында препараттың ларвицидті белсенділігі бағаланады.

Екінші нұсқада - «жеделдетілген сақтау» әдісі бойынша препаратты сақтау тәсілі зерттелінді. Бұл әдісте препаратты зерттелін отырған консервілеуші агенттердің ерітінділеріне саламыз, бірінен соң бірін қайталап төмен ($t=0^{\circ}\text{C}$) және жоғары ($t=30^{\circ}\text{C}$) температуралармен циклды әсер етеміз. Барлығы 30 цикл жүргізілді. Белгілі цикл жүргізгеннен кейін гранулалардың үлгілерін алады және олардан құрамындағы бактериялар мен саңырауқұлақ жасушаларының концентрациясын анықтадық. Соңғы циклдан кейін препараттың ларвицидті белсенділігі зерттелді.

Препараттарды сақтау бойынша жүргізілген тәжірибелердің нәтижелері 1 және 2-кестелерде көрсетілген.

1-кесте – «Жеделдетілген сақтау» әдісі бойынша жүргізілген зерттеулердің нәтижелері

Сақтау нұсқасы	Жасушалардың концентрациясы, КТБ/жасуш./мл							
	0-шы цикл		10-шы цикл		20-шы цикл		30-шы цикл	
	TC	Bti	TC	Bti	TC	Bti	TC	Bti
ИЖ физ. ер-де	3×10^8	6×10^9	5×10^8	7×10^9	3×10^8	4×10^9	8×10^8	3×10^9
ИЖ физ. ер-дегі 15% глицерин ер-де	8×10^8	7×10^9	4×10^8	4×10^9	3×10^8	8×10^9	1×10^8	3×10^9
ИЖ физ. ер-дегі 30% глицерин ер-де	4×10^8	3×10^9	3×10^8	1×10^9	1×10^8	8×10^9	8×10^8	7×10^9
ИЖ физ. ер-дегі 15% лактоза ер-де	5×10^8	4×10^9	3×10^8	3×10^9	1×10^8	2×10^9	7×10^8	7×10^9
ИЖ физ. ер-дегі 30% лактоза ер-де	7×10^8	8×10^9	4×10^8	2×10^9	2×10^8	1×10^9	8×10^8	8×10^9

1-кестеден көріп отырғанымыздай, «жеделдетілген сақтау» әдісімен препаратты сақтауды зерттеу барысында иммобилизденген жасушаларды консервантсыз физиологиялық ерітіндіге салады, 10 циклдан кейін жасушалардың концентрациясы едәуір төмендеген және арықарай да концентрациясының төмендеуі жалғасады, сынақтың соңына қарай олардың концентрациясы жүздеген есе төмендеген.

Иммобилизденген жасушаларды физиологиялық ерітіндідегі глицерин мен лактозаның 15 және 30% ерітінділерінде сақтағанда жасушалардың концентрациялары 30-шы циклдың соңында шамалы төмендеген.

Концентрлеуші агенттерге салынған үлгілерді зерттеудің 30-шы циклы аяқталғаннан кейін ларвицидті белсенділігін анықтау жұмысының нәтижесі препарат тиімділігінің қосқаннан кейінгі алғашқы күндерде 10% төмендегендігін көрсетті.

2-кесте – Бір жыл бойы бөлме температурасында сақтау барысында жүргізілген зерттеулердің нәтижелері

Сақтау нұсқасы	Жасушалардың концентрациясы, КТБ/жасуш./мл							
	0-шы ай		10-шы ай		20-шы ай		30-шы ай	
	TC	Bti	TC	Bti	TC	Bti	TC	Bti
ИЖ физ. ер-де	5×10^8	6×10^9	1×10^8	3×10^9	2×10^8	3×10^9	4×10^8	1×10^9
ИЖ физ. ер-дегі 15% глицерин ер-де	8×10^8	6×10^9	3×10^8	2×10^9	1×10^8	7×10^9	7×10^8	2×10^9
ИЖ физ. ер-дегі 30% глицерин ер-де	4×10^8	5×10^9	2×10^8	3×10^9	1×10^8	6×10^9	7×10^8	2×10^9
ИЖ физ. ер-дегі 15% лактоза ер-де	7×10^8	8×10^9	4×10^8	4×10^9	3×10^8	2×10^9	8×10^8	7×10^9
ИЖ физ. ер-дегі 30% лактоза ер-де	5×10^8	5×10^9	3×10^8	2×10^9	1×10^9	1×10^9	7×10^8	8×10^9

Бір жыл бөлме температурасында препараттың үлгілерін сақтаудың нәтижелері консервілейтін агенттер болмаған жағдайда жасушалардың концентрациясы жарты жылдан кейін бір ретке төмендейтіндігін, ал бір жылдан кейін бес ретке төмендейтіндігін көрсетті.

Зерттеу нәтижесі және оны талдау. Препаратты глицерин мен лактозаның ерітінділерінде сақтағанда бір жылда жасушалардың концентрациясы онша төмендемеген және бір реттен аспаған. Консерванттардың арасындағы айырмашылық келесіде: глицерин ерітіндісінде сақтағанда, тіпті 30% ерітіндіде сақтағанда да грануладан саңырауқұлақтың өсіп шыққаны байқалды, бұл гранулардың жабысып қалуына және тауарлық түрінің бұзылуына әкеп соғады. 15 және 30% лактозаның ерітінділерінде сақтағанда саңырауқұлақтың грануладан өсіп шығуы байқалмады және жабысып қалу эффекті де байқалмады.

Консервілеуші агенттердің ерітінділерінде сақталған препарат үлгілерінің ларвицидті белсенділігін тексерге, препараттың бір сақталғаннан кейін де жаңадан дайындалғандай өзінің тиімділігін сақтағандығын көрсетті.

Осылайша, тәжірибенің алынған мәліметтерінен бір жылдан аса препаратты сақтау үшін ең оптималды консервілеуші агент - лактоза 15% концентрациясы деген қорытынды жасауға болады.

ОДЕБИЕТ

- [1] Виноградова Е.Б. Городские комары, или «дети подземелья» / Е.Б. Виноградова. – М.: ООО «Галерея-Принт», 2005. – 96 с.
- [2] Тарасов В.В. Медицинская энтомология / В.В. Тарасов. – М.: Изд-во МГУ, 1996. – 352 с.
- [3] Роспотребнадзор: в 63% водоемов Москвы живут личинки малярийного комара [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://www.novopol.m/article22885.html/w^t39525.html>, свободный.
- [4] Бей-Биенко Г.Я. Общая энтомология / Г.Я. Бей-Биенко. – М., 1971. – 480 с. 6. Цуриков М.Н. Беспозвоночные: следует ли их бояться? [Электронный ресурс] / М.Н. Цуриков. – Режим доступа: <http://www.humane.evol.nw.ru/popbp6.html>, свободный.

REFERENCES

- [1] Vinogradova E.B. Gorodskie komary, ili «deti podzemel'ja» / E.B. Vinogradova. M.: ООО «Galereja-Print», 2005. 96 p.
- [2] Tarasov V.V. Medicinskaja jentomologija / V.V. Tarasov. M.: Izd-vo MGU, 1996. 352 p.
- [3] Rospotrebnadzor: v 63% vodoemov Moskvy #ivut li4inki maljarijnogo komara [Jelektronnyj resurs]. Re#im dostupa: <http://www.novopol.m/article22885.html/w^t39525.html>, svobodnyj.
- [4] Bej-Bienko G.Ja. Obschaja jentomologija / G.Ja. Bej-Bienko. M., 1971. 480 p. 6. Curikov M.N. Bespozvono4nye: sleduet li ih bojat'sja? [Jelektronnyj resurs] / M.N. Curikov. Re#im dostupa: <http://www.humane.evol.nw.ru/popbp6.html>, svobodnyj.

А. А. Абубакирова, Р. П. Курбанова, К. У. Султангадиева, А. А. Оспанова, Ж. Н. Баймирзаева

Южно-Казахстанский государственный университет им. М. Ауезова, Шымкент, Казахстан

ИЗУЧЕНИЕ СРОКА ИММОБИЛИЗОВАННОГО ПРЕПАРАТА ДЛЯ БОРЬБЫ С ЛИЧИНКАМИ КОМАРОВ

Аннотация. Иммобилизацию микроорганизмов проводили с помощью специальной инжекторной установки. Заранее приготовленный раствор для иммобилизации продавливали с помощью перистальтического насоса через капилляр со скоростью 500 мл/ч, а в коаксиальную с ним трубку подавали поток воздуха со скоростью $2 \cdot 10 \sim 3 \text{ м}^3/\text{ми}$. Поток воздуха срывал капли жидкой фазы с обреза капилляра. Отрывавшиеся капли попадали в 2%-й раствор хлорида кальция, где происходила их полимеризация с образованием микрогранул кальций - альгинатного геля, с заключенными внутри клетками микроорганизмов, размером 0,1-0,3 мм. Раствор для иммобилизации готовили следующим образом: заранее приготовленный раствор альгината необходимой концентрации смешивали с выращенной глубинно суспензией клеток микроорганизмов и агентом для придания гранулам плавучести в соотношении 10:1:1. При проведении экспериментов с добавлением субстрата в заранее подготовленный раствор альгината натрия непосредственно перед иммобилизацией дополнительно вносили предварительно подготовленный раствор субстрата. Была исследована ларвицидная активность *T. cylindrosporum* в иммобилизованном состоянии. Для этого проводили иммобилизацию микроорганизма в плавающие гранулы по описанной в пункте 3.2.1 методике. В качестве агентов, придающих гранулам свойство положительной плавучести, использовали те же вещества в концентрации 10%. После иммобилизации оценивали ларвицидную активность полученных гранул по стандартной методике. Концентрацию гранул рассчитывали исходя из предположения 1 гранула на 1 см^2 поверхности емкости с личинками. Оценку ларвицидной активности гриба *T. cylindrosporum* в иммобилизованном состоянии проводили в сравнении со свободными клетками *T. cylindrosporum*, выращенными глубинным аэробным способом до середины экспоненциальной фазы в концентрации 106 КОЕ/мл. Подсчет живых и мертвых личинок проводили каждые сутки в течение 8 дней и рассчитывали процент гибели.

Ключевые слова: иммобилизация, микроорганизмы, *T. cylindrosporum*, личинки комаров, ларвицидная активность.