

Технология получения вирусных энтомопатогенных препаратов

Вирусные энтомопатогенные препараты

обладают наиболее **высокой**
специфичностью по отношению к
насекомому-хозяину:

- поражают **только один вид**,
- они практически полностью безвредны для флоры, фауны и человека.

Вирусы отличает **высокая устойчивость** к неблагоприятным воздействиям окружающей среды (температуры, влажности), они способны **сохранять свою активность** в течение **10-15 лет**, находясь вне насекомого.

- **Заражение насекомого вирусом происходит при питании вредителя.**
- **Вирионы проникают через стенку кишечника в клетки, где в ядрах происходит репликация вирусов.**
- **Высвободившиеся вирусы заражают другие клетки, что приводит к гибели насекомого.**

В России осуществляется выпуск трех вирусных энтомопатогенных препаратов:

- вирин-ЭКС (против капустной совки),**
- ЭНШ (против непарного шелкопряда)**
- АББ (против американской белой бабочки).**

Производство вирусных препаратов начинают с разведения насекомого-хозяина на искусственных питательных средах, обеспечивающих их физиологически здоровое состояние.

Технология

- На определенной стадии развития (**обычно на стадии гусеницы**) насекомых заражают, добавляя вирусную суспензию к корму. При этом **инокулят** предварительно получают от нескольких больных личинок.
- После заражения **насекомых выдерживают** в условиях, обеспечивающих максимальное накопление вируса в тканях.
- Через **7-9** суток мертвые личинки подсушивают при температуре **33-35°C**, измельчают механическим способом.
- К полученной массе добавляют физиологический раствор или дистиллированную воду из расчета **1 см³** на гусеницу, взвесь полученных тканей фильтруют.
- Препараты изготавливают в виде **водных растворов, масляных растворов, сухих порошков, паст и т.**

- **К полученной массе добавляют физиологический раствор или дистиллированную воду из расчета 1 см³ на гусеницу, взвесь полученных тканей фильтруют.**
- **Препараты изготавливают в виде водных растворов, масляных растворов, сухих порошков, паст и т. п.**

- **Получение бактериальных удобрений для сельского хозяйства**

- Почвенные микроорганизмы в процессе роста улучшают структуру почвы, накапливают в ней питательные вещества, минерализуют различные органические соединения, превращая их в легко усвояемые растением компоненты питания.
- Бактериальные удобрения обогащают ризосферу растений полезными микроорганизмами.
- Наибольшее распространение в сельском хозяйстве получили такие бактериальные удобрения, как **нитрагин, ризоторфин, азотобактерин, фосфобактерин.**

- **Производство нитрагина и ризоторфина**
- Выпускают два вида препаратов клубеньковых бактерий: **нитрагин** и **ризоторфин**.
- Оба препарата производятся на основе активных жизнеспособных клубеньковых бактерий из рода **Rhizobium**.
- Бактерии рода **Rhizobium** - строгие аэробы. Среди них различают **активные**, **малоактивные** и **неактивные** культуры.
- **Критерий активности** - способность в симбиозе с бобовым растением фиксировать атмосферный азот и использовать его в виде соединений для **корневого питания растений**

- Фиксация атмосферного азота возможна только в клубеньках, образующихся на корнях растений. **Возникает она при инфицировании** корневой системы бактериями из рода *Rhizobium*.
- **В месте локализации** бактерий на корне растения-хозяина **образуются клубеньки**, в которых бактерии быстро размножаются и располагаются по отдельности или группами в цитоплазме растительных клеток. **Сами бактериальные клетки увеличиваются в несколько раз и меняют окраску.**
- Если клубеньки имеют **красноватую или розовую окраску**, то они **способны фиксировать** молекулярный азот.

- В симбиотическом комплексе **растение - Rhizobium** бактерии обеспечивают питательными веществами, а сами снабжают растение азотистым питанием.
- Бактерии, находящиеся в клубеньках, **синтезируют ферментную систему с нитрогеназой активностью**, восстанавливающую молекулярный азот до аммиака. **Ассимиляция аммиака** происходит, в основном, путем вовлечения его в ряд ферментативных превращений
- Классификация различных видов **Rhizobium** учитывает **растение-хозяина**, например: **Rhizobium phaseoli** - для фасоли, **Rhizobium lupini** - для люпина, сараделлы и т.д.

- Выпускает два вида нитрагина: **почвенный и сухой.**
- **Сухой нитрагин** - порошок светло-серого цвета, содержащий в 1 г не менее 9 млрд. жизнеспособных бактерий в смеси с наполнителем. Влажность не превышает 5-7%.
- Для производства посевного материала исходную культуру клубеньковых бактерий выращивают на **агаризованной среде**, содержащей отвар бобовых семян, 2% агара и 1% сахарозы, затем культуру размножают **в колбах на жидкой питательной среде** в течение **1-2 суток** при **28-30 °С** и рН **6.5-7.5.**
- На всех этапах промышленного культивирования применяют питательную среду: **меласса, кукурузный экстракт, минеральные соли** в виде сульфатов аммония и магния, мел, хлорид натрия и двузамещенный

Основная ферментация - в течение **2-3 суток**. Готовую культуральную жидкость **сепарируют**, получается биомасса в виде пасты с **влажностью 70-80%**. Пасту смешивают с **защитной средой**, содержащей **тиомочевину и мелассу (1:20)** и направляют на высушивание. **Сушат** путем **сублимации (в вакуум-сушильных шкафах)**.

Высушенную биомассу размалывают.

Производительнее высушивание в распылительных сушках, но при этом **75% клеток** теряют жизнеспособность.

Препараты сухого нитрагина фасуют и герметизируют в полиэтиленовые пакеты **по 0,2 - 1 кг**, хранят при температуре **15 °С** не более **6 месяцев**. Семена **опудривают** перед посевом. **Внесение нитрагина повышает** урожайность в среднем на **15-25%**.

- Препарат клубеньковых бактерий может выпускаться и в виде **ризоторфина**.
- Для приготовления ризоторфина торф **сушат** при температуре не выше **100 °С** и **размалывают** в порошок. Наиболее эффективным способом стерилизации является **облучение его гамма-лучами**. Перед стерилизацией размолотый, нейтрализованный мелом и увлажненный до **30-40%** торф расфасовывают в полиэтиленовые пакеты, облучают и заражают клубеньковыми бактериями, используя шприц.
- Прокол после внесения бактерий заклеивается липкой лентой. Грамм ризоторфина должен содержать **не менее**

2.5 млрд. жизнеспособных клеток.

- Препарат хранят при температуре **5-6 °С** и влажности воздуха **40-55%**. Доза препарата составляет 200 г на га

Производство азотобактерина

- **Азотобактерин** - бактериальное удобрение, содержащее микроорганизм **Azotobacter chroococcum**, способный фиксировать до 20 мг атмосферного азота на 1 г использованного сахара. В почву бактерии также выделяют биологически активные вещества (**никотиновую и пантотеновую кислоты, пиридоксин, биотин, гетероауксин, гиббереллин**), стимулирующие рост растений. Кроме того, продуцируемые **Azotobacter фунгицидные** вещества из группы **анисомицина** угнетают развитие некоторых нежелательных микроскопических грибов в ризосфере растения.

- Все виды *Azotobacter* - **строгие аэробы**. **Чувствительны** к содержанию в среде **фосфора** и развиваются лишь при **высоком его содержании** в питательной среде. **Азотфиксирующая способность культуры подавляется аммиаком**.
- **Стимулируют** процесс фиксации азота соединения **молибдена**.
- Выпускают несколько видов азотобактерина: **сухой, почвенный и торфяной**.

- **Сухой азотобактерин** - активная культура высушенных клеток азотобактера с наполнителем. **В 1 г препарата** содержится не менее 0.5 млрд. жизнеспособных клеток. **Культуру микроорганизма** выращивают методом **глубинного** культивирования на среде, содержащей те же компоненты, что и при культивировании клеток *Rhizobium*. **Дополнительно** вводят только **сульфаты железа и марганца**, а также сложную соль **молибденовой кислоты**, рН 5.7-6.5.
- Процесс ферментации проводят до стационарной фазы развития культуры
- Высушенную культуру стандартизируют, фасуют в полиэтиленовые пакеты **по 0.4-2 кг** и хранят при температуре **15 °С** не более **3 месяцев**.

- Почвенный и торфяной азотобактерин представляют собой активную культуру азотобактера, размноженную на твердой питательной среде, и содержат в 1 г не менее 50 млн. жизнеспособных клеток.
- Использовать азотобактерин рекомендуется только на почвах, содержащих фосфор и микроэлементы.
- Азотобактерин применяют для бактериализации семян, рассады, компостов. При этом урожайность увеличивается на 10-15%. Семена зерновых опудривают сухим азотобактерином из расчета 100 млрд. клеток на 1 гектарную порцию семян.

- **Производство фосфобактерина**
- **Фосфобактерин - бактериальное удобрение, содержащее споры микроорганизма *Bacillus megaterium* var. *phosphaticum*. Представляет собой порошок светло-серого или желтоватого цвета.**
- **Бактерии обладают способностью превращать сложные фосфорорганические соединения (нуклеиновые кислоты, нуклеопротеиды и т.д.) и трудноусвояемые минеральные фосфаты в доступную для растений форму. Кроме этого бактерии вырабатывают биологически активные вещества (тиамин, пиридоксин, биотин, пантотеновую и никотиновую кислоты и др.), стимулирующие рост растения.**
Фосфобактерин относится к числу препаратов со стимулирующим эффектом.

- ***Bacillus megaterium* var. *phosphaticum*** - это мелкие, грамположительные аэробные спорообразующие палочки размером 2-6 мкм. Клетки содержат значительное количество соединений фосфора.
- производство фосфобактерина похоже на производство азотобактерина и препаратов клубеньковых бактерий. Состав питательной среды в процентах: кукурузный экстракт -1.8, меласса - 1.5, сульфат аммония - 0.1, мел – 1.0, остальное - вода. Культивируют глубинным методом в строго асептических условиях при постоянном перемешивании и принудительной аэрации до стадии образования спор

- **Основные параметры проведения процесса:**
температура 28-30 °С, рН 6.5-7.5, длительность культивирования 1.5-2 суток.
- Полученную в ходе культивирования биомассу клеток отделяют **центрифугированием и высушивают в распылительной сушилке при температуре 65-75 °С до остаточной влажности 2-3%.**
- **Высушенные споры смешивают с наполнителем.**
- **Готовый препарат должен содержать не менее 8 млрд. клеток в 1 г.**
- **Расфасовывают препарат в полиэтиленовые пакеты по 50-500 г.**

- В отличие от нитрагина и азотобактерина **фосфобактерин** обладает **большей** устойчивостью при хранении. Фосфобактерин нужно применять **на черноземных почвах**, которые содержат наиболее значительное количество фосфорорганических соединений. Необходим для повышения **урожайности зерновых, картофеля, сахарной свеклы и др.** сельскохозяйственных растений.

Стадии производства бактериальных удобрений

- Подбор чистой культуры бактерий и внесение ее в благоприятную среду.
- Культивирование со значительным наращиванием биомассы.
- Выделение и выпуск готового продукта.
- Семена обрабатывают смесью сухого фосфобактерина с наполнителем (золой, почвой и др.) в соотношении 1:40.
- На 1 гектарную порцию семян требуется 5 г препарата и 200 г наполнителя.

- **Достоинства и недостатки бактериальных удобрений как таковых**

- **К их плюсам можно отнести следующее:**

- Представляют собой 100% экологически чистые препараты
- Относительно простой производственный цикл
- Доступные штаммы микроорганизмов
- Существенная эффективность использования по сравнению с минеральными удобрениями.

- **К недостаткам биопрепаратов можно отнести:**

- Зависимость эффективности их действия от состава и свойств почвы, и ряда других факторов
- Расчет товарной упаковки на применение на больших площадях, затруднено использование на малых садовых участках
- Малый срок хранения, некоторая "сезонность" производства.