

ИЗУЧЕНИЕ СПОСОБОВ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ШТАММА БАКТЕРИЙ *BACILLUS THURINGIENSIS* VAR. *THURINGIENSIS* УЗВИТИ М № 1

Пулотов Ф.С., к.в.н. (PhD), старший научный сотрудник

Исмоилов А.Ш. - младший научный сотрудник

Рахимов М.Ю. к.в.н. (PhD), старший научный сотрудник

Джалолов А.А. - докторант

Болтаев Д.М. - докторант

Сайфиддинов К.Ф. – студент

Научно-исследовательский институт ветеринарии, E-mail: nivi@vetgov.uz

Аннотация

Мақолада биологик (биоинсектицид) препарат ишлаб чиқаришда фойдаланиш учун *Bacillus thuringiensis* var. *thuringiensis* УзВИТИ М № 1 штаммининг културал, морфологик биокимёвий хусусиятлари бўйича олиб борилган илмий тадқиқот ишлари ҳақида маълумотлар келтирилган.

Калит сўзлар. Артропода, биоинсектицид, биологик, биокимёвий, биопатоген, культура, колония, паразитоцид, штамм, ҳашарот.

Введение

Природа населена большим количеством видов опасных насекомых и клещей, многие из которых являются носителями и распространителями смертоносных бактерий. Доказано, что только комнатные мухи могут хранить и переносить возбудителей до 130 видов заболеваний, комары – до 180 видов арбовирусов, а также возбудителей малярии, желтой лихорадки, Конго-Крымской, эфемерной, узбекстанской геморрагической лихорадки, вши являются специфическими переносчиками сыпного и возвратного тифов, блохи – чумы, слепни и кровососущие мухи – сибирской язвы, трипаносомозов, москиты – лейшманиозов, иксодовые клещи – 19 видов кровепаразитарных болезней, клещевого сыпного тифа, клещевой геморрагической лихорадки, крымской геморрагической лихорадки, клещевого сыпного тифа, лихорадки-Ку, туляремии, бруцеллёза человека и животных. Установлено, что 288 видов вирусов человека и животных передаются 2500 видами членистоногими (Arthropoda) - кровососами.

Эти паразитические членистоногие и переносимые ими опасные бактерии могут вызывать массовую гибель людей и продуктивных животных, загрязнять пищевые ресурсы, биосферу биопатогенами. Ежегодный экономический ущерб при этом может составить многие миллиарды сумов.

В настоящее время для борьбы с ними разработаны и предложены влажные и сухие методы дезинсекции и дезакаризации хлорорганическими, фосфорорганическими, карбаматными соединениями. При этом достигается снижение численности паразитов до экономически безвредного уровня. Однако, для поддержания такого уровня необходимы многократные обработки животных и животноводческих объектов, что не безвредно для экологии, здоровья человека и животных, полезной флоры и фауны. Они являются системными и контактными ядами. При попадании их в организм человека (через продукты обработанных животных) могут развиваться канцерогенный, мутагенный, тератогенный, эмбриотоксический, аллергический, иммунодепрессивные и другие патологические процессы.

В связи с этим разработана безвредная для экологии, здоровья человека и животных, а также полезной фауны и флоры биологических средств и методов борьбы с зоопаразитами является актуальной задачей науки и ученых.

Исходя из вышеизложенного мы задались целью изучение способов культивирования штамма бактерий *Bacillus thuringiensis* var. *Thuringiensis* УзВИТИ М № 1 для производства биологического препарата (биоинсектицида).

Материалы и методы исследований

Изучение способов культивирования штамма бактерий *Bacillus thuringiensis* var. *Thuringiensis* УзВИТИ М № 1 и определение паразитоцидной активности полученного из него биопродукта (биоинсектицида) проводили в условиях лаборатории арахноэнтомологии согласно общепринятых микробиологических и паразитологических методик (И.А.Бакулов. «Практические занятия по эпизоотологии с микробиологией». М. Сельхозиздат, 1962; М.О.Биргер. «Я.Вайзер. «Микробиологические методы борьбы с вредными насекомыми», М. «Колос», 1972; и др.).

Результаты исследований

В качестве сред для выращивания культур использовали МПА (мясопептонный агар), МПБ (мясопептонный бульон), МППА (мясопептонный печёночный агар), МППГА и МППГБ (мясопептонный печёночный глюкозный агар и бульон). Посевы инкубировали в биологических термостатах при температуре 37⁰ С в чашках Петри, в посудах «матрац», в 0,5 литровых колбах и 20 миллилитровых стеклянных пробирках.

Выделение культуры: для этого на животноводческой ферме собирали личинок комнатных мух из навозных куч. Предварительно личинки обмывали в проточной холодной воде, затем дезинфицировали в 70⁰ спирте (путем погружения на 1-2 минуты). Потом личинок проводили несколько раз над пламенем спиртовки. В часовом стекле в капле физраствора личинок мелко измельчали и получали гомогенат. Каплю гомогената наносили на МПА в чашках Петри (РН = 7,8) и помещали в термостат на 24 часа при температуре 37⁰С. Через 24 часа из МПА делали посев на МПБ (РН=7,8), который также помещали в термостат на 24 часа при температуре 37⁰С. После проведения ряда истощающих посевов получали стабильный рост колоний. После инкубирования в термостате отбирали чашки, на которых вырастали отдельные изолированные колонии, морфологически похожие на группу бактерий *Bacillus thuringiensis* Berliner.

Очистку культуры проводили путем регулярных пересевов из МПБ на МПА. При повторном расसेве отбирали те штаммы, которые сохранили свойство однородных колоний. При этом достаточны были 2-3 пересева.

Штамм на МПА образует два типа колоний: белые или серые, плоские или округлые, матовые колонии с чётко контурированными, но неправильными очертаниями (краями), поверхность мелкозернистая или гладкая блестящая. Хорошо растёт на мясопептонном агаре (МПА), мясопептонном бульоне (МПБ), мясопептонном печеночно-глюкозном агаре (МППГА), мясопептонном печеночно-глюкозном бульоне (МППГБ). Не образует индол и уреазу, сбраживает глицерин, глюкозу, мальтозу, крахмал, не сбраживает арабинозу, галактозу лактозу, маннит.

Продолжительность сохранения культуральных свойств изучали путём выдерживания культур штамма *Bt* в бытовом электрохолодильнике при температуре +4-6⁰С в течении около 1 года. Через определенные промежутки времени путем пересева на свежие питательные среды определяли их ростоспособность (в биотермостате при +20-37⁰С).

Спорообразование изучено методом «косого» освещения агара с колониями штамма *Bt*, а также путём просмотра мазков с помощью микроскопа МБИ-11. Работу проводили с культурами 17-19,24,48 часовыми роста.

Типизацию выделенных микроорганизмов проводили по их росту на питательных средах (по морфологическим признакам колоний).

В опытах по изучению способов культивирования бактоштамма *Bacillus thuringiensis* var. *Thuringiensis* УзВИТИ М № 1 выполнено:

- на МПА в чашках Петри 855 посевов,
- на МПА в посудах «матрац» 150,
- на МПА в пробирках 226,
- на МПБ в колбах 20,
- на МПБ в пробирках 372,
- на МППГА в пробирках 50,

на МППГА в чашках Петри 57,
на МППГБ в пробирках 66 посевов культур.

Всего получено 1796 посевов Вт.

Всего приготовлено 399 мазков Вт УзВИТИ М № 1.

Таким образом установили, что штамм бактерий *Bacillus thuringiensis* var. *Thuringiensis* УзВИТИ М № 1 хорошо растёт и длительное время сохраняет свою активность во всех вышеотмеченных питательных средах. Однако наиболее бурный рост отмечен при выращивании бактерий в чашках Петри, в колбах «матрац» на МПА и в пробирках на МПА и МПБ. По стерильности пробирочные и «матрацовые» культуры превосходили остальных, что способствовало готовить опытные образцы биоинсектицида из этих сред.

Идентификацию штамма проводили в лаборатории арахноэнтомологии по морфологическим признакам бактерий и колоний. При этом бактерии имели вид одиночных, двойных и цепочных палочек. Колонии были серовато матового цвета с неправильными краями. Из них приготовлены и микроскопически исследованы всего 399 мазков.

Всего 56 проб культур выращенных в пробирках на МПА и МПБ, а также 57 проб культур выращенных на МПА в чашках Петри, 5 проб культур выращенных на МПА в посудах «матрац», 2 пробы культур выращенные на МПБ в 0,5 литровых колбах (всего 120 посевов) хранятся в бытовом холодильнике при температуре + 4 – 8⁰С и по ныне.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Штамм бактерий *Bacillus thuringiensis* var. *Thuringiensis* УзВИТИ М № 1 в отличие от других родственных видов (рода *Bacillus thuringiensis* Berliner, 1912) хорошо растёт на жидких и плотных питательных средах, культура растёт аэробно, не требуя при этом повышенного содержания кислорода. В отличие от других штаммов, данный штамм образует эндотоксин и параспоральные кристаллы термостабильного экзотоксина.

Бактерии штамма хорошо отличаются также по культуральным свойствам, т.е. их можно легко пассажировать через личинки *Musca domestica vicina*. Культура устойчива к посторонней микрофлоре.

Бактерии штамма представляют собой грамположительные палочки, аэроб, размером 3-6 x 0,8-1/3 мкм, одиночные или в цепочках. Морфологически и физиологически трудно отличимы. Образуют споры и параспоральные кристаллы токсинов в форме восьмигранника или снежинок.

ИСПОЛЬЗОВАННЫЕ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Pulatov, F. S., Rakhimov, M. Y., Sh, I. A., Boltaev, D. M., & Saifiddinov, B. F. (2022). Ecogenesis of ectoparasites of agricultural animals. *Eurasian Med Res Period*, 6, 165-167.
2. Elmurodov, B. A., Pulotov, F. S., Axmedov, B. N., & Murodov, X. U. (2024). INSECTICIDAL EFFECT OF THE ALPHA-SHAKTI PREPARATION AGAINST FLIES AND PATHORS. *Web of Teachers: Inderscience Research*, 2(3), 250-256.
3. Pulatov, F. S., Rakhimov, M. Y., Ismoilov, A. S., Boltaev, D. M., Kamalova, A. I., & Djalolov, A. A. (2022). Fauna and phenoecology of zooparasites. *Annals of forest research Scopus journal*, 65(1), 854-863.
4. Pulatov, F. S., Sh, I. A., Rakhimov, M. Y., Abdullaeva, D. O., Sayfiddinov, B. F., & Ruzimuradov, A. Fauna and ecology of zooparasites in zoobiocenoses. *Turkish Journal of Physiotherapy and Rehabilitation*, 32(2).
5. Pulatov, F. S., Jalolov, A. A., & Saifiddinov, K. F. (2022). The Spread of bovicolosis in sheep. *Central Asian Journal of Medical and Natural Science*, 3(5), 239-241.
6. Пулотов, Ф. С., Рахимов, М. Ю., & Исламов, Ф. П. (2022). ALPHA-SHAKTI ПРЕПАРАТИНИНГАКАРИЦИДЛИК САМАРАДОРЛИГИ. *Gospodarka i Innowacje*, 28, 133-137.
7. Pulotov, F. S., Sh, Z. S., Sh, A., & Sayfiddinov, K. F. (2024). Bitoxibacillin-Bioinsecticide. *American Journal of Science on Integration and Human Development (2993-2750)*, 2(1), 63-65.

8. Boltaev, D. M., & Pulotov, F. S. (2023). Epizootology Of Bovicolliosis Of Goats. *Texas Journal of Multidisciplinary Studies*, 20, 8-11.
9. Pulotov, F. S., & Sayfiddinov, B. F. (2021). EPIZOOTOLOGIYA Bovicolosis (Бовиколаларининг) OF CATTLE (Қорамол Бовиколалари Ва Уларнинг Эпизоотологияси)(Бовикола–Bovicola Деб Ёзилади).
10. Пулатов, Ф. С. (2017). Применение циперметрина против экто-и эндопаразитов. In *СОВРЕМЕННАЯ НАУКА: ПРОБЛЕМЫ И ПЕРСПЕКТИВЫ* (pp. 99-103).
11. Ruzimuradov, A., Mavlonov, S., Kadirova, G., & Pulatov, F. (2006). Directions to practical use of entomophages in stock-breeding.
12. Pulatov, F. S., Rakhimov, M. Y., Ismoilov, A. S., Boltayev, D. M., Kamalova, A. I., & Djalolov, A. A. (2023). Ecogenesis of ECTO and Endoparasites in Animals. *Journal of Survey in Fisheries Sciences*, 10(3S), 2238-2245.
13. Pulotov, F. S., Shoymardonov, E., & Rasulov, R. (2022). QORAMOLLAR BOVIKOLYOZI VA UNGA QARSHI KURASHISHDA DIAZINON PREPARATINING SAMARADORLIGINI O'RGANISH. *AGROBIOTEXNOLOGIYA VA VETERINARIYA TIBBIYOTI ILMIY JURNALI*, 350-352.
14. Пулатов, Ф., & Сайфиддинов, К. (2022). Экология болтов крупного рогатого скота. *Перспективы развития ветеринарной науки и её роль в обеспечении пищевой безопасности*, 1(2), 159-162.
15. Пулатов, Ф. С., & Мирзаев, М. Ш. (2017). ЭФФЕКТИВНОСТЬ РАТИНДАНА В БОРЬБЕ С СУСЛИКАМИ. In *СОВРЕМЕННОЕ ЭКОЛОГИЧЕСКОЕ СОСТОЯНИЕ ПРИРОДНОЙ СРЕДЫ И НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ РАЦИОНАЛЬНОГО ПРИРОДОПОЛЬЗОВАНИЯ* (pp. 1546-1547).
16. Рўзимуродов, А., Раҳимов, М., Исмоилов, А., Абдуллаева, Д., & Пулатов, Ф. С. Монография. *Пиретроидлар. Табиий ўчоқли ва трансмиссив касалликлар муҳофазаси. "Zarafshon" нашрети ДК, Самарқанд-2018 й.*
17. Пулатов, Ф., Расулов, У., Шоимардонов, Е., & Расулов, Р. (2023). Изучение эффективности препарата диазинон в борьбе с бовиколиозом крс и борьбе с ним. *in Library*, 4(4), 350-352.
18. Мирзаев, М. Ш., Хайтов, В. Р., & Пулатов, Ф. С. (2016). ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ РАТИЦИДА" БРОМОЛОНА" В ПТИЦЕВОДЧЕСКИХ ХОЗЯЙСТВАХ УЗБЕКИСТАНА. In *Актуальные проблемы современной ветеринарной науки и практики* (pp. 73-76).
19. Пулатов, Ф. (2013). Фауна и экология зоопаразитов. *in Library*, 3(3), 16-17.
20. Пулатов, Ф. (2000). Эктопаразиты животных. *in Library*, 1(1), 209-210.
21. Пулатов, Ф., Болтаев, Д., & Джалолов, А. (2023). Инсектицидная эффективность препарата Алфа-шакти против власоедов. *in Library*, 3(3), 25-26.
22. Пулатов, Ф. (2013). Инсектокарицидное свойство препарата Суми-альфа. *in Library*, 3(3), 45-47.
23. Пулатов, Ф. (2004). Применение sipermetrina против экто-и эндопаразитов. *in Library*, 1(1), 105-108.
24. Pulatov, F. S., Rakhimov, M. Y., Ismoilov, A. S., Boltayev, D. M., & Djalolov, A. A. Prevalence of Ecto-and Endoparasites in Animals. *MIDDLE EUROPEAN SCIENTIFIC BULLETIN*.
25. Пулатов, Ф., Сайфиддинов, К., & Абдукхалимова, Ш. (2024). Биопрепарат-Биоинсектицид. *in Library*, 1(1), 85-89.
26. Рахимов, М., Пулатов, Ф., Рахимов, М., Абдуллаева, Д., Сайфиддинов, Б., & Рuzимуродов, А. (2023). Фауна и экология зоопаразитов в зообиоценозах. *in Library*, 1(1), 1984-1989.
27. Рахимов, М., Пулатов, Ф., Исмоилов, А., Болтаев, Д., & Джалолов, А. (2023). Распространенность экто-и эндопаразитов у животных. *in Library*, 1(1), 19-22.

28. Navruzov, N. I., Pulatov, F. S., Sheralieva, I. D., Nabieva, N. A., Sultonova, I. Y., & Aktamov, U. B. (2022). The importance of chitozan suctinat in lamb colibacteriosis. *money*, 15(1).
29. Рахимов, М., Пулатов, Ф., Исмоилов, А., & Болтаев, Д. (2022). Экогенез эктопаразитов сельскохозяйственных животных. *in Library*, 22(1), 165-167.
30. Пулатов, Ф., Рахимов, М., Исмоилов, А., Болтаев, Д., Камалова, А., & Джалолов, А. (2022). Фауна и феноэкология зоопаразитов. *in Library*, 22(4), 855-863.
31. Пулатов, Ф., & Исмоилов, А. (2021). Фауна зоопаразитов. *in Library*, 21(1), 187-189.
32. Рахимов, М., & Пулатов, Ф. (2020). Эффективность дельтаметрина против эктопаразитов. *in Library*, 20(3), 27-28.
33. Пулатов, Ф., Сайфиддинов, К., Худоёрова, Ф., Хамдамов, Х., Сайфульмулюков, Э., Савостина, Т., ... & Элмурадов, Б. Экология болтов крупного рогатого скота В данной статье представлены материалы по экологии и степени зараженности крупного рогатого скота с власоедами. *Экология*, 64, 20.
34. Расулов, У. И., Пулатов, Ф. С., Суёнов, Р. У., & Шаймарданов, Э. Х. Изучение гематологических показателей у мелкого рогатого скота, обработанного эмульсиями диазинона и циперметрина. In *Современные достижения в решении актуальных проблем агропромышленного комплекса: материалы международной научно-практической конференции, посвященной 100-летию Института экспериментальной ветеринарии им. СН Вышелесского (Минск, 15-16 сентября 2022 г.)* (pp. 131-133).
35. Pulotov, F. S. Treatment of Cattle from Bovicoliosis.
36. Камалова, А., & Илхомова, Х. (2023). Частота встречаемости различных заболеваний бронхолегочной системы у подростков. *Научные работы одарённой молодёжи и медицина XXI века*, 1(1), 91-91.
37. Ainura, K. (2023). STUDY OF THE DISEASES IXODIDOSIS IN EXPERIMENTAL EXPERIMENTS. *MODELS AND METHODS FOR INCREASING THE EFFICIENCY OF INNOVATIVE RESEARCH*, 3(28), 190-196.
38. Ainura, K. (2023, November). DISTRIBUTION OF ECTOPARASITES IN LIVESTOCK FARMS OF THE REPUBLIC OF KARAKALPAKSTAN. In *Formation and Development of Pedagogical Creativity: International Scientific-Practical Conference (Belgium)* (Vol. 1, pp. 193-194).
39. Рахимов, М., Камалова, А., & Мавлонов, С. (2023). Изучение заболевания иксодидозом крупного рогатого скота в экспериментальных экспериментах. *in Library*, 3(3), 18-21.
40. Мавланов, С., & Камалова, А. (2023). ҚОРАМОЛЛАРНИ ИКСОДИДОЗ КАСАЛЛИГИНИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛ ТАЖРИБАЛАРДА ЎРГАНИШ. *Science and innovation*, 2(Special Issue 8), 1755-1761.
41. Мавланов, С., Камалова, А., & Маматкулов, У. (2022). Экология энтомофагов. *Перспективы развития ветеринарной науки и её роль в обеспечении пищевой безопасности*, 1(1), 267-271.
42. Иргашев, У. К., Холов, Ш., Камалова, А. И., & Мавланов, С. И. (2021). Меры борьбы против эктопаразитов.
43. Исмоилов, А. (2022). Фауна мух синдбовила и воздействие на них препарата альфа-шакти. *Перспективы развития ветеринарной науки и её роль в обеспечении пищевой безопасности*, 1(1), 126-131.
44. Исмоилов, А., & Рузимородов, А. (2021). Борьба с зоофилами и мухами синбовил в домашнем скоте и их борьба с ними. *in Library*, 21(1), 60-63.
45. Исмоилов, А., & Мавланов, С. (2023). Экология синбовиловых мух. *in Library*, 3(3), 408-411.
46. Рахимов, М., Пулатов, Ф., & Исмоилов, А. (2023). Иксодидоз крупного рогатого скота и овец. *in Library*, 3(3), 1277-1279.