

## **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](mailto: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 37<sup>0</sup> 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 70<sup>0</sup> 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 37<sup>0</sup>С. Через 24 часа из МПА делали посев на МПБ (РН=7,8), который также помещали в термостат на 24 часа при температуре 37<sup>0</sup>С. 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 *Vt* в бытовом электрохолодильнике при температуре +4-6<sup>0</sup>С в течении около 1 года. Через определенные промежутки времени путем пересева на свежие питательные среды определяли их ростоспособность (в биотермостате при +20-37<sup>0</sup>С).

Спорообразование изучено методом «косого» освещения агара с колониями штамма *Vt*, 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 – 8<sup>0</sup>С 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.