

**ЎЗБЕКИСТОН РЕСПУБЛИКАСИ ОЛИЙ ВА ЎРТА МАХСУС
ТАЪЛИМ ВАЗИРЛИГИ
ТОШКЕНТ КИМЁ-ТЕХНОЛОГИЯ ИНСТИТУТИ**

Қўлёзма ҳуқуқида
УДК 575.23:576.85:632.931.

ҚОДИРОВ АНВАР АБДУРАХИМОВИЧ

**ОЗИҚ-ОВҚАТ МАҲСУЛОТЛАРИДАГИ БАКТЕРИАЛ ИНСЕКТИЦИД
ПРЕПАРАТЛАРНИНГ ХАВФСИЗЛИГИНИ ТАДҚИҚ ЭТИШ**

Мутахассислик 5A541130 - Озиқ-овқат хавфсизлиги

магистрлик академик даражасини олиш учун
ДИССЕРТАЦИЯ

Илмий раҳбар,
к.ф.д., профессор

Тошмухамедов М.С.

Иш “Консерваланган озиқ-овқат маҳсулотлари
технологияси” кафедрасида кўриб чиқилган
ва расмий ҳимояга рухсат берилган.
“ _____ ” _____ 2010 г.

Кафедра мудири, т.ф.д.

Додаев Қ.О.

Ҳимояга рухсат этилди:

“ _____ ” _____ 2010 г.

Магистратура бўлими бошлиғи,

доцент

Абдурахмонов А.К.

Тошкент 2010

МУНДАРИЖА

	бетлар
Кириш	3
I-БОБ. АДАБИЁТЛАР ТАҲЛИЛИ	
Bacillus thuringiensis энтомопатоген бактериясининг морфо- культурал, физиологик ва биокимёвий хусусиятлари	10
II-БОБ. ФОЙДАЛАНИЛГАН МАНБА	
ВА УСЛУБЛАР	19
III- БОБ. ОЛИНГАН НАТИЖАЛАР ВА	
УЛАРНИНГ МУХОКАМАСИ	21
3.1. Тадқиқот объектларининг морфо-культурал, физиологик ва биокимёвий хусусиятларини ўрганиш	21
3.2. Bacillus thuringiensis бактериясининг спораларини ажратиш ва тозалаш	33
3.3. Bacillus thuringiensis бактерияларида спора ўсимталарини тадқиқ этиш	41
3.4. Bacillus thuringiensis бактерияси спораларининг гемагглютин ва гидрофоблик фаоллиги	47
УМУМИЙ ХУЛОСАЛАР	51
ФОЙДАЛАНИЛГАН АДАБИЁТЛАР РЎЙХАТИ	52
ЧОП ЭТИЛГАН ИШЛАР РЎЙХАТИ	58
ИЛОВАЛАР	

КИРИШ

Маълумки, қишлоқ хўжалик экинларини зарарқунанда ҳашаротлардан ҳимоя қилишда фойдаланишда асосан кимёвий препаратлардан фойдаланилади. Аммо, кейинги йилларда энг долзарб муаммолардан бирига айланаётган экологик ҳолатнинг бузилиб бориши, тупроқ микрофлораси, унинг физик кимёвий таркиби, сув ҳавзаларининг ифлосланиши, булар оқибатида инсонлар ва иссиқ қонли ҳайвонлар организмида кескин салбий оқибатлар ҳосил бўлаётганлиги кимёвий препаратлардан фойдаланиш имкониятларини чегараланиб бормоқда.

Бу каби муаммолар олимлар олдида зарарқунанда ҳашаротларга қарши қурашнинг альтернатив усуллари ишлаб чиқиш ва амалиётда қўллаш каби вазифаларни қўймоқда. Худди шундай альтернатив усуллардан бири микробиологик препаратлар асосида зарарқунанда ҳашаротларга қарши қураш ҳисобланади.

Бу усулнинг кимёвий усулга нисбатан бир қанча афзалликлари мавжуд бўлиб, улардан қуйидагиларини келтириш мумкин: экологик тозаллиги, тупроқда тўпланиб қолмаслиги, уларни тайёрлаш, сақлаш, ташиш ва қўллашнинг қулайлиги, иқтисоди самарадорлиги ва айниқса иссиқ қонли ҳайвонларга нисбатан зарарсизлиги олимлар эътиборини торттиб келмоқда. Микробиологик препаратлар орасида *Bacillus thuringiensis* спора-кристалл токсин ҳосил қилувчи энтомопатоген бактериялари алоҳида ўрин тутди.

Илмий манбалардан маълумки, дунёнинг бир қатор ривожланган давлатларида (АҚШ, Франция, Англия, Германия, Италия, Россия ва х.к.) шунингдек, иқтисодий ривожланмаган давлатларида ҳам *Bacillus thuringiensis* бактериялари асосидаги биопрепаратлардан самарали

фойдаланиб келинмоқда ва кимёвий препаратларга тўлақонли рақобатбардош альтернатив усул эканлиги исботланган.

Микробиологик препаратларни кенг қўллаган ҳолда улар асосидаги инсектицид ва энтомопатоген препаратларнинг ўсимлик барглари, новдаси ва илдиз-мевалари орқали инсон организмига тушиши қай даражада ва уларнинг хавфлилик категорияси бўйича етарли маълумотларга эга эмасмиз.

Озиқ-овқат маҳсулотлари хавфсизлиги йўналиши бўйича олиб борилаётган тадқиқот-ишларини таҳлил қилиш жараёнида қуйидагиларга асосий урғу берилган ҳолда ишлар амалга оширилаётганига гувоҳ бўлдик:

1. Хавфли ва ўта хавфли микроорганизмлар келтириб чиқарадиган касалликлар ва захарланиш манбалари (озиқ-овқат маҳсулотлари тайёрлаш жараёнида санитария гигиена қоидаларига амал қилинмаган ёки турли хил омиллар орқали маҳсулотлар таркибига тушиб қоладиган микроорганизмлар ёки уларни метаболитик маҳсулотлари);
2. Аниқ турдаги ёки бир қанча кимёвий пестицидларнинг биргаликдаги таъсиридан келиб чиқадиган хавфли ва ўта хавфли касалликлар ҳамда уларнинг оқибатлари (кимёвий пестицидлар, оғир органик бирикмалар, оғир металлар, турли хил газ кўринишидаги чанг ва тутунлар ҳолидаги аниқ турдаги кимёвий моддалар ёки моддалар мажмуаси);
3. Турли хилдаги радиацион, жумладан физик ва баъзи бир кимёвий воситалар орқали келиб чиқадиган хавфли ва ўта хавфли касалликлар ҳамда уларнинг озиқ овқат саноатидаги хавфи.

Юкорида кўрсатиб ўтилган ҳар бир бандаги тадқиқот ишлари ўзининг долзарблиги ҳамда ижтимоий-социал жараёнлардаги тутган ўрни билан ажралиб туради.

Маълумки, Республикамиз миқёсида кенг қўламда биологизациялаш жараёни, яъни кимёвий препаратлардан қишлоқ хўжалиги экинлари ҳосилдорлигини ошириш ҳамда уларни турли хил касаллик ва зараркунандалардан ҳимоялашда қўллашни чегаралаш ишлари олиб борилмоқда.

Аммо, қишлоқ хўжалигида кенг қўлланилиши тавсия этилаётган ва 2007 йил давлат реестрига киритилган (Битоксибациллин) бир вақтда энтомопатоген препаратлардан фойдаланиш имкониятлари билан бир қаторда уларнинг инсон организмига таъсири ҳамда инсонлар озиқ овқат маҳсулотлари таркибига тушиш имкониятлари ўрганилмаган ва ўрганилиши лозим бўлган вазифалардан бири ҳисобланади.

Ишнинг долзарблиги. Айни вақтда озиқ-овқат маҳсулотлари хавфсизлиги бўйича республикамизда етарли даражада илмий-тадқиқот ва амалий ишлар амалга оширилаётганига гувоҳ бўлиш мумкин. Аммо, асосий эътибор озиқ-овқат ва қишлоқ хўжалик маҳсулотлари таркибида учраётган ёки улар таркибига турли хил йўллар билан тушаётган кимёвий пестицидларни аниқлаш, ўрганиш ва уларнинг миқдорларини камайтириш ишларига кўпроқ урғу берилмоқда. Бизга маълумки, озиқ-овқат маҳсулотлари таркибига турли хил тузилишдаги кимёвий моддалар асосан уларни етиштириш, қайта ишлаш ҳамда ишлаб чиқариш жараёнларида пайдо бўлади. Асосан қишлоқ хўжалик ўсимликлари, айниқса техник экинларда ушбу ҳолатни табиий вегетацион даврларда учратиш мумкин.

Айни вақтда нафақат республикамизда, балким дунё мамлакатларида ҳам биологизациялаш жараёни кенг амалга

оширилмоқда. Шундан келиб чиққан ҳолда қишлоқ хўжалик ўсимликларини турли хил зараркунанда хашаротлар микробиологик касалликлардан ҳимоя қилиш мақсадида турли хил микроорганизмлар культураларидан ёки уларнинг метаболитик маҳсулотларидан кенг қўлланилмоқда.

Жумладан республикамизда 2008-2012 йилларга мўлжалланган “Ўсимликларни турли хил зараркунанда хашаротлар ва микробиологик касалликлардан ҳимоя қилиш Давлат рејестри” га Россия давлатида ишлаб чиқарилган “Битоксибациллин”, “Дендробациллин”, “Бактоспорин”, Украина давлатида ишлаб чиқарилган “Укспорин”, “Кристаллин” каби микробиологик препаратлар киритилган кенг қўллашга тавсия этилган.

Шунингдек, Республикамизда ишлаб чиқарилган қатор микробиологик препаратлар турли хил мақсадларда кенг қўлланиб келинмоқда. Жумладан, азот ўзлаштирувчи, фосфор ва нитрат парчаловчи микроорганизмлардан кенг фодаланиб келинмоқда. Қуйидагилар эса қўлланилиши кенгайиб бораётган манбаларга киради: *Trichoderma*, *Azotobacter*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus thuringiensis* ва х.к.

Адабий манбаларга эътибор берадиган бўлсак ушбу микробиологик препаратларнинг озиқ-овқат маҳсулотлари таркибига тушиш хавфлари ва уларни бартараф этиш чора-тадбирлари бўйича илмий манбалар учрамайди.

Маълумки, қишлоқ хўжалик соҳасида қўлланилаётган асосий тур микроорганизмлар хавфлилик жиҳатида IV-гурухга киритилади. Уларнинг инсонлар организмига тушиши ва хавф туғдириш даражаси эса иқлим шароитга, инсонлар иммунитетига, ёшига ва физиологик ҳолатига боғлиқ бўлади.

Шу боисдан магистрлик диссертацияси доирасида қишлоқ хўжалик экинларида *Bacillus thuringiensis* энтомопатоген бактерияси спора-кристалларининг сақланиб қолиш даражаси ҳамда озиқ-овқат маҳсулотлари таркибига ўтиш имкониятларини тадқиқ этишни ўз олдимизга мақсад қилиб қўйдик.

Изланишдан мақсад: тадқиқотдан мақсад озиқ-овқат маҳсулотлари сифатида фойдаланилаётган қишлоқ хўжалик экинларида *Bacillus thuringiensis* энтомопатоген бактерияси асосидаги инсектицид препаратларнинг сақланиб қолиш даражаларини тадқиқ этишдан иборат (манба сифатида *Bacillus thuringiensis* асосидаги инсектицид препарат олинди).

Ушбу мақсадни амалга ошириш учун қуйидагилар ечилиши лозим бўлган вазифалар сифатида белгилаб олинди:

- тадқиқот объектларининг морфо-культурал, физиологик ва биокимёвий хусусиятларини ўрганиш;
- *Bacillus thuringiensis* бактериясининг спораларини ажратиш ва тозалаш;
- *Bacillus thuringiensis* бактерияларида спора ўсимталарини тадқиқ этиш;
- *Bacillus thuringiensis* бактерияси спораларининг гемагглютинин ва гидрофоблик фаоллиги;
- *Bacillus thuringiensis* бактерияси спораларининг таъсир даражасини тадқиқ этиш

Илмий янгилиги. Олиб борилган тадқиқотлар давомида биринчи мартаба *Bacillus thuringiensis* энтомопатоген бактерияси спораларининг адгезив фаолликка эга эканлиги қайд этилди; Специфик хусусиятларига кўра фарқланувчи *Bacillus thuringiensis* энтомопатоген бактерияларининг касаллик келтириб чиқарувчи кристалл оксиллари

ҳамда спораларини п-ксилол ёрдамида икки босқичли кетма-кет ишлов бериш усули ёрдамида тоза ҳолда ажратиб олиш усули ишлаб чиқилди; 52 та штамм асосида олиб борилган тадқиқотлар асосида улардаги ўсимталарнинг жойлашиши ва ўлчамлари турли хилда эканлиги қайд этилди ҳамда шартли равишда 4 гуруҳга бўлинди: бунда уч гуруҳи перитрих ва 1 таси лофотрих ҳаракат органига бўйсиниши қайд этилди. Ўрганилган культураларнинг споралари тубуляр, филаментоз, цилиндрсимон ва ворсинкасимон шакллардаги ўсимталар сақлаши аниқланди. Ушбу ўсимталар ўсимлик танаси, барглари ва унинг меваларига ёпишқоқлик (адгезивлик) хусусиятини таъминлаши орқали бактерия спораларининг инсон организмига тушиш хавфини ошириши биринчи маротаба қайд этилди. Шунингдек, ўрганилган штаммларнинг барчасида турли хил фаолликдаги агглютинловчи фаоллик мавжуд эканлиги аниқланди, жумладан юқори фаолликни тубуляр шаклда спора-ўсимталари кўрсатиши аниқланди. Ушбу ўсимталар *Bacillus thuringiensis* энтомопатоген бактерияси спораларининг адгезив фаолиятида фаол иштирок этади деган хулосага келинди.

Тадқиқот манбаси: ТКТИ, “Биотехнология” кафедраси илмий лабораториясида сақланаётган *Bacillus thuringiensis* энтомопатоген бактерияси штаммлари, унинг метаболитик моддалари.

Ишнинг амалий аҳамияти: Олинган натижалар келгусида озиқ-овқат маҳсулотлари хавфсизлиги, жумладан, микробиологик хавфсизлик нуқтаи назаридан олиб бориладиган тадқиқот ишларида илмий манба бўлиб хизмат қилади. *Bacillus thuringiensis* энтомопатоген бактериясидан спора-кристалларни ажратиб олиш схемаси орқали уларни тоза ҳолда ажратиб олиш ва споралар ва кристалларнинг таъсир доирасини янада мукамалроқ ўрганиш имконини беради. Ушбу усул орқали тоза ҳолда ажратилган спораларни қуритиш ва уларни

кўпайтириш манбаи сифатида узоқ мудатга сақлаш ҳам мумкин бўлади. Бунда назарий жиҳатдан уларнинг биологик фаоллиги йўқолмайди.

Ишнинг апробацияси: Олиб борилган тадқиқотлар асосида 2 та илмий мақола чоп этилган.

Ишнинг ҳажми: Дисертация иши компьютерда терилган 58 варақдан иборат бўлиб, кириш, адабиётлар таҳлили, фойдаланилган манба ва услублар, олинган натижалар ва уларнинг натижалари, хулоса ҳамда фойдаланилган адабиётлар қисмидан иборат. Ишда 10 та жадвал ва 2 та расм, 2 та чизмадан фойдаланилган. 45 номдаги адабиётлардан фойдаланган.

I-БОБ. АДАБИЁТЛАР ТАҲЛИЛИ

***Bacillus thuringiensis* энтомопатоген бактериясининг биокимёвий хусусиятлари**

Спора ҳосил қилиши, хашоратларга таъсир спецификлиги ва уларнинг ички органларига таъсир механизми нуқтаи назаридан энг кўп ўрганилган бактерия *Bacillus thuringiensis* бактериясидир. Ушбу бактерияларнинг кимёвий таркиби ҳам бошқа микроорганизм ларнинг кимёвий таркибига жуда яқин бўлиб, сув, минерал тузлар, углеводлар, липидлар, протеинлар ва нуклеопротеинлардан иборат (Кузин 1946, Месробяну ва Пэунеску 1963).

Минерал тузлар хужайра цитоплазмасининг осмотик босими ва рН кўрсаткичини бошқариб туради, энзиматик тузларни фаоллаштиради, бу эса бактерияларнинг умумий биологик фаоллигини оширади. Шунинг учун юқори токсин хусусиятига эга бўлган продуцент-культура олиш учун организмнинг минерал тузлар ва органик моддаларга эҳтиёжини билиш талаб қилинади, бу эса озуқа муҳити таркибини тўғри тузишда муҳум аҳамият касб этади. Е.М.Губарева (1952) берган маълумотга кўра бактериялардаги кулли моддалар миқдори, озуқа муҳитида мавжуд бўлган тузлар миқдори билан сезиларли даражада боғлиқлик мавжуд.

В.С.Гостев ушбу бактерияларнинг минерал элементларга бўлган талабига, яъни хужайранинг ҳаётий даврида муҳимлиги ва аҳамиятига кўра асосий ва иккинчи даражали гуруҳларга ажратишни таклиф этди. У асосий гуруҳга фосфор, калий, натрий, магний кальций, олтингугурт, хлор ва темирни киритди. Қолган элементлар хужайрада кам миқдорда учраганлиги учун уларни бошқаси билан алмаштириш мумкин. Шу сабабли уларни иккинчи даражали элементлар деб номлади.

Л. Месробян ва Э. Пэунеск эса бу ҳолатни мавжуд ва мавжуд бўлмаган элементларга ажратишди. Улар мавжуд элементлар сифатида, хужайра ўсиб ривожланишида ўта зарур, яъни ушбу элементлар булмаганда хужайра ўсишдан тўхтайдиган элементларни киритишди. Бир сўз билан айтганда барча алмаштириб бўлмайдиган элементлар – мавжуд элементлар сирасига киритилди. Ушбу элементлар бактерия озикаланишида фаол иштирок этади.

Уларнинг берган маълумотларига кўра бактерия хужайрасининг ривожланиш учун ўта зарур бўлган ҳодиса – бир элемент бошқасининг зарарли таъсирини нейтрализациялашидир (мўтадиллаштириши). Масалан: магний, оғир металлларнинг токсин таъсирини нейтраллайди. Маълумки, никельнинг маълум бир миқдори, озуда магний миқдори ҳам бўлганда *Acrobacteria* ларнинг ўсишини тўхтатади, магний миқдори ошиши билан эса никельнинг зарарли таъсири йўқолади.

Е.М.Губеров эса кўпгана бактерияларнинг ўсиши учун зарур бўлган минерал моддаларни натрий, калий, кальций ва магний фосфатлар хлоридлар ва сульфатлар ҳолида бўлиши зарур деб ҳисоблайди. Ушбу моддаларнинг миқдори оддий аналитик усулларда ҳисобланади. Бироқ, баъзи бир бактериялар учун кремний, темир, рух, мис ўта зарурдир, аммо жуда кам миқдорда талаб этилади.

Илмий манбалардан маълумки, бактериялар ва бошқа хил организмлар моддалар алмашилиш жараёнида ушбу моддалар муҳим аҳамият касб этади. Жумладан, Abelson ва Aldous ҳамда Krigier лар томанидан исботланганки, (1967) *Bacillus thuringiensis* культураларининг ўсиши учун жуда кам миқдорда рух, мис ва магний тезлаштирувчи таъсир кўрсатади

Bacillus thuringiensis бактерияси культуралари споралар ҳосил қилади. Қаттиқ озук муҳитида ўстирилганда ҳар хил колониялар ҳосил

килади. Ҳосил қилган колониялари силлик, ғадир-будир, кирралари ҳар хил, ялтироқ, кулранг, оқиш ва бошқа рангларда бўлиши мумкин. Культуралар оч қизғиш ва жигар рангда бўялади ёки оч бинафша ранг пигментлар ҳосил қилмайди (Айрим штаммлари пигмент ҳосил қилиши мумкин).

Глюкоза, трегалоза, фруктоза ва глицеринни ачитиб, кислота ҳосил қилади. Арабиноза, ксилоза, галактоза, лактоза, маннит, дульцит ва инулинни ачитмайди. Бир қанча штаммлари хитинни гидролизлайди. Пектин, мелибиоза, фруктозани гидролизламайди. рН кўрсаткичи 5-7 бўлган озиқа муҳитида яхши ўсади. Ўртача ўсиш температураси 29-30 °C.

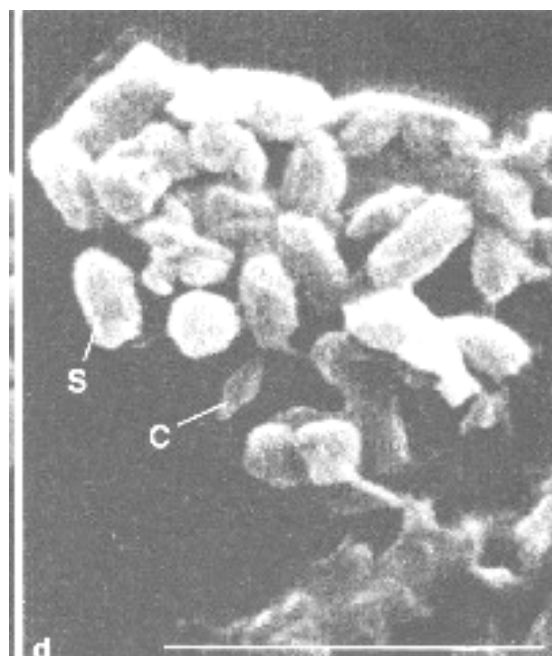
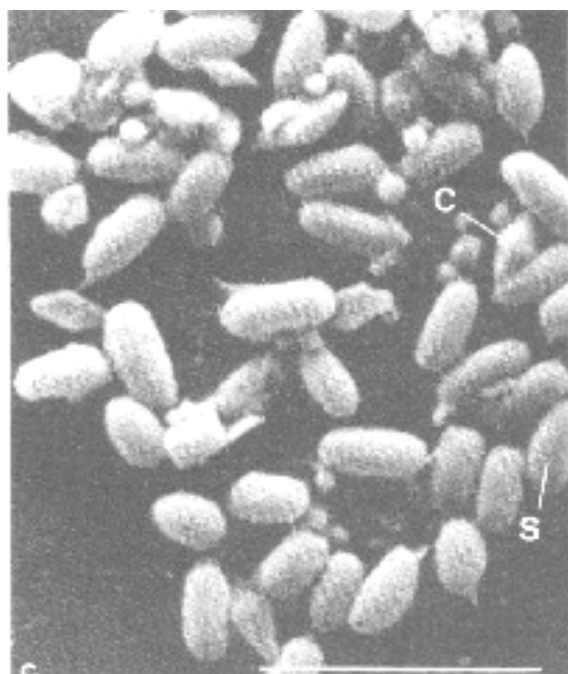
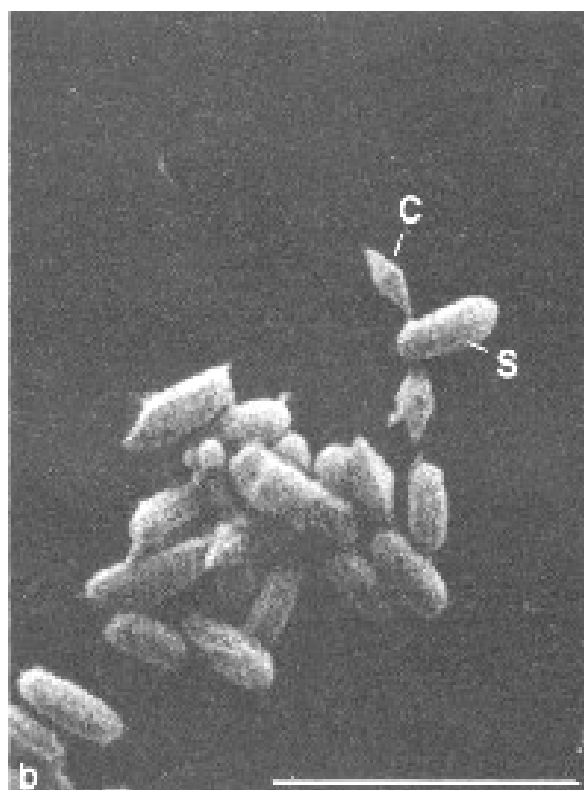
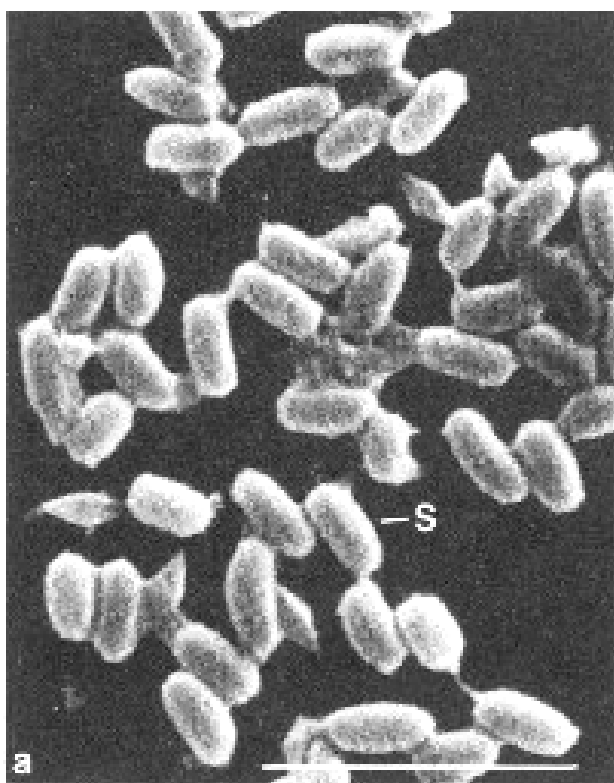
Bacillus thuringiensis бактерияси культуралари ўстириш давомида кимёвий таркиби жиҳатидан фарқ қилавчи захарли бирикмалар ажратади. Бу бирикмалар бир неча хил компонентга ажратилган.

Токсин ҳосил қилиши. *Bac.thuringiensis* бактерия гуруҳлари ишлаб чиқарадиган токсинларни бир неча гуруҳга бўлиш мумкин.

γ-эндотоксин. Бу токсиннинг морфологияси, молекуляр ва кимёвий тузилиши ҳамда хашаротларнинг кенг миқёсдаги турларига специфик таъсири адабиётларда кенг ёритилган.

β-экзотоксин. β-экзотоксин хашаротларнинг кенг миқёсдаги турларига фаол таъсир этиши илмий манбаларда чуқур таҳлил қилинган. Уларнинг физик-кимёвий хусусиятлари изчиллик билан ўрганиб чиқилган. β-экзотоксин ҳужайра ўсиши жараёнида культуранинг суяқ озиқа муҳитига чиқади. β-экзотоксин ўз табиатига кўра аденин нуклеозиди билан фосфор кислотасининг бирикишидан ҳосил бўлган бирикмадир. Унинг таъсирида АТФ биосинтези сусаяди ва оқибатда батамом тўхтайдди, нуклеазалар ва ДНК-РНК-полимеразалари орасидаги боғлиқлик бузилади, оқибатда РНК синтези

тўхтайди. Токсин кенг миқёсдаги хашаротларга таъсир этади ва уларнинг дастлабки ёшдагиларига жуда фаол таъсир кўрсатади.



***Bacillus thuringiensis* энтомопатоген бактерияси ҳосил қиладиган спора (s) - кристаллари (c) шакллари**

Bac.thuringiensis бактериялари ишлаб чиқарган токсинларини бошқа токсинлар билан таққослаганимизда унинг таъсири секин боради, худди қонуниятдагидек хашаротнинг бир босқич ривожланишдан иккинчисига ўтиши давомида таъсир этиб боради. Сублеталь миқдори кўпгина хашаротларнинг тўлиқ босқичига: тухум-личинка-қўнғиз-гумбак капалакларда ич бузилишини келтириб чиқаради. Хашаротларнинг ривожланиш босқичларини кузатганимизда, β -экзотоксин улар учун мутаген ҳисобланади, яъни генетик аппаратларини ўзгаришига олиб келади. Уларнинг кейинги авлодларида ҳар хил салбий ҳолатлар кузатилади.

L-экзотоксин. Баъзи адабиётларда α -экзотоксин деб ҳам аталади. С фосфолипаза α -экзоген бактериал фермент ҳисобланади. Бундан ташқари бу ферментни лецитиназа ва "фосфолипаза-3" деб ҳам юритилади. чунки, у табиий фосфолипидлар билан глицеро-3-фосфатли боғни парчалаганлиги учун шундай номлаш таклиф этилган эди. Адабиётларда лецитиназа ёки С-фосфолипаза деб ҳам номланади. Биокимёвий ва иммунокимёвий таҳлиллар шуни тасдиқладики, фосфодиинозитол специфик С-фосфолипаза билан айнан ўхшаш экан. Айни вақтларда лецитиназа ҳосил қилувчи *Bac.thuringiensis* культураларига эътибор қаратилмоқда. У бир қанча хашаротларга фаол захарли (лепидоптералар, қўнғизлар) таъсир кўрсатади.

α -экзотоксин бактериянинг ўсувчи ҳужайралари маҳсулидир. Фермент хашарот тўқимасида фосфолипидлар алмашилишини бузади ва натижада нобуд бўлишга олиб келади (В.Бўков ва бошқалар., 1987).

А.Иванов ва унинг ходимлари (1990) энтомопатоген бактерияларда вирулентлик ва фермент фаоллигининг боғлиқлигини ўрганишди ва штаммнинг юқори вирулентликка эга бўлишида С-фосфалипаза ферменти алоҳида ўрин тутишини аниқлашди. Муаллифлар

Bac.thuringiensis бактериясининг махсус С фосфолипаза билан патогенлик хусусияти орасидаги боғлиқлигини ўрганишди ва С-фосфолипаза *Bac.thuringiensis* бактерияларининг энтомоцид таъсирида асосий фактор ҳисобланади деган хулосага келишди.

Шунингдек, *Bac.thuringiensis* бактерияларининг С-фосфолипаза ажратиши, унинг специфик хусусияти ва п-нитрофенилфосфорил-холинни гидролизлаши ва энтомопатоген хусусияти тўғрисида маълумот беришган.

Ҳ-экзотоксин. Бу токсиннинг табиати ҳозиргача тўлиқ аниқланмаган (В.Бўков ва бошқалар, 1987). Бу токсин *entomocidus* культурасида учрайди (*Bac.thuringiensis* VI серотип).

Кристалл δ-эндотоксин. Ёки жуфт спорали кристалли эндотоксин бактериянинг спора ҳосил қилиш жараёнида ҳужайранинг бир қисмида спора шакллангандан сўнг ҳосил бўлади, ҳосил бўлган кристалл тўғри саккиз қиррали кўринишга эга бўлади. Кристалларни синтез қилиш культуранинг стационар фазасида тахминан уч соат давомида кечади.

Ҳужайрада турли кўринишдаги бир нечта кристаллар ҳосил бўлиши мумкин (тўғри бипирамидал, ромбсимон, кубсимондан овалсимонгача). Уларнинг ўлчамлари 0,5x1,3 дан 1x3,5 мкм гача ва ҳаттоки субмикроскопик кўринишигача кичрайиши мумкин. Улар органик эритмаларда эримади, бироқ спорадан ажралиши мумкин, рН кўрсаткичи юқори ишқорий (рН 11,5 дан юқори) шароитда яхши эрийди ва қайтарувчи ишқорий буфер иштирокида (рН 7,9-9,5) уларнинг эриш даражаси ортади. Кристаллар 100⁰С ҳароратда 30-40 минут қиздирилганда ўзининг заҳарлилик хусусиятини йўқотади.

Кимёвий таркибида углерод, азот, водород, кислород ва аминокислоталар таркибига кирувчи 19 та элементлар учрайди. Булардан ташқари анчагина миқдорда кальций, магний, кремний, темир

ва кам микдорда никель, титан, рух, алюминий, хром, мис ва маргенец каби элементлар бор. Ҳар хил штаммларда оксилли кристаллар аминокислоталар таркибига кўра бир-бирига жуда яқин.

Кристалл оксиллар кимёвий табиатига кўра споралар кобиқларининг оксили билан яқиндир. Адабиётларда споралар хужайра кобиғида ортиқча ишлаб чиқарилган оксилдан ҳосил бўлади деган назариялар мавжуд.

Бу оксил кристалли эндотоксинлар ҳашоратлар учун ўта заҳарлилиги билан аҳамият касб этиб келмоқда. *Bacillus thuringiensis* бактериясининг штаммлари ҳашоратларга таъсир вирулентлигига ва ўзига хос хусусиятларига кўра бир-биридан фарқ қилади. *Bacillus thuringiensis* бактерияси культуралари Н-антигенлиги бўйича бир нечта серотипларга бирлаштирилган [Barjas, Bonnefoi, 1968, Африкаян 1975].

Серотип 1 (Н₁). *Bacillus thuringiensis. var. thuringiensis.*

Ацетилметилкор бинол ва лецитиназа ҳосил қилади. Пигмент ҳосил қилмайди. Сахароза, целлобиоза ва маннозани ҳазм қилади. Крахмални гидролизлайди. Бир қанча штаммлари юқори ҳароратга чидамли токсинлар ҳосил қилади.

Серотип 2(Н₂). Қишлоқ хўжалик зараркунандаларига қарши курашда ҳали фойдаланилмаган алоҳида микроорганизмлар ҳисобланади.

Серотип 3а (Н_{3а}). *Bacillus thuringiensis. var. alesti.*

Ацетилметилкорбинол ва лецитиназа ҳосил қилади. Сахароза ва маннозани ачитади. Целлобиозадан кислота ҳосил қилади. Крахмални гидролизлайди. Пигмент ҳосил қилади. Юқори ҳароратга чидамли токсин ҳосил қилмайди.

Серотип 4а 4б (Н_{4а}, Н_{4б}) *Bacillus thuringiensis. var. dendrolimus.*

Ацетилметил карбинил ва лецитиназа ҳосил қилади. Сахарозадан ва маннозадан кислота ҳосил қилмайди. Крахмални гидролизлайди.

Уреаза ва пигмент ҳосил қилмайди. Бир нечта штаммлари юқори ҳароратга чидамли экзотоксин ҳосил қилади.

Серотип 5 (H₅). *Bacillus thuringiensis. var. galleriae.* Ацетилметилкарбинил ҳосил қилади. Салицин ва целлобиозани ҳазм қилади. Крахмални гидролизлайди. Сахароза ва маннозани ўзлаштирмайди. Юқори ҳароратга чидамли токсин ҳосил қилмайди.

Серотип 6 (H₆). *Bacillus thuringiensis. var. entomocidus.* Ацетилметил корбинол ҳосил қилади. Сахароза, манноза ва крахмални ўзлаштиради. Юқори ҳароратга чидамли токсин ҳосил қилмайди.

Серотип 7 (H₇). *Bacillus thuringiensis. var. aizawai.* Ацетилметилкорбинол ҳосил қилади. Салицин ва целлобиозани ўзлаштиради. Сахароза ва маннозани ўзлаштирмайди. Юқори ҳароратга чидамли токсин ҳосил қилмайди. Баъзи бир штаммлари крахмални гидролизлайди.

Серотип 8 (H₈). *Bacillus thuringiensis. var. anagastae.* Ацетилметилкорбинол ҳосил қилади. Салицин ва маннозани ўзлаштирмайди. Сахароза ва целлобиозани ўзлаштиради. Айрим штаммлари крахмални гидролизлайди. Юқори ҳароратга чидамли токсин ҳосил қилади.

Серотип 9 (H₉). *Bacillus thuringiensis. var. tolvorthi.* Ацетилметилкорбинол ҳосил қилади. Салицин, целлобиоза, крахмал ва сахарозани ўзлаштиради. Маннозани ўзлаштирмайди. Юқори ҳароратга чидамли токсин ҳосил қилади.

Серотип 10 (H₁₀). *Bacillus thuringiensis. var. darmstadiensis.* Ацетилметил корбинол ҳосил қилади. Сахароза, силицин ва маннозадан кислота ҳосил қилмайди. Целлобиозадан кислота ҳосил

қилади. Крахмални гидролизлайди. Уреаза ҳасил қилмайди. Экзотоксин ҳосил қилади.

Серотип 11 (H₁₁). *Bacillus thuringiensis.var.toumanoffii*. Ацетилметил корбинол ҳосил қилади. Манноза ва целлобиозадан кислота ҳосил қилади. Крахмални гидролизлайди. Уреаза ҳосил қилади. Юқори ҳароратга чидамли токсин ҳосил қилмайди.

Серотип 12 (H₁₂). *Bacillus thuringiensis. var. thompsoni*. Ацетилметил корбинол ҳосил қилмайди. Крахмални гидрлизлайди. Маннозадан кислота ҳосил қилади. Уреаза ҳосил қилади. Юқори ҳароратга чидамли экзотоксин ҳосил қилади.

Serotyp 13 (H₁₃). *Bacillus thuringiensis. var. pakistani*. Ацетилметилкорбинол лецитиназа ёки С фосфолипаза ҳосил қилмайди. Салицин ва сахарозадан кислота ҳосил қилади. Крахмал ва целлобиозани гидролизлайди. Уреаза ва юқори ҳароратга чидамли экзотоксин ҳосил қилмайди.

Серотип 14 (H₁₄). *Bacillus thuringiensis.var.israelensis*. Ацетилметилкорбинол ҳосил қилади. Маннозани ачитади. Крахмални гидрлизлайди. Уреаза ва юқори ҳароратга чидамли токсин ҳосил қилмайди. Оч пушти рангда пигмент ҳосил қилади. *Culex pipiens*, *Aedes aegypti* ва бошқа баъзи бир чивинларнинг личинкалари учун ўта заҳарлидир.

II-БОБ. ФОЙДАЛАНИЛГАН МАНБА ВА УСЛУБЛАР

Bacillus thuringiensis энтомопатоген бактериясини ажратиш: хашаротларни стерилизациялаш учун Алвес (1986) усулига баъзи бир ўзгартиришлар киритилган ҳолда фойдаланилди. Ушбу модификация личинкалари жуда кичик бўлган, устки қисмини тозалашнинг имкони йўқ бўлган личинкалар учун қўлланилди. Кейинги ишлар уч босқичда амалга оширилди: дастлаб, 70% ли спиртда 2 секунд, натрий гипохлоратнинг 5% ли эритмасида 3 минут, натрий тиосульфатнинг 10% ли эритмасида 5 минут давомида ушлаб турилди. Сўнгра намуналар 3 маротобадан дистилланган сувда ювиб олинди.

B.thuringiensis намуналарини ажратиш учун икки хил усулдан фойдаланилди. Ҳар иккаласида ҳам личинкалар асептик шароитда стерил ҳавончаларга солиб олинди. Сўнгра уларга 10 мл дан дистилланган сув солиб суюлтирилди. Биринчи усулда суспензия трубасимон пробиркага солиб олинди ва 65⁰С ҳароратда 12 минутгача ушлаб турилди сўнгра 1×10^{-2} дан 1×10^{-4} гача суюлтирилиб агарли каттиқ озуқа муҳитига экилди. Культуралар 24 соат давомида 28-32⁰С ҳароартда ўстириб олинди.

Иккинчи усулда ҳам ажратиш Travers ва бошқалар томонидан (1987) тавсия этилган усулдан фойдаланилди, бунда ҳам юқорида таъкидланганидек қиздириб олиш амалга оширилди. Ушбу усулларнинг бир биридан фарқи, иккинчисида *B. sphaericus* ва *B. thuringiensis* энтомопатоген бактерияларининг фақатгина спораларини танлаш имконини беради. Ушбу ажратишда озуқага қўшиладиган 0.25М дан 0.5М гача бўлган натрий ацетат энтомопатоген бактериялар спораларининг ўсишини тўхтатади. Биринчи усулда эса материаллар миқдори кўп бўлмаган ҳолларда қўлланилиши мумкин.

Намуналарни идентификацияси. Бактерия культуралари агарли озиқа муҳитида ўстирилиб, NaCl нинг 0,7% эритмасида ювиб олинди ва микроскоп остида *B.thuringiensis* энтомопатоген бактериясига хос бўлган кристалл токсин ҳосил қилиши ўрганилди. Биокимёвий ва физиологик хусусиятлари эса Берги кўрсатмаларига асосан аниқланди (бактерияларни аниқлагич, 1986), шунингдек, Frachon (1990) ва Thiery., Frachon (1997) ларнинг кўрсатмаларидан намуналарни *B.thuringiensis* бактерияси бўйича ички классификациялашда фойдаланилди. *B. sphaericus* штаммлари ҳам юқорида *B.thuringiensis* штаммлари учун келтирилган услублардан фойдаланилиб аниқланди. Культураларнинг биокимёвий хусусиятлари *Bacillus thuringiensis* бактерияси турларини идентификация қилиш схемасига мувофиқ ўрганилди (de BarjakH., Bonnefoi A. 1962).

Культураларни ўстириш ва сақлашда асосан пептонли стандарт озиқа муҳити [(%) Пептон-1,0; NaCl-0,05; K₂HPO₄-0,05; MgSO₄- 0,02; pH 7,0] дан фойдаланилди. Текширишларни асосан люминисцент “Люмам-Р1” люминисцент микроскопида олиб бордик (ЛОМО, Россия). Бактериал культуралар суюқ озиқа муҳитига экиб, 28-30⁰С ҳароратда, 36-48 саот давомида микробиологик чайқатгич ёрдамида минутига 180-200 айланма ҳаракатда ўстирилди.

III- БОБ. ОЛИНГАН НАТИЖАЛАР ВА УЛАРНИНГ МУХОКАМАСИ

3.1. Тадқиқот объектларининг морфо-культурал, физиологик ва биокимёвий хусусиятларини ўрганиш

Ўрганилган ҳамма штаммлар Грамм усулида бўйлиши ва морфологик белгиларига кўра грамманфий бактериялар гуруҳига тегишли эканлиги қайд этилди. *Bacillus thuringiensis* маҳаллий штаммларини ҳосил қиладиган колонияларининг морфологик белгиларини ўрганиш натижасида тахминан тўртта морфологик гуруҳга ажратилди. Бу гуруҳларнинг характерли белгилари қуйидаги 1-жадвалда кўрсатилган.

1-жадвал.

Bacillus thuringiensis бактерияси культураларининг морфологик хусусиятлари

Гуруҳ	ГПА да ҳосил бўлган колониялар морфологияси	Штаммларнинг морфо-культурал хусусиятлари	Ўрганилган штаммлар
I	Оқ-кўкиш рангда, ўлчами 1-2 мм, сирти жилосиз (рангсиз), шакли юмолук, қирралари текис, рельефи тўмпайган, структураси дона-дона.	Таёқчасимон ўлчами 1,3-1,8-3,0-5,0 мкм, алоҳида ва занжирсимон бўлиб жойлашган, споралари оволсимон шаклда бўлиб, хужайранинг марказида жойлашган, спора ҳосил бўлгандаги кристалларнинг сиртқи қирралари юмолук шаклга эга.	<i>Bacillus thuringiensis var.galleriae</i>
II	Хира-оқиш рангда, ўлчами 1,2-2,5 мм, Сирти жилосиз (рангсиз), шакли юмолук, қирралари	Тайёчасимон шакли йирик (2,1-1,8 ва 4,0-5,0 мкм), асосан алоҳида- алоҳида бўлиб жойлашади, споралар хужайра марказида жойлашади, баъзан бир учида,	<i>Bacillus thuringiensis var. thuringiensis.</i>

	нотекис, рельефи текис тўмпайган, структураси дона-дона.	кристаллари йирик ва лимонсимон шаклда.	
III	Кўкиш-оқ рангда, Ўлчами 1-3 мм, сирти жилосиз (рангсиз), шакли юмалоқ, қирралари нотекис, рельефи тўмпойган, структураси йирик ва дона-дона.	Тайёқчасимон шакли йирик (1,0- 1,5, 2,0-6,0 мкм), вегетатив хужайралари узун занжир ҳосил қилмайди ва иккита-учта бўлиб жойлашади, споралари овалсимон ва она хужайрада жойлашган, кристаллари катта ўлчамда ва дона- дона ромбсимон шаклда.	<i>Bacillus</i> <i>thuringiensis</i> var. <i>dendrolimus</i>
IV	Оқ рангда, шакли амёбасимон, нам ризоидсимон қирралар тарзида кўтарилган, шилимшиқсимон.	Тайёқчасимон шакли унчалик катта эмас, (1,0-1,3, 1,8-2,2 мкм), вегетатив хужайралари кўпинча жуфт-жуфт, баъзан 4-6 занжирча ҳосил қилиб жойлашади, споралари она хужайрада жойлашган бўлиб, оволсимон кўринишга эга, кристаллари ўртача ўлчамга эга бўлиб, аниқ формага эга эмас.	<i>Bacillus</i> <i>thuringiensis</i> var. <i>kurstaki</i>

Ўрганилаётган культураларнинг морфо-культурал белгиларини аниқлаш учун штаммларни стандарт (ПА, ГПА, тухум-желатинли, желатинли) ва табиий қаттиқ озиқа муҳитига (ачитқили, картошкали) экилди. Барча ўрганилаётган штаммлар ҳар хил озиқа муҳитида турли хил шаклдаги кристаллар ҳосил қилди. Шунинг билан бирга спора-кристаллар ҳосил қилиши озиқа муҳити таркибига ҳам боғлиқ эканлиги аниқланди. Спора ҳосил бўлиш жараёни штаммлар экилгандан сўнг (озиқа муҳитига боғлиқ ҳолда) 36-40 соатларда бошланиб, 72-80 соатларда тугайди.

Ёруғлик микроскопида *Bacillus thuringiensis* бактерияси ҳосил қилган кристалларни кузатиш натижасида кўпчилик кристаллар кўриниши аниқ ромбсимон эмас балки лимонсимон, яъни қирралари аниқ чегараланмаганлиги ўрганилди. Бу кристалларнинг узунлиги 1,8 мкм, эни 0,3 мкм ни ташкил этди.

Bacillus thuringiensis var. *thuringiensis* штаммларининг эндотоксинлари ўз кўриниши билан *entomocidus* кристалларига морфологик жиҳатдан ўхшаш бўлиб, ўртача узунлиги 1,5 мкм ни ташкил этади. var. *dendrolimus* нинг кристаллари эса ромбсимон. Бу культуралар ўзининг узунлик ўлчамларини ўзгартириб туради. var. *galleriae* ўз кристалларининг морфологияси бўйича ҳар хил шаклда бўлади. Масалан: ромбсимон, кубсимон, юмолоқ, ноаниқ шаклда. var. *kurstaki* учун характерли бўлган жуфт спорали икки типи мавжуд: кубсимон ва бипирамидал.

Шундай қилиб, кристалл ҳосил қилувчи бактерия *Bacillus thuringiensis* гуруҳига мансуб штаммларнинг морфологик хусусиятларини ўрганишда, ўрганилаётган штаммлар ҳар хил морфологик хусусиятлари, умумий ва хусусий белгилари билан фарқ қилиши билан характерланади. Шунингдек, микроскопик тадқиқотлар шуни кўрсатдики, штаммларнинг ўрасидаги фарқ уларнинг морфологик белгилари ва ҳосил қиладиган кристалларининг ҳар хил шаклда бўлиши намаён бўлди (1-расм).

Биз тадқиқот ўтказаётган штаммларнинг аксариятининг ҳосил қилган кристаллари пирамидасимон шаклга эга эканлиги билан характерланди (*var.galleriae*, *var.thuringiensis*). *var.thuringiensis* нинг пирамидасимон шаклдаги кристалларидан ташқари кубсимон формалари ҳам мавжуд. var. *kurstaki* штаммларининг кристаллари

оволсимон, кубсимон, пирамидасимон ва ноаниқ шаклдалиги намоён бўлди.

Адабиётлардаги манбалардан маълумки, *Bacillus thuringiensis* бактериясининг спора-кристаллар ҳосил қилиши хусусияти, унинг серотип ва штаммларига боғлиқ бўлади. (В.Ойба., 1994).

Шунга боғлиқ ҳолда биз бу бактерияларнинг спора-кристал ҳосил қилишини бир неча штаммлар мисолида ўргандик. Шунга мувофиқ равишда, агарли озиқада M_{1th} мутант штаммининг спора ҳосил қилиши 24 соатда 25-30% га етди. Табiiй штаммларда эса бу вақт мабойнида фақат вегетатив хужайра шаклланди.

Табiiй культураларни 36 соат давомида ўстирганда вегетатив хужайралар миқдори ўртача 65% га етди, шундан спора ҳосил қила бошлаган хужайралар 35% ни ташкил этди. Шу вақт мабойнида M_{1th} ва M_{2th} мутант штаммлари кузатилганда спора ҳосил қилган бактериялар 55-75% ни, вегетатив хужайралар эса 25-45% ни ташкил этди. 48 соат давомида табiiй штаммларни ўстирганимизда 45% вегетатив хужайралар, 55% споралар ҳосил қилганлиги кузатилди. M_{1th} мутант штамми шу вақт мабойнида ўстирилганда эса 90-95% споралар ҳосил қилди. Шунга мувофиқ равишда M_{2th} мутант штамми ўстирилганда бу кўрсаткич 55% ни ташкил этди.

Шунингдек, M_{1th} штаммини энг яхши озиқа муҳитида ўстириш вақтида спора-кристалл ҳосил қилиши табiiй штаммга нисбатан 18-20 соат олдин рўй берди.

Ўрганилаётган штаммларнинг спора ва кристаллар ҳосил қилиш хусусиятлари озиқа муҳитининг рН даражасига боғлиқлиги ҳам ўрганилди. Табiiй штаммларни ўстирганимизда 36 соатдан сўнг рН кўрсаткичи 7,4 ни ташкил этди. 48 соатдан сўнг муҳитдаги рН даражаси

8,8 гача кўтарилганлиги кузатилди. Шунга мувофиқ экилгандан 60 соатдан сўнг рН кўрсаткичи 7,8-7,7 гача пасайди.

M_{1th} штамми экилганда муҳитдаги рН кўрсаткичи 24 соатда 7,24 га, 36 ва 48 соатда 7,4-8,0 гача ўзгарганлиги кузатилди. Шунга мувофиқ равишда M_{1th} ва M_{2th} мутант штаммлари 72 соат давомида ўстирилганда озиқа муҳитидаги рН кўрсаткичи 8,0-8,6 гача кўтарилди. Табиий штаммларда эса бу кўрсаткич 7,7 ни ташкил этди.

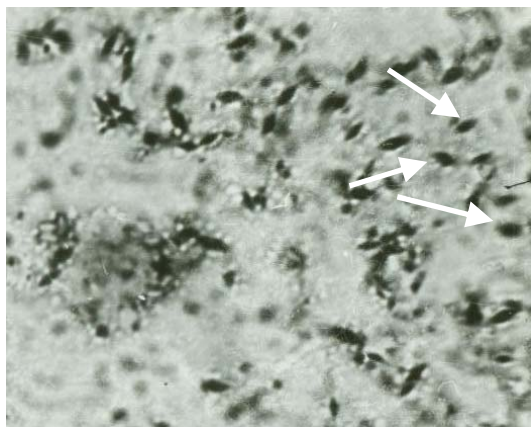
Адабиётлардан маълумки, озиқа муҳитидаги рН миқдорининг кўтарилиши культуралар ўсишига салбий таъсир этади. Шунга мувофиқ культураларни ўстириш учун озиқа муҳитидаги рН миқдорини имкони борича 7,0-8,0 да ушлаб туриш зарур бўлади. Озиқа муҳитида рН кўрсаткичининг 8,0 дан юқори кўтарилиб кетиши спорокристаллар ҳосил қилишини 1,5 бараварга сусайтиради.

Бундан ташқари, озиқа муҳидида рН кўрсаткичининг меъёрдан ортиқча бўлиши бактериялар биомассасининг тўпланишига ҳам салбий таъсир кўрсатди.

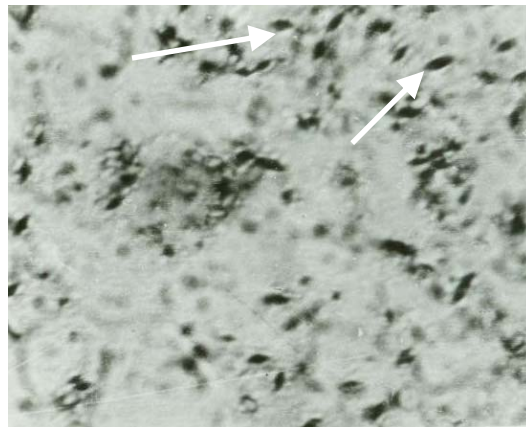
Масалан: табиий штаммлар 72 соат давомида, озиқа муҳити рН даражаси 6,8-7,4 да ўстирилганда тўпланган биомасса 32,0-33,4 мг/мл ни, M_{1th} ва M_{2th} мутант штаммларида эса 33,0-35,2 ва 29,0-30,0 мг/мл ни ташкил этди. Табиий ва мутант (M_{1th}) штаммларда бу миқдор 100% ни ташкил этса, мутант M_{2th} штаммида эса 85% ни ташкил этди. Барча штаммлар учун энг юқори биомасса тўпланиши озиқа муҳитида рН даражаси 7,8 да кузатилди (табиий штаммда 35,7 мг/мл, M_{1th} 39,4 мг/мл, M_{2th} 33,7 мг/мл).

Шунга мувофиқ равишда озиқа муҳитида рН даражасини 8,4-8,8 гача ошириб, культуралар биомассасининг тўпланишини ўргандик. Бунда озиқа муҳитидаги рН кўрсаткичининг 8,0 дан юқори бўлиши культураларнинг ўсиши ва тараққиётига салбий таъсир этиши, яъни

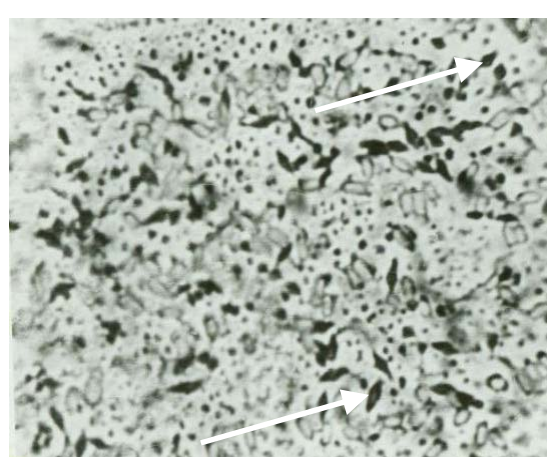
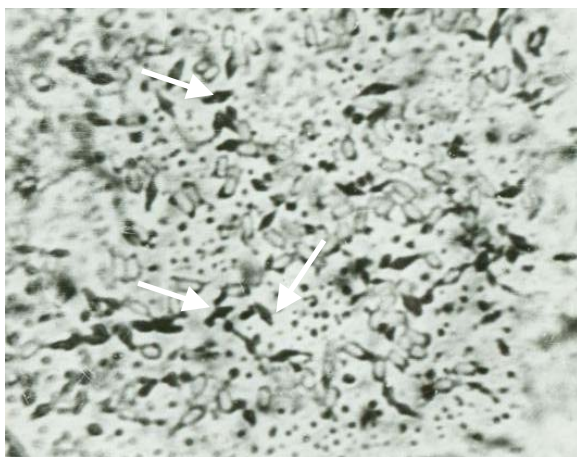
табiiй штаммда 26,1-22,0 мг/мл, M_{1th} штаммида 24,2-21,3 мг/мл ва M_{2th} штаммида 29,1-24,2 мг/мл гача пасайганлиги кузатилди. Бу ҳолат спора ҳосил қилувчи табiiй штаммда 85-90% ни, мутант штаммларда эса 70-75% ташкил этади.



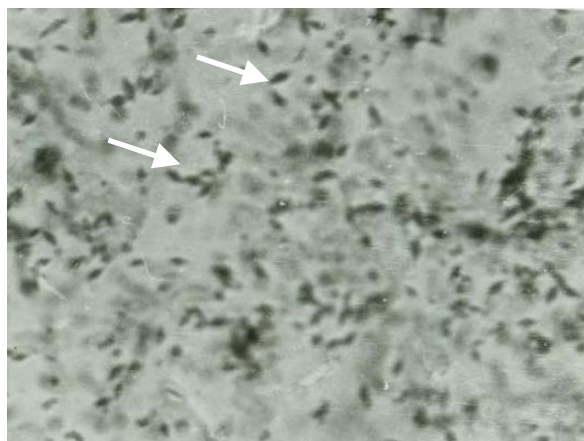
1



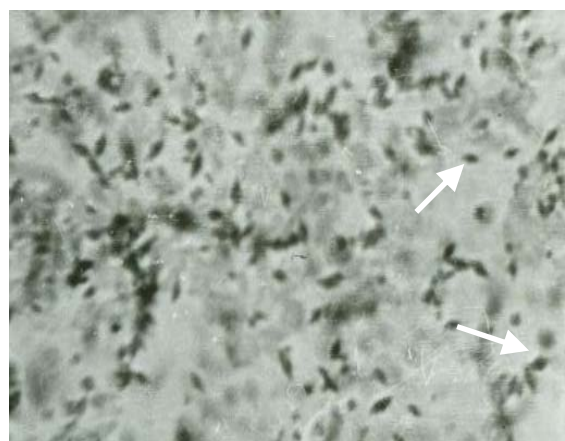
2



3



4



5

1-расм.

***Bacillus thuringiensis* бактерияси гуруҳлари кристаллар кўриниши**
1-4 рақамлар мувофиқ гуруҳларни билдиради; стрелка билан
характерли спора-кристаллар кўрсатилган.

Олинган натижалардан кўриниб турибдики, *Bacillus thuringiensis* гуруҳига мансуб бактерияларнинг спора ва кристаллар ҳосил қилишида озиқа муҳитидаги рН даражаси муҳим аҳамиятга эга. M_{1th} штаммининг спора ва кристаллар ҳосил қилиши учун озиқа муҳити рН кўрсаткичи 7,4 бўлиши энг қулай муҳит ҳисобланади.

2-жадвал

Bacillus thuringiensis var. *galleriae* культураларининг
биокимёвий белгилари

Белгилари	Штаммлар								
	1g	2g	3g	4g	5g	6g	7g	8g	9g
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Бўялиши (Грамм бўйича)	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Катализаторлик фаоллиги	+	+	+	+	+	+	+	+	+
АМК	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Ферментация кислота ҳосил бўлиши билан боради. Глюкоза	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Сахароза	-	-	+	±	-	-	-	-	-
Манноза	+	-	+	±	-	-	-	-	-
Мальтоза	+	-	+	+	+	+	-	-	+
Лактоза	+	+	+	+	+	-	+	+	+
Маннит	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Арабиноза	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Гидролиз: силицин	+	-	+	++	+++	++	+++	+++	++
Эскулин	+	+	+	++	+++	+++	++	+++	+++
Крахмал	++	+++	+++	++	+++	++	+++	+++	+++
Лецитиназа	-	-	+	+	-	-	-	-	-

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Мочевина	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Желатини	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Индол ҳосил қилиши	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ГПА парда ҳосил қилиши	-	+	+	+	+	+	+	+	+

Келтирилган жадвалдан кўриниб турибдики, барча штаммлар ацетилметилкарбинол (АМК) га ижобий реакция беради. Келтирилган штаммлардан 5 таси эса лецитиназа синтезламайди. 2 та штамми тескари ҳолат беради. Келтирилган штаммларнинг барчаси крахмални парчалайди, салицин ўзлаштиради (фақат 1 таси ўзлаштирмайди).

3-жадвал

Bacillus thuringiensis var. *thuringiensis* культураларининг биокимёвий белгилари

Белгилари	Штаммлар								
	1t	4t	8t	12t	14t	45t	51t	102t	118t
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Бўялиши (Грамм бўйича)	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Катализаторлик фаоллиги	+	+	+	+	+	+	+	+	+
АМК	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Ферментация кислота ҳосил бўлиши билан боради. Глюкоза	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Сахароза	-	-	++	++-	+	+	++	+++	+++
Манноза	++	++	++	±	-	++	+	++	++
Мальтоза	+	-	+	+	+	+	-	-	+
Лактоза	+	+	+	+	+	-	+	+	+

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Маннит	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Арабиноза	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Гидролиз силицин	++	-	++	+++	+++	+++	+++	+++	++
Эскулин	++	+	+++	+++	+++	+++	++	+++	+++
Крахмал	++	+++	+++	++	+++	++	+++	+++	+++
Лецитиназа	+	+	+	+	-	+	+	+	+
Мочевина	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Желатини	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Индол ҳосил қилиши	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ГПА да парда ҳосил қилиши	+	+	+	+	+	+	+	+	+

3g ва 4g штаммлари эса сахораза ва маннозадан фойдаланиши билан фарқ қилади. Яна бу штаммларнинг шуниси билан қизиқарлики, тухумли агарда лецитиназа синтезлайди.

Бу жадвалнинг кўрсатишича 14t штаммидан ташқари барча штаммлар лецитиназа ва ацетилметилкарбинол ҳосил қилади. Ҳамма штаммлар глюкоза синтезлайди. 1t ва 4t штаммлари бошқа штаммлардан сахораза ўзлаштирмаслиги билан фарқ қилади. Одатда *thuringiensis* нинг барча штаммлари сахораза ўзлаштиради.

Бу жадвалга эътибор берсак барча штаммлар лецитиназа ҳосил қилади,сахораза ҳосил қилмайди. Эскилингга нисбатан салбий реакция беради. Етарли миқдорда бактериологик парда ҳосил қилади. Манноза, маннит, арабиноза ва мочавина ҳосил қилмайди.

Ўтказилган тадқиқотларга кўра хулоса қилиш мумкинки, спора ҳосил қилувчи *Bacillus thuringiensis* гуруҳига мансуб ҳамма бактериялар физиологик ва биокимёвий белгиларининг турли туманлиги билан характерланади. Илмий адабиётлардан маълумки,

энтомопатоген бактериялар учун колонияларнинг морфологик ўзгарувчанлиги, шунингдек қаттиқ озиқа муҳитида ҳосил қилган колонияларнинг турли туманлиги характерлидир.

4-жадвал

Bacillus thuringiensis var. *dendrolimus* культураларининг биокимёвий белгилари.

Белгилари	Штаммлар								
	1d	12d	14d	17d	50d	57d	60d	61d	63d
Бўйлиши (Грамм бўйича)	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Катализаторлик фаоллиги									
АМК	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Ферментация кислота ҳосил бўлиши билан боради. Глюкоза	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Сахароза	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Манноза	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Мальтоза	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Маннит	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Арабиноза	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Гидролиз силицин	-	-	-	-	-	±	-	±	±
Эскулин	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Крахмал	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Лецитиназа	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Мочевина	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Индол ҳосил қилиши	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ГПА да парда ҳосил қилиши	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Bacillus thuringiensis бактериясининг икки типи мавжуд: S-типи, қирралари тўғри ва сирти текис. R-типи, қирралари нотекис ва сирти ғадур-будир. Бу икки типга мансуб бактериялар нафақат физиологик ва морфологик белгилари билан фарқ қилади, шунингдек штаммлар маҳсулдорлиги ва инсектицид фаоллиги билан ҳам ажралиб туради. [Е.Н. Троицкая.,1987] Масалан: *Bacillus thuringiensis* бактерияси 4-чи серотипи (var. *dendrolimus*) штаммларининг S-типи тоқ ипак қуртига кучли вирулентлиги билан, худди шу штаммнинг R-типи эса вирулентлик даражаси пастлиги ёки умуман таъсир этмаслиги билан характерланади. [Л.Ф.Ануфриев ва бошқа., 1981]. Бу бактерияларнинг 5-чи серотипи (var. *galleriae*) R-типи катта мум қуяси ва тоқ ипак қуртига нисбатан вирулентлик даражаси паст, S-типи эса ушбу зараркунандалар учун юқори фаолликка эга. [Г.Г.Кашкова.,1979].

Bacillus thuringiensis бактериясининг энтомопатогенлик фаоллиги эндо ва экзотоксинлар синтезлаш хусусиятига асосланган. Бактериологик препаратларга микроорганизмларнинг нафақат табиий шароитда, балки суний озиқа муҳитида ўстириш давомида метобализм жараёнида ҳосил бўладиган маҳсулотлар сифатида қаралмоқда.

Бактериологик токсинларнинг ҳашоратларга захарлилик таъсир даражаси тўлиқ ўрганилмаган. Шунинг учун уларни классификациялашда бир нечта хусусиятлар этиборга олинади. Жумладан: эндо ва экзотоксинларнинг бактерия хужайрасида жойлашган ўрнига қараб; ҳароратга муносабатига кўра (ҳароратга чидамли ёки ўзгарувчан); ферментатив хусусиятига кўра (протеаза, лецитиназа, эстераза) ва ҳоказо.

Хулоса қилиш мумкинки, бактериологик токсинларнинг энтомоцидлик таъсири лецитиназа, протеаза, гиалуронидаза ва фосфатаза каби ферменларга боғлиқ бўлади. Кўпгина

микроорганизмлар вакиллариининг энтомопатогенлик даражасида шунга ўхшаш ферментлар иштирок этади. Шу жумладан энтомопатоген бактерияларда инсектицидди метаболитлар иссиққонли ҳайвонлар учун зарарсиздир. Бунинг асосий сабаби иссиққонли ҳайвонлар билан ҳашоратларнинг метобализм жараёнининг бир-биридан сезиларли даражада фарқ қилишидадир деб ҳисоблаш мумкин.

Шундай қилиб спора ҳосил қилувчи *Bacillus thuringiensis* бактериясининг морфо-культурал, физиологик ва биокимёвий хусуситларини ўрганиш давомида қуюдаги хулосага келиш мумкин. Ўрганилган штаммлар турли хил морфологик хусусиятлари, бир-биридан фарқ қиладиган умумий ва хусусий белгилари билан характерланади.

Бизнинг олган ушбу натижаларимиз бошқа муаллифларнинг [R.M.Faust et al., 1982] *Bacillus thuringiensis* бактерияси 24 серотипига мансуб 33 та штаммларининг морфо-культурал, биокимёвий хусусиятлари ва ҳар хил шаклдаги кристаллар (пирамидасимон, юмолок, тухумсимон, кубсимон, ромбсимон, айримлари ноаниқ шаклда) ҳосил қилиши ҳақида берган маълумотларга мос келмоқда.

3.2. *Bacillus thuringiensis* бактериясининг спораларини ажратиш ва тозалаш

Маълумки кейинги йилларда *Bacillus thuringiensis* энтомопатоген бактерияси асосида яратилаётган инсектицид, ларвицид, фунгицид ва бактериоцид препаратларнинг қўлланилиш доираси кенгайиб бормоқда. Бироқ ушбу препаратларни амалиётга жорий этишда баъзи бир муаммолар ҳам пайдо бўлмоқда. Бу эса экологик тоза, таннархи арзон ва қўлланилиши бир қадар осон бўлган бу препаратларнинг фойдаланилиш доирасини чеклаб қўймоқда. Жумладан, яратилаётган препаратларнинг биологик фаоллиги кимёвий препаратларга нисбатан пастлиги, қўлланилиш доирасининг чекланганлиги, кенг дала шароитларида самарадорлиги етарли эмаслиги, фагга чидамли продуцентларнинг камлиги, қуруқ ва иссиқ иқлим шароитларда препарат асосидаги кристалл токсинларнинг чидамсизлиги каби қатор камчиликларни санаб ўтиш мумкин.

Келтирилган камчиликлар қаторига фундаментал нуқтаи назардан қараладиган бўлса, ҳали ечилиши зарур бўлган бир қатор эътибор берилмаган масалаларни кўриш мумкин. Жумладан, ўсимликларга препаратни сепиш жараёнида унинг асоси бўлмиш вегетатив ҳужайра, спора ва кристал токсинларнинг ўсимлик новдаси ва баргларига ёпишиш даражаси ва табиий ҳолда сақланиб туриш имкониятлари ўрганиб чиқилмаган. Ваҳоланки, *Bacillus thuringiensis* энтомопатоген бактериясининг ажратиб олинаётган штаммлари тупроқлар ва нобуд бўлган хашаротлар организми билан бир қаторда нисбатан тенг миқдорда ўсимлик барглари ва новдаларидан ҳам ажратиб олинаётганлигига гувоҳ бўлиш мумкин.

Қолаверса ушбу бактериялар асосидаги препаратларни қўллашда турли хил қўшимчалар (талк, каолин ва х.к.) билан бир қаторда ўсимлик бар ва новдасига ёпиштириш мақсадида, шунингдек, турли хил таъсирлардан (шамол, ёмғир, қуёш нури, турли ил механик тебранишлар ва х.к.) ҳимоялаш мақсадида биоплёнкалар ва елимлардан фойдаланиб келинмоқда.

Bacillus thuringiensis бактерияси асосидаги препаратларнинг икки хил таъсири тафовут қилинади: дастлаб, кристалл-токсинлар хашарот организмига киргандан кейин ишқори таъсир остида парчаланиб, организмни заҳарлайди ва хашаротни нобуд бўлишга олиб келади.

Кейинги таъсир эса хашарот организмига тушган спораларнинг кулай муҳитда ривожланиб, ривожланиши давомида қайтадан спора ва кристалл-токсинлар синтези натижасида вужудга келади.

Бунда *Bacillus thuringiensis* бактериясининг хашарот организмига ҳамда тупроққа ҳали тушмаган, ўсимтик танаси ва баргига ёпишиб қолган вегетатив ҳужайралар ва кристалл-токсинлар ташқи таъсирда қисқа мудатларда нобуд бўлиш эҳтимоли жуда катта. Аммо, спораларнинг турли хил таъсирларга чидамлилиқ хусусияти адабиётларда чуқур ўрганилган бўлиб, у табиатда узоқ вақт сақланиб қолади. Шундай экан унинг турли хил таъсирларга чидамлилиқ хусусиятидан фойдаланиб, ушбу препаратларнинг таъсир доирасини янада ошириш ва кенгайтириш имконияти вужудга келади. Бунинг учун эса спораларнинг табиий ҳолда жисмлар юзасида ёпишиш хусусияти ва бу хусусиятни амалга ошираётган манбаларни ўрганиш долзарб фундаментал муаммолардан бири ҳисобланади.

Илмий манбаларда бу борада илмий тадқиқот ишлари жуда кам ёритилганлиги сабабли тадқиқотларимиз давомида колликциямизда

сақланаётган ва турли хил биологик фаолликка эга бўлган *Bacillus thuringiensis* бактерияси штаммларининг споралари тадқиқ этилди.

Бунинг учун дастлаб *Bacillus thuringiensis* бактериясининг спора-кристалларини тоза ҳолда алоҳида ажратиш муаммоси пайдо бўлади.

Шу боисдан дастлаб культурал суюқликдаги *Bacillus thuringiensis* бактериясининг спора-кристалларини ажратишнинг бир қанча усулларини ўрганиб чиқдик.

Илмий манбаларда *Bacillus thuringiensis* бактериясининг δ -эндотоксининг хусусияти, унинг кимёвий таркиби ва унинг хашаротларга таъсир механизми ҳақида кенг ёритилган. Ушбу гуруҳ бактерияларнинг ўзига хос хусусиятларидан бири спора ҳосил қилиши билан биргаликда оксилсимон кристал-токсинлар ҳосил қилиши ҳисобланади.

Шу боисдан спора ва кристал токсинларни алоҳидалаш ва уларнинг хусусиятларини тадқиқ этиш алоҳида услубларни яратиш заруриятини туғдиради.

Ушбу усулларни асосан спора ва кристалларнинг хусусиятидан келиб чиққан ҳолда тўрт гуруҳга бўлиш мумкин: эрувчанлиги, юза қисмининг хусусияти, зичлиги ва спораларнинг ўсувчанлиги.

Ушбу бактерияларнинг инсектицид хусусияти кристал токсинларнинг фаоллиги билан боғлиқ бўлганлиги сабабли асосий эътибор шунга қаратилган. Биз эса асосий мақсадимиз спораларни тадқиқи этиш бўлганлиги боис мувофиқ услубларни танлашда эътиборни спораларга қаратдик. Бу борада аниқ услублар ишлаб чиқилмаган бўлсада адабиётларда кристалларнинг алоҳидалаш мобайнида споралар ҳам алоҳидаланиши кенг ёритилган.

Адабий манбалар билан таниши давомида бу каби усулларнинг кўплиги билан бир қаторда бир бирига мос келмаслигини ҳам кўриш

мумкин. Буни эса турли хил тадқиқотлар учун ва турли хил модификациялардан фойдаланилганлиги боис аниқ бир усулни танлаш имконияти чегараланганлиги билан изоҳлаш мумкин.

Улардан бири Э.К.Африкян томонидан тавсия этилган инсектицид кристал токсинларни ажратиш усули бўлиб, асосан 2% ли диметилформамид ёрдамида бир қадар пастроқ ишқорий муҳитда кристалларни эритиб олиш тавсия этилган.

Ушбу усул орқали амалга оширилган тадқиқот жараёнимиз 1-чизмада акс эттирилган.

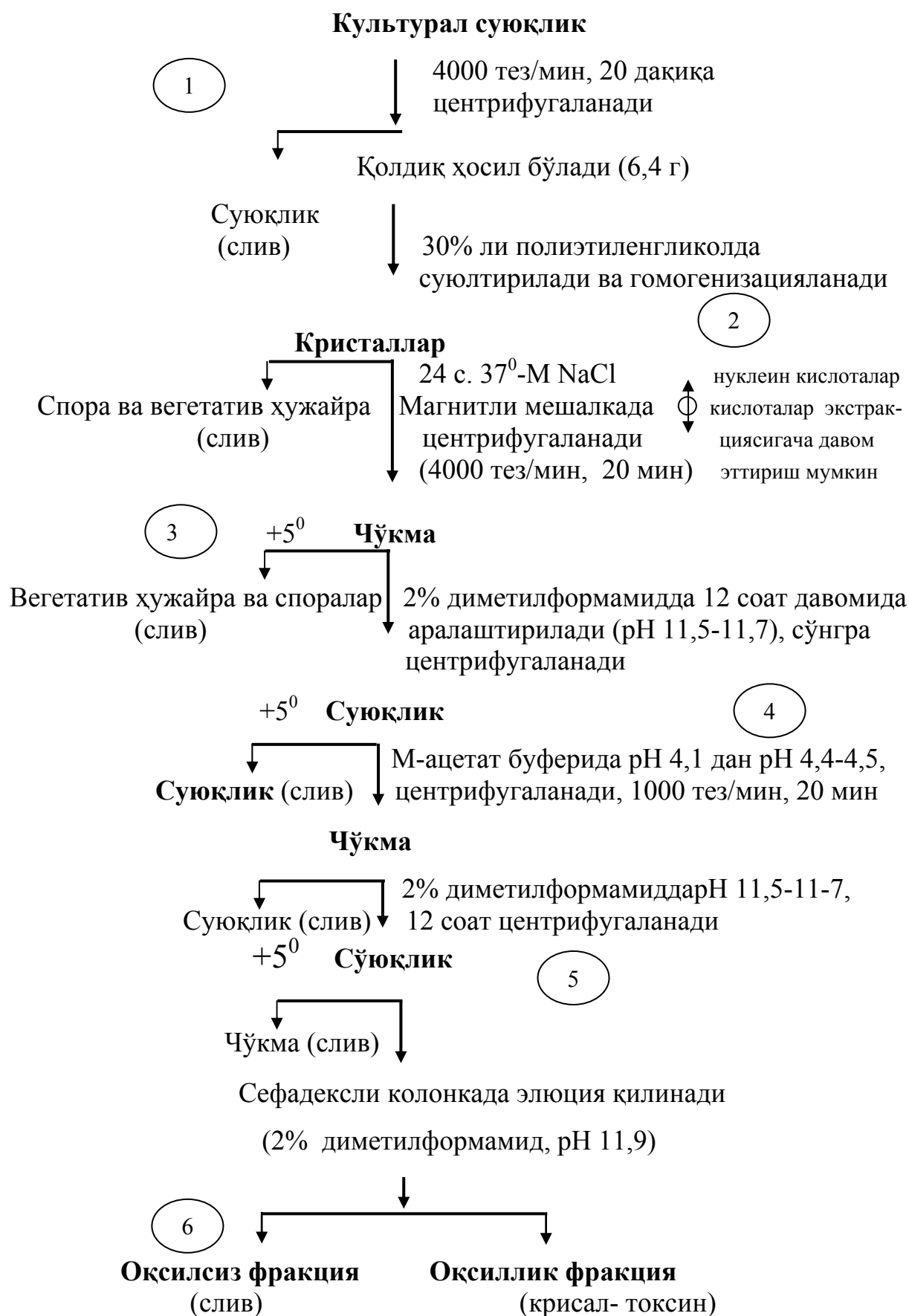
1-чизмадан кўриниб турибдики, амалга оширган тажрибаларимизда алоҳида спораларни ажратиш имконияти мавжуд эмас. Жумладан, жараённинг 2, 3, 4 ва 5 босқичларида кристалларни алоҳидалаш имконияти ошган сари вегетатив ҳужайралар ва спораларнинг қўшилган аралашмаси миқдори ҳам ошиб бормоқда. Бу ҳолдаги спораларнинг алоҳида хусусиятларини ўрганиш имконияти чегараланади.

Тадқиқотлар натижасида ушбу усулда спораларни тадқиқ этиш имконияти мавжуд эмаслиги қайд этилди.

Шу боисдан энг замонавий усуллардан бири бўлган ҳужайрани спора ҳосил қилиш вақтида юқори тезликда ультратовуш ёрдамида парчалаш усулини қўллаб кўрдик.

Ушбу усулда спора ҳосил қилган ҳужайралар юқори кучланишдаги ультратовушда парчаланади.

Ҳужайра парчалангандан кейин спора ва кристаллар центрифугаш орқали ажратиб олинади.



1-чизма. *Bac.thuringiensis* бактерияси энтомоцид кристал оқсилларини ажратиш ва тозалаш чизмаси (Э.К.Африкян, 1970)

Бу усулда амалга оширилган тадқиқотларимиз кристалл-оқсилларнинг парчаланмаганлигини микроскопик тадқиқотларда кўриш мумкин.

Ушбу усулда парчаланган хужайраларни центрифугалаш қийинчилик туғдириш қайд этилди. Чунки, спора-кристалларнинг зичлиги мувофиқ равишда $1,30-1,25 \text{ г/см}^3$ ни ташкил этмоқда.

Аммо, спораларнинг ўисмталари узилиши ёки бузилиш ҳолатлари вужудга келиш эҳтимоли борлиги ушбу усулни қўллаш имкониятини чегараб қўйиши мумкин.

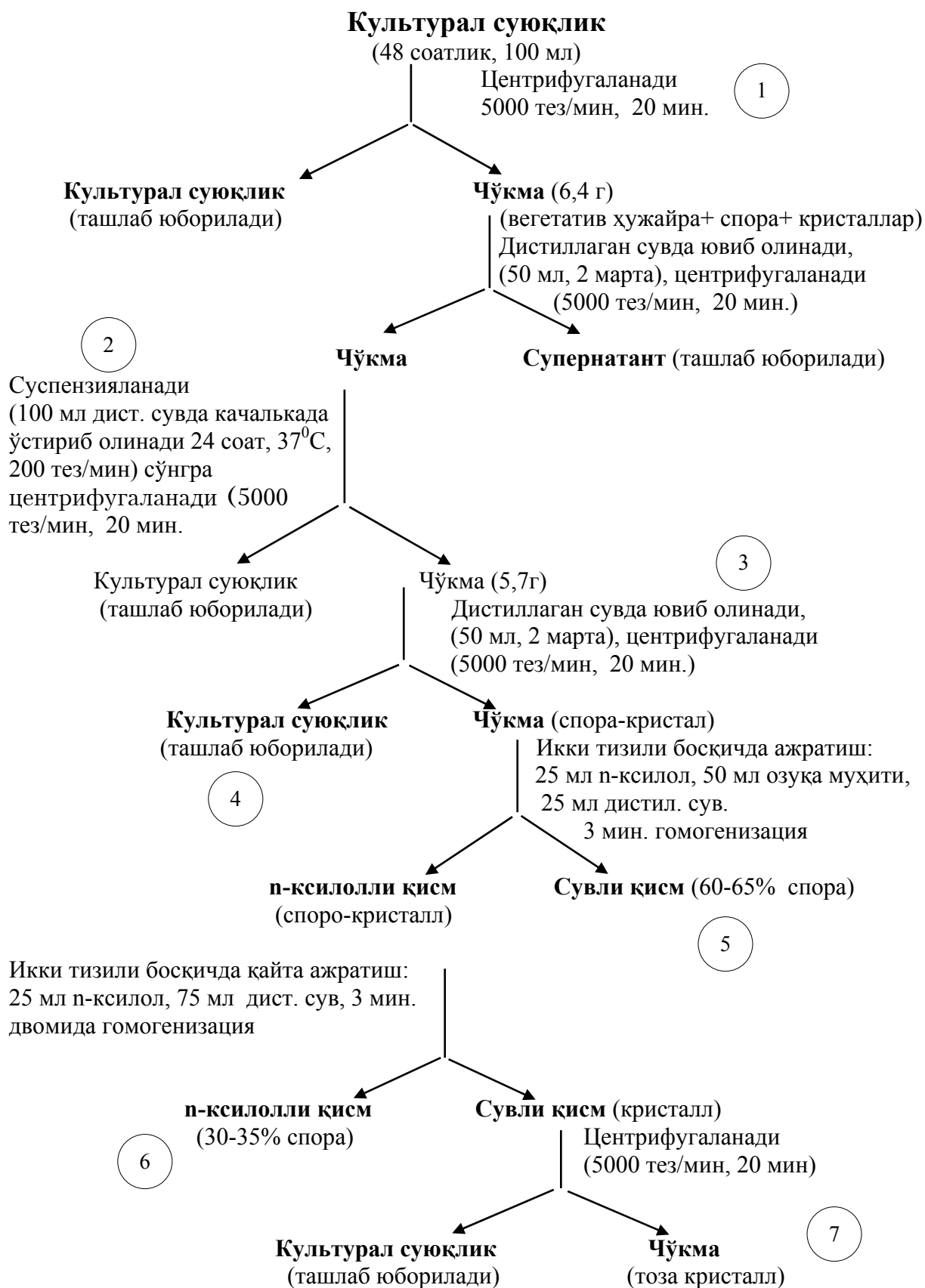
Шу боисдан ушбу п-ксилол ёрдамида спора ва кристалларни алоҳида ажратиб кўришга ҳаракат қилди.

Спораларни тоза ҳолда ва зарсиз ҳолда қуйидаги тартибда ажратиб олиш мумкинлиги қайд этилди (2-чизма).

Ушбу усулнинг афзаллиги п-ксилол ёрдамида ажратилганда кристалл оқсилларнинг таркиби бузилмайди. Шунингдек, споралар ҳам оқсилли қобик билан ўралганлиги боис зарарланмайди. Амалга оширилган жараён кетма-кетлиги 2-чизмада акс эттирилган.

2-чизмадан кўриниб турибди, жараённинг 5-босқичида споралар 60-65% гача сувли қисмга ўтиши кузатилади бун ҳолда ҳам спораларни тоза ҳолда ажратиб олиш имконияти мавжуд, аммо 100% га етмайди. Тадқиқотларда аниқлик бўлиши учун эса 90-95% гача спораларни ажратиб олиш талаб этилади.

Шу боисдан, 5-босқичда амалга оширилган жараённи давом эттириб кўрдик. Натижада 6-босқичда сувли фазада кристаллар, ксилолли фазада эса фақатгина споралар қолиши кузатилди (25-30%).



2-чизма. Культурал сууюқликдан *Bacillus thuringiensis* бактериясининг спора-кристалларини ажратиш ва тозалаш чизмаси

Демак ушбу усул орқали спораларни вегетатив хужайралар ва кристаллардан алоҳида ажратиш мумкин экан. Қолаверса кристалларнинг ўзини ҳам кейинги босқичда жуда тоза ҳолда (95-96%) ажратиб олиш имконияти туғилади.

Олинган спораларни ксилолли фазадан дистилланган сув ёрдамида чўктириб олиш ва ўрганиш мумкин.

Ушбу усулда ажратиб олинган спора ва кристалларни иммерсион ёғ томизган ҳолда музлатгичда узоқ вақт давомида ўрганиш учун сақлаш мумкинлиги ҳам кейинги тадқиқотларимиз учун қўл келади.

Шунингдек, тоза ҳолда ажратилган споралар ва кристалларнинг таъсир доирасини турли хил хашаротларда ўрганиш учун ҳам ушбу усул мос келади.

Ушбу усул орқали тоза ҳолда ажратилган спораларни қуритиш ва уларни кўпайтириш манбаи сифатида узоқ мудатга сақлаш ҳам мумкин бўлади. Бунда назарий жиҳатдан уларнинг биологик фаоллиги йўқолмайди.

3.3. *Bacillus thuringiensis* бактерияларида спора ўсимталарини тадқиқ этиш

Тадқиқотларимиз давомида асосий мақсад спораларни тадқиқ этиш бўлганлиги сабабли турли хил усулларда ажратилган спораларнинг люминисцент микроскопдаги ташқи кўринишини ўрганишга ҳаракат қилди.

Олинган натижалар 5-жадвалда акс эттирилган. Олинган натижалардан кўриниб турибдики, юқори кучланишли ультратовуш усулида ажратилган спораларда ўсимталар учраши ўрганилган 10 та штаммдан бор йўғи *Bti-L1* ва *Bt1g* штаммларида учраганлиги қайд этилди.

5-жадвал.

Bacillus thuringiensis бактерияси споралари ўсимталарининг мавжудлиги

Штаммлар	Кузатилган споралар сони	Ультратовуш усулида	Ксилолли усулда
Bt 1t	50	-	+
Bt 4t	45	-	+
Bt 8t	50	-	+
<i>Bti-L1</i>	50	+	+
<i>Bti-L2</i>	40	-	-
<i>Bti-15</i>	45	-	+
Bt1g	50	+	+
Bt2g	50	-	+
Bt3g	50	-	-
<i>Btk-ss</i>	30	-	+

n-кислота ёрдамида ажратилган штаммларнинг эса 80 фоизда спора ўсимталарининг учраши кузатилди. Бундан шундай хулосага келиши мумкинки, ультратовуш ёрдамида ҳужайра девори парчаланмиш жараёнида ёки ҳужайра девори парчалангандан кейин суюқликка чиққан спора ўсимталари ҳам зарарланади. Натижада спораларнинг ўсимталари узилиши ёки жуда қисқа бўлганлиги сабабли микроскопик тадқиқда сезилмас даражага келиши мумкин.

Шу боисдан кейинги тажрибаларимиз учун спораларни ажратиш учун асос n-кислота қилиб n-кислота ёрдамида ажратиш усулини танладик.

Қуйида эса коллекцияда сақланаётган *Bacillus thuringiensis* бактериясининг турли хил турларга мансуб штаммларида спора ўсимталари мавжудлиги ўрганилди.

Бунинг учун лаборатория коллекциясида сақланаётган 150 дан ортиқ штаммлардан фойдаланилди.

Олинган натижалар асосида бор-йўғи 34.2% штаммда споралар ўсимталар сақлаши аниқланди. Тадқиқотлар хулосасида бу натижани якуний хулоса деб бўлмаслиги қайд этилди. Экспериментлардаги хатоликлар ва турли хил штаммларнинг морфологик ўзгаришларга учраганлиги натижасида бу ҳолат қайд этилган бўлиши мумкин.

52 та штамм асосида олиб борилган тадқиқотлар асосида улардаги ўсимталарнинг жойлашиши ва ўлчамлари турли хилда эканлиги қайд этилди (6-жадвал).

Олинган натижалар асосида *Bacillus thuringiensis* бактериясининг спорадаги ўсимталарининг шаклини шартли равишда ананавий классификацияга бўйсинган ҳолда 4 гуруҳга бўлиш мумкин. Бунда уч гуруҳи перитрих ва 1 таси лофотрих ҳаракат органига бўйсиниши қайд этилди. Ўрганилган культураларнинг споралари тубуляр, филаментоз,

цилиндрсимон ва ворсинкасимон шакллардаги ўсимталар сақлаши қайд этилди.

6-жадвал

Bacillus thuringiensis бактерияси спораларининг тавсифи

Спора ўсимталари	Ўлчами	
	эни, нм	бўйи, мкм
Ворсинкасимон	1-2	0.5-1
Цилиндрсимон	3-5	4-6
Филаментоз	2-3	3-4
Тубуляр	5-8	4-6

6-жадвалдан кўриниб турибдики, спора ўсимталари тузилишига кўра фарқланишидан ташқари ўлчамлари билан ҳам ажралиб турибди.

Энг йирик ўлчамли ўсимталар сифатида тубуляр шаклдаги ўсимталар қайд этилди.

Ўрганилган штамлар орасида учрашига кўра *Bacillus thuringiensis* var. *thuringiensis* нинг 9 та штаммларидан 7 тасида учраган бўлса, Bt-102t штаммида ворсинкасимон, Bt-51t штаммида эса цилиндрсимон эканлиги қайд этилди (7-жадвал).

Ушбу шаклдаги ўсимталар учраши эса *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* 6 та, *Bacillus thuringiensis* var. *dendrolimus* да 1 та, *Bacillus thuringiensis* var. *galleriae* да 8 та, *Bacillus thuringiensis* subsp. *entomocidus* да 5 та, *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* да 5 та штаммда қайд этилди. Олинган натижалар кўрсатиб турибдики, *Bacillus thuringiensis* культураларининг асосий қисми тубуляр шаклдаги ўсимталар сақламоқда. Бу натижалар уларнинг ўлчами катталиги билан тадқиқ этилиши осон бўлганлиги билан ҳам боғлиқ бўлиш мумкин.

Бу ерда қизиқ ҳол сифатида баъзи бир турларда ўрганилган бир неча штаммларнинг бир нечатасидагина бошқа шаклдаги ўсимталар

қайд қилинмоқда. Бу ҳол экспериментдаги хатоликлар ёки штаммларнинг ўзига хос хусусиятларидан бири бўлиши мумкин. Аммо, тадқиқотлар натижасига кўра бир турга мансуб штаммлар бир хилдаги ўсимталар сақламаслигини кўриш мумкин.

Bacillus thuringiensis var. *israelensis* штаммларида бу ҳол яққол кўриниб турибди. Ўрганилган 7 та штаммларнинг 6 тасида тубуляр ва цилиндрсимон кўриниш қайд этилган бўлса, 1 та штаммда ворсинкасимон ўсимталар мавжудлиги аниқланди.

Шунингдек, *Bacillus thuringiensis* var. *dendrolimus* штаммларида спора ўсимталари деярли қайд этилмади. Бор-йўғи 1 та штаммда ўсимта мавжудлиги ва у ўлчамига кўра шартли равишда тубуляр кўринишдаги ўсимта деб ҳисобланди. Бу шундан далолат берадики, ушбу культураларда ўсимталар мавжуд эмас ёки баъзи ҳоллардаги ўсимталар учраши мумкин.

7-жадвал

Bacillus thuringiensis штаммларининг спора ўсимталари сақлаши ва уларнинг жойлашиши

Штаммлар	Спора ўсимталари шакллари		
	Тубуляр	Цилиндрсимон	Ворсинкасимон
1	2	3	4
<i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>thuringiensis</i>			
Bt 1t	+	-	-
Bt 4t	+	-	-
Bt 8t	+	-	-
Bt 12t	+	-	-
Bt 14t	+	-	-
Bt 45t	+	-	-
Bt 51t	-	-	+
Bt 102t	-	+	-
Bt 118t	+	-	-
<i>Bacillus sphaericus</i>			
<i>Bsph1a</i>	-	-	-
<i>Bsph12</i>	-	-	-
<i>Bsph23</i>	-	-	-

<i>Bsph47</i>	-	-	-
<i>Bsph75</i>	-	-	-
1	2	3	4
<i>Bacillus thuringiensis var.israelensis</i>			
<i>Bti-L1</i>	+	+	-
<i>Bti-L2</i>	+	+	-
<i>Bti-15</i>	+	+	-
<i>Bti-30</i>	+	+	-
<i>Bti-30a</i>	+	+	-
<i>Bti-41</i>	-	-	+
<i>Bti-41a</i>	+	+	-
<i>Bacillus thuringiensis var. dendrolimus</i>			
Bt 1d	-	-	-
Bt 12d	-	-	-
Bt 14d	-	-	-
1	2	3	4
Bt 17d	-	-	-
Bt 50d	-	-	-
Bt 57d	-	-	-
Bt 60d	-	-	-
Bt 61d	+	-	-
Bt 63d	-	-	-
<i>Bacillus thuringiensis var.galleriae</i>			
Bt1g	+	-	-
Bt2g	-	+	-
Bt3g	+	-	-
Bt4g	+	-	-
Bt5g	+	-	-
Bt6g	+	-	-
Bt7g	+	-	-
Bt8g	+	-	-
Bt9g	+	-	-
<i>Bacillus thuringiensis subsp.entomocidus</i>			
Bt7ent	+	-	-
Bt13ent	+	-	-
Bt15ent	+	-	-
Bt15-1ent	+	-	-
Bt22ent	+	-	-
<i>Bacillus thuringiensis subsp. kurstaki</i>			
<i>Btk-ss</i>	+	-	-
<i>Btk spl</i>	+	-	-
<i>Btk-spp12</i>	+	-	-
<i>Btk spp15</i>	+	-	-

<i>Btk spp30</i>	+	-	-
<i>Btk spp76</i>	-	+	-

Bacillus thuringiensis subsp. *kurstaki* нинг ўрганилган 6 та штаммдан 5 таси тубуляр кўринишга эга эканлиги ва 1 тасигина цилиндрсимонлиги қайд этилди.

Bacillus thuringiensis бактерияси культуралари спораларининг ўсимталарини ўрганиш давомида шундай хулосага келиш мумкинки, асосий қисм штаммлар тубуляр шаклга эга ва улар салмоқли ўрин эгаллайди. Бу уларнинг ўлчами билан боғлиқ бўлиши мумкин.

Филаментоз шаклдаги ўсимталар эса эни жуда кичик ва спорадан ажралмаган ҳолда бўлганлиги учун аниқлаш қийинчилик туғдирмоқда ва шу сабабдан жуда кам қайд этилмоқда. Шу боисдан уларнинг культуралар бўйича тарқалиши бўйича хулоса чиқариб бўлмайди.

Тубуляр кўринишдаги ўсимталар эса етарли даражада турғун тузилишга эга ва негатив бўялганда ҳам препаратив ёпиштирилган ҳолда ҳам ўрганиш осонлиги билан бошқаларидан яққол ажралиб туради. Ворсинкасимон кўринишли ўсимталар ҳам нисбатан барқарор ва спорага мустаҳкам ёпишган кўринишда учрайди.

Шундай қилиб, *Bacillus thuringiensis* бактерияси споралари ўзида турли хил кўринишли, споранинг турли хил томонларида жойлашган ва бир биридан ўлчамлари билан фарқланувчи ўсимталар сақлаши ўрганилди. Биринчи уч гуруҳ спораларнинг барча томонларини қамраб олса, ворсинкасимон ўсимталар споранинг фақатгина бир томонида жойлашиши қайд этилди.

Илмий манбаларда *Bacillus thuringiensis* бактериясининг вегетатив хужайралари ўсиб ривожланиши давомида танасини тўлиғича қамраб олган, ҳаракатни таъминлаб берувчи хивчинлар мавжудлиги кенг

ёритиб берилган. Кўпчилик тадқиқотчилар культураларнинг юза қисмга ёпишқоқлигини ушбу хивчинлар билан боғлашади.

Бизнинг тадқиқотларимиз натижасида шундай хулосага келиш мумкинки, *Bacillus thuringiensis* бактерияси ҳосил қилган спораларида турли хил ўлчам ва шакллардаги ўсимталар мавжуд бўлиб, улар жисмлар юзасида спораларнинг ёпишиш хусусиятини таъминлаб беришда иштирок этади.

3.4. *Bacillus thuringiensis* бактерияси спораларининг гемагглютин фаоллиги

Кейинги йилларда адгезив хусусиятни намоён қиладиган кўплаб микроорганизмлар кенг ўрганилмоқда. Уларнинг кўпчилигида ушбу хусусиятни вегетатив хужайраларда жойлашган ва ҳаракат органи ҳисобланадиган хивчинлар ёки чангчалар (ёки фибринлар) бажариб бериши кўпчилик олимлар томонидан қайд этилган. Жумладан, ичак таёқчасида булар бактериянинг турли хил субстратларга ёпишиш вазифасини бажариб беради (7).

Кенг тарқалган ва яхшироқ ўрганилган умумий тип (чангчалар) хужайра нишон юзасидаги манноза сақлайдиган рецепторлар ҳисобланади.

Тадқиқотларимиз давомида ўрганилаётган культураларнинг ёпишқоқлик хусусиятини аниқлаш мақсадида ичак таёқчасининг адгезив хусусиятини ўрганиш учун қабул қилинган ва кенг қўлланиладиган гемагглютинация реакция моделидан фойдаландик (12).

Тажрибаларимиз давомида турли хил штамм ва культураларда шакл ва ўлчамларига кўра ҳар хилдаги ўсимталар учраганлиги учун асосан тубуляр кўринишли спора ўсимталарининг РГА таҳлилини ўтказдик. Олинган натижалар қуйидаги жадвалларда акс эттирилган.

РГА натижалари кўрсатишича ўрганилаётган *Bacillus thuringiensis* бактериясининг барча кичик турлари денгиз чўққаси эритроцитларида у ёки бу даражада агглютинация намоён этади.

8-жадвал.

Bacillus thuringiensis var. *israelensis* штамmlарининг РГА бўйича тавсифи

Штамmlар	Мавжуд ўсимталар			РГА, 1/титр	Ойнага ёпишқоклиги*, срм/срм
	Тубуляр	Цилиндрсимон	Ворсинкасимон		
<i>Bti-L1</i>	+	+	-	12	0.6
<i>Bti-L2</i>	+	+	-	8	0.6
<i>Bti-15</i>	+	+	-	6	0.4
<i>Bti-30</i>	+	+	-	4	0.4
<i>Bti-30a</i>	+	+	-	10	0.5
<i>Bti-41</i>	-	-	+	8	0.6
<i>Bti-41a</i>	+	+	-	4	0.4

9-жадвал

Bacillus thuringiensis subsp. *kurstaki* штамmlарининг РГА бўйича тавсифи

Штамmlар	Мавжуд ўсимталар			РГА, 1/титр	Ойнага ёпишқоклиги*, срм/срм
	Тубуляр	Цилиндрсимон	Ворсинкасимон		
<i>Btk-ss</i>	++	-	-	76	1.6
<i>Btk sp1</i>	++	-	-	72	1.4
<i>Btk-spp12</i>	++	-	-	69	1.3
<i>Btk spp15</i>	++	-	-	72	1.4
<i>Btk spp30</i>	++	-	-	70	1.0
<i>Btk spp76</i>	-	++	-	48	0.4

РГА таҳлили бўйича энг юқори кўрсаткични *Bacillus thuringiensis* var.galleriae штаммлари намоён этган бўлса (8-жадвал), *Bacillus thuringiensis* subsp. kurstaki (9-жадвал) штаммларида бу натижаларнинг бир қадар пасайганлигини кўриш мумкин.

Bacillus thuringiensis var.israelensis штаммларида эса жуда паст кўрсаткичлар қайд этилди. Яъни, ушбу кичик турнинг Bti-41a, Bti-30, Bti-15 штаммларида агглютинация реакцияси кетмаганлиги кузатилди. Келтирилган натижалардан кўриниб турибдики, асосий реакцияни тубуляр шаклдаги ўсимталар намоён этмоқда.

10-жадвал

Bacillus thuringiensis var.galleriae штаммларининг РГА бўйича тавсифи

Штаммлар	Мавжуд ўсимталар			РГА, 1/титр	Ойнага ёпишқоқлиги*, срм/срм
	Тубуляр	Цилиндрсимон	Ворсинкасимон		
Bt1g	++++	-	-	102	2.2
Bt2g	-	++	-	56	0.6
Bt3g	++++	-	-	115	2.3
Bt4g	++++	-	-	112	2.3
Bt5g	+++	-	-	98	2.0
Bt6g	+++++	-	-	122	2.4
Bt7g	+++	-	-	100	2.2
Bt8g	+++	-	-	96	2.0
Bt9g	++	-	-	84	1.5

Ўсимталарнинг споралар хусусиятидан келиб чиқиб сиртга ёпишишини ўрганиш учун икки хил усулдан фойдаланилди. Олинган натижалар 8-10-жадвалларда акс эттирилган. Ушбу усул заррачаларнинг гидрофоблигини характерлаши билан ажралиб туради.

Тоза ойнага спораларнинг ёпишиши ҳамда ойнага фармвар суртилгандан кейинги ёпишиш хусусияти таҳлил қилинганда *Bacillus thuringiensis* var.galleriae штаммларининг фаоллиги юқори бўлиши қайд этилди. Бунга тескари ҳолда эса *Bacillus thuringiensis* subsp.kurstaki штаммлари намоён этганлигини кўриш мумкин.

Шунингдек, спораларнинг ўсимталарни қанча миқдорда сақлашига боғлиқ ҳолда агглютинация реакциялари орасидаги корреляциянинг ошиб боришини кузатиш мумкин.

Шундай қилиб, *Bacillus thuringiensis* бактерияси споралари кристалл-токсинларга боғлиқ бўлмаган ҳолда ҳам эритроцитларни агглютинлаш қобилиятига эга эканлиги қайд этилди.

Бу эса ўз навбатида ўсимликлар барглари, новдаси ва мевалари юзасига сепиладиган инсектицид препаратлардаги спораларнинг ўсимталари адгезив фаоллик намоён этиши натижасида, спораларнинг инсон организмига туғшиш хавфи юқори бўлишини кўрсатади.

УМУМИЙ ХУЛОСАЛАР

1. Специфик хусусиятларига кўра фарқланувчи *Bacillus thuringiensis* энтомопатоген бактерияларининг касаллик келтириб чиқарувчи кристалл оксиллари ҳамда спораларини п-ксилол ёрдамида икки босқичли кетма-кет ишлов бериш усули ёрдамида тоза ҳолда ажратиб олиш усули ишлаб чиқилди; Бу келгусида кишлоқ хўжалик ўсимликлари асосидаги озуқа манбалари таркибидаги энтомопатоген бактериялар токсинларининг мавжудлик даражасини аниқлашда муҳим аҳамият касб этади деб ҳисоблаймиз.
2. 52 та штамм асосида олиб борилган тадқиқотлар асосида улардаги ўсимталарнинг жойлашиши ва ўлчамлари турли хилда эканлиги қайд этилди ҳамда шартли равишда 4 гуруҳга бўлинди: бунда уч гуруҳи перитрих ва 1 таси лофотрих ҳаракат органига бўйсиниши қайд этилди. Ўрганилган культураларнинг споралари тубуляр, филаментоз, цилиндрсимон ва ворсинкасимон шакллардаги ўсимталар сақлаши аниқланди. Ушбу ўсимталар ўсимлик танаси, барглари ва унинг меваларига ёпишқоқлик (адгезивлик) хусусиятини таъминлаши орқали бактерия спораларининг инсон организмига тушиш хавфини ошириши биринчи маротаба қайд этилди.
3. Шунингдек, ўрганилган штаммларнинг барчасида турли хил фаолликдаги агглютинловчи фаоллик мавжуд эканлиги аниқланди, жумладан юқори фаолликни тубуляр шаклда спора-ўсимталари кўрсатиши аниқланди. Ушбу ўсимталар *Bacillus thuringiensis* энтомопатоген бактерияси спораларининг адгезив фаолиятида фаол иштирок этади деган хулосага келинди.

ФОЙДАЛАНИЛГАН АДАБИЁТЛАР РЎЙХАТИ

1. Юдина Т.Г. Сравнение антибиотической активности белковых включений бацилл и бактерий – симбионтов энтомопатогенных нематод. // Проблемы экологии и физиологии микроорганизмов: К 110-летию со дня рожд. проф. Е.Е.Успенского. Науч. конф., 21 дек., 1999. Москва, МГУ. -М., 2000. С.107.
2. Кандыбин Н.В., Ермолова В.П. Снижение пестицидной нагрузки на агоэкосистемы. // Защита растений. -1995, 9. –С.23-26.
3. Кандыбин Н.В., Смирнов А.В. Малотоннажное производства биопрепаратов: проблема становления. // Защита растений. -1997, 8. –С.16-19.
4. Нугманова Т.А., Пахтуев А.И. Перспективы производства микробиологических препаратов для защиты леса. // Биол. и интегр. защита леса: Тезисы докл. междунар. симпозиума (7-11 сентября 1998). –Пушкино Москов. обль., 1998. –С.81-82.
5. Ромашева Л.Ф. Задачи и основные направления научных исследований в области изыскания биологических методов борьбы с кровососущими членистоногими.//Кристаллообразующие микроорганизмы и перспективы их использования в птицеводстве. Изд.: Илим. Фрунзе. 1981. –С.3-13.
6. Ромашева Л.Ф., Проценко А.И., Заводчикова Р.Е. Возможности использования бактериального препарата эктопаразита в борьбе с вредителями сельскохозяйственных, плодовых и лесных культур. // Энтомологических исследования в Киргизии. Изд.: Илим. Фрунзе. 1985. –С.113-119.
7. Ромашева Л.Ф., Лавренюк Н.М. Бактерии группы *Bacillus thuringiensis* – биологические регуляторы численности клещей

- Derma nyssus Gallinae Redi*, 1674 и их антогонистические свойства. Изд.: Илим. Фрунзе. 1986. –С.119.
8. Узденов У.Б. Выделение, изучение и оценка штаммов *Bacillus thuringiensis* для борьбы с вредными членистоногими в Киргизии: Автореф.дис.канд. – Алма-Ата. 1986. –С.24.
 9. Schnepf H., Ernest., Stockhoff Brain., Knuth Mark. Патент 5702703 США, МПК6 А01N 63/00, C05F 11/08. Опубл. 30.12.1997.
 10. Ioriatti Claudio., Pasqualini Edison., Delaiti Marco. Studio dell'attività di *Bacillus thuringiensis* Berliner su tre specie di Tortricidi ricamatori del Mela. // Boll. Ist. Entomol. Univ. studi Bologna. -1996. -50. –Pp.73-93.
 11. Shelter David J., Niemczyk Harry D., Power Kevin T. Application of *Bacillus thuringiensis* strains “buihui” for control of white grubs in Turfgrass -1996. //Spec.Circ./ Ohio State Univ. Ohio Agr.Res. and Dev.Cent. -1997.-№155. –Pp.58-69.
 12. Zhao Qiuyan., Zhao Xiaohong., Liu Guangping., Wu Baoguo. Dongbei linye daxue xuebao (Китай.) (Выделение и определение патогена *Dendrolimus superans*). / J.North-East Forest.Univ. -1998. -26, №1. – Pp.70-71.
 13. Cantwell G.E., Cantelo W.W. *Bacillus thuringiensis* var.*thuringiensis*. Control of the *Colorado potato beetle* with *Bacillus thuringiensis* variety *thuringiensis*. //J. Amer. Potato. -1984. –v.61. №8. Pp. 1-12.
 14. Cantwell G.E., Cantelo W.W. Control of the *Colorado potato beetle* with *Bacillus thuringiensis* variety *thuringiensis*. //J. Amer. Potato. -1984. –v.61. №4. Pp. 23-29.
 15. Cantwell G.E., Cantelo W.W., Schroder R.F.W. The integration of a bacterium and parasites to control the *Colorado potato beetle* and the *Mexican bean beetle*. //J. Entomol. Sci. -1985. –v.20. №1. Pp. 38-42.

16. Weiser J., Deseo K.V. Microbiol control of pests and its possible application in Italy. // Metodi alternat. Lotta chim. dif. cif. agr. 10 Con. inf. (Cesena, 10-11 ott, 1985). – Cesena, 1986. Pp. 86-88.
17. Кандыбин Н.В. Бактериальные средства борьбы с грызунами и вредными насекомыми: теория и практика. / М.: Агропромиздат, 1989. С.172.
18. Ali Arshad., Chow dhury Manjur A., Aslam Abu F.M., Mahmud-ul-Ameen., Hassain Mohammad I., Habiba Dilshod B. Field trials with *Bacillus sphaericus* and *Bacillus thuringiensis* serovar *israelensis* commercial formulations against *Cukex quinquefasciatus* larvae in suburban Dhaka, Bangladesh // Med.Entomology and Zool.-2000.-51, №4.-С.257-264.
19. Boisvert Mario, Boisvert Jacques, Aubin Antoine. A new field procedure and method of analysis to evaluate the performance of *Bacillus thuringiensis subsp. israelensis* liquid formulations in streams and rivers. // Biocontr. Sci. and Technol. 2001. 11. №2. Pp.261-271.
20. Барбашова Н.М., Кандыбин Н.В., Симонова Л.А. – В кн.: Бактериальные средства и методы борьбы с насекомыми и грызунами. Л., 1972. С.30-36.
21. Скворцова М.М., Толчина Я.Г. Гурауца Н.Я. – В сб.: Микробиология – народному хозяйству. Труды Биологического института СО АН СССР. Т.27. Новосибирск, «Наука», 1974. С.100-107.
22. Скворцова М.М., Толчина Я.Г. Гурауца Н.Я. –«Сибирский вестник сельскохозяйственной наук», 1974, №4. С.43-77.
23. Скворцова М.М. Усовершенствование питательных сред для культивирования *Bacillus thuringiensis* var.galleriae при

- промышленном производстве энтобактерина. Автореф. канд. дисс. Л., 1977. С.23.
24. Ховрычев М.П., Слободкин А.Н., Сахарова З.В., Блохина Т.П. Рост и развитие *Bacillus thuringiensis* в условиях многостадийного непрерывного культивирования. /Микробиология, 1990. вып.6. т.59. С. 998-1003.
25. Африкян Э.Г. Энтомопатогенные бактерии и их значение. Ереван: Изд-во АН АрмССР, 1973.
26. Петр С.Дж. Основы культивирования микроорганизмов и клеток. М.: Мир, 1978. С.135.
27. Работнова И.Л. Итоги науки и техники. Микробиология, 1975, т.4. С.5.
28. Yoshio Akiba and Kunihiko Katoh. Microbial Ecology of *Bacillus thuringiensis* V. Selective Medium for *Bacillus thuringiensis* vegetativ cells. / Appl. Ent.Zool.1986. 21 (2): Pp. 210-215.
29. Perani M and Bishop Alistair. Effects of media composition on δ -endotoxin production and morphology of *Bacillus thuringiensis* in wild types spontaneously mutated strains. / Microbios. 2000, 101. Pp.47-66.
30. Rajalakshmi S. and Shethna Y.I. The effect of amino acids on growth, sporulation and crystal formation in *Bacillus thuringiensis* var.*thuringiensis*. / J. Indian Inst.Sci. 1977. 59. Pp. 169-176.
31. Mignone C.F. and Avignone-Rossa C. Analysis of glucose carbon fluxes in continuous cultures of *Bacillus thuringiensis*. / Appl. Microbiol. Biotechnol. 1996, 46. Pp.78-84.
32. Dulmage H.T. Productions of the spore δ -endotoxin complex by variants of *Bacillus thuringiensis* in two fermentation media. / J. Invert.Pathol. 1970, 16. Pp.385-390.

33. Feitelson J.S., Payne J., Kim L. *Bacillus thuringiensis*: insects and beyond. // Bio/Technology. 1992, 10. Pp.271-275.
34. Aronson AL. The two faces of *Bacillus thuringiensis*: insecticidal proteins and postexponential survival. // Molec. Microbiol. 1993. 7. Pp.489-496.
35. Suzuki N., Hori H., Ogiwara K., Asano S., Sato R., Ohba M., Iwahara. Insecticidal spectrum of a novel isolate of *Bacillus thuringiensis* serovar *japonensis*. // Biol. Control. 1992. 2. Pp.138142.
36. Hofte H., Whiteley HR. Insecticidal crystal proteins of *Bacillus thuringiensis*. // Microbiol. Rev. 1989. 53. Pp.242-255.
37. Tailor R., Tippet J., Gibb G., Pells S., Pike D., Jordan L., Ely S. Identification and characterization of a novel *Bacillus thuringiensis* δ -endotoxin entomocidal to *Coleopteran* and *Lepidopteran* larvae. // Molec. Microbiol. 1992. 6. Pp.1211-1217.
38. Ogiwara K., Hori H., Minami M., Takeuchi K., Sato R., Iwahara H. Nucleotide sequence of the gene encoding novel delta-endotoxin from *Bacillus thuringiensis* serovar *japonensis* strain *Buibui* specific to *scarabaeid* beetles. // Curr. Microbiol. 1995. 30. Pp.1-9.
39. Lereclus D., Bourgouin C., Iecadet MM. Klier A., Rapoport G. Role, structure, and molecular organization of the genes coding for the parasporal σ -endotoxins of *Bacillus thuringiensis*. // In: Smith R., Slepecky A., Setlow P (eds) Regulation of Prokaryotic Development: Structural and Functional Analysis of Bacterial Sporulation and Germination. Washington DC: American Society for Microbiology. 1989. Pp.255-276.
40. Deml R., Meise T., Dettner K. Effects of *Bacillus thuringiensis* δ -endotoxins on food utilization, growth, and survival of selected phytophagous insects. // J. Appl. Entomol. 199. 123. №1. Pp.55-64.

41. Brown KL., Whiteley HR. Isolation of a second *Bacillus thuringiensis* RNA polymerase capable of transcribing from a crystal protein genes. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1988. 85. Pp.4166-4170.
42. Brown KL., Whiteley HR. Isolation of the second *Bacillus thuringiensis* RNA polymerase that transcribes from a crystal protein gene promoter. // J. Bacteriol. 1990. 172. Pp.6682-6688.
43. Knight A.L., Lacey L.A., Stockhoff B.A., Warner R.L. Activity of CryI endotoxins of *Bacillus thuringiensis* for four tree fruit leafroller pest species (*Lepidoptera: Tortricidae*). // J. Agr. Entomol. 1998. 15. №2. Pp.93-103.
44. Lee Choong-Sik., Aronson Arthur I. Cloning and analysis of δ -endotoxin genes from *Bacillus thuringiensis subsp.alesti*. // J. Bacteriol. 1991. 173. №20. Pp.6635-6638.
45. Visser B., Munstermam C., Staker Andries., Dirkse Wimg. A novel *Bacillus thuringiensis* gene in coding a *Spodeptera exigna* – specific crystal protein. // J. Bacteriol. 1990. 172. №12. Pp.6783-6788.

ЧОП ЭТИЛГАН ИШЛАР РЎЙХАТИ

Қодиров А.А., Тураев А.Р. Белковый состав мутантного штамма кристаллообразующих бактерий *Bacillus thuringiensis* var. *thuringiensis* M_{1th}. «Умидли кимёгарлар-2010» Тошкент кимё технология институти ёш олимлари: докторант, аспирант, илмий ходим, магистратура ва бакалаврият талабаларининг XIX-илмий техникавий анжумани мақолалар тўплами. 2010 й. 50-51 бетлар.

Утаназаров А.П., Кодиров А.А., Хужамшукуров Н.А., Тошмухамедов М.С., Тураев А.Р. Морфолого-культуральные особенности бактерий группы *Bacillus thuringiensis* /Актуальные вопросы в области технических и социально-экономических наук// Межвузовский сборник. Ташкент, 2008 г. С. 22.

ИЛОВА