

**BACILLUS THURINGEIENSIS BAKTERIYASINING QISHLOQ
XO'JALIGIDAGI NAZARIY VA AMALIY AHAMIYATI**

Toshtemirova Shaxzoda Rashid qizi

Mamatqulova Iroda Ergashovna

O'zbekiston Milliy Universiteti Jizzax filiali

Gmail:toshtemirovashaxzoda105@gmail.com

Annotatsiya: Ushbu tezisda *Bacillus thuringiensis* (Bt) bakteriyasining insektitsit xususiyatlari va qishloq xo'jaligidagi ahamiyatlari ko'rib chiqiladi. Ya'ni *Bacillus thuringiensis* (Bt) ning *Kattta mum kuya* (GWM) *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae) asalari uyalariga jiddiy zarar yetkazadigan asosiy zararkunandaga qarshi kurashishda ishlatilishi yoritilgan.

Kalit so'zlar: *Bacillus thuringiensis*, Cry va Cyt - toksin, insektitsit, ekologik xavfsizlik, d-endotoksinlar, GWM

Kirish: *Bacillus thuringiensis* (Bt) tuproq bakteriyasi bo'lib, o'sish siklining statsionar bosqichida spora hosil qiladi. Sporlar kristallarni o'z ichiga oladi, ular asosan bir yoki bir nechta Cry va yoki Cyt oqsillarini (shuningdek, d-endotoksinlar deb ham ataladi) kuchli va o'ziga xos insektitsid faolligiga ega. Bt ning turli shtammlari har xil turdagi toksinlarni hosil qiladi, ularning har biri hasharotlarning tor taksonomik guruhiga ta'sir qiladi. Shuning uchun Bt toksinlari ekinlarni himoya qilish uchun topikal pestitsidlar sifatida ishlatilgan va yaqinda oqsillar zararkunandalarga xos qarshilik ko'rsatish uchun transgen o'simliklarda ifodalangan. Bt transgen ekinlari juda muvaffaqiyatli va foydali bo'lib, yuqori hosildorlikka olib keldi .

Cry toksinlari hasharotlarning o'rta ichak oqsillarini bog'laydi, bu esa hasharotlar hujayralarini o'ldiradigan membrana ichiga kirib boradigan teshikdan oldingi oligomerning shakllanishiga yordam beradi.

Asosiy qism: Katta mum kuya (GWM), *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae) asalari uyasiga katta zarar etkazuvchi va iqtisodiy yo'qotishlarga olib

keladigan asosiy ari zararkunandasi hisoblanadi. *Bacillus thuringiensis* (Bt) bu zararkunandaga qarshi kurashish uchun potentsial barqaror yechim sifatida namoyon bo'ladi. Bu yerda LC50 qiymati 2 mkg/g dan past bo'lgan GWM lichinkalariga qarshi insektitsid faolligini va asal ari uchun past toksiklik darajasini ko'rsatadigan yangi Bt shtammini (BiotGm deb nomlanadi) ishlab chiqilgan va lichinkalar uchun $LC50 = 20598,78$ mkg/mL va kattalar uchun nojo'ya ta'sir $LC50 = 1$ mkg/mkg. GWM lichinkalari uchun joziba, BiotGm va asalarilarning joziba bilan aloqa qilishiga yo'l qo'ymaydigan tutqichdan iborat tuzoqqa tushirish usulini ishlab chiqilgan. Bu usul laboratoriya va dala sinovlarida GWM lichinkalari populyatsiyasini kamaytirishini aniqlagan.

GWM lichinkalariga qarshi Bioassay dietasi Bt preparati ishlab chiqilgan. Optimal bioassay dietasi GWM lichinkalarining an'anaviy sun'iy dietasi va *Spodoptera frugiperda* sun'iy parhez formulasiga asoslangan edi. Bioassay dietasi 10 g xamirturush ekstrakti kukuni, 25 g sut kukuni, 50 g bug'doy uni, 50 g makkajo'xori kukuni, 50 g bug'doydan iborat edi. Afzal bioassay usuli *S. frugiperda* va *H. armigera* usullariga murojaat qilib tuzilgan. Beshta Bt mahsuloti ddH₂O da eritildi va turli konsentratsiyali gradientlarning suspenziyalarigacha suyultirildi. Keyin yuqoridagi suyultirilgan suspenziyadan 2 ml 10 g bioassay dietasiga qo'shiladi va teng ravishda aralashtiriladi. Dastlabki tajribalar asosida LC50 ni aniqlash uchun quyidagi konsentratsiyalar ishlab chiqilgan: GO33A: 0,5, 1, 2, 4 va 8 mkg/g; G033A- 0,5, 1, 2, 4 va 32 mkg/g; KN11: 0,5, 1, 2, 4 va 8 mkg/g; KN11-1 16 mkg/g; va BiotGm: 0,5, 1, 2, 4 va 8 mkg/g. Aralashtirilgan parhez ortiqcha suvni bug'lantirish uchun xona haroratida 3 soat davomida saqlanadi. Bioassay dietasi 12 quduqli steril hujayra madaniyati plastinkasiga teng ravishda bo'lingan va qoshiq yordamida teshikning pastki qismining bir tomoniga bosilgan. Mustahkam 2-bosqich lichinkalari quduqlarga bittadan lichinka bilan emlangan. Plitalar 30 ± 1 °C, $60 \pm 5\%$ RH va qorong'ilikda inkubatorga joylashtirildi. Bundan tashqari, ddH₂O (2 ml) 10 g dietaga nazorat sifatida qo'shildi. Har bir davolashda 4 ta takroriy va 12 ta lichinka mavjud edi. O'lik va tirik lichinkalar soni har kuni vizual tekshirish orqali tekshirildi. Bt bilan kasallangan o'lik lichinkalar qora rangga ega.

120 soatlik o'lim ma'lumotlari Abbott formulasi 64 orqali nazoratdagi tabiiy o'limdan foydalangan holda tuzatildi. 120 soat uchun LC50 qiymati avval tavsiflangan protsedura⁶⁵ yordamida hisoblab chiqilgan. BiotGm dan BiotGm genomik DNKsi uchun genomik DNKni tayyorlash, ketma-ketlik va hisoblash tahlili xabar qilingan protsedura yordamida tayyorlangan⁶⁶. BiotGm genomi Pacific Biosciences RS II (Pacific Biosciences, Menlo Park, CA, AQSH) sekvensiyalash platformasi yordamida ketma-ketlashtirildi. Sekvensiya chuqurligi ~ 200 barobar qamrovni tashkil etdi. PacBio o'qishlarini yangi yig'ish SMRT portaliga kiritilgan RS_HGAP_Assembly.3 protokoli yordamida amalga oshirildi. Genom annotatsiyasi NCBI prokaryotik genom avtomatik izohlash quvur liniyasi tomonidan amalga oshirildi. Tarkibi vektor daraxti (CVTree) filogenetik tahlili bepul, veb-asoslangan vosita - Bacillus Typing Bioinformatics Database (<https://btbidb.com>) yordamida amalga oshirildi. BiotGm Gistopatologiya tahlillariga duchor bo'lgan GWM lichinkalarining o'rta ichaklarida gistopatologik tahlil va apoptoz oldingi tavsifga muvofiq amalga oshirildi⁶⁸. 4-bosqich GWM lichinkalari navbati bilan davolash guruhi va nazorat guruhi sifatida 10 mL BiotGm (100 mkg/ml) yoki PBS bilan AOK qilingan. BiotGm yoki PBS yuborilganidan keyin 0, 2, 4, 6, 8 va 10 soatdan keyin lichinkalarning o'rta ichaklari sterillangan pichoq yordamida yorqin maydon optikasi ostida ajratilgan. O'rta ichak to'qimalari muzli 4% PFA (Sigma–Aldrich, AQSH) 4 °C da tun davomida to'xtatildi. Fiksatsiyadan so'ng, o'rta ichak to'qimalarining namunalari etanol seriyasi orqali suvsizlandi, kerosin mumiga solingan va 6 mikron bo'laklarga bo'lingan, va bo'laklar gematoksilin va eozin bilan bo'yalgan. Tasvirlar ProgRes 3012 raqamli kamerasi bilan Leica Diaplan mikroskopida olingan. O'rta ichak to'qimalarining namunalari yuqorida aytib o'tilganidek tayyorlangan. Apoptoz avvalgi usulga muvofiq o'zgartirilgan usul yordamida o'tkazildi⁶⁹. O'rta ichak to'qimalarining namunalari 4% PFA 1 soat davomida namlangan, PBSda 30% saxarozaga o'tkazilgan va kechasi 4 °C da saqlangan. Suvsizlanishdan so'ng, o'rta ichak to'qimalarining namunalari joylashtirish agenti yordamida ko'milgan va Leica mikrotomi yordamida -20 °C da 6 mikron muzlatilgan qismlarga kesilgan.

TUNEL tahlillari In Situ Cell Death Detection Kit yordamida amalga oshirildi. TUNEL reaksiya aralashmasi yangi tayyorlangan va bo'limlarga qo'llangan va keyin namlangan kamerada qorong'ida 37 ° C da 2 soat davomida inkubatsiya qilingan. Nihoyat, DAPI hujayralar tarqalishini kuzatish uchun 6 daqiqa davomida qarama-qarshi bo'yash uchun ishlatilgan. Tayyorlangan barcha slaydlar lazerli konfokal mikroskop (Leica SP8, Leica, Germaniya) ostida tekshirildi va immunofluoresans bo'yashdan keyin skanerdan o'tkazildi. O'rta ichak hujayralari qisman 20 × kattalashtirishda tasvirlangan

Xulosa:Umuman olganda, bu natijalar asalarilar uyasida GWM ning Bt asosidagi biologik nazoratini qo'llash uchun istiqbolli yo'nalish bergan. Barqaror zararkunandalarga qarshi kurash sohasidagi so'nggi yutuqlarda Bt ni maqsadli zararkunandalar uchun mo'ljallangan maxsus jalb qiluvchi moddalar bilan birgalikda qo'llash yangi strategiya sifatida paydo bo'ldi. Ushbu ikki tomonlama yondashuv nafaqat zararkunandalarning Bt bilan uchrashish ehtimolini oshiribgina qolmay, uning zararkunandalarni o'ldirish samaradorligini oshiradi, balki Bt formulalarini ham takomillashtiradi va ularning ta'sirida aniqroq bo'lishini ta'minlaydi. Bundan tashqari, ushbu metodologiya foydali organizmlarga ko'zda tutilmagan ta'sirni sezilarli darajada kamaytiradi va uning ekologik jihatdan ongli zararkunandalarga qarshi kurashish majburiyatini asoslaydi.

Foydalanilgan adabiyotlar

- 1.Sanahuja G. et al. Bacillus thuringiensis: a century of research, development and commercial applications //Plant biotechnology journal. – 2011. – T. 9. – No. 3. – pp. 283-300.
- 2.Han, Bo, et al. "Greater wax moth control in apiaries can be improved by combining Bacillus thuringiensis and entrapments." Nature Communications 14.1 (2023): 7073.