

жөн. Сапрофитті микрофлорадан зарарсыздандырудың тиімді әдісі - "Белизна" ағартқыштың сулы ерітіндісімен (1:1) 10 минут бойы, 0,1% HgCl₂ 5 мин ерітіндісімен, 3 рет зарарсыздандырылған дистилденген сумен дәйекті түрде өңдеу. *In vitro* енгізу үшін оңтайлы қоректік орта - гормонсыз МС, клональды микрокөбейту үшін - құрамында 1,0 мг/л БАП, 0,02 мг/л ИМҚ және 30 г/л сахароза бар МС ортасы. Бұл кезде көбею коэффициенті орта есеппен 2,8, ал өркен ұзындығы 4-6 аптада - 5,0-6,3 см жетеді.

Кілт сөздер: кәдімгі бадам, асептикалық өсімдіктер, клоналды микрокөбею, *in vitro*, өркен, стерильдеу, өркенді қалпына келтіру.

**T.T. Turdiyev^{1,2}, S.S. Baizhumanova^{1,2}, K.B. Yemesheva^{*1,2}, N.V. Mikhailenko
I.Y. Kovalchuk**

¹ Institute of Plant Biology and Biotechnology, Almaty, Kazakhstan, georgi-nata@mail.ru,
kovalchuk_i_u@mail.ru

² Kazakh National Agrarian Research University, Almaty, Kazakhstan, turdievt@mail.ru,
jansaule_1986@mail.ru, emeshevakamposya1@gmail.com*

MICROCLONAL PROPAGATION OF COMMON ALMOND (*PRUNUS DULCIS* MILL) FOR THE RESTORATION OF REGRESSIVE POPULATIONS

Abstract

The Common Almond (*Prunus Dulcis* Mill) represents an economic value due to the nutritional value of its fruit: Taste, nutrient-rich and long-term storage. In the territory of the Republic of Kazakhstan, the almond is classified as an endangered population, which makes it necessary to restore them.

The recovery of the declining populations of the Common Almond is efficiently carried out with the application of *in vitro* culture, which allows to obtain fast and mass-quantity planting material. For the production of aseptic plants, it is better to use green shoots with 2-3 buds, which are grown from lignified shoots. Effective method of sterilization from saprophytic microflora - consecutive treatment with water solution of bleach «White» (1:1) for 10 minutes, solution 0,1% HgCl₂ 5 min, 3 times sterile distilled water. Optimal medium for *in vitro* - hormone-free MC, for clonal micropropagation - MC containing 1.0 mg/l BAP, 0.02 mg/l IBA and 30 g/l sucrose. The reproduction rate is 2.8 on average, and the length of shoots in 4-6 weeks - 5.0-6.3 cm.

Key words: common almond, aseptic plants, clonal micropropagation, *in vitro*, shoots, sterilization, regeneration of shoots.

МРНТИ 68.03.07

DOI <https://doi.org/10.37884/3-2024/21>

А. Әділханқызы^{*1}, Б.А. Дүйсембеков²

¹ Казахский Национальный аграрный исследовательского университета,
г. Алматы, Республика Казахстан, adilhan_ainura@mail.ru*

² ТОО «Казахский научно-исследовательский институт защиты и карантина
растений им. Ж.Жиёмбаева», г. Алматы, Республика Казахстан, bduisebekov@mail.ru

ОПРЕДЕЛЕНИЕ КУЛЬТУРАЛЬНО-МОРФОЛОГИЧЕСКИХ И БИОХИМИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ШТАММОВ *BACILLUS THURINGIENSIS*

Аннотация

В лабораторных условиях были изучены культурально-морфологические и биохимические свойства штаммов, принадлежащих к группе *Bacillus thuringiensis*, с целью

дальнейшего их отбора, перспективных в качестве продуцентов биопрепаратов энтомоцидного действия в отношении вредных насекомых. По результатам серологической идентификации выделенные нами бактерии были отнесены к трем серотипам: 3a3b3c – подвида *Bt kurstaki*; H4ab – подвида *Bt sotto* и 31 серотип подвида *Bt toguchini*. По проведенным анализам нами было установлено, что изучаемые бактерии в природе чаще всего встречаются 3a3b3c серотипа, относящиеся к подвиду *Bacillus thuringiensis kurstaki* (84%). В настоящее время данный подвид наиболее широко применяется в качестве основы бактериальных биопрепаратов.

Вместе с тем, изучали рост микроорганизмов на разных питательных средах. По результатам наших исследований, среда «А» оказалась более благоприятной для штаммов бактерии *B. thuringiensis*, так как компоненты, содержащиеся в этой среде, обеспечивают питательные потребности данной культуры. Эта среда использовалась как рабочая среда для выделения бактерий из естественных субстратов, при дальнейших пересевах, а также при хранении бактерий на длительное время.

Ключевые слова: *Bacillus thuringiensis*, штамм, энтомопатоген, питательная среда, морфология, биохимические свойства, культуральные признаки

Введение

В экологически чистых сельскохозяйственных системах фитопротективные продукты на основе микроорганизмов играют важную роль. Биопестициды составляют примерно 1% от мирового рынка средств защиты растений, при этом на Россию приходится лишь 0,25% от общего объема биотехнологической продукции в этой области. Среди микроорганизмов, используемых в биопрепаратах, особое внимание привлекают энтомопатогенные бактерии *Bacillus thuringiensis* (*Bt*) [1, 2], которые занимают 90-95% рынка биопестицидов. В сельскохозяйственной практике *Bt* применяется как энтомоцидное и антифунгальное средство, а также для стимуляции роста. Бактерии данной группы демонстрируют технологичность, широкий и селективный спектр действия, а также безопасность для нецелевых насекомых, теплокровных животных и человека [3]. Они образуют споры, параспоральный кристаллический эндотоксин и, в некоторых случаях, термостабильный экзотоксин.

Такие характеристики стали основаниями для использования *Bacillus thuringiensis* в качестве базы для экологически безопасных энтомопатогенных препаратов и замены синтетическим химическим пестицидам. Представители группы *Bacillus thuringiensis* широко встречаются в природе благодаря своей способности эффективно адаптироваться к разнообразным экстремальным условиям. Эти бактерии выделяются из почвы, а также из образцов больных насекомых и их останков. На сегодняшний день известно более 80 штаммов, которые оказывают воздействие на фитофагов из таких отрядов, как *Lepidoptera*, *Coleoptera*, *Diptera* и *Hymenoptera*. Бактерии *Bt* сохраняют свою жизнеспособность на обработанных растениях в течение длительного времени. Высокая биологическая эффективность *Bt* обусловлена наличием антифидантных, тератогенных и дерепродуктивных свойств [4, 5]. Патовар А в основном активен против чешуекрылых (*Lepidoptera*), патовар В – против личинок кровососущих комаров и мошек, а также растительноядных насекомых (*Diptera*), в то время как патовар С – против жесткокрылых (*Coleoptera*) [6-8]. Бактерии рода *Bacillus* обладают полиферментативными свойствами, что позволяет им одновременно воздействовать на вредных насекомых и фитопатогенные грибы благодаря наличию гидролаз, а также производят антибиотики и токсины, среди которых особую важность имеет белковый δ -эндотоксин [6]. В кишечнике при щелочном pH δ -эндотоксин превращается в протоксин, который затем гидролизуется сериновыми протеазами с образованием активного токсина (по современной классификации – Сгу-токсина). Также значительную роль в контроле популяции насекомых играет термостабильный β -экзотоксин нуклеотидной природы, который бактерия выделяет в окружающую среду и который действует через покровы насекомых, что расширяет область применения *Bt*. Препараты, содержащие экзотоксины, рекомендованы для борьбы с

колорадским жуком (*Leptinotarsa decemlineata* Say) и паутиным клещом (*Tetranychus urticae* Koch) [9]. Благодаря присутствию кристаллов эндотоксина, экзотоксина, фосфолипазы С и спор, *Bacillus thuringiensis* проявляет энтомотоксическую, энтомопатогенную и метатоксическую активности. Проникая в организм насекомых, бактерии вызывают заболевания, которые сопровождаются септициемией. Паразит проникает в значительных количествах в гемолимфу, попадает в эпителий кишечника, где активно размножается и приводит к гибели насекомых [10-13].

Комбинация различных механизмов воздействия у бактерий рода *Bacillus* (штаммы которых способны производить от 50 до 200 биологически активных веществ) служит основой для эффективного уменьшения численности вредных организмов. Тем не менее, ассортимент биологических пестицидов значительно уступает химическим. Для создания и производства биопрепаратов необходимы активные исходные штаммы, которые ищутся в природных источниках, основываясь на критериях технологичности, активности и спектра действия. В этом процессе важную роль играют специализированные банки биологических агентов (коллекции микроорганизмов).

Целью настоящего исследования было изучение культурально-морфологических и биохимических свойства штаммов, принадлежащих к группе *thuringiensis*, с целью дальнейшего их отбора, перспективных в качестве продуцентов биопрепаратов энтомоцидного действия в отношении вредителей насекомых.

Методы исследований

Культуральные признаки микробов определяли характером роста их на плотных питательных средах. Культуральные свойства характерны для каждого вида микроба и поэтому являются важным диагностическим признаком.

Питательные среды служат для выделения из исследуемого материала чистых культур микробов и изучения их свойств и являются основой бактериологических работ, нередко определяя своим качеством результаты исследования [14].

Культурально–морфологические свойства бактерий изучали на плотных питательных средах различного состава: среда «А» состава: пептон 1%, рыбный гидролизат 0,4%, NaCl 0,5%, агар-агара 1,5-2,0%, H₂O – 100 мл; питательный агар состава: рыбный гидролизат 0,4%, NaCl 0,5%, агар-агара 1,5-2,0%; мясопептонный агар состава: мясопептонный бульон 100 мл, агар-агар 1,5-2,0% и голодный агар состава: агар 1,5-2,0%, H₂O – 100 мл.

Для изучения свойств колоний бактерии культивировали в чашках Петри на «А» среде. Колонии характеризовали по следующим признакам: величине, форме, прозрачности, контуру края, рельефу, поверхности, цвету, структуре и консистенции.

Для оценки специфичности действия спорокристаллических смесей на насекомых штаммы выращивались на среде «А» в течение 6 суток при 30°C, до полного высыпания спор и кристаллов.

Биохимическую активность бактерий изучали по характеру и количеству тех ферментов, которые микробная клетка продуцирует и выделяет во внешнюю среду. Для диагностики микробов наибольшее значение имеет определение сахаролитических и протеолитических ферментов, активирующих, соответственно, расщепление углеводов и белков [14, 15].

Для обнаружения *сахаролитических ферментов* исследуемую культуру бактерии засеивали в питательную среду Гисса (1% пептона, 0,5% NaCl, 0,5% углевода, 1 мл индикатора Андраде) [14, 16]. На среде испытывали отношение к сахарозе, салицину, маннозе. Инокуляция и инкубация при 28°C. О положительной реакции судили по покраснению среды.

Определение ацетилметилкарбинола (АМК) проводилось по методу Фогес-Проскуаера: к 3 мл четырехсуточной культуры, инкубированной при 28°C в глюкозопептонной воде, добавляли 3 мл 20% -го едкого натрия. Пробирки интенсивно встряхивали и оставляли в вертикальном положении в течение двух часов. Положительная реакция устанавливалась по розовому окрашиванию поверхности среды.

Лецитовителлиновую реакцию (ЛВР) проводили по методике Бехера [15]: 10%-ую эмульсию яичного желтка готовили на физиологическом растворе. Для постановки реакции

на плотной среде 10 мл суспензии добавляли к 90 мл среды «А», охлажденной до 50°C, и разливали по чашкам Петри. Посев производили уколом, реакцию читали через 48 часов инкубирования при 28°C. Положительная реакция характеризовывалась зоной побеления агара вокруг колонии. На этой же среде оценивали пигментообразование.

Каталазу определяли по И.И. Ашмарину следующим способом: на предметное стекло помещали частицу культуры с плотной среды или каплю бульонной культуры и добавляли 1-2 капли раствора перекиси водорода. О положительной реакции судили по выделению пузырьков кислорода.

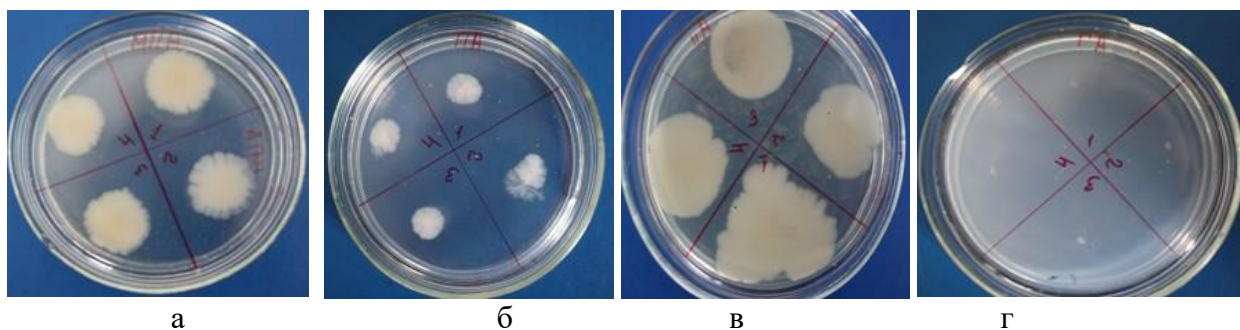
Определение уреазы проводили на среде Кристенсена (0,1% пептопна; 0,5% NaCl; 0,2% однозамещенного фосфата калия; 0,6мл 0,2%-го водного раствора фенолрота (рН 6,8). Основу среды стерилизовали автоклавированием. К охлажденной до 50°C среде с соблюдением правил асептики добавляли 20%-ый раствор мочевины до конечной концентрации 2%. Инокулировали среду Кристенсена с мочевиной и инкубировали при 28°C. О положительной реакции судили по покраснению среды.

Гидролиз крахмала выявляли на среде «А» с добавлением 0,2% растворимого крахмала. Среду инокулировали методом укола. После инкубации агар заливали раствором Люголя. О положительной реакции судили по появлению бесцветного участка вокруг зоны роста.

Протеолитические свойства определяли по зонам гидролиза при точечном посеве на казеиновый агар. Для его приготовления к среде «А» добавляли 1/3 объема стерильного обезжиренного молока [17]. О положительной реакции судили по наличию бесцветного участка вокруг зоны роста колонии.

Результаты исследований

Культурально-морфологические свойства штаммов изучали на плотных средах различного состава: среда «А», МПА, ПА и ГА (рисунок 1).



а – посев штаммов на питательный агар; б – на «А» среду; в – на голодный агар; г – на МПА

Рисунок 1 – Рост культур на разных питательных средах

Как видно из рисунка 1, изоляты *Vt* на разных плотных питательных средах штаммы имели отличающиеся между собой по диаметру колонии. Так, диаметр колоний, выделенных в 2007 году, на «А» среде через 60 часов роста был больше в среднем в 1,2 и в 2,6 раза. Диаметр колоний на МПА был в 2 раза больше, чем на ПА. Рост колоний на голодном агаре не наблюдался. В связи с этим морфологию штаммов изучали на поверхности плотной питательной среды «А». Штаммы энтомопатогенной бактерии образовали различные колонии (рисунок 2).

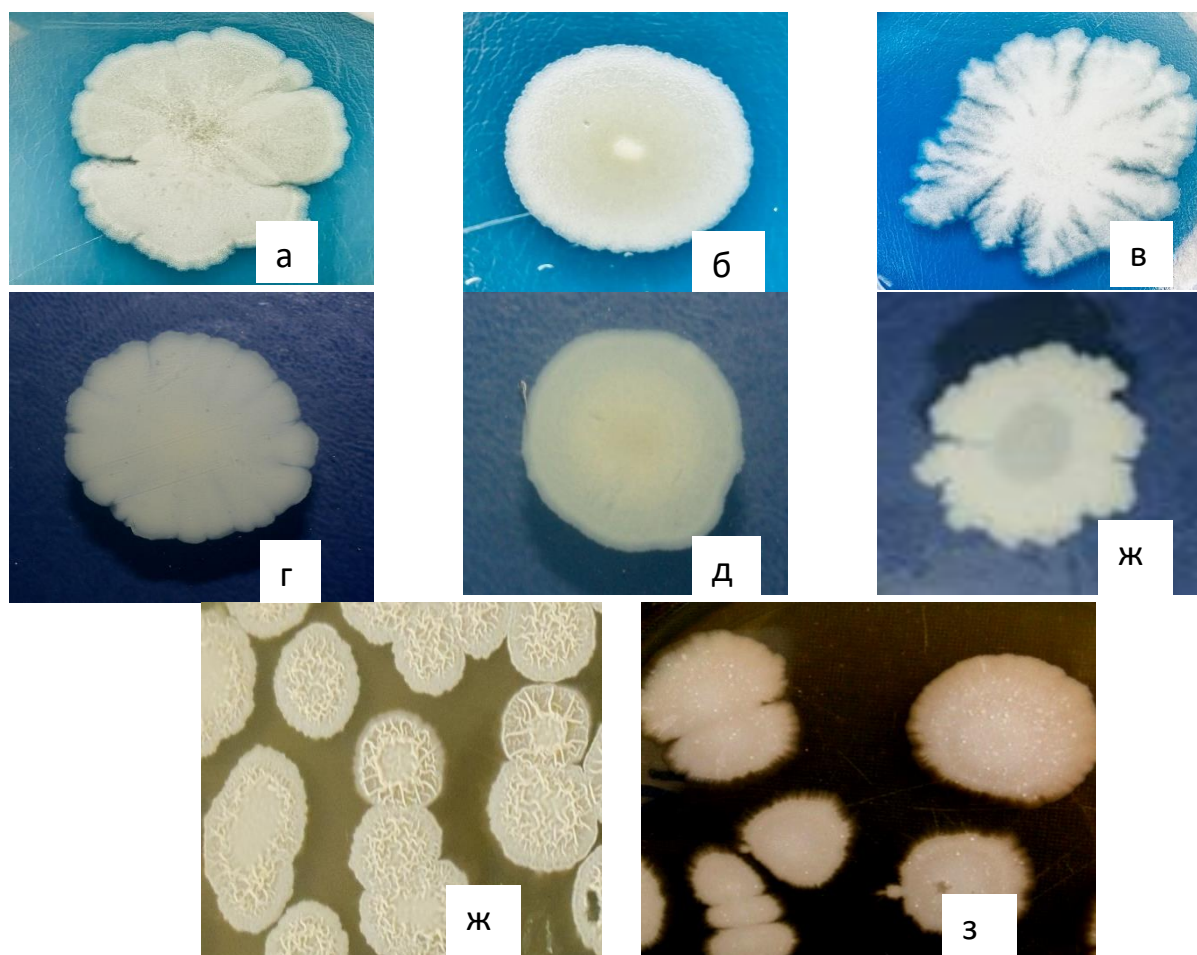


Рисунок 2 – Изучение морфологических особенностей штаммов *Bt*

При росте на среде «А» культуры имели различную морфологию, характерную для *Bacillus thuringiensis*: колонии неправильной, амёбовидной или ризоидной (2 (а, в, г, з)) формы, бежевого или кремового цветов; круглые с фестончатым краем или валиком по краю (б, в, д, е), а также волнистыми или ровными (2д) краями, состоящие из крупных, слегка округлых или уплощенных зубцов правильной конфигурации. Так же имели мелкозернистую структуру или однородную с гладкой, шероховатой или морщинистой поверхностью. Так же имели мелкозернистую структуру (2ж) или однородную с гладкой (2д), шероховатой или морщинистой (2ж) поверхностью. Рельеф – в основном плоский, стелящиеся по поверхности среды, консистенция – пастообразная, легко снимается с поверхности среды. В основном штаммам присуще матовость, реже блеск (2б).

Штаммы бактерии группы *Bt* образуют различные по форме и размерам кристаллы, описанные рядом исследователей. По результатам проведенных нами исследованиям, так же были выявлены кристаллы разных форм.

Все выделенные нами культуры на третьи сутки при температуре 28-30°C на плотной среде «А», МПА и на питательном агаре образовывали овальные споры и одновременно со спорами кристаллы. Палочки после фиксации хорошо перекрашивались красителем карбол-эозином. Результаты окрашивания положительные.

При спорообразовании формируются кристаллы овальных, ромбовидных и бипирамидальных форм (рисунок 3).

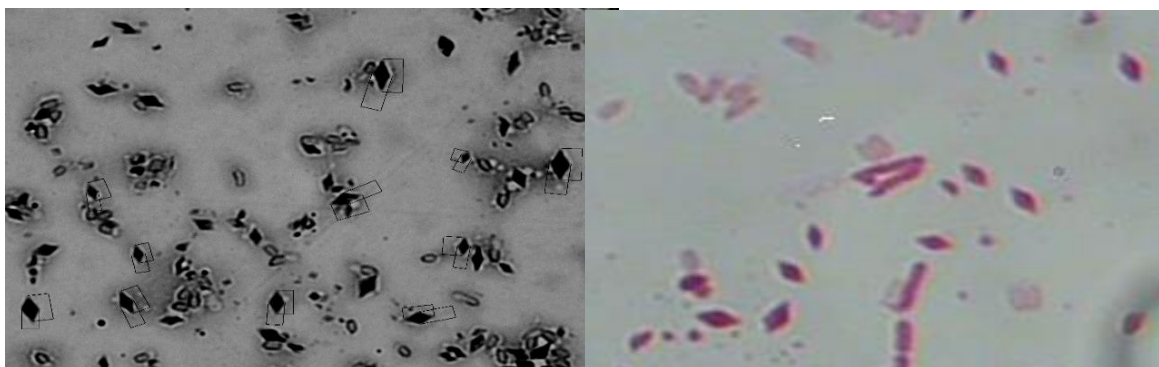


Рисунок 3 – Микроморфология кристаллообразующих бактерий группы *B. thuringiensis*

В результате микроскопирования нами было установлено, что вегетативные клетки представлены крупными палочками, располагающимися в мазке одиночно или цепочками, споры овальные.

Полное высыпание спор и кристаллов происходит на 5 сутки, при культивировании в термостате при 28-30°C.

Физиолого-биохимические свойства бактерий изучали на разных жидких и твердых средах (таблица 3). Гидролиз крахмала выявляли на среде «А» с добавлением растворимого крахмала. После инкубации агар заливали раствором Люголя. О положительной реакции судили по появлению бесцветного участка вокруг зоны роста (рисунок 4). При отрицательной реакции зоны чернели. Протеолитические свойства определяли по зонам гидролиза при точечном посеве на казеиновый агар. Для его приготовления к среде «А» добавляли стерильное молоко.

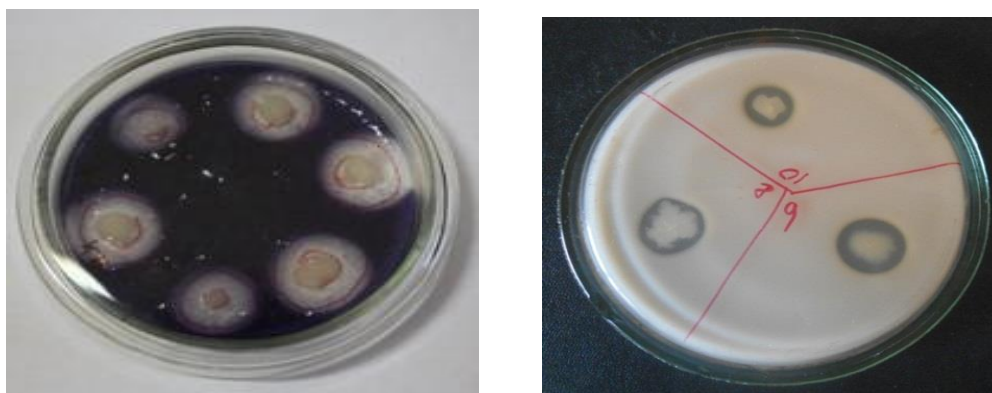


Рисунок 4 – Определение гидролиза крахмала местных штаммов бактерии *Bt*

Все выделенные изоляты молоко пептонизировали на четвертые сутки, крахмал гидролизировали на третьи, так же давали положительную реакцию на каталазу. Так же определяли образование кислоты из маннозы, салицина и сахарозы (рисунок 5).

Исследованные культуры по физиолого-биохимическим свойствам соответствовали *Bacillus thuringiensis ssp. kurstaki*. По результатам серологической идентификации выделенные нами бактерии были отнесены к трем серотипам: 3a3b3c – подвида *Bt kurstaki*; H4ab – подвида *Bt sotto* и 31 серотип подвида *Bt toguchini*.

Как видно из таблицы 1, штаммы под №4, 5 и № 10, 11, выделенные из трупов гусениц яблонной моли, звездчатого пилильщика-ткача, а так же личинок колорадского жука по результатам биохимических исследований были отнесены к группе бактерий *Bacillus thuringiensis sotto*. Они не образуют кислоту из маннозы, салицина, сахарозы, так же не образуют уреазу на среде с мочевиной. Образуют ацетилметилкарбинол и кислород, гидролизуют крахмал, протелизируют молоко.

Таблица 1 – Физиолого-биохимическая характеристика штаммов бактерии *Bacillus thuringiensis*

№№	Штаммы*	Серотип	Подвид	АМК	Уреаза	ЛВР	Гидролиз	Протеолиз	Каталаза	Кислота на		
										маннозе	салицине	сахарозе
1	к-Ум07/ББ	3а3б3с	<i>kurstaki</i>	+	+	+	+	+	+	-	+	-
2	к-Ум07/КБ	3а3б3с	<i>kurstaki</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	-
3	ЧМ-07/4	3а3б3с	<i>kurstaki</i>	+	+	+	+	+	+	-	-	-
4	к-Ум07/ЗР1	3а3б3с	<i>kurstaki</i>	+	-	+	+	+	+	-	-	-
5	ЗПТ-07	Н4ab	<i>sofто</i>	+	-	+	+	+	+	-	-	-
6	ОЗШ-07	3а3б3с	<i>kurstaki</i>	+	-	+	+	+	+	-	-	-
7	ОЗШ-1/07	3а3б3с	<i>kurstaki</i>	+	+	+	+	+	+	-	+	-
8	Сш-1/07	3а3б3с	<i>kurstaki</i>	+	+	+	+	+	+	-	+	-
9	Сш-07	3а3б3с	<i>kurstaki</i>	+	+	+	+	+	+	-	-	-
10	Кж-1/07	Н4ab	<i>sofто</i>	+	-	+	+	+	+	-	-	-
11	Кж-07	Н4ab	<i>sofто</i>	+	-	+	+	+	+	-	-	-
12	к-Pr07/1	3а3б3с	<i>kurstaki</i>	+	-	+	+	+	+	-	-	-
13	к-Pr07/2	3а3б3с	<i>kurstaki</i>	+	-	+	+	+	+	-	-	-
14	к-Pr07	3а3б3с	<i>kurstaki</i>	+	+	+	+	+	+	-	-	+
15	к-Ум07/К	3а3б3с	<i>kurstaki</i>	+	+	+	+	+	+	-	-	+
16	к-Ум07/КОХ	3а3б3с	<i>kurstaki</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+
17	к-Ум07/ЗР	3а3б3с	<i>kurstaki</i>	+	+	+	+	+	+	-	-	+
18	ЧМ-07/1	3а3б3с	<i>kurstaki</i>	+	+	+	+	+	+	-	+	-
19	ЧМ-07/2	3а3б3с	<i>kurstaki</i>	+	+	+	+	+	+	-	+	-
20	к-Ум07/ЗР2	3а3б3с	<i>kurstaki</i>	+	-	+	+	+	+	+	+	+
21	к-Ум07/ЗР-3	3а3б3с	<i>kurstaki</i>	+	-	+	+	+	+	+	+	+
22	Хс-07/1	3а3б3с	<i>kurstaki</i>	+	+	+	+	+	+	-	+	-
23	Хс-07/2	3а3б3с	<i>kurstaki</i>	+	+	+	+	+	+	-	+	-
24	Хс-07/3	3а3б3с	<i>kurstaki</i>	+	+	+	+	+	+	-	+	-
25	Хс-07/4	3а3б3с	<i>kurstaki</i>	+	-	+	+	+	+	+	+	+
26	ЧМ-07/3	3а3б3с	<i>kurstaki</i>	+	-	+	+	+	+	+	+	+
27	ЧМ-07	3а3б3с	<i>kurstaki</i>	+	+	+	+	+	+	-	+	-
28	Хс-07/p	3а3б3с	<i>kurstaki</i>	+	+	+	+	+	+	-	+	-
29	к-Ум07/АК	3а3б3с	<i>kurstaki</i>	+	+	+	+	+	+	-	+	-
30	4Gr-06	31	<i>toguchini</i>	+	-	+	+	+	+	+	+	-

Условные обозначения: + наличие фермента; - отсутствие фермента

*Примечание: происхождения штаммов и изолятов с соответствующими кодами см. в таблице 4

Штамм под номером 1, выделенный из гусеницы розанной листовертки, относится к *Bt toguchini* (H31), не образует уреазу и кислоту из сахарозы. Гидролизует крахмал, пептонизирует молоко, образует кислород и кислоту из маннозы и салицина, так же положительна лецитито-вителлиновая реакция.

Все остальные культуры отнесены к подвиду *kurstaki*. Штаммы №1, 19, 20, 23-25, 28-30 образуют кислоту на салицине, у штамма №2 идет образование кислоты на маннозе и салицине, а у штаммов №14, 15, 18 – на сахарозе (рисунок 5). Штаммы №6, 26, 27 не образуют уреазы, тогда как остальные штаммы третьего серологического варианта имеют этот фермент. У штаммов №32-42 не было отмечено образования кислоты на сахаре и уреазе. Все штаммы одинаково гидролизировали крахмал, пептонизировали молоко, образовали кислород, так же была положительна и лецитито-вителлиновая реакция.

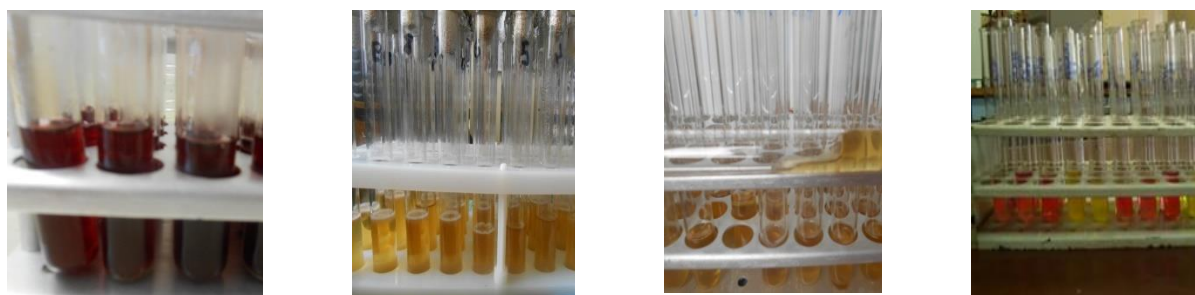


Рисунок 5 – Определение биохимических свойств бактерий

По результатам идентификации, выделенные нами бактерии, были отнесены к трем серотипам: 3a3b3c, подвида *Bt kurstaki*; H4ab – подвида *Bt sotto* и 31 серотип подвида *Bt toguchini*.

Выводы. Как подтверждают результаты наших исследований, среда «А» оказалась более благоприятной для штаммов бактерии *B. thuringiensis*, так как компоненты, содержащиеся в этой среде, обеспечивают питательные потребности данной культуры. Эта среда использовалась как рабочая среда для выделения бактерий из естественных субстратов, при дальнейших пересевах, а также при хранении бактерий.

По проведенным анализам физиолого-биохимических свойств, нами было установлено, что изучаемые бактерии в природе чаще всего встречаются 3a3b3c серотипа, относящиеся к подвиду *Bt kurstaki* (84%). В настоящее время данный подвида наиболее широко применяется в качестве основы бактериальных биопрепаратов («Ак кобелек, с.п.» отечественного производства, лепидоцид, дипел и др.).

Благодарность: Исследования выполнены в рамках грантового финансирования ИРН AP14871184 «Создание отечественного биоинсектицида на основе бактерии *Bacillus thuringiensis* для контроля чешуекрылых вредителей в условиях Казахстана»

Список литературы

1. Белоусова М.Е., Долженко Т.В. Возможность кристаллообразования различными штаммами *Bacillus thuringiensis* // Известия СПбГАУ. – 2017. – №4(49). – С. 46-51.
2. Гришечкина С.Д., Ермолова В.П., Коваленко Т.К., Антонец К.С. Полифункциональные свойства производственного штамма *Bacillus thuringiensis* var. *thuringiensis* 800/15 //Сельскохозяйственная биология. –2019. –№3 (54). – С. 494-504
3. Lacey L.A., Kaya H.K. Field manual of techniques in invertebrate pathology: application and evaluation of pathogens for control of insects and other invertebrate pests / - Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 2000. - 911 p.
4. Grabova, A. YU. Skrining shtammov bakterij roda *Bacillus* – aktivny'x antagonistov fitopatogenov bakterial'noj i gribnoj prirody' // Mikrobiol. zhurn. – 2015. – № 6. – S. 47–54

5. Грабова А. Ю. Скрининг штаммов бактерий рода *Bacillus* – активных антагонистов фитопатогенов бактериальной и грибной природы // Микробиол. журн. – 2015. – № 6. – С. 47–54
6. Crickmore N, Berry C, Panneerselvam S, Mishra R, Connor TR, Bonning BC (2020) A structure-based nomenclature for *Bacillus thuringiensis* and other bacteria-derived pesticidal proteins. *J Invertebr Pathol*:107438. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2020.107438>
7. К а н д ы б и н N.V., П а т ы к а T.I., Е р м о л о в а V.P., П а т ы к а V.F. Mikrobiokontrol' chislennosti nasekomykh i ego dominanta *Bacillus thuringiensis* [Microbiocontrol of insects, and *Bacillus thuringiensis* as a predominant agent]. St. Petersburg-Pushkin, 2009
8. Кумар П., Камле М., Бора Р. и др. *Bacillus thuringiensis* как микробный биопестицид: использование и применение для устойчивого сельского хозяйства. *Egunem J Biol Pest Control* 31, 95 (2021). <https://doi.org/10.1186/s41938-021-00440-3>
9. Dubovskiy I.M., Slyamova N.D., Yu Kryukov V., Adilkhankyzy A., Glupov V.V. Activity of nonspecific esterases and glutathione S-transferase of locusta migratoria larvae in infection with metarhizium anisopliae fungus (Ascomycota, hypocreales) // *Zoologicheskii Zhurnal*. -2011, 90(11), -P. 1360–1364
10. Crickmore N, Berry C, Panneerselvam S, Mishra R, Connor TR, Bonning BC (2020) A structure-based nomenclature for *Bacillus thuringiensis* and other bacteria-derived pesticidal proteins. *J Invertebr Pathol*:107438. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2020.107438>
11. Мухамадиев Н.С., Султанова Н.Ж., Чадинова А.М., Мендибаева Г. Ж. Значение биологической защиты от вредителей и болезней при производстве органической продукции // Исследования, результаты. №3 (99) 2023, ISSN 2304-3334 – С. 108-118. DOI <https://doi.org/10.37884/3-2023/11>
12. Malovichko, Y.V. Comparative genomics of the insecticidal bacterium *Bacillus thuringiensis* using Oxford Nanopore sequencing / Malovichko Y.V., Afonin A.A., Belousova M. E., Ermolova V. P., Grishechkina S. D, Nizhnikov A A., Antonets K. S. // Annual Joint Meeting of the American Society for Cell Biology and the European Molecular Biology Organization (ASCB/EMBO 2018). *Molecular Biology of the Cell*. – 2018. - 29 (26). - P.3470
13. Abdibay A.M., Anuarbekov K.K., Mukhamadiyev N.S., Mengdibayeva G.// “Improvement of water-salt regime irrigation water in the lower stations of the syrdarya river” date – 29 th november 2022 manuscript id – afr/11/13. 14. Практикум по микробиологии, Москва, 2005. –С. 608.
15. Бехер К. Микробиология. 1961. Т. 30. –С. 673-678
16. de Barjak H., Bonnefoi A. Classification des souches de *Bacillus thuringiensis* // *C.R. Acad. Sci. Paris*, 1967, 204, –P.1811
17. Лабинская А.С. Практикум по микробиологическим методам исследования. Москва, 1978.

References

1. Belousova M.E., Dolzhenko T.V. Vozmozhnost' kristalloobrazovaniya razlichny'mi shtammami *Bacillus thuringiensis* // *Izvestiya SPbGAU*. – 2017. – №4(49). – S. 46-51.
2. Grishechkina S.D., Ermolova V.P., Kovalenko T.K., Antonecz K.S. Polifunkcional'ny'e svojstva proizvodstvennogo shtamma *Bacillus thuringiensis* var. *thuringiensis* 800/15 // *Sel'skoxozyajstvennaya biologiya*. –2019. –№3 (54). – S. 494-504
3. Lacey L.A., Kaya H.K. Field manual of techniques in invertebrate pathology: application and evaluation of pathogens for control of insects and other invertebrate pests / - Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 2000. - 911 p.4. Botbaeva, ZH. T. Otkor shtammov roda *Bacillus* s protivogribkovoj aktivnost'yu dlya sozdaniya e'ffektivny'x biopreparatov // *Biol. med. geogr*. – 2011. – № 2. – S. 29–33.
5. Grabova, A. YU. Skrinig shtammov bakterij roda *Bacillus* – aktivny'x antagonistov fitopatogenov bakterial'noj i gribnoj prirody' // *Mikrobiol. zhurn*. – 2015. – № 6. – S. 47–54

6. Crickmore N, Berry C, Panneerselvam S, Mishra R, Connor TR, Bonning BC (2020) A structure-based nomenclature for *Bacillus thuringiensis* and other bacteria-derived pesticidal proteins. *J Invertebr Pathol*:107438. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2020.107438>
7. K a n d y b i n N.V., P a t y k a T.I., E r m o l o v a V.P., P a t y k a V.F. Mikrobiokontrol' chislennosti nasekomykh i ego dominanta *Bacillus thuringiensis* [Microbiocontrol of insects, and *Bacillus thuringiensis* as a predominant agent]. St. Petersburg—Pushkin, 2009
8. Kumar P., Kamle M., Bora R. i dr. *Bacillus thuringiensis* kak mikrobn'yj biopesticid: ispol'zovanie i primeneniye dlya ustojchivogo sel'skogo khozyajstva. *Egipet J Biol Pest Control* 31 , 95 (2021). <https://doi.org/10.1186/s41938-021-00440-3>
- 9 [Dubovskiy I.M.](#), [Slyamova N.D.](#), [Yu Kryukov V.](#), [Adilkhankyzy A.](#), [Glupov V.V.](#) Activity of nonspecific esterases and glutathione S-transferase of locusta migratoria larvae in infection with metarhizium anisopliae fungus (Ascomycota, hypocreales) // *Zoologicheskii Zhurnal*. -2011, 90(11), -P. 1360–1364
10. Crickmore N, Berry C, Panneerselvam S, Mishra R, Connor TR, Bonning BC (2020) A structure-based nomenclature for *Bacillus thuringiensis* and other bacteria-derived pesticidal proteins. *J Invertebr Pathol*:107438. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2020.107438>
11. Muxamadiev N.S., Sultanova N.ZH., Chadinova A.M., Mendibaeva G. ZH. Znachenie biologicheskoy zashhity' ot vreditel'ey i boleznej pri proizvodstve organicheskoy produkcii // *Issledovaniya, rezul'taty*'. №3 (99) 2023, ISSN 2304-3334 – S. 108-118. DOI <https://doi.org/10.37884/3-2023/11>
12. Malovichko, Y.V. Comparative genomics of the insecticidal bacterium *Bacillus thuringiensis* using Oxford Nanopore sequencing / Malovichko Y.V., Afonin A.A., Belousova M. E., Ermolova V. P., Grishechkina S. D, Nizhnikov A A., Antonets K. S. // Annual Joint Meeting of the American Society for Cell Biology and the European Molecular Biology Organization (ASCB/EMBO 2018). *Molecular Biology of the Cell*. – 2018. - 29 (26). - P.3470
13. Lacey L.A., Grywaczet D., Shapiro-Ilan D., Frutos R., Brownbridge M., Goettel M.S. Insect pathogens as biological control agents: back to the future. *J. Invertebr. Pathol.*, 2015, 132: 1-41.
14. *Praktikum po mikrobiologii*, Moskva, 2005. –S. 608.
15. Bexer K. *Mikrobiologiya*. 1961. T. 30. –S. 673-678
16. de Barjak H., Bonnefoi A. Classification des souches de *Bacillus thuringiensis* // *C.R. Acad. Sci. Paris*, 1967, 204, –P.1811
17. Labinskaya A.S. *Praktikum po mikrobiologicheskim metodam issledovaniya*. Moskva, 1978.

А. Әділханқызы*¹, Б.А. Дүйсембеков ²

¹ Қазақ Ұлттық аграрлық зерттеу университеті,

Алматы қ., Қазақстан Республикасы, adilhan_ainura@mail.ru*

² ЖШС «Ж. Жиёмбаев атындағы өсімдік қорғау және карантин ғылыми-зерттеу институты, Алматы қ., Қазақстан Республикасы, bduisembekov@mail.ru

BACILLUS THURINGIENSIS ШТАММДАРЫНЫҢ КУЛЬТУРАЛДЫ-МОРФОЛОГИЯЛЫҚ ЖӘНЕ БИОХИМИЯЛЫҚ ҚАСИЕТТЕРІН АНЫҚТАУ

Аңдатпа

Зертханалық жағдайда, зиянды жәндіктерге қарсы энтомоцидтік әсері бар биологиялық өнімдердің перспективалық негізі ретінде және одан әрі іріктеу мақсатында *Bacillus thuringiensis* тобына жататын штаммдардың культуралы-морфологиялық және биохимиялық қасиеттері зерттелді. Серологиялық сәйкестендіру нәтижелері бойынша біз оқшаулаған бактериялар үш серотипке жатқызылды: 3a3b3c – *Bt kurstaki* кіші түрі; H4ab – *Bt sotto* кіші түрі және *Bt toguchini* түрінің 31 серотипі. Біз жүргізген талдауларға сәйкес зерттелетін бактериялар табиғатта *Bacillus thuringiensis kurstaki* кіші түріне жататын 3a3b3c серотиптері жиі кездесетіні анықталды (84%). Қазіргі уақытта бұл кіші түр бактериялық биологиялық препараттардың негізі ретінде кеңінен қолданылады. Сонымен қатар, әртүрлі қоректік орталарда микроорганизмдердің өсуі зерттелді. Біздің зерттеулеріміздің нәтижелері бойынша "А" қоректік ортасы *B. thuringiensis* бактериясының

штамдары үшін анағұрлым қолайлы болды, өйткені осы қоректік ортадағы компоненттер берілген дақылдың қоректік қажеттіліктерін толықтай қамтамасыз етеді. Аталған қоректік орта бактерияларды табиғи субстраттардан оқшаулау үшін, одан әрі қайта егу кезінде, сондайақ бактерияларды ұзақ мерзімде, таза сақтау үшін пайдаланылды.

Кілт сөздер: *Bacillus thuringiensis*, штамм, энтомопатоген, қоректік орта, морфология, биохимиялық қасиеттері, культуралық белгілері

A. Adilkhankyzy*¹, B.A. Duissembekov²

¹ *Kazakh National Agrarian Research University,*

*Almaty, Republic of Kazakhstan, adilhan_ainura@mail.ru**

² *Zh. Zhiembayev Kazakh Research Institute of Plant Protection and Quarantine, Kazakhstan,*

Almaty, Republic of Kazakhstan, bduissembekov@mail.ru

DETERMINATION OF CULTURAL-MORPHOLOGICAL AND BIOCHEMICAL PROPERTIES OF BACILLUS THURINGIENSIS STRAINS

Abstract

Under laboratory conditions, the cultural, morphological and biochemical properties of strains belonging to the *Bacillus thuringiensis* group were studied, with their deeper selection, promising as producers of biological products with entomocidal action against harmful organisms. According to the results of serological identification, the isolated bacteria were assigned to three serotypes: 3a3b3c – subspecies *Bt kurstaki*; H4ab-subspecies *Bt sotto* and 31 serotypes of the species *Bt toguchini*. According to the conducted analyses, we found that the studied bacteria in nature are most often found 3a 3b 3c serotypes belonging to the subspecies *Bacillus thuringiensis kurstaki* (84%). Currently, this subspecies is most widely used as the basis of bacterial biologics.

At the same time, the growth of microorganisms on different nutrient media was studied. According to the results of our research, medium "A" turned out to be more favorable for strains of the bacterium *B. thuringiensis*, since the components contained in this medium provide the nutritional needs of this culture. This medium was used as a working medium for the isolation of bacteria from natural substrates, during further replanting, as well as during the storage of bacteria for a long time.

Keywords: *Bacillus thuringiensis*, strain, entomopathogen, nutrient medium, morphology, biochemical properties, cultural characteristics

МРНТИ 68.33.29

DOI <https://doi.org/10.37884/3-2024/22>

М.Бейсенбаева^{1}, А.Жанпарова¹, Д.Сыдық², К.О.Караева¹, А.Наушабаев¹, А.Абдуова³*

¹*Қазақ ұлттық аграрлық зерттеу университеті, Алматы, Қазақстан Республикасы mm0825@mail.ru*, aigul7171@inbox.ru, karliga_89@mail.ru, tatan-askhat@mail.ru*

²*«Оңтүстік-батыс мал және өсімдік шаруашылығы ғылыми-зерттеу институты» ЖШС, Шымкент, Қазақстан sydykdosymbek@mail.ru*

³*«М.Әуезов атындағы Оңтүстік Қазақстан университеті» КЕАҚ, Шымкент, Қазақстан aisulu.abduova@mail.ru*

СУАРУ ЖӘНЕ МИНЕРАЛДЫҚ ҚОРЕКТЕНДІРУ РЕЖИМДЕРІН РЕТТЕУДІҢ МАЙЛЫ ДАҚЫЛДАРДЫҢ ШАРУАШЫЛЫҚ-ҚҰНДЫ БЕЛГІЛЕРІНІҢ ҚАЛЫПТАСУЫ МЕН ӨНІМДІЛІГІНЕ ӘСЕРІ

Аңдатпа

Мақалада Қазақстанның оңтүстігінде 2019-2021 жылдар аралығында «Оңтүстік Батыс мал және өсімдік шаруашылығы ғылыми - зерттеу институтының» тәжірибе танабында