

**NEWS****OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN****SERIES OF BIOLOGICAL AND MEDICAL**

ISSN 2224-5308

Volume 1, Number 313 (2016), 89 – 93

## **STUDY AND PRODUCING BIOPREPARATION FOR PLANT PROTECTION AND GROWTH STIMULATE**

**A. M. Esimova<sup>1</sup>, B. Zh. Mutaliyeva<sup>1</sup>, A. T. Zhunuskhojayev<sup>2</sup>, E. K. Esimov<sup>1</sup>, A. Tolegen<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>M. Auezov SKSU, Shymkent, Kazakhstan,

<sup>2</sup>Nazarbayev Intellectual schools of chemical-biological direction, Shymkent, Kazakhstan

**Key words:** consortium of microorganisms, biopreparation, soil fertility, cultivation, nutrient medium.

**Abstract.** The article presents the results of research to develop a new drug, with the simplification of the production technology, with a wide spectrum of antagonistic activity against plant pathogens, as well as having an increased activity in stimulating the growth and development of plants. The biological product contains the following components: a bacterial strain *Pseudomonas* species 7G2K, preparation Humate + 7, gossypol gum, 70% ethyl alcohol and water. A strain of bacteria is resistant to antibiotics: rifampicin, ampicillin, novobiocin, chloramphenicol, kanamycin and sensitive to tetracycline. The efficiency of the drug was determined by the degree of inhibition of pathogens causing diseases of tomato. The results testify about high fungicidal activity of the developed composition. The germination and vigor of seeds of tomato, potato tubers and seeds of wheat Milturum 553 were studied to investigate the stimulatory effect, they were treated with the studied drug. The optimal content of bacterial strains, Humate +7, gossypol gum, alcohol and water have been identified in the preparation. It was also found that a decrease in stimuli activity of biopreparation occurs in the absence of a gossypol gum and Humate + 7.

Usage of the developed biological product will reduce the susceptibility of plant by diseases caused by a broad spectrum of plant pathogens, and increase yields of some crops.

УДК 612.395

## **ИССЛЕДОВАНИЕ И ПОЛУЧЕНИЯ БИОПРЕПАРАТА ДЛЯ ЗАЩИТЫ РАСТЕНИЙ И СТИМУЛИЯЦИИ РОСТА**

**A. M. Есимова<sup>1</sup>, Б. Ж. Муталиева<sup>1</sup>, А. Т. Жунусхожаев<sup>2</sup>, Е. К. Есимов<sup>1</sup>, А. Толеген<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ЮКГУ им. М. Ауэзова, Шымкент, Казахстан,

<sup>2</sup>Назарбаев Интеллектуальная школа химико-биологического направления, Шымкент, Казахстан

**Ключевые слова:** консорциум микроорганизмов, биопрепарат, плодородие почв, культивирование, питательная среда.

**Аннотация.** В статье приведены результаты исследований по разработке нового биопрепарата, с упрощением технологии его получения, широким спектром антагонистической активности против возбудителей заболеваний растений, а также обладающего повышенной стимулирующей активностью на рост и развитие растений. Биопрепарат содержит следующие компоненты: штамм бактерий *Pseudomonas* species 7Г2К, препарат Гумат+ 7, госсиполовая смола, 70%-ный этиловый спирт, вода. Штамм бактерий устойчив к антибиотикам:rifampicину, ампициллину, новобиоцину, хлорамфениколу, канамицину и чувствителен к тетрациклину. Эффективность действия препарата устанавливали по степени угнетенияими патогенных микроорганизмов, вызывающих заболевания томата. Полученные результаты свидетельствуют о высокой фунгицидной активности заявляемого состава. Для исследования стимулирующего действия изучали всхожесть и энергию прорастания семян томата, клубней картофеля, а также семена яровой пшеницы Мильтурум 553, которые обрабатывали исследуемым препаратом в отдельности. Были определены оптимальное содержание в препарате штаммов бактерий, Гумата+7, госсиполовой смолы, спирта и воды. Также было установлено,

что происходит снижение стимулирующей активности биопрепарата в случае отсутствия в нем госсиполовой смолы и Гумата+7.

Применение разработанного биопрепарата позволит снизить поражаемость растений болезнями, вызванными широким спектром фитопатогенов, и увеличить урожайность некоторых сельскохозяйственных культур.

**Введение.** В последние годы для борьбы с болезнями растений все активнее используют препараты, изготовленные на основе различных микроорганизмов, поскольку последние безвредны для полезной фауны, не загрязняют окружающей среды, что наблюдается в случае применения агрохимикатов [1-3].

Известны работы японских исследователей, которые направлены для борьбы с паршой картофеля, содержащий суспензию клеток штаммов бактерий *Pseudomonas fluorescence* biobar V (штамм МД-4f), *Enterobacter agglomerans* (штамм 2-3B), *Pseudomonas* sp (штамм F13-I), *Acinetobacter* sp (штамм M24-I) [4]. Данный препарат имеет узкий спектрfungицидного действия и подавляет размножение грибов рода *Streptomyces* (бактерии - возбудители парши картофеля). Кроме того, японские исследователи разработали технологию эффективные микроорганизмы. В ней предусмотрено проводить только поверхностное рыхление почвы. Это улучшает аэрацию почвы и создает условия для нормального развития микроорганизмов. Учитывая, что в почве эффективные микроорганизмы могут быть угнетенными, или их недостаточно, ныне предложили искусственно размножать 86 видов микроорганизмов и ими насыщать почву, обрабатывать семена перед севом, опрыскивать растения во время вегетации [5].

Работы российских исследователей также содержат результаты по разработке препаратов для стимуляции роста растений, которые позволяют повысить урожай растений за счет стимулирующей активности, но не защищает растения от различных фитопатогенов [6, 7].

**Методы исследований.** В данной работе приводятся данные по разработке нового биопрепарата с упрощением технологии его получения, широким спектром антагонистической активности против возбудителей заболеваний растений, а также обладающего повышенной стимулирующей активностью на рост и развитие растений.

Разработанный биопрепарат для защиты растений и стимуляции роста включает штамм бактерий *Pseudomonas species* 7Г2К с концентрацией  $5\text{-}8 \times 10^{10}$  кл/мл, препарат Гумат+7, и дополнительно содержит госсиполовую смолу и этиловый спирт.

Штамм имеет следующие культурально-морфологические и физиолого-биохимические признаки:

1. Культурально-морфологические признаки: Грамотрицательные подвижные палочки размером (0,5 - 0,7) x (1,2 - 3,8) мкм, с полярными жгутиками, спор не образуют. Морфология колоний на питательных средах определялась после роста в течение 2-3 суток при 28 - 30°C на среде МПА. Штамм образуют колонии: крупные (10 - 12 мм), белесые, сильновыпуклые, густо-слизистые. На диагностических средах Кинга: Кинг А - пигмент отсутствует; Кинг Б - пигмент интенсивно зеленый.

2. Физиолого-биохимические свойства: аэроб, оптимум температуры роста 28 - 35°C, растет до 43°C, pH 5,5 - 7,5, оптимум 7,0 - 7,2. В качестве источников углерода использует глюкозу, глицерин, маннит и не усваивают рафинозу, галактозу, мальтозу, сахарозу, сорбит, дульцит.

Штамм устойчив к антибиотикам: рифамицину, ампициллину, новобиоцину, хлорамфениколу, канамицину и чувствителен к тетрациклину.

Штамм хранится в 25%-ном глицерине при (-20) - (70°C) или в лиофильно-высушенном состоянии. Штамм непатогенен для теплокровных животных и человека.

Биопрепарат готовят следующим образом.

В колбу емкостью 1000 мл заливают 500 мл питательной среды, содержащей (г/л): триптон или пептон - 10,0; дрожжевой экстракт - 5,0; натрий хлористый - 10,0; вода - остальное. Использование питательной среды прототипа позволяет сохранить все культурально-морфологические и физиолого-биохимические признаки штамма бактерий *Pseudomonas species* 7Г2К. Затем в колбу вносят 5 мл стационарной культуры штамма *Pseudomonas* sp. 7Г2К. Культивирование осуществляют при 35°C на качалках (250 об/мин) с аэрацией в течение 12 - 16 часов до конечного титра

(5-8 ×10<sup>10</sup> кл/мл). Затем в емкость вносят препарат Гумат+ 7 – 5,0-7,0 % вес, добавляют 450 мл воды, перемешивают и прибавляют госсиполовую смолу, растворенную в 70%-ном этиловом спирте в соотношении 1:2, в количестве 1,0-1,5% вес. в пересчете на госсиполовую смолу, и доводят объем смеси до 1 л. Полученный биопрепарат представляет собой водную суспензию светло-коричневого цвета, со специфическим запахом.

В качестве бактериальной культуры используется только один штамм *Pseudomonas* sp 7Г2К, что позволяет упростить технологию получения биопрепарата без снижения его фунгицидной активности в отношении фитопатогенных микроорганизмов (таблицы 1, 2), но с повышением стимулирующего действия (таблицы 3–5). Уменьшение содержания штамма клеток микроорганизмов в препарате ниже 5,0% приводит к снижению биологической активности препарата, а увеличение – выше 8,0% угнетающее действует на растения. Оценивали действие состава препарата на возбудителей, вызывающих серую гниль (*Botrytis cinerea* Pers), стеблевую гниль (*Didymella lycopersici*), бурую гниль (*Phoma destructiva* Plowr), увядание (*Fusarium oxysporum* f. *Lycopersici*), розовую гниль плодов (*Fusariunn gibbosum* App. et Wr.) у томата. Также оценивали действие микроорганизма биопрепарата на возбудителей, вызывающих антраксиоз (*Colletotrichum atramentarium*), увядание (*Thielaviopsis basicola*), стеблевую гниль (*Didymella lycopersici*), картофельную совку (*Hygroesia micacea* Esp.) у картофеля. Эффективность действия препарата устанавливали по степени

Таблица 1 – Сравнительная эффективность действия препарата на патогены, вызывающие заболевания томата

Исследованные варианты препарата	Патогенные микроорганизмы						
	<i>Botrytis cinerea</i> Pers	<i>Didymella lycopersici</i>	<i>Phoma destructiva</i> Plowr	<i>Fusarium oxysporum</i> f. <i>lycopersici</i>	<i>Fusariunn gibbosum</i> App. et Wr.	<i>Tobacco mosaic virus</i>	<i>Tomato aspermy virus</i>
Биопрепарат	+	+	+	+	±	+	+
Разработанный биопрепарат без госсиполовой смолы	±	+	±	+	±	+	+
Разработанный биопрепарат без Гумата +7	+	+	±	±	+	+	+

«+» - диаметр зоны задержки роста более 25-15 мм., «±» - диаметр зоны задержки роста более 15-10 мм., «-» - диаметр зоны задержки роста менее 10 мм.

Таблица 2 – Сравнительная эффективность действия препарата на патогены, вызывающие заболевания картофеля

Исследованные варианты препарата	Патогенные микроорганизмы						
	<i>Leptinotarsa decemlineata</i> Say.	<i>Colletotrichum atramentarium</i>	<i>Thielaviopsis basicola</i>	<i>Didymella lycopersici</i>	<i>Hygroesia micacea</i> Esp.	<i>Potato virus Y</i>	<i>Potato leaf rool virus</i>
Разработанный биопрепарат	+	+	+	±	+	+	+
Разработанный биопрепарат без госсиполовой смолы	+	-	+	+	±	+	+
Разработанный биопрепарат без Гумата +7	+	+	±	+	+	+	+

Таблица 3 – Результаты всхожести семян томата

Исследованные варианты препарата	№ пробы	Проросшие семена, %	Не проросшие семена, %
Разработанный биопрепарат	1	96	4
	2	99	1
Разработанный биопрепарат без госсиполовой смолы	1	95	5
	2	93	7
Разработанный биопрепарат без Гумата +7	1	93	7
	2	94	6
Контроль	1	92	8
	2	91	9

Таблица 4 – Результаты всхожести клубней картофеля

Исследованные варианты препарата	№ пробы	Проросшие клубни, %	Не проросшие клубни, %
Разработанный биопрепарат	1	100	–
	2	99	1
Разработанный биопрепарат без гомосиполовой смолы	1	96	4
	2	98	2
Разработанный биопрепарат без Гумата +7	1	98	2
	2	98	2
Контроль	1	97	3
	2	96	4

Таблица 5 – Сравнительная эффективность действия препарата (мягкая яровая пшеница сорта Мильтурум 553)

Исследованные варианты препарата	Индекс развития корневой гнили, %		Урожайность, ц/га
	первичные корни	вторичные корни	
Разработанный биопрепарат	3,7	2,0	23
Разработанный биопрепарат без гомосиполовой смолы	4,5	3,5	18
Разработанный биопрепарат без Гумата +7	4,0	2,8	22

угнетения ими патогенных микроорганизмов, вызывающих заболевания томата. Полученные результаты свидетельствуют о высокой фунгицидной активности разработанного состава. Для исследования стимулирующего действия изучали всхожесть и энергию прорастания семян томата, которые обрабатывали каждым исследуемым препаратом в отдельности. Сравнительный анализ данных таблиц 3 и 4 свидетельствует о высоком стимулирующем действии исследуемого биопрепарата.

### Результаты и их обсуждение

С целью повышения стимулирующей активности препарата на рост и развитие растений в качестве полезной добавки введен вместо гуматов и микроэлементов готовый препарат Гумат+7, что приводит не только к повышению стимулирующей активности биопрепарата, но и значительно упрощает технологию его приготовления за счет использования только одного элемента вместо десятка различных. Гумат +7 - это комплекс Гумата-80 с семью основными микроэлементами. В Гумате-80 содержится не менее 80% гуматов калия и натрия, поэтому он называется безбалластным гуматом. Большинство из обычных гуминовых препаратов содержит много балластных веществ, и эффект их слабее. Гумат +7 действует еще эффективнее за счёт возникающего синергетического эффекта. Под влиянием гуматов в организме растений активируются процессы обмена веществ, усиливается дыхание и поступление минерального питания из внешней среды. Данные таблиц 3 и 4 свидетельствуют о снижении стимулирующей активности биопрепарата в случае отсутствия в нем добавки Гумат +7 . Оптимальное содержание препарата Гумат+ 7 составляет от 5,0 до 7,0% вес. Уменьшение содержания препарата ниже 5,0% приводит к снижению биологической активности препарата, а увеличение выше 7,0% нецелесообразно, так как при этом качество биопрепарата не повышается, а его себестоимость растет.

Кроме того, в разработанный препарат входит также раствор гомосиполовой смолы в 70%-ном этиловом спирте в качестве целенаправленного активатора последующего метаболизма бактерий *Pseudomonas* sp 7Г2К в почве, что приводит к значительному повышению стимулирующей активности биопрепарата.

Данные таблиц 3 и 4 свидетельствуют о снижении стимулирующей активности биопрепарата в случае отсутствия в нем гомосиполовой смолы. Оптимальное содержание гомосиполовой смолы составляет от 1,0 до 1,5% вес. Уменьшение содержания гомосиполовой смолы в составе препарата ниже 1,0% приводит к снижению биологической активности препарата, а увеличение выше 1,5-2,0% приводит к торможению развития бактерий вплоть до их гибели. Этиловый спирт играет роль растворителя гомосиполовой смолы и вызывает образование эмульсии, его количество (2,0-3,0%) отвечает области максимальной стойкости эмульсии.

Испытания провели в трех крестьянских хозяйствах ЮКО на полях общей площадью 10 га для исследования стимуляции роста и защиты мягкой яровой пшеницы сорта Мильтурум 553 от поражения корневыми гнилями и для испытаний действия препаратов на спектр антагонистической активности против возбудителей заболеваний растений, а также на стимулирующую активность роста и развития растений (картофель, томат). Как свидетельствуют данные таблицы 6, разработанный состав в указанных пределах содержания компонентов обеспечивает хорошую антагонистическую активность против возбудителей заболеваний растений (105-110%), а также обладает повышенной стимулирующей активностью на рост и развитие растений ( 128-150%).

**Выводы.** Таким образом, разработанный биопрепарат с упрощенной технологией его получения, обладает широким спектром антагонистической активности против возбудителей заболеваний растений, а также повышенной стимулирующей активностью на рост и развитие растений.

#### ЛИТЕРАТУРА

- [1] Сельскохозяйственная биотехнология /Под ред. В.С. Шевелухи. – М.: Высш. шк., 2003. – 469 с.
- [2] Волова Т.Г. Экологическая биотехнология: уч. пособие для университетов / Т.Г. Волова. - Новосибирск, 2007. – 141 с.
- [3] Хижняк П.Л. и др. Химическая и биологическая защита растений./ Учебное пособие для сред. с.-х. учеб. заведений. - М.: Колос, - 1971. - 215 с.
- [4] Заявка Японии № 1-193203A, кл. A 01 N 63/00.Средство для борьбы с паршой картофеля, опубл. 03.08.89.
- [5] Шаблин П.А. ЭМ-технология надежда планеты.–М.: ПО «ЭМ-кооперация»,2000.-34 с.
- [6] Патент РФ № 2130264 кл. A 01 N 63/00 «Препарат для стимуляции роста и защиты растений от болезней» опубл. 20.05.1999г.
- [7] Патент РФ № 2130264. Препарат для стимуляции роста и защиты растений от болезней. A01N63/00. Опубл. 20.05.1999.

#### REFERENCES

- [1] Agriculture biotechnology /Under redaction V.S. Sheveluhi – M.: Higher school, 2003. – 469 p.
- [2] Volova T.G. Ecological biotechnology: textbook for universities / T.G. Volova. - Novissibirsk, 2007. – 141p.
- [3] Chizhnyak P.L. etc. Chemical and biological protection of plants/ Textbook for medium agriculture institutions. - M.: Colos, - 1971. - 215 p.
- [4] Application of Japan № 1-193203A, кл. A 01 N 63/00.Means for controlling potato scab, publ. 03.08.89.
- [5] Shablin P.A. EM-technologies for planets hope.–M.: PO «EM-cooperation»,2000.-34 p.
- [6] Patent RF № 2130264 cl. A 01 N 63/00 «Preparation for stimulation of growth and protection of plants against disease» publ.20.05.1999г.
- [7] Patent RF № 2130264. Preparation for stimulation of growth and protection plants against diseases. A01N63/00. Publ. 20.05.1999.

#### ӨСІМДІКТЕРДІ ҚОРҒАУ ЖӘНЕ ӨСҮІН ҚАЛЫПТАСТЫРУ ҮШІН БИОПРЕПАРATTАР АЛУ ЖӘНЕ ЗЕРТТЕУ

**А. М. Есимова<sup>1</sup>, Б. Ж. Муталиева<sup>1</sup>, А. Т. Жунусхожаев<sup>2</sup>, Е. К. Есимов<sup>1</sup>, А. Толеген<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>М. Әуезов атындағы ОҚМУ, Шымкент, Қазақстан,

<sup>2</sup>Химия-биология бағытындағы Назарбаев Интеллектуальды мектебі, Шымкент, Қазақстан

**Тірек сөздер:** микроағзалар консорциумы, биопрепарат, топырақ өнімділігі, культивирлеу, қоректік орта.

**Аннотация.** Мақалада өсімдік ауруларын қоздырғыштарына қарсы антогонистік белсенділігінің кең спектрі, сонымен қатар, өсімдіктер өсуі мен дамуына жоғарғы қалыптастыру белсенділігіне ие, жана препаратты жасау, оны алудың қыскартылған технологиясын құрастыру бойынша зерттеулер нәтижесі келтірілген

Биопрепарат келесідей құраушылардан тұрады: *Pseudomonas species* 7Г2К бактерия штаммдары, Гумат+7 препараты, госситетті смола, 70%-тік этил спирті, су. Бактерия штаммдары антибиотиктер рифамицин, ампициллин, новобиоцин, хлорамфеникол, канамицинге тұракты және тетрациклинге сезімтал келеді. Препараттың әсер ету тиімділігін қызанак ауруларының пайда болуына әсер ететін патогенді микроағзаларды өндөу дәрежесі бойынша аныктайды. Алынған нәтижелер көрсетілген құрамның жоғарғы фунгицидті белсенділігін дәлелдейді. Қалыптастыруға әсерін зерттеу үшін қызанак дәндөрі, картоп түйнектері, Мильтурум 553 ірі бидай дәндөрінің ұқсастығы мен өсу энергиясын анықтау кезінде зерттелетін препаратпен жеке өндөу жұмыстары жүргізілді. Препаратағы бактериялар штаммдары, Гумата+7, госситетті смола, спирт пен судың оптимальды құрамы анықталды. Сонымен қатар, анықталғандай, егер госситетті смола мен Гумата+7 болмаса, онда биопрепараттың қалыптастыру белсенділігі төмендейді.

Жасалған биопрепаратты қолдану көптеген фитопатогендермен пайда болатын өсімдіктердің аурулармен закымдануын төмендетуге және кейбір ауылшаруашылық культураларының өнімділігін арттыруға мүмкіндік береді.

Поступила 02.02.2016 г.