

NEWS

OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

SERIES OF BIOLOGICAL AND MEDICAL

ISSN 2224-5308

Volume 2, Number 308 (2015), 78 – 81

**PRODUCTION OF BIOLOGICAL PREPARATIONS
TO IMPROVE SOIL FERTILITY OF SKR BASED
ON MICROBIAL CONSORTIA**

A. M. Yesimova, Z. K. Narymbayeva, B. Zh. Mutaliyeva, D. E. Kudasova, D. N. Abdullayeva

M. Auezov SKSU, Shymkent, Kazakhstan. E-mail: dariha_uko@mail.ru

Key words: biological product, consortium of microorganisms, bacteria, eubacteria, fermenting fungi.

Abstract. We investigate the production of biological preparations with broad spectrum consisting of a consortium of microorganisms in this paper. The relationship between microorganisms which are part of the preparation have been studied as a result of studies. Combined growth of microorganisms was observed in mutually beneficial conditions. Inhibition zones of one organism by metabolic products of the other were observed in antagonistic relationship.

УДК 612.395

**ПОЛУЧЕНИЕ БИОПРЕПАРАТА
ДЛЯ ПОВЫШЕНИЯ ПЛОДОРОДИЯ ПОЧВ ЮКО
НА ОСНОВЕ КОНСОРЦИУМА МИКРООРГАНИЗМОВ**

A. M. Есимова, З. К. Нарымбаева, Б. Ж. Муталиева, Д. Е. Кудасова, Д. Н. Абдуллаева

ЮКГУ им. М. Ауезова, Шымкент, Казахстан

Ключевые слова: биопрепарат, консорциум, микроорганизмы, бактерий, эубактерий ферментирующие грибы.

Аннотация. В данной статье исследовано получение биопрепарата широкого спектра действия, состоящего из консорциума микроорганизмов. В результате проведенных ход исследований были изучены взаимоотношения между микроорганизмами, входящих в состав препарата. При взаимовыгодных условиях наблюдался совместный рост микроорганизмов. При антагонистических взаимоотношениях наблюдались зоны угнетения одного организма продуктами обмена другого.

Современные прогрессивные технологии возделывания сельскохозяйственных культур должны обеспечивать получение высоких урожаев высококачественной продукции. Формирование урожая сельскохозяйственных культур зависит от многих факторов, в том числе от оптимального содержания и доступности питательных элементов в почве. Только при достаточном и нормальном питании всеми необходимыми элементами растение может давать высокий урожай. В связи со снижением объемов применения минеральных удобрений ставится задача поиска дополнительных резервов питания растений азотом, фосфором и калием.

Пестициды являются единственным загрязнителем, который сознательно вносится человеком в окружающую среду. Пестициды поражают различные компоненты природных экосистем: уменьшают биологическую продуктивность фитоценозов, видовое разнообразие животного мира, снижают численность полезных насекомых и птиц, а в конечном итоге, представляют опасность и для самого человека. Даже в ничтожных концентрациях пестициды подавляют иммунную систему

организма, повышая, таким образом, его чувствительность к инфекционным заболеваниям. В более высоких концентрациях эти примеси оказывают мутагенное и канцерогенное действие на организм человека.

Биотехнологические методы традиционно используются в сельском хозяйстве для повышения плодородия почв, борьбы с вредителями и возбудителями болезней культурных растений и животных, приготовления продовольственных продуктов, их консервирования и улучшения питательных свойств. При этом удельный вес биотехнологии для развития и повышения эффективности традиционных сельскохозяйственных технологий постоянно возрастает [1, 2].

Получение высоких урожаев и плодородие почвы находятся в тесной зависимости от жизнедеятельности почвенных организмов, благодаря которым обеспечивается нормальное питание растений.

В настоящее время для получения высоких и устойчивых урожаев растениеводческой продукции наряду с эффективными агро- и фитотехническими приемами необходимо широко применять биологические препараты на основе агрономически полезных групп микроорганизмов [3].

Японцы, изучив закон естественного воспроизводства плодородия почвы, пришли к выводу, что в верхнем горизонте грунта (до 10 сантиметров) «работают» мириады микроорганизмов, которых они назвали «эффективными» микроорганизмами. Всякая органика, попав в почву, не является непосредственной пищей растений. Сначала ее должны «съесть» микроорганизмы, а уже их продукт становится доступным корням растений.

Японцы разработали технологию эффективные микроорганизмы (ЭМ-технологию). 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 [4].

Механизм действия биопрепаратов сводится к тому, что при инокуляции происходит искусственное заселение поверхности семян полезной микрофлорой.

При посеве бактерии интенсивно размножаются и активно заселяют ризосферу развивающегося растения. Применение препаратов позволяет снизить дозы азотных удобрений за счет работы азотфиксирующих бактерий, оказывают пролонгированное стимулирующее действие на развитие растения в целом, что приводит к улучшению продуктивности растений и улучшению качества продукции [5].

По получению биопрепаратов, повышающих плодородие почвы и урожаи сельскохозяйственных культур, имеются аналогичные препараты.

В данной работе предлагается получение биопрепарата широкого спектра действия, состоящего из консорциума микроорганизмов, которые:

- не требуют больших экономических затрат;
- не наносят вреда окружающей среде;
- повышают урожайность сельскохозяйственных культур;
- азотфиксирующие бактерии, ассимилируя атмосферный азот, способствуют азотному питанию растений;
- сдерживают размножение вредных микроорганизмов, защищают прорастающие семена и растения от болезней;
- молочнокислые бактерии синтезируют молочную кислоту, являющуюся своеобразным стерилизатором почвы, губительно влияют на патогенные микроорганизмы;
- микроорганизмы образуют ряд ферментов, помогающих усваивать растениям ранее недоступные вещества;
- микроорганизмы синтезируют ростостимулирующие вещества: ауксины, гиббереллин и т.д., благодаря которым интенсивно развивается корневая система и растение в целом;
- микроорганизмы синтезируют биологически активные вещества: витамины, антибиотики; органические кислоты, разрушающие почвообразующие минералы и выщелачивающие микроэлементы, необходимые для питания растений;

- эффективно восстанавливают плодородие почв за счёт переработки органики, что приводит к увеличению количества питательных, легко доступных для растений веществ.

Для выделения и идентификации микроорганизмов использовали общепринятые методы [6]. Культивирование бактерий проводили на среде Мана-Рогоза-Шарпа (МРС, «HiMedia») и 1,5% пептонной воде (ПВ; НПО «Питательные среды») при 37 °С [7].

Для получения чистой культуры использовали колонии микроорганизмов выделенные из почвы ЮКО. Для получения изолированных колоний использовали метод посева штрихом с «истощением» посевного материала.

Размер, конфигурация, очертания краёв и поверхности, консистенция колоний для многих видов микроорганизмов являются характерными, и, зная эти признаки, можно отобрать и отвить нужные для изучения.

В процессе идентификации у популяции особей в чистой культуре изучали морфологические (форма клеток, расположение их относительно друг друга, размер, наличие капсулы, подвижность и характер движения), тинкториальные (окраска по Граму, на кислотоустойчивость), физиологические (спорообразование, тип биологического окисления и т.д.), биохимические (способность окислять или сбраживать углеводы и многоатомные спирты, образовывать ферменты и конечные продукты) [8, 9].

В данной работе проводили культивирование молочнокислых, азотфиксирующих, фототрофных бактерий, зубактерий и ферментирующих грибов, поэтому используются питательные среды именно для этих микроорганизмов. Для каждой группы микроорганизмов используется определенная питательная среда.

Состав питательных сред

Группа микроорганизмов	Состав питательной среды, г/л
Грибы	Меласса – 40, (NH ₄) ₂ SO ₄ – 5, MgSO ₄ – 1, K ₂ HPO ₄ – 5
Молочнокислые бактерии	Обезжиренное молоко (обрат), разбавленное водой 1 : 2
Азотфиксирующие бактерии	Кукурузный экстракт – 18, меласса – 15, (NH ₄) ₂ SO ₄ – 1, K ₂ HPO ₄ – 5, CaCO ₃ – 10, MgSO ₄ – 1
Фототрофные бактерии	Меласса – 40, (NH ₄) ₂ SO ₄ – 5, MgSO ₄ – 1, K ₂ HPO ₄ – 5

Питательные среды для культивирования микроорганизмов должны быть стерильными, поэтому их стерилизовали при 1 атм., в течение 20 мин.

Для исследования антагонистических свойств бактерий использовали методы прямого антагонизма по Mungau [7], в модификации Усвяцова и отсроченного антагонизма по Frederiq [8]. Для определения миколитической способности у микроорганизмов используют следующие приемы:

- на картофельном агаре или же другой подходящей питательной среде выращивается культура интересующего паразитического микроорганизма (например, *Fusarium* и др.). Чашки Петри инкубируют в термостате 2-3 суток при температуре 30°С.

- на мясо-пептонном агаре или же другой подходящей питательной среде выращивается культура микроорганизмов, у которых будут определять миколитическую способность. Засеивают исследуемую культуру сплошным газоном. Посев производят стерильным ватным тампоном, смоченный суспензией исследуемой культуры. МПА засеянный сплошным газоном разрезают на квадратики размером 2x2 см. Чашки Петри инкубируют в термостате 2-3 суток при температуре 30°С.

- когда поверхность агара покроеется мицелием гриба, на него наносятся вырезанные квадратики исследуемых микроорганизмов. Чашки Петри ставят в термостат с температурой 25–30°С на 10–15 дней. Если исследуемая культура обладает миколитическими свойствами, то начинается постепенное растворение гриба вокруг нанесенных квадратиков МПА, с течением времени мицелий гриба будет лизирован и появятся чистые места.

Исследование взаимоотношений между микроорганизмами, входящих в состав биопрепарата проводили следующим образом. В чашки Петри наливают расплавленную агаровую среду

соответствующего состава (мясо-пептонный агар с глюкозой и другие) и после застывания густо засевают культурой бактерии, для которой изучают антагонистические отношения с другими интересующими микроорганизмами. Через некоторое время (12–24 часа) на ту же чашку наносят небольшими участками и в разных местах чистую культуру другого микроорганизма: или в виде капельки суспензии, или в виде кусочка агаровой среды, на которой этот микроорганизм хорошо развился. Чашки Петри с двойным посевом ставят в термостат с температурой 30–35°C. Если первая форма равномерно разрастается по всей поверхности чашки, значит, второй микроб не обладает по отношению к нему антагонистическими свойствами. Если же вокруг колонии второго (подсеянного) микроба образуются чистые зоны, значит, эта форма выделяет в среду антибиотические вещества и мешает развитию первой формы. В этом случае налицо антагонистические отношения между изучаемыми микроорганизмами.

В результате проведенных исследований были изучены взаимоотношения между микроорганизмами, входящих в состав препарата. При взаимовыгодных условиях наблюдался совместный рост микроорганизмов. При антагонистических взаимоотношениях наблюдались зоны угнетения одного организма продуктами обмена другого. Молочнокислые бактерии и грибы развиваются относительно друг друга очень хорошо, между азотфиксирующими бактериями и молочнокислыми бактериями и грибами зоны взаимного угнетения нет.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] Сельскохозяйственная биотехнология / Под ред. В. С. Шевелухи. – М.: Высш. шк., 2003. – 469 с.
- [2] Шаблин П.А. ЭМ-технология надежда планеты. – М.: ПО «ЭМ-кооперация», 2000. – 34 с.
- [3] Муромцев Г.С., Бутенко Р.Г., Тихонович Т.И. и др. Основы сельскохозяйственной биотехнологии. – М.: Агропромиздат, 1990. – 421 с.
- [4] Аникеев В.В., Лукомская К.А. Руководство к практическим занятиям по микробиологии. – М.: Просвещение, 1999. – 127 с.
- [5] Пименова М.Н., Гречупкина И.Н., Азова Л.Г. Руководство к практическим занятиям по микробиологии. – М.: МГУ, 2001. – 180 с.
- [6] Мукашева Т.Д. Практические занятия по микробиологии. – Алматы: Изд-во КазГУ, 2001. – 260 с.
- [7] Теплер Е.З. и др. Практикум по микробиологии. – М.: Колос, 1996. – 216 с.
- [8] Сидоров М.А. Определитель зоопатогенных микроорганизмов. – М.: Колос, 2003. – 189 с.
- [9] Прохоров В.В. Параметрические методы вариационной статистики. – М.: Наука, 2007. – 223 с.

REFERENCES

- [1] Agricultural Biotechnology. Ed. V. S. Shevelukha. M.: Higher. wk., 2003. 469 p.
- [2] Shablin P.A. EM technology - hope of the planet. M.: PO "EM-cooperation", 2000. 34 p.
- [3] Muromtsev G.S., Butenko R.G., Tikhonovich T.I. et al. Basics of Agricultural Biotechnology. M.: Agropromizdat, 1990. 421 p.
- [4] Anikeev V.V., Lukomskaya K.A. Guide to practical training in microbiology. M.: Education, 1999. 127 p.
- [5] Pimenov M.N., Grechushkin I.N., Azov L.G. Guide to practical training in microbiology. M.: MSU, 2001. 180 p.
- [6] Mukasheva T.D. Practical training on mikrobiologii. Almaty: Univ KSU, 2001. 260 p.
- [7] Tepper E.Z. et al. Workshop on microbiology. M.: Kolos, 1996. 216 p.
- [8] Sidorov M.A. Determinant of zoopathogenic microorganisms. M.: Kolos, 2003. 189 p.
- [9] Prokhorov V.V. Parametric methods of variation statistics. M.: Nauka, 2007. 223 p.

МИКРОАҒЗАЛАР КОНСОРЦИУМЫ НЕГІЗІНДЕ ОҚО ТОПЫРАҒЫНЫҢ ӨНІМДІЛІГІН ЖОҒАРЫЛАТУ ҮШІН БИОПРЕПАРАТТАР АЛУ

А. М. Есимова, З. К. Нарымбаева, Б. Ж. Муталиева, Д. Е. Құдасова, Д. Н. Абдуллаева

М. Әуезов атындағы ОҚМУ, Шымкент, Қазақстан

Тірек сөздер: биопрепарат, консорциум, микроағзалар, бактерия, эубактерия, ферменттейтін саңырау-құлақтар.

Аннотация. Мақалада микроағзалар консорциумынан тұратын кең спектрлі әсері бар биопрепарат алу зерттелді. Жүргізілген зерттеулер нәтижесінде препарат құрамындағы микроағзалар арасындағы өзара байланыс анықталды. Өзара тиімді жағдайларда микроағзалардың бірлескен өсімі байқалады. Антагонистік өзара байланысу кезінде бір ағзаның басқа ағза зат алмасуымен айқындалатын аймағы байқалады.

Поступила 27.02.2015 г.