

**NEWS**

OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

**SERIES OF BIOLOGICAL AND MEDICAL**

ISSN 2224-5308

Volume 4, Number 310 (2015), 115 – 120

**SELECTION OF OPTIMAL CULTURE CONDITIONS  
FOR THE LENTIL NODULE BACTERIA  
*RHIZOBIUM LEGUMINOSARUM* STRAIN B-1**

**A. K. Sadanov, G. D. Ultanbekova, A. A. Nysanbaeva, L. P. Trenozhnikova**

RSOE “Institute of Microbiology and Virology” CS MES RK, Almaty, Kazakhstan.  
E-mail: ultanbekova77@mail.ru

**Key words:** symbiotic nodule bacteria, biological, biomass.

**Abstract.** For the selection of the optimum conditions of growth and accumulation of biomass cultivation of strains of nodule bacteria there was carried out on 10 of liquid environments: medium with 3% corn extract, Isvara-na, Lazarev, with bean broth, Graham, Fred Norris, MPC, Maze, minimal medium. Optimal culture medium for the growth and biomass accumulation of the nodule bacterial strain *Rhizobium leguminosarum* B-1 has been selected. The highest cell titer was observed when using sucrose as a carbon source in a concentration of 8.0 g/L. Sources of carbon had a great influence on the accumulation of biomass of the strain *Rhizobium leguminosarum* B-1. Glucose supports the maximum cell titre ( $3.5 \cdot 10^9$  KOE/ml) at a concentration of 4.0 g/L, glycerol ( $1.8 \cdot 10^9$  KOE/ml) at a concentration of 10.0 g/L. All examined salts inhibited the growth of the *Rhizobium leguminosarum* strain B-1. Optimal variant of the modified culture medium with bean broth for the growth and maximum biomass accumulation of the lentil nodule bacteria *Rhizobium leguminosarum* strain B-1 has been developed, the cell titer of which is  $6.2 \cdot 10^9$  CFU/ml.

УДК 631.461 632.937.15 579.64 (476)

**ПОДБОР ОПТИМАЛЬНЫХ УСЛОВИЙ  
КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ШТАММА КЛУБЕНЬКОВЫХ БАКТЕРИЙ  
ЧЕЧЕВИЦЫ *RHIZOBIUM LEGUMINOSARUM* Б-1**

**А. К. Саданов, Г. Д. Ултанбекова, А. А. Нысанбаева, Л. П. Треножникова**

РГП «Институт микробиологии и вирусологии» КН МОН РК, Алматы, Казахстан

**Ключевые слова:** симбиоз, клубеньковые бактерии, биопрепарат, биомасса.

**Аннотация.** Для подбора оптимальных условий роста и накопления биомассы культивирование штаммов клубеньковых бактерий проводили на 10 жидких средах: среде с 3% кукурузным экстрактом, Иварана, Лазарева, с бобовым отваром, Грэхема, Фреда, Норриса, MPC, Мазэ, минимальной среде. Подобрана оптимальная питательная среда для роста и накопления биомассы штамма клубеньковых бактерий *Rhizobium leguminosarum* Б-1. Наиболее высокий титр клеток наблюдался при использовании в качестве источника углерода сахарозы в концентрации 8,0 г/л. Источники углерода оказывали большое влияние на накопление биомассы штамма *Rhizobium leguminosarum* Б-1. Глюкоза обеспечивает максимальный титр клеток ( $3.5 \cdot 10^9$  KOE/мл) в концентрации 4,0 г/л, глицерин ( $1.8 \cdot 10^9$  KOE/мл) в концентрации 10,0 г/л. Все изученные соли ингибировали рост штамма *Rhizobium leguminosarum* Б-1. Разработан оптимальный вариант модифицированной среды с бобовым отваром для роста и максимального накопления биомассы штамма клубеньковых бактерий чечевицы *Rhizobium leguminosarum* Б-1, титр клеток на которой составляет  $6.2 \cdot 10^9$  KOE/мл. Изучение влияния условий культивирования штаммов клубеньковых бактерий чечевицы *Rhizobium leguminosarum* Б-1 показало, что наиболее оптимальными для их роста и накопления биомассы являются температура  $27 \pm 1$  °C и pH 7,0.

Интерес к возделыванию зернобобовых в Казахстане обусловлен неустойчивостью цен на зерно и спросом на них на внешних рынках. Современные сорта этих культур хорошо растут как на плодородных, так и на бедных почвах. Зернобобовые культуры – надежный и выгодный компонент в смешанных посевах, что обусловлено их способностью активной фиксации азота и большой засухоустойчивостью. Они улучшают почву, а соответственно, являются отличными предшественниками для многих культур. Преимущества зернобобовых перед культурами других семейств заключается в том, что бобовые производят на единице площади больше белка, качество и усвояемость его выше. Они дают самый дешевый белок, включая в биологический круговорот азот воздуха, недоступный для других растений [1-4].

Чечевица – высокобелковая (24-32% белка) продовольственная и кормовая зернобобовая культура [6-11], рынок ее потребителей с каждым годом становится все больше. Сотрудниками РГП «Институт микробиологии и вирусологии» КН МОН РК выделены и отселекционированы активные штаммы азотфикссирующих клубеньковых бактерий чечевицы с высокими производственно-ценными показателями: высокой азотфикссирующей способностью, вирулентностью и конкурентоспособностью. На основе этих штаммов разработан биопрепарат серии «Ризовит-АКС» для повышения урожайности чечевицы и обогащения почвы биологическим азотом. Биопрепарат обладает комплексным действием – повышает всхожесть семян, стимулирует рост и развитие растений бобовых культур, способствует повышенному накоплению зеленой массы в течение всего периода роста растений и обогащает почву биологическим азотом. Обработка семян биопрепарата серии «Ризовит-АКС» позволяет получить высокий урожай бобовых культур, при этом в почве остается корневая система, обогащая чистым биологическим азотом [12-19].

Целью данного исследования являлся подбор оптимальных условий для роста и накопления биомассы штамма клубеньковых бактерий чечевицы *Rhizobium leguminosarum* Б-1.

### Материалы и методы исследований

Объектом исследований являлся штамм клубеньковых бактерий чечевицы – *Rhizobium leguminosarum* штамм Б-1, на основе которого разработана новая серия биопрепарата «Ризовит-АКС».

Штамм *Rhizobium leguminosarum* Б-1 инкубировали на агаровой среде Мазэ в течение 24 часов при температуре 28°C. Для подбора оптимальных условий роста и накопления биомассы культивирование штамма клубеньковых бактерий чечевицы проводили на 10 жидких средах: среде с 3% кукурузным экстрактом, Иварана, Лазарева, с бобовым отваром, Грэхема, Фреда, Норриса, МПС, Мазэ, минимальной среде. Состав сред приведен в г/л.

1. Среда с 3% кукурузным экстрактом: кукурузный экстракт – 30,0; K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> – 0,5; глюкоза – 10,0; MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O – 0,2; NaCl – 0,2; (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> – 0,5; pH 6,8–6,9.
2. Среда Иварана: сахароза – 10,0; K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> – 0,5; MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O – 0,2; глюконат кальция – 1,5; FeCl<sub>3</sub> – 0,01; дрожжевой экстракт – 2,0; pH 6,8–7,0.
3. Среда Лазарева: KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> – 0,5; MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O – 0,2; NaCl – 0,2; MnSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O – 0,005; сахароза – 10,0; дрожжевой экстракт – 100 мл; pH 7,2.
4. Среда с бобовым отваром: KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> – 1,0; MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O – 0,3; сахароза – 2,0; бобовый отвар – 50; pH 7,0.
5. Среда Грэхема: маннит – 0,5; лактоза – 0,5; NaCl – 0,2; CaCl<sub>2</sub> – 0,2; MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O – 0,1; FeCl<sub>3</sub> – 0,1; дрожжевой экстракт – 0,5; pH 7,0.
6. Среда Фреда: KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> – 0,5; MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O – 0,2; CaCO<sub>3</sub> – 3,0; NaCl – 0,1; дрожжевой экстракт – 1,0; сахароза, маннит или глюкоза – 10,0; pH 6,8–7,0.
7. Среда Норриса: K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> – 0,5; MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O – 0,8; CaSO<sub>4</sub> – 0,1; NaCl – 0,2; FeCl<sub>3</sub> – 0,01; дрожжевой экстракт – 2,0; 0,4% р – р бромтиолового синего – 5 мл; маннит – 10,0; pH 7,2.
8. Минерально-растительная среда: K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> – 0,5; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> – 0,5; MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O – 0,1; CaSO<sub>4</sub> – 0,1; NaCl – 0,2; (NH<sub>4</sub>)<sub>6</sub>Mo<sub>7</sub>O<sub>24</sub>·4H<sub>2</sub>O – следы; маннит или глюкоза – 20,0; соевая мука – 10,0; pH 6,8–7,0.
9. Среда Мазэ: KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> – 0,5; MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O – 0,3; NaCl – 0,5; сахароза – 10,0; горох – 100,0; pH 7,0.
10. Минимальная среда: K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> – 0,5; MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O – 0,2; NaCl – 0,1; NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> – 0,1; маннит – 10,0; соевая мука – 10,0; pH 7,0.

Клубеньковые бактерии инкубировали в колбах Эрленмейера объемом 750 мл с 200 мл среды в течении 48 часов на ротационном шейкере при 180-200 об/мин и температуре 28±1°C.

Влияние источников углерода (сахарозы, глюкозы, маннита, глицерина), неорганических солей ( $\text{CaCO}_3$ ,  $\text{NaCl}$ ) и микроэлементов ( $\text{MnSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{H}_3\text{BO}_3$ ,  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ,  $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ) на рост и накопление биомассы клубеньковых бактерий изучали на оптимальной среде. Источники углерода вносили в питательную среду в концентрациях, (г/л): 2,0; 4,0; 6,0; 8,0; 10,0; микроэлементы - 0,005; 0,01; 0,02; 0,04;  $\text{CaCO}_3$  – 2,0; 4,0; 6,0; 8,0 и  $\text{NaCl}$  – 0,2; 0,4; 0,6; 0,8. Эффективность использования питательных сред, источников углерода и неорганических солей для накопления биомассы клубеньковых бактерий, оценивали по величине титра клеток и культурально-морфологическим показателям (размерам и форме колоний). Значение титра клеток выражали в КОЕ/мл (количество колониеобразующих единиц в 1 мл).

Все исследования были выполнены в трех повторностях. Для математической обработки результатов использовали стандартные методы нахождения средних значений и их средних ошибок [5].

### Результаты и обсуждение

При культивировании штамма клубеньковых бактерий чечевицы *Rhizobium leguminosarum* Б-1, установлено, что титр клеток на изученных средах изменялся в пределах  $3,2 \pm 0,12 \cdot 10^4$  –  $1,5 \pm 0,18 \cdot 10^9$  КОЕ/мл. Полученные данные приведены в таблице 1.

Таблица 1 – Подбор оптимальной среды для роста и накопления биомассы штамма клубеньковых бактерий чечевицы *Rhizobium leguminosarum* Б-1

Питательные среды	Титр клеток, КОЕ/мл	Морфологические признаки колоний
Исварана	$2,5 \pm 0,17 \cdot 10^7$	
Лазарева	$3,7 \pm 0,15 \cdot 10^5$	
Среда с бобовым отваром	$1,5 \pm 0,14 \cdot 10^9$	
Среда с кукурузным экстрактом	$1,4 \pm 0,16 \cdot 10^5$	
Грэхема	$1,5 \pm 0,18 \cdot 10^7$	
Фреда	$2,3 \pm 0,17 \cdot 10^5$	
Норриса	$3,7 \pm 0,13 \cdot 10^5$	
МРС	$5,1 \pm 0,24 \cdot 10^7$	
Мазэ	$3,4 \pm 0,27 \cdot 10^7$	
Минимальная среда	$3,2 \pm 0,12 \cdot 10^4$	Полупрозрачные, приподнятые, слизистые, округлые с ровными краями, диаметр колоний 0,3-0,6 см

Среды Фреда, Лазарева, минимальная среда, Норриса и среда с 3% кукурузным экстрактом в меньшей степени обеспечивали рост штамма *Rhizobium leguminosarum* Б-1. Титр клеток на этих средах составлял  $3,2 \pm 0,12 \cdot 10^4$ – $3,7 \pm 0,13 \cdot 10^5$  КОЕ/мл.

Наиболее оптимальными для роста *Rhizobium leguminosarum* Б-1, являлись среды с бобовым отваром, Исварана, Грэхема, Мазэ и МРС. При культивировании исследуемого штамма на этих средах величина титра составляла  $1,5 \pm 0,18 \cdot 10^7$ – $1,5 \pm 0,14 \cdot 10^9$  КОЕ/мл. Наиболее оптимальной для роста штамма *Rhizobium leguminosarum* Б-1, является среда с бобовым отваром, на которой титр клеток достигает  $1,5 \pm 0,14 \cdot 10^9$  КОЕ/мл. На фоне среды с бобовым отваром изучено влияние источников углерода, неорганических солей и микроэлементов на рост штамма *Rhizobium leguminosarum* Б-1 и накопление его биомассы.

Все изученные соли ингибировали рост штамма *Rhizobium leguminosarum* Б-1. Полученные данные приведены в таблице 3. В наибольшей степени ингибирующее действие оказывают  $\text{H}_3\text{BO}_3$  и  $\text{ZnSO}_4$  во всех изученных концентрациях.

Разработан оптимальный вариант модифицированной среды с бобовым отваром для роста и максимального накопления биомассы штамма клубеньковых бактерий чечевицы *Rhizobium leguminosarum* Б-1(титр клеток  $6,2 \pm 0,10 \cdot 10^9$  КОЕ/мл).

Таблица 2 – Влияние источников углерода на рост и накопление биомассы штамма *Rhizobium leguminosarum* Б-1

Углеводы	Концентрация, г/л	Титр клеток, КОЕ/мл	Морфологические признаки колоний
Сахароза	2,0	$1,8\pm0,14\cdot10^9$	Полупрозрачные, приподнятые, слизистые, округлые с ровными краями; диаметр колоний 0,3-0,6 см
	4,0	$3,1\pm0,18\cdot10^9$	
	6,0	$4,7\pm0,21\cdot10^9$	
	8,0	$6,2\pm0,27\cdot10^9$	
	10,0	$2,6\pm0,13\cdot10^8$	
Глюкоза	2,0	$3,5\pm0,18\cdot10^8$	Полупрозрачные, приподнятые, слизистые, округлые с ровными краями; диаметр колоний 0,3-0,6 см
	4,0	$3,5\pm0,13\cdot10^9$	
	6,0	$7,3\pm0,22\cdot10^7$	
	8,0	$6,2\pm0,38\cdot10^7$	
	10,0	$3,3\pm0,17\cdot10^7$	
Глицерин	2,0	$1,0\pm0,10\cdot10^8$	Полупрозрачные, приподнятые, слизистые, округлые с ровными краями; диаметр колоний 0,3-0,6 см
	4,0	$1,0\pm0,23\cdot10^8$	
	6,0	$1,4\pm0,13\cdot10^8$	
	8,0	$1,8\pm0,28\cdot10^8$	
	10	$1,8\pm0,21\cdot10^9$	
Маннит	2,0	$1,2\pm0,26\cdot10^7$	Полупрозрачные, приподнятые, слизистые, округлые с ровными краями; диаметр колоний 0,3-0,6 см
	4,0	$6,7\pm0,23\cdot10^7$	
	6,0	$7,6\pm0,12\cdot10^7$	
	8,0	$1,3\pm0,10\cdot10^8$	
	10,0	$2,0\pm0,11\cdot10^8$	
Контроль	Среда с бобовым отваром	$1,2\pm0,19\cdot10^9$	Полупрозрачные, приподнятые, слизистые, округлые с ровными краями; диаметр колоний 0,3-0,6 см

Таблица 3 – Влияние неорганических солей на рост и накопление биомассы штамма *Rhizobium leguminosarum* Б-1

Неорганические соли	Концентрация, г/л	Титр клеток, КОЕ/мл	Морфологические признаки колоний
1	2	3	4
$MnSO_4 \cdot 5H_2O$	0,005	$3,9\pm0,21\cdot10^7$	Полупрозрачные, приподнятые, слизистые, округлые с ровными краями; диаметр колоний 0,3-0,6 см
	0,01	$1,8\pm0,18\cdot10^8$	
	0,02	$1,3\pm0,13\cdot10^8$	
	0,04	$8,2\pm0,18\cdot10^8$	
$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$	0,005	$4,9\pm0,27\cdot10^7$	Полупрозрачные, приподнятые, слизистые, округлые с ровными краями; диаметр колоний 0,3-0,6 см
	0,01	$6,0\pm0,18\cdot10^7$	
	0,02	$8,0\pm0,11\cdot10^7$	
	0,04	$5,7\pm0,13\cdot10^7$	
$CoCl_2 \cdot 6H_2O$	0,005	$6,6\pm0,18\cdot10^7$	Полупрозрачные, приподнятые, слизистые, округлые с ровными краями; диаметр колоний 0,3-0,6 см
	0,01	$3,1\pm0,17\cdot10^7$	
	0,02	$1,6\pm0,19\cdot10^8$	
	0,04	$1,0\pm0,10\cdot10^8$	
$(NH_4)_6Mo_7O_{24} \cdot 4H_2O$	0,005	$1,4\pm0,12\cdot10^8$	Полупрозрачные, приподнятые, слизистые, округлые с ровными краями; диаметр колоний 0,3-0,6 см
	0,01	$2,7\pm0,18\cdot10^8$	
	0,02	$8,3\pm0,23\cdot10^7$	
	0,04	$4,7\pm0,17\cdot10^7$	
$H_3BO_3$	0,02	$5,3\pm0,22\cdot10^7$	Полупрозрачные, приподнятые, слизистые, округлые с ровными краями; диаметр колоний 0,3-0,6 см
	0,04	$2,9\pm0,24\cdot10^7$	
	0,06	$1,2\pm0,21\cdot10^7$	
	0,08	$4,0\pm0,10\cdot10^5$	

			Продолжение таблицы 3
1	2	3	4
$\text{CaCO}_3$	2,0	$2,0 \pm 0,11 \cdot 10^8$	Полупрозрачные, приподнятые, слизистые, округлые с ровными краями; диаметр колоний 0,3-0,6 см
	4,0	$3,1 \pm 0,13 \cdot 10^7$	
	6,0	$1,7 \pm 0,12 \cdot 10^8$	
	8,0	$3,2 \pm 0,18 \cdot 10^8$	
$\text{NaCl}$	0,2	$2,1 \pm 0,10 \cdot 10^8$	Полупрозрачные, приподнятые, слизистые, округлые с ровными краями; диаметр колоний 0,3-0,6 см
	0,4	$5,5 \pm 0,10 \cdot 10^7$	
	0,6	$2,2 \pm 0,16 \cdot 10^7$	
	0,8	$2,5 \pm 0,10 \cdot 10^7$	
Контроль (среда с бобовым отваром)	–	$1,7 \pm 0,13 \cdot 10^9$	Полупрозрачные, приподнятые, слизистые, округлые с ровными краями; диаметр колоний 0,3-0,6 см

Состав модифицированной среды, г/л:  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  – 1,0;  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  – 0,3;  $\text{CaCO}_3$  – 4,0; сахара-за – 8,0; горох – 50; pH 7,0.

Таким образом, в результате проведенных исследований подобрана и оптимизирована питательная среда для роста и максимального накопления биомассы штамма клубеньковых бактерий чечевицы *Rhizobium leguminosarum* Б-1 (титр клеток  $6,2 \cdot 10^9$  КОЕ/мл).

## ЛИТЕРАТУРА

- [1] Шорабаев Е.Ж. Изучение влияния нитрагинизации семян зернобобовых культур в условиях Северного Казахстана // Научно-агрономический журнал. – Волгоград, 2010. - №1(86). – С. 31-36.
- [2] Методы культивирования азотфикссирующих бактерий, способы получения и применения препаратов на их основе: Методические рекомендации / Под. Ред. А. В. Хотяновича. – Л., 1991.
- [3] По материалам сайта AgroXXI.ru Бактериальные удобрения для бобовых, 24.10.2012.
- [4] По материалам сайта agroliga.ru. Зернобобовые. Новые подходы к технологии возделывания и минерального питания, 23.01.2014.
- [5] Урбах В.Ю. Статистический анализ в биологических и медицинских исследованиях. – М., 1975. – 295 с.
- [6] Brewin N.J.Pods and nods: a new look at symbiotic nitrogen fixing bacteria // Biologist. -2002. – Vol. 49. – P. 113-117.
- [7] Leigh J. A., Dodsworth J. A. Nitrogen regulation in bacteria and archaea // Annual Review of Microbiology. – 2007. – Vol. 61. – P. 349-377.
- [8] Jones K.M., Kobayashi H., Davies B.W., Taga M.E., Walker G.C. How rhizobia symbionts invade plants: the Sinorhizobium-Medicago model. Nature Reviews // Microbiology. – 2007. – Vol. 5. - P. 619-633.
- [9] Graham P. H. Nodule formation in legumes. In J. Lederberg (ed.) Encyclopedia of Microbiology, Academic Press, 2000.- Vol. 3. - P. 407-417.
- [10] Green L. S., Li Y. D., Emerich F. J., Bergersen D. A. Catabolism of  $\alpha$ -ketoglutarate by a *sucA* mutant of *Bradyrhizobium japonicum*: evidence for an alternative tricarboxylic acid cycle // J. Bacteriol. - 2000. – Vol. 182. – P. 2838-2844.
- [11] Kloepper J.W., Scher F.M., Laliberte M., Zaleska I. Measuring the spermosphere colonizing capacities (spermophore competence) of bacterial inoculants // Canadian journal of microbiology. - 1985. – Vol. 31. - P. 926.
- [12] Yaman, M., Cinsoy A.S. Determination of the most effective *Rhizobium* strain (*Rhizobium japonicum* L.) in soybean // Journal of Aegean Agricultural Research Institute. – 1996. - Vol. 6. - P. 84-96.
- [13] Beck, D.P., L.A. Matheron, Afand F. Practical Rhizobiumlegume technology manual // Technical Manual. -1993. No: 19. – P. 1-54.
- [14] Gremaud M.F., Harper J.E. Selection and initial characterization of partially nitrate tolerant nodulation mutants of soybean // Plant Physiol. – 1989. – Vol. 89, № 1. – P. 169-173.
- [15] Wojtaszek P., Stobiecki M., Gulewicz K. Role of nitrogen and plant growth regulators in the exudation and accumulation of isoflavonoids by roots of intact white lupin (*Lupinus albus* L.) // J. Plant Physiol. – 1993. – Vol. 142, № 7. – P. 689-694.
- [16] Dillingham B., McVeigh B., Lampe J., Duncan M. Soy protein isolates of varying isoflavone content exert minor effects on serum reproductive hormones in healthy young men//J. Nutr.-2005. – Vol. 135, № 3 – P. 584-91.
- [17] Schjoerring J. K.; Husted S.; Mack G.; Mattsson M. The regulation of ammonium translocation in plants // Journal of Experimental Botany. – 2002. – Vol. 53, №3:- P. 883-890.
- [18] Herridge D.F, Peoples M. B., Boddey R. M. Global inputs of biological nitrogen fixation by agricultural systems // Plant Soil. - 2008. - Vol. 311, №1.- P. 18-21.
- [19] Abielovich A., Weisman D. Role of heterotrophic nutrition in growth of the alga *Scenedesmus obliquus* in high-rate oxidation ponds // Appl Environ Microbiol. - 2008. - Vol. 35, №1 - P. 32-37.

REFERENCES

- [1] Shorabaev E. Zh. Study of the influence of nitrogenation on seed legumes in the conditions of Northern Kazakhstan. Scientific Agronomy Journal. Volgograd, 2010, 1(86), p. 31-36. (in Russ.).
- [2] Cultivation techniques of nitrogen-fixing bacteria, methods of production and application of drugs based on them: methodical recommendations. Ed. A. V. Khotyanovich, Leningrad, 1991. (in Russ.).
- [3] On materials of a site: AgroXXI.ru Bacterial fertilizers for legumes, 24.10.2012. (in Russ.).
- [4] On materials of a site agroliga.ru. Legumes.New approaches to technology of cultivation and mineral nutrition, 23.01.2014.
- [5] Urbach V.Y. Statistical analysis in biological and medical research. - M., 1975. - 295 p.
- [6] Brewin N.J. Pods and nods: a new look at symbiotic nitrogen fixing bacteria // Biologist. -2002. – Vol. 49. – P. 113–117.
- [7] Leigh J. A., Dodsworth J. A. Nitrogen regulation in bacteria and archaea // Annual Review of Microbiology. – 2007. – Vol. 61. – P. 349–377.
- [8] Jones K.M., Kobayashi H., Davies B.W., Taga M.E., Walker G.C. How rhizobialsymbionts invade plants: the Sinorhizobium-Medicago model. Nature Reviews // Microbiology. – 2007. – Vol. 5. - P. 619–633.
- [9] Graham P. H. Nodule formation in legumes. In J. Lederberg (ed.) Encyclopedia of Microbiology, Academic Press, 2000.- Vol. 3. - P. 407–417.
- [10] Green L. S., Li Y. D., Emerich F. J., Bergersen D. A. Catabolism of  $\alpha$ -ketoglutarate by a *sucA* mutant of *Bradyrhizobium japonicum*: evidence for an alternative tricarboxylic acid cycle // J. Bacteriol. - 2000. – Vol. 182. – P. 2838–2844.
- [11] Kloepper J.W., Scher F.M., Laliberte M., Zaleska I. Measuring the spermosphere colonizing capacity (spermosphere competence) of bacterial inoculants // Canadian journal of microbiology. - 1985. – Vol. 31. - P. 926.
- [12] Yaman, M., Cinsoy A.S. Determination of the most effective Rhizobium strain (*Rhizobium japonicum* L.) in soybean // Journal of Aegean Agricultural Research Institute. – 1996. - Vol. 6. - P. 84-96.
- [13] Beck, D.P., L.A. Matheron, Afand F. Practical Rhizobiumlegume technology manual // Technical Manual. - 1993. No: 19. – P. 1-54.
- [14] Gremaud M.F., Harper J.E. Selection and initial characterization of partially nitrate tolerant nodulation mutants of soybean // Plant Physiol. – 1989. – Vol. 89, № 1. – P. 169-173.
- [15] Wojtaszek P., Stobiecki M., Gulewicz K. Role of nitrogen and plant growth regulators in the exudation and accumulation of isoflavonoids by roots of intact white lupin (*Lupinus albus* L.) // J. Plant Physiol. – 1993. – Vol. 142, № 7. – P. 689-694.
- [16] Dillingham B., McVeigh B., Lampe J., Duncan M. Soy protein isolates of varying isoflavone content exert minor effects on serum reproductive hormones in healthy young men//J. Nutr.-2005. – Vol. 135, № 3 – P. 584–91.
- [17] Schjoerring J. K.; Husted S.; Mäck G.; Mattsson M. The regulation of ammonium translocation in plants // Journal of Experimental Botany. – 2002. – Vol. 53, №3:- P. 883–890.
- [18] Herridge D.F., Peoples M. B., Boddey R. M. Global inputs of biological nitrogen fixation by agricultural systems // Plant Soil. - 2008. - Vol. 311, №1:- P. 18–21.
- [19] Abeliovich A., Weisman D. Role of heterotrophic nutrition in growth of the alga *Scenedesmus obliquus* in high-rate oxidation ponds // Appl Environ Microbiol. - 2008. - Vol. 35, №1 - P. 32-37.

**ЖАСЫМЫҚТЫҢ *RHIZOBIUM LEGUMINOSARUM* Б-1 ТҮЙНЕКТІ БАКТЕРИЯЛАР  
ШТАМЫН ӨСІРУДЕГІ ҚОЛАЙЛЫ ОРТАНЫ ТАНДАУ**

**А. Қ. Саданов, Г. Д. Ұлтанбекова, А. А. Нысанбаева, Л. П. Треножникова**

ҚР БФМ ғм «Микробиология және вирусология институты» РМК, Алматы, Қазақстан

**Тірек сөздер:** симбиоз, түйнекті бактериялар, биопрепарат, биомасса.

**Аннотация.** Түйнекті бактериялар штамдарының биомассасының өсіруде ең жақсы өсетін қолайлы органды таңдау алу 10 түрлі сұйық кректик ортасында зерттелді: 3% жүгері сығындысы бар қоректі орта, Иsvарана, Лазарева, бұршақ тұнбасы бар, Грэхем, Фреда, Норриса, MPC, Мазэ, минималды қоректі орта.

Жасымықтың *Rhizobium leguminosarum* Б-1 түйнекті бактериялар штамын өсірудің қолайлы органды таңдауды. Жасушаның ең жоғары титрінің көрсеткіші көміртек көзі ретінде қолданған сахарозаның 8,0 г/л концентрациясын қосқанда байқалды. *Rhizobium leguminosarum* Б-1 штамының биомассасын жиналуына көміртек көздері үлкен әсер берді. Глюказаның 4,0 г/л концентрациясын қосқанда ( $3,5 \cdot 10^9$  КОЕ/мл), глицериннің 10,0 г/л концентрациясын қосқандажағары титр көрсеткіші ( $1,8 \cdot 10^9$  КОЕ/мл) жетті. Қолданған тұздардың барлығы *Rhizobium leguminosarum* Б-1 штамының өсуін тежейді. Бұршақ ерітіндісі қосылған *Rhizobium leguminosarum* Б-1 штамының өсуін жақсартатын модифицирленгенкоректік орта әзірленді, жасуша титрі  $6,2 \cdot 10^9$  КОЕ/мл қурайды.

Поступила 31.07.2015 г.