N E W S
OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN
SERIES OF BIOLOGICAL AND MEDICAL
ISSN 2224-5308
Volume 4, Number 310 (2015), 68 – 72

THE STUDY OF THE SOIL MICROBIAL COMMUNITY'S STRUCTURE OF KAZAKHSTANI SOILS CONTAMINATED BY HEPTYL

B. N. Mynbayeva, A. Zh. Makeeva

Kazakh National Pedagogical University named after Abai, Almaty, Kazakhstan.
E-mail: bmynbayeva@gmail.com, jibek6@mail.ru

Key words: unsymmetrical dimethyl hydrazine (heptyl), Kazakhstani soil microflora, falling rockets

Abstract. The ecological assessment of soil pollution unsymmetrical dimethylhydrazine (UDMH) or heptyl was carried by defining qualitative and quantitative composition of the leading groups of microorganisms. The structure of the soil microbial Kazakhstan contaminated UDMH (heptyl) has changed under the influence of this pollutant. Inhibition of growth and the number of CFU was observed for the culture of *Azotobacter*: for it revealed LD_{50} at 2.3 MPC (0.23 mg/kg), the critical concentration LD_{100} dose was 3.62 mg/kg of soil (36 MPC). Inhibitions were also subjected to culture bacteria, actinobacteria and hemoorganotrofic bacteria. Most resistant to the toxic effect of UDMH were soil's micromycetes and yeast, which retained its strength in the soil samples with substantial UDMH's content, suggesting their high adaptive capacity.

Thus, sensitive soil nitrogen-fixing bacteria of the genus *Azotobacter*, actinobacteria and some chemoorganotrophic bacteria were in a stress zone of heptyl contaminated soils. Microscopic fungi and yeast were located in the resistance zone. The situation was been diametrically opposite in the uncontaminated soil samples. Accordingly, the display of the heptyl toxicity was established not only by the MPC, but also by changing the structure of the microflora.

ӘОЖ504.6:62/69 (574.24)

ГЕПТИЛМЕН ЛАСТАНҒАН ҚАЗАҚСТАНДАҒЫ ТОПЫРАҚТАРДЫҢ МИКРОБТАРЫНЫҢ ҚҰРЫЛЫМДЫҚ ҚОҒАМДАСТЫҒЫН ЗЕРТТЕУ

Б. Н. Мынбаева, А. Ж. Макеева

Абай атындағы Қазақ ұлттық педагогикалық университеті, Алматы, Қазақстан

Тірек сөздер: бейсимметриялық екі метил гидразин, Қазақстан топырағының микрофлорасы, зымыран-тасығыштардың құлауы.

Аннотация. Микроорганизмдердің жетекші топтарымен сандық және сапалық құрамын анықтау арқылы БЕМГ (бейсимметриялық екі метил гидразинмен) ластанған топыраққа экологиялық бағалау жүргізілді. Қазақстан топырағындағы микробиоценоздардың құрылымы БЕМГ (гептилмен) ластану әсерінен өзгереді. КТБ (колония түзгіш бірліктер) өсуінің тежелуі мен саны белгілі болғандай, яғни *Azotobacter*культурасынан LD_{50}ол 2,3 ШМК (0,23 мг/кг) алынса, сыни концентрациясы LD_{100} болғанда 3,62 мг/кг топырақта доза (36 ШМК) болды. Актинобактериялар мен хемоорганотрофтардың культураларының бактерияларында да тежелу байқалды. БЕМГ концентрациясының уыттылығы мен тұрақтылығына микромицеттер мен ашытқылар төтеп берді, яғни олар топырақтың күрделі сынамаларында санын жоғалтпай сақтап, олардың жоғары бейімделу қабілеттілігі байқалды.

Осылайша, гептилмен ластанған топырақтың стресс аймағында сезімтал азот тотықтырушы топырақ бактериялары болды, ол *Azotobacter*, актинобактериялар және кейбір хемоорганотрофты бактериялар.

Қарсылық аймағында микроскопиялық саңырауқұлақтар мен ашытқы болып табылады. Таза (ластанбаған) топырақ сынамаларындағы жағдай диаметральды қарсы болды. Тиісінше, гептилдің уыттылығы тек ШМК арқылы белгіленбеген, сонымен қатар микрофлораның құрылымының өзгеруі арқылы да келтіріледі.

Кіріспе. Қазіргі заманғы түсініктердің айтуынша, микробиологиялық ластанған топырақты түрлі ластаушылар әсері арқылы топырақ биотасының құрамы мен жұмыс істеуі анықталады [1]. Қоршаған орта үшін зымыран тасығыштардың бейсимметриялық екі метилгидразиннің уыттылығы (БЕМГ) бәрімізге белгілі [2]. Ресей Федерациясының Тундра аймағында БЕМГ-пен ластанған сүтқоректілердің организмдерінде, микробиоценозында әсері өте күшті емес [3]. Бірақ, Қазақстан топырағында микроб қауымдастығының зерттеуінде БЕМГ-пен ластанғанын жоғары деңгейде зерттелмеді.

Жұмыстың мақсаты: Қазақстан топырағындағы БЕМГ-н ластанған микробиоценоздардың құрылымдарының өзгерісін зерттеу.

Жұмыстың міндеті:

– топырақ микробиоценоздарының құрылымдары мен БЕМГ-н ластанғандарын зерттеу,
– БЕМГ-е микроорганизмдердің тұрақты және индикаторлы формаларын сәйкестендіру.

Зерттеу нысаны мен әдістері

Топырақты зерттеу үшін белгіленген нысан орнынан топырақ әкелінді, яғни құлау аймағындағы (ҚА) зымыран тасығыштардың құлау аумағы (ЗТҚА) қысқаша «ҚА 15,25», 50-52 км оңтүстік пен оңтүстік-батысқа қарай Қарсақпай ауылы Қарағанды облысы Қазақстан Республикасында орналасқан. Біз алдымен бақылау сынамасы үшін БЕМГ-н ластанбаған топырақ және ластанған құрамында БЕМГ бар топырақ алдық «1/6» – 13,68 мг/кг (137 ШМК); «1/12» – 0,23 мг/кг (2,3 ШМК): ШМК БЕМГ-н теңесіп 0,1 мг/кг топырақ болады. Топырақ үлгілері конверт әдісі (0-30 см тереңдікте қабаттарының әрбір бөлімінде 5 сынамаларды іріктеу ұпай) бойынша алынды [4].

Топырақ сынамаларымен эксперимент барысында келесідей шарт жағдайлар жасалынды: бөлме температурасы мен тұрақты ылғалдылығы (60% цикл) болды. Тәжірибе 3 рет қайталанылып жасалынды [5].

Бақылау сынамасы мен ластанған топырақта топырақ микробиотасының түрлік сан алуандығын анықтағанда, сорғыштың астында егіп (сұйылту $1:10^3$) гептилмен ластанған әртүрлі дәрежедегі топырақ үлгілерін селективті ортада және колония түзгіш бірліктерді (КТБ)/г, құрғақ топырақтың бірлігі қалыптастыру ретінде көрсетілген.

Ет-пептон агардан (ЕПА) аэробты хемоорганотрофты бактерияларды бөліп алғанда, сусло агары бойынша ашытқыны (СА), актинобактерияларды қантты-пептонды агарды (ҚПА), микроскопиялық саңырауқұлақтарды Чапекақоректік ортасында тиісті іріктеу бойынша анықталды [6-8], азот тотықтырушы бактерияларды агарлы азотсыз Эшби қоректік ортасында, ал целлюлоза ыдыратқыш бактерияларды Гетчисон қоректік ортасында өсірсек [9], микроскопиялық саңырауқұлақтарды Чапека қоректік ортасынан бөліп алдық.

Бактериялар мен ашытқылар культурасының ұзақтығы 4-7 тәулік болса, микромицеттер мен актинобактериялар үшін 14 тәулік мөлшерде болды. Микроорганизмдердің БЕМГ-ке сезімталдығы мен тұрақтылығын топырақ үлгілерінде бақылағанда олардың тиісті өсімі бар екені немесе жоқ екені анықталады. Осы параметрлер бойынша – микроорганизмдердің саны КТБ микроорганизмдерінің проценті мен индекс көрсеткішінің LD_{50} (50% өлген) дәрежесі келтіріледі.

Нәтижелері мен талқылаулар

Микробтық құрылымдардың сандық және сапалық сипаттамаларын зерттеу үшін мынадай топырақ үлгілері алынды (1/6, 1/9,1/12 нүктелер), құрамында БЕМГ бары алғашқы сынамаларда анықталған [10].

Селективті қоректік ортаға егілген көрсеткішке қарағанда БЕМГ-н ластанған топырақ үлгілері әлдеқайда жоғары екенін көрсетті, сонымен қатар КТБ да және микроскопиялық саңырауқұлақтарда да жоғары болған, яғни бақылау топырағымен салыстырғанда (1-кесте).

1-кесте – Топырақтағы микроб қоғамдастығының өкілдері БЕМГ-е тұрақтылығын көрсетті

Нұсқалар	КТБ микроорганизмдерінің/г саны топыраққа БЕМГ, мг/кг енгізілген			
	контроль	0,23	3,62	13,68
Сағырауқұлақтар	56±4	52±5	40±4	39±6
Микромицеттер	125±16	142±20	175±21	176±24
Целлюлоза ыдыратушы бактериялар	4±1	3±1	2±1	1±1
Актинобактериялар	12±3	11±3	9±2	6±1

БЕМГ концентрациясына КТБ санының артқанын байқаймыз. Ашытқылардың дәрежесінің төзімділігі жақсы көрсетті: бақылаусы намасымен салыстырғанда КТБ ашытқысы төмендегендей, сондай-ақ БЕМГ-ң жоғарғы концентрациясында да шамалы болды.

Жалпыалғанда КТБ саны мен целлюлоза ыдыратушы бактериялар төмен болды: Петри табақшасындағы қоректік ортада өскен Гетчинсон бірыңғай тізбектеліп өсті, мүмкін, сұр-қоңыр, құрғақ, тығыздалған және қатты топырақта зертелгендіктен болар, целлюлотикалық қабілеттілігі төмендеген. Актинобактериялар БЕМГ-ң жоғарғы дозасында: 3,62 мг/кг топырақ немесе 36 ШМК жеткілікті LD_{50}көрсеткішті көрсетсе, БЕМГ-ң сыни дозасында (13,68 немесе 137 ШМК) ерекше нәтиже, яғни LD_{100} культуралардың өсуі мен дамуы келтірілген.

Сезімтал микроорганизмдер түрлеріне *Azotobacter* және хемоорганотрофты бактериялардың өкілдері мен КТБ саны БЕМГ концентрациясының топырақ сынамаларында жоғарылағанда күрт төмендеді (2-кесте).

2-кесте – БЕМГ топырағына сезімтал микробтар қоғамдастығының өкілдері

Нұсқа	КТБ микроорганизмдерін/г, БЕМГ мг/кг топырққа енгізгенде			
	бақылау	0,23	3,62	13,68
Azotobacter	124±21	65±13	4±1	–
Хемоорганотрофтыбактериялар	170±37	115±24	12±3	5±1

Azotobacter микробының LD_{50} көрсеткіші бойынша бақылағанда 2,3 ШМК (0,23 мг/кг) болғанда, өте жоғары және өте төмен доза концентрация 3,62 мг/кг топырағы (36 ШМК) болды. Артынша біздің экспериментте белгілі болғандай индикаторлы функциялы культура *Azotobacter* болды [11-13].

Бактериялық хемоорганотрофтық қауымдықтыңсызықтық тәуелділік санында КТБ санының осы БЕМГ концентрациясына белгіленген жоқ, бірақ өсу және даму тежелуі анық 2-ші кестеде көрінеді, БЕМГ/кг топырақтың критикалық жоғарғы доза концентрациясы 13,68 мг болды.

Осылайша, онда сандық өзгерістер болды және сапалық құрамы микробиоценоздардың топырақ үлгілері БЕМГ әсерінен зерттелді. Микробтар құрылымында ең тұрақты өкілдері микроскопиялық саңырауқұлақтар мен ашытқы болып табылады. Топырақтың уыттылығы дәрежесін КТБ саны бойынша *Azotobacter*/г топырақта орнатуға болады: БЕМГ концентрациясы араларында сызықтық корелляция бақыланып, топырақ үлгілерінен КТБ *Azotobacter* шоғырлануы байқалды.

3-кесте – Топырақ үлгілерін зерттеудегімикроорганизмдердің устем түрлері

Топырақ үлгілерін алған орын	Микроорганизмдердің үстем түрлері	
	Сезімтал	Төзімді
1/12	*Azotobacter****, *Pseudomonas****	ашытқылар***, микромицеттер***, целлюлоза ыдыратушыбактериялар**, актинобактериялар**
1/9	*Azotobacter***, *Pseudomonas***	ашытқылар***, микромицеттер***, целлюлоза ыдыратушыбактериялар**, актинобактериялар**
1/6	*Azotobacter**, *Pseudomonas**	ашытқылар**, микромицеттер**, целлюлоза ыдыратушыбактериялар*, актинобактериялар*
*ең төменгі тізбектің саны; **орташа тізбектің саны; ***ең жоғарғы тізбектің саны.		

Ластанған топырақты зерттеу кезінде микроорганизмдердің үстем түрлерін микромицеттер, ашытқылар және актинобактериялар көрсетті.

Бақылау топырақ үлгілерінен (3-кесте) бактериялардыңсаны мен алуан қауымдастықтар мөлшері әлдеқайда жоғары болды.

Осылайша, БЕМГ-ң ең жоғарғы концентрациясында микробтардың қауымдастығы *Azotobacter*, *Pseudomonas* және актинобактериялар культуралар сезімталдылығы өзгермелі болып келеді.

БЕМГ улы әсерлері мен тұрақтылығына топырақ сынамаларындағы микромицеттер төзімді келсе, оларға жақын целлюлоза ыдыратушы бактериялар және ашытқылар, яғни олар өздерінің саны мен маңызды мазмұнымен топырақ сынамаларында күшін сақтайды, сонымен қатар олардың жоғары бейімделу қабілетін болжауға болады.

ӘДЕБИЕТ

[1] Марьяш В.И. и др. Проблемы изучения воздействия несимметричного диметилгидразина на окружающую среду. Сборник статей международной конференции «Фундаментальные проблемы охраны окружающей среды и экологии природно-территориальных комплексов Западной Сибири». Горно-Алтайск: ГАГУ, 2000, с. 86-87.

[2] Суворова М.А., Шалахметова Т.М. Токсическое действие ракетного топлива Т-1 на организм млекопитающих. Сборник статей международной конференции «Фундаментальные проблемы охраны окружающей среды и экологии природно-территориальных комплексов Западной Сибири». Горно-Алтайск: ГАГУ, 2000, с. 261-263.

[3] Чугунов В.А., Мартовецкая И.И., Миронова Р.И. Микробиологическая деградация несимметричного диметилгидразина – токсичного компонента ракетного топлива. Прикладная биохимия и микробиология, №6,2000, Т. 36, с. 631-635.

[4] Общие требования к отбору проб. ГОСТ 17.4.3.01-83 (СГ СЭВ 3347-82). М.: изд-во Госстандарт, 1983. 57 с.

[5] Методы почвенной микробиологии и биохимии. Учебное пособие. Под ред. Д.Г. Звягинцева. М. МГУ, 1991, 303 с.

[6] Краткий определитель бактерий Берджи. Под ред.Дж. Хоуета. М Мир,1980,495 с.

[7] Гаузе Г.Ф. и др. Определитель актиномицетов. Роды*Streptomyces, Streptoverticillium, Chainia.* М. Наука, 1983, 248 с.

[8] Бабьева И.П., Голубев В.И. Методы выделения и идентификации дрожжей. М. Наука, 1979, 120 с.

[9] Нетрусов А.И. и др.Практикум по микробиологии. Учебное пособие. М.: МГУ, 2005. 608 с.

[10] Канаев А.Т., Макеева А.Ж., Канаева З.К. Загрязнение почвы несимметричным диметилгидразином и степень его деструкции. Сборник статей международной конференции «Актуальные проблемы экологии и природопользования в Казахстане и сопредельных территориях», 2006, Алматы, Т. 1, с. 100-102.

[11] GulyasF. etal. AnalysisofsoilToxicityusing*Azotobacter sp.* bysoildiskmethod. Proc. WorldConf. BudapestOct. 25-31, 1987, 1988, p. 753-755.

[12]Мынбаева Б.Н., Курманбаев А.А., Воронова Н.В. Микробная биоиндикация почв г. Алматы с помощью культуры *Azotobacter.* Фундаментальные исследования,№6,2011, с. 206-209.

[13] Мынбаева Б.Н. *Azotobacter* как индикатор токсичности городских почв. Известия НАН РК. Серия биологическая, №2, 2012, с. 76-79.

REFERENSES

[1] Mar'jashV.I., etal. Problems of studying the impact of asymmetrical dimethylhydrazine on the environment. Collected papers of the international conference "Fundamental problems of environmental protection and ecology of natural-territorial complexes in West Siberia".Gorno-Altaisk: GASU 2000, 86-87 (in Russ.).

[2] SuvorovaM.A., ShalahmetovaT.M. Toxic effects of propellant T-1 on the body of mammals. Collected papers of the international conference "Fundamental problems of environmental protection and ecology of natural-territorial complexes in West Siberia", Gorno-Altajsk: GAGU, **2000**, 261-263 (in Russ.).

[3] ChugunovV.A., MartoveckajaI.I., MironovaR.I. Microbial degradation of unsymmetrical dimethyl - toxic rocket fuel component. Applied Biochemistry and Microbiology, **2000**, 36, *6*, 631-635 (in Russ.).

[4] *General requirements for sampling. GOST 17.4.3.01-83 (SG CMEA 3347-82)*, M.: izd-voGosstandart, **1983**, 57 (in Russ.).

[5] *Methods of soil microbiology and biochemistry. Tutorial. Ed. DG Zvyagintsev*, M.: Izd-vo MGU, **1991**, 303 (in Russ.).

[6] *Short determinant bacteria Burgi. Ed. J. Houeta*, M: Mir, **1980**, 495 (in Russ.).

[7] Gauze G.F., et al.*The determinant of actinomycetes. Births Streptomyces, Streptoverticillium, Chainia*. M.: Nauka, **1983**, 248. (in Russ.).

[8] Bab'eva I.P., Golubev V.I. *Methods for isolating and identifying yeasts*, M.: Nauka, **1979**, 120 (in Russ.).

[9] NetrusovA.I. et al.*Workshop on microbiology.Tutorial.* A.I., M.: MGU, **2005**, 608 (in Russ.).

[10] Kanaev A.T., MakeevaA.Zh., Kanaeva Z.K. Soil contamination asymmetrical dimethylhydrazine and its degree of degradation. Collected papers of the international conference "Actual problems of ecology and wildlife management in Kazakhstan and adjacent territories", Almaty, **2006**, *1*, 100-102 (in Russ.).

[11] Analysis of soil Toxicity using Azotobacter sp. by soil disk method. F. Gulyas et al. *Proc. World Conf. Budapest Oct.* 25-31, **1987-1988**, 753-755.

[12] Mynbaeva B.N., Kurmanbaev A.A., Voronova N.V. Microbial soil bioindication Almaty through culture Azotobacter. fundamental research, **2011**, *6*, 206-209 (in Russ.).

[13] Mynbaeva B.N. *Azotobacter as an indicator of toxicity of urban soils.News of National Academy of Sciences of Kazakhstan.Biologicalseries*, **2012**, *2*, 76-79 (in Russ.).

ИЗУЧЕНИЕ СТРУКТУРЫ МИКРОБНОГО СООБЩЕСТВА ПОЧВ КАЗАХСТАНА, ЗАГРЯЗНЕННЫХ ГЕПТИЛОМ

Б. Н. Мынбаева, А. Д. Макеева

Казахский национальный педагогический университет им. Абая, Алматы, Казахстан

Ключевые слова: несимметричный диметилгидразин (гептил), микрофлора почв Казахстана, падение ракет-носителей.

Аннотация. Проведена экологическая оценка загрязнения почв несимметричным диметилгидразином (НДМГ) или гептиломчерез определение качественного и количественного состава ведущих групп микроорганизмов. Структура микробоценоза почв Казахстана, загрязненных НДМГ (гептилом) изменилась под действием данного поллютанта. Угнетение роста и числа КОЕ отмечено для культуры *Azotobacter*: для нее выявлены LD_{50} при 2,3 ПДК (0,23 мг/кг), критической концентрацией LD_{100} оказалась доза 3,62 мг/кг почвы (36 ПДК). Ингибированию подверглись также культуры актинобактерий и хемоорганотрофные бактерии. Наиболее устойчивыми к токсическому действию НДМГ оказались почвенные микромицеты и дрожжи, которые сохраняли свою численность в почвенных образцах с его значительным содержанием, что позволило предположить об их высокой адаптационной способности.

Таким образом, в загрязненных гептилом почвах в зоне стресса оказались чувствительные азотфиксирующие почвенные бактерии рода *Azotobacter*, актинобактерии и некоторые хемоорганотрофные бактерии. В зоне резистентности находились микроскопические грибы и дрожжи. В чистых (незагрязненных) образцах почвы ситуация была диаметрально противоположной. Следовательно, проявление токсичности гептила установлено не только через ПДК, но и с помощью изменения структуры микрофлоры.

Поступила 31.07.2015 г.

N E W S
OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN
SERIES OF BIOLOGICAL AND MEDICAL
ISSN 2224-5308
Volume 4, Number 310 (2015), 72 – 78

CONTEMPORARY STATE AND STOCK OF ROW MATERIALS OF *RHAPONTICUMCARTHAMOIDES* (WILLD.) ILJIN IN THE KAZAKHSTAN ALTAI MOUNTAINS

A. B. Myrzagalieva

East-Kazakhstan State University named after S. Amanzholov, Ust-Kamenogorsk, Kazakhstan.
E-mail: risology@mail.ru

Keywords: rhaponticumcarthamoides, medicinal plant, thickets, cenopopulation, resources.

Abstract. *Rhaponticumcarthamoides*is very valuable herb which is widely used in the people's medicine. This species is very wide-spread in the Ivanovsski, Koksuski, Naryn mountain range. The quality of the population is in a good state and can be as plant raw materials base for using.