

Г. Д. ҰЛТАНБЕКОВА*, Е. Ж. ШОРАБАЕВ*, В. С. ЖИЛКИН*, А. Қ. САДАНОВ**

ТҮЙНЕКТІ БАКТЕРИЯЛАР *RHIZOVIUM* ШТАМДАРЫНАН ДАЙЫНДАЛҒАН БИОПРЕПАРАТТЫҢ ТОПЫРАҚ ҚҰНАРЛЫЛЫҒЫНА ЖӘНЕ СОЯ ДАҚЫЛЫНЫҢ ӨНІМІНЕ ӘСЕРІ

(*Ұлттық биотехнологиялық орталық, Астана)

(**Биологиялық зерттеулер орталығы, Алматы)

Тәжірибе жүргізілген түйнекті бактериялардың белсенді штамдарынан нитрагин биопрепаратын дайындаудың жаңа технологиясы жасалды. Оның топырақ құнарлылығына, соя өсімдігінің өніміне әсері зерттелді. Зерттеу нәтижелерінде Rh. A-17 штамынан жасалған нитрагиннің соя өсімдігі өніміне әсері

жоғары екендігі анықталды.

Қазіргі таңда егін шаруашылығындағы өзекті мәселе – биологиялық азоттың жетіспеушілігі. Биосферада молекулярлы азоттың биологиялық фиксерленуі суда және топырақта тек қана микроағзалар арқылы жүзеге асады. Жалпы микроағзалардың көп түріне, нитрагеназа ферментінің болуы, яғни азот молекуласының аммиакқа дейінгі ыдырату ерекшелігі болып табылады [1,2].

Экологиялық зардаптардан басқа қазіргі кезде диқаншылар минералды тыңайтқыштарды бағасы-

ның қымбаттығына байланысты қолдана алмайды. Қазақстанда минералды тыңайтқыштарын қолданудағы ізденістердің дұрыс жолы – симбиозды азотфиксерлеуді пайдалану қажеттігін туғызады, бұршақ тамырындағы түйнекті бактериялардың әсерімен жүріп, ауыл шаруашылық дақылдарын азотпен қамтамасыз етеді. АҚШ, Англия, Австралия секілді алдыңғы қатарлы елдер егіншілігінде бұршақ дақылдарының міндетті түрде нитрагинделген тұқымдарын (түйнекті бактериялардан жасалған препараттармен өңделген) себеді [3,4].

Биологиялық азот техникалық азоттан арзан болғандықтан аздегенде ауыспалы егістің 25% алқабына бұршақ тұқымдас дақылдарын себу қажет екендігін дәлелдеді. Бұл ахуалдың дұрыс бір шешімі симбиозды азотфиксерлеу әсерімен бұршақ өсімдіктерінің тамырында жүретін биологиялық азотпен топырақты құнарландыру қажет. Екі жыл жоңышқа және түйежоңышқа бұршақ тұқымдас өсімдіктері өскен топырақ 100 – 200 кг/га азотпен құнарланады. Сонымен қатар, нитрагинизация бұршақ тұқымдас өсімдіктерінің өнімі салмағының орташа көрсеткіші 30 – 40% болса, ал нитрагиндеу әсерінен ешкібас өсімдігінің дәндерінің өнімі 50%-ға жетеді [5,6].

Нитрагин –бактериалды тыңайтқыштың және минералды азоттың бірден-бір орын ауыстыра алатын коммерциялық өнімі. Оны өндіру егін шаруашылығының тиімділігін жоғарылатады, экологиялық бұзылған топырақтардың құнарын сақтайды.

Қазақстанда 1987 – 1989 жылдары соя өсімдігіне Ленинград нитрагинін қолданғанда нәтижелі болды. Соя дақылының өнімі 20–30%-ға өсті. Сондай-ақ Алматы облысының шаруашылықтарында жоңышқа өсімдігіне жасалған Ленинград ризоторфинді қолданылып, нәтижесінде жақсы өнім алды. Бірақ Одақ тарағаннан кейін бұршақ дақылдарының түйнекті бактерияларының тиімділігін зерттеу жүргізілмегендіктен Қазақстанда нитрагин препаратын өндіру өзекті мәселе болып отыр [7,8].

Осыған байланысты, біздің ғылыми жұмыстың мақсаты биологиялық препарат нитрагиннің жаңа биотехнологиялық өндірісін өңдеу. Бұл өңдеудің негізінде бұршақ тұқымдас өсімдіктер өнімінің өсуі және топырақты азотпен құнарландыру.

ЗЕРТТЕУ МАТЕРИАЛДАРЫ ЖӘНЕ ӘДІСТЕРІ

Зерттеу жұмыстары Алматы облысының шаруа қожалықтарының егіс алқаптарында жүргізілді. Осы егіс алқаптарына егілетін бұршақ тұқымдас өсімдіктердің тұқымдарын өңдеуге арналған нитрагин препараты Степногор каласындағы «Өндірістік биотехнология институтының» зертханасында дайындалды. Препарат дайындау үшін азот сіңіруші

түйнекті бактерия *Rhizobium japonicum* туысының А-15 және А-17 штамдары пайдаланылды. Биопрепараттың түсі акшыл сұр немесе қоңыр болады. Түйнекті бактерия *Rhizobium japonicum* штамдарына коспа ретінде каолин пайдаланылды. Бір гектарға қолданатын биопрепараттың нормасы 200 грамм нитрагинде 1200 млрд дейін клетка болды. Сақталу мерзімі – 7 ай. Сояның түйнекті бактерияларының клеткалары биомассасын мына қоректік ортада өсірдік (кг/л):

Жүгері экстракті – 6,0; глюкоза –10,0;
(NH₄)₂SO₄ – 0,5; К₂НРО₄ – 0,5;
NaCl – 0,2; MgSO₄ – 7Н₂О – 0,2;
Бор – 0,8; рН – 6,85.

Автоклапта зарарсыздандыру уақыты 0,8 атм. 30 мин. Колбаларға егу №79 агарлы қоректік орта пробиркадан бір рет 2 мл клеткалар биомассасын алып колбаға 30-50 мл қоректік ортада егеді. Клеткаларды өсіру уақыты 24–96 сағат аралығында, +27 °С температурада 220 мин/айн. тербеткіште жүзеге асырылды. Түйнекті бактериялардан препарат сыйымдылығы 130 литрлік тербеткіші бар «Electrolux» ферменттерде дайындалды. Ферменттеу үрдісі кезінде дақыл сұйықтығының оптикалық тығыздығы (ОТ) өлшеніп, титр клеткалары Горяев камерасында есептелінді.

Дала тәжірибесінен алынған барлық нәтижелер соя дақылының вегетациялық өсу кезеңдерінде әдістемелерге сәйкес жасалды.

ЗЕРТТЕУ НӘТИЖЕЛЕРІ МЕН ТАЛДАУЛАР

Тәжірибеге алынған түйнекті бактериялар биомассасының өсуінің қорытынды көрсеткіш-тері 1-кестеде көрсетілген.

Қоректік ортаны ферменттерде дайындап және олар 121 °С температурада 30 минут зарарсыздандырылды.

Көлемі – 50 л. Өсіру жағдайы: 25+1°С температурада, араластыру айналымы – 450 айн/мин. Технологиялық ауаның жұмсалуды – 50 л/мин.

Аппараттағы қысым – 0,02 – 0,04 Мпа.

Қоюландыру, тәжірибе өндірістік партияларын кептіру және тұрақтандыру келесі тізіммен жүргізілді:

1-кесте. Ферменттеудің қорытынды көрсеткіштері

Штамдар	Егу материалы			Микроағзалар сұйықтығы			
	рН ортасы	ОТ	Клеткалар титрі	рН ортасы	ОТ	Клеткалар титрі	микроағзалар сұйықтығының рН ортасы
Rh. А-17	6,75	10,8	1,5 * 10 ¹⁰	6,75	10,8	1,7 * 10 ¹⁰	7,3
Rh. А-15	6,75	2,2	1,0 * 10 ¹⁰	6,75	8,0	2,0 * 10 ¹⁰	7,5

1. Центрифугада қоюландыру S70D-дағы $g=3000$ айн/мин $t=45$ мин;

2. LZ-9 лиофильді кептіргіште температура градиенті $T= -45+28^{\circ}\text{C}$ кептіру.

3. Дайындалған партияның титрін қоспа каолин дейін орташалау.

Түйнекті бактериялардың $5,2 \times 10^9$ кл/мл микроағзалар сұйықтығы партиясы алынды, көлемі $V=48$ литр, құрғақ заттар құрамы – 1,467%. Концентрацияланған түйнекті бактериялардың салмағы 403 грамм болды. Қорғаныс орта ретінде 80,6 грамм меласса қостық және араластырылған пастаны қорғаныс ортамен бірге кептірердің алдында тоназытқышқа $T= -50^{\circ}\text{C}$ температурада қатырдық. Кептірілген өнімді 216 грамды ұсақтап, оған 4500 мл дистилденген суды құйдық және қоспа ретінде 4500 г каолинді қостық. Да-йын пастаның титрі 15×10^9 кл/мл. Алынған зерттеу нәтижелері 2-кестеде көрсетілген.

Сонымен, дөңдерді өңдеу оңай, оны қолдану қолайлы, нитрагин биопрепараты дөңдерге жақсы жабысады (дөңдерді сумен ылғалдандырып, нитрагинмен араластырғаннан кейін кептіру қажет). Нитрагиннің өндірістік жағдайындағы тәжірибе партиясы жан-жақты қаралып түйнекті бактериялардың стандартты құрамы $5,2 \times 10^9$ кл/г болып шығарылып және Алматы облысының шаруа қожалықтары егіс алқаптарына соя өсімдік өніміне және топырақ құнарлылығына әсерін зерттеу мақсатында тәжірибеге жіберілді.

Осы тәжірибе барысында анықтағанымыз, топырақтағы аммонификаторлардың соя өсімдігіне нитрагин биопрепарат дайындалған түйнекті бактерияның әр түрлі штамдарымен өндегенде мезгілдік өсу динамикасы бақылаумен салыстырғанда

көрсеткіштері бірнеше есеге жоғары екендігі 3-кестеде көрсетілген.

Мұндағы Rh. A-15 штамына қарағанда Rh. A-17 дайындалған биопрепарат өсімдік өнгендегі тамырындағы аммонификатор микроағзалардың саны 9,4 млн/г болса, пал гүлдегендегі саны 19,1 млн/г дейін жетті. Керісінше соя дақылының бұршақ салғанда микроағзалардың саны 5,8 млн/г дейін төмендеді.

Сояның ризосферасындағы аммонификаторлардың мезгілдік динамикасының жиілігін зерттегенде, нитрагинмен өңделген өсімдіктің ризосферасында бақылаудағы аммонификаторлардың орташа көрсеткіші 5,2 млн/га, ал тәжірибедегі нитрагин өңделген нұсқалардағы орташа көрсеткіштер – 8,7–11,4 млн/г тең.

Осыған байланысты келесі зерттеу соя дақылының ризосферасындағы түйнектердің дамуына және тамыр жүйесіне жасалды (4-кесте). Тәжірибе төрт қайталаудың нәтижелерінің орташа мәліметтерін салыстырмалы түрде жүргізілді.

Бір өсімдікке шаққандағы бақылауда түйнектер түзбеген. Бұл кестедегі берілген мәліметтерде жоғары көрсеткіштер Rh. A-17 штамынан да-йындалған нұсқада байқалды.

Мұндағы түйнектердің орташа саны 72 дана, олардың орташа салмағы 169,5 мг дейін артты. Ал келесі Rh. A-15 штамының көрсеткіштері сәйкесінше түйнектердің орташа саны 56,5 дана болса, салмағының орташа мөлшері 139 мг тең болды. Бұл талдаудағы бір өсімдікке шаққандағы тамырлардың массасы әр түрлі нәтижелер көрсетті.

Бақылауға алынған нұсқада соя ризосферасының орташа массасы 2,5 г, ал тәжірибедегі нұсқаларда Rh. A-17 орташа массасы 7,05 г дейін болса,

2-кесте. Тізбектелген өнімнің 2/2 құйылу қорытындысы

№ тізбегі	Тізбектің аталуы	Концентрация	Көлемі (салмағы)	Баланс
1	Ферменттеу	$5,2 \times 10^9$	$4,80 \times 10^4$	$2,5 \times 10^{14}$
2	Центрифугирлеуі	$4,2 \times 10^9$	$4,76 \times 10^4$	$2,0 \times 10^{14}$
3	Кептіру	$6,57 \times 10^4$	$2,1 \times 10^2$	$1,42 \times 10^{14}$
4	Орташалау	$1,5 \times 10^{10}$	$9,46 \times 10^3$	$1,42 \times 10^{14}$
	Жалпы % шығымы			56,88%

3-кесте. Топырақтағы аммонификаторлардың соя ризосферасындағы ертүрлі штамдармен инокулирленгенде мезгілдік санының өсу динамикасы (млн/г)

Тәжірибе нұсқалары	Өнгенде	Гүлдегенде	Жемістегенде	Орташа саны
Бақылау	4,2	7,5	4,1	5,2
Rh. A-17	9,4	19,1	5,8	11,4
Rh. A-15	7,4	13,8	5,0	8,7

4-кесте. Соя өсімдігі түйнегінің дамуына және тамыр жүйесіне түйнекті бактериялардың әртүрлі штамдарының әсері

Тәжірибе нұсқалары	Бір өсімдікке шаққандағы орташа көрсеткіштер														
	түйнектер										тамырлар				
	1	2	3	4	Орт.	1	2	3	4	Орт.	1	2	3	4	Орт.
Бақылау	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3,5	3,4	3,0	2,7	2,5
Rh. A-17	70	73	69	75	72	168	174	168	168	169,5	6,7	6,9	7,4	7,0	7,05
Rh. A-15	58	53	60	55	56,5	141	138	140	137	139	4,0	4,2	4,1	3,9	4,06

5-кесте. *Rhizobium japonicum* штамдарының соя өсімдігінің өніміне әсері

Тәжірибе нұсқалары	Көк балауса салмағы, ц/га						Дәннің салмағы, ц/га					
	1	2	3	4	Орт.	Қосымша өнім	1	2	3	4	Орт.	Қосымша өнім
Бақылау	203,0	199,6	204,0	198,3	201,2	-	18,1	20,3	19,0	19,0	19,1	-
Rh. A-17	258,2	252,3	253,4	257,3	278	68,9	29,2	27,8	29,6	26,9	28,6	6,4
Rh. A-15	244,2	243,3	238,1	235,0	240,0	23,7	24,4	25,4	24,7	24,5	24,7	2,5

6-кесте. Соя өсімдігінде азоттың жинақталуына түйнекті бактериялар штамдарының әсер ету көрсеткіштері

Тәжірибе нұсқалары	Азот, %														
	Көк балаусадағы					Дәндегі					Тамырдағы				
	1	2	3	4	Орт.	1	2	3	4	Орт.	1	2	3	4	Орт.
Бақылау	1,10	1,30	1,40	1,30	1,30	2,85	2,78	2,95	3,10	2,92	1,50	1,31	1,34	1,28	1,35
Rh. A-17	3,10	3,00	2,98	2,89	2,99	6,10	5,95	6,20	6,19	6,11	2,18	2,10	2,19	2,20	2,16
Rh. A-15	2,30	2,28	2,35	2,30	2,32	4,59	4,62	4,68	4,70	4,65	1,78	1,84	1,80	1,77	1,80

Rh. A-15 штамымен өңделген тамырлардың салмағының орташа көрсеткіші 4,06 ғана болды. Демек, тәжірибеге алынған түйнекті бактериялардың Rh. A-17 штамымен өңделген соя дақылдың жер асты мүшесі тамыр жүйесінің және ондағы түйнектердің дамуы Rh. A-15 штамымен салыстырғанда жоғары көрсеткіштерге ие болуы, олардың белсенділігінің жоғары екендігін дәлелдейді.

Rhizobium japonicum штамдарының соя дақылдың жер үсті, яғни өніміне әсерін зерттеуді мақсат етіп қойдық. Бұл тәжірибе нәтижелері 5-кестеде көрсетілген. Штамдардың өнімге әсер етуі соя өсімдігінің көк балауса және дәннің салмағы арқылы анықталды.

Тәжірибеге алынған түйнекті бактериялардың Rh. A-17, Rh. A-15 салыстырмалы түрде қарағанда Rh. A-17 штамымен өңделген нұсқадағы көк балауса орташа өнімі 278 ц/га, қосымша өнімі 68,9 ц/га жоғары болса, ал Rh. A-15 штамымен өңделген соя дақылдың көк балауса өнімі тиісінше 240 ц/га; қосымша өнімі 23,7 ц/га ғана болды. Ал, дәнмен есептелген сояның қосымша өнімі гектарда 6,4 ц дейін артты. Сонымен, Rh. A-17 штамының соя дақыл өніміне әсер ету белсенділігі жоғары болды.

6-кестедегі зерттеу нәтижелері түйнекті бакте-

риялар штамдарының соя өсімдігінің көк балаусадағы, дәндегі және тамырдағы азоттың жинақталуының пайыздық үлесін анықтауға арналды.

Бұл тәжірибе нәтижелеріне талдау жасайтын болса, нәтижесінде Rh. A-17 штамымен өңделген егіс алқабындағы соя өніміндегі азоттың жинақталу көрсеткіштері бақылаумен салыстырғанда жоғары болды. Яғни, Rh. A-17 штамының әсерінен көк балаусаның орташа азот жиналуы 2,99 %, дәндегі мөлшері 6,11%, және тамырдағы 2,16 %-ға тең. Бақылаудағы азоттың орташа көрсеткіштері төмендегідей: көк балаусада 1,3 %, дәнненде 2,92 % және 1,35 % жинақталған.

Қорыта келгенде, соя өсімдігіне арнайы дайындалған нитрагин биопрепараты түйнекті бактериялардың Rh. A-17 штамдары жоғары көрсеткішке ие екендігі анықталды. Rh. A-17 штамының әсерінен топырақтағы азот сіңіруші микроағзалардың санының өсу динамикасының жоғары болатындығы дәлелденді. Яғни, микроағзалардың топырақта көп жиналуы оның құнарлығына оң әсері болады. Нәтижесінде Rh. A-17 штамымен өңделген соя өсімдіктерінде азоттың жинақталу мөлшерлері бақылаумен салыстырғанда жоғары болды. Демек, Rh. A-17 штамымен дайындалған нитрагин биопре-

паратын соя дақылынан жоғары өнім алу үшін кең көлемде пайдалануға болатындығы анықталды.

ӘДЕБИЕТ

1. *Саданов А.К., Курманбаев А.А.* Экологическая технология в биологизации земледелия. Алматы, 2002. С. 190.
2. *Сабельникова В. И.* Биологически активные вещества клубеньковых бактерий. Кишинев: Штиница, 1979. С. 144.
3. *Сагидолдина А. Е.* Выделение и определение активности клубеньковых бактерий люцерны // 1-й Международ. конгресс «Экологическая методология возрождения человека и планеты Земля». Алматы, 1997. С. 173. 21–24 апреля.
4. *Посытанов Г.С.* Азотфиксация бобовых культур в зависимости от почвенно-климатических условий // Минеральный и биологический азот в земледелии СССР. М.: Наука, 1985. С. 75-84.
5. *Доросинский Л.М.* Клубеньковые бактерии и нитрагин. Л., 1970. С. 59.
6. *Курчак О.Н., Проворов Н.А., Симаров Б.В.* Эффективность симбиоза с клубеньковыми бактериями у различных видов рода *Vicia L.* // Раст. ресурсы. 1995. Т.31, №1. С.88-93.
7. *Алибекова Ш.Б.* Симбиотическая азотфиксация и эффективность нитрагинизации сои на орошаемых почвах юго-востока Казахстана: Автореф. дис. ...канд. биол. наук. Алмата, 1993.
8. *Әбжәлелов А.Б., Сагидолдина А.Е., Саданов А.Қ.*

Түйнекті бактериялардың дегидрогеназа белсенділігі // Жаршы. Алматы, 1997. №10. 53–58-бб.

Резюме

Приведена технология приготовления препарата нитрагин из активных штаммов клубеньковых бактерий, взятых для эксперимента. Исследовано влияние препарата на плодородие почвы и продуктивность сои. Во всех экспериментах при использовании нитрагина, приготовленного из штамма Rh. A-17, наблюдалось повышение продуктивности сои.

Summary

A new technology of prepare the nitrogen preparation by using active strains of bacteria was showed in this article. The influence of preparation for soils properties and soy bean production it was investigated. In all experiments with application of nitrogen preparation, prepared from Rh. A-17 the increasing of soy bean productivity was detected.