

ISSN 2224-5308

ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫ
ҰЛТТЫҚ ҒЫЛЫМ АКАДЕМИЯСЫНЫҢ

Х А Б А Р Л А Р Ы

ИЗВЕСТИЯ

НАЦИОНАЛЬНОЙ АКАДЕМИИ НАУК
РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН

NEWS

OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES
OF THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

**БИОЛОГИЯ ЖӘНЕ МЕДИЦИНА
СЕРИЯСЫ**



**СЕРИЯ
БИОЛОГИЧЕСКАЯ И МЕДИЦИНСКАЯ**



**SERIES
OF BIOLOGICAL AND MEDICAL**

1 (307)

**ҚАҢТАР – АҚПАН 2015 ж.
ЯНВАРЬ – ФЕВРАЛЬ 2015 г.
JANUARY – FEBRUARY 2015**

1963 ЖЫЛДЫҢ ҚАҢТАР АЙЫНАН ШЫҒА БАСТАҒАН
ИЗДАЕТСЯ С ЯНВАРЯ 1963 ГОДА
PUBLISHED SINCE JANUARY 1963

ЖЫЛЫНА 6 РЕТ ШЫҒАДЫ
ВЫХОДИТ 6 РАЗ В ГОД
PUBLISHED 6 TIMES A YEAR

АЛМАТЫ, ҚР ҰҒА
АЛМАТЫ, НАН РК
ALMATY, NAS RK

Б а с р е д а к т о р

ҚР ҰҒА академигі

Ж. А. Арзықұлов

Р е д а к ц и я а л қ а с ы:

биол. ғ. докторы, проф., ҚР ҰҒА академигі **Айтхожина Н.А.**; биол. ғ. докторы, проф., ҚР ҰҒА академигі **Байгулин И.О.** (бас редактордың орынбасары); биол. ғ. докторы, проф., ҚР ҰҒА академигі **Берсімбаев Р.И.**; биол. ғ. докторы, проф., ҚР ҰҒА академигі **Бишімбаева Н.К.**; мед. ғ. докторы, проф., ҚР ҰҒА академигі **Күзденбаева Р.С.**; мед. ғ. докторы, проф., ҚР ҰҒА академигі **Рахышев А.Р.**; мед. ғ. докторы, проф., ҚР ҰҒА корр. мүшесі **Ақшолақов С.К.**; мед. ғ. докторы, проф., ҚР ҰҒА корр. мүшесі **Алшынбаев М.К.**; биол. ғ. докторы, проф., ҚР ҰҒА корр. мүшесі **Березин В.Э.**; мед. ғ. докторы, проф., ҚР ҰҒА корр. мүшесі **Ботабекова Т.К.**; биол. ғ. докторы, проф., ҚР ҰҒА корр. мүшесі **Жамбакин К.Ж.**; мед. ғ. докторы, проф., ҚР ҰҒА корр. мүшесі **Қайдарова Д.Р.**; мед. ғ. докторы, проф., ҚР ҰҒА корр. мүшесі **Локшин В.Н.**; биол. ғ. докторы, проф., ҚР ҰҒА корр. мүшесі **Огарь Н.П.**; мед. ғ. докторы, проф., ҚР ҰҒА корр. мүшесі **Рахыпбеков Т.К.**

Р е д а к ц и я к е ң е с і:

Абжанов Архат (Бостон, АҚШ); **Абелев С.К.** (Мәскеу, Ресей); **Лось Д.А.** (Мәскеу, Ресей); **Бруно Луненфелд** (Израиль); доктор, проф. **Харун Парлар** (Мюнхен, Германия); философия докторы, проф. **Стефано Перни** (Кардиф, Ұлыбритания); **Саул Пуртон** (Лондон, Ұлыбритания); **Сапарбаев Мурат** (Париж, Франция); **Сарбассов Дос** (Хьюстон, АҚШ); доктор, проф. **Гао Энджун** (Шэньян, ҚХР)

Главный редактор

академик НАН РК

Ж. А. Арзыкулов

Редакционная коллегия:

доктор биол. наук, проф., академик НАН РК **Н.А. Айтхожина**; доктор биол. наук, проф., академик НАН РК **И.О. Байтулин** (заместитель главного редактора); доктор биол. наук, проф., академик НАН РК **Р.И. Берсимбаев**; доктор биол. наук, проф., академик НАН РК **Н.К. Бишимбаева**; доктор мед. наук, проф., академик НАН РК **Р.С. Кузденбаева**; доктор мед. наук, проф., академик НАН РК **А.Р. Рахишев**, доктор мед. наук, проф., чл.-корр. НАН РК **С.К. Акшулаков**, доктор мед. наук, проф., чл.-корр. НАН РК **М.К. Алчинбаев**; доктор биол. наук, проф., чл.-корр. НАН РК **В.Э. Березин**; доктор мед. наук, проф., чл.-корр. НАН РК **Т.К. Ботабекова**; доктор биол. наук, проф., чл.-корр. НАН РК **К.Ж. Жамбакин**; доктор мед. наук, проф., чл.-корр. НАН РК **Д.Р. Кайдарова**; доктор мед. наук, проф., чл.-корр. НАН РК **В.Н. Локшин**; доктор биол. наук, проф., чл.-корр. НАН РК **Н.П. Огарь**; доктор мед. наук, проф., чл.-корр. НАН РК **Т.К. Рахыпбеков**

Редакционный совет:

Абжанов Архат (Бостон, США); **С.К. Абелев** (Москва, Россия); **Д.А. Лось** (Москва, Россия); **Бруно Луненфельд** (Израиль); доктор, проф. **Харун Парлар** (Мюнхен, Германия); доктор философии, проф. **Стефано Перни** (Кардиф, Великобритания); **Саул Пуртон** (Лондон, Великобритания); **Сапарбаев Мурат** (Париж, Франция); **Сарбассов Дос** (Хьюстон, США); доктор, проф. **Гао Энджун** (Шэньян, КНР)

«Известия НАН РК. Серия биологическая и медицинская». ISSN 2224-5308

Собственник: РОО «Национальная академия наук Республики Казахстан» (г. Алматы)

Свидетельство о постановке на учет периодического печатного издания в Комитете информации и архивов Министерства культуры и информации Республики Казахстан №5546-Ж, выданное 01.06.2006 г.

Периодичность: 6 раз в год

Тираж: 300 экземпляров

Адрес редакции: 050010, г. Алматы, ул. Шевченко, 28, ком. 219, 220, тел. 272-13-19, 272-13-18,
www.nauka-nanrk.kz / biological-medical.kz

© Национальная академия наук Республики Казахстан, 2015

Адрес типографии: ИП «Аруна», г. Алматы, ул. Муратбаева, 75

Editor in chief

Zh.A. Arzykulov,
academician of NAS RK

Editorial board:

N.A. Aitkhozhina, dr. biol. sc., prof., academician of NAS RK; **I.O. Baitulin**, dr. biol. sc., prof., academician of NAS RK (deputy editor); **R.I. Bersimbayev**, dr. biol. sc., prof., academician of NAS RK; **N.K. Bishimbayeva**, dr. biol. sc., prof., academician of NAS RK; **R.S. Kuzdenbayeva**, dr. med. sc., prof., academician of NAS RK; **A.R. Rakhishev**, dr. med. sc., prof., academician of NAS RK; **S.K. Akshulakov**, dr. med. sc., prof., corr. member of NAS RK; **M.K. Alchinbayev**, dr. med. sc., prof., corr. member of NAS RK; **V.E. Berezin**, dr. biol. sc., prof., corr. member of NAS RK; **T.K. Botabekova**, dr. med. sc., prof., corr. member of NAS RK; **K.Zh. Zhambakin**, dr. biol. sc., prof., corr. member of NAS RK; **D.R. Kaidarova**, dr. med. sc., prof., corr. member of NAS RK; **V.N. Lokshin**, dr. med. sc., prof., corr. member of NAS RK; **N.P. Ogar**, dr. biol. sc., prof., corr. member of NAS RK; **T.K. Rakhypbekov**, dr. med. sc., prof., corr. member of NAS RK

Editorial staff:

Abzhanov Arkhat (Boston, USA); **S.K. Abelev** (Moscow, Russia); **D.A. Los** (Moscow, Russia); **Bruno Lunenfeld** (Israel); **Harun Parlar**, dr., prof. (Munich, Germany); **Stefano Perni**, dr. phylos., prof. (Cardiff, UK); **Saparbayev Murat** (Paris, France); **Saul Purton** (London, UK); **Sarbassov Dos** (Houston, USA); **Gao Endzhun**, dr., prof. (Shenyang, China)

News of the National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan. Series of biology and medicine.
ISSN 2224-5308

Owner: RPA "National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan" (Almaty)

The certificate of registration of a periodic printed publication in the Committee of information and archives of the Ministry of culture and information of the Republic of Kazakhstan N 5546-Ж, issued 01.06.2006

Periodicity: 6 times a year

Circulation: 300 copies

Editorial address: 28, Shevchenko str., of. 219, 220, Almaty, 050010, tel. 272-13-19, 272-13-18,
<http://nauka-nanrk.kz> / biological-medical.kz

© National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan, 2015

Address of printing house: ST "Aruna", 75, Muratbayev str, Almaty

NEWS

OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

SERIES OF BIOLOGICAL AND MEDICAL

ISSN 2224-5308

Volume 1, Number 307 (2015), 78 – 83

PRODUCTION TECHNOLOGIES OF BIOLOGICAL PREPARATIONS ON THE BASIS OF NODULE BACTERIA

N. N. Gavrilova¹, A. K. Sadanov¹, T. N. Dadonova², I. A. Ratnikova¹

¹Institute of Microbiology and Virology" CS MES RK, Almaty, Kazakhstan,

²AS «Parasat»*, Astana, Kazakhstan.

E-mail: iratnikova@list.ru

Key words: nodule bacteria, nutrient media, forms of preparations, production technology.

Abstract. The currently known production technologies of different forms of preparations on the basis of nodule bacteria are: dry, liquid or paste form, having an average bacteria titer $n \times 10^8 - n \times 10^9$ CFU/g. The most widespread are peat preparations. Also liquid preparations because of simple technology of their production and application were widely used. Perspectives is the paste form preparations with the use of natural adsorbents.

УДК 579:576.616

ТЕХНОЛОГИИ ПРОИЗВОДСТВА БИОПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ КЛУБЕНЬКОВЫХ БАКТЕРИЙ

Н.Н. Гаврилова¹, А.К. Саданов¹, Т.Н. Дадонова², И.А. Ратникова¹

¹РГП «Институт микробиологии и вирусологии» КН МОН РК, Алматы, Казахстан,

²АО «Парасат», Астана, Казахстан

Ключевые слова: клубеньковые бактерии, питательные среды, формы препаратов, технологии производства.

Аннотация. В настоящее время известны технологии производства различных форм препаратов на основе клубеньковых бактерий: сухие, жидкие и пастообразные, имеющие титр бактерий в среднем $пх10^8 - пх10^9$ КОЕ/г. Наиболее распространенными являются торфяные биопрепараты. Широкое распространение получили также жидкие препараты благодаря упрощенной технологии их изготовления и применения. Перспективными являются пастообразные препараты, изготовленные с использованием природных адсорбентов.

Клубеньковые бактерии, составляющие основу биопрепаратов, должны обладать не только такими важными свойствами, как вирулентность, конкурентоспособность, специфичность, активность и эффективность, но и быть способными накапливать достаточное количество бактерий в стандартной и производственной среде. Среди общих требований к созданию биопрепаратов важны следующие: высокий титр активных клеток, необходимый срок хранения, транспортабельность, технологичность (растворимость, способность удерживаться на семенах и т. д.), а также экономичность их производства.

Одним из важных этапов в создании технологии производства микробных препаратов является подбор и оптимизация питательных сред, субстратов и условий культивирования бактерий.

Обычно для производства посевного материала исходную культуру клубеньковых бактерий выращивают на маннитно-дрожжевом агаре или агаризованной среде, содержащей отвар бобовых семян, 2% агара и 1% сахарозы, затем культуру размножают в колбах на жидкой питательной среде того же состава в течение 1-2 суток при температуре 28-30°C и pH 6.5-7.5. На всех этапах промышленного культивирования применяют питательную среду, включающую такие компоненты, как меласса, кукурузный экстракт, минеральные соли в виде сульфатов аммония и магния, мел, хлорид натрия и двузамещенный фосфат калия. Основная ферментация идет при тех же условиях в течение 2-3 суток [1].

Так, ООО "БИСОЛБИ ПЛЮС" (г. Санкт-Петербург) при производстве препарата БисолбиРиз для хранения штамма *Bradyrhizobium japonicum* 859 использует маннитно-дрожжевой агар, а для получения маточной раскладки – жидкую маннитно-дрожжевую среду. При этом культуру выращивают на качалке (220±10 об/мин) при температуре 28-30°C в течение 72±3 часа. Для промышленного культивирования штамма используют питательную среду следующего состава, г/л: кукурузный экстракт - 7,0; меласса - 5,0; (NH)₂SO₄ - 1,0; K₂HPO₄ - 0,35; KH₂PO₄ - 0,35; MgSO₄×7H₂O - 0,2; CaCO₃ — 1,0, в которую вносят 5-10% посевного материала и проводят культивирование в течение 72±3 часов при температуре 28±1°C и продувке стерильным воздухом из расчета: объем воздуха в минуту на объем питательной среды. В результате получают концентрат бактериальной суспензии штамма бактерий *Bradyrhizobium japonicum* 859 с титром не менее 10⁹ КОЕ/мл [2].

При производстве ризоторфина под чечевицу на основе штамма *Rhizobium leguminosarum* (Lens)724 для поддержания культуры используют маннитно-дрожжевой агар. Для получения посевного материала жидкую культуру выращивают в качалочных колбах в течение 2 суток на среде следующего состава (г/л): гороховый отвар 100,0; сахар (пищевой) 10,0; (NH)₂SO₄ - 0,5; KH₂PO₄ - 0,5; K₂HPO₄ - 0,5; MgSO₄×7H₂O - 0,2; CaCO₃ - 1,0; водопроводная вода до 1000 мл, pH - 6,8-7,0. Посевную культуру с титром 5-8 млрд./мл используют для приготовления жидкой рабочей культуры в ферментерах на среде следующего состава: (г/л): кукурузный экстракт -6,0; меласса - 5,0; (NH)₂SO₄ -0,5; KH₂PO₄ -0,5; K₂HPO₄ - 0,5; MgSO₄×7H₂O - 0,2; CaCO₃ -1,0; водопроводная вода до 1000 мл, pH - 6,8-7,0. В ферментерах бактерии выращивают 18-36 ч при аэрации 0,7-1,5 об/мин под избыточным давлением 0,3-0,5 атм., температуре 28-30⁰ С. Титр готовой культуры - не менее 5,0 млрд./мл [3].

В филиале РГП «Национальный центр биотехнологии РК» (г. Степногорск) клубеньковые бактерии культивируют в колбах, инокуляторе, ферментере на питательной среде следующего состава (г/л): кукурузный экстракт — 6,0; глюкоза-10,0; NaCl - 0,2; K₂HPO₄ – 0,5; (NH₄)₂SO₄ - 0,5; MgSO₄×7H₂O – 0,2; вода питьевая – остальное; pH среды - 6,85. Продолжительность культивирования 24-25 ч.

В РГП «Институт микробиологии и вирусологии» КНМОН РК при изготовлении препарата «Ризовит-АКС» поддержание производственных штаммов и приготовление маточной культуры производят на среде Мазэ на основе горохового отвара. Маточную раскладку выращивают в колбах при 1800-2000 об./мин, температуре 25-28°C в течение 22-24 ч. Суточную маточную раскладку используют для пересева и засева инокулятора или ферментера в количестве 5-6% от объема среды.

Для выращивания посевного материала и рабочей жидкой культуры в инокуляторе или ферментере используют питательные среды, содержащие те же компоненты, что и в аналогичных производствах, однако для каждого вида клубеньковых бактерий подобран оптимальный состав, (г/л):

для *Sinorhizobium meliloti* Л5-1 (люцерна) - кукурузный экстракт – 3,0; бобовый отвар 50 мл, сахароза – 6,0; NaCl – 0,2; K₂HPO₄ – 0,5; (NH₄)₂SO₄ - 0,5; MgSO₄×7H₂O - 0,2; дрожжевой экстракт – 3,0; вода питьевая - остальное, pH среды - 6,8-6,9;

для *Bradyrhizobium japonicum* АКС-1/17 и АКС-А/18 (соя) - кукурузный экстракт – 3,0; сахароза – 7,0; NaCl – 0,2; K₂HPO₄ – 0,5; (NH₄)₂SO₄ - 0,5; MgSO₄×7H₂O- 0,2; дрожжевой экстракт – 3,0; CaCO₃ – 4,0; вода питьевая - остальное, pH среды - 6,8-6,9, pH 7,0;

для *Rhizobium leguminosarum* G-8 (горох) – кукурузный экстракт – 3,0; бобовый отвар 50 мл, глюкоза – 10,0; K₂HPO₄ – 0,5; (NH₄)₂SO₄ - 0,5; MgSO₄×7H₂O- 0,2; CaCO₃ - 4,0; дрожжевой экстракт – 3,0; вода питьевая - остальное, pH среды - 6,8-6,9;

для *Rhizobium leguminosarum* Ч-7 (чечевица)-кукурузный экстракт – 3,0; бобовый отвар 50 мл, сахароза – 8,0; K₂HPO₄ – 0,5; (NH₄)₂SO₄ - 0,5; MgSO₄×7H₂O- 0,2; CaCO₃ - 4,0; дрожжевой экстракт – 3,0; вода питьевая - остальное, pH среды - 6,8-6,9;

для *Mesorhizobium ciceri* - 45 (нут)- K_2HPO_4 -1,0; MgSO_4 -0,3; сахара -8,0; бобовый отвар – из 50 г гороха; pH 7,0.

Режим культивирования в инокуляторе и ферментере: температура культивирования 25-28 °С, перемешивание - 300-400 об./мин, расход технологического воздуха - 0,6-0,8 V/мин, время культивирования - 22-25 часов, титр клеток в конце ферментации не ниже 2,0-5,0 млрд. КОЕ/мл [4].

В настоящее время во всем мире выпускается множество форм и разновидностей биопрепаратов на основе клубеньковых бактерий, они могут быть сыпучими (почвенные или торфяные, сублимационно высушенные), жидкими (бульонные), плотными (агаровые), пастообразными.

Технология изготовления торфяного инокулянта клубеньковых бактерий (ризоторфина) разработана во ВНИИ Сельскохозяйственной микробиологии ВАСХНИЛ. Размолотый низинный торф (крупность помола не более 100-250 мкм), нейтрализованный мелом до pH 6,8-7,2, с влажностью 30-40% расфасовывают в полиэтиленовые пакеты по 200-400 грамм, стерилизуют гамма-облучением при дозе 2,5 Мрад. Стерильный торф в пакетах инокулируют инъекцией смеси: культуральная жидкость + меласса (6%) из расчета исходного титра бактерий в торфе 0,3-0,5 млрд./г торфа и влажности 45-60%. Затем пакеты загружают в специальные смесители, при вращении которых перемешивается их содержимое. Культуру в торфе подращивают, выдерживая пакеты 3-5 суток при температуре 30°С, затем хранят при температуре 38°С в темном сухом помещении отдельно от ядохимикатов. В 1 г такого препарата содержится не менее 2,5 млрд. бактерий. Срок годности препарата 6 мес. со дня изготовления [5].

ООО «Сурская» агрохимическая компания выпускает препарат ризоторфин-Б на основе высокоэффективных клубеньковых бактерий, выращенных на торфяном субстрате, обогащенном углеводами, минеральными веществами, витаминами и микроэлементами. В одном грамме препарата содержится не менее 2,5 млрд. активных клубеньковых бактерий. Срок годности препарата 4 месяца. Доза ризоторфина-Б - 400-600 грамм на 1 гектарную норму семян.

В России долгое время наиболее распространенным твердым носителем для клубеньковых бактерий оставался торф, который имеет ряд недостатков: ограниченность ресурсов, отвечающих технологическим требованиям, вариабельность биохимических характеристик, необходимость дорогостоящей гамма-стерилизации и множества предварительных операций - сушка, нейтрализация, размол и др. [6]. В связи с этим был разработан новый носитель – вермикулит. Вермикулит имеет постоянный химический состав, благодаря чему исключается необходимость проверки каждой партии носителя, выдерживает высокотемпературную обработку и многократную стерилизацию без образования токсичных для бактерий веществ. Сыпучая вермикулитная форма препарата имеет вид увлажнённой массы серого или серо-жёлтого цвета. Титр клеток препарата зависит от вида клубеньковых бактерий и достигает 2,0-6,0 млрд. на грамм. Однако при изготовлении вермикулитных препаратов по технологии, разработанной для получения биопрепаратов на торфе, их титры спустя 6 месяцев хранения составляли 5×10^6 - $1,8 \times 10^8$ КОЕ/г. Эти значения не соответствуют ГОСТУ и ТУ, согласно которым биопрепараты на основе клубеньковых бактерий считаются качественными, если через 6 месяцев хранения имеют титр не менее 1×10^9 КОЕ/г. Оценка питательных и стабилизирующих добавок на повышение сохранности микроорганизмов показала, что наибольший титр бактерий через 6 месяцев хранения определяется при внесении в вермикулит 0,5 % мелассы, 1 % глицерина и 0,5 % гуматов [7].

В Институте микробиологии НАН Беларуси разработана сапропелевая форма препарата, в состав которой входят зональные штаммы клубеньковых азотфиксирующих бактерий, специфичные для ряда бобовых культур. В большинстве случаев ее эффективность оказывается выше, чем у торфяной формы [8].

Препарат Ризобифит, зарегистрированный на Украине, производят на основе высокоэффективных штаммов клубеньковых бактерий, соответствующих определенному виду бобовых культур. Ризобифит применяется под сою, нут, фасоль, горох, чину, вику, чечевицу, бобы, люцерну, клевер, эспарцет и другие бобовые культуры. Ризобифит выпускается в жидкой, вермикулитной и гельной формах в гектарных порциях. Жидкая форма препарата содержит остатки культуральной среды, метаболиты микроорганизмов и 7-10 млрд. жизнеспособных клеток в 1 мл. Срок хранения препарата в холодильнике не превышает одного месяца. Сыпучая торфяная форма содержит не менее 2,5 млрд. ризобий в 1г, срок хранения препарата при температуре 4-15° С составляет

4-6 месяцев. Сыпучая вермикулитная форма имеет вид увлажненной массы серого или серо-желтого цвета, в 1 г которой содержится не менее 2,0 млрд. клубеньковых бактерий. Срок годности препарата 6 месяцев [9].

Известен также украинский торфяной инокулянт Нитрофикс С на основе бразильских штаммов бактерий. Его особенностью является малый расход на гектарную норму семян – 120-150 г (в зависимости от титра препарата), что обуславливается как высоким качеством торфяного субстрата, так и высокой вирулентностью двух видов азотфиксирующих бактерий: *Bradyrhizobium japonicum* и *Bradyrhizobium elkanii*. Срок годности препарата – 12 месяцев.

Благодаря упрощенной технологии изготовления и применения, жидкие препараты остаются наиболее распространенной формой инокулянта для обработки семян сельскохозяйственных культур. Срок сохранности жизнеспособных клеток в культуре зависит от вида бактерий, но, как правило, их титр начинает резко снижаться уже через 10-15 суток, если в препарат не добавлены соответствующие стабилизаторы.

Нитрофикс Ж – жидкий инокулянт для сои украинского производства на основе аргентинских штаммов ризобий. Норма расхода – 200 мл на гектарную норму семян. Срок хранения обработанных семян (при разведении инокулянта в воде) – 1 сутки. Срок годности препарата – 1 месяц.

Жидкую форму удобрения БисолбиРиз на основе штамма клубеньковых бактерий *Bradyrhizobium japonicum* 859 получают путем разведения концентрата бактериальной суспензии стерильной дистиллированной водой с добавками по 1,5 г/л K_2HPO_4 , KH_2PO_4 , $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ и 2 г/л лигногуматов (гуминовые удобрения). Затем доводят pH полученного удобрения до уровня 6,8-7,2 и выдерживают в течение 3-5 дней при температуре 25-28°C до получения титра не менее 10^8 КОЕ/мл [2].

Некоторые крупные мировые компании освоили выпуск стабильных жидких инокулянтов, для которых они гарантируют срок годности до 2-х лет [10]. Так, жидкий инокулянт для сои Ноктин А производства аргентинской компании «Синтесис Кимика», эксклюзивно предлагаемый группой компаний «Агролига России», уже несколько лет пользуется огромной популярностью у российских производителей сои. Норма расхода 150-300 мл на гектарную норму семян. Рекомендуемый срок обработки семян – непосредственно перед посевом. Срок годности препарата 2 года.

Под торговой маркой Ноктин А на рынке появились новые инокулянты для бобовых: Ноктин А для СОИ Амо (на основе штамма бактерий *Bradyrhizobium japonicum* с добавлением в состав молибдена); Ноктин А для ГОРОХА (на основе штамма бактерий *Rhizobium leguminosarum*, для инокуляции семян гороха, вики, чины, чечевицы и кормовых бобов); Ноктин А для НУТА (на основе штамма бактерий *Mesorhizobium ciceri*, для инокуляции семян нута). Аналогично соевому инокулянту Ноктин А, новые продукты являются жидкими, титр при регистрации: 1×10^9 (минимально гарантированное количество жизнеспособных бактерий в 1 мл к моменту истечения срока годности продукта). Присутствующий в составе молибден предназначен для питания только самих бактерий, его количество недостаточно для обеспечения потребностей растения (рекомендуется применять молибденсодержащие удобрения при предпосевной обработке семян, либо при проведении листовых подкормок).

Препарат Оптимайз производства США - жидкий двухкомпонентный инокулянт, в состав которого входят: липо-хитоолигосахарид (LCO), являющийся естественным стимулятором образования клубеньков и выделяется бактериями рода *Rhizobium*, а также бактерии рода *Rhizobium*. Норма расхода препарата 200 мл на гектарную норму. Срок хранения обработанных семян – 120 дней. Срок годности препарата 2 года.

В настоящее время на рынке появились различные варианты жидких инокулянтов бактерий на торфяной основе с прилипателем-стабилизатором. Они преимущественно предназначены для обработки семян сои. Такая форма инокулянта увеличивает стабильность препарата, бактерии дольше сохраняют свою жизнеспособность после обработки семян.

Производится также сухой нитрагин - порошок светло-серого цвета, содержащий в 1 г не менее 9 млрд. жизнеспособных бактерий в смеси с наполнителем, влажность не превышает 10%. Промышленное производство имеет типичную схему. Готовую культуральную жидкость сепарируют, получается биомасса в виде пасты с влажностью 70-80%. Пасту смешивают с защитной средой, содержащей тиомочевину и мелассу (1:20) и направляют на высушивание. Сушат путем

сублимации (в вакуум-сушильных шкафах). Высушенную биомассу размалывают, расфасовывают и герметизируют в полиэтиленовые пакеты по 0,2 - 1 кг, хранят при температуре 15°C не более 6 месяцев [6]. Однако такие препараты производят редко, так как использование лиофилизации связано с большими затратами на оборудование, электроэнергию.

Биодобрение для сои «НИТРАГИН КМ» производит ООО «НТЦ БИО» (Белгородская область). Препарат содержит природный штамм клубеньковых бактерий *Bradyrhizobium japonicum* 206, вирулентный к различным сортам сои, которые в симбиозе с растением способны фиксировать свободный азот атмосферы. Представляет собой сыпучий продукт, содержащий в одном грамме не менее 5 млрд. бактерий, ряд минеральных солей. Дополнительно в поставку входит органо-минеральный комплекс, обеспечивающий прилипание препарата к семенам, его сохранность и дополнительное питание клубеньковых бактерий [11].

В филиале РГП «Национальный центр биотехнологии РК» разработана технология производства биопрепаратов на основе клубеньковых бактерий в пастообразном и сублимационно высушенном виде. При получении пастообразного препарата производят центрифугирование культуральной жидкости при 3000 об./мин. в течение 60 мин. Выход биомассы азотфиксирующих бактерий с 85 л жидкой культуры составляет 0,5-0,6 кг (6-7 г/л) с влажностью 80-85% и титром не менее 250 млрд. кл/г. Для стандартизации в биомассу азотфиксирующих бактерий добавляют готовый 50%-ный глинистый раствор каолина (каолин-супернатант в соотношении 1:1). Титр клеток в готовом продукте составляет не менее 6,0 млрд. клеток / г, срок хранения - 14 суток [12]. Сублимационно высушенный препарат получают по стандартной технологии с добавлением в бактериальную пасту в качестве защитной среды 20 % сахарозы. Сухой препарат с влажностью не более 10% содержит после стандартизации каолином в среднем 6 млрд. жизнеспособных клеток/г. Гарантийный срок хранения препарата при температуре +4°C составляет 7 месяцев [13].

В РГП «ИМВ» КН МОН РК разработана технология производства препарата «Ризовит-АКС» в пастообразном и сублимационно высушенном состоянии. При получении пастообразного препарата биомассу бактерий осаждают из культуральной жидкости бентонитом, надосадочную жидкость, составляющую 2/3 всего объема, декантируют, а осадок центрифугируют при 3000 об./мин в течение 30 мин. После стандартизации биомассы бактерий бентонитом, растворенным в надосадочной жидкости, получают пастообразный препарат с титром бактерий не ниже 5 млрд. КОЕ/г и влажностью не более 50%. Разработанный способ получения пастообразных биопрепаратов серии «Ризовит-АКС» является менее затратным, так как центрифугированию подвергается только 1/3 часть культуральной жидкости. Препарат имеет влажность до 50% , что позволяет упростить его упаковку (полиэтиленовые пакеты) и повысить срок годности. Срок хранения пастообразного препарата по разработанной технологии повысился до 3 месяцев по сравнению с 14 сутками у препарата на основе каолина [14]. Производство сухого препарата осуществляют сублимационным методом по общепринятой технологии с использованием защитной среды, состоящей из 10% сахарозы, 2,5 % уксуснокислого натрия и 2,5% лимоннокислого натрия. Стандартизацию препарата осуществляют сухим обезжиренным молоком до содержания жизнеспособных клеток не менее 5 млрд. КОЕ/г. Срок годности сухого препарата 12 месяцев [15].

Таким образом, в настоящее время известны технологии производства различных форм препаратов на основе клубеньковых бактерий: сухие, жидкие и пастообразные , имеющие титр бактерий в среднем 10^8 – 10^9 КОЕ/г. Наиболее распространенными являются торфяные биопрепараты. Широкое распространение получили также жидкие препараты благодаря упрощенной технологии их изготовления и применения. На наш взгляд, перспективными являются также пастообразные препараты, изготовленные с использованием природных адсорбентов.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] По материалам сайта: biotechnology.ru. Технология производства бактериальных удобрений на основе клубеньковых бактерий.
- [2] Патент РФ № 2487932. Штамм клубеньковых бактерий *Bradyrhizobium japonicum* 859 для получения удобрения под сою / Чеботарь В. К., Ерофеев С. В., опублик. 20.07.2013.
- [3] Патент SU 1446132. Штамм клубеньковых бактерий *Rhizobium leguminosarum* для производства бактериального удобрения под чечевицу / Архипов В.С., Волузнева Т.А., Кожемяков А.П., опублик. 23.12.88.
- [4] Технологический регламент по производству биопрепаратов серии «Ризовит-АКС». Алматы: РГП «ИМВ» КН МОН РК, 2014.- 38 с.

- [5] По материалам сайта: bibliofond.ru Получение бактериальных удобрений для сельского хозяйства.
- [6] Методы культивирования азотфиксирующих бактерий, способы получения и применения препаратов на их основе: Методические рекомендации // Под ред. А.В. Хотяновича, Ленинград, 1991.
- [7] Лактионов Ю.В., Попова Т.А., Андреев О.А., Ибатуллина Р.П., Кожемяков А.П. Создание стабильной формы ростстимулирующих микробиологических препаратов и их эффективность // Сельскохозяйственная микробиология. – 2011. – № 3. – С. 116-118.
- [8] По материалам сайта AgroXXI.ru Бактериальные удобрения для бобовых, 24 .10.2012.
- [9] По материалам сайта miragro.com Биотехнологии на полях Украины, опублик. 18.11. 2012.
- [10] Щегольков А.В., Махонин В.Л. Оценка инокулятов при возделывании сои в рисовых севооборотах Краснодарского края // VI международная конференция молодых ученых и специалистов, ВНИИМК, 2011.
- [11] По материалам сайта agroliga.ru Зернобобовые. Новые подходы к технологии возделывания и минерального питания, 23.01.2014 .
- [12] Патент РК № 17633. Способ получения препарата азотфиксирующих бактерий «Нитрагин» (паста) / Керимжанова Б.Ф., Матчин А.Н., Романова Л.А., Черемисова Т.Г., Кенжебаев В.Э., опублик. 11.08.2006.
- [13] Патент РК № 17634. Способ получения сухого препарата азотфиксирующих бактерий (Нитрагин) / Керимжанова Б.Ф., Матчин А.Н., Романова Л.А., Черемисова Т.Г., Кенжебаев В.Э., опублик. 11.08.2006.
- [14] Патент РК №23470. Способ получения пастообразного препарата азотфиксирующих бактерий / Саданов А.К., Айткельдиева С.А., Гаврилова Н.Н., Ратникова И.А., Шорабаев Е.Ж. – Бюл. №12 от 15.12.2010.
- [15] Патент РК №23471. Способ получения сухого препарата азотфиксирующих бактерий / Саданов А.К., Айткельдиева С.А., Гаврилова Н.Н., Ратникова И.А., Шорабаев Е.Ж. – Бюл. №12 от 15.12.2010.

REFERENCES

- [1] On materials of site: biotechnology.ru. Production technology of bacterial fertilizers on basis of nodule bacteria. (in Russ.).
- [2] The RF Patent № 2487932. A strain of Bradyrhizobium japonicum 859 nodule bacteria to produce fertilizer for soybeans. Chebotar V.K., Erofeev S.V., publ. 20.07.2013 (in Russ.).
- [3] The SU 1446132 patent. Rhizobium leguminosarum nodule bacteria strain to produce bacterial fertilizers for lentils. Arkhipov V.S., Voluzneva T.A., Kozhemyakov A.P., publ. 23.12.1988. (in Russ.).
- [4] Technological rules of manufacturing of biological products of series "Rizovit-AX". Almaty: RSE "IIR" CS MES RK, 2014. 38 p. (in Russ.).
- [5] On materials of a site: bibliofond.ru Getting bacterial fertilizers for agriculture. (in Russ.).
- [6] 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.).
- [7] Laktionov Ju.V., Popova T.A., Andreev O.A., Ibatullina R.P., Kozhemjakov A.P. The creation of a stable form of growth stimulating microbial products and their efficiency. Agricultural microbiology, 2011, 3, p. 116-118. (in Russ.).
- [8] On materials of a site: AgroXXI.ru Bacterial fertilizers for legumes, 24 .10.2012. (in Russ.).
- [9] On materials of a site miragro.com. Biotechnology in the fields of Ukraine, publ. 18.11. 2012. (in Russ.).
- [10] Shhegol'kov A.V., Mahonin V.L. Evaluation of inoculum in the cultivation of soya in the rice crop rotations in the Krasnodar region. VI International Conference of young scientists and specialists, *VNIIMK*, 2011. (in Russ.).
- [11] On materials of a site agroliga.ru. Legumes new approaches to the technology of cultivation and mineral nutrition, 23.01.2014. (in Russ.).
- [12] RK Patent № 17633. Method of obtaining of nitrogen-fixing bacteria drug "Nitragin" (paste). Kerimzhanova B.F., Matchin A.N., Romanova L.A., Cheremisova T.G., Kenzhebayev V.E., publ. 11.08.2006. (in Russ.).
- [13] RK Patent № 17633. Method of obtaining of dry nitrogen-fixing bacteria drug "Nitragin". Kerimzhanova B.F., Matchin A.N., Romanova L.A., Cheremisova T.G., Kenzhebayev V.E., publ. 11.08.2006. (in Russ.).
- [14] RK Patent № 23470. Method of obtaining of pastelike preparation of nitrogen-fixing bacteria. Sadanov A.K., Aitkeldiyeva S.A., Gavrilova N.N., Shorabayev E.Zh., Ratnikova I.A., Bul. N12, 15.12.2010. (in Russ.).
- [15] RK Patent № 23470. Method of obtaining of dry drug of nitrogen-fixing bacteria. Sadanov A.K., Aitkeldiyeva S.A., Gavrilova N.N., Shorabayev E.Zh., Ratnikova I.A., Bul. N12, 15.12.2010. (in Russ.).

**ТҮЙНЕК БАКТЕРИЯЛАРЫ НЕГІЗІНДЕ
ДАЙЫНДАЛАТЫН БИОПРЕПАРАТТАР ӨНДІРІСІНІҢ ТЕХНОЛОГИЯСЫ**

Н. Н. Гаврилова¹, А. К. Саданов¹, Т. Н. Даданова², И. А. Ратникова¹

¹ҚР БҒМ ҒК «Микробиология және вирусология институты» РМК, Алматы, Қазақстан

²«Парасат» АҚ, Астана, Қазақстан

Тірек сөздер: түйнек бактериялары, қоректік орта, препарат түрлері, өндіріс технологиясы.

Аннотация. Қазіргі кезде, түйнек бактериялар негізінде дайындалатын, орта есеппен бактериялар титрі 10^8 – 10^9 КОЕ/г тең болатын формалары әртүрлі; құрғақ, сұйық және паста күйіндегі препараттардың өндірістері белгілі: Ең көп тарағаны торфтық биопрепараттар. Дайындау мен қолдану технологияларының жеңілдігіне байланысты сұйық препараттар да кеңінен тарала бастады. Дайындау барысында табиғи абсорбенттерді пайдалануына байланысты паста күйіндегі препараттардың болашағы зор болып табылады.

Поступила 27.02.2015 г.

Правила оформления статьи для публикации в журнале смотреть на сайте:

[www:nauka-nanrk.kz](http://www.nauka-nanrk.kz)

biological-medical.kz

Редактор *М. С. Ахметова*
Верстка на компьютере *Д. Н. Калкабековой*

Подписано в печать 15.02.2015.
Формат 60x881/8. Бумага офсетная. Печать – ризограф.
9,2 п.л. Тираж 300. Заказ 1.