

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**

4 (310)

ШІЛДЕ – ТАМЫЗ 2015 ж.

ИЮЛЬ – АВГУСТ 2015 г.

JULY – AUGUST 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 4, Number 310 (2015), 108 – 114

**EFFECT OF CARRYING AGENTS IN THE “RIZOVIT-AKS”
FORMULATIONS ON THE VIABILITY AND NITROGEN-FIXING
ACTIVITY OF CHICKPEA ROOT NODULE BACTERIA
MESORHIZOBIUMCICER U-20 DURING STORAGE**

**A. K. Sadanov¹, U. R. Idrisova², T. B. Musaldinov², D. Zh. Idrisova²,
S. A. Aytgeldieva¹, M. S. Kudaibergenov³, S. A. Didorenko³**

¹RSOE “Institute of Microbiology and Virology”, CS MES RK, Almaty, Kazakhstan,

²“Taza Su” LLP, Almaty, Kazakhstan,

³JSC “Kazakh Research Institute of Agriculture and Plant Growing”, Ministry of Agriculture RK,
Almalybak village, Kazakhstan.

E-mail: imv_rk@list.ru, taza-su@mail.ru, svetl_did@mail.ru

Key words: nitrogen-fixing activity, cell viability, root nodule bacteria, zeolite, bentonite, *Mesorhizobiumcicer*.

Abstract. Numerous studies have found that biological nitrogen fixation from the air by root nodule bacteria is the alternative to the mineral nitrogen in nutrition of the leguminous plants that are able to assimilate molecular nitrogen. Nitrogen cycle is one of the indicators of the soil fertility level. Nitrogen-fixing microorganisms enrich the soil with nitrogen and other organic compounds, making them available for assimilation by plants, improve soil structure and fertility. Therefore, currently maintaining a high level of soil fertility through the use of organic farming is a priority direction in agriculture of Kazakhstan.

This work presents a new paste-like biological preparation “Rizovit-AKS” prepared on the basis of bentonite and zeolite as adsorbents and indigenous strains of root nodule bacteria. The application efficiency of bentonite and zeolite as carrier agents (adsorbents) and their effects on cell viability and nitrogen-fixing activity of the chickpea root nodule bacteria *Mesorhizobiumcicer* U-20 during the storage have been studied. It was found that the most optimal conditions for chickpea cell viability during storage (12 weeks) are supported in the variant 3 - zeolite + culture fluid (5:1), the cell content was of $4.9 \cdot 10^4$ KOE/g, level of nitrogenase activity of the root nodule bacteria over the storage period was the highest and came up to 5.6 nmolC₂H₄/h.

The application efficiency of this biological preparation is high. This is due to the fact that the strains of nodule bacteria are adapted to local soil conditions and local varieties of leguminous crops.

УДК 579.66:631.461.5

**ВЛИЯНИЕ НОСИТЕЛЕЙ В ПРЕПАРАТИВНЫХ ФОРМАХ
«РИЗОВИТ-АКС» НА ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ
И АЗОТФИКСИРУЮЩУЮ АКТИВНОСТЬ
КЛУБЕНЬКОВЫХ БАКТЕРИЙ НУТА
MESORHIZOBIUMCICER Ю-20 ПРИ ХРАНЕНИИ**

**А. К. Саданов¹, У. Р. Идрисова², Т. Б. Мусалдинов², Д. Ж. Идрисова²,
С. А. Айткельдиева¹, М. С. Кудайбергенов³, С. А. Дидоренко³**

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

²ТОО «Таза Су», Алматы, Казахстан,

³ТОО «Казахский научно-исследовательский институт земледелия и растениеводства» МСХ РК,
с. Алмалыбак, Казахстан

Ключевые слова: азотфиксирующая активность, жизнеспособность клеток, клубеньковые бактерии, цеолит, бентонит, *Mesorhizobiumcicer*.

Аннотация. Многочисленными исследованиями установлено, что альтернативным по отношению к минеральному азоту в питании бобовых растений является биологическая фиксация азота из воздуха клубеньковыми бактериями, способными усваивать молекулярный азот. Одним из показателей уровня плодородия почвы является круговорот N. Азотфиксирующие микроорганизмы обогащая почву азотом и другими органическими соединениями, делают их доступными для усвоения растениями, улучшают структуру и повышают плодородие почв. Поэтому в настоящее время в сельском хозяйстве Казахстана приоритетным направлением является сохранение высокого уровня плодородия почв на основе использования органического земледелия.

В работе представлен новый пастообразный биопрепарат «Ризовит-АКС», полученного на основе адсорбентов бентонита, цеолита и аборигенных штаммов клубеньковых бактерий. Изучена эффективность применения носителей цеолита и бентонита в качестве носителя (адсорбента) и их влияния на жизнеспособность клеток и азотфиксирующую активность клубеньковых бактерий нута *Mesorhizobium cicer* Ю-20 при хранении. Установлено, что наиболее оптимальные условия для жизнеспособности клеток нута при хранении (12 недель) обеспечиваются в варианте 3 – цеолит + культуральная жидкость (соотношение 5:1), содержание клеток $4,9 \cdot 10^4$ КОЕ/г, также уровень нитрогеназной активности клубеньковых бактерий за период хранения был наиболее высокой – $5,6$ нмоль $C_2H_4/ч$.

Эффективность применения данного биопрепарата является высоким. Это связано с тем, что штаммы клубеньковых бактерий адаптированы к местным почвенным условиям и местным сортам бобовых культур.

В настоящее время в сельском хозяйстве Казахстана приоритетным направлением является сохранение высокого уровня плодородия почв. Одним из показателей уровня плодородия почвы является круговорот N. Многочисленными исследованиями установлено, что альтернативным по отношению к минеральному азоту в питании культурных растений является биологическая фиксация азота из воздуха клубеньковыми бактериями, способными усваивать молекулярный азот и делать доступным для усвоения органических соединений растениям. При симбиозе бобовых культур с клубеньковыми бактериями обеспечивается высокий уровень продуктивности почв. Ризобияльные микроорганизмы обогащая питательными веществами почву, улучшают его структуру, повышают плодородие, способствуют более полному использованию удобрений растениями и рентабельности ведения органического земледелия [1-3].

Одним из путей увеличения эффективности бобово-ризобияльного взаимодействия является использование микробных препаратов на основе активных клубеньковых бактерий. Азотфиксирующая активность клубеньковых бактерий бобовых культур меняется в зависимости от физиологического состояния растения-хозяина, от его прохождения, и фаз развития в течение вегетации. Это объясняется тем, что в разные фазы развития растения не могут выделять необходимое количество энергетического материала, которое необходимо для прохождения азотфиксации. Фиксация азота атмосферы достигает своего максимума в начале фазы полной бутонизации растений и фазы цветения. В этих фазах отмечаются максимальные поступления продуктов фотосинтеза в корневые клубеньки, когда растениям необходимо больше всего азота.

В настоящее время наибольшее распространение в сельском хозяйстве в странах дальнего и ближнего зарубежья получило применение таких бактериальных удобрений, как ризоторфин, азотобактерин, фосфобактерин. Эффективность применения этих биопрепаратов является невысокой. Это связано с тем, что импортные биопрепараты слабо адаптированы к местным почвенным условиям и местным сортам бобовых культур. В Институте микробиологии и вирусологии КН МОН РК разрабатываются новые биопрепараты серии «Ризовит-АКС», полученные на основе аборигенных эффективных штаммов клубеньковых бактерий. Для обеспечения их производства необходимо исследование эффективности разных форм биопрепаратов, в том числе пастообразных образцов на основе адсорбентов.

Важным этапом в разработке новых форм биопрепаратов является подбор адсорбента и исследование его влияния на жизнеспособность бактерий. К настоящему времени накоплен значительный опыт по использованию природных цеолитов в качестве удобрений и мелиорантов в сельском хозяйстве [4-6]. Они являются ценными органоминеральными удобрениями и стимуляторами роста растений и микроорганизмов. Природные цеолиты могут быть использованы в сельском хозяйстве самостоятельно, как удобрения – мелиоранты, и в сочетании с другими препаратами. Особенно перспективным является применение природного цеолита, обладающего высокими адсорбционными свойствами и способностью удерживать влагу, а также повышающим

биологическую активность микроорганизмов, пищевой режим пахотных почв и урожайность сельскохозяйственных культур. Применение подобных природных сорбентов в качестве носителя позволяет повысить количество микробных клеток при обработке семян и улучшить микроструктуру почвы, что также способствует улучшению жизнедеятельности симбиотических микроорганизмов. При этом значительно сокращается расход дорогостоящих удобрений и химических мелиорантов, используемых для повышения продуктивности растений и плодородия почв. Цеолиты и их модификации имеют сложную пространственную структуру и, обладая адсорбционными свойствами, могут стать основой для иммобилизации полезных микроорганизмов [7-9]. Установлена сорбционная активность природных цеолитов Холинского месторождения в России. Адсорбция клеток *Bacillus cereus* на поверхности природных цеолитов происходит за счет белковых капсул. Средняя степень адсорбции клеток *Bacillus cereus* на цеолитах составила 86%. Определены оптимальные условия иммобилизации и сохранения деструктивной активности клеток *B. cereus* по отношению к 2,4-дихлорфенолу [10].

Как известно, срок годности коммерческих биопрепаратов обычно не превышает трех месяцев. Носители, как основные компоненты биопрепаратов, могут оказывать влияние на выживаемость клеток клубеньковых бактерий при хранении. Поэтому исследование жизнеспособности клубеньковых бактерий на разных носителях при разработке новых биопрепаратов является актуальной.

Цель исследований – изучение влияния носителей в препаративных формах препарата «Ризовит-АКС» на жизнеспособность и азотфиксирующую активность клубеньковых бактерий нута *Mesorhizobium cicer* Ю-20 при хранении.

Материалы и методы

Объектами исследований являлись клубеньковые бактерии нута: *Mesorhizobium cicer* Ю-20, цеолит и бентонит. В качестве носителя - адсорбента использовали природный цеолит (ПЦ) Чанканайского месторождения и бентонит кормовой (ТУ 2164-016-41219638-2013, ОАО «Бентонит» Россия).

Культуру клубеньковых бактерий нута инкубировали на агаровой среде Мазэ в течение 24 ч при температуре 28°C. Количество посевного материала, использованного для инокулирования в питательную среду, составляло 10% (суспензия спор 10⁸/мл).

Клубеньковые бактерии нута *Mesorhizobium cicer* Ю-20 выращивали на жидкой оптимизированной питательной среде следующего состава, г/л: КН₂РO₄ - 1,0; MgSO₄ - 0,3; сахароза - 2,0; бобовый отвар (горох) - 50,0 мл; рН 6,8 - 7,0. Культивирование клеток для получения биомассы клубеньковых бактерий проводили на жидких средах в колбах Эрленмейера вместимостью 750 мл в объеме среды 200 мл на орбитальном ротационном шейкере (180-200 об/мин) при температуре 28°C в течение 48-72 ч.

Для получения пастообразных препаратов серии «Ризовит-АКС» в культуральную жидкость, полученную после ферментации, добавляли 3% растворенного в питьевой воде бентонита, смесь перемешивали и оставляли в прохладном месте на 3 часа. Надосадочную жидкость, составляющую 2/3 всего объема, декантировали, а осадок центрифугировали при 3000 об/мин в течение 30 мин, получали биомассу бактерий, адсорбированную на бентоните. В надосадочную жидкость добавляли бентонит (соотношение бентонита и жидкости 1:1), хорошо перемешивали и оставляли на 1,5-2 ч для набухания. В подготовленный таким образом бентонит добавляли расчетное количество биомассы клубеньковых бактерий с титром не менее 10⁹ КОЕ/г и перемешивали на механической мешалке. Затем препараты фасовали в полиэтиленовые пакеты, герметизировали и закладывали на хранение при температуре 4-8°C. Эффективность действия концентраций цеолита оценивали по величине титра клеток (КОЕ/г). Титр бактерий в исходном препарате и в период хранения определяли путем высева из соответствующих разведений на плотную питательную среду Мазэ. Опыт проводили в четырехкратной повторности.

Для получения опытных препаративных форм клубеньковых бактерий нута разработаны следующие соотношения носителя с культуральной жидкостью (КЖ): 1 вариант – кормовой бентонит + культуральная жидкость (соотношение 5:1); 2 вариант – кормовой бентонит + цеолит + культуральная жидкость (соотношение 5:5:2); 3 вариант – цеолит + культуральная жидкость

(соотношение 5:1). Статическую обработку результатов исследований проводили по стандартной методике с использованием критерия Стьюдента для уровня значимости $p < 0,05$.

Азотфиксирующую (нитрогеназную) активность штаммов клубеньковых бактерий нута изучали ацетиленовым методом [11]. Для накопления биомассы клубеньковые бактерии инкубировали в оптимизированной питательной среде следующего состава (г/л): K_2HPO_4 - 1,0; MgSO_4 - 0,3; сахара - 6,0; бобовый отвар (горох) - 50,0; pH 7,0. Микроорганизмы выращивали в закрытых ватными пробками флаконах. Для инициации роста добавляли минимальное количество источника связанного азота (0,0001-0,005% дрожжевого экстракта). В конце инкубационного периода ватную пробку заменяли стерильной резиновой пробкой. Газообразный ацетилен собирали в вытяжном шкафу следующим образом. В пробирку, наполовину заполненную 15 мл воды, добавляли небольшое количество (около 1 г) карбида кальция. Пробирку закрывали пробкой с отверстием, через которое она с помощью резиновой трубки соединялась с химическим стаканом с водой. Ацетилен вводили в сосуд с культурой через резиновую пробку до концентрации 10% (по объему). Через различные промежутки времени инкубации отбирали пробы газа по 1 мл из сосуда с культурой и проверяли наличие этилена методом газовой хроматографии. Азотфиксирующую активность определяли по восстановлению ацетилена в этилен методом газовой хроматографии на хроматографе марки «Хром-3» на колонке с силикагелем АСК при температуре 50°C. Величину нитрогеназной активности выражали в нмоль $\text{C}_2\text{H}_4/\text{ч}/1$ млн. штаммов клубеньковых бактерий.

Результаты исследования

Исследована сохранность жизнеспособности клубеньковых бактерий в пастообразных препаратах, приготовленных на основе носителей в комбинации цеолит и бентонит. Экспериментальные данные показали, что жизнеспособность клеток клубеньковых бактерий нута *Mesorhizobium cicer* Ю-20 значительно зависит от типа адсорбента (таблица 1). Из приведенных данных видно, что не во всех вариантах опыта отмечается одинаковое снижение количества жизнеспособных клеток с увеличением срока хранения. Субстраты-носители для клубеньковых бактерий нута во всех вариантах опыта почти одинаково положительно влияют на выживаемость клеток только до 5-ой недели хранения и сохраняют жизнеспособность на уровне исходного титра клеток (108 КОЕ/г). С увеличением срока хранения вариант 1 – кормовой бентонит + культуральная жидкость (соотношение 5:1) и вариант 2 – бентонит + цеолит + культуральная жидкость (соотношение

Таблица 1 – Сохранение жизнеспособности клеток клубеньковых бактерий нута *Mesorhizobium cicer* Ю-20 на разных адсорбентах при хранении.

Срок хранения биопрепарата	Жизнеспособность клеток, КОЕ/г		
	вариант 1	вариант 2	вариант 3
1 неделя	$8,4 \cdot 10^8$	$8,1 \cdot 10^8$	$9,0 \cdot 10^8$
2 неделя	$6,3 \cdot 10^8$	$7,2 \cdot 10^8$	$6,4 \cdot 10^8$
3 неделя	$4,7 \cdot 10^8$	$5,7 \cdot 10^8$	$2,9 \cdot 10^8$
4 неделя	$3,1 \cdot 10^8$	$2,5 \cdot 10^8$	$2,3 \cdot 10^8$
5 неделя	$2,9 \cdot 10^8$	$1,3 \cdot 10^8$	$1,9 \cdot 10^8$
6 неделя	$2,7 \cdot 10^8$	$9,4 \cdot 10^7$	$1,4 \cdot 10^8$
7 неделя	$5,0 \cdot 10^6$	$6,0 \cdot 10^6$	$1,3 \cdot 10^7$
8 неделя	$2,3 \cdot 10^6$	$1,4 \cdot 10^6$	$6,4 \cdot 10^6$
9 неделя	$7,4 \cdot 10^5$	$9,5 \cdot 10^5$	$4,2 \cdot 10^5$
10 неделя	$4,7 \cdot 10^5$	$7,2 \cdot 10^5$	$1,1 \cdot 10^5$
11 неделя	$1,7 \cdot 10^4$	$2,5 \cdot 10^5$	$7,0 \cdot 10^4$
12 неделя	$2,9 \cdot 10^3$	$2,0 \cdot 10^3$	$4,9 \cdot 10^4$

Примечание: вариант 1 – кормовой бентонит + культуральная жидкость (соотношение 5:1); вариант 2 – кормовой бентонит + цеолит + культуральная жидкость (соотношение 5:5:2); вариант 3 – цеолит + культуральная жидкость (соотношение 5:1).

5:5:2) титры жизнеспособных клеток клубеньковых бактерий на 7-ой неделе хранения были низкими и составили – $5,0 \cdot 10^6$ и $6,0 \cdot 10^6$ КОЕ/г, соответственно. Тогда как наиболее оптимальные условия для жизнеспособности клеток отмечаются в варианте 3 – цеолит + культуральная жидкость (соотношение 5:1), где титр клеток на 7-ой неделе хранения составил $1,3 \cdot 10^7$ КОЕ/г.

Дальнейшие наблюдения показали, что по истечении срока хранения (12 недель) в разных формах биопрепаратов в опытных вариантах: вариант 1 – кормовой бентонит + культуральная жидкость (соотношение 5:1) и вариант 2 – кормовой бентонит + цеолит + культуральная жидкость (соотношение 5:5:2) жизнеспособные клетки клубеньковых бактерий за период хранения были с низкими титрами $2,9 \cdot 10^3$ и $2,0 \cdot 10^3$, соответственно, а в варианте 3 – комбинация цеолита с культуральной жидкостью (соотношение 5:1) отмечено лучшее сохранение жизнеспособности клубеньковых бактерий, где титр составил $4,9 \cdot 10^4$ КОЕ/г. Эффективность использования цеолита при хранении биопрепарата для нута выше на 6,0% по сравнению с использованием бентонита и на 11,0% – с использованием их сочетания.

Таким образом, использование местного сырья в качестве адсорбента – носителя агроруды – цеолита Чанканайского месторождения в комплексе с кормовым бентонитом, сохраняет производственно-ценные свойства биопрепаратов (жизнеспособность и нитрогеназную активность клубеньковых бактерий) при хранении. Эффект цеолита, как источника минерального питания, проявляется лучше, чем эффект бентонита. Стимуляция роста клеток ризобий, возможно, происходит за счет биогенных микроэлементов, находящихся в составе данного природного минерала.

Нитрогеназная активность является важным производственно-ценным показателем эффективности клубеньковых бактерий. При разработке новых форм биопрепаратов исследование этого свойства является важной и необходимой практической задачей, так как новые адсорбенты могут оказывать существенное влияние на величину нитрогеназной активности. Полученные данные приведены в таблице 2.

Из приведенных данных таблицы 2 видно, что не во всех вариантах опыта за 12 недель хранения наблюдается одинаковое снижение нитрогеназной активности клубеньковых бактерий нута *Mesorhizobiumcicer* Ю-20 на разных носителях адсорбентах.

Таблица 2 – Нитрогеназная активность клубеньковых бактерий нута *Mesorhizobiumcicer* Ю-20 при хранении на разных адсорбентах

Адсорбенты	Нитрогеназная активность, нмоль $C_2H_4/ч$	
	исходная активность	после 12 недель хранения
Вариант 1 – кормовой бентонит + культуральная жидкость (соотношение 5:1)	14,4	4,0
Вариант 2 – кормовой бентонит + цеолит + культуральная жидкость (соотношение 5:5:2)		4,7
Вариант 3 – цеолит + культуральная жидкость (соотношение 5:1)		5,6

Так, по сравнению с исходными данными (14,4 нмоль $C_2H_4/ч$), в опытных вариантах: вариант 1 – кормовой бентонит + культуральная жидкость (соотношение 5:1) и вариант 2 – кормовой бентонит + цеолит + культуральная жидкость (соотношение 5:5:2) снизилась до 4,0 нмоль $C_2H_4/ч$ и 4,7 нмоль $C_2H_4/ч$, соответственно. Тогда как наиболее высокой уровень нитрогеназной активности 5,6 нмоль $C_2H_4/ч$ по сравнению с исходными данными (14,4 нмоль $C_2H_4/ч$) установлено в варианте 3 – цеолит + культуральная жидкость (соотношение 5:1).

Таким образом, исследование жизнеспособности клеток и азотфиксирующей активности разработанных препаративных форм клубеньковых бактерий нута *Mesorhizobiumcicer* Ю-20 для препарата серии «Ризовит-АКС» при хранении показало высокую эффективность применения минерала цеолита в качестве носителя (сорбента) по иммобилизации клеток бактерий нута. Установлено, что наиболее оптимальные условия для жизнеспособности клеток нута *Mesorhizobiumcicer* Ю-20 при хранении обеспечиваются в варианте 3 – цеолит + культуральная жидкость (соотношение 5:1), содержание клеток $4,9 \cdot 10^4$ КОЕ/г (12 недель), уровень нитрогеназной активности за период хранения наиболее высокий 5,6 нмоль $C_2H_4/ч$.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] Мишустин Е.Н., Петербургский А.В. «Биологический» азот в сельском хозяйстве. Биологический азот и его роль в земледелии. – М., 1967. – С. 5-13.
- [2] Чмиль Т.И., Чуркина Г.Н. Азотфиксирующая активность бобовых растений – источник восполнения азота почвы // Состояние и перспективы развития почвоведения. – Алматы, 2005. – С. 106-107.
- [3] Рамазанова С.Б., Сулейменов Е.Т., Баймаганова Г.Ш., Ташкенова Е.В. Эффективные способы внесения минеральных удобрений под сою на юге-востоке Казахстана // Матер. междунар. науч.-практ. конф. «Перспективы технологии возделывания масличных, зернобобовых культур и регулирование плодородия почвы». – Алматы, 2013. – С. 228-234.
- [4] Лобода Б.П. Применение цеолитсодержащего минерального сырья в растениеводстве // Агрохимия. – 2000. – №6. – С. 71-78.
- [5] Цыганок С.И. Действие минеральных удобрений, извести и цеолитов на продуктивность и питательную ценность зеленой массы кукурузы и их энергетическая эффективность на выщелоченном черноземе // Вопросы известкования почв. – М.: ВИУА "Агрокансалт", 2002. – С. 218-220.
- [6] Мухаметдинова Г.А., Исламгулова Г.Е., Суюндукова М.Б. Мелиоративная эффективность органических удобрений и цеолита в степном Зауралье // Башкирский экологический вестник. – 2008. – № 1(19). – С. 11-14.
- [7] Жубанова А.А., Шигаева М.Х. Имобилизованные клетки микроорганизмов // Биотехнология. Теория и практика. – 1999. – № 2. – С. 3-11.
- [8] Туякбаева А.С. Нефтеокисляющая активность иммобилизованных клеток микроорганизмов: автореф. ... канд. биол. наук: 03.00.07. – Астана: Атамұра, 2010. – 22 с.
- [9] Саданов А.К., Айткельдиева С.А., Файзулина Э.Р. Биотрансформация нефти в почвенной экосистеме. – Алматы. – 2010. – 172 с.
- [10] Центр И.М. Деградация 2,4-дихлорфенола иммобилизованными и суспензированными клетками *Bacillus cereus*: автореф. канд. тех. наук: 03.00.23. – Улан-Удэ, 2007. – 19 с.
- [11] Методические указания по использованию ацетиленового метода при селекции бобовых культур на повышение симбиотической азотфиксации: утв. Всесоюз. науч.-исслед. ин-т с.-х. микробиол. – Ленинград, 1982. – 10 с.

REFERENCES

- [1] Mishustin E.N., Peterburgskij A.V. "Biological" nitrogen in agriculture. Biological nitrogen and its role in agriculture. Moscow, 1967, p. 5-13. (in Russ.).
- [2] Chmil' T.I., Churkina G.N. Nitrogen-fixing legumes Activity - source replenish soil nitrogen. Status and prospects of development of Soil Science, Almaty, 2005, p. 106-107. (in Russ.).
- [3] Ramazanova S.B., Sulejmenov E.T., Bajmaganova G.Sh., Tashkenova E.V. Effective methods of mineral fertilizers for soya in the south-east of Kazakhstan // Proceed. Intern. scientific and practical. Conf. "Perspectives of technology of cultivation of oilseeds, legumes and soil fertility regulation", Almaty, 2013, p. 228-234. (in Russ.).
- [4] Loboda B.P. Application of zeolite minerals in plant. Agrochemistry, 2000, 6, p. 71-78. (in Russ.).
- [5] Cyganok S.I. Action fertilizer, lime and zeolite on the productivity and nutritional value of green mass of corn and energy efficiency on a leached chernozem. Questions of liming, M.: VIUA. "Agrokonsalt", 2002, p. 218-220. (in Russ.).
- [6] Muhametdinova G.A., Islamgulova G.E., Sujundukova M.B. Reclamation efficiency of organic fertilizers and zeolite in the steppe Trans-Urals. Bashkir Ecological Gazette, 2008, 1(19), p. 11-14. (in Russ.).
- [7] Zhubanova A.A., Shigaeva M.H. Immobilized microbial cells. Biotechnology. Theory and practice, 1999, 2, p. 3-11. (in Russ.).
- [8] Tujakbaeva A.S. Oxidizing activity of the immobilized microbial cells: Author. ... Cand. biol. sciences: 03.00.07. Astana: Atamura, 2010, 22 p. (in Russ.).
- [9] Sadanov A.K., Ajtkel'dieva S.A., Fajzulina Je.R. The biotransformation of oil in the soil ecosystem. Almaty, 2010, 172 p. (in Russ.).
- [10] Center I.M. The degradation of 2,4-dichlorophenol and immobilized cells suspended *Bacillus cereus*: Author. cand. eng. sciences: 03.Q0.23. Ulan-Udje: 2007, 19 p. (in Russ.).
- [11] Guidelines for the use of acetylene method for selection of legumes to improve the symbiotic nitrogen fixation: approved. All-Union. nauch.-research. Inst agricultural microbiology, Leningrad, 1982, 10 p. (in Russ.).

**MESORHIZOBIUMCICER Ю-20 САҚТАУ КЕЗІНДЕ
НОҚАТТЫҢ ТҮЙНЕКТІ БАКТЕРИЯСЫ КЛЕТКАЛАРЫНЫҢ ТІРШІЛІК ЕТУ
ҚАБІЛЕТТІЛІГІНЕ ЖӘНЕ АЗОТФИКСАЦИЯЛАУ БЕЛСЕНДІЛІГІНЕ
«РИЗОВИТ-АКС» ПРЕПАРАТИВТІ ТҮРЛЕРІНЕ ТАСЫМАЛДАУШЫЛАРДЫҢ ӘСЕРІ**

**А. К. Саданов¹, У. Р. Идрисова², Т. Б. Мусалдинов², Д. Ж. Идрисова²,
С. А. Айткельдиева¹, М. С. Кудайбергенов³, С. А. Дидоренко³**

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

²«Таза Су» ЖСШ, Алматы, Қазақстан,

³ҚР АШМ «Қазақ егіншілік және өсімдік шаруашылығы ғылыми зерттеу институты» ЖСШ,
Алмалыбақ а., Қазақстан

Тірек сөздер: Азотфиксациялаушы белсенділік, клетканың тіршілік ету қабілеті, түйнек бактериялар, цеолит, бентонит, *Mesorhizobium cicer*.

Аннотация. Молекулярлы азоты меңгеруге қабілеттілігі және түйнек бактерияларының ауадан биологиялық азот фиксациясын тұқым бұршақтас өсімдіктердің қоректенуінде балама негіз болатындығы көптеген зерттеулерде анықталынған. Топырақты азотпен және басқа да органикалық қосындылармен байытатын және де оларды өсімдіктер жеңіл сіңіретін, топырақтың құнарлығын және құрылысын N. Азотфиксациялайтын микроағзалар топырақтың құнарлығының деңгейін жақсартады. Органикалық егіншілікті негіз ретінде қолдана отырып топырақтың жоғары құнарлығын сақтау Қазақстандағы ауыл шаруашылығында қазіргі уақытта басымды бағыт болып саналады.

Аборигенді түйнек бактерияларының штамдары және цеолит, бентонит адсорбенттері негізінде осы жұмыста жаңа паста тәріздес «Ризовит-АКС» биопрепараттары алынып отыр.

Ноқаттың *Mesorhizobiumcicer* Ю-20 сақтау кезінде түйнек бактериясы клеткаларының тіршілік ету қабілетіне және азотфиксациялау белсенділігіне биопрепараттар құрамындағы «Ризовит-АКС» топтамасының адсорбенті (тасымалдаушы) ретінде цеолит пен бентонитті қолданудың тиімділігі және олардың әсері зерттелді. Ноқат клеткаларының тіршілік ету қабілеті үшін сақтау кезінде (12 апта) қолайлы жағдай 3 нұсқада – цеолит + культуралы сұйықтық (5:1 қатынасында) клетка құрамы $4,9 \cdot 10^4$ КОЕ/г қамтамасыз етілді, сонымен қатар сақтау кезінде түйнек бактериясының нитрогеназды белсенділігінің деңгейі 5,6 нмоль $C_2H_4/сағ.$ өте жоғары болғаны анықталды.

Биопрепараттың қолдану тиімділігі жоғары болып отыр. Яғни ол, түйнек бактерияларының штамдары жергілікті топырақ жағдайларына және жергілікті бұршақ тұқымдас дақыл сұрыптарына бейімделген.

Поступила 31.07.2015 г.

Publication Ethics and Publication Malpractice in the journals of the National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan

For information on Ethics in publishing and Ethical guidelines for journal publication see <http://www.elsevier.com/publishingethics> and <http://www.elsevier.com/journal-authors/ethics>.

Submission of an article to the National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan implies that the described work has not been published previously (except in the form of an abstract or as part of a published lecture or academic thesis or as an electronic preprint, see <http://www.elsevier.com/postingpolicy>), that it is not under consideration for publication elsewhere, that its publication is approved by all authors and tacitly or explicitly by the responsible authorities where the work was carried out, and that, if accepted, it will not be published elsewhere in the same form, in English or in any other language, including electronically without the written consent of the copyright-holder. In particular, translations into English of papers already published in another language are not accepted.

No other forms of scientific misconduct are allowed, such as plagiarism, falsification, fraudulent data, incorrect interpretation of other works, incorrect citations, etc. The National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan follows the Code of Conduct of the Committee on Publication Ethics (COPE), and follows the COPE Flowcharts for Resolving Cases of Suspected Misconduct (http://publicationethics.org/files/u2/New_Code.pdf). To verify originality, your article may be checked by the Cross Check originality detection service <http://www.elsevier.com/editors/plagdetect>.

The authors are obliged to participate in peer review process and be ready to provide corrections, clarifications, retractions and apologies when needed. All authors of a paper should have significantly contributed to the research.

The reviewers should provide objective judgments and should point out relevant published works which are not yet cited. Reviewed articles should be treated confidentially. The reviewers will be chosen in such a way that there is no conflict of interests with respect to the research, the authors and/or the research funders.

The editors have complete responsibility and authority to reject or accept a paper, and they will only accept a paper when reasonably certain. They will preserve anonymity of reviewers and promote publication of corrections, clarifications, retractions and apologies when needed. The acceptance of a paper automatically implies the copyright transfer to the National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan.

The Editorial Board of the National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan will monitor and safeguard publishing ethics.

Правила оформления статьи для публикации в журнале смотреть на сайте:

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

<http://www.biological-medical.kz/index.php/ru/>

Редактор *М. С. Ахметова*

Верстка на компьютере *Д. Н. Калкабековой*

Подписано в печать 04.07.2015.

Формат 60x881/8. Бумага офсетная. Печать – ризограф.

10,0 п.л. Тираж 300. Заказ 4.