

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), 115 – 120

**SELECTION OF OPTIMAL CULTURE CONDITIONS
FOR THE LENTIL NODULE BACTERIA
RHIZOBIUM LEGUMINOSARUM STRAIN B-1****A. K. Sadanov, G. D. Ultanbekova, A. A. Nysanbaeva, L. P. Trenozhnikova**

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

E-mail: ultanbekova77@mail.ru

Key words: symbiotic nodule bacteria, biological, biomass.

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

УДК 631.461 632.937.15 579.64 (476)

**ПОДБОР ОПТИМАЛЬНЫХ УСЛОВИЙ
КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ШТАММА КЛУБЕНЬКОВЫХ БАКТЕРИЙ
ЧЕЧЕВИЦЫ *RHIZOBIUM LEGUMINOSARUM* Б-1****А. К. Саданов, Г. Д. Ултанбекова, А. А. Нысанбаева, Л. П. Треножникова**

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

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

Аннотация. Для подбора оптимальных условий роста и накопления биомассы культивирование штаммов клубеньковых бактерий проводили на 10 жидких средах: среде с 3% кукурузным экстрактом, Исварана, Лазарева, с бобовым отваром, Грэхема, Фреда, Норриса, MPC, Мазэ, минимальной среде. Подобрана оптимальная питательная среда для роста и накопления биомассы штамма клубеньковых бактерий *Rhizobium leguminosarum* Б-1. Наиболее высокий титр клеток наблюдался при использовании в качестве источника углерода сахарозы в концентрации 8,0 г/л. Источники углерода оказывали большое влияние на накопление биомассы штамма *Rhizobium leguminosarum* Б-1. Глюкоза обеспечивает максимальный титр клеток ($3,5 \cdot 10^9$ КОЕ/мл) в концентрации 4,0 г/л, глицерин ($1,8 \cdot 10^9$ КОЕ/мл) в концентрации 10,0 г/л. Все изученные соли ингибировали рост штамма *Rhizobium leguminosarum* Б-1. Разработан оптимальный вариант модифицированной среды с бобовым отваром для роста и максимального накопления биомассы штамма клубеньковых бактерий чечевицы *Rhizobium leguminosarum* Б-1, титр клеток на которой составляет $6,2 \cdot 10^9$ КОЕ/мл. Изучение влияния условий культивирования штаммов клубеньковых бактерий чечевицы *Rhizobium leguminosarum* Б-1 показало, что наиболее оптимальными для их роста и накопления биомассы являются температура 27 ± 1 °C и pH 7,0.

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

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

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

Материалы и методы исследований

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

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

1. Среда с 3% кукурузным экстрактом: кукурузный экстракт – 30,0; K_2HPO_4 – 0,5; глюкоза – 10,0; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ – 0,2; NaCl – 0,2; $(NH_4)_2SO_4$ – 0,5; pH 6,8–6,9.

2. Среда Исварана: сахароза – 10,0; K_2HPO_4 – 0,5; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ – 0,2; глюконат кальция – 1,5; $FeCl_3$ – 0,01; дрожжевой экстракт – 2,0; pH 6,8–7,0.

3. Среда Лазарева: KH_2PO_4 – 0,5; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ – 0,2; NaCl – 0,2; $MnSO_4 \cdot 5H_2O$ – 0,005; сахароза – 10,0; дрожжевой экстракт – 100 мл; pH 7,2.

4. Среда с бобовым отваром: KH_2PO_4 – 1,0; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ – 0,3; сахароза – 2,0; бобовый отвар – 50; pH 7,0.

5. Среда Грэхема: маннит – 0,5; лактоза – 0,5; NaCl – 0,2; $CaCl_2$ – 0,2; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ – 0,1; $FeCl_3$ – 0,1; дрожжевой экстракт – 0,5; pH 7,0.

6. Среда Фреда: KH_2PO_4 – 0,5; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ – 0,2; $CaCO_3$ – 3,0; NaCl – 0,1; дрожжевой экстракт – 1,0; сахароза, маннит или глюкоза – 10,0; pH 6,8–7,0.

7. Среда Норриса: K_2HPO_4 – 0,5; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ – 0,8; $CaSO_4$ – 0,1; NaCl – 0,2; $FeCl_3$ – 0,01; дрожжевой экстракт – 2,0; 0,4% р – р бромтимолового синего – 5 мл; маннит – 10,0; pH 7,2.

8. Минерально-растительная среда: K_2HPO_4 – 0,5; KH_2PO_4 – 0,5; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ – 0,1; $CaSO_4$ – 0,1; NaCl – 0,2; $(NH_4)_6Mo_7O_{24} \cdot 4H_2O$ – следы; маннит или глюкоза – 20,0; соевая мука – 10,0; pH 6,8–7,0.

9. Среда Мазэ: KH_2PO_4 – 0,5; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ – 0,3; NaCl – 0,5; сахароза – 10,0; горох – 100,0; pH 7,0.

10. Минимальная среда: K_2HPO_4 – 0,5; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ – 0,2; NaCl – 0,1; NH_4NO_3 – 0,1; маннит – 10,0; соевая мука – 10,0; pH 7,0.

Клубеньковые бактерии инкубировали в колбах Эрленмейера объемом 750 мл с 200 мл среды в течении 48 часов на ротационном шейкере при 180-200 об/мин и температуре $28 \pm 1^\circ\text{C}$.

Влияние источников углерода (сахарозы, глюкозы, маннита, глицерина), неорганических солей (CaCO_3 , NaCl) и микроэлементов ($\text{MnSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, H_3BO_3 , $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) на рост и накопление биомассы клубеньковых бактерий изучали на оптимальной среде. Источники углерода вносили в питательную среду в концентрациях, (г/л): 2,0; 4,0; 6,0; 8,0; 10,0; микроэлементы - 0,005; 0,01; 0,02; 0,04; CaCO_3 – 2,0; 4,0; 6,0; 8,0 и NaCl – 0,2; 0,4; 0,6; 0,8. Эффективность использования питательных сред, источников углерода и неорганических солей для накопления биомассы клубеньковых бактерий, оценивали по величине титра клеток и культурально-морфологическим показателям (размерам и форме колоний). Значение титра клеток выражали в КОЕ/мл (количество колониеобразующих единиц в 1 мл).

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

Результаты и обсуждение

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

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

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

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

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

Все изученные соли ингибировали рост штамма *Rhizobium leguminosarum* Б-1. Полученные данные приведены в таблице 3. В наибольшей степени ингибирующее действие оказывают H_3BO_3 и ZnSO_4 во всех изученных концентрациях.

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

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

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

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

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

Продолжение таблицы 3			
1	2	3	4
CaCO ₃	2,0	2,0±0,11·10 ⁸	Полупрозрачные, приподнятые, слизистые, округлые с ровными краями; диаметр колоний 0,3-0,6 см
	4,0	3,1±0,13·10 ⁷	
	6,0	1,7±0,12·10 ⁸	
	8,0	3,2±0,18·10 ⁸	
NaCl	0,2	2,1±0,10·10 ⁸	Полупрозрачные, приподнятые, слизистые, округлые с ровными краями; диаметр колоний 0,3-0,6 см
	0,4	5,5±0,10·10 ⁷	
	0,6	2,2±0,16·10 ⁷	
	0,8	2,5±0,10·10 ⁷	
Контроль (среда с бобовым отваром)	–	1,7±0,13·10 ⁹	Полупрозрачные, приподнятые, слизистые, округлые с ровными краями; диаметр колоний 0,3-0,6 см

Состав модифицированной среды, г/л: КН₂РО₄ – 1,0; MgSO₄·7H₂O – 0,3; CaCO₃ – 4,0; сахара – 8,0; горох – 50; рН 7,0.

Таким образом, в результате проведенных исследований подобрана и оптимизирована питательная среда для роста и максимального накопления биомассы штамма клубеньковых бактерий чечевицы *Rhizobium leguminosarum* Б-1 (титр клеток 6,2·10⁹ КОЕ/мл).

ЛИТЕРАТУРА

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

REFERENCES

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

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

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

ҚР БҒМ ҒМ «Микробиология және вирусология институты» РМҚ, Алматы, Қазақстан

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

Аннотация. Түйнекті бактериялар штамдарының биомассасының өсіруде ең жақсы өсетін қолайлы ортаны таңдап алу 10 түрлі сұйық қректік ортасында зерттелді: 3% жүгері сығындысы бар қоректі орта, Исварана, Лазарева, бұршақ тұнбасы бар, Грэхем, Фреда, Норриса, МРС, Мазэ, минималды қоректік орта.

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

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.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.