

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**

6 (312)

**ҚАРАША – ЖЕЛТОҚСАН 2015 ж.
НОЯБРЬ – ДЕКАБРЬ 2015 г.
NOVEMBER – DECEMBER 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 ñ 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. Рахисhev**, 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 65, Number 312 (2015), 135 – 141

**FREE-LIVING NITROGEN-FIXING BACTERIA PERSPECTIVE
FOR CREATION OF EM-ASSOCIATIONS****I. E. Smirnova, A. Zh. Sultanov, A. A. Sabdenova**

Institute of Microbiology and Virology, Almaty, Kazakhstan.

E-mail: iesmirnova@mail.ru

Key words: rhizosphere, free-living nitrogen-fixing bacteria, EM-associations.

Abstract. Currently, in Kazakhstan there is a steady trend towards the degradation of pasture land, which is due to uncontrolled livestock grazing, lack of control over the state and use of pastures. This unsatisfactory state of pasture ecosystems raises the urgent problem for Kazakhstan - the restoration of degraded pastures and increase their productivity.

One of the most promising solutions to this problem is the biological agriculture. Biological agriculture is based on the use of the reduction potential of microorganisms, which are the main environmental factors of soil formation, and is using associations agronomical valuable microorganisms (EM Association), including nitrogen-fixing, phosphate mobilizing, cellulolytic microorganisms. In introducing them into the soil these microorganisms enrich it readily available nutrients make the soil fertile and the plants delivers the necessary enzymes, vitamins, amino acids and so on. One of the major components of EM associations are free-living aerobic soil bacteria. These microorganisms play a leading role in the fixation of atmospheric nitrogen and enrich the soil available nitrogen.

From the rhizosphere of cultivated plants of the South and South-East of Kazakhstan isolated more than 50 free-living nitrogen-fixing bacteria native, of them created a collection. The basic cultural-morphological and biochemical characteristics of the most active strains were studied. It is found that investigated strains belong to the genus *Azotobacter*, to species *Azotobacter chroococcum*. Selected three strains of nitrogen-fixing bacteria have the ability to actively fix molecular nitrogen from the atmosphere and accumulate biomass on nitrogen-free media. These strains are prospective for creation EM associations agronomically valuable microorganisms to restore degraded pastures.

УДК 579.64

**СВОБОДНОЖИВУЩИЕ АЗОТФИКСИРУЮЩИЕ БАКТЕРИИ,
ПЕРСПЕКТИВНЫЕ ДЛЯ СОЗДАНИЯ ЭМ-АССОЦИАЦИЙ****И. Э. Смирнова, А. Ж. Султанова, А. А. Сабденова**

Институт микробиологии и вирусологии, Алматы, Казахстан

Ключевые слова: ризосфера, свободноживущие азотфиксирующие бактерии, ЭМ-ассоциации.

Аннотация. В настоящее время, в Казахстане наблюдается устойчивая тенденция к деградации пастбищных земель, что связано с нерегулируемым выпасом скота, отсутствием контроля за использованием пастбищ. Такое неудовлетворительное состояние пастбищных экосистем выдвигает насущную проблему для Казахстана - восстановление деградированных пастбищ и повышение их продуктивности.

Одним из наиболее перспективных решений этой задачи является биологическое земледелие. Биологическое земледелие основывается на использовании восстановительного потенциала микроорганизмов, являющихся главным экологическим фактором почвообразования, и состоит в применении ассоциаций агрономически ценных микроорганизмов (ЭМ-ассоциации), включающих азотфиксирующие, фосфатмобилизирующие, целлюлолитические микроорганизмы. Эти микроорганизмы при внесении их в почву обогащают ее

легкодоступными элементами питания, делают почву плодородной и поставляют растениям необходимые продукты своей жизнедеятельности (ферменты, витамины, аминокислоты и пр.). Одними из ведущих компонентов ЭМ-ассоциаций являются аэробные свободноживущие бактерии почвы. Им принадлежит ведущая роль в фиксации атмосферного азота и обогащение почвы доступным азотом.

Из ризосферы культурных растений юга и юго-востока Казахстана выделено более 50 аборигенных свободноживущих азотфиксирующих бактерий и создана коллекция. Изучены основные культурально-морфологические и биохимические признаки наиболее активных штаммов. Установлено, что исследуемые штаммы относятся к роду *Azotobacter*, виду *Azotobacter chroococcum*. Отобрано три штамма азотфиксирующих бактерий, обладающих способностью активно фиксировать молекулярный азот атмосферы и накапливать биомассу на безазотистых средах. Эти штаммы являются перспективными для создания ЭМ-ассоциаций агрономически ценных микроорганизмов для восстановления деградированных пастбищ.

Введение. Исторически и традиционно пастбища Республики Казахстан были территорией развития скотоводства, овцеводства и коневодства. В настоящее время, в Казахстане наблюдается устойчивая тенденция к деградации пастбищных земель, что связано с нерегулируемым выпасом скота, сокращением площадей обводненных пастбищ, отсутствием контроля за состоянием и использованием пастбищ, и несоблюдением земельного законодательства [1-4]. Большая часть пастбищных экосистем серьезно нарушена, ряд ценных видов кормовых трав исчезли, почвы сильно истощены. По данным Института мировых ресурсов на 2012 год, пастбищные земли в Казахстане занимают 188 млн. га или 70% всей площади. Более 48 млн. га или 26% от общей площади составляют деградированные почвы, из них 23,0 млн. га составляют пастбища, где изменения приобрели необратимый характер, то есть их самовосстановление невозможно или требует крупные вложения и длительный период заповедного режима [5-8]. Все эти негативные процессы вызвали ухудшение кормовой базы пастбищного животноводства [9-11]. Такое неудовлетворительное состояние пастбищных экосистем выдвигает насущную проблему для Казахстана - восстановление деградированных пастбищ и повышение их продуктивности.

Одним из наиболее перспективных решений этой задачи является биологическое или альтернативное земледелие, при котором решающим становится не применение минеральных удобрений, а поддержание почвы в биологически активном, жизнедеятельном состоянии, обеспечивающем ее плодородие. Биологическое земледелие основывается на использовании восстановительного потенциала микроорганизмов, являющихся главным экологическим фактором почвообразования, и состоит в применении ассоциаций агрономически ценных микроорганизмов (ЭМ-ассоциации), включающие азотфиксирующие, фосфатмобилизирующие, целлюлолитические микроорганизмы. Эти микроорганизмы при внесении их в почву обогащают ее легкодоступными элементами питания, делают почву плодородной и поставляют растениям необходимые продукты своей жизнедеятельности (ферменты, витамины, аминокислоты и пр.). При этом не применяются минеральные удобрения, пестициды и другие химические средства, продукция становится экологически чистой и полностью безопасной для человека и сельскохозяйственных животных [12, 13]. Одними из ведущих компонентов ЭМ-ассоциаций являются аэробные свободноживущие бактерии почвы. Им принадлежит ведущая роль в фиксации атмосферного азота и обогащение почвы доступным азотом [14-17].

Целью проведенных исследований являлось выделение и изучение аборигенных азотфиксирующих бактерий, перспективных для создания ассоциаций агрономически ценных микроорганизмов.

Методы исследований

Объектами исследований служили новые штаммы азотфиксирующих бактерий, выделенные из ризосферы культурных растений на юге и юго-востоке Казахстана. Поиск и выделение свободноживущих аборигенных азотфиксирующих бактерий проводили из различных типов почв. Образцы почв для выделения микроорганизмов отбирали с соблюдением правил асептики и помещали в стерильные пергаментные пакеты.

Для выделения аборигенных азотфиксирующих бактерий использовали элективные среды Эшби и №79 [18]. По совокупности культурально-морфологических признаков осуществляли

идентификацию микроорганизмов до рода с помощью определителя Берджи [19]. Культивирование бактерий проводили на жидких средах в колбах на качалке при 180 об/мин и температуре 25°C, в течение 5-7 суток. Чистота культур периодически проверялась микроскопированием с фазовым контрастом и высевом на селективные питательные среды.

Азотфиксирующую активность бактерий определяли по степени и скорости накопления биомассы при росте культур на безазотистых средах, исходя из того, что чем выше накопление биомассы, тем активнее культура фиксирует молекулярный азот атмосферы. Биомассу микроорганизмов определяли нефелометрически на спектрофотометре PD-303 ("ApeI", Japan) и выражали в единицах оптической плотности (отн. ед. ОП) и пересчитывали по калибровочной кривой на вес сухой биомассы (г/1000 мл).

В работе использовались стандартные методы исследований бактерий, изложенные в руководствах [18, 20].

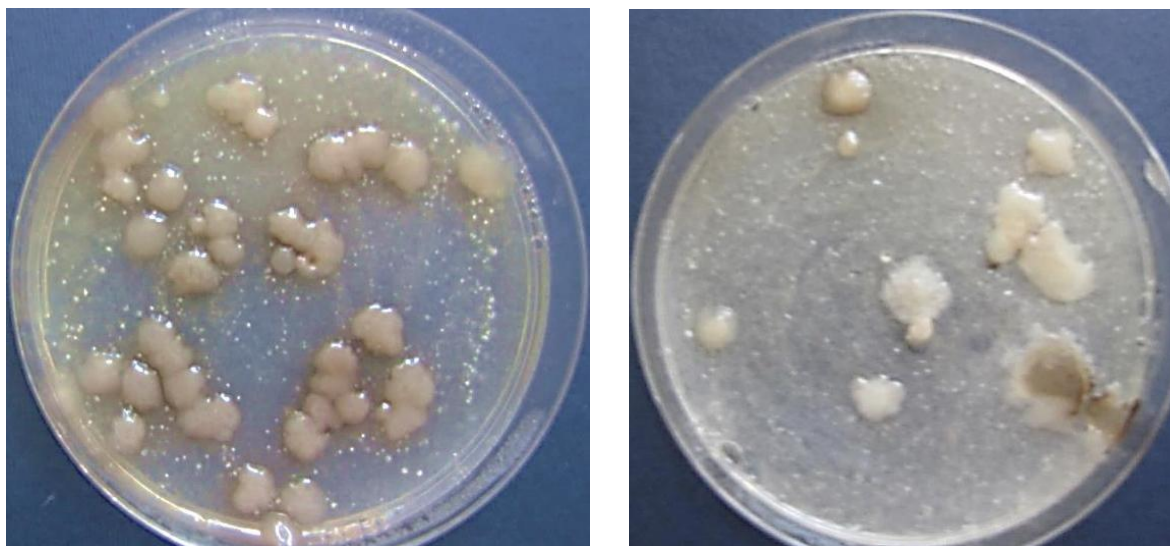
Повторность опытов 5-ти кратная. Результаты исследования были статистически обработаны с использованием коэффициента Стьюдента.

Результаты исследований

Из различных почв Казахстана было выделено более 50 культур аборигенных свободноживущих азотфиксирующих бактерий и отобраны штаммы, способные к активному росту на средах, не содержащих в своем составе азота.

В лабораторных условиях были поставлены опыты по первичному скринингу бактерий по способности к фиксации азота атмосфера.

В результате скрининга было отобрано 36 штамма бактерий, перспективных для создания ассоциаций агрономически ценных микроорганизмов (ЭМ-ассоциации). Из них для дальнейшей работы было отобрано 11 штаммов бактерий, способных к активному росту на безазотистых средах и, предположительно, обладающих высокой способностью к фиксации молекулярного азота атмосферы (рисунок).



Колонии свободноживущих азотфиксирующих бактерий рода *Azotobacter* на среде Эшби

По совокупности основных морфологических и биохимических признаков (фенотипические признаки), все отобранные штаммы были отнесены к роду *Azotobacter*, виду *Azotobacter chroococcum*. Клетки односуточных культур палочковидные, подвижные с перитрихальным жгутикованием, в старых культурах - кокковидные, соединенные парами, тройками или сарциноподобные пакеты, обычно окруженные слизистой оболочкой. Размеры клеток штаммов варьировали незначительно и составляли 3-7×1,5-2,5 м, иногда 8-10 м длины. Окраска колоний на плотных средах была от светло-коричневой до почти черной, что является характерным признаком

для штаммов, относящихся к данному виду. Практически все штаммы на вторые сутки культивирования образовывали на плотной среде крупные, слизистые, бесцветные колонии до 7 мм в диаметре. По мере старения колонии становились еще более слизистыми, и растекались по поверхности агара. Образование пигмента происходило на 5-е сутки культивирования, пигмент в среду не выделялся.

Были выявлены штаммы, отличающиеся по культуральным признакам. Так, штамм №7 образовывал колонии, имеющие значительно меньший размер (до 2 мм в диаметре). Колонии имели округлую форму, были менее слизистыми и не растекались по поверхности агара. Образование светло-коричневого пигмента происходило на пятые сутки культивирования. Штамм №11 характеризовался плоскими, крупными колониями, достигающими 5-8 мм в диаметре, неправильной формы, с небольшими количеством слизи. Образование пигмента наблюдалось уже на третьи сутки культивирования.

Активность роста микроорганизмов - одна из основных физиологических характеристик культур, отражающая скорость и уровень нарастания биомассы. Азотфиксирующие бактерии рода *Azotobacter* чрезвычайно требовательны к минеральному составу питательной среды, в частности к молибдену, поэтому были проведены исследования по подбору сред культивирования для повышения активности роста и накопления биомассы, выделенных штаммов бактерий.

В качестве сред культивирования использовали стандартные среды, рекомендованные для выращивания азотфиксирующих бактерий: среда Эшби, среда №79 и среда Краснопевцевой и др. [21]. Эта среда ранее не использовалась в наших исследованиях.

В результате проведенных исследований для культивирования бактерий была подобрана среда Краснопевцевой следующего состава: глюкоза - 15,0; K_2HPO_4 - 1,0; $MgSO_4 \times 7H_2O$ - 0,5; $FeSO_4 \times 7H_2O$ - 0,0005; $Na_2MoO_4 \times 2H_2O$ - 0,005. При росте на этой среде у бактерий отмечали высокую активность роста и максимальное накопление биомассы. Также, был подобран режим стерилизации для этой среды культивирования.

Азотфиксирующую активность бактерий изучали по степени и скорости накопления биомассы при росте культур на безазотистых средах, исходя из того, что чем выше накопление биомассы, тем активнее культура фиксирует молекулярный азот атмосферы.

Для исследования азотфиксирующей активности культуры выращивали на жидкой среде Краснопевцевой в колбах на качалке при 180 об/мин и температуре 25⁰С в течение 5-7 суток. После этого снимали показания биомассы. Биомассу микроорганизмов определяли нефелометрически на спектрофотометре, выражали в единицах оптической плотности (отн. ед. ОП) и пересчитывали по калибровочной кривой на вес абсолютно сухой биомассы (г/л). Полученные данные представлены в таблице.

Накопление биомассы азотфиксирующими бактериями

Штаммы бактерий	Биомасса, ед. ОП	Биомасса АСБ, г/л
№4	0,21	1,11
№3	0,20	1,05
№6	0,34	1,80
№7	0,05	0,20
№8	0,14	0,74
№11	0,20	1,05
№20	0,13	0,68
№22	0,51	2,72
№29	0,27	1,43
№27	0,14	0,74
№24	0,37	1,96

Из данных таблицы следует, что практически все исследуемые штаммы бактерий фиксируют азот атмосферы, о чем свидетельствует прирост биомассы при росте на среде, не содержащей источника азота. Исключение составлял штамм №7, который характеризовался крайне низкой активностью азотфиксации. Из 11 исследуемых бактерий четыре штамма №7, №8, №27 и №20, характеризовались низким накоплением биомассы (менее 1 г/л), четыре штамма №4, №3, №11 и №29 - средним уровнем накопления биомассы (1,05-1,43 г/л) и три штамма №6, №22 и №24 - высоким накоплением биомассы, которое составляло 1,80 г/л, 2,72 г/л и 1,96 г/л, соответственно.

Обсуждение результатов

Деградация почвенных экосистем, динамическое уменьшение многообразия групп микроорганизмов (редуцентов), снижение не только количества, но и их физиологической активности, нарушение структуры биоценозов и биогеоценозов - последствия антропогенного воздействия. В этой связи возрастает роль физиологически значимых микроорганизмов, таких как свободноживущие азотфиксирующие бактерии рода *Azotobacter* для восстановления плодородия деградированных почв [22, 23]. Поэтому поиск, выделение, изучение и практическое применение этих бактерий для восстановления почвенного плодородия является актуальным направлением исследования.

Для выделения свободноживущих азотфиксирующих бактерий было собрано более 70 образцов разных типов почв из ризосферы культурных растений юга и юго-востока Казахстана. Из них было выделено и получено 50 культур аборигенных свободноживущих азотфиксирующих бактерий и отобраны штаммы, способные к активному росту на средах, не содержащих в своем составе азота. Для дальнейшей работы было отобрано 11 штаммов бактерий, способных к активному росту на безазотистых средах и, предположительно, обладающих высокой способностью к фиксации молекулярного азота атмосферы.

Отличительной особенностью бактерий рода *Azotobacter* является их высокая требовательность к минеральному питанию и наличию в среде микроэлементов. Для большинства культур этого рода необходимо присутствие в среде культивирования молибдена, который действует на ферментативные процессы восстановления нитратов, нитритов и гидроксил амина до аммиака, и биосинтез аммиака [24]. Поэтому была подобрана среда Краснопевцевой и др. с оптимальным содержанием минеральных компонентов и содержащая в среде молибден в количестве 0,005 г/л. На этой среде культуры показывали наибольшую активность фиксации азота атмосферы и активность накопления клеточной биомассы.

По фенотипическим характеристикам, то есть по комплексу ключевых морфологических и биохимических признаков все выделенные штаммы были отнесены к роду *Azotobacter*, виду *Azotobacter chroococcum*. Окраска пигмента варьировала от светло-коричневой до почти черной.

Детальное изучение исследуемых штаммов бактерий, позволило отобрать три штамма №6, №22 и №24 с высоким накоплением биомассы, что свидетельствует об их высокой азотфиксирующей способности. Эти штаммы предполагается использовать при разработке ассоциаций агрономически ценных микроорганизмов (ЭМ-ассоциаций) для восстановления и повышения плодородия деградированных пастбищ.

Выводы. Из ризосферы культурных растений юга и юго-востока Казахстана было выделено более 50 аборигенных свободноживущих азотфиксирующих бактерий, получены чистые культуры, из которых создана коллекция микроорганизмов. Отобрано 11 наиболее активных штаммов и изучены их основные культурально-морфологические и биохимические признаков. Установлено, что все исследуемые штаммы относятся к роду *Azotobacter*, виду *Azotobacter chroococcum*. На основе изучения азотфиксирующей активности штаммов бактерий было отобрано три штамма азотфиксирующих бактерий (№6, №22 и №24), обладающих способностью активно фиксировать молекулярный азот атмосферы и накапливать биомассу на безазотистых средах. Эти штаммы являются наиболее перспективными для создания ЭМ-ассоциаций агрономически ценных микроорганизмов.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] Щетников А.И. Динамика и устойчивость степных геосистем // Аридные экосистемы. 2000, Т.6, №3, С. 65-74.
[2] <http://www.bnews.kz/ru/news/post>
[3] Отаров А. Основные факторы и степень деградации почв Шиелийского массива орошения // Почвоведение и агрохимия. 2011, № 1, С. 30-39.
[4] Добровольский Г.В., Васильевская В.Д., Зайдельман Ф.Р., Звягинцев Д.Г. и др. Деградация и охрана почв. М.: Мир. 2002. 360 с.
[5] Зайдельман Ф.Р. Мелиорация почв. М.:МГУ. 2006. 87 с.
[6] <http://www.agropages.ru>
[7] Концепция экологической безопасности Республики Казахстан на 2004-2015 годы // Вестник Каспия. 2004. № 1. С. 24-44.
[8] Кузьмин Т.В., Трешкин С. Е., Мамутов Н.К. Результаты опытного формирования естественной растительности на засоленных землях обсыхающего дна Аральского моря // Аридные экосистемы. 2006, Т. 12., № 29. С 27-40.
[9] Лебедь Л. В., Беленкова З.С. Методические указания по оценке и прогнозу урожайности природных кормовых угодий Казахстана. Алматы.: Бастау. 2005. 30 с.
[10] Прозорова Т.А., Черных И.Б. Кормовые растения Казахстана: Павлодар: Книга, 2004, 278 с.
[11] Кененбаев С.Б. Аграрная наука Казахстана: текущее состояние и перспективы развития // Сб. XIII-й Международ. науч.-практ. конф. Аграрная наука сельскохоз. производству Монголии, Сибири и Казахстана. Уланбатор, 2010. С. 10-13.
[12] Афанасьев Е.Н., Афанасьев Н.Е., Тюменцева И.С. Эффективные микроорганизмы в сельскохозяйственном производстве // Мат. Междунар. науч.-практ. конф. Животно-водство – продовольственная безопасность страны. Ставрополь, 2006. С.101-104.
[13] Ходжаева А.К. и др. Диагностика биологических свойств почвы при органической и традиционной системе земледелия // Агрохимия. 2010. № 5. С. 3–12.
[14] Шотт П.Р. Фиксация атмосферного азота в однолетних агроценозах. Барнаул: Азбука. 2007, 176 с.
[15] Шотт П.Р. Результаты и перспективы исследований по проблеме ассоциативной азотфиксации в агроценозах Сибири // Вестник АГАУ. 2001, Вып.1, Т.1. С. 184-189.
[16] Orr C.H., James A., Leifert C., Cooper J.M., Cummings S.P. Diversity and activity of free living nitrogen fixing bacteria and total bacteria in organic and conventionally managed soils // Applied and environmental microbiology. 2011. V. 77, 3. P. 911–919.
[17] Эмер Н. Р. и др. Ежесуточная динамика численности и активности азотфиксирующих бактерий на участках залежной и интенсивно возделываемой почвы // Почвоведение, 2014, № 8, с. 963–970.
[18] Методы почвенной микробиологии и биохимии / Под ред. Д.Г. Звягинцева. – М.: Изд-во Моск. ун-та, 1991. 304 с.
[19] Определитель бактерий Берджи / под ред. Дж. Хоулта. М.: Мир, 1997. - 800с.
[20] Microbiological methods for assessing soil quality/ ed. by J. Dloem, D.W. Hopkins, A. Benedetti // CABI Publishing. – 2006. – 307 p.
[21] Пат. 2073712 Российская Федерация, C12R1/065. Штамм бактерий *Azotobacter vinelandii* (Iipman) - продуцент экзополисахарида / Краснопевцева Н.В., Чернягин А.В., Яроцкий С.В.; заявитель и патентообладатель ТОО "ИТИН". Оpubл. 10.03.2009
[22] Громов Б.В., Павленко Г.В. Экология бактерий. Л.:ЛГУ. 1989, 246 с.
[23] Заварзин Г.А., Колотилова Н.Н. Введение в природоведческую микробиологию М.: Наука, 2001. 256 с.
[24] Мишустин Е.Н. Минеральный и биологический азот в земледелии СССР. М.:МГУ. 1985, 268 с.

REFERENCES

- [1] Shhetnikov A.I. Dynamics and stability of steppe geosystems // Arid ecosystems, **2000**, V.6, №3, p. 65-74. (in Russ.).
[2] <http://www.bnews.kz/ru/news/post>
[3] Otarov A. The main factors and the extent of soil degradation Ili array irrigation // Pedology and Agricultural Chemistry, **2011**, 1, p. 30-39. (in Russ.).
[4] Dobrovolskij G.V., Vasil'evskaja V.D., Zajdel'man F.R., Zvjagincev D.G., et al. *The degradation and soil protection*. M.: Mir. **2002**. 360 p. (in Russ.).
[5] Zajdel'man F.R. *soil reclamation*. M.:MGU. **2006**. 87 p. (in Russ.).
[6] <http://www.agropages.ru>
[7] The concept of ecological security of the Republic of Kazakhstan for 2004-2015 // Bulletin of the Caspian Sea, **2004**. 1. p. 24-44. (in Russ.).
[8] Kuz'min T.V., Treshkin S.E., Mamutov N.K. The results of experimental formation of natural vegetation on saline lands of the dried bottom of the Aral Sea // Arid ecosystems. **2006**, 12, 29. p. 27-40. (in Russ.).
[9] Lebed' L. V., Belenkova Z.S. *Guidelines for the assessment and prediction of productivity of natural forage lands in Kazakhstan*. Almaty: Bastau. **2005**. 30 p. (in Russ.).
[10] Prozorova T.A., Chernih I.B. Forage plants of Kazakhstan: Pavlodar: Book 2004, 278 p. (in Russ.).
[11] Kenenbayev S.B. Agricultural science of Kazakhstan: current state and prospects of development // Coll. XIII th Internat.scien.-practical. conf. Agricultural Science for Agricultural production of Mongolia, Siberia and Kazakhstan. Ulaanbaatar, 2010. P. 10-13. (in Russ.).

- [12] Afanasiev E.N., Afanasiev N.E., Tyumentseva I.S. Effective microorganisms in agricultural production // Proc. Internat. scientific-practical conference. Breeding - food security. Stavropol, 2006. p.101-104. (in Russ.).
- [13] Khodjaeva A.K. et al. Diagnostics and biological properties of the soil in the organic and conventional farming system // Agrochemistry. 2010. № 5. p. 3-12. (in Russ.).
- [14] Schott P.R. Fixation of atmospheric nitrogen in annual agrocenoses. Barnaul: ABCs. 2007, 176 p. (in Russ.).
- [15] Schott P.R. Results and prospects of research on associative nitrogen fixation in agrocenoses Siberia // Bulletin ASAU. 2001, Issue 1, Volume 1, p. 184-189. (in Russ.).
- [16] Orr C.H., James A., Leifert C., Cooper J.M., Cummings S.P. Diversity and activity of free living nitrogen fixing bacteria and total bacteria in organic and conventionally managed soils. *Applied and environmental microbiology*. 2011. V. 77, 3. P. 911-919. (in Engl.).
- [17] Emer N.R., et al. Daily dynamics of abundance and activity of nitrogen-fixing bacteria-ing on fallow areas and intensively cultivated soils // Soil science, 2014, number 8, p. 963-970. (in Russ.).
- [18] Methods of Soil Microbiology and Biochemistry / Ed. D.G. Zvyagintsev. - M.: Izd. University Press, 1991. 304 pp. (in Russ.).
- [19] The determinant of bacteria Burgi / ed. J. Holt. M.: Mir, 1997. - 800 p. (in Russ.).
- [20] *Microbiological methods for assessing soil quality*/ ed. by J. Dloem, D.W. Hopkins, A.
- [21] Benedetti. CABI Publishing. 2006. 307 p. (in Russ.).
- [22] Pat. 2073712 The Russian Federation, C12R1 / 065. The strain of bacteria *Azotobacter vinelandii* (lipman) - producing exopolysaccharide / Krasnopevtseva N.V., Chernyagin A.V., Jarocki S.V.; applicant and patentee LLP "ITIN". Publ. 10.03.2009 (in Russ.).
- [23] Gromov B.V., Pavlenko G.V. Environmental bacteria. AL: LSU. 1989, 246 p. (in Russ.).
- [24] Zavarzin G.A., Kolotilova N.N. Introduction to the natural history microbiology M.: Science, 2001. 256 pp. (in Russ.).
- [25] Mishustin E.N. The mineral and organic nitrogen in agriculture of the USSR. Moscow: Moscow State University. 1985, 268 p. (in Russ.).

ТМ-ҚАУЫМДАСТЫҒЫН ҚҰРУ ҮШІН КЕЛЕШЕКТІ, ЕРКІН ӨМІР СҮРЕТІН АЗОТФИКСАЦИЯЛАУШЫ БАКТЕРИЯЛАР

И. Э. Смирнова, А. Ж. Сұлтанова, А. А. Сәбденова

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

Тірек сөздер: ризосфера, еркін өмір сүретін азотбекітуші бактериялар, ЭМ-қауымдастықтары.

Аннотация. Қазіргі таңда жайылым жерлердің азғындауының тұрақты үрдістері байқалуда, бұл малды ретсіз жаю, жайылымның жағдайын бақыламай пайдаланғанның нәтижесінде. Осындай жайылым экожүйесінің қанағаттанарлықсыз жағдайы Қазақстан үшін нағыз мәселе тудырады – азғындаған жайылымдарды қалпына келтіру және олардың құнарлылығын арттыру.

Бұл мәселенің ерекше перспективалық шешімдерінің бірі биологиялық егіншілік болып табылады. Биологиялық егіншілік қалпына келтіретін микроорганизмдер потенциялына негізделген, топырақ құраушы негізгі экологиялық фактор болып табылатын, азотфиксациялайтын, фосфатмобилиздеуші және целлюлолиткалық микроорганизмдер кіретін агрономиялық құнды қауымдастықтарды (ТМ-қауымдастықтар) пайдаланудан түзілген. Бұл микроорганизмдерді топыраққа енгізгеннен кейін, топырақты оңай қолжетімді қоректік элементтермен байытып, құнарландырады және өсімдіктердің тіршілік әрекетіне қажетті өнімдерді (ферменттер, витаминдер, аминқышқылдары және т.б.) жеткізеді. ТМ-қауымдастығының жетекші компоненттерінің бірі - топырақта еркін өмір сүретін аэробты бактериялар. Олар атмосфералық азотты фиксациялайды және топырақты қол жетімді азотпен байытады.

Оңтүстік және Оңтүстік-шығыс Қазақстанның дақылдық өсімдіктерінің ризосферасынан елуден астам аборигенді еркін өмір сүретін азотфиксациялаушы бактериялар бөлініп алынды және топтама құрылды. Айрықша белсенді штамдардың негізгі культуралды-морфологиялық және биохимиялық көрсеткіштері зерттелді. Зерттелген штамдар *Azotobacter* тегіне, *Azotobacter chroococcum* түріне жататындығы анықталды. Белсенді молекулалық атмосфералық азотты фиксациялай алатын және биомассаны азотсыз қоректік орталарда жинақтай алатын азотфиксациялаушы бактерияның үш штамы таңдап алынды. Азғындаған жайылымдарды қалпына келтіру үшін бұл штамдардан агрономиялық құнды микроорганизмдер ТМ-қауымдастығын құру перспективалы.

Поступила 05.11.2015 г.

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 12.11.2015.
Формат 60x881/8. Бумага офсетная. Печать – ризограф.
11,6 п.л. Тираж 300. Заказ 6.