

Туреханова Ж.И., Сейткали Н.,
Слямова Н.Д., Мұқатаева Қ.А.,
Успанов А.М.

**Биопрепараттарды өндіруге
негіз болатын Қазақстанның
жергілікті энтомопатогенді
микроорганизмдер
штамдарын бөліп алу**

Жұмыста өсімдіктер мен ауылшаруашылығы өнімдерін зиянкестерден қорғауда энтомопатогенді микроорганизмдерді пайдалану және олардың морфо-культуралдық ерекшеліктері мен биологиялық белсенділігі жоғары штамдарына сипаттама берілген. Пестицидтерді жүйесіз қолдану биоценоздарды бұлдіріп, улы химикат қалдықтарының өсімдік өнімдерінде, топырақта, суда жинақталу қауіпін тудырады. Ол дегеніміз өнімде немесе топырақта қалған улы химикаттар мөлшері асып ісік және түрлі аллергиялық аурулар тудырып, адам денсаулығына қауіп төндіреді, жануарлар әлемімен және өсімдіктер әлеміне кері әсерін тигізеді. Қазіргі таңда өсімдіктер мен ауылшаруашылық өнімдерін зиянкес жәндіктерден қорғауда химиялық тәсілден, биологиялық тәсілге көбірек жүгініп отыр, яғни биопрепараттарға сұраныс артып келеді. Энтомопатогенді бактерия негізінде адам және экология үшін жаңа қауіпсіз биологиялық жолды қарастыра отырып, энтомопатогенді микроорганизмдер штамдарының топтамасын биопрепарат ретінде жәндіктерге қолдануға мүмкіндік беретін биологиялық белсенділігі жоғары штамдарын іріктеп алу.

Түйін сөздер: биопрепарат, штамм, энтомоцидті кристалл, штамдарды өсіру, топырақ.

Turekhanova J.I., Seytkaly N.,
Slyamova N.D.,
Mukhatayeva K.A., Uspanov A.M.

**The selection of native
Kazakhstan strains
entomopathogenic
microorganisms to create
biologics**

Ecosystemly using of pesticides leads to the gathering of the chemicals with big toxies in the growers, in the grounds and in the water leading to the unbuild biocenose. A big gathering of concer thigs call allergic reactions. In nowadays in the deference of the growers from the pestes and illnesses all the big actuality acquires biological method of the force, which root are microorganisms with express biological activity sparch and selection such bio objects for making further home preparations are the aims of there works. In the work data will of learning biological activating toxin with the entomopathogenic of learning morphocultural especially and learning biological activity toxin local entomopathogen strains for the ferce with the wrecker of the culture. Were learned biochemical feature in every sphere also were given date of learning biological activity. In the matter for trices. Got results permitted select father search 4 presspective trains emtomopathogenic bacteria.

Key words: the inoculant strain, the insecticidal crystals, soil.

Туреханова Ж.И., Сейткали Н.,
Слямова Н.Д., Мұқатаева Қ.А.,
Успанов А.М.

**Выделение аборигенных
Казахстанских штаммов
энтамопатогенных
микроорганизмов для
создания биопрепаратов**

Безсистемное использование пестицидов ведет к накоплению химикатов с высокой токсичностью в растениях, в почве и в воде, приводящему к разрушению биоценоза. Также большое накопление канцерогенных веществ вызывает аллергические реакции и развитие раковых заболеваний у человека. В настоящее время в защите растений от вредителей и заболеваний все большую актуальность приобретает биологический метод борьбы, основой которого являются микроорганизмы с выраженной биологической активностью. Поиск и отбор таких биообъектов для создания в дальнейшем отечественных биопрепаратов является целью данной работы. В работе приведены данные по изучению морфокультуральных особенностей и изучение биологической активности отобранных местных энтомопатогенных штаммов для борьбы с вредителями сельскохозяйственных культур. Изучены биохимические особенности на разных средах, также приведены данные по изучению биологической активности в отношении листовертков. Результаты полученных данных позволили отобрать для дальнейших исследований 4 перспективных штамма энтомопатогенных бактерий.

Ключевые слова: биопрепарат, штамм, энтомоцидные кристалл, почва.

**БИОПРЕПАРАТТАРДЫ
ӨНДІРУГЕ
НЕГІЗ БОЛАТЫН
ҚАЗАҚСТАННЫҢ
ЖЕРГІЛІКТІ
ЭНТОМОПАТОГЕНДІ
МИКРООРГАНИЗМДЕР
ШТАММДАРЫН
БӨЛІП АЛУ**

Қазіргі таңда өндірістік тәжірибеде дәнді, техникалық, жеміс-жидек, көкөніс дақылдарынан жоғары өнімін алуда өсімдікті зиянкестерден, аурулардан және арам шөптерден қорғау үшін биологиялық препарат өндірісінің негізі болатын микроорганизмдерді табиғи субстраттардан бөліп алу бағытындағы зерттеу жұмыстары әрқашанда жоғары бағалануда. Ауылшаруашылығы зиянкестерімен биологиялық күресте микроорганизмдерді қолданудың аса маңызды теориялық мәселелері алға тартылып келеді. Мұнда маңызды рөл зиянды жәндіктердің дамуына әсер ететін экологиялық факторларды анықтауға аса мән беріліп зиянкестердің ұрпақтануын болдырмас үшін патогенді микроорганизмдердің әсерін анықтау басты себеп болып келеді. Жәндіктердің тұтастай ауруға ұшырауына ішек микрофлорасы қатысып қана қоймай, сондай-ақ аталған процесте алдыңғы орын алды. Энтмопатогенді бактериялардың бірқатар түрлерінен уытты штаммдарын бөліп алып, олардың негізінде биопрепараттардың алғашқы нұсқасы жасалған [1].

ҚазӨҚҒЗИ-ның биотехнология зертханасында бірнеше жыл қатарынан энтмопатогенді бактериялардың жергілікті және интродукцияланған штаммдарының, сонымен бірге бірқатар өзге микроорганизмдердің ауылшаруашылығы дақылдарының зиянкес бунақденелілеріне қарсы тиімділіктері зерттелді.

Қазақстан жағдайында өсімдіктер зиянкестеріне қарсы тиімді отандық биопрепараттар шығару үшін жергілікті энтмопатогенді микроорганизмдерді іздеу және энтмопатогенді микроорганизмдер коллекциясын құру жұмыстары 2006 жылдан бері ҚазӨҚҒЗИ-ның биотехнология зертханасында жүргізіліп келеді.

Қазақстанда энтмопатогенді микроорганизмдер негізінде жасалынған алғашқы биопрепарат 2007 жылы «Ақ көбелек, с.п.» тауарлық атауына ие болған. Биопрепарат әртүрлі ауылшаруашылығы дақылдарымен саябақ екпе ағаштарында зиянды қабыршақ қанатты бунақденелілерге қарсы тіркеліп, ал 2008 жылы өндірістік сынақтан өткізілді. Алынған мәліметтер бойынша, препараттың биологиялық тиімділігі химиялық препараттан кем болмаған ол 95-100% құрады [2].

Жұмыстың мақсаты: өсімдік және ауылшаруашылығы дақылдарының зиянкестеріне қарсы *Bacillus thuringiensis* энтмо-

патогенді бактериясының преспективті штамдарын іріктеу.

Зерттеу материалдары мен әдістері

Зерттеу материалы ретінде бактериоздық белгімен табылған өлі жәндіктер үлгісі және топырақ қолданылды.

Штаммдардың морфологиялық қасиеттері – клеткалардың пішіні, көлемі, клеткалардың орналасуы, спора мен кристалл түзуі микроскоп (MT6300H) арқылы қаралды.

Бактерия изоляттары әртүрлі әдіспен тікелей табиғи субстраттардан (топырақтан және өлі жәндіктер денесінен) немесе элективті және жинағыш қоректік ортада бөліп алынды. Энтомопатогенді бактерия штамдарын беттік өсіру әдісі арқылы морфо-культуралдық ерекшеліктері зерттелінді. Жалпы микробиологиялық зерттеулерде қандай да бір субстраттың микрофлорасын анықтау барысында бөлінген микроорганизмдердің морфологиялық қасиетін бірнеше әдістерді препараттарды бояу арқылы анықталды. Бұл жұмыстар қазіргі күнге дейін жалғасуда.

Бактерия таза культурасын алуда зертханада егу және қайта егу әдістері қолданылды. Егу – зерттеуге алынған материалдың бір бөлігін стерильді қоректік ортаға егу, қайта егу, қоректік ортада өскен микроорганизм культурасының бөлігін басқа жаңа стерильді қоректік ортаға ауыстыру сияқты бірнеше қайталаудан тұрады. Микроорганизм қоспасынан таза культура алуда жалпы микробиологиялық әдістер қолданылды [3].

Зертханалық жағдайда бөлініп алынған бактерия изоляттарын Петри табақшасында және пробиркадағы қиғаш «А» қоректік ортасында 28°C температурада, 5-7 тәулік бойы өсірілді, бекітілген препарат жасап штаммның тазалығы мен спора, кристалдары микроскоп арқылы қаралды. Штамм культурасына стандарт бойынша 4 мл дистилденген су құйып, сұйылту жасап Том Гораев камерасында титрі есептелінді. Титрі 1×10^7 дәрежесінде есептелініп штаммның биологиялық белсенділігін анықтау үшін жапырақ ширатқыш жұлдыз құрттарға зертханалық тәжірибелер жүргізілді [4].

Микроорганизмдердің биохимиялық қасиеттерін көмірсулар бар ортада өсіру барысында қышқыл түзу, газ түзуімен анықталынды. Қышқыл түзілуі қышқылдық белсенділігінің өзгеруімен (рН) және газ түзілуін беткі қабатта пайда болған көпіршіктермен анықталынды.

Зерттеу нәтижелері және оларды талдау

2012 жылы жүргізілген іздестіру жұмыстарының нәтижесінде бактериоздық белгісі бар өлі жәндіктердің 40 үлгісі жиналып, олардан 8 изолят бөлініп алынды. Микроорганизмдерден алынған үлгілерден жәндіктердің жүйелік жағдайы анықталынды.

Топырақ және бактериоздық белгімен ауырып өлген жәндіктерден бөліп алынған штаммдардың морфо-культуралдық қасиеттерін қарастыру сонымен бірге олардың өсуі мен кристалл түзу қабілетін бақылау үшін құрамы әртүрлі коректік орталарға нүктелеп егіп өсірілді.

Сәйкестендіру нәтижесінде пайда болған жаңа штаммның 8-і энтомопатогенді бактерия – *Bacillus thuringiensis* түршесінен екендігі анықталды және коллекциялық себінді ретінде сақтауға жіберілді. Культуралар +4-6 С температурада тоңазытқышта жақсы сақталады. Культураларды бірнеше айдан 1 жылға дейін сақтауға болады. Сақтаудың бірнеше әдістерін қолдана отырып яғни мақталы тығын, резенкелі тығын, минералды май астында және ортаны жаңарту арқылы культуралар сақталынады [5].

Бактерия штаммын «А» қоректік ортасында өсіргенде колония (S) пішінді 0,7 де 1,7 см дөңгелек, түсі сұрлау – сарғылттым, үсті тегіс болды. Консистенциясы паста тәрізді. Микроскоппен қарағанда вегетативті жасуша өлшемдері 0,8-1,5 x 3,5-5 мкм дейін, үлкен таяқша, бөлек немесе тізбектелген, споралары сопақ. Спора өлшемі 0,8 x 1,3 мкм. Штамм екі түрлі кристал түзеді: ірі қос және ұсақ квадрат. Жалпы кристал мен спора түзу уақыты 5 – 6 тәулікте, 28 – 30 ° С өсіру барысында термостатта жүргізілді. Аэробты грам оң бактериялары кристалл бөліп шығарады. 28-30°C температурада өседі. Вегетативті клеткалары үлкен қозғалғыш таяқшалар, тізбектеліп немесе жалғыз орналасқан. Клетка мөлшері (1,5-1,7) x (3,6-6,2) мкм дейін.

Даму барысы. Штаммның даму барысында ромб тәрізді кристалдар бөледі. Олардың мөлшері (0,6-0,8) x (1,3-2,0) мкм ерекше білікті түрі белоктық токсиндер, аса спецификалық, энтомоцидті эффект пен жәндіктерге әсер етеді. Олар спора түзеді, екі түрлі белок негізінде кристалдық токсиндер түзеді.

Табиғатта негізі энтомопатогенді микроорганизмдердің уыттылық қасиет көрсетуі түрлі сезімтал жәндіктердің ішегінде бактериялардың көптеп кристалдар мен токсиндер бөлуінде. Жәндіктердің ішегіне осы қосылыстарды жетерліктей мөлшері түссе зиянкестердің қырылуы 100% құрайды [6].

Энтомопатогенді бактериялар өздері өсетін ортада көмірсуларды қажет етеді. Көмірсулар дақылдардың спора мен кристалл түзулуіне жұмсалатын энергия көзі болып табылады. Биохимиялық қасиеттерімен қоса биологиялық белсенділігін зерттеуде бөлініп алынған энтомопатогенді штаммдардың 4-і қолданылды, олар ПБТ1, ПБТ2, ПБТ3, ПБТ4 белгіленді.

Зерттелініп отырған энтомопатогенді бактерия штаммдарының көмірсуларды қажет етуін анықтау үшін түрлі қанттарды қоректік орталарға қоса отырып зерттеу жұмыстары жүргізілді. Нәтижесінде көмірсу енгізіліп жасалынған орталарда штаммдардың өсу барысында қышқыл мен газдың түзілуі арқылы раекция жүргені анықталынды. Қышқыл түзілуін қышқылдық

белсенділігінің өзгеруімен (рН) және газ түзілуін беткі қабатта пайда болған көпіршіктермен анықталынды (1-кесте).

Бөліп алынған энтомопатогенді таза себінділер ПБТ-1, ПБТ-2, ПБТ-3, ПБТ-4 ацетилметилкарбанолда, лецитовителленде газ түзілуі байқалды. Салицинада және маннозалы ортада қышқыл түзеді, ПБТ-1, ПБТ-2, ПБТ-3, ПБТ-4, штаммдар сахарозада ортаның өзгеруі тіркелмеді.

Микроорганизмдердің биологиялық белсенділігін анықтауға бағытталған зерттеулерде штаммдар жоғары белсенділік көрсетіп, 83-96% құрады (2-кесте). Алынған нәтижелер осы бөлініп алынған штаммдардың айқын белсенділігін көрсетіп тұр.

1-кесте – Энтомопатогенді штаммдардың биохимиялық қасиеттері

Штаммдар №	Ацетил-метилкарбинол (АМК)	Лецитови-теллинді реакция (ЛВР)	Протеолиз	Амилаза	Уреаза	Қышқыл түзуі		
						сахароза	манноза	салицин
ПБТ1	+	+	+	+	-	-	+	++
ПБТ2	+	+	+	+	-	-	+	++
ПБТ3	+	+	+	+	-	-	+	++
ПБТ4	+	+	+	+	-	-	+	++

Ескерту: ++ – биохимиялық реакциясы интенсивті ;
+ – биохимиялық реакциясы оң ;
- - биохимиялық реакциясы теріс

2-кесте – Энтомопатогенді штаммдардың биологиялық белсенділігі

Штамм	Жапырақ ширатқыш жұлдыз құрттардың өлуі, %			
	1 тәулік	2 тәулік	3 тәулік	4 тәулік
ПБТ1	30,0±5,8	60,0±5,8	83,3±6,7	96,7±3,3
ПБТ2	16,7±3,3	33,3±3,3	73,3±8,8	83,3±8,8
ПБТ3	16,7±3,3	60,0±5,8	80,0±5,8	90,0±5,8
ПБТ4	23,3±3,3	43,3±3,3	86,7±3,3	96,7±3,3
Бақылау	0,0±0,0	0,0±0,0	3,3±3,3	10,0±5,8
БЕК	11,51	13,28	18,79	18,19

ПБТ-1, ПБТ-3 бактерияларының уыттылық қасиеті 4 тәулікте 90% көрсетті, ПБТ-2 штаммында бұл көрсеткіш орта есеппен 80% құрады. Ал ПБТ-4 штаммының уыттылығы 4-ші тәулікте орта есеппен 90% жоғары болды.

Энтомопатогенді бактериялардың негізінде алынған препараттар өндірісіне негіз болатын

ғылыми ізденіс жұмыстарының маңыздылығы жоғары, әсіресе Қазақстанда бір ғана препарат өндірісі қамтылғанын ескеретін болсақ.

Жалпы отандық препараттарды өндіру жұмыстарын белсендіру көптеген экономикалық шешімдердің негізі бола алады. Осы штаммдарды жалпы микробиологиялық әдістемелер бойынша

культуралдық-морфологиялық, физиологиялық–биохимиялық қасиеттері қарастырылып, сипаттама берілді. Бөлініп алынған микроорганизмдердің барлығы таяқша пішінді, грам оң, аэробты, өз ара кристалл мен спорасы, сонымен бірге, қоректік ортада өсуімен ерекшеленеді.

Микроорганизмдердің биологиялық белсенділігін анықтауға бағытталған зерттеулерде бөлініп алынған штамдардың жоғары белсенділікті көрсетуі, оларды басқа да зиянкестерге

қарсы тестілік жүйені кеңейте отырып, зерттеу жұмыстарын жалғастыру, бактериялардың биологиялық препараттар өндірісіне перспективтілігін айқындайды.

Ауылшаруашылығында зиянкестерге қарсы қолданылатын биологиялық препараттарға негіз болатын биологиялық белсенділігі жоғары энтомопатогенді бактериялардың отандық штамдарын бөліп алудың үлкен ғылыми-тәжірибелік маңыздылығы бар.

Әдебиеттер

- 1 Африкян Э.К. Энтомопатогенные бактерии и их значение. Ереван, 1973.-420с.
- 2 Сағитов А.О., Ашықбаев Н.Ж., Слямова Н.Д., Төлеубаев Қ.М., Дүйсембеков Б.Ә., Өсімдіктерді биологиялық қорғау. Алматы, «Қайнар», 2012.
- 3 Д.Н. Говоров, А.В. Живых, М.Ю. Проскурякова Производство биопрепаратов и энтомофагов в системе ФГБУ «Рос сельхоз центр» в 2011 г. //Вестник защиты растений № 3, 2012 г., С. 18-20
- 4 М.В. Штерншис. Тенденции развития биотехнологии микробных средств защиты растений в России // Вестник Томского государственного университета. Биология. 2012. № 2.
- 5 Герна Г. Хранение микроорганизмов. В Н.: Методы общей бактериологии. / Под ред. Ф. Герхарда. Т. 1. – М.: Мир. – 1983. –С. 12-536.
- 6 Сомов Г.П., Литвин В.Ю. Сапрофизм и паразитизм патогенных бактерий (экологические аспекты), 1988, Новосибирск.

References

- 1 Afrikyan EK Entomopathogenic bacteria and their significance. Yerevan , 1973 – 420с .
- 2 Sagitov AO, Ashikbaev NJ, Slyamova ND, Tuleubaev KM., Dysembekov B.A. Biological plant protection. Almaty, “Каунар», 2012 .
- 3 DN Dialects, AV Living, MY Proskuryakova Manufacturing biologics and entomophages system FGBU “ Ros agricultural center” in 2011 // Plant Protection News number 3 , 2012, pp 18-20
- 4 MV Shternshis. Trends in the development of microbial biotechnology of plant protection products in Russia // Bulletin of Tomsk State University. Biology . 2012. № 2 .
- 5 G. Gurney Storage microorganisms. In N .: Methods of general bacteriology. / Ed. F. Gerhard. T. 1. – M .: Mir. – 1983. -С. 12-536.
- 6 GP Somov, Litvin VY, Saprofizm parasitism and pathogenic bacteria (environmental aspects) , 1988, Novosibirsk.