

УДК 581.1.035

¹К.М. Искакова, ¹Б.Б. Анапияев*, ¹Е.Д. Азимова, ¹П.А. Момбаева, ¹Е.Б. Бейсенбек,
²А.Т. Сарбаев, ³Д.Т. Казкеев

¹Институт высоких технологии и устойчивого развития, г. Алматы, Казахстан,

²НИИ земледелия и растениеводства, Алматинская обл., Казахстан,

³Институт биологии и биотехнологии растений, г. Алматы, Казахстан,

*e-mail: bak_anapiyayev@mail.ru

Селекция *Triticum aestivum* L. на устойчивость к неблагоприятным биотическим факторам окружающей среды методом гаплоидной биотехнологии

Гаплоидная биотехнология на основе культуры изолированных микроспор *in vitro*, является эффективным методом для быстрой генетической стабилизации перспективных гибридов важных сельскохозяйственных культур. В работе приведены результаты использования гаплоидной биотехнологии на основе культуры изолированных микроспор *in vitro* сортов и гибридов мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) в экологической селекции на устойчивость к неблагоприятным биотическим факторам окружающей среды. Для культуры изолированных микроспор *in vitro* использованы питательные среды Blaydes и N6, для культивирования морфогенных каллусов, эмбриоидов и регенерации растений использовали питательную среду Мурасиге-Скуга с нашими модификациями. В результате проведенных исследований были созданы дигаплоидные линии, отобраны исходный материал для селекции пшеницы на устойчивость к ржавчинным болезням и создан новый высокопродуктивный сорт пшеницы, устойчивый к ржавчинным болезням.

Ключевые слова: *Triticum aestivum* L., гаплоидная биотехнология, дигаплоидные линии, бурая ржавчина.

К.М. Искакова, Б.Б. Анапияев, Е.Д. Азимова, П.А. Момбаева, Е.Б. Бейсенбек, А.Т. Сарбаев, Д.Т. Казкеев
Гаплоидтық биотехнология әдісін *Triticum aestivum* L. қоршаған ортаның қолайсыз биотикалық факторларына төзімділік селекциясында қолдану

Күздік бидай будандарын *in vitro* гаплоидты биотехнологияны қолдана отырып, АДГ-линиялары алынды. Олардың өнімділігі және сапасы жағынан жоғары линиялы сұрыпталды. Өзінің үлгілерінен артық өнім беретін дигаплоидтық линиялардан бидайдың «Нуреке» деген жаңа сорты алынып Алматы және Жамбыл облыстарында аудандастырылды.

Түйін сөздер: *Triticum aestivum* L., гаплоидтық биотехнология, дигаплоидтық линиялар, бурыл тат.

K.M. Iskakova, B.B. Anapiyayev, E.D. Azimova, P.A. Mombayeva, E.B. Beisenbek, A.T. Sarbayev, D.T. Kazkeev
Selection of *Triticum aestivum* L. for resistance to adverse biotic environmental factors by methods of haploid biotechnology

By using of haploid biotechnologies *in vitro* are received valuable DHL-lines of a winter wheat which have surpassed on productivity and on quality of grain of parental grades or the standard. From DHL lines has been selected the new highly productive cultivar of wheat under the name "Nureke" which has been zoned in Almaty and Zhambyl region is created.

Key words: *Triticum aestivum* L., haploid biotechnology, doubled haploids, brown rust.

В настоящее время одним из специализированных паразитов пшеницы, распространенных во всех регионах возделывания пшеницы, являются ржавчинные грибы. На растениях пшеницы паразитируют желтая ржавчина (возбудитель *Puccinia striiformis* West), стеблевая ржавчина пшеницы (возбудитель *Puccinia graminis* f. sp. *tritici*), бурая или листовая ржавчина (возбудитель *Puccinia ricondita* Rob. et. Desm. f. sp. *tritici* Erikss), образующий частые эпифитотии почти во всех регионах возделывания пшеницы [1-2].

Вредоносность ржавчины заключается в уменьшении ассимиляционной деятельности и в нарушении физиологических процессов происходящих в растениях. Установлено также, что грибы препятствует образованию в зерне глютеиновых компонентов, подавляет процессы синтеза и отложения крахмала и протеина в эндосперме зерновых культур. В годы эпифитотии ржавчинные заболевания снижают урожаи пшеницы до 30% и более, а при поражении двумя видами ржавчины потери урожая могут составить 50-60%. Длительное

возделывание сортов способствует накоплению инфекции и развитию эпифитотий. Ржавчинные грибы развиваются по сложному циклу и в результате ядерных превращений появляются новые физиологические расы. Потеря устойчивости возделываемых сортов обусловлена преодолением патогеном барьеров защиты. Химические средства защиты растений представляют опасность для окружающей среды, в связи с этим, применение их должно быть ограниченным. Самым эффективным методом контроля возбудителей ржавчинных болезней пшеницы является создание и внедрение устойчивых сортов [3-4]. В настоящее время в процессе создания современных сортов применяются методы селекции в сочетании с биотехнологии [5-7]. Одной из проблем в селекции является длительность получения константных форм из расщепляющихся гибридных популяций пшеницы. Применение гаплоидной биотехнологии в селекции позволяет сократить время на создание стабильных форм. Целью данной работы является создание перспективных гибридных популяций для получения новых форм и дигаплоидных линий пшеницы устойчивых к ржавчинным болезням и создание нового сорта для селекции пшеницы на высокую продуктивность и устойчивость к ржавчинным болезням.

Материалы и методы

Объектами исследований являются сорта, внутривидовые и отдаленные гибриды мягкой пшеницы: Казахстанская 3, Казахстанская 4, Казахстанская 10, Казахстанская 17, Казахстанская раннеспелая, Саратовская 29, Алмалы, Жетысу, Стекловидная 24, Эритроспермум 350, АДГ 1057, АДГ 1027. Для создания внутривидовых гибридов использовались изогенные линии на основе сорта "Tatchar" доноры генов- Lr19, Lr24, Lr25. При отдаленной гибридизации сорта мягкой пшеницы скрещивали с такими видами- *Triticum timopheevi* Zuck, *Triticum dicoccum*, *Triticum Kihara* и рожь Памирская. Исследования комплексной устойчивости сортов, АДГ-линий и гибридов проводили на инфекционном питомнике НПЦ земледелия и растениеводства (Алматинская обл., Карасайский р-н) по общепринятой методике. Гибриды создавались твелл методом в полевых условиях. Культивирование изолированных

микроспор пшеницы *in vitro* осуществляли по методике описанной Анапиевым Б.Б. [8]. Статистический анализ полученных данных проводили по общепринятой методике.

Результаты и их обсуждение

Исследование полевой устойчивости пшеницы к ржавчинным болезням позволило выявить наиболее устойчивые генотипы. Поражаемость сортов Богарная 56, Прогресс, Казахстанская 10, Казахстанская-4 варьировала от 40 до 80 %, тип поражения 4 балла, т.е. данные сорта являются восприимчивыми к желтой, бурой и стеблевой ржавчинам. Средневосприимчивыми оказались сорта Стекловидная-24, Омская-9, Эритроспермум-350, Саратовская-29, Алмалы. К желтой ржавчине сорта Саратовская-29 и Алмалы характеризовались как слабовосприимчивые, поражаясь на 20 %, с типом поражения 2 балла. Наибольшую устойчивой к ржавчинам показала изогенная линия Lr24: к желтой ржавчине – 2/20, к бурой – 2/10 и была невосприимчива к стеблевой ржавчине. Сходные значения устойчивости к желтой и бурой ржавчинам проявили изогенные линии Lr19, Lr25. По устойчивости к стеблевой ржавчине изогенная линия Lr25 оказалась слабовосприимчивой – 2/20, а Lr19 показала среднюю восприимчивость – 3/30, соответственно.

Во второй серии экспериментов сорта мягкой пшеницы скрещивали с донорами эффективных генов устойчивости - изогенными линиями LR19, LR24, LR25, дикими злаками: *Triticum dicoccum*, *Triticum timopheevi* Zuck., рожь Памирская и *Triticum Kihara* (таблица 1).

Отдаленная гибридизация культурной пшеницы также является эффективным методом в генетическом улучшении пшеницы в селекции на устойчивость к биотическим факторам окружающей среды. Наиболее высокий процент завязываемости отмечен в комбинациях: Казахстанская - 3 x Lr24 - 63.1 %, Казахстанская 4 x LR24 - 50.0 %, Казахстанская 10 x LR24 - 46.3 %. При отдаленной гибридизации Казахстанская 4 x Tr. Dicoccum и Казахстанская 10 x Tr. Dicoccum процент завязываемости составил 22,7 % и 15,0 соответственно. При скрещиваний Казахстанская 10 с *Tr. timopheevi*. процент завязываемости составил 22,5 %.

Следует отметить, что более высокая завязываемость семян наблюдается при

внутривидовом скрещивании по сравнению с отдаленным.

Таким образом, в результате проведенных работ создан исходный материал для селекции на устойчивость к ржавчинным болезням пшеницы. В дальнейшем были выделены перспективные гибридные популяций, которые были генетически стабилизированы на основе культуры изолированных пыльников и микроспор пшеницы *in vitro*.

В ходе проведенных исследований были созданы более 17 перспективных андроклиных дигампоидных (АДГ) линии пшеницы, которые после предварительных тестирования были переданы для размножения и использования в селекционных программах в НПЦ земледелия и растениеводства (Алматинская обл.), НИИ проблем

биологической безопасности (Жамбылская обл.) и другим научным институтам, университетам и селекционным учреждениям, крестьянским хозяйствам для использования в генетико-селекционных работах и совместных исследованиях. В результате использования усовершенствованной нами гаплоидной биотехнологии был создан первый отечественный высокопродуктивный сорт пшеницы «Нуреке». По урожайности и технологическим характеристикам созданный нами сорт пшеницы значительно превышал стандартный сорт, таблица 2. В настоящее время, новый высокопродуктивный сорт пшеницы «Нуреке» районирован в Алматинской и Жамбылской области.

Таблица 1 – Создание гибридов мягкой пшеницы с источниками генов устойчивости к ржавчинам пшеницы

| Комбинации скрещиваний | | Количество опыленных завязей | Количество полученных зерен | Процент завязываемости |
|------------------------|---|------------------------------|-----------------------------|------------------------|
| 1 | Казахстанская - 3 x <i>Lr24</i> | 76 | 48 | 63,1 |
| 2 | Казахстанская - 4 x <i>Lr24</i> | 90 | 45 | 50,0 |
| 3 | Казахстанская -10 x <i>Lr24</i> | 136 | 63 | 46,3 |
| 4 | Казахстанская -10 x <i>Lr19</i> | 44 | 23 | 27,6 |
| 5 | Казахстанская -17 x <i>Lr24</i> | 60 | 16 | 26,7 |
| 6 | Саратовская-29 x <i>Lr24</i> | 104 | 15 | 14,4 |
| 7 | Казахстанская раннеспелая x <i>Lr25</i> | 72 | 24 | 33,3 |
| 8 | Казахстанская раннеспелая x <i>Lr24</i> | 44 | 17 | 38,6 |
| 9 | Казахстанская 4 x <i>Tr. Dicocum</i> | 22 | 5 | 22,7 |
| 10 | Казахстанская 10 x <i>Tr. Dicocum</i> | 40 | 6 | 15,0 |
| 11 | Казахстанская 10 x <i>Tr.timopheevi</i> | 40 | 9 | 22,5 |

Таблица 2 – Основные хозяйственные и биологические свойства нового сорта «Нуреке»

| Показатели | Единица измерения | Новый сорт | Стандарт |
|-------------------------------|-------------------|------------|----------|
| Урожайность | ц/га | 65,4 | 57,5 |
| Натура зерна | г-л | 767 | 756 |
| Масса 1000 зерен | гр. | 43,5 | 42,6 |
| Стекловидность | % | 41,7 | 41,0 |
| Содержание сырого протеина | % | 14,3 | 14,2 |
| Показатель альвеографа | дт | 383 | 222 |
| Объемный выход хлеба | мм ³ | 1030 | 803 |
| Вегетационный период | дн | 270 | 272 |
| Высота растений | см | 102 | 101 |
| Продуктивная кустистость | шт | 3,4 | 3,2 |
| Устойчивость против полегания | балл | 4 | 4 |
| Число зерен в колосе | шт | 41 | 41 |
| Осыпаемость | балл | 5 | 5 |

Продолжение таблицы 2

| | | | |
|----------------------------|---------|------|------|
| Ломкость колоса | балл | 5 | 5 |
| Зимостойкость | % | 95 | 94 |
| весенним | балл | 5 | 5 |
| Осенним | балл | 5 | 5 |
| Засухоустойчивость | балл | 4 | 4 |
| Поражение бурой ржавчиной | Балл, % | 4/40 | 4/50 |
| Поражение твердой головней | % | 13,6 | 35,0 |

В результате проведенных экспериментальных работ создана воспроизводимая модельная система получения гаплоидов и стабильной регенерации растений в культуре микроспор пшеницы *in vitro*, разработана и усовершенствована гаплоидная биотехнология, которая успешно может быть использована в экологической селекции пшеницы на

устойчивость к биотическим и абиотическим стрессовым факторам окружающей среды, клеточной селекции и генетической инженерии растений. На основе использования усовершенствованной нами гаплоидной биотехнологии на основе культуры изолированных микроспор *in vitro* был создан новый сорт пшеницы «Нуреке».

Литература

- 1 Турапин В.П., Мостовой В.А. Ржавчинные болезни зерновых культур в Республике Казахстан и меры борьбы с ними // - Алматы. 1995. - 142 с.
- 2 Палилова А.Н., Лосева З.И. Особенности изоферментных спектров кислой фосфатазы и эстеразы у изогенных линий мягкой пшеницы при заражении бурой ржавчиной. // Цитология и Генетика. - 1991. - Т. 25. №2. - С. 49-52.
- 3 Жигалкина Т.Е. Выделение цитокининов проростающими уредоспорами стеблевой ржавчины пшеницы // Физиология Растений. - 1986. - Т. 33. Вып. 3. - С. 513-517.
- 4 Койшибаев М.К. Болезни зерновых культур. – Алматы: Бастау, 2002. - 368 с.
- 5 Zheng M.Y. Microspore culture in wheat (*Triticum aestivum* L.) – doubled haploid production via induced embryogenesis // Plant Cell, Tissue and Organ Culture. – 2003. V. 73 – P. 213 – 230.
- 6 Вавилов Н.И. Избранные сочинения. Генетика и Селекция. – М.: Колос, 1966. - С. 254-285.
- 7 Basu S.K., Datta M., Sharma M., Kumar A. Haploid production technology in wheat and some selected higher plants // Australian Journal of Crop Science. - 2011. N. 5(9). - P. 1087-1093.
- 8 Анапияев Б.Б. Культура микроспор и гаплоидная биотехнология пшеницы. – Алматы, 2001. - 220 с.

УДК 502.5:712.2

Г.К. Кайырманова*, А.А. Жубанова, А.К. Ерназарова, Н.Ш. Акимбеков,
Г.Ж. Абдиева, П.С. Уалиева

Казахский национальный университет имени аль-Фараби, г. Алматы, Казахстан

*e-mail: Gulzhan.Kaiyrmanova@kaznu.kz

Получение микробных ассоциаций, используемых для биоремедиации нефтеотходов месторождения «Жанажол»

Сконструированы 4 активные микробные ассоциации на основе одной коллекционной и 2 аборигенных культур микроорганизмов, обладающих высокой нефтеокисляющей и эмульгирующей активностями. Для дальнейших полевых ремедиационных работ рекомендованы 2 ассоциации, состоящих из 2-х культур - *Ps. ssp.БШС-1:Ps.aeruginosa H14*; и состоящая из 3-х культур микроорганизмов - *Ps. ssp.ЗГ-2:БШС-1:Ps.aeruginosa H14*.

Ключевые слова. Ассоциация, углеводородокисляющие микроорганизмы, биоремедиация, биodeградация, полигон-накопитель.

Г.К. Кайырманова, А.А. Жубанова, А.К. Ерназарова, Н.Ш. Акимбеков, Г.Ж. Абдиева, П.С. Уалиева
«Жанажол» кен орнының мұнай қалдықтарын биоремедиациясында қолданатын микробтық ассоциацияларын алу

Коллекциялық және екі аборигенді микроорганизмдер дақылдарының негізінде мұнай тотықтырушы және эмульгирлеуші белсенділіктері жоғары төрт белсенді микробтық ассоциациялар құрастырылды. Далалық ремедиациялық жұмыстар үшін екі ассоциациялар ұсынылды: екі дақылдан тұратын – *Ps.ssp.БШС-1:Ps.aeruginosa H14* және үш микроорганизмдер дақылынан тұратын – *Ps.ssp.ЗГ-2:БШС-1:Ps.aeruginosa H14*.

Түйін сөздер. Ассоциация, көмірсутектотықтырушымикроорганизмдер, биоремедиация, биodeградация, полигон-жинақтаушы.

G.K.Kaiyrmanova, A.A.Zhubanova, A.K. Yernazarova, N.S.Akimbekov, G.J.Abdieva, P.S. Ualieva

Receipt microbial associations used for of bioremediation of oil wastes of deposit "Janajol"

Designed 4 active microbial associations on the basis of one collector and two aboriginal cultures of microorganisms that have a high oil-oxidizing and emulsifying activity. To further the field of remediation works recommended two associations, consisting of 2cultures – *Ps. ssp.БШС-1:Ps.aeruginosa H14*, and consists of 3 cultures of microorganisms – *Ps. ssp.ЗГ-2: БШС-1:Ps. Aeruginosa H14*.

Keywords: association, thehydrocarbon-oxidizing microorganisms, bioremediation, biodegradation, cyanobacteria, polygon.

На современном этапе развития технологии нефтедобычи при эксплуатации нефтяных месторождений образуются большие объемы отходов: нефтяные шламы, буровые химреагенты, замазученный грунт [1, 2].

Утилизации подлежат все нефтеотходы, хранящиеся в местах складирования, а также вновь образовавшиеся нефтезагрязненные грунты, собранные с мест аварийных разливов и добычи нефти. Загрязненный субстрат содержит различное количество нефтепродуктов в зависимости от морфологических, структурных, физико-химических и генетических особенностей конкретного почвенного покрова. Загрязнения

могут быть представлены нефтяными углеводородами как свежими, так и давними с повышенным содержанием парафинов, смол, асфальтенов [3].

Для ликвидации отходов нефтедобычи на полигонах-накопителях в настоящее время необходима разработка новых препаратов, способных в конкретных условиях деструктировать высококонцентрированные загрязнения органической природы. Создание биотехнологии, направленной на детоксикацию и утилизацию нефтеотходов, предполагает исследование микробиологического статуса этой антропогенной экосистемы, поскольку наиболее приспособленными к

специфическому для экосистемы загрязнителя являются представители аборигенной микрофлоры и создание на их основе препарата - нефтедеструктора для конкретных условий [5-7].

Цель работы - создать на основе аборигенных и коллекционных культур микробные ассоциации, обладающие высокой нефтеокисляющей и эмульгирующей активностью.

В работе были использованы 3 углеводородокисляющие культуры микроорганизмов: из коллекции кафедры биотехнологии Казахского национального университета им. аль-Фараби: *Pseudomonasaerogenosa* H14 и выделенные из нефтяных отходов полигона-накопителя месторождения «Жанажол» Актюбинской области *Ps. ssp.* БШС-1, *Ps. ssp.* ЗГ-2.

Для конструирования ассоциации использовались следующие варианты ассоциаций:

1. ЗГ-2:*Ps. aeruginosa* H14
2. БШС-1:*Ps. aeruginosa* H14
3. БШС-1:ЗГ-2:*Ps. aeruginosa* H14
4. БШС-1: ЗГ-2.

Суспензия бактерий готовилась в МПБ в течении 24-48 часов. Затем инокулят добавляли в количестве 10% объемных в минимальную синтетическую среду Е8 с 30% содержанием нефти с расчетом 1:1, в случае использования 2 культур и, соотношение 1:1:1, в случае использования 3 культур.

Нефтеокисляющую активность сконструированных ассоциаций микроорганизмов изучали по росту культур на жидкой среде Е-8 с добавлением нефти в условиях аэрации в течении 12-15 суток при комнатной температуре. Нефть вносили непосредственно в ростовую среду в качестве единственного источника углерода и энергии. При составлении ассоциаций микроорганизмов численность подсеваемых микроорганизмов определяли методом Коха путем подсчета КОЕ на МПА, бактерии вносили в количестве 0,4-0,5 ед. оптической плотности, что соответствовало количеству 12-16 млн. кл/мл.

Скорость роста культур в жидкой синтетической среде контролировали нефелометрически на фотоколориметре КВК 2МП в стандартных кюветах с длиной

оптического пути 1 см при длине волны 540 нм. Также проводили корреляцию количества клеток в ферментируемой жидкости модифицированным методом Коха с периодичностью 24 часа, т.е. пробы ежедневно отбирались по 2 мл, которые отсеивались на МПА для подсчета ОМЧ и изучения макро- и микроморфологических свойств УОМ.

Изучение роста углеводородокисляющих монокультур: аборигенных - *Ps. ssp.* БШС-1, *Ps. ssp.* ЗГ-2; коллекционной – *Ps. aeruginosa* H14 и созданных на их основе ассоциаций микроорганизмов-деструкторов проводилось в среде с содержанием нефти 30%, где нефть использовалась в качестве единственного источника углерода и энергии.

В качестве контроля для вариантов с содержанием 30% нефти использовались варианты с содержанием сахарозы - единственного источника углерода и энергии в среде.

Нефтеокисляющую способность монокультур и ассоциаций определяли косвенно, по двум коррелирующим показателям: оптической плотности (прирост биомассы) и количества микробных клеток в суспензии.

Показано, что все культуры размножаются на среде с высоким содержанием нефти, причем адаптационная фаза клеток не превышает 24 часов. Для клеток *Ps. aeruginosa* H14, *Ps. ssp.* ЗГ-2 в монокультуре наблюдается явление диауксии, что показывает переключение бактерий с одного источника углерода на другой в составе нефти. Следует отметить активное размножение коллекционной культуры клеток *Ps. aeruginosa* H14 с первых суток, пик наибольшего показателя количества клеток в среде составил 490×10^6 кл/мл на 5-ые сутки, аборигенные культуры *Ps. ssp.* БШС-1 и *Ps. ssp.* ЗГ-2 показали более низкие результаты 330×10^6 кл/мл и 880×10^6 кл/мл, соответственно. В экспериментах лучшие результаты наблюдались для ассоциаций на основе *Ps. ssp.* БШС-1:*Ps. aeruginosa* H14 и *Ps. ssp.* ЗГ-2:*Ps. ssp.* БШС-1:*Ps. aeruginosa* H14, так на 5-7 сутки культивирования и показатель ОМЧ составлял 550×10^6 кл/мл, 760×10^6 кл/мл, соответственно, при исходном показателе равном $12-14 \times 10^6$ кл/мл.

Исходные среды с содержанием 30% нефти представляют собой эмульсии типа «масло-вода», причем нефть образует на поверхности однородную пленку толщиной 3-5 мм темно-коричневого цвета. К концу эксперимента, на 15-е сутки, исчезает нефтяная пленка, происходит осветление среды до светло-коричневого цвета, среда становится жидкой, на дно выпадает хлопьевидный осадок.

Такие визуальные изменения ферментируемых сред наблюдались во всех вариантах как с моно-, так и смешанными культурами, но с различной интенсивностью, коррелирующей с результатами роста культур и ассоциаций микроорганизмов на среде с высоким содержанием нефти.

Изучение макро- и микроморфологических свойств углеводородокисляющих культур микроорганизмов показало, что в процессе культивирования на среде с высокой концентрацией нефти происходит уменьшение, как колоний, так и клеток микроорганизмов, что возможно, связано с механизмами резистентности клеток микроорганизмов к высокой концентрации нефти в среде.

Изучение индекса эмульгирования изучаемых монокультур и созданных на их основе ассоциаций микроорганизмов - *Ps.ssp.3Г-2 :Ps.ssp.БШС-1*; *Ps.ssp.3Г-2 : Ps. aeruginosa H14*; *Ps.ssp.БШС-1 : Ps.aeruginosa H14*; *Ps.ssp.3Г-2 : Ps.ssp.БШС-1 : Ps. aeruginosa H14*, соединенных в соотношении 1:1 установлено, что, на всех используемых субстратах (нефть, дизельное топливо, гексан, бензол и бензин), монокультуры и ассоциации микроорганизмов показали индекс эмульгирования выше 50%, что является показателем потенциальной перспективности микроорганизмов как продуцентов биоПАВ [8-10]. Среди ассоциаций микроорганизмов лучшие показатели индекса эмульгирования показаны для 2-х ассоциаций на основе *Ps.ssp.БШС-1 :Ps. aeruginosa H14* и

Ps.ssp.3Г-2xБШС-1 :Ps.aeruginosa H14, и показатель этот составил 88% и 89%.

Выявлено, что ассоциации на основе *Ps.ssp.3Г-2 :Ps.ssp.БШС-1* и *Ps.ssp.3Г-2:Ps. aeruginosa H14* показали результаты индекса эмульгирования ниже чем в составляющих их монокультурах – 69% и 71%, соответственно, что возможно является свидетельством отрицательных взаимоотношений культур в ассоциациях. Такие данные коррелируют с результатами, полученными при росте монокультур и ассоциаций микроорганизмов на среде с 30% содержанием нефти.

Следует отметить, что в контрольных вариантах, где монокультуры и ассоциации микроорганизмов, культивировались без нефти с содержанием сахарозы как единственного источника углерода на минимальной синтетической среде на 3-4 сутки, как монокультуры, так и сконструированные на их основе ассоциации образовывали агрегаты клеток в виде плотных шарообразных и ленточных структур.

Таким образом, получены 4 активные микробные ассоциации на основе одной коллекционной и 2 аборигенных культур микроорганизмов, обладающих высокой нефтеокисляющей и эмульгирующей активностями. Для дальнейших полевых ремедиационных работ рекомендованы 2 ассоциации, состоящих из 2-х культур - *Ps.ssp.БШС-1:Ps.aeruginosa H14*; и состоящая из 3-х культур микроорганизмов - *Ps. ssp.3Г-2:БШС-1:Ps. aeruginosa H14*.

Для апробации в полевых условиях полученных ассоциаций микроорганизмов-деструкторов, осенью 2013 г. были заложены на экспериментальном участке полигона-накопителя твердых отходов (карта 1) ТОО «ХимпромСервис» месторождения «Жанажол» Актюбинской области варианты с ассоциацией № 1.

Литература

- 1 Кенжетаяев Г.Ж., Аязбаев Э.Х. Оценка эколого-экономического риска при размещении нефтеотходов. ДГП «Институт горного дела им. Д.А.Кунаева», Научно-техническое обеспечение горного производства, 2004. – С. 133-139.
- 2 Информационно-аналитический отчет по контрольной и правоприменительной деятельности Актюбинской экологической инспекции за 2010 год / Министерство охраны окружающей среды Республики Казахстан. Тобыл-Торгайский департамент экологии. – Актюбе, 2010. – 200 с.
- 3 Ягафарова Г.Г. Инженерная экология в нефтегазовом комплексе. - Уфа: Изд. УГНТУ, 2007. – 334 с.

- 4 Рекомендации по использованию биопрепарата «Деворойл» для очистки объектов железнодорожного транспорта от загрязнения нефтепродуктами. – Москва: Мир, 1999. - 21 с.
- 5 Сапарбекова А.А., Исаева А.У., Куатбеков А.М., Илялетдинов А.Н. Использование микроорганизмов для биорекультивации нефтезагрязненных земель на территории Южно-Казахстанской области // Известия МОН РК НАН РК. Серия биологическая и медицинская. - 2001. - №6. - С. 14-19.
- 6 Кайырманова Г.К., Жубанова А.А., Ерназарова А.К. и др. Изучение способностей микроорганизмов для биоремедиации отходов нефтедобычи. «Вестник КазНУ. Серия экологическая» 2013, №2/2(38), С.169-173.
- 7 Жаров О.А. Современные методы переработки нефтешламов // Экология производства. -2004. -№5. -С.43-51.
- 8 Jaysree R.C., Subham B., Priyanka P.S. Isolation of biosurfactant producing bacteria from environmental samples // Pharmacology online. – 2011. – V. 63. – P. 1427-1433.
- 9 Palashpriya D., Soumen M., Ramkrishna S. Substrate dependent production of extracellular biosurfactant by a marine bacterium // Bioresource Technology. – 2009. – V. 57. – P. 1015-1019.
- 10 Person A., Molin G. Capacity for biosurfactant production of environmental *Pseudomonas* and *Vibrionaceae* growing on carbohydrates // Appl. Microbiol. and Biotechnol. – 1987. – Vol.26. - N 5. – P. 439-442.