

3. Steliana Clapco. Селекция некоторых штаммов микромицетов продуцентов пектолитических ферментов и оптимизация условий развития и биосинтеза: Автореф. .... докт.биол.наук. – Румыния, 2006. – 26 с.
4. Блиева Р.К. Устройство для культивирования микроорганизмов в нитчато-губчатой структуре. Патент РФ №1047954.
5. Блиева Р.К. Теоретическое обоснование и экспериментальное подтверждение преимущества культивирования микромицетов-продуцентов ферментов в нитчато-губчатой структуре перед пеллетами (Биологические подходы к решению актуальных проблем...) Кызылорда, - 2011. - С. 111-114.
6. Сафуани Ж.Е. Биосинтез протеолитических ферментов иммобилизованной культуры *Aspergillus awamori* 2-10 и использование их для мягчения конского мяса: Автореф. ... канд.биол.наук. – Алматы, 2005. – 17 с.
7. Калиева А.К. *Penicillium cyclopium* 2-11 пектинлиаза ферменттерінін биосинтезі және оларды синтетикалық жуғыш заттарда іс жүзінде қолдану: Автореф. ... канд.биол.наук. – Алматы, 2006. - 17 с.
8. Шигаева М.Х. Селекция дрожжей. – Алма-ата: Наука, 1975. – 150 с.
9. Steliana Clapco. Селекция некоторых штаммов микромицетов продуцентов пектолитических ферментов и оптимизация условий развития и биосинтеза. - Автореф. .... докт.биол.наук. – Румыния, 2006. – 26 с.
10. Михайлова Р.В., Семашко Т.В., Лобанок А.Г. и др. Спонтанная изменчивость *Penicillium funiculosum* (штамм БИМ 7-15) – продуцента глюкозооксидазы // Микробиология и фитопатология. – 2001. – Т.35. – Вып.5. – С. 73-79.
11. Михайлова Р.В., Жуковская Л.А., Лобанок А.Г. Изучение спонтанной изменчивости *Penicillium adamezii* ЛФ F-2044 – продуцента глюкозооксидазы // Прикладная биохимия и микробиология. – 2007. – Т. 43. - №2. – С. 229-233.
12. Блиева Р.К., Искакбаева Ж.А. Селекция микромицетов-продуцентов ферментов // Биотехнология. Теория и практика, - 2008. - №2. - С. 24-30.

\*\*\*

Бұл мақалда көп жылдар бойы әртүрлі өндіріс аумағына және ауылшаруашылықта қолданылатын энзимдердің биосинтезін жоғарылату жолдары зерттеулеріне нәтиже берілген. Ферменттердің мақсатты биосинтезі үшін физиологиялық бақылау жүргізілуі керек екені көрсетілген және микромицеттерді экономикалық жағынан тиімді әрі өнімділігін жоғарылату мақсатында жіпті-губкалы құрылымдағы табаншаларды қолдану әдісі өңделген. Ферменттердің микромицет-продуценттерінің жоғалған белсенділігін қалпына келтіретін және белсенділігін 3-тен 10 есеге дейін көтеретін, кейбір жағдайда 30 есеге дейін жоғарылатын тиімді селекцияның әдісі өңделген.

УДК 579:631.811.98

*Ж.Т. Ботбаева, А.П. Науанова, Р. Ж. Әбдукерім*

#### РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИИ ПОЛУЧЕНИЯ ЭФФЕКТИВНОГО БИОФУНГИЦИДА – СТИМУЛЯТОРА РОСТА РАСТЕНИЙ НА ОСНОВЕ МИКРООРГАНИЗМОВ

(Казахский агротехнический университет им. С Сейфуллина, e-mail: [zhanar.b.t@mail.ru](mailto:zhanar.b.t@mail.ru))

*В этой статье представлены методы разработки эффективного биофунгицида на основе селекционных активных штаммов бактерий рода *Bacillus*, которые были генотипированы по гену *16s* РНК. Определено распространение и развитие фузариозно-гельминтоспорозной инфекции, а также корневой гнили зерновых культур. Определена биологическая и выявлена хозяйственная эффективность использования биофунгицида в технологиях выращивания пшеницы.*

Заболевания растений являются одним из факторов, серьезно ограничивающих продуктивность сельского хозяйства во всем мире. Ежегодный ущерб, причиняемый фитопатогенными микроорганизмами, значительная часть которых представлена паразитическими грибами, составляет, по разным оценкам, от 15 до 20% общей продуктивности мирового растениеводства [1].

Сегодня практически нет незараженных семян и, в зависимости от погодных условий, в период вегетации семена могут быть заражены до 70%. В семенном фонде большинства хозяйств, практически отсутствует здоровый материал, почти каждая партия семян в той или иной мере заражена различными патогенными микроорганизмами. Так, на ячмене преобладают *Bipolaris sorokiniana* (Sacc.) Shoemaker, виды родов *Alternaria*, *Fusarium*. Во влажные годы в общем комплексе грибов на семенах ячменя встречаемость *Bipolaris sorokiniana* может достигать 47,6%, видов р. *Alternaria* – 31,7%, р. *Fusarium* – 17,5%; на озимой пшенице – видов р. *Alternaria* – 51,7%, р. *Fusarium* – до 15%. Пораженность семян различных сортов яровой пшеницы находится в пределах 47,5 – 62,3%, из них р. *Fusarium* – 23 – 37,5%, р. *Alternaria* – 10 – 34,4% [2, 3].

В настоящее время стратегия биологического метода защиты растений от болезней не ставит задачу полного уничтожения вредных организмов, а ориентирует на регулирование популяции патогена на уровне ниже экономического порога вредоносности [4]. В связи с этим применение микробиологических средств защиты растений требует глубокого изучения биологических особенностей взаимоотношения патогена с растением – хозяином и почвенным микробным ценозом. В борьбе с грибными болезнями сельскохозяйственных культур перспективно использование микробов – антагонистов. Они снижают пораженность растений болезнями, стимулируют рост и развитие, увеличивают урожайность, не загрязняют окружающую среду [3, 4, 5]. Против возбудителей корневой гнили разработаны способы обогащения ризосферы зерновых культур антагонистами путем обработки

семян фунгицидами [6]. Поэтому разработка эффективных фунгицидов на основе полезных микроорганизмов-антагонистов в настоящее время является актуальной задачей защиты растений от заболеваний.

Цель исследований – разработать на основе селекционных активных штаммов бактерий рода *Bacillus* эффективного биофунгицида от фузариозно-гельминтоспориозной инфекции зерна и корневой системы.

### Материалы и методы исследования

Полевые опыты были проведены на полях ТОО «Нива» Акмолинской области Северного Казахстана. Отбор почвенных образцов проводили методом конверта на глубину пахотного слоя (0-10, 10-20, 20-30 см). Для постановки модельного эксперимента использовали емкости со стерильной почвой по 200 гр. в каждом варианте, затем почву инокулировали суспензией из консорциума фитопатогенных грибов *Fusarium heterosporum*, *Fusarium oxysporum*, *Bipolaris sorokiniana* перемешивали стерильным шпателем и добавляли наполнитель в количестве 20 гр., затем вносили по 20 мл культуральной жидкости 3-х суточной культуры микроорганизмов. Для получения биомассы фитопатогенных грибов использовалась питательная среда Чапека-Докса, после стерилизации в среду добавлялось небольшое количество спор грибов. Затем колбы ставились в термостатируемый шейкер при 30С<sup>0</sup> 130 об/мин и культивировали 7 суток.

В качестве исследуемых объектов были использованы два консорциума на основе разных штаммов микроорганизмов рода *Bacillus*, которые были отобраны по антагонистической активности. В качестве наполнителей консорциумов подобран наполнитель - цеолит. Консорциум №1 состоит из *Bacillus* шт. 9, шт. 29, шт. 31, шт. 2+цеолит). Консорциум №2 состоит из *Bacillus* шт. 18, шт. 46, шт. 31, шт. 9+цеолит.

Выделение ДНК из исследуемых штаммов-антагонистов провели с помощью специального набора фирмы «Fermentas». Чтобы увидеть фрагменты выделенного ДНК амплифицированных фрагментов провели электрофорез при напряжении 5V/см<sup>3</sup> в течение 1 часа. Для проведения амплификации 16s РНК с помощью прямого праймера — *AGA GTT TGA TCC TGG CTC AG* и обратного праймера - *GGA CTA CCA GGG TAT CTA AT*. Очистка сиквенс продукт продуктов провели с помощью *Ac Na* (ацетат натрия).

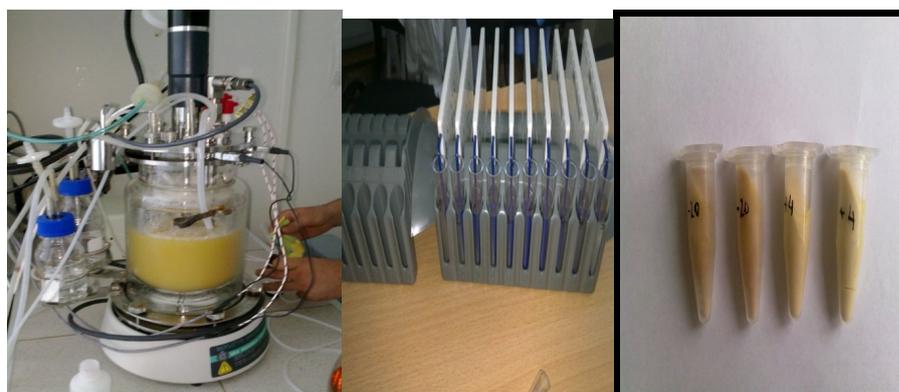
Микологический анализ пораженных частей растений и семян проведен по методике М.К. Хохрякова [7] и Н.А. Наумовой [8]. Для идентификации видового состава фитопатогенных грибов используются определители: В.И. Билай [9], М.А. Литвинова [10], Б.А. Хасанова [11], монография Б.Д. Ермаковой [12]. Нарработку эффективного фунгицида проводили в ферментере «Bioflo 110» объемом 2 литра. Интенсивность поражения пшеницы корневой гнилью устанавливали по 4-х бальной шкале [13].

### Результаты и обсуждение

Для идентификации были взяты 6 штаммов микроорганизмов показавшие наиболее лучшие результаты по антагонистической активности. Идентификация бактерий вида *Bacillus* основана на обнаружении и амплификации фрагмента гена с помощью полимеразной цепной реакции, которая представляет собой многократное циклическое повторение трех процессов: тепловая денатурация ДНК в исследуемой пробе; гибридизация (отжиг) исследуемой ДНК со специфическими олигонуклеотидными зондами (праймерами); синтез комплементарных цепей ДНК с помощью термостабильной ДНК-полимеразы. выделение суммарной ДНК; ПЦР, то есть реакция амплификации фрагмента гена 16s РНК, электрофорез продуктов ПЦР в агарозном геле. Подробное описание идентификации с помощью молекулярно-генетических методов указанных штаммов ранее нами была опубликована [14].

На основе проведенных молекулярно-генетических методов исследуемый штаммы рода *Bacillus* *sp.18*, *Bacillus sp. 46* относятся к виду *Bacillus pumilus*, что максимальная их гомология составляет 99,0%, штаммы *Bacillus sp.2* *Bacillus sp.29* относятся к *Bacillus subtilis* (99%), и штаммы *Bacillus sp.31*, *Bacillus sp.9* гомологичны со штаммом *Bacillus cereus* (99%). Для разработки эффективного фунгицида необходимо наработка биомассу в ферментере. Нарработку проводили в ферментере «Bioflo 110» объемом 2 литра (рисунок 1а).

По окончании процесса культивирования, отбирают пробы для определения количества бактерий и отсутствия посторонней микрофлоры. Культуральную жидкость из ферментера передают в передвижные емкости. Далее бактериальную суспензию (рисунок 1б) концентрировали с помощью центрифуги при 4000 об/мин., в течение 30 мин для хранения в разных температурных режимах (-20<sup>0</sup> и -4<sup>0</sup>).



а) б) в)

Рисунок 1- Процесс культивирования в ферментере штаммов– антагонистов из рода *Bacillus*

- а) Процесс наработки микробной суспензии в ферментере «Bioflo 110»  
 б) передвижные емкости для приема культуральной жидкости из ферментера  
 в) Концентрированные микробные суспензии

На полях ТОО «Нива» заложен полевой опыт в пяти вариантах в трехкратной повторности с растениями пшеницы инокулированных биофунгицидным препаратами консорциум №1 и консорциум №2. Опыты заложены на естественном инфекционном фоне. В качестве контроля использовали посе́вы пшеницы без инокулирования штаммами бактерий.

В текущем году исследований распространение и развитие корневой гнили пшеницы наблюдалось в течение всего вегетационного периода. В условиях 2011 года развитие болезни в фазу кушения колебалось в пределах 17,0 – 22,2%. Наибольшее распространение корневых гнилей в фазу кушения варьировало от 33,3% до 52,6% (таблица 1).

Таблица 1 – Распространение и развитие корневых гнилей в посевах пшеницы, 2011 г.

Вариант	Распространение болезни, %		Развитие болезни, %	
	кушение	полная спелость	кушение	полная спелость
Контроль	57,7	35,4	21,5	13,7
Консорциум 1	52,6	27,2	17,5	8,8
Консорциум 2	48,9	22,7	17,0	6,8

В условиях Северного Казахстана яровые зерновые культуры, в частности пшеница, ежегодно поражаются корневыми гнилями (возбудители – грибок *Bipolaris sorokiniana* и некоторые виды рода *Fusarium*). Повреждение корневой системы, эпикотеля и основания стебля зачастую приводит к гибели растений или отрицательно влияет на формирование элементов структуры урожая [15]. Развитие болезни в фазу полной спелости находилось в пределах 6,8- 8,8%.

Наибольшее распространение и развитие корневых гнилей на момент уборки урожая отмечено на контрольном варианте 35,4% и 13,7% соответственно. Биопрепараты ограничили развитие болезни в среднем на 3,8-21,3% (таблица 2).

Таблица 2 – Биологическая и хозяйственная эффективность использования биопрепаратов против корневой гнили в посевах пшеницы, 2011 г.

Вариант	Биологическая эффективность, %	Хозяйственная эффективность, %
Контроль	-	-
Консорциум 1	21,3	3,8
Консорциум 2	20,8	8,6

Из таблицы 2, можно сделать вывод, что против корневой гнили наиболее эффективным фунгицидом является - Консорциум 2. Хозяйственная эффективность биофунгицида Консорциум 2 превышает на 8,6% контрольного варианта.

## Заключение

Таким образом, можно сделать вывод, что в условиях острозасушливого 2011 года внесение в почву биологического фунгицида снижает распространение корневой гнили на 5,1-24,4% по сравнению с контролем в фазу кущения. Распространение болезни колебалось в пределах 22,7-52,6%. Несмотря на это к фазе полной спелости выявлено снижение отмеченных показателей на вариантах, где семена были обработаны Консорциумами 1 и 2, где развитие болезни не превышало 10-12%. В 2011 году фунгицидная активность препаратов привела к снижению корневой гнили на 4-10%. Биологическая эффективность, т.е. процентное снижение развития болезни на опытном варианте по сравнению с контролем Консорциумов 1 и 2 против корневой гнили пшеницы была высокая (20,8-21,3%).

Полученные результаты расширяют область использования экологически безопасных технологий защиты растений. Среди биологических средств защиты растений от вредных организмов антагонисты представлены весьма слабо. Полученные нами данные частично восполняют этот пробел.

1. Сатубалдин К.К., Менликиев М.Я., Сангинас Л.А., Никитин С.Б. Интеграл – высокоэффективный биологический препарат комплексного действия // ЗАО научно производственная система «Элита-комплекс». - 2002. – С.3–4.
2. Санин С.С., Черкашин В.И., Назарова Л.Н., Соколова Е.А. Фитосанитарная экспертиза зерновых культур. - М.: ФГНУ «Росинформагротех». - 2002. – 140 с.
3. Долженко В.И., Котикова Г.Ш., Здрожевская С.Д. Средства защиты растений для предпосевной обработки семян. – Санкт-Петербург: Всероссийский НИИ защиты растений (ВНИИ). - 2001. – 54 с.
4. Пересыпкин В.Ф. Сельскохозяйственная фитопатология. – М.: Агропромиздат. - 1989. – 480 с.
5. Левитин М.М., Тютюрев С.Л. Грибные болезни зерновых культур // Защита и карантин растений. – 2003. – №11. – С. 48.
6. Зинченко В.А. Химическая защита растений: средства, технология и экологическая безопасность. – М.: Колос С. - 2006. – 232 с.
7. Хохряков М.К. Морфолого-биологическое обоснование систематики грибов рода *Helminthosporium* (sensu lato) на злаках. - Автореф. докт. биол. наук. – Ленинград. - 1953. - 30 с.
8. Наумова Н.А. Анализ семян на грибную и бактериальную инфекцию. – М.: - 1960. – 37 с.
9. Билай В.И. Фузариозы. Киев. - 1977. – 442 с.
10. Литвинов М.А. Определитель микроскопических почвенных грибов. Л.: - 1967. – 303 с.
11. Хасанов Б.А. Обзор грибов из рода *Bipolaris* Shoem // Микология и фитопатология. - 1991. - Т.25. - вып.4. - С. 360-366.
12. Ермекова Б.Д. Почвенные грибы и обыкновенная корневая гниль колосовых зерновых. - Алма-Ата: Наука. - 1988. - 144 с.
13. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта. - М.: Агропромиздат. - 1985. - 351 с.
14. Ботбаева Ж.Т. и др. Идентификация почвенных штаммов бактерий-антагонистов рода *Bacillus* молекулярно-генетическими методами // Вестник КАТУ. - 2011. - №1 (67). - С.44-49.
15. Егорычева М.Т., Бурлакова С.В. Эффективность предпосевного протравливания семян // Защита и карантин растений. – 2009. - №8. - С. 43-44.

\*\*\*

Бұл мақалада *16s rDNA* гені бойынша генотипирленген белсенді *Bacillus* туысына жататын штамдары негізінде дайындалған тиімді биофунгицидті өңдеу әдістері көрсетілген. Астық тұқымдастарындағы фузариозно-гельминтоспориозды және тамыр шіріктері инфекцияларының дамуы және таралуы анықталған. Биофунгицидтерді астық тұқымдастарының аталған ауруларына қарсы қолдану кезіндегі биологиялық және шаруашылық тиімділігі анықталған.

\*\*\*

This article shows how to develop effective biofungicides based on breeding strains of bacteria *Bacillus* which were genotyped by *rDNA* gene *16 S*. Defined the dissemination and development of fusariozo-gelminthosporious infection, as well as root rot agriculture crops. Define biological and economic efficiency of the utilization of biofungicides identified in wheat cultivation technology.

УДК 608.2:62.

*М.Т. Велямов, Н.Н. Дарахунова, Р.Ж. Бержанова*

### ОБОГАЩЕНИЕ ОВОЩНЫХ НАПИТКОВ ПЕКТИНОМ ЯВЛЯЕТСЯ ЖИЗНЕННО ВАЖНЫМ

(ТОО «КазНИИ перерабатывающей и пищевой промышленности»<sup>1</sup> КАИ МСХ РК, Казахский национальный университет им. аль-Фараби<sup>2</sup>)

В настоящей работе проанализированы результаты исследований по актуальности производства овощных напитков и эффективности получения ферментативным методом пектина, основанный на микробиологическом способе извлечения, из выжимок овощей и обогащения им напитков для получения полноценных с оздоровительными свойствами продуктов.

В современных условиях роста стрессовых ситуаций и ухудшения экологической обстановки важное место в питании человека отводится биологически ценным продуктам переработки