

ISSN 2518-1629 (Online),
ISSN 2224-5308 (Print)

ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫ
ҰЛТТЫҚ ҒЫЛЫМ АКАДЕМИЯСЫНЫҢ
С. Ж. Асфендияров атындағы Қазақ ұлттық медицина университеті

Х А Б А Р Л А Р Ы

ИЗВЕСТИЯ

НАЦИОНАЛЬНОЙ АКАДЕМИИ НАУК
РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН
Казахский национальный медицинский
университет им. С. Д. Асфендиярова

NEWS

OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES
OF THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN
Asfendiyarov
Kazakh National Medical University

**SERIES
OF BIOLOGICAL AND MEDICAL**

5 (341)

SEPTEMBER – OKTOBER 2020

PUBLISHED SINCE JANUARY 1963

PUBLISHED 6 TIMES A YEAR

ALMATY, NAS RK

Бас редактор

НҮРҒОЖИН Талғат Сейітжанұлы, медицина ғылымдарының докторы, профессор, ҚР ҰҒА корреспондент мүшесі (Алматы, Қазақстан) Н = 10

РЕДАКЦИЯ АЛҚАСЫ:

БЕРСІМБАЕВ Рахметқажы Ескендірұлы (бас редактордың орынбасары), биология ғылымдарының докторы, профессор, ҚР ҰҒА академигі (Алматы, Қазақстан) Н = 12

ЖАМБАКИН Қабыл Жапарұлы (бас редактордың орынбасары), биология ғылымдарының докторы, профессор, ҚР ҰҒА академигі (Алматы, Қазақстан) Н = 2

БИСЕНБАЕВ Амангелді Қуанышбайұлы, биология ғылымдарының докторы, профессор, ҚР ҰҒА академигі (Алматы, Қазақстан) Н = 7

ХОХМАНН Джудит, Сегед университетінің фармацевтика факультетінің фармакогнозия кафедрасының меңгерушісі, жаратылыстану ғылымдарының пәнаралық орталығының директоры (Сегед, Венгрия) Н = 38

РОСС Самир, PhD докторы, Миссисипи университетінің өсімдік өнімдерін ғылыми зерттеу ұлттық орталығы Фармация мектебінің профессоры (Оксфорд, АҚШ) Н = 35

ФАРУК Асана Дар, Хамдард Аль-Маджида шығыс медицина колледжінің профессоры, Хамдард университетінің Шығыс медицина факультеті (Карачи, Пәкістан) Н = 21

ТОЙШЫБЕКОВ Мәкен Молдабайұлы, ауыл шаруашылығы ғылымдарының докторы, профессор, ҚР ҰҒА академигі (Алматы, Қазақстан) Н = 2

САҒИТОВ Абай Оразұлы, биология ғылымдарының докторы, профессор, ҚР ҰҒА академигі (Алматы, Қазақстан) Н = 4

ХУТОРЯНСКИЙ Виталий, философия докторы (Ph.D, фармацевт), Рединг университетінің профессоры (Рединг, Англия) Н = 40

БЕНБЕРИН Валерий Васильевич, (бас редактордың орынбасары), медицина ғылымдарының докторы, профессор, ҚР ҰҒА академигі, Қазақстан Республикасы Президенті Іс Басқармасы Медициналық орталығының директоры (Алматы, Қазақстан) Н = 11

ЛОКШИН Вячеслав Нотанович, ҚР ҰҒА академигі, медицина ғылымдарының докторы, профессор, "PERSONA" халықаралық клиникалық репродуктология орталығының директоры (Алматы, Қазақстан) Н = 8

СЕМЕНОВ Владимир Григорьевич, биология ғылымдарының докторы, профессор, Чуваш республикасының еңбек сіңірген ғылым қайраткері, морфология, Акушерлік және терапия кафедрасының меңгерушісі, "Чуваш мемлекеттік аграрлық университеті" Федералдық мемлекеттік бюджеттік жоғары білім беру мекемесі (Чебоксары, Чуваш Республикасы, Ресей) Н = 23

ЩЕПЕТКИН Игорь Александрович, медицина ғылымдарының докторы, Монтана штаты университетінің профессоры (АҚШ) Н = 27

«ҚР ҰҒА Хабарлары. Биология және медициналық сериясы».

ISSN 2518-1629 (Online), ISSN 2224-5308 (Print)

Меншіктеуші: «Қазақстан Республикасының Ұлттық ғылым академиясы» РҚБ (Алматы қ.).

Қазақстан Республикасының Мәдениет пен ақпарат министрлігінің Ақпарат және мұрағат комитетінде 01.06.2006 ж. берілген №5546-Ж мерзімдік басылым тіркеуіне қойылу туралы куәлік.

Мерзімділігі: жылына 6 рет.

Тиражы: 300 дана.

Редакцияның мекенжайы: 050010, Алматы қ., Шевченко көш., 28; 219, 220 бөл.; тел.: 272-13-19

<http://biological-medical.kz/index.php/en/>

© Қазақстан Республикасының Ұлттық ғылым академиясы, 2020

Типографияның мекенжайы: «Аруна» ЖК, Алматы қ., Мұратбаев көш., 75.

Главный редактор:

НУРГОЖИН Талгат Сейтжанович, доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент НАН РК (Алматы, Казахстан) Н = 10

Редакционная коллегия:

БЕРСИМБАЕВ Рахметкажи Искендерович (заместитель главного редактора), доктор биологических наук, профессор, академик НАН РК (Алматы, Казахстан) Н = 12

ЖАМБАКИН Кабыл Жапарович (заместитель главного редактора), доктор биологических наук, профессор, академик НАН РК (Алматы, Казахстан) Н = 2

БИСЕНБАЕВ Амангельды Куанбаевич (заместитель главного редактора), доктор биологических наук, профессор, академик НАН РК (Алматы, Казахстан) Н = 7

ХОХМАНН Джудит, заведующий кафедрой Фармакогнозии Фармацевтического факультета Университета Сегеда, директор Междисциплинарного центра естественных наук (Сегед, Венгрия) Н = 38

РОСС Самир, доктор PhD, профессор Школы Фармации национального центра научных исследований растительных продуктов Университета Миссисипи (Оксфорд, США) Н = 35

ФАРУК Асана Дар, профессор колледжа Восточной медицины Хамдарда аль-Маджида, факультет Восточной медицины университета Хамдарда (Карачи, Пакистан) Н = 21

ТОЙШИБЕКОВ Макен Молдабаевич, доктор сельскохозяйственных наук, профессор, академик НАН РК (Алматы, Казахстан) Н = 2

САГИТОВ Абай Оразович, доктор биологических наук, профессор, академик НАН РК (Алматы, Казахстан) Н = 4

ХУТОРЯНСКИЙ Виталий, доктор философии (Ph.D, фармацевт), профессор Университета Рединга (Рединг, Англия) Н = 40

БЕНБЕРИН Валерий Васильевич, доктор медицинских наук, профессор, академик НАН РК, директор Медицинского центра Управления делами Президента Республики Казахстан (Алматы, Казахстан) Н = 11

ЛОКШИН Вячеслав Нотанович, академик НАН РК, доктор медицинских наук, профессор, директор Международного клинического центра репродуктологии «PERSONA» (Алматы, Казахстан) Н = 8

СЕМЕНОВ Владимир Григорьевич, доктор биологических наук, профессор, заслуженный деятель науки Чувашской Республики, заведующий кафедрой морфологии, акушерства и терапии, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Чувашский государственный аграрный университет» (Чебоксары, Чувашская Республика, Россия) Н = 23

ЩЕПЕТКИН Игорь Александрович, доктор медицинских наук, профессор Университета штата Монтана (США) Н = 27

«Известия НАН РК. Серия биологическая и медицинская».

ISSN 2518-1629 (Online), ISSN 2224-5308 (Print)

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

www.nauka-nanrk.kz / biological-medical.kz

© Национальная академия наук Республики Казахстан, 2020
Адрес типографии: ИП «Аруна», г. Алматы, ул. Муратбаева, 75.

Editor in chief:

NURGOZHIN Talgat Seitzhanovich, Doctor of Medicine, Professor, Corresponding Member of NAS RK (Almaty, Kazakhstan) H = 10

Editorial board:

BERSIMBAEV Rakhmetkazhi Iskendirovich (deputy editor-in-chief), Doctor of Biological Sciences, Professor, Academician of NAS RK, L.N. Gumilyov Eurasian National University (Nur-Sultan, Kazakhstan) H = 12

ZHAMBAKIN Kabyl Zhaparovich, Professor, Academician of the NAS RK, Director of the Institute of Plant Biology and Biotechnology (Almaty, Kazakhstan) H = 2

BISENBAEV Amangeldy Kuanbaevich (Deputy Editor-in-Chief), Doctor of Biological Sciences, Professor, Academician of NAS RK (Almaty, Kazakhstan) H = 7

HOHMANN Judith, Head of the Department of Pharmacognosy, Faculty of Pharmacy, University of Szeged, Director of the Interdisciplinary Center for Life Sciences (Szeged, Hungary) H = 38

ROSS Samir, Ph.D., Professor, School of Pharmacy, National Center for Scientific Research of Herbal Products, University of Mississippi (USA) H = 35

PHARUK Asana Dar, professor at Hamdard al-Majid College of Oriental Medicine. Faculty of Oriental Medicine, Hamdard University (Karachi, Pakistan) H = 21

TOISHIBEKOV Maken Moldabaevich, Doctor of Agricultural Sciences, Professor, Academician of NAS RK (Almaty, Kazakhstan) H = 2

SAGITOV Abai Orazovich, Doctor of Biological Sciences, Professor, Academician of NAS RK (Almaty, Kazakhstan) H = 4

KHUTORYANSKY Vitaly, Ph.D., pharmacist, professor at the University of Reading (Reading, England) H = 40

BENBERIN Valery Vasilievich, Doctor of Medicine, Professor, Academician of NAS RK, Director of the Medical Center of the Presidential Property Management Department of the Republic of Kazakhstan (Almaty, Kazakhstan) H = 11

LOKSHIN Vyacheslav Notanovich, Professor, Academician of NAS RK, Director of the PERSONA International Clinical Center for Reproductology (Almaty, Kazakhstan) H = 8

SEMENOV Vladimir Grigorievich, Doctor of Biological Sciences, Professor, Honored Scientist of the Chuvash Republic, Head of the Department of Morphology, Obstetrics and Therapy, Chuvash State Agrarian University (Cheboksary, Chuvash Republic, Russia) H = 23

TSHEPETKIN Igor Aleksandrovich, Doctor of Medical Sciences, Professor at the University of Montana (Montana, USA) H = 27

News of the National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan. Series of biology and medicine.
ISSN 2518-1629 (Online), ISSN 2224-5308 (Print)

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, is sued 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

<http://nauka-nanrk.kz> / biological-medical.kz

© National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan, 2020

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 5, Number 341 (2020), 68 – 75

<https://doi.org/10.32014/2020.2519-1629.42>

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

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 к

оллекция. 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.

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

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 25⁰С, в течение 5-7 суток. Чистота культур периодически проверялась микроскопированием с фазовым контрастом и высевом на элективные 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 ("Arel", 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].

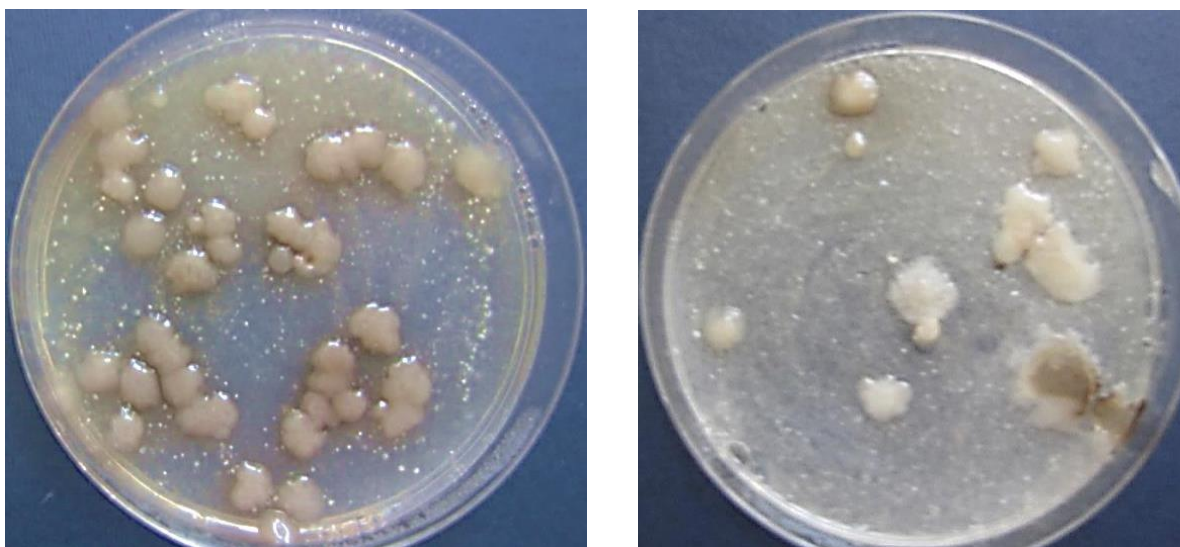
Повторность опытов 5-ти кратная. Результаты исследования были статистически обработаны с использованием коэффициента Стьюдента.

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 третьей 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; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ - 0,5; $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ - 0,0005; $Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$ - 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 признаки. 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.

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

Аннотация. Қазіргі таңда жайылым жерлердің азғындауының тұрақты үрдістері байқалуда, бұл малды ретсіз жаю, жайылымның жағдайын бақыламай пайдаланғанның нәтижесінде. Осындай жайылым эко жүйесінің 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 потенциалына 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 азот фиксациялаушы 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.

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

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

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 agronomically 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 nitrogenfixing 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.

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

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 Междунар. 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. Ставро-поль, 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, С12R1/065. Штамм бактерий *Azotobacter vinelandii* (lipman) - продуцент экзополисахарида / Краснопевцева Н.В., Чернягин А.В., Яроцкий С.В.; заявитель и патентообладатель ТОО "ИТИН". Опубл. 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] Dobrovol'skij 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 Inter-nat.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. Intenat. 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) - produ-cing 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.).

МАЗМУНЫ – СОДЕРЖАНИЕ – CONTENTS

Байтулин И.О., Мырзагалиева А.Б. КАЗАХСТАНСКИЙ АЛТАЙ КАК РЕСУРСНАЯ БАЗА ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ.....	5
Ералиева Ж.М., Курманбаева М.С., Оспанбаев Ж.О., Рамазанова А.А. ИЗМЕНЕНИЕ КОЛИЧЕСТВА ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИХ ПИГМЕНТОВ ПРОРОСТКОВ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ (<i>TRITICUM AESTIVUM</i> L.).....	13
Татенов А.М., Байтукаев У.Б. РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИИ НЕТРАДИЦИОННЫХ ВИДОВ МУКИ ИЗ ЗЛАКОВ С ЕСТЕСТВЕННО-ЙОДОСОДЕРЖАЩИМ СОСТАВОМ.....	23
Жукенов Е.Е., Атажанова Г.А., Шаушекков З.К., Адекенов С.М. ВЛИЯНИЕ МИНЕРАЛЬНЫХ УДОБРЕНИЙ НА КОМПОНЕНТНЫЙ СОСТАВ ЭФИРНОГО МАСЛА <i>AJANIA FRUTICULOSA</i> (LEDEB.) POLJAK. (ASTERACEAE).....	27
Затыбеков А.К., Шаменова М.Х., Жамбакин К.Ж. СОЗДАНИЕ РАБОЧЕЙ КОЛЛЕКЦИИ СЛАДКОГО КАРТОФЕЛЯ (<i>IPOMOEA BATATAS</i>) ДЛЯ ИНТРОДУКЦИИ В КАЗАХСТАН.....	34
Баякышова К., Гаврилова Н.Н., Ратникова И.А., Утегенова Н.М., Турлыбаева З.Ж. ВЛИЯНИЕ ЗАЩИТНЫХ КОМПОНЕНТОВ ПРИ СУБЛИМАЦИОННОМ ВЫСУШИВАНИИ НА АНТАГОНИСТИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ ПРОБИОТИЧЕСКИХ БАКТЕРИЙ И ИХ АССОЦИАЦИЙ.....	44
Кулмагамбетов И.Р., Нурманбетова Ф.Н., Балгимбаева А.С., Юсупов Р.Р., Треножникова Л.П. ОСОБЕННОСТИ АНТИБИОТИКОЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ ШТАММОВ МИКРООРГАНИЗМОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ В СЕВЕРНОМ РЕГИОНЕ РК (Г. ПЕТРОПАВЛОВСК, Г. КОСТАНАЙ).....	54
Омирбекова А.А., Мукашева Т.Д., Бержанова Р.Ж., Сыдыкбекова Р.К., Игнатова Л.В. МИКРОБНАЯ ИНОКУЛЯЦИЯ РАСТЕНИЙ РИЗОСФЕРНЫМИ МИКРООРГАНИЗМАМИ- ДЕСТРУКТОРАМИ НЕФТИ В МОДЕЛЬНЫХ СИСТЕМАХ.....	62
Смирнова И.Э., Султанова А.Ж., Сабденова А.А. СВОБОДНОЖИВУЩИЕ АЗОТФИКСИРУЮЩИЕ БАКТЕРИИ, ПЕРСПЕКТИВНЫЕ ДЛЯ СОЗДАНИЯ ЭМ АССОЦИАЦИЙ.....	68
Naguman P.N., Zhorabek A.A., Amanzholova A.S., Kulakov I.V., Rakhimbaeva A.N. PHYTONCIDES IN THE COMPOSITION OF COMMON BIRD CHERRY.....	76

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 сайтах:

www.nauka-nanrk.kz

ISSN 2518-1629 (Online), ISSN 2224-5308 (Print)

<http://biological-medical.kz/index.php/en/>

Редакторы: *М.С. Ахметова, Д. С. Аленов, А. Ботанқызы*
Верстка на компьютере *Зикирбаева В.С.*

Подписано в печать 15.09.2020.

Формат 60x881/8. Бумага офсетная. Печать – ризограф.
4,6 п.л. Тираж 300. Заказ 5.