Әл-Фараби атындағы Қазақ Ұлттық Университеті

ӘОЖ 579.64(043.3)

Қолжазба құқығында

БАТЫҚОВА ЖҰЛДЫЗ КАЗБЕККЫЗЫ

Әртүрлі сорбенттерге иммобилизденген ризобактериялар негізінде биопрепарат құрастыру

8D05105 - Биотехнология

Философия докторы (PhD) дәрежесін алуға
арналған диссертация

Отандық ғылыми жетекші:
Кистаубаева А.С.
биология ғылымдарының
кандидаты, профессор

Шетелдік ғылыми жетекші:
Pidlisnyuk Valentina,
Professor at Jan Evangelista
Purkyně University,
Doctor of Chemical Science,
(Usti nad Labem, Czech Republic)

Қазақстан Республикасы
Алматы, 2026

МАЗМҰНЫ

Нормативтік сілтемелер 4
БЕЛГІЛЕР МЕН ҚЫСҚАРТУЛАР 5
Кіріспе..... 6
1 ӘДЕБИЕТКЕ ШОЛУ..... 12
1.1 Ризосферадағы өсімдік–микроорганизм өзара байланысы мен өсімдіктердің өсуін ынталандыратын ризобактериялар..... 12
1.2 Ризобактериялардың өсімдіктің өсуіне әсер ететін функционалдық биологиялық механизмдері..... 15
1.3 Микроорганизмдерді иммобилиздеу технологиясы: тиімді тасымалдаушылар мен заманауи әдістер..... 22
1.4 Иммобилизденген биопрепарат алу параметрлері мен технологиясы.... 28
1.5 Иммобилизденген микробиологиялық биопрепараттарды әзірлеудің әлемдік тәжірибесі..... 31
2 ЗЕРТТЕУ НЫСАНДАРЫ МЕН ӘДІСТЕРІ..... 36
2.1 Зерттеу нысандары 36
2.1.1 Зерттеуде қолданылған ризобактериялардың шығу тегі..... 36
2.1.2 Тасымалдаушы- сорбенттерге сипаттама..... 37
2.2 Зерттеу әдістері 39
2.2.1 Өсімдіктің өсуін ынталандыратын микробтық изоляттарды іріктеу..... 39
2.2.1.1 Ризосферадан бактериялық изоляттарды бөліп алу..... 39
2.2.1.2 Изоляттардың фосфорды мобилизациялау белсенділігін бағалау..... 42
2.2.1.3 Индол-3-сірке қышқылын түзу қабілетін зерттеу..... 42
2.2.1.4 Дақылдардың атмосфералық азотты бекіту қабілетін анықтау..... 42
2.2.1.5 Аммиак түзу белсенділігін анықтау..... 43
2.2.1.6 Мырыш солюбилизациялау белсенділігін анықтау..... 43
2.2.1.7 Іріктелген изоляттардың генетикалық идентификациясы..... 43
2.2.2 Штамдардың биобақылау потенциалын бағалау..... 44
2.2.2.1 Ферментативтік белсенділікті анықтау..... 44
2.2.2.2 Бактериялық сидерофорлардың синтезін анықтау..... 45
2.2.2.3 Дақылдардың антагонистік белсенділігін зерттеу..... 46
2.2.3 Ризобактериялардың бидай өскіндерінің өсуіне әсерін зерттеу..... 46
2.2.4 Сорбенттердің құрылымдық ерекшеліктерін зерттеу..... 47
2.2.4.1 Сорбенттердің морфологиясын микроскопиялық зерттеу..... 47
2.2.4.2 Сорбенттердің құрамына элементтік талдау..... 47
2.2.4.3 Сорбенттердің беттік және поралық сипаттамаларын анықтау..... 48
2.2.5 Сорбент-ризобактериялық композиттерді алу..... 49
2.2.5.1 Ризобактериялардың стандартталған инокуляттарын дайындау..... 49
2.2.5.2 Ризобактерия жасушаларын сорбентке иммобилизациялау әдістемесі мен иммобилизация дәрежесін анықтау..... 50
2.2.5.3 Ризобактериялардың сорбентке иммобилизациялануын зерттеу..... 52
2.2.6 Жылыжай жағдайындағы тәжірибе әдістемесі..... 52
2.2.7 Иммобилизденген Вермикулит–Мискантус биокомпозитін дайындау... 56

2.2.8 Өсімдік үлгілерін жинау әдістемесі..... 57
2.2.9 Топырақтың агрохимиялық талдауы..... 57
2.2.10 Статистикалық анализ жасау..... 58
3 НӘТИЖЕЛЕР МЕН ТАЛҚЫЛАУЛАР..... 59
3.1 Өсімдіктің өсуін ынталандыруға қатысатын бактериялардың скринингі..... 59
3.1.1 Изоляттардың фосфорды мобилизациялау белсенділігін бағалау..... 59
3.1.2 Индол-3-сірке қышқылын синтездеу қабілетін зерттеу..... 62
3.1.3 Изоляттардың атмосфералық азотты бекіту және аммиак түзу қабілетін анықтау..... 65
3.1.4 Изоляттардың цинкті мобилизациялау белсенділігін бағалау..... 68
3.1.5 Іріктелген изоляттардың генетикалық идентификациясы..... 70
3.2 Микробтық штамдардың биобақылау қасиеттерін бағалау..... 74
3.2.1 Ферментативтік белсенділікті анықтау..... 74
3.2.2 Сидерофор синтездеу белсенділігін анықтау..... 77
3.2.3 Ризобактериялардың антагонистік потенциалын бағалау..... 79
3.3 Ризобактериялардың бидай өскіндерінің өсуіне әсерін зерттеу..... 83
3.4 Сорбенттердің құрылымдық ерекшеліктерін зерттеу..... 86
3.4.1 Морфологиялық құрылымды микроскопиялық зерттеу..... 86
3.4.2 Сорбенттердің құрамына элементтік талдау..... 90
3.4.3 Сорбенттердің беттік және поралық сипаттамаларын анықтау..... 93
3.5 Сорбент-ризобактериялық композиттерді қалыптастыру..... 95
3.5.1 Штамды іріктеу және иммобилизация параметрлерін оңтайландыру... 95
3.5.2 Сорбент-ризобактериялық композиттерді алу және олардың құрылымын СЭМ-талдау..... 100
3.6 Композиттердің «топырақ–өсімдік» жүйесіндегі тиімділігін жылыжай тәжірибесі жағдайында бағалау 104
3.6.1 Топырақтың негізгі физика-химиялық көрсеткіштерінің өзгеруі..... 104
3.6.2 Топырақтағы макроэлементтердің мөлшері мен қолжетімділігінің динамикасы..... 109
3.6.3 Сорбент-ризобактериялық композициялардың жүгерінің морфометриясы мен биомассасына әсері 120
3.7 «Вермикулит–Мискантус» иммобилизденген биокомпозитін әзірлеу.. 131
3.7.1 Иммобилизденген биокомпозитті қалыптастыру..... 131
3.7.2 Биопрепараттың өсімдіктердің морфометриялық және биомассалық көрсеткіштеріне әсері..... 133
3.7.3 «Вермикс» иммобилизацияланған биопрепаратын алу технологиясы.. 135
ҚОРЫТЫНДЫ 138
ПАЙДАЛАНЫЛҒАН ӘДЕБИЕТТЕР ТІЗІМІ..... 140

Нормативтік сілтемелер

Осы диссертациялық жұмыста келесі нормативтік сілтемелер қолданылды:

МЕМСТ 7.32-2001. Ғылыми-зерттеу жұмысы туралы есеп. Дизайн құрылымы мен ережелері.

МЕМСТ 7.1-2003. Библиографиялық жазба. Библиографиялық сипаттама. Құрастырудың жалпы талаптары мен ережелері.

МЕМСТ 27593-88. Топырақ. Терминдер мен анықтамалар.

МЕМСТ 28168-89. Топырақ. Сынама алу.

МЕМСТ 26213-91. Топырақ. Классикалық әдіс бойынша топырақтың агрохимиялық көрсеткіштерін анықтау.

БЕЛГІЛЕР МЕН ҚЫСҚАРТУЛАР

ӨӨЫР	Өсімдіктердің өсуін ынталандыратын ризобактериялар
ИСҚ	Индолил-3-сірке қышқылы
АБФ	Азоттың биологиялық фиксациясы
БАФР	Биологиялық азот фиксирлейтін ризобактериялар
ФММ	Фосфат-мобилизациялайтын микроорганизмдер
МЕРБ	Мырышты ерітетін ризосфералық бактериялар
АТВ	Ампликондық тізбектік варианттар
ББ	Бидай биокөмірі
АБ	Ағынды су тұнбасынан жасалған Акмеко биокөмірі
В	Вермикулит
МБ	Мискантустан (*Miscanthus giganteus*) алынған биокөмір

КІРІСПЕ

Диссертациялық жұмыстың жалпы сипаттамасы

Диссертациялық жұмыс перспективті ризобактерияларды табиғи сорбенттерге иммобилиздеудің оңтайлы технологиясы арқылы биопрепарат құрастыруға арналған. Препараттың иммобилизденген формасы бактериялық инокулянттың тұрақтылығын арттыруға, оның ризосферада тиімді қызмет етуіне, топырақтың агрохимиялық қасиеттерін жақсартуға және соның нәтижесінде модельдік өсімдік - жүгерінің өсуі мен дамуын ынталандыруға ықпал етеді.

Зерттеу жұмысы барысында жүгерінің өсуі мен дамуын ынталандыру қабілеті бойынша ризобактерияларға скрининг жүргізіліп, олардың биологиялық қасиеттері зерттелді. Іріктеліп алынған бактериялық штамның әртүрлі сорбенттерге иммобилиздеудің оңтайлы жағдайлары мен ерекшеліктері айқындалды.

Әзірленген биопрепараттың жүгерінің өсуі мен дамуына және топырақтың агрохимиялық қасиеттеріне әсері зерттелді. Биопрепараттың тиімділігі жүгерінің морфометриялық және физиологиялық көрсеткіштері негізінде бағаланды. Өсімдіктердің биологиялық өнімділігін арттыру мақсатында иммобилизденген ризобактерия формаларын ауыл шаруашылығында қолданудың ғылыми-практикалық негіздері анықталды.

Зерттеу тақырыбының өзектілігі

2050 жылға қарай әлем халқының саны шамамен 9 млрд адамға жетеді деп болжануда, бұл жаһандық азық-түлік қауіпсіздігі мәселесін одан әрі күшейтіп, ауыл шаруашылығы дақылдарының өнімділігін арттыру қажеттілігін туындатады. Минералдық тыңайтқыштар мен пестицидтерді дәстүрлі түрде қарқынды қолдану өнімділікке оң әсер еткенімен, топырақ құнарлылығының төмендеуіне, қоректік элементтер теңгерімінің бұзылуына, топырақтың қышқылдануына және қоршаған ортаның ластануына алып келеді [1]. Бұл мәселелер топырақтың деградациясы мен өнімділігінің төмендеуі байқалатын Қазақстанның ауыл шаруашылығы алқаптары үшін ерекше өзекті болып табылады [2].

Аталған мәселелер ауыл шаруашылығында топырақ құнарлылығын сақтап, өнімділікті арттыра отырып, ұзақ мерзімді экологиялық тұрақтылықты қамтамасыз ететін балама, био-негізделген шешімдердің қажеттілігін айқындайды. Осы тұрғыда өсімдіктердің өсуін ынталандыратын ризобактерияларды (ӨӨЫР) пайдалану аса перспективті бағыттардың бірі болып саналады. Олар өсімдіктердің минералдық қоректенуін жақсартып қана қоймай, фитогормондар бөледі, фитопатогендерге қарсы антагонистік әсер көрсетеді [3], фиторемедиациялық процестерді күшейтеді [4,5], сондай-ақ өсімдіктердің биотикалық және абиотикалық стресс факторларын жеңілдетуде шешуші рөл атқарады, бұл өз кезегінде өнімділік пен азық-түлік сапасын арттыруы мүмкін [6]. ӨӨЫР-дың өнімділікті арттыру тетіктері толық айқындалмағанымен, олардың оң әсерлері кеңінен танылып отыр және бұл бағыттағы зерттеулерге қызығушылық жылдан жылға артып келеді [7,8].

Алайда еркін ризобактерияларды қолдануға негізделген микробтық фито- және биоремедиацияның бірқатар шектеулері бар. Ластаушы заттардың жоғары концентрациясы микроорганизмдерге уытты әсер етіп, олардың тіршілік ету қабілетін төмендетуі мүмкін. Сонымен қатар енгізілген микроорганизмдер жергілікті микробиотамен бәсекелестікке түседі, ал ластанған ортада олардың өсуі мен белсенділігін шектейтін қоректік заттардың тапшылығы байқалады. Қолайсыз орта жағдайлары микроорганизмдердің тіршілік етуіне, колонизациялануына және көбеюіне кері әсер етеді [9,10].

ӨӨЫР тұрақтылығы мен тіршілікке қабілеттілігін арттырудың тиімді тәсілдерінің бірі - оларды табиғи сорбенттерге иммобилиздеу. Перспективті табиғи тасымалдаушы-сорбент ретінде поралы және қабатты құрылымымен, жоғары сорбциялық белсенділігімен, сондай-ақ қоректік элементтерді ұстап тұру қабілетімен ерекшеленетін биокөмір мен вермикулит белгілі. Оларды ризобактерияларды иммобилизациялау үшін пайдалану бактериялардың тіршілікке қабілеттілігін сақтап қана қоймай, олардың топыраққа бақыланатын түрде босап шығуына және «өсімдік-микроорганизм-топырақ» жүйесіндегі өзара оң әсерлесуінің күшеюіне ықпал етеді.

Биокөмір - әртүрлі биомассаларды пиролиздеу арқылы алынатын, көміртекке бай және жоғары тұрақтылыққа ие материал ретінде микроорганизмдер үшін перспективті тасымалдаушы ретінде қарастырылады[11]. Биокөмірдің меншікті беткі ауданы, жалпы пора көлемі және функционалдық топтары микроорганизмдер үшін қолайлы тіршілік ортасын қалыптастырып, оларды қоршаған ортаның стресс факторларынан қорғауы және топыраққа біртіндеп әрі бақыланатын түрде босап шығуына әсер ету қасиеттері оны иммобилизация үшін тиімді материал етеді [12].

Вермикулит - қабатты құрылымға ие, гидрослюдалар тобына жататын табиғи минерал және магний мен алюминийдің гидратталған силикаты [13]. Вермикулит те микроорганизмдерді иммобилизациялау үшін тиімді минералдық тасымалдаушы ретінде қолданылады. Оның қабатты құрылымы, жоғары катион алмасу сыйымдылығы және ылғалды жақсы ұстау қабілеті микроорганизмдердің бекінуіне және тіршілік етуіне қолайлы жағдай жасайды [13,14]. Вермикулит микроорганизмдерді механикалық қорғап, олардың топырақта біртіндеп таралуына ықпал етеді, сондай-ақ қоректік элементтерді ұстап тұру арқылы микробиологиялық белсенділікті арттырады [13].

Тасымалдаушы сорбент-материал мен микроорганизмдер арасындағы синергиялық әсердің нәтижесінде иммобилизденген бактерияларды топыраққа енгізу оның физика-химиялық қасиеттерін жақсартып, өсімдік пен микроорганизмдер арасындағы өзара әрекеттесуді күшейтеді, бұл өз кезегінде өсімдіктердің өсуіне оң әсер етеді [15,16]. Алайда, бактерияларды биокөмір мен вермикулит бетінде тиімді иммобилизациялау үшін бұл процестің механизмдерін және пиролиз немесе материалды дайындау жағдайларын терең түсіну қажет. Бұл факторлар микроорганизмдердің тасымалдаушыға тиімді бекінуін қамтамасыз етуде шешуші рөл атқарады. Осыған байланысты, ұсынылған жұмыс биокөмір мен вермикулитке ризобактерияны

иммобилиздеу әдістері мен механизмдеріне, сондай-ақ олардың экологиялық және ауылшаруашылық салаларындағы қолдану әлеуетіне жан-жақты шолу жасауға бағытталған.

Зерттеу жұмысының мақсаты

Экологиялық тұрақты ауыл шаруашылық жүйесінің құрамдас бөлігі ретінде топырақ құнарлылығын қалпына келтіру және модельдік өсімдік - жүгерінің өсу қарқынын жоғарылату мақсатында табиғи сорбенттерге иммобилизденген ризобактериялар негізінде биопрепарат құрастыру.

Зерттеу жұмысының міндеттері:

1. Ризобактерияларды бөліп алу, олардың өсімдіктің өсуін ынталандырушы қасиеттері бойынша скрининг жүргізу және перспективті штамдарды идентификациялау.
2. Зерттеуге алынған әртүрлі сорбенттің химиялық құрамы мен құрылымдық сипаттамаларын анықтау.
3. «Сорбент-бактерия» биокомпозитін алу мақсатында ең перспективті штамды иммобилиздеудің оңтайлы параметрлерін таңдау.
4. Сорбент-ризобактериялық композициялардың топырақтың агрохимиялық қасиеттеріне, сондай-ақ жылыжай жағдайында жүргізілген вегетациялық тәжірибеде модельдік өсімдік ретінде алынған жүгерінің өсу-даму және морфометриялық көрсеткіштеріне әсерін бағалау.
5. Иммобилизденген ризобактериялар және «Вермикулит-Мискантус» композиті негізінде биопрепараттың құрамын ғылыми негіздеу және оның алу технологиясын жасау.

Зерттеу объектілері

Зерттеу жұмысының объектілері ретінде Қазақ егіншілік және өсімдік шаруашылығы ғылыми-зерттеу институтына қарасты алқаптан алынған бидайдың күздік сорты (*Triticum aestivum L.*) "Алмалы", тритикаленің *(×Triticosecale Wittm.*) "Таза сорты", жүгерінің "Тұран 480SV" және "КазЗП 200" гибридтерінің (*Zea mays L.*) ризосферасынан оқшауланған ризобактерия штамдары алынды. Иммобилиздеу үшін тасымалдаушы сорбенттер ретінде вермикулит, бидай сабанынан алынған биокөмір, Мискантус және ағынды су тұнбасынан алынған биокөмір пайдаланылды. Жылыжай жағдайында модельдік өсімдік ретінде жүгерінің Ceklad 235 үшлиниялы жүгері гибриді пайдаланылды.

Зерттеу әдістері

Жұмыс барысында микробиологиялық, биотехнологиялық, молекулалық-генетикалық, физика-химиялық және статистикалық әдістер қолданылды. Ризосфера топырағынан оқшауланған ризобактериялардың өсімдікті ынталандыру белсенділіктері кешенді зерттеліп, 16S рРНҚ секвенирлеу арқылы идентификацияланды. Сорбенттердің беттік және поралық параметрлері физикалық адсорбция (БЭТ) әдісімен, сорбенттер мен ризосфера топырағының элементтік құрамы энергия-дисперсиялық рентгендік спектроскопия (EDS/EDX) арқылы анықталды. Иммобилизденген бактериялар мен сорбент беттерінің морфологиясы сканерлеуші электронды микроскопия (СЭМ) арқылы бақыланды. Деректер статистикалық өңдеу ANOVA арқылы өңделді.

Зерттеудің ғылыми жаңалығы

– Алғаш рет ризобактерия иммобилизденген «вермикулит-Мискантус биокөмірі» биокомпозиті негізінде биопрепарат құрастырудың ғылыми алғышарттары әзірленді.

– Алғаш рет микроорганизмдердің жоғары тіршілік ету қабілеті мен айқын өсуді ынталандыру әсерін қамтамасыз ететін бактериялық штамм мен сорбенттің тиімді үйлесімдері анықталды.

– Алғаш рет табиғи сорбенттердің физика-химиялық қасиеттері, иммобилизденген ризобактериялардың жоғары тіршілік ету қабілеті, топырақтың функционалдық сипаттарының өзгеруі және модельдік нысан - жүгерінің өсуі арасындағы өзара байланыс анықталды.

Жұмыстың ғылыми және практикалық маңызы

Өсімдіктердің өсуін ынталандыратын 3 жаңа ризобактерия штамы өсімдіктер ризосферасынан бөлініп алынып, скринингтен өтіп, идентификацияланды. Бактерия штамдарының 16S rRNA генінің нуклеотидтік тізбектері GenBank халықаралық деректер базасында тіркелді: *Stenotrophomonas indicatrix AS8, Pantoea agglomerans AS23* және *Bacillus thuringiensis AS31*.

Белсенді *Bacillus thuringiensis AS31* штамы Микроорганизмдердің республикалық коллекциясында (МРК) B-RKM 1248 тіркеу нөмірімен депонирленді. Штамға «Фитопатогендерге қарсы препарат ретінде *Bacillus thuringiensis AS31* штамы» атауымен Қазақстан Республикасының №11603 пайдалы модельге патенті алынды.

Ризобактерияларды табиғи сорбенттерге, атап айтқанда, биокөмір мен вермикулитке иммобилиздеу әдістері жетілдірілді.

Топырақ құнарлылығын қалпына келтіру және агроэкожүйелердің тұрақтылығын арттыру мақсатында иммобилизденген ризобактерияларды қолданудың экологиялық және агрономиялық артықшылықтары эксперименттік тұрғыдан негізделді.

Қорғауға шығарылатын негізгі қағидалар

– Зерттелген 3 жаңа ризобактерия штамының биотехнологиялық әлеуеті өсімдіктердің өсуін ынталандыру және биобақылау қасиеттерінің кешенімен сипатталатыны анықталды. Атап айтқанда, штамдардың индол-3-сірке қышқылын (ИСҚ) және сидерофорларды синтездеу, фосфаттар мен мырышты еріту, аммиак өндіру және фитопатогендерге қатысты антагонистік белсенділік таныту қабілеттері зерттелді.

– Табиғи сорбенттердің физика-химиялық және поралық сипаттамаларының бактериялық жасушаларды иммобилиздеу тиімділігіне әсері анықталды. Иммобилиздеу үшін перспективті биологиялық нысан ретінде *Bacillus thuringiensis AS31* штамы таңдалып, иммобилизация процесінің оңтайлы параметрлері белгіленді

– Ризобактерияларды табиғи сорбенттерге иммобилизациялау бактериялық инокулянттың тұрақтылығын арттырып, оның ризосферада тиімді қызмет етуіне ықпал етеді, топырақтың агрохимиялық қасиеттерін жақсартады

және нәтижесінде модельдік өсімдік - жүгерінің өсуі мен дамуын ынталандырады.

– «Вермикулит-Мискантус» биокомпозиті *Bacillus thuringiensis AS31* үшін перспективті матрица-тасымалдаушы болып табылады және жеке сорбенттермен салыстырғанда биопрепараттың тиімділігін арттыруды қамтамасыз етеді, бұл оның практикалық қолдану мүмкіндігін негіздейді.

Автордың жеке үлесі

Диссертациялық жұмыстың барлық тәжірибиелер мен нәтижелері диссертанттың жеке қатысуымен орындалды. Ғылыми әдебиеттерге деректерге шолу жасалды, жұмыстың мақсат-міндеттері анықталды, зерттеу объектісі мен концепциясы таңдалды, сонымен қатар тәжірибиелік зерттеулер жүргізілді және орындалуы жоспарланды, алынған нәтижелерге статистикалық өңдеу мен талдау жүргізілген, мақалалар дайындалып, ҚР патенті және тіркелу куәлігі алынды.

Жұмыстың мемлекеттік бағдарламалар жоспарымен байланыстылығы

Диссертациялық жұмыс AP23490702 «Бикөмірді залалсыздандыру технологиясын әзірлеу биомасса қалдықтарын қосылған құнды өнімге тұрақты түрлендіру» (2024-2026 жж.) және NATO SPS Multi-Year Project G6094 «Mitigation of Climate Change through Miscanthus × giganteus Phytotechnology Applied to Military Sites» (2023-2027 жж.)» жобаларының шеңберінде орындалды.

Диссертациялық жұмыстың апробациясы.

Зерттеу нәтижелері және диссертациялық жұмыстың негізгі қағидалары төмендегідей халықаралық ғылыми конференциялар мен симпозиумдарда баяндалды және талқыланды:

1. Студенттер мен жас ғалымдардың «Фараби әлемі» атты халықаралық ғылыми конференциясы, 6-9 сәуір 2021 жыл, Алматы, Қазақстан;
2. Халықаралық ғылыми-практикалық конференция «Биология және биотехнологияның өзекті мәселелері», 27 мамыр 2021 жыл, Алматы, Қазақстан;
3. Халықаралық ғылыми-тәжірибелік конференция «Биотехнологияның қазіргі заманауи мәселелері: зертханалық зерттеулерден өндіріске дейін», 4-5 маусым 2021 жыл, Алматы, Қазақстан;
4. «Химия мен биологияның өзара байланысы атты 10-шы Польша-Қазақстан ғылыми кездесуі («10th Polish-Kazakh Meeting: Relationship Between Chemistry and Biology»)», 26 маусым 2024 жыл, Адам Мицкевич атындағы университет, Познань, Польша;
5. Студенттер мен жас ғалымдардың «Фараби әлемі» атты халықаралық ғылыми конференциясы, 3-5 сәуір 2025 жыл, Алматы, Қазақстан;
6. Халықаралық ғылыми-тәжірибелік конференция «2-ші тұрақты энергия және жасыл технологиялар бойынша халықаралық конференция (2nd International Conference on Sustainable Energy and Green Technology) (ICSEGT 2025)», 29-31 мамыр 2025 жыл, Баку, Әзірбайжан.
7. NATO SPS MYP G6094 «Әскери жерлерге арналған озық фитотехнологиялар арқылы климаттың өзгеруін азайту (Mitigation of climate change through advanced phytotechnology for military lands)» жобасының

Milestone аясындағы аралық ғылыми-тәжірибелік кездесу, 4 маусым 2024 жыл, UJEP университеті, Усти-над-Лабем, Чехия.

8. Халықаралық ғылыми-тәжірибелік конференция «RemTech Europe: Жер мен суды қалпына келтіру нарықтары мен технологиялары (RemTech Europe: International Conference and Exhibition on Land and Water Remediation Markets and Technologies)», 15-19 қыркүйек 2025 жыл, Феррара, Италия.

9. Халықаралық ғылыми-тәжірибелік конференция «ICESICS 2025: Экологиялық тұрақтылық жөніндегі халықаралық конференция (ICESICS 2025: International Conference on Environmental Sustainability: Innovations, Challenges and Solutions»), 6-8 қазан 2025 жыл, Алматы, Қазақстан.

10. Халықаралық ғылыми-тәжірибелік конференция «IABEP: Биокөмір, қоршаған орта және ластаушы заттар бойынша халықаралық конференция / IABEP: International Conference of the International Association for Biochar, Environment and Pollution», 13-15 қазан 2024 жыл, Белград, Сербия.

11. NATO SPS MYP G6094 «Әскери жерлерге арналған озық фитотехнологиялар арқылы климаттың өзгеруін азайту (Mitigation of climate change through advanced phytotechnology for military lands)» жобасының Milestone аясындағы аралық ғылыми-тәжірибелік кездесу, 19 наурыз 2026 жыл, UJEP университеті, Усти-над-Лабем, Чехия.

Басылымдар

Диссертациялық жұмыстың негізгі нәтижелері 15 ғылыми еңбекте жарияланған, оның ішінде 2 мақала - Қазақстан Республикасы Ғылым және жоғары білім саласындағы сапаны қамтамасыз ету комитеті ұсынған отандық мерзімді ғылыми басылымдарда; 3 мақала - Scopus және Web of Science дерекқорларында индекстелетін халықаралық ғылыми журналдарда: *Microorganisms* (процентиль - 84, Q1), *International Journal of Plant Biology* (процентиль - 70, Q2), *International Journal of Biology and Chemistry* (процентиль - 30, Q3); 8 тезис - отандық және халықаралық ғылыми конференциялар материалдарында; 2 мақала - шетелдік және отандық халықаралық ғылыми конференциялар материалдарында жарияланды.

Зерттеу нәтижелері бойынша 2025 жылғы 27 қыркүйектен пайдалы модельге № 11603 «*Bacillus thuringiensis AS31* штамы фитопатогендерге қарсы препарат ретінде» патенті алынды.

Диссертациялық жұмыстың құрылымы мен көлемі

Диссертациялық жұмыс 174 компьютерлік мәтіннен және белгілер мен қысқартылған сөздерден, кіріспе, әдебиетке шолу, зерттеу материалдары мен әдістері, зерттеу нәтижелері және оларды талқылау, қорытынды және 342 пайдаланылған әдебиеттерден тұрады. Жұмыстың көлеміне 11 кесте, 56 сурет және 2 қосымша кіреді.

1 ӘДЕБИЕТКЕ ШОЛУ

1.1 Ризосферадағы өсімдік-микроорганизм өзара байланысы мен өсімдіктердің өсуін ынталандыратын ризобактериялар

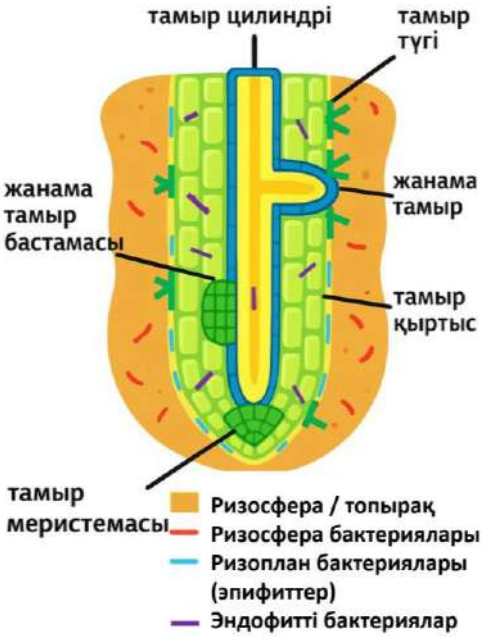
Өсімдіктердің ризосферасы - жоғары биологиялық белсенділікпен сипатталатын тамыр жүйесіне тікелей жақын орналасқан топырақтың тар зонасы. Бұл микроортада микроорганизмдер үшін көміртегі мен энергия көзі қызметін атқаратын тамыр жүйелерінің органикалық қосылыстарының, яғни эксудаттардың бөлінуі әсерінен туындайтын өсімдік тамырлары мен әртүрлі микробтық қауымдастықтар арасында қарқынды өзара әрекеттесу жүреді. Ризосфера топырақтағы микробиологиялық процестердің негізгі ошағы ретінде өсімдік-микробтық бірлестіктердің қалыптасуында, қоректік заттардың биожетімділігін реттеуде және өсімдіктердің фитосанитарлық жағдайын сақтауда шешуші рөл атқарады [17].

Өсімдіктердің қоршаған ортаға әртүрлі органикалық қосылыстарды белсенді түрде шығаруы топырақ микроорганизмдерінің, әсіресе ризосфера мен ризоплан аймақтарының тіршілік әрекеті үшін қолайлы жағдайлардың қалыптасуын қамтамасыз етеді. Тамыр секрециялары немесе экссудаттар - фотосинтез және өсімдік метаболизмі нәтижесінде түзілетін төмен молекулалы органикалық заттар. Оларға қанттар, органикалық қышқылдар, аминқышқылдары, сонымен қатар физиологиялық белсенді қосылыстар - витаминдер, ферменттер, фитогормондар, алкалоидтар, гликозидтер, флавоноидтар және басқа да биологиялық маңызы бар молекулалар жатады. Тамырдан топыраққа түсетін биологиялық белсенді заттардың қосындысы ризодепозиттер деп аталады. Бұл қосылыстар топырақ микробиотасының сигналдық молекулаларының маңызды көзі [19-21]. Тамыр экссудаты микроорганизмдердің белгілі функционалдық топтарын белсендендіруде және белгілі бір микробтық экожүйесінің қалыптасуына ықпал етеді.

Ризосферадағы микробтардың саны топырақ массасынан 1000-2000 есе көп, бұл микробтардың белсенділігінің орталығы ретінде ерекше маңыздылығын көрсетеді. Өсімдіктер мен олармен байланысты микроорганизмдер арасында пайда болатын күрделі трофикалық және сигналдық өзара әрекеттесу ұзақ мерзімді бірлескен эволюцияның нәтижесі және топырақ экожүйелерінің тұрақты жұмыс істеуінің негізінде жатыр. Ризосфераны микробтық таксондардың кең ауқымы, соның ішінде прокариоттарды (архейлер және бактериялар) және эукариоттарды (саңырауқұлақтар, омицеттер, нематодтар, қарапайымдылар, балдырлар және буынаяқтылар) қоса алғанда, бактериялар мен саңырауқұлақтар негізгі функцияларды көрсететін ең үлкен топтарды құрайды [22-24].

Бактериялар тамыр аймақтарындағы орналасуына байланысты үш топқа бөлінеді: ризосфера, ризоплан және эндофитті бактериялар. Осы үш топтың өкілдері де өсімдіктің өсуін тікелей немесе жанама жолмен ынталандыра алады: фосфор мен мырышты еріту, биологиялық азот бекіту, фитогормондар синтездеу, сидерофорлар өндіру және патогенді микроорганизмдерге қарсы антагонистік белсенділік көрсету арқылы.

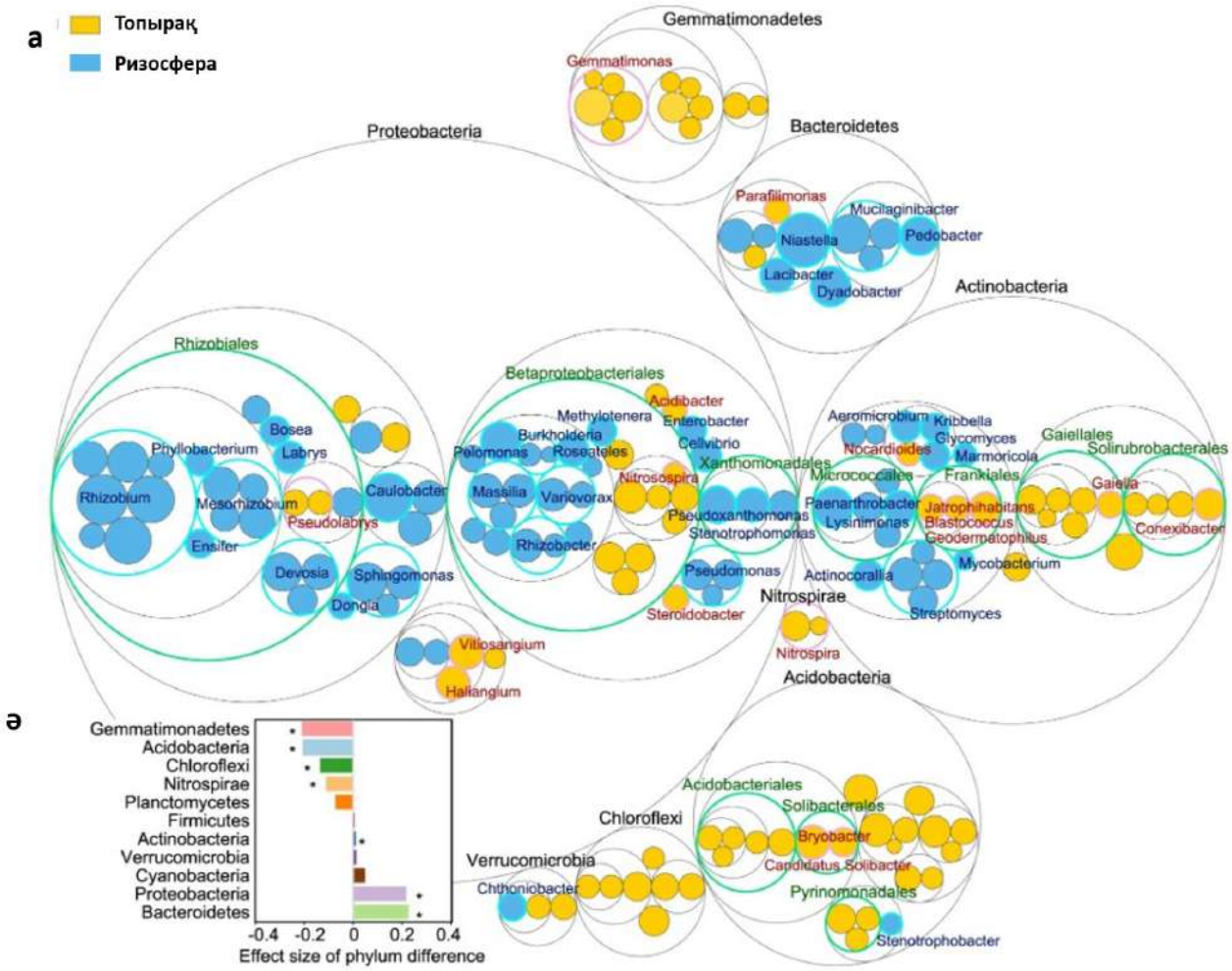
1-суретте көрсетілген қызыл түсті таяқша пішінді жасушалар - өсімдік тамырына іргелес жатқан топырақ аймағын колонизациялайтын, өсімдіктің ішкі тіндеріне енбейтін ризосфера бактериялары. Көк түсті жасушалар - тамыр бетімен тығыз әрекеттесіп, кейде өсімдік тіндерінен де кездесетін ризоплан бактериялары, немесе эпифитті бактериялар. Күлгін түсті жасушалар - тамыр эпидермисінің әртүрлі аймақтарын колонизациялап, апопластикалық жасушааралық кеңістіктерде және ксилема тамырларының апопластында орналасатын эндофитттер [24].



Сурет 1 -Тамыр аймағындағы бактериялардың кеңістіктік ұйымдасуы [25].

Ризосферада өсетін, өсімдік тамырларын агрессивті түрде колонизациялайтын және өсімдіктердің өсуіне ықпал ететін еркін тіршілік ететін топырақ бактериялары өсімдік өсуін ынталандыратын ризобактериялар (ӨӨЫР) деп аталады, бұл терминді 1978 жылы Клеппер мен Шрот енгізген. ӨӨЫР тамыр секрециялары және олармен байланысты топырақ микроорганизмдері тікелей әсер ететін топырақтың ризосферасында тіршілік етеді [26]. Бұл микроорганизмдер өсімдіктердің фитосанитарлық жағдайын сақтауда және физиологиялық, биохимиялық функциялардың кең ауқымына байланысты агрофитоценоздарды оңтайландыруда маңызды рөл атқарады.

Ризосферада, ризопланда және тамыр эндосферасында тіршілік ететін бактериялардың таксономиясы соңғы жылдары молекулалық және геномдық әдістердегі жетістіктерге байланысты айтарлықтай дамыды [27]. Дәстүрлі түрде жіктеу фенотиптік және биохимиялық сипаттамаларға негізделді, бірақ қазіргі таксономия 16S рРНҚ тізбегінің филогенетикалық талдауын және көп локусты тізбекті талдауды қамтиды [28].



Сурет 2 - Ризосфера мен топырақ арасындағы бактериялық таксондардың алуан түрлілігінің айырмашылығы [29] а) Ампликондық тізбектік варианттар деңгейіндегі айырмашылықтар ә) Филум деңгейіндегі айырмашылықтар.

2-суретте тамыр аймағы - ризосфера мен жалпы топырақтағы бактерия таксондарының ампликондық тізбектік варианттар (АТВ) деңгейіндегі және филум деңгейіндегі айырмашылықтары көрсетілген. ALDEx2 әдісі арқылы жүргізілген статистикалық талдау бойынша [29], көк және сары көпіршіктер ризосферада және топырақта айтарлықтай жоғары кездесетін АТВ-тарды (FDR < 0.05) білдіреді. Қара түспен белгіленген ең үлкен шеңберлер филум деңгейін, ал жасыл түспен белгіленген ішкі шеңберлер қатар деңгейін белгілейді. Барлық АТВ-тар таксондық жіктеуде туыс деңгейіне дейін анықталса, тиісті көпіршіктердің жанына белгіленген. Ал филум деңгейінде оң мәндер филумның ризосферада жоғарырақ салыстырмалы көптігін, ал теріс мәндер оның көлемді топырақта жоғарырақ екенін көрсетеді.

Нәтижелер бойынша *Bacteroidetes* және *Proteobacteria* филумдары барлық үлгілердің ризосферасында көбірек байытылған болса, ал *Chloroflexi, Acidobacteria, Gemmatimonadetes* және *Nitrospirae* филумдары негізінен топырақта басым болды. Ризосферада *Proteobacteria* филумының салыстырмалы көптігі жоғары болғанымен, осы филумға жататын *Haliangium, Pseudolabrys, Acidibacter* және *Nitrosospira* туыстары жалпы топырақта әлдеқайда көбірек

кездесті. Сондай-ақ, *Actinobacteria* филумының салыстырмалы көптігі көптеген өсімдіктердің ризосферасында едәуір жоғары болғанымен, оның кейбір туыстары - *Gaiella, Blastococcus, Nocardioides* және *Conexibacter* - негізінен топырақта шоғырланғаны анықталды [29].

ӨӨЫР-лар негізінен *Proteobacteria, Firmicutes, Bacteroides* және *Actinobacteria* филасына жатады [30,31]. Ризосфераның және ризопланның микрофлорасы *Azospirillum, Azotobacter, Agrobacterium, Enterobacter, Klebsiella, Pseudomonas, Xantomonas* және т.б. сияқты грамтеріс бактериялар, *Bacillus* туысына жататын грамоң бактериялар, *Nocardia, Micromonospora, Streptomyces* және т.б. актинобактерия өкілдері мен микроскопиялық саңырауқұлақтар туысына жататын *Penicillium, Gliocladium, Talaromyces, Humicola* өкілдерінің болуымен сипатталады [32,33]. Ең кеңінен таралған ризобактерияларға *Acinetobacter, Aeromonas, Agrobacterium, Allorhizobium, Arthrobacter, Azoarcus, Azorhizobium, Azospirillum, Azotobacter, Bacillus, Bradyrhizobium, Burkholderia, Caulobacter, Enterobacter, Delobacter, Chromobacter , Flavobacterium, Frankia, Gluconacetobacter, Klebsiella, Mesorhizobium, Micrococcus, Paenibacillus, Pantoea, Pseudomonas, Rhizobium, Serratia, Streptomyces, Thiobacillus* және т.б. тектес туыс өкілдері кіреді [34,35].

1.2 Ризобактериялардың өсімдіктің өсуіне әсер ететін функционалдық биологиялық механизмдері

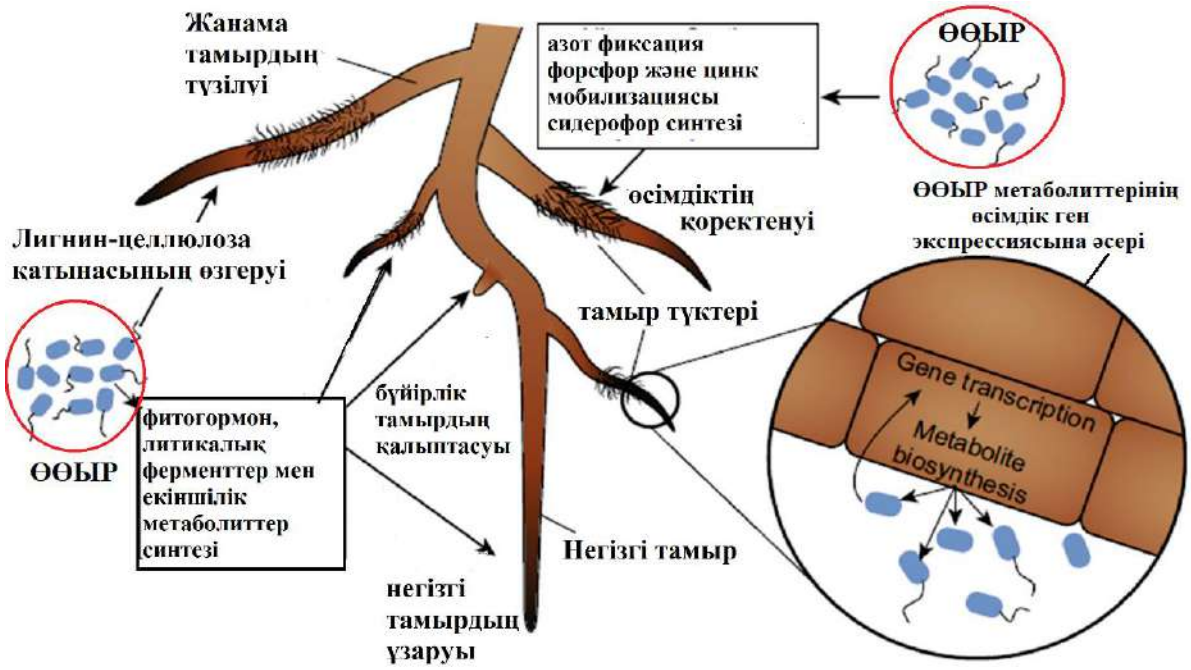
ӨӨЫР-дың функционалдық белсенділігі өсуді ынталандыруға және өсімдіктердің стресс факторларына төзімділігін арттыруға бағытталған биологиялық механизмдер кешені арқылы жүзеге асырылады:

- өсімдіктердің өсуін ынталандыру: өсімдікті өсуге қажетті элементтермен қамтамасыз ету (мысалы, азотты бекіту, фосфатты еріту), фитогормондарды өндіру [36].

- биобақылау: темірді байланыстыратын және оны өсімдіктерге қолжетімді ететін сидерофорларды, литикалық ферменттерді және антибиотиктерді өндіру ресурстар бәсекелестігі және жүйелі өсімдік төзімділігін индукциялау арқылы өсімдік патогендерінің дамуын тежейді [36].

- ризосфералық компетенттілік: тамыр беттерін қарқынды колонизациялау негізгі өсімдіктің үйлесімділігіне және қоршаған ортаның күйзелістеріне төзімділігіне байланысты.

- қауымдастық құрылымы: ризосферада қоректік заттарға бай ортаға бейімделген копиотропты (тез өсетін) бактериялардың көптігін арттырады [29,36]. Қауымдастық құрылымы өзгермелі тамыр секрециясына және топырақ жағдайына бейімделуді көрсететін жоғары модульдік және динамикалық болып табылады [29]. Бұл механизмдердің бірлескен әсері морфогенетикалық және трофикалық функцияларды орындайды және агроэкожүйелердің тұрақты жұмыс істеуін қамтамасыз етеді.



Сурет 3 - Өсімдіктердің өсуін ынталандыратын ризосфералық бактериялардың (ӨӨЫР) тамыр жүйесімен өзара әрекеттесуі [37]

3-суретте тамырдың қалыптасуындағы және өсімдіктердің коректенуін жақсартудағы ӨӨЫР-дың негізгі механизмдері бейнеленген, ал үлкейтілген фрагментте олардың тамыр жасушаларына еніп, геннің транскрипциясы мен метаболит биосинтезіне әсер ететін молекулаларды бөлетіні көрсетілген. Осы механизмдер көмегімен, бактериялар өсімдік гендерінің экспрессиясын реттейді, фитогормондарды синтездеу арқылы тамыр түктерінің түзілуін, жанама тамырлардың дамуын және негізгі тамырдың ұзаруын ынталандырады, лигниннің целлюлозаға қатынасын өзгерту арқылы тамырдың өсуін және қоректік заттардың қолжетімділігін жеңілдетеді [38].

Қазіргі уақытта өсуді ынталандыратын белсенділікке жауап беретін ассоциативті ризофильді бактериялардың көптеген қасиеттері зерттелді. Осы уақытқа дейін зерттелген ӨӨЫР-дың өсімдіктерге оң әсер етуінің барлық механизмдерін шартты түрде 2 түрге бөлуге болады:

1. Тікелей механизмдерге микробтардың өсу стимуляторларын биосинтездеуі, өсімдіктің гормоналды тепе-теңдігін реттеуі және қоректік заттардың қолжетімділігін арттыруы, молекулалық азоттың ассоциативті фиксациясы, фосфор мен калий сияқты элементтерді жұмылдыру және темірмен қамтамасыз ету, сондай-ақ микоризальды және ризобиальды симбиозды белсендіру кіреді [39].

2. Ал жанама әсер ету жолдарына бәсекелестікке негізделген темір иондары үшін күрес, сидерофорлар түзу, фитопатогендердің жасуша қабырғаларын ыдырататын ферменттерді синтездеу, патогендердің өну факторларының инактивациясы, өсімдіктің қорғаныс жүйесін белсендіру арқылы жүзеге асады [40].

1.2.1 Ризосфералық бактериялардың топырақтағы фосфор айналымына ықпалы

Фосфор (Р) - өсімдіктердің өсуі мен дамуының барлық кезеңдерінде қажет негізгі макроэлементтердің бірі. Ол тыныс алу, фотосинтез, сигналдық трансдукция, жасушалардың бөлінуі, макромолекулалардың биосинтезі және ұлпалардың түзілуі сияқты көптеген физиологиялық және биохимиялық үдерістерге қатысады. Өсімдіктердің құрғақ биомассасындағы фосфор мөлшері әдетте 0,2-0,8% аралығында болады.Фосфор топырақта бейорганикалық және органикалық формада кездеседі. Оның жалпы мөлшерінің 30-50% құрайтын органикалық фосфор өсімдік тіндерінде инозитол гексафосфат (фитат) түрінде сақталады. Бейорганикалық фосфор, өз кезегінде, топырақта салыстырмалы түрде жоғары болғанымен, оның шамамен 95-99%-ы ерімейтін қосылыстар түрінде болады [41]. Топырақта еритін фосфор мөлшері шамамен 1 мг/кг топырақты құрайды, бұл өсімдіктің өсуін қамтамасыз ету үшін жеткіліксіз [42].

Топырақтағы Р тапшылығы мәселесі ішінара минералдық тыңайтқыштар енгізу арқылы шешіледі. Алайда фосфорлы тыңайтқыштардың құрамындағы Р-дың 70-90%-ы иммобилизацияға ұшырайды [43]. Өсімдіктерге қол жетімді фосфор ортофосфаттар, бір негізді ($H_2PO_4^-$) және екі негізді (HPO_4^{2-}) иондары сияқты еритін бейорганикалық формалар түрінде игеріледі. Бұл иондар топыраққа енгізілгеннен кейін бейтарап және сілтілі (pH>7,0) топырақтарда кальций (Ca^{2+}), ал қышқыл (pH<5,0) топырақтарда алюминий (Al^{3+}) мен темір (Fe^{3+}) катиондары әсерінен қолжетімсіз күйге өтеді. Бұл процесс фосфор иондарының металл катиондарымен нашар еритін қосылыстар түзу немесе минералдық беттерге сорбциялану нәтижесінде жүреді [44].

Фосфор тапшылығы проблемасын шешудің экологиялық тұрғыдан қауіпсіз тәсілдерінің бірі - органикалық қосылыстардан фосфорды минерализациялай алатын және қиын еритін бейорганикалық формаларды ерітіп, өсімдікке қолжетімді ететін фосфат-мобилизациялаушы микроорганизмдерді (ФММ) қолдану. Топырақтағы органикалық Р-ды мобилизациялаудың негізгі механизмі - оның минерализациясы, бұл процесс фитазалар мен фосфатазалар сияқты ферменттердің түзілуі арқылы жүзеге асады. Фосфатазалар органикалық заттардың фосфоэфирлік және фосфоангидридтік байланыстарын гидролиздейді және pH-тың оптимумына байланысты сілтілі және қышқыл фосфатазаларға бөлінеді. Қышқыл фосфатазаларды микроорганизмдер де, өсімдіктер де бөледі, ал сілтілі фосфатазалар негізінен микробтекті болып табылады. Микроорганизмдер бөлетін фосфатазалар өсімдік тамырының экссудаттарындағы фосфатазаларға қарағанда Р қосылыстарына жоғары аффинділік танытады. Фитазалар фитаттың деградациясы нәтижесінде Р-ды мобилизациялайды, ал фитат топырақтағы органикалық Р-дың негізгі компоненті болып саналады. ФММ ішіне фосфорды мобилизациялай алатын ризосфералық бактериялардың ең көп таралғандарына *Pseudomonas, Bacillus, Rhizobium, Enterobacter, Acinetobacter, Serratia, Burkholderia, Klebsiella, Arthrobacter, Azospirillum* және *Streptomyces* туыстары жатады [45].

1.2.2 Фитогормондар синтезі - өсімдік өсуін ынталандырудың негізгі механизмі

Фитогормондар өсімдіктердің реттеу жүйелерінің маңызды құрамдас бөлігі бола отырып, олардың стресс жағдайында бейімделу реакцияларының қалыптасуында маңызды рөл атқарады. Микробтекті фитогормондардың құрылымы өсімдіктердікіне ұқсас екендігі туралы көптеген зерттеулер бар. Сонымен қатар, микроорганизмдер мен өсімдіктердегі фитогормондардың синтезі мен ыдырау механизмдері жиі сәйкес келеді [46].

Өсімдіктердің физиологиялық белсенділігі әртүрлі фитогормондармен реттеледі, соның ішінде ауксиндер, гиббереллиндер, цитокининдер, абсцизин қышқылы, этилен, салицил қышқылы, жасмонаттар, брассиностероидтар.

Цитокининдер - аденин негізді қосылыстар тобы, жасушалардың бөлінуін ынталандырады, РНҚ синтезі мен трансляцияны күшейтеді, хлоропластардың түзілуін қамтамасыз етеді және фотосинтетикалық аппараттың тұрақтылығын арттырады [47].

Гиббереллиндер - терпеноидтардан түзілетін және 100-ден астам қосылысты қамтитын фитогормондар. Олар меристема жасушаларының бөлінуі мен созылуын белсендендіреді, ферменттердің түзілуін күшейтеді, дәндердің өнуін, гүлденуін, жемістердің қалыптасуы мен пісуін ынталандырады [46].

Ауксиндер - индол туындыларына жататын фитогормондар. Олар жасушалардың созылуы мен дифференциациясын, өсімдік мүшелерінің түзілуін, тамыр жүйесі мен ксилеманың дамуын, сонымен қатар химотропизм және фототропизм процестерін реттейді, пигменттердің биосинтезінде қатыса отырып, фотосинтетикалық аппараттың тұрақтылығын арттырады [46].

Ең жоғары физиологиялық белсенділік индол-3-сірке қышқылына (ИСҚ) тән. Ауксин категориясына жататын негізгі фитогормон ИСҚ өсімдіктердің өсуі мен дамуын реттеп қана қоймай, өсімдік-микроорганизм өзара әрекеттесуінде де шешуші рөл атқарады. ИСҚ өсімдік тамырларының жасуша қабырғаларын босаңсытып, олардың кеңеюіне ықпал етеді. Бұл тамыр экссудаттарының бөлінуін күшейтіп, өз кезегінде ризосферадағы қосылыстарды пайдаланатын микроорганизмдердің құрамына және белсенділігіне әсер етеді. ИСҚ биосинтезі бактерияларда, ашытқыларда және жіп тәрізді саңырауқұлақтарда жүзеге асатыны анықталған. Микроорганизмдердің ИСҚ өндіру қабілеті ризосферадағы метаболикалық байланыстарды реттеп, өсімдіктің өсуі мен дамуын ынталандырады. *Acetobacter, Stenotrophomonas, Acinetobacter, Azospirillum, Arthrobacter, Bacillus, Pseudomonas, Bradyrhizobium, Burkholderia, Pantoea, Klebsiella, Mesorhizobium, Paenibacillus, Rhizobium, Herbaspirillum, Rhodococcus, Azotobacter, Serratia* және *Rouxiella* ризосфералық бактериялардың едәуір бөлігі ИСҚ өндіру мүмкіндігіне ие [47,48].

1.2.3 Азот айналымы және биологиялық азот фиксациясындағы ризобактериялардың шешуші рөлі

Азот (N) - өсімдіктердің дамуы мен өнімділігіне тікелей ықпал ететін басты макроэлемент және ол тірі жасушалардың құрылымдық және функционалдық негізін құрайтын көптеген қосылыстардың - нуклеин қышқылдарының,

пептидтердің, аминқышқылдарының, хлорофиллдің, түрлі органикалық және май қышқылдарының құрамына кіреді [49,50].

Ауыл шаруашылығы дақылдарының өсу динамикасы мен түпкі өнімділігі көбіне топырақтағы азот қорына тәуелді. Әсіресе, дәнді дақылдардың өнімділігі азоттың жеткілікті деңгейде болуы арқылы айқындалады. Агроэкожүйелердегі азот айналымын тиімді басқару - ауыл шаруашылығы өнімділігін арттырудың және тұрақты егіншілікті қамтамасыз етудің негізгі факторларының бірі болып саналады [51]. Күріш, жүгері, картоп және бидай сияқты дәнді-дақылдардың өнімділігі көбіне азот қорымен байланысты. Азоттың пайдаланылу тиімділігі салыстырмалы түрде төмен және бұл құбылыс негізінен аммиактың ұшып кетуі, азоттың топырақтан шайылып шығуы және денитрификация секілді күрделі биогеохимиялық үдерістермен түсіндіріледі [52].

Азоттың биологиялық фиксациясы ауыл шаруашылығында химиялық азот тыңайтқыштарына тәуелділікті төмендетудің баламалы жолдарының бірі және ғаламдық деңгейде бекітілген азоттың 60%-дан астамы дәл осы биологиялық фиксация нәтижесінде қалыптасатыны белгілі [53].

Биологиялық азот фиксирлейтін ризобактериялар (БАФР) - атмосферадағы молекулалық азотты (N_2) өсімдіктерге қолжетімді формаға айналдыра алатын диазотрофты микроорганизмдер тобы. Олар өсімдіктің өсуін ынталандырады, өнімділігін арттырады, топырақ құнарлылығын сақтап, экожүйеде азот айналымын тұрақтандырады және химиялық азот тыңайтқыштарын азайту арқылы экологиялық қауіпсіздікті қамтамасыз етеді.

БАФР-ға симбиотикалық, ассоциативті және еркін тіршілік ететін ризобактериялар жатады [49,54]. Симбиотикалық ризобактериялар - бұршақ тұқымдас өсімдіктердің тамыр түйнектерінде тіршілік етіп, өсімдікпен өзара тиімді симбиоз құрайды (*Rhizobium, Sinorhizobium*, *Mesorhizobium, Azorhizobium* және *Bradirhizobium)* [54]. Ассоциативті ризобактериялар - өсімдік ризосферасында немесе тамыр бетінде өмір сүріп, өсімдікпен әлсіз байланыста болады (*Azospirillum, Herbaspirillum*, *Burkholderia*). Еркін тіршілік ететін азотфиксациялаушылар - топырақта өсімдікке тікелей байланыссыз өмір сүріп, азотты фиксациялай алады (*Azotobacter, Clostridium*) [55].

1.2.4 Мырыштың топырақтағы қолжетімділігін арттыруындағы цинк-ерітуші ризобактериялар

Цинк (Zn) көптеген металлопротеиндердің және ферменттік жүйелердің құрамына еніп, олардың белсенділігін қамтамасыз ете отырып, физиологиялық және биохимиялық процестерде шешуші рөл атқаратын элемент. 300-ден астам ферментативтік реакцияларда кофактор ретінде қызмет атқаратын Zn өсімдіктердің ақуыздар, көмірсулар, липидтер және басқа да маңызды биомолекулаларды түзу қабілетінде негізгі рөлге ие. Ол көмірсулардың алмасуына және өсу процестерін реттейтін фитогормон - ауксиннің биосинтезіне тікелей қатысады. Zn жетіспеушілігі жағдайында ауксин түзілуі төмендеп, жасушалардың созылу қабілеті әлсірейді, нәтижесінде өсімдіктердің өсуі

баяулап, морфологиялық ауытқулар байқалады [56]. Элемент жасуша жарғақтарының құрылымдық тұрақтандырғышы ретінде олардың тұтастығын сақтап, тотығу стрессінен қорғайды, тамыр жүйесінің дамуына, дәндердің қалыптасуына және өсімдіктердің жалпы жоғары тіршілік ету қабілетіне тікелей әсер етеді. Топырақтағы мырыштың көп бөлігі ерімейтін күйде болғандықтан, оны өсімдіктерге қолжетімсіз етеді.

Мырышты ерітетін ризобактериялар (МЕР) ерімейтін мырыш қосылыстарын, соның ішінде мырыш оксидін, карбонатын және фосфатын өсімдіктерге қолжетімді формаларға айналдыру қабілетімен ерекшеленеді [57]. Осы қасиеттеріне байланысты МЕР топырақтағы мырыштың биожетімділігін арттыруға және өсімдіктердің өсуі мен дамуын ынталандыруға бағытталған перспективалы биологиялық құралдардың бірі болып саналады. МЕР-дың негізгі механизмдері:

– pH деңгейін төмендететін органикалық қышқылдарды (мысалы, глюкон, лимон, қымыздық) синтездеу және олардың топырақ ерітіндісіне шығуын жеңілдететін мырыш иондарын хелаттау [58].

– Мырышпен байланысып, оның ерігіштігін және өсімдіктерге сіңірілуін арттыратын сидерофорларды, темір-хелаттық қосылыстарды синтездеу [57,58].

– Протондарды ығыстырады және құрамында мырышы бар минералдарды тікелей ерітетін хелат түзетін лигандтарды шығарады [59].

– Топырақтың химиялық құрамын өзгертетін ферменттерді экспрессиялау мырыштың мобилизациясын жеңілдетеді [59].

Бактериялардың ішінде *Bacillus spp. (B. megaterium, B. altitudinis, B. aryabhattai* және *B. thuringiensis), Pseudomonas, Enterobacter, Rhizobium, Acinetobacter, Burkholderia*, *Serratia* және *Stenotrophomonas* туыс өкілдері мырыштың тиімді еріткіш потенциалымен кеңінен танымал. Бұл микроорганизмдер негізінен бидай, жүгері, күріш сияқты экономикалық маңызды дақылдардың ризосферасынан оқшауланған, мұнда олар мырыштың биожетімділігін арттыруда маңызды рөл атқарады [57,58,60].

1.2.5 Ризобактериялардың биобақылау механизмдері: литикалық ферменттер мен сидерофорлар синтезі

Ризобактериялар ризосферада тұрақты тіршілік етіп, өсімдік тамырымен тығыз өзара әрекеттесу арқылы оның физиологиялық белсенділігін реттеп қана қоймай, әртүрлі стресс факторларына төзімділігін арттырады. Өсімдіктерді фитопатогендерден қорғау тетіктері ризобактериялардың күрделі физиолого-биохимиялық белсенділігіне негізделген. Мұндай қорғаныс ең алдымен әртүрлі жасушадан тыс гидролитикалық ферменттердің түзілуі арқылы жүзеге асады. Бактериялардың штамдары өндіретін жасушадан тыс гидролазалар фитопатогенді микроорганизмдерге қарсы антагонистік әсер көрсетудің ең маңызды тетіктерінің бірі болып табылады. Хитиназалар, β-1,3-глюканазалар, протеазалар мен целлюлазалар фитопатогендердің жасуша қабықшасын бұзып, олардың тіршілікке қабілеттілігін төмендетеді. Саңырауқұлақтар мен оомицеттердің жасуша қабырғалары негізінен хитиннен, целлюлозадан және

глюкандардан құралған, сондықтан мұндай ферменттер олардың құрылымдық компоненттерін ыдыратып, споралардың өну қабілетін әлсіретеді, өскін түтікшелерін және гифаларды лизиске ұшыратады. Фитопатогендердің морфологиялық және физиологиялық тұрақтылығына тікелей әсер етіп, олардың көбеюін тежейтін негізгі биологиялық қарулардың бірі болып саналады [61].

Ризобактериялардың биобақылау механизмдерінің бірі - сидерофор синтезі. ӨӨЫР темір тапшылығы жағдайында сидерофорлар деп аталатын темірді байланыстыру және оны бактерия жасушаларына жеткізу үшін өндіретін төмен молекулалық, жоғары аффинді органикалық қосылыстарды синтездейді. Олар ризосферада өсімдікке қажетті темірдің биожетімділігін қамтамасыз ету, фитопатогендермен темір үшін бәсекелесіп, олардың өсуін тежеу, ауыр металдардың уыттылығын төмендетіп, өсімдік төзімділігін күшейту маңызды қызметтерін атқарады [62].

Темір (Fe) өсімдіктердің фотосинтездік электрон тасымалдау тізбегінде, тыныс алу процестерінде, хлорофилл биосинтезінде және әртүрлі ферменттердің кофакторы ретінде маңызды қызмет атқарады. Темірдің екі валентті күйі (Fe^{2+}) өсімдіктер үшін әлдеқайда жақсы еритін әрі қолжетімді форма болып табылады. Алайда табиғи ортада ол оңай тотығып, үш валентті күйге (Fe^{3+}) ауысады да, ерімейтін қосылыстар түрінде тұнбаға түседі. [63]. Нәтижесінде темірдің жеткіліксіз деңгейде сіңірілуі өсімдіктің өсуін шектеп қана қоймай, тірі ағзалардың биологиялық дамуын тежейді [64]. Осы шектеуді жеңу үшін өсімдіктер темірді ризосферада мобилизациялауға және тамыр жасушаларына тасымалдауға бағытталған екі негізгі физиологиялық стратегия қалыптастырған: Strategy I - тотықсыздандыру стратегиясы және Strategy II - хелаттау стратегиясы [65].

Strategy I негізінен қосжарнақты өсімдіктерге және астық тұқымдастарға жатпайтын біржарнақты түрлерге тән. Ол темір тапшылығы жағдайында үш негізгі механизм арқылы іске асады: ризосфераның қышқылдануы, Fe^{3+}-тің Fe^{2+}-ке тотықсыздануы және Fe^{2+}-тің тамыр жасушаларына тасымалдануы. Темір тапшылығы жағдайында тамыр плазмалық мембранасындағы H^+-АТФазалардың белсенділігі артып, протондар ризосфераға бөлінеді. Нәтижесінде тамыр маңындағы ортаның pH көрсеткіші төмендеп, темір қосылыстарының ерігіштігі жоғарылайды. Кейін Fe^{3+}-хелат кешендері плазмалық мембранада орналасқан ферри-хелатредуктаза ферменттерімен Fe^{2+} түріне дейін тотықсызданады. Түзілген Fe^{2+} иондары IRT (*Iron-Regulated Transporter*) тобына жататын тасымалдаушылар арқылы тамыр жасушаларына өтеді. Strategy I қолданатын өсімдіктер темір тапшылығына жауап ретінде тамыр жүйесінің архитектурасын да өзгерте алады. Мысалы, бүйір тамырлардың түзілуі, тамыр түктерінің ұзаруы және тамырдың ризосферада таралу аумағының кеңеюі темірді іздеу мүмкіндігін арттыруы ықтимал. Сонымен бірге органикалық қышқылдар, фенолдық қосылыстар және басқа да төмен молекулалы метаболиттер бөлініп, темірдің ризосферадағы қозғалғыштығына әсер етеді [65].

Strategy II негізінен *Poaceae* тұқымдасына жататын дәнді дақылдарға тән. Бидай, тритикале және жүгері сияқты өсімдіктер темір тапшылығы жағдайында

фитосидерофорлар деп аталатын төмен молекулалы органикалық қосылыстарды синтездеп, ризосфераға бөледі. Фитосидерофорлардың негізгі қызметі - ерігіштігі төмен Fe^{3+} иондарын хелаттау және тұрақты Fe^{3+}-фитосидерофор кешендерін түзу. Бұл кешендер топырақтағы темірдің қозғалғыштығын арттырады. Кейін Fe^{3+}-фитосидерофор кешендері тамыр жасушаларына YSL (*Yellow Stripe-Like*) тасымалдаушылары арқылы қабылданады. Strategy II кезінде темірдің Fe^{3+}-тен Fe^{2+}-ке дейін алдын ала тотықсыздануы міндетті емес, өйткені өсімдік темірді хелатталған Fe^{3+} кешені түрінде сіңіре алады [66].

Кейбір ризобактериялар топырақтағы редуктазалық ферменттерді пайдалану арқылы $Fe^{3+} \rightarrow Fe^{2+}$ түрленуін қамтамасыз етіп, өсімдікке оңай сіңірілетін ионды формада ұсынады. Микробтық сидерофорлар - микроорганизмдер темір тапшылығы жағдайында синтездейтін, Fe^{3+} иондарын жоғары аффинділікпен байланыстыратын төмен молекулалы қосылыстар. Микробтардың сидерофор арқылы темірді игеруі бірнеше кезеңнен тұрады: сидерофордың синтезделуі және сыртқы ортаға бөлінуі, Fe^{3+}-пен кешен түзуі, кешеннің арнайы рецепторлармен танылуы және жасушаға тасымалдануы, кейін темірдің сидерофордан босатылуы. Босап шыққан темір микроорганизмнің негізгі физиологиялық процестеріне пайдаланылады. Ризосферада микробтық сидерофорлар топырақтағы Fe^{3+} қосылыстарын байланыстырып, темірдің қозғалғыштығы мен өсімдікке қолжетімділігін арттыруы мүмкін. Осы тұрғыдан олар өсімдіктердің темірмен қамтамасыз етілуіне жанама ықпал етеді және ризосферадағы өсімдік-микроорганизм өзара әрекеттесуінде маңызды рөл атқарады. Фитосидерофорлар мен микробтық сидерофорлардың негізгі ұқсастығы - Fe^{3+} иондарын хелаттап, темірді өсімдік пен микроорганизмдерге қолжетімді формаға айналдыру қабілеті. Алайда олардың шығу тегі мен темірді қабылдау механизмдері ерекшеленеді: фитосидерофорларды өсімдік тамыры синтездеп, ризосфераға бөледі, ал микробтық сидерофорларды микроорганизмдер түзеді [67].

Литикалық ферменттер мен сидерофор түзуші ризобактериялар өсімдіктің өсуін жақсартуда ғана емес, сонымен қатар ауыр металдармен ластанған топырақтағы олардың уыттылығын төмендетуде де ерекше экологиялық маңызға ие. Ризосферада темір мөлшері аз ортада сидерофор өндіретін ӨӨЫР қолжетімді темірді байланыстырып, оны патогендер үшін қолжетімсіз етеді, осылайша жанама түрде өсімдік өсуіне ықпал жасайды және патогендердің өсуін тежейді. Зерттеулер бойынша *Pseudomonas, Bacillus, Azotobacter, Enterobacter, Serratia* және *Rhizobium* туыстарына жататын бактериялар жоғары темір байланыстыру қабілетіне ие әртүрлі сидерофорларды және жасушадан тыс гидролитикалық ферменттерді түзіп [67], *Aspergillus, Fusarium* және *Pythium* сияқты фитопатогендердің өсуін тежейді [64].

1.3 Микроорганизмдерді иммобилиздеу технологиясы: тиімді тасымалдаушылар мен заманауи әдістер

Микроорганизмдерді иммобилиздеу - жасушаларды әртүрлі тасымалдаушы материалдарға бекіту немесе полимерлік матрицаларға енгізу

арқылы жүзеге асырылатын биотехнологиялық тәсілдер жиынтығы [68]. Бұл тәсілдер:

– біріншіден, микроорганизмдердің тұрақтылығын едәуір арттырады;
– екіншіден, иммобилизденген биоматериалды реакциялық ортадан бөліп алып, қайта пайдалану мүмкіндігін береді;
– үшіншіден, мақсатты микроорганизмдердің ризосферада ұзақ мерзімді сақталуын қамтамасыз ете отырып, олардың өсуді ынталандырушы және детоксикациялаушы функцияларын тиімді жүзеге асыруға жағдай жасайды [69].

1.3.1 Бактерия иммобилизациясына арналған тасымалдаушы материалдар: түрлері, қасиеттері және агротехнологиялық қолданылуы

Иммобилизация үдерісінің тиімді жүзеге асуы үшін үш негізгі элемент қажет: иммобилизацияланатын объект, қолайлы жағдай және дұрыс таңдалған тасымалдаушы. Тасымалдаушы материалды таңдау микробты иммобилизациялау технологиясының негізгі аспектісі болып табылады. Оларды таңдауда, идеалды иммобилизденген тасымалдаушы материал жоғары биоүйлесімділік, қолжетімділік, тұрақтылық, үлкен меншікті бетінің ауданы және төмен құны сынды қасиеттерге ие болуы керек. Бұл микробты иммобилизациялау технологиясының тиімділігін оңтайландыру үшін осы салада үздіксіз зерттеулер жүргізу қажеттілігін көрсетеді [70] .

Иммобилизациялау үдерісінде пайдаланылатын тасымалдаушылар екі негізгі санатқа бөлінеді: органикалық және бейорганикалық. Органикалық материалдардың түрлері алуан түрлі және оларды пайдалану арқылы құрылымы бақыланатын поралы материалдарды алуға болады. Дегенмен, органикалық тасымалдаушылардың әлсіздігі - қысымға, pH-тың өзгерісіне және басқа да сыртқы факторларға сезімталдығында. Ал бейорганикалық тасымалдаушылардың ерекшелігі - олардың беріктігі мен төзімділігі. Олар әдетте инертті болып келеді және температуралық ауытқуларға, химиялық ерітінділердің әсеріне, микроорганизмдердің ыдыратушы әсеріне, сондай-ақ ұсақталу мен үйкеліс күшіне тұрақты болады. Бұл қасиеттер бейорганикалық тасымалдаушылардың басты артықшылықтарының бірі.

Бейорганикалық тасымалдаушылар қатарына глинозем, құм, диатомит, бентонит, вермикулит, перлит, кремнезем және оның гидрокси қосындылары, шыныкерамика, кордиерит, гидроксиапатит пен титан-цирконийлі қосылыстар жатады. Мұндай материалдар жоғары механикалық беріктігімен, агрессивті орталарда тұрақтылығымен және үлкен меншікті беткей ауданына ие болуымен ерекшеленеді. Бұл қасиеттер жасушалардың біркелкі орналасуына және олардың берік бекітілуіне ықпал етеді. Минералдық тасымалдаушыларды қолдану топырақтық жүйелерге арналған биопрепараттар жасауда және фитормедиация саласында ерекше маңызға ие [71].

Органикалық тасымалдаушыларды шығу тегіне қарай табиғи және синтетикалық полимерлерге бөлуге болады. Табиғи тектес полимерлерге ақуыздық матрицалар (коллаген, желатин, альбумин) және полисахаридтер (кальций альгинаты, агароза, к-каррагинан, агар, пектат, целлюлоза мен оның туындылары) жатады. Бұл тасымалдаушылардың ерекшелігі - биологиялық

үйлесімділігі және бактериялардың тіршілік қабілетін сақтап қалу мүмкіндігі. Синтетикалық полимерлерге поливинилхлорид, полиэтилен, полиуретан, полиэстер, поливинил спирті, полиакриламид, полистирол, эпоксидті шайырлар, полифениленоксид, силикон қосылыстары және ионалмастырғыш шайырлар жатады. Мұндай материалдар жасушаларды иммобилизациялауда жоғары механикалық тұрақтылық қажет болғанда және беткей қасиеттерін функционалдандыру мүмкіндігі болған жағдайда қолданылады [12].

Соңғы жылдары агробиотехнологияда өсімдіктектес материалдарды пайдалануға көбірек көңіл бөлінуде. Көміртегіге бай материалдар беттік-белсенді заттарға қарама-қарсы әсер етіп, өсімдіктерге ластаушы заттардың биожетімділігін төмендетеді. Олардың химиялық құрылымы, жоғары поралы және үлкен бетінің ауданы арқасында жоғары сорбциялық қабілеті бар [72]. Биокөмір (биочар) - оттегі аз ортада жоғарғы температурада әртүрлі қалдықтардың (өсімдік материалдары, үгінділер және басқа ағаш материалдары, күріш қауызы, мұнай қалдықтары, тыңайтқыш қалдықтары, күл, қант өнеркәсібінің қалдықтары және т.б.) биомассасын жағу арқылы өндірілетін көміртегіге бай өнім.

Зерттеу жұмысында тасымалдаушы ретінде вермикулит және үш түрлі биокөмір пайдаланылды (бидай сабаны негізіндегі биокөмір, *Miscanthus* × *giganteus* биомассасынан алынған биокөмір және ағынды сулардың қалдығынан жасалған биокөмір).

Вермикулит - магний, алюминий және темірдің табиғи гидратталған силикаты. Қазіргі биотехнология мен агроэкологиялық тәжірибелерде бейтарап pH, жақсы адгезия қасиеттері және төмен уыттылығының арқасында биотыңайтқыштарды әзірлеу үшін кеңінен қолданылатын табиғи минералды тасымалдаушылардың бірі. Вермикулиттің теріс заряды оның ерекше катион алмасу сыйымдылығын қамтамасыз етеді - ол калий (K), магний (Mg), кальций (Ca) және аммоний (NH_4) сияқты оң зарядты иондарды ұстап тұрып, өсімдіктің қажетіне қарай бөліп береді. Ал оның кеңейтілген құрылымы губка тәрізді жұмыс жасайды - өз салмағының 3-4 есесіндей суды сіңіріп, оны біртіндеп өсімдік тамырларына береді [73]. Әдебиеттерге сәйкес, вермикулитті тасымалдаушы ретінде *Rhizobium, Azospirillum lipoferum* және *B. megaterium* бактерияларының сақтау мерзімін шамамен 8 айға дейін ұзартты [74].

Бидай сабанынан пиролиз арқылы алынған биокөмір топырақтың қасиеттерін жақсартуға, микроорганизмдерді иммобилизациялауға және ластанған экожүйелерді биоремедиациялауға арналған перспективалық материал болып табылады. Бидай биокөмірі (ББ) жоғары меншікті бет ауданы, дамыған поралы құрылымы және жоғары катион алмасу қабілеті арқасында органикалық және бейорганикалық ластаушы заттарды тиімді сіңіріп, олардың биожетімділігін төмендетеді. Сонымен қатар, ол топырақ микробиотасының тіршілік әрекетіне қолайлы жағдай жасайды. 300 °C және 500°C температурада алынған ББ-дің (1-2% енгізумен) микробтардың биомассасын көбейтетіні, бактериялардың әртүрлілігін сақтайтыны көрсетілген [75]. ББ-дің беттік ауданы, поралы құрылымы, pH мәні, қоректік элементтерінің (N, P және K) мөлшері, сондай-ақ Cd, Ni және Zn құрамдары жоғарырақ болды. Далалық зерттеулердің

нәтижелері ББ -ді ұзақ уақыт бойы енгізу CO_2 және N_2O шығарындыларын азайтып, сонымен қатар арпаның өнімділігін 9,9-20,4 % арттыратынын көрсетті [76].

Miscanthus × *giganteus* биомассасынан алынған биокөмір (МБ) - жоғары поралық пен тұрақтылыққа ие материал ретінде ауыл шаруашылық дақылдары мен топырақ сапасын жақсартуға қолданылады. Оның басты артықшылығы - мол биомасса түзу қабілеті, құрамындағы лигнин, целлюлоза және лигноцеллюлоза мөлшерінің жоғары болуы [77], өсімдіктердің физиологиялық параметрлерін (хлорофилл флуоресценциясы, өсу) жақсарту қабілеті, топырақтағы ауыр металдардың (Zn, Cd) жылжуын төмендетуі, қоректік элементтердің (N, P) жоғарғы қабаттарда ұсталуын қамтамасасыз етуі. Зерттеулерде МБ топырақ pH-ын реттейді, ферменттік және микробтық белсенділікті күшейтеді, тыңайтқыштардың шайылуын 30-50%-ға азайтады және *Miscanthus* өсімдігінің тұзды-сілтілі орталарда өсуін жақсартады, сонымен қатар энергия шығынын минералды тыңайтқыштарға қарағанда төмендетеді [82-84]. Одан бөлек МБ топырақтағы көміртектің ең ұзақ мерзімде сақталуын (орта тұру уақыты - 50 жыл) және биологиялық қолжетімді кремний (Si) элементінің ең жоғары бөліну деңгейін қамтамасыз ететіні анықталды [81]. МБ-мен өңделген топырақта органикалық заттың мөлшері бақылаумен салыстырғанда 18-61%-ға артып, қолжетімді фосфор мен алмасу катиондарының (Ca, K, Mg) мөлшері де айтарлықтай жоғарылады, дегидрогеназа ферментінің белсенділігін 70%-ға арттырып, соя өсімдігінің тамыр массасын 23%-ға, тамырдағы түйнек санын 27%-ға және дән өнімі 1,5 есеге өсірді [82].

Ағынды сулардың қалдығынан жасалған биокөмір (АБ) - ауылшаруашылық және энергетикалық дақылдар үшін қоректік заттар мен органикалық заттардың балама көзі, олардың өнімділігі мен топырақ сапасын арттырады. Ағынды су тұнбасы құрғақ массасы бойынша айтарлықтай мөлшерде қоректік заттар қамтиды: N - 30-60 г/кг, P - 18-36 г/кг, K - 3-6 г/кг, органикалық көміртек - 320-370 г/кг. Бұл оны басқа шикізаттардан ажырататын басты ерекшелік [83]. АБ топыраққа енгізу топырақтың агрегациясын жақсартады, pH деңгейін реттейді, қоректік заттарды ұстап, микробтық қауымдастық құрылымын өзгертеді [84], өсімдік тіндеріндегі потенциалды улы элементтердің жиналуын айтарлықтай азайтады және олардың топырақтағы қозғалғыштығы мен биожетімділігін төмендетеді [85], шөптектес өсімдіктерінің жер үсті биомассасының өнімін бақылаумен салыстырғанда 133-171% және 72-88%-ға арттырды [86].

Тасымалдаушыларды ӨӨЫР үшін иммобилизациялау матрицасы ретінде қолдану жасушалардың тіршілік қабілеттілігін стресс жағдайындағы топырақта да жоғары деңгейде сақтайтын биопрепараттар алуға мүмкіндік береді. Бұл сорбенттердің микропоралық құрылымына байланысты жүзеге асады: олар микроағзаларды температура мен ылғалдылықтың күрт өзгерістерінен, сондай-ақ уытты қосылыстардың әсерінен қорғайды және біртіндеп өсімдіктердің ризосферасына бөлінуін қамтамасыз етеді. Осындай қасиеттерінің арқасында оларды инокулянттардың құрғақ түрлерін, паста және түйіршіктелген биопрепараттарды өндіруде кеңінен қолдануға болады [87].

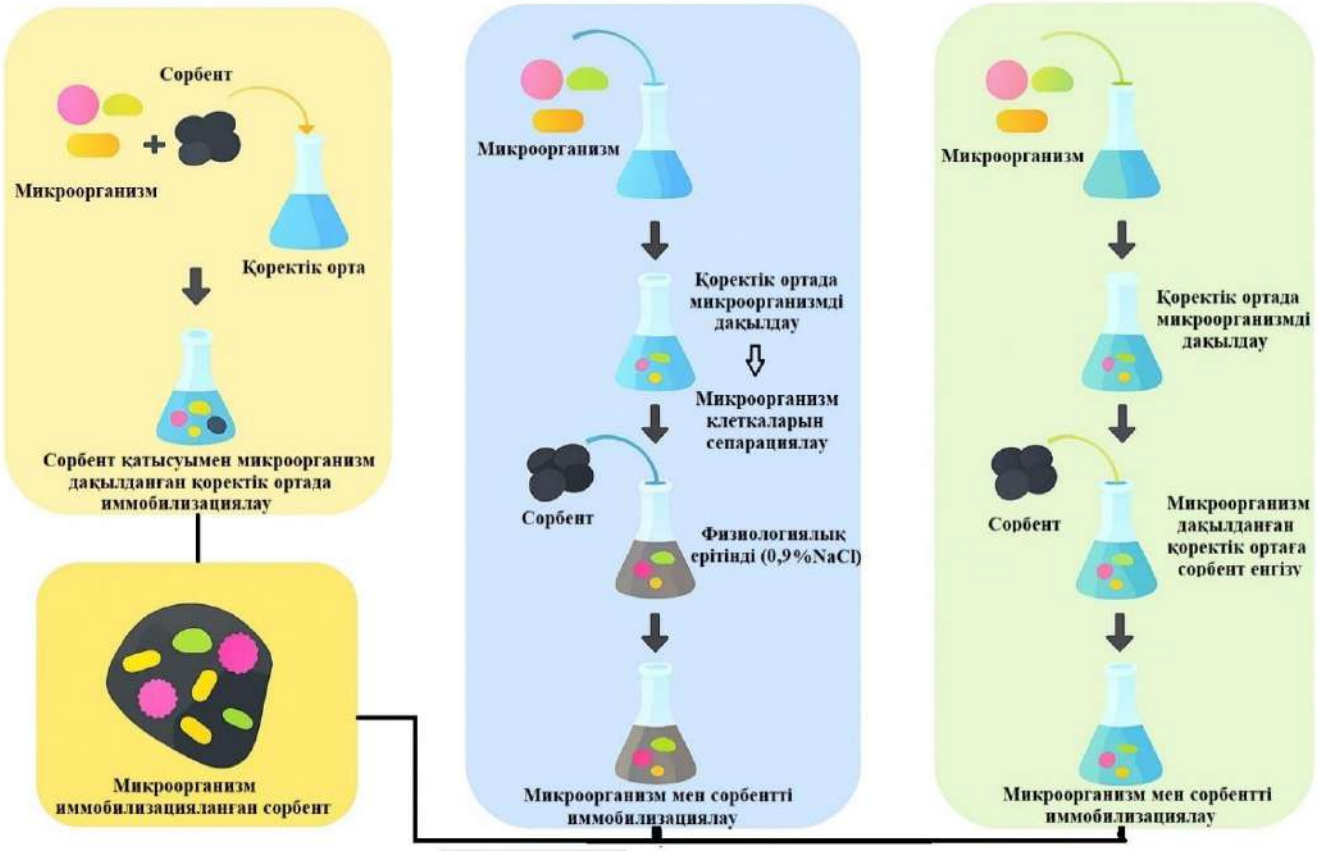
1.3.2 Агробиопрепараттарды жасау тәжірибесінде микроорганизмдерді тасымалдаушыларға иммобилизациялау: әдістері мен механизмдері

Иммобилизациялау әдісін дұрыс таңдау микроорганизмдердің тіршілікке қабілеттілігін сақтау, тасымалдаушы материалмен тиімді байланысын қамтамасыз ету және препараттың тұрақтылығы мен функционалдық белсенділігін арттыру үшін маңызды. Әдістің тиімділігі микроорганизмнің биологиялық ерекшеліктеріне, тасымалдаушының қасиеттеріне және препараттың қолдану мақсатына байланысты анықталады. Осыған сәйкес микробтық препараттарды алуда қолданылатын негізгі иммобилизациялау тәсілдері мен олардың ерекшеліктері 1-кестеде келтірілген [88].

Кесте 1 - Микробтық биопрепараттарды иммобилизациялау әдістерінің негізгі сипаттамалары

Иммобилизациялау тәсілі	Тасымалдаушы	Негізгі технологиялық операция	Алынатын өнім түрі
Адсорбция	Биокөмір, вермикулит, бентонит, , цеолит	Микробтық суспензияны поралы тасымалдаушымен араластыру	Ұнтақ немесе түйіршікті инокулянт
Құрылым ішінде бекіту (энтрапмент)	Альгинат, крахмал, ПВА, желатин	Жасушаларды полимермен араластырып, гель түзу	Ылғалды немесе кептірілген түйіршіктер
Инкапсуляциялау	Альгинат-саз, альгинат-крахмал	Тамшылар түзіп, кейін кальций иондарымен көлденең байланыс қалыптастыру	Микротүйіршіктер немесе капсулалар
Биоқабықша (биофильм) түзу	Органикалық, минералдық материалдар	Жасушалардың бақыланатын бекінуі және жетілуі	Биоқабықшамен қапталған тасымалдаушы
Қатты фазада иммобилизациялау	Бидай кебегі, күріш кебегі, компост	Ылғалды қатты субстратта микроорганизмдерді тікелей өсіру	Ферментацияланған тасымалдаушы негізіндегі өнім

Иммобилизденген микроорганизмдер негізіндегі биопрепараттарды жасау тәжірибесінде сорбенттерге бактериялық жасушаларды бекітудің бірнеше тәсілдері ерекшеленеді. 4-сурет бойынша микроорганизмдердің жоғары тіршілік ету қабілетін сақтауға және олардың тасымалдаушы бетінде біркелкі таралуын қамтамасыз етуге мүмкіндік беретін сорбенттің қатысуымен өсіруге немесе тұз ерітіндісіндегі физикалық адсорбцияға негізделген әдістер жиі қолданылады.



Сурет 4 - Тасымалдаушы көмегімен бактерияларды иммобилизациялаудың технологиялық сызба-нұсқасы [88].

Бірінші әдіс - микроорганизмдерді алдын ала таңдалған сорбент қосылған стерильді қоректік ортада бірлесіп өсіруге негізделген. Алынған суспензияда бактерия жасушалары мен сорбент болады, ол белгілі бір уақыт бойы бақыланатын температура мен тұрақты араластыру жағдайында инкубацияланады. Мұндай жағдайда жасушалардың тасымалдаушы бетіне тиімді бекінуі қамтамасыз етіледі. Хи және әріптестері (2017) [89] бидай сабанынан алынған биокөмірге *Rhodobacter capsulatus* штамын осы әдіспен иммобилизациялап, ағын суларды биоремедиациялауда $5{,}45\times10^{9}$ КТБ/г нәтижесіне қол жеткізген. Ұқсас тәсілді бірқатар зерттеушілер органикалық және бейорганикалық ластағыштарды тиімді биодеградациялау үшін, микроорганизмдерді мақсатты поллютанттар қатысында белсендендіру мақсатында қолданған [90,91].

Екінші әдіс физикалық адсорбцияға негізделеді және бірнеше сатылы процесс арқылы жүзеге асады. Алдымен бактериялар қоректік ортада қажетті биомассаға дейін өсіріледі, содан кейін жасушалар бөлініп алынып, белсенді көбею жүрмейтін, бірақ тіршілік қабілеті сақталатын физиологиялық ерітіндіге ауыстырылады. Келесі кезеңде тұзды ерітіндіге сорбент (мысалы, биокөмір) қосылып, жүйе тұрақты температура мен араластыру жағдайында ұсталады. Нәтижесінде физикалық адсорбция мен иммобилизация арасындағы тепе-теңдік орнайды. Бұл әдіс *Bacillus subtilis*, *B. cereus* және *Citrobacter sp.* штамдарын

жүгері сабанынан алынған биокөмірге бекіту үшін тиімді болған. Иммобилизденген жасушалардың тығыздығы 8×10^6 КТБ/г деңгейіне жетіп, алынған жүйелер уран мен кадмийді ластанған топырақтан сәтті жоюда қолданылған [92].

Үшінші әдіс алдыңғы тәсілдің модификацияланған нұсқасы болып табылады. Мұнда бактериялар OD_{600} бойынша бақыланатын белгілі бір жасуша концентрациясына дейін өсіріліп, содан кейін ортаға стерильді сорбент енгізіледі [93]. Нәтижесінде адсорбция, өсу және микроорганизмдердің тасымалдаушы бетіне бекінуі бір уақытта жүреді [94] . Демек, иммобилизациялау әдісін таңдау мақсатты микроорганизмдердің биологиялық ерекшеліктері мен сорбенттің физика-химиялық қасиеттеріне байланысты болады. Бұл өз кезегінде биоремедиация мен агробиотехнологияның әртүрлі міндеттеріне арналған тиімді биопрепараттарды әзірлеуге мүмкіндік береді.

1.4 Иммобилизденген биопрепарат алу параметрлері мен технологиясы

Коммерциялық тұрғыдан тиімді биопрепарат келесі талаптардың жиынтығына сәйкес келуі тиіс:

- тіршілікке қабілетті жасушалардың немесе споралардың жоғары концентрациясы;
- генетикалық және функционалдық тұрақтылық;
- патогенді және бөгде микроорганизмдердің болмауы;
- тасымалдаушы материалмен және консорциумның басқа мүшелерімен үйлесімділігі;
- жеткілікті сақтау мерзімі;
- тұқымға, топыраққа, тамыр жүйесіне немесе өсімдік қалдықтарына қолдануға қолайлылығы;
- ауыл шаруашылығы жағдайларында әсерінің тұрақты және қайталанымды болуы [95].

Иммобилизденген биопрепарат алудың өндірістік технологиялары бойынша *алғашқы кезең - микробтық суспензияны дайындау*.

Өндірістік үдеріс таңдалған микроорганизмді сұйық қоректік ортада өсіруден басталады. Дақылды тіршілікке қабілеттілігі мен функционалдық белсенділігінің ең оңтайлы үйлесімін қамтамасыз ететін өсу фазасында жинау қажет. Иммобилизациялау алдында алынатын микробтық дақылдың сапалық және сандық сипаттамалары кешенді түрде бағаланады. Бұл ретте культураның оптикалық тығыздығы, тіршілікке қабілетті жасушалар концентрациясы, pH көрсеткіші, құрғақ биомасса мөлшері, жасушалық морфологиясы, өсімдіктің өсуін ынталандыруға бағытталған функционалдық белсенділігі және микробиологиялық тазалығы анықталады. Аталған көрсеткіштер микроорганизмдердің бастапқы физиологиялық күйін бағалауға және иммобилизациялау үдерісінің тиімділігін әрі қарай оңтайландыруға мүмкіндік береді.

Көптеген бактериялық формуляциялар үшін технологиялық зерттеулердің бастапқы кезеңінде 10^8-10^{10} КТБ/мл аралығындағы жасуша концентрациясы қолайлы болып саналады. Оңтайлы концентрация тасымалдаушы материалдың сыйымдылығына және препараттың жоспарланған қолдану мөлшеріне байланысты анықталады. Жасушаларды центрифугалау, мембраналық сүзу немесе тұндыру арқылы концентрлеуге болады. Центрифугалау жасушалардың зақымдануын болдырмайтындай жұмсақ режимде жүргізіледі. Концентрленген биомассаны стерильді физиологиялық ерітіндіде, фосфатты буферде, сұйылтылған қоректік ортада немесе құрамында трегалоза, глицерин, майсыздандырылған сүт, сахароза және басқа да үйлесімді тұрақтандырғыштар бар қорғаныш формуляциясында қайта суспензиялауға болады [96].

Екінші кезең - тасымалдаушыларға иммобилизациялау. Иммобилизациялаудың технологиялық қадамдары:

1. Тасымалдаушы материалды дайындау және сипаттау.
2. Тасымалдаушыны стерильдеу немесе санитарлық өңдеу.
3. Тасымалдаушының ылғалдылығын қажетті деңгейге келтіру.
4. Концентрленген микробтық суспензияны дайындау.
5. Суспензияны тасымалдаушымен алдын ала белгіленген сұйық/қатты фаза арақатынасында араластыру.
6. Микроорганизмдердің тасымалдаушы бетіне бекінуін қамтамасыз ету үшін қажетті зерттелген режимде инкубациялау.
7. Қажет болған жағдайда артық сұйықтықты жою.
8. Препаратты бақыланатын жағдайларда кептіру.
9. Материалды елеу және қаптау.
10. Тіршілікке қабілетті жасушалардың концентрациясын және олардың тасымалдаушыдан босап шығу қабілетін анықтау.

Биокөмір негізіндегі препараттарда микроорганизмдердің адсорбция тиімділігін арттыру үшін биокөмірді еритін күлден тазарту мақсатында алдын ала жуып, ортаның pH көрсеткішін бактерияның физиологиялық қажеттілігіне сәйкестендіру, тасымалдаушыны алдын ала ылғалдандыру, жұмсақ вакуум немесе қысым әсерімен инфильтрация жүргізу, сондай-ақ кептіру алдында бактериялық биоқабықша қалыптастыру ұсынылады [96].

Үшінші кезең - тұрақтандыру технологиясы - кептіру

Микробтық биопрепараттардың сақтау мерзімін ұзарту үшін кептіру технологиясы кеңінен қарастырылады. Кептіру микроорганизмдердің метаболизмдік белсенділігін төмендетіп, препараттың сақтау кезіндегі тұрақтылығын арттыруға мүмкіндік береді. *Bacillus, Pseudomonas, Azospirillum* және лиофилизацияға арналмаған басқа да бактериялар үшін бастапқы технологиялық зерттеулерде жұмсақ ауада кептіру әдісін қолдану ұсынылады. Бұл тәсіл жасушаларға түсетін жылулық әсерді төмендетіп, олардың тіршілікке қабілеттілігін барынша сақтауға мүмкіндік береді. Кептіру үдерісін бастапқы оңтайландыру кезінде ауа температурасы 20-25 °C, салыстырмалы ылғалдылық 30-50%, материал қабатының қалыңдығы 2-5 мм, ал кептіру ұзақтығы 12-48 сағат аралығында белгіленеді. Үдеріс тікелей күшті ауа ағынынсыз жұмсақ желдету жағдайында жүргізіледі. Кептіруден кейінгі мақсатты қалдық ылғалдылық

микроорганизмдердің тіршілікке қабілеттілігін сақтайтындай деңгейде, шамамен 3-7% болуы тиіс. Құрғақ бактериялық композицияларға қатысты патенттік деректерде 10-30°С, көбіне 20-24 °С температурада және салыстырмалы ылғалдылығы 75%-дан төмен жағдайда ауада кептіру мүмкіндігі көрсетілген. Бұл ретте төмен ылғалдылық пен тиімді желдету қолайлы жағдай ретінде қарастырылады [97].

Вакуумдық кептіру суды салыстырмалы түрде төмен температурада жоюға мүмкіндік береді. Бұл әдісті биокөмір және вермикулит негізіндегі препараттар үшін жоғары температура әсерін болдырмай, кептіру үдерісін жеделдету мақсатында қолдануға болады. Лиофилизация (мұздатып кептіру) ұзақ уақыт сақтауға арналған құрғақ ұнтақ алу қажет болған жағдайда сезімтал, әсіресе спора түзбейтін бактериялар үшін қолайлы әдістердің бірі болып табылады. Лиофилизация үдерісінде микроорганизмдердің тіршілікке қабілеттілігін сақтау мақсатында трегалоза, сахароза, майсыздандырылған сүт, сарысулық ақуыздар, мальтодекстрин, глицерин және поливинилпирролидон сияқты криопротекторларды қолданудың тиімділігін тәжірибелік тұрғыдан бағалауға болады [98].

Төртінші кезең - оңтайландыру және сапаны бақылау.

Өнімнің сапасын бағалау кезінде келесі көрсеткіштер анықталуы тиіс:

– иммобилизациядан кейінгі тіршілікке қабілеттіліктің сақталуы;
– кептіруден кейінгі тіршілікке қабілеттіліктің сақталуы;
– сақтау барысында микроорганизмдердің тіршілікке қабілеттілігін сақтау деңгейі;
– штамның сәйкестендірілуі;
– контаминацияның болуы немесе болмауы;
– мақсатты функционалдық белсенділік;
– қайта ылғалдандырғаннан кейінгі өсу қабілеті;
– тамырларды колонизациялау қабілеті;
– өсімдіктің өсуіне әсері.

Өнім сапасын тек КТБ көрсеткіші бойынша бағалау жеткіліксіз. Мысалы, препарат құрамындағы жасушалар тіршілікке қабілеттілігін сақтағанымен, олардың фосфаттарды еріту белсенділігі немесе өсімдік тамырларын колонизациялау қабілеті төмендеуі мүмкін. Сондықтан функционалдық белсенділікті иммобилизациялауға дейін де, сақтау кезеңінен кейін де бағалау қажет.

Кесте 2 - Иммобилизденген препаратты алу тиімділігіне әсер ететін негізгі технологиялық параметрлер

Кезең	Негізгі параметрлер	Жауаптық көрсеткіштер
Микроорганизмдерді өсіру	Температура, pH, аэрация, араластыру қарқындылығы, қоректік ортаның құрамы	Биомасса, КТБ, споралар, функционалдық белсенділік
Тасымалдаушыны дайындау	Бөлшектер мөлшері, pH, электрөткізгіштік (EC), ылғалдылық, стерильділік, поралық құрылым	Адсорбциялық сыйымдылық, үйлесімділік
Иммобилизациялау	Жасушалар концентрациясы, тасымалдаушы/жасуша арақатынасы, жанасу уақыты, араластыру қарқындылығы	Жүктеу тиімділігі, тіршілікке қабілеттілік
Кептіру	Температура, салыстырмалы ылғалдылық, кептіру уақыты, қорғаныш заттар	Қалдық ылғалдылық, микроорганизмдердің тіршілікке қабілеттілігін сақтау
Сақтау	Температура, оттегі мөлшері, ылғалдылық, қаптама түрі	Сақтау мерзімі, КТБ сақталуы
Қолдану	Доза, босап шығу жылдамдығы, топырақ ылғалдылығы, енгізу орны	Тамырды колонизациялау, өсімдіктің физиологиялық жауабы

2-кестеде иммобилизденген микробтық препараттарды өндірудің негізгі технологиялық кезеңдері, оларды анықтайтын критикалық параметрлер және алынатын жауаптық көрсеткіштер жүйелендірілген. Бұл параметрлерді оңтайландыру препараттың тұрақтылығы, жоғары тіршілік ету қабілеті және биологиялық тиімділігін қамтамасыз етудің негізгі алғышарты болып табылады. Келесі бөлімде иммобилизденген ризобактериялар негізінде әзірленген биопрепараттардың әлемдегі патенттері, құрамы және әсер ету механизмдері қарастырылады.

1.5 Иммобилизденген микробиологиялық биопрепараттарды әзірлеудің әлемдік тәжірибесі

Өсімдіктің вегетациялық кезеңінде биопрепараттарды қолдану - олардың қолжетімді минералды элементтермен қамтамасыз етілуіне, бастапқы даму фазаларында патогенді микроағзалардан қорғауға, метаболизмнің реттелуіне ықпал етеді [99]. Өзбекстанда «Замин-М» атты иммобилизденген биопрепараттың тасымалдаушысы ретінде полиакрилонитрилдің сілтілі

гидролизі нәтижесінде алынатын, жоғары флокуляциялық қасиеттері мен биосәйкестілігі бар гипан полимері қолданылады. Оның құрамына гипанға иммобилизденген *Pseudomonas stutzeri* SKB 308, *Bacillus megaterium* SKB 310 және *Bacillus subtilis* SKB 309 штамдары кіреді. Зерттеулер көрсеткендей, 0,1% гипан концентрациясында 90 минут ішінде биомассаның шамамен 90%-ы тұнбаға түсіп, микроорганизмдердің жоғары тіршілік ету қабілеті жоғары деңгейде сақталады. Иммобилизденген жүйе микробтық биомассаның тұрақтылығын қамтамасыз етіп, фитопатогендерге қарсы антагонистік белсенділікті сақтайды, топырақтың биологиялық белсенділігін және өсімдіктердің өсуін арттыруға ықпал етеді [99].

Үндістанда (патент WO2013035032A2) «Capsulated Microbial Consortium» атты иммобилизденген биопрепарат әзірленген. Бұл препарат суда еритін, биоыдырайтын полимерлі капсулаларға инкапсуляцияланған пайдалы микроорганизмдер консорциумынан тұрады. Оның құрамына азотты фиксациялайтын (*Rhizobium* sp., *Azospirillum* sp., *Azotobacter* sp.), фосфор мобилизациялайтын (*Bacillus megaterium*), фитопатогендерге қарсы (*Pseudomonas fluorescens, Trichoderma viride*), нематодтарға қарсы (*Paecilomyces lilacinus*) және инсектицидтік әсер көрсететін (*Beauveria bassiana*) микроорганизмдер енгізілген. Микроорганизмдер альгинат негізіндегі матрицада тыныштық күйінде инкапсуляцияланып, бұл препараттың ұзақ сақталуын және қолданудың қолайлылығын қамтамасыз етеді [100].

Қытайда «BCP формуласы» биопрепараты әзірленген. Ол тазартылған биокөмір тасымалдағышына иммобилизденген өсуді ынталандырушы ризобактериялар - *Bacillus subtilis* BUABN 01 және *Arthrobacter pascens* BUAYN 122 штамдарынан тұрады. Биокөмірлі тасымалдағыш микроорганизмдердің тұрақтылығын арттырып, олардың тамыр аймағында тиімді колонизациялануын қамтамасыз етеді. Нәтижесінде салат көшеттерінің өсу көрсеткіштері жақсарып, өсімдік биомассасы, хлорофилл, азот және калий мөлшері артады [101].

Сонымен қатар, Қытайда топырақтағы фосфордың мобилизациясын жақсарту және күріштің өнімділігін арттыру мақсатында «Biochar immobilized *Bacillus megaterium*» (BMБ) деп аталатын иммобилизденген микробиологиялық биопрепарат әзірленді. Препараттың негізін *Bacillus megaterium* штамы құрайды, ол поралы тасымалдағыш қызметін атқаратын күріш қауызының биокөмірінде иммобилизденген. Топырақты осы биопрепаратпен өңдеу қолжетімді фосфордың мөлшерін арттырып, өсімдіктердің фосфорды сіңіруін ынталандырды. Соның нәтижесінде күріштің жерүсті және тамырлық биомассасы артып, минералды тыңайтқыштарды аз мөлшерде қолданған жағдайда да жоғары агрономиялық тиімділікке қол жеткізілді [102,103].

Аргентина мен Бразилияда наноталшықтарға иммобилизденген ӨӨЫР негізіндегі тәжірибелік биопрепарат әзірленген. Препарат құрамында *Pantoea agglomerans* ISIB55 және *Burkholderia caribensis* ISIB40 штамдары электроспиннинг әдісі арқылы наноталшықтарға инкапсуляцияланған. Бұл технология соя тұқымдарын өңдеу және сақтау кезінде микроорганизмдердің жоғары тіршілік ету қабілетін сақтауға мүмкіндік береді. Зерттеу нәтижелері 30 тәулік сақтаудан кейін де бактериялардың жоғары жоғары тіршілік ету қабілеті

сақталғанын көрсетті. Сонымен қатар, *P. agglomerans* ISIB55 тамырдың ұзындығы мен құрғақ массасын арттырса, *B. caribensis* ISIB40 жапырақ саны мен өркендердің құрғақ биомассасының көбеюіне ықпал етті [104].

Бразилияда *Bradyrhizobium* sp. SEMIA6144 және *Azospirillum brasilense* Az39 штамдары негізінде иммобилизденген микробиологиялық биопрепарат әзірленген. Микроорганизмдер 2 % натрий альгинатынан иондық гельдену әдісі арқылы алынған микросфераларға инкапсуляцияланған. Мұндай тәсіл жасушаларды сақтау кезінде қорғап, олардың ризосфераға біртіндеп босап шығуын қамтамасыз етеді. Нәтижесінде бұршақ тұқымдас дақылдардың тамыр жүйесінің тиімді колонизациясы күшейіп, симбиотикалық азот фиксациясы жақсарады және өсімдіктердің стресстік факторларға төзімділігі артады [105].

Чилиде JetCutter технологиясы арқылы алынған иммобилизденген ӨӨЫР капсулалары негізінде микробиологиялық биопрепарат әзірленген. Оның құрамына *Serratia proteamaculans, Pseudomonas mohnii, Pseudomonas baetica* және *Bacillus safensis* штамдары енгізілген. Микроорганизмдер 2,5 % натрий альгинаты мен 1 % еритін крахмал негізіндегі матрицаға иммобилизацияланып, олардың жоғары тіршілік ету қабілеті мен сақтау тұрақтылығын қамтамасыз етеді. Препаратты қолдану фундук (*Corylus avellana*) өсімдігінің тамыр жүйесінің дамуын жақсартып, тамыр ұзындығы мен көлемін 18-22 % арттырған. Сонымен қатар топырақ ферменттерінің белсенділігі (фосфатаза, уреаза, протеаза, β-глюкозидаза) 28-35 % жоғарылап, еріген органикалық көміртек мөлшері 27 %-ға артқаны анықталған [106].

Ресейде *Azospirillum* жасушаларын гель тәрізді тасымалдағыштарда иммобилизациялау негізінде микробиологиялық биопрепарат әзірленген. Зерттеулерде кальций альгинаты, поливинил спирті (ПВС) гельдері, шымтезек және крахмал негізіндегі матрицалар қолданылған. Мұндай иммобилизация микроорганизмдердің метаболикалық белсенділігін ұзақ уақыт сақтауға, сақтау тұрақтылығын арттыруға және олардың ризосфераға біртіндеп бөлінуін қамтамасыз етуге мүмкіндік береді. Нәтижесінде инокулянттың пролонгирленген әсері байқалып, бактериялардың топырақта орнығуы мен атмосфералық азотты фиксациялау қабілеті күшейеді, бұл өсімдіктің өсуін ынталандыруға ықпал етеді [107].

Пәкістанда (Multan қаласындағы The Women University зертханасында) альгинат микросфераларына инкапсуляцияланған «Alginate-encapsulated Auxin producing ӨӨЫР» иммобилизденген биопрепарат әзірленген. Оның құрамына ауксин түзетін жергілікті ризобактерия штамдары енгізілген. Мұндай құрылым микроорганизмдердің топыраққа тұрақты бөлінуін және ұзақ мерзімдік сақталуын қамтамасыз етеді. Лабораториялық және далалық тәжірибелер биопрепарат бидайдың (*Triticum aestivum*) тамыр ұзындығы мен жерүсті биомассасын 60-70 %, ал дән өнгіштігін 70-80 % арттырған. [108].

АҚШ-тағы Battelle Memorial Institute зерттеу орталығында әзірленген (патент WO2021168466A1) иммобилизденген микробиологиялық биопрепарат шартты түрде Encapsulated PGPM with Hydrophobic Wax Coating деп аталады. Препараттың құрамына *Pseudomonas protegens, Azospirillum brasilense, Bradyrhizobium japonicum* және *Rhizobium leguminosarum* сияқты пайдалы

ризобактериялар енгізілген. Ол екі қабатты құрылымға ие: ішкі қабатта микроорганизмдер альгинат матрицасына иммобилизденген, ал сыртқы қабат өсімдік балауызынан жасалған гидрофобты қаптама арқылы қорғалған. Мұндай технология бактериялардың ерте босап шығуын болдырмай, сыртқы факторлардан қорғап, олардың тіршілік қабілетін 15 айға дейін сақтауға мүмкіндік береді. Нәтижесінде дән өну кезінде микроорганизмдердің белсенділігі қамтамасыз етіліп, симбиотикалық байланыстар қалыптасады және өсімдіктердің стресстік жағдайларға төзімділігі артады [109].

АҚШ-та US2023/0159405A1 патенті «Soil Conditioner Biofertilizer» иммобилизденген микробтық биопрепарат алты штамнан тұратын ӨӨЫР консорциумын қамтиды: *Azospirillum oryzae* AO 512, *Azospirillum lipoferum* AL 20, *Pantoea dispersa* PD 2, *Bacillus subtilis* Tu 2, *Lysinibacillus sphaericus* 3S және *Paenibacillus polymyxa* SR 17. Микроорганизмдер табиғи саздар мен минералдар қоспасынан құралған түйіршікті матрицада иммобилизденген. Препараттың әсер ету механизмдері: атмосфералық азотты фиксациялау, фосфат пен калийді еріту, фитогормондар түзу және фитопатогендерге қарсы антимикробтық белсенділік. Матрица жасушалар мен қоректік заттардың баяу және тұрақты бөлінуін қамтамасыз етіп, өсімдіктердің стресс жағдайларына төзімділігін арттырады [110].

Ресейдің RU2819374C1 патентінде микроорганизмдерді ағаш қалдықтарын, ауыл шаруашылығы және тамақ өнеркәсібі қалдықтарын пиролиздеу арқылы алынатын поралы көміртекті биокөмірге иммобилизациялау технологиясы ұсынылған. Негізгі тәжірибелерде *Bacillus thuringiensis* 0371 штамы қолданылып, бактериялық биомасса жүгері экстракты мен меласса негізіндегі сұйық қоректік ортада өсірілгеннен кейін центрифугалау арқылы концентрленген. Алынған биомасса биокөмірмен араластырылып, тұрақтандырғыш қоспалар қатысында кептірілген. Иммобилизденген *B. thuringiensis* 0371 препаратының бидай (*Triticum aestivum* L.) тамырларын колонизациялау қабілеті бағаланған. Технология органикалық қалдықтарды биологиялық өңдеу және органикалық тыңайтқыштар алу мақсатында қарастырылған [111].

АҚШ-тың US11384031B2 «Biochar as a microbial carrier» патентінде микроорганизмдерді биокөмірдің поралы құрылымына енгізу арқылы тұрақты микробтық тасымалдаушы алу технологиясы ұсынылған. Зерттеуде қарағай, қайың және кокос қабығынан алынған биокөмір және *Bacillus thuringiensis israelensis, Serratia liquefaciens* және өсімдікпен симбиотикалық байланыс түзетін *Bradyrhizobium japonicum* бактериялары пайдаланылған. *B. japonicum* негізіндегі жүйеде өңделген биокөмір соя өсімдіктерімен бірге қолданылып, тұқымның өнуі, түйнек түзілуі, өсімдік биомассасы және азоттың сіңірілуі бойынша оң нәтижелер көрсеткен [112].

«Biochar» атауымен АҚШ-тың US8361186B1 патентінде биомассаны пиролиздеу арқылы алынатын тұрақты биокөмірді микроорганизмдермен функционалдандыру технологиясы сипатталған. Патентте биокөмір тасымалдаушысына *Bacillus, Pseudomonas, Rhizobium, Rhodobacter* және *Rhodopseudomonas* туыстарына жататын микроорганизмдерді, сондай-ақ

микоризалық саңырауқұлақтар мен *Trichoderma* түрлерін енгізу мүмкіндігі қарастырылған. Мұндай функционалданған биокөмір ауыл шаруашылығында топырақ қасиеттерін жақсартатын материал, микробтық инокулянттарды жеткізуші және тыңайтқыштық әсері бар биологиялық препарат ретінде қолдануға бағытталған [113].

Бельгиялық BE897340A патентінде вермикулитті иммобилизденген биологиялық материалдарды алу үшін минералдық тасымалдаушы ретінде пайдалану ұсынылған. Вермикулиттің қабатты құрылымы мен жоғары беткі ауданы микроорганизмдердің тасымалдаушы бетіне бекінуіне және олардың тұрақты түрде сақталуына мүмкіндік береді. Вермикулит негізіндегі жүйеле *Rhizobium, Bacillus* және *Pseudomonas* туыстарына жататын бактериялармен жүргізілген кейінгі зерттеулерде де көрсетілген [114].

EP0226394B1 Еуропалық патентінде ауыл шаруашылығы дақылдарына арналған микробтық инокулянттарды вермикулит негізінде өндіру технологиясы ұсынылған. Технологияда 45-80 mesh фракциялы вермикулит қоректік компоненттермен және сумен араластырылып, стерильденгеннен кейін микроорганизммен инокуляцияланадыАлынған препарат ылғалды немесе кептірілген түрде қолданылып, тұқымдарды өңдеуге және ауыл шаруашылығы дақылдарына микробтық инокулянт ретінде енгізуге арналған [115].

US8383390B2 (АҚШ) патентінде өсімдіктердегі ауыр металдардың, әсіресе кадмийдің, қоршаған ортадан сіңуін төмендететін бактериялар сипатталған. Негізгі микроорганизмдерге *Ochrobactrum anthropi, Alcaligenes xylosoxidans, Alcaligenes faecalis, Ralstonia mannitolilytica, Ralstonia pickettii, Variovorax paradoxus* және *Cupriavidus necator* жатады. Бактериялар вермикулит, белсендірілген көмір, цеолит, бентонит, монтмориллонит, перлит, альгинат сияқты тасымалдаушыларға адсорбциялау арқылы иммобилизациялануы мүмкін. Препараттар өсімдік тамырына немесе тамыр маңындағы топыраққа енгізіліп, күріш, бидай, жүгері, соя және басқа дақылдарда ауыр металдардың өсімдікке өтуін азайтуға бағытталған [116].

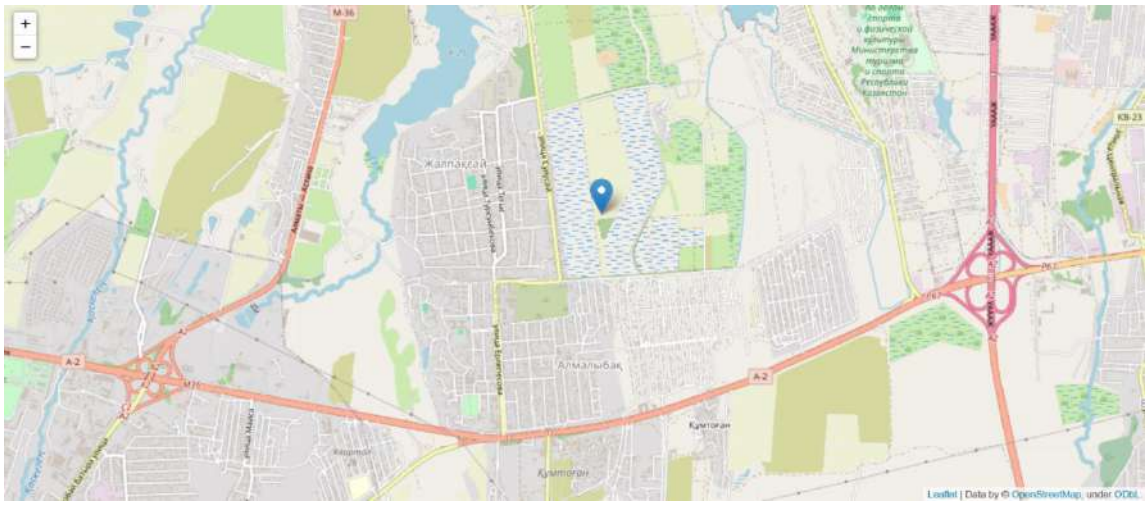
Иммобилизденген микробиологиялық биопрепараттар өсімдіктерді қоректік элементтермен қамтамасыз етуге, фитопатогендерден қорғауға және олардың өсуін ынталандыруға мүмкіндік береді. Альгинат, полимерлер, вермикулит және биокөмір микроорганизмдерді сақтау кезінде қорғап, олардың топырақта біртіндеп босап шығуын қамтамасыз етеді. Биокөмір поралы құрылымы мен тұрақтылығының арқасында ризобактерияларды бекітуге тиімді тасымалдаушы болып табылады, ал вермикулит жоғары ылғал ұстау қабілетімен ерекшеленеді. Дегенмен, әрбір препарат үшін бактериялардың жоғары тіршілік ету қабілеті, сақтау мерзімі, босап шығу жылдамдығы және өсімдікке әсері тәжірибе жүзінде бағалануы қажет.

2 ЗЕРТТЕУ НЫСАНДАРЫ МЕН ӘДІСТЕРІ

2.1 Зерттеу нысандары

2.1.1 Зерттеуде қолданылған ризобактериялардың шығу тегі

Зерттеу жұмысының нысандары ретінде Қазақстан Республикасы Алматы облысы, Алмалыбақ ауылында орналасқан Ауыл шаруашылығы және өсімдік шаруашылығы ғылыми-зерттеу институтының тәжірибелік алқабынан алынған (GPS координаттары: 43°13′46.39″ с. е., 76°41′29.5″ ш. б.) (5-сурет) негізгі ауыл шаруашылығы дақылдары бидайдың күздік сорты (*Triticum aestivum L.)* "Алмалы", тритикаленің *(×Triticosecale Wittm.)* "Таза" сорты, жүгерінің "Тұран 480SV" және "КазЗП 200" гибридтері (*Zea mays L.)* өсімдіктерінің ризосферасынан бөлініп алынған ризобактерия штамдары қолданылды. Әртүрлі өсімдік түрлері мен сорттарының ризосфераларының зерттеу нысаны ретінде таңдалуы ризобактериялардың кең спектрін бөліп алу және перспективалы изоляттарды іріктеу көзделді.



Сурет 5 - Алматы облысы, Алмалыбақ ауылдық аумағындағы тәжірибелік учаскенің географиялық орналасу картасы

Әрбір өсімдік объектісінің ризосферасынан бөлінген бактериялық изоляттар осы өсімдіктермен табиғи жағдайда қалыптасқан өсімдік-микроорганизм өзара әрекеттесу жүйесін сипаттайды. Өсімдік объектілері олардың таксономиялық тиесілігі, тамыр жүйесінің архитектурасы, қоректік элементтерді сіңіру ерекшеліктері, темірді мобилизациялау механизмдері және ризосфералық микроорганизмдермен өзара әрекеттесу сипаты ескеріле отырып таңдалды.

Бидай, тритикале және жүгері *Poaceae* тұқымдасына жататын біржарнақты дәнді дақылдар. Олардың тамыр жүйесі ұрықтық және түйіндік тамырлардан тұрады, ал темірді сіңіруде хелаттау механизмі басым: тамырлар фитосидерофорлар бөліп, Fe^{3+} иондарымен кешен түзеді және осы кешендерді арнайы тасымалдау жүйелері арқылы қабылдайды. Тритикале (×*Triticosecale Wittm.*) бидай мен қара бидайды будандастыру және хромосомалар жиынтығын екі еселеу нәтижесінде алынған аллополиплоидты дақыл. Тритикаленің бидайдан ерекшеленетін геномдық құрамы мен бейімделу қасиеттері оның

тамыр жүйесі және ризосфералық бактериялармен өзара әрекеттесу ерекшеліктеріне әсер етеді.

Жүгерінің екі гибридінің таңдалуы бір түр ішіндегі генотиптік айырмашылықтарды бағалау қажеттілігімен байланысты. Жүгері гибридтері тамырлардың тармақталуы, кеңістікте орналасуы, тамыр бетінің ауданы және қоректік элементтерді пайдалану тиімділігі бойынша ерекшеленеді. Бұл ерекшеліктер ризосфералық бактериялардың құрамы мен функционалдық белсенділігіне әсер етеді. Сондықтан «Тұран 480 SV» және «ҚазЗП 200» сорттарын салыстыру өсімдік генотипінің ризобактерияларды іріктеу үдерісіндегі ықтимал рөлін анықтауға мүмкіндік береді [117].

2.1.2 Тасымалдаушы- сорбенттерге сипаттама

Ризобактерияларды иммобилизациялау мақсатында тасымалдаушы ретінде бейорганикалық-минералдық және органикалық сорбенттік материалдар қолданылды. Минералдық тасымалдаушы ретінде вермикулит, органикалық тасымалдаушылар ретінде бидай сабанынан алынған биокөмір, Мискантус биомассасынан дайындалған биокөмір және ағынды су тұнбасынан синтезделген Акмеко биокөмірі пайдаланылды (3-кесте).

Кесте 3 - Тасымалдаушы материалдардың өндірушілері

№	Тасымалдаушылар	Өндіруші
1	Бидай сабанынан жасалған биокөмір	ҚР ҒМ БҒСБК-ға қарасты «Жану проблемалары институты» РМК базасында дайындалды. Биокөмір өндіруге арналған бастапқы бидай сабаны Қазақстан Республикасы, Алматы облысы, Алмалыбақ ауылында орналасқан «Ауыл шаруашылығы және өсімдік шаруашылығы ғылыми-зерттеу институтының» тәжірибелік алқабынан алынды
2	Вермикулит	«AVENUE» компаниясынан (Биназар Батыр көшесі, 133, 161300, Түркістан облысы, Қазақстан) алынған.
3	Акмеко биокөмір	Чехия Республикасындағы Agmeco LT, s.r.o. (Прага 4 - Чодов 149 00, Чехия. https://agmecolt.cz/) компаниясының пилоттық қондырғысында дайындалды.
4	Мискантус өсімдігінен алынған биокөмір	Мискантус (*Miscanthus giganteus*) M×g биомассасынан алынған биокөмір Киевте тәжірибелік зауытта өндірілді.

Бидай сабаны негізінде биокөмір алу үшін көлемі 200 литрлік арнайы вертикалды пеш пайдаланылды. Процесс толықтай оттегісіз ортада жүргізіліп,

температура шамамен 500 °С деңгейінде ұсталды, ал жалпы пиролиз уақыты 3 сағатқа жуық болды. Қыздыру жылдамдығы 20 °С/мин құрады [118].



Сурет 6 -Сорбенттерді алудың технологиялық сызба-нұсқасы

Алдын ала бидай сабаны шаң-тозаңнан тазартылып, ылғалдылығы төмендету үшін кептірілді және жылудың біркелкі таралуын қамтамасыз ету мақсатында ұсақталды. Алынған қатты өнім кейіннен 20-40 меш електен

өткізіліп, бөлшектердің өлшемі 2 мм-ге дейінгі фракцияға келтірілді [119]. Мұндай технологиялық өңдеу нәтижесінде биомассаның органикалық бөлігі ұшпа газдар мен сұйықтықтарға бөлініп, көміртекке бай, поралы құрылымы бар биокөмір түзілді. Бұл өнім жоғары көміртек мөлшері мен құрылымдық ерекшеліктерінің арқасында экологиялық және агрономиялық қолданбаларға тиімді материал ретінде сипатталды.

Вермикулит «AVENUE» компаниясының кен орындарынан өндіріліп, 1000°C температурада термиялық өңдеуден өткізілді. Өңдеуден кейін құрылымдағы кристаллогидраттар буланып, қабатаралық аралықтар ұлғаяды да, көлемі бірнеше есеге үлкейген поралы құрылымы, жеңіл түйіршіктер түзілді.

Акмеко - ағынды су тұнбасынан алынған биокөмір Чехияның Карловы Вары қаласындағы қалалық ағынды суларды тазарту қондырғысында жиналған шлам негізінде Agmeco компаниясының тәжірибелік қондырғысында дайындалды. Биомассаны өңдеу процесі баяу пиролиз әдісімен жүргізіліп, 600-650 °C температура аралығында, қыздыру жылдамдығы 30-31°C/сағ және азот атмосферасында 1 сағат ұстау жағдайында жүзеге асырылды. Пиролиз температурасының бұл диапазоны M×g биомассасын биокөмірге түрлендіру жөніндегі әдеби деректерді талдау негізінде таңдалды. Мұндай технологиялық шарттар нәтижесінде топырақ түзеткіші ретінде жоғары агрономиялық қасиеттерге ие материал алынды [120].

Мискантус (*Miscanthus giganteus*) M×g биомассасынан биокөмір өндіру тәжірибесі Киев қаласындағы тәжірибелік зауыттың үздіксіз жұмыс істейтін пиролиз қондырғысында жүргізілді. Шикізат ретінде алдын ала түйіршіктелген *Miscanthus* өсімдігінің қалдықтары қолданылып, бұл оның біртекті құрылымын қамтамасыз етті және пиролиз процесінің тұрақты өтуіне мүмкіндік берді. Реакция 600 °C температурада, энергия тұтыну шамамен 3,0 Вт/кг деңгейінде жүзеге асырылады. Процесс шектеулі оттегі жағдайында, яғни толық жануға жол бермейтін ортада іске асырылып, 4 сағат бойы жүргізілді. Өңдеу үшін көлемі 100 литрлік ашық типті реактор пайдаланылды, бұл технологиялық параметрлердің тұрақтылығын сақтауға және алынған биокөмірдің сапалық сипаттамаларын бақылауға мүмкіндік берді [121].

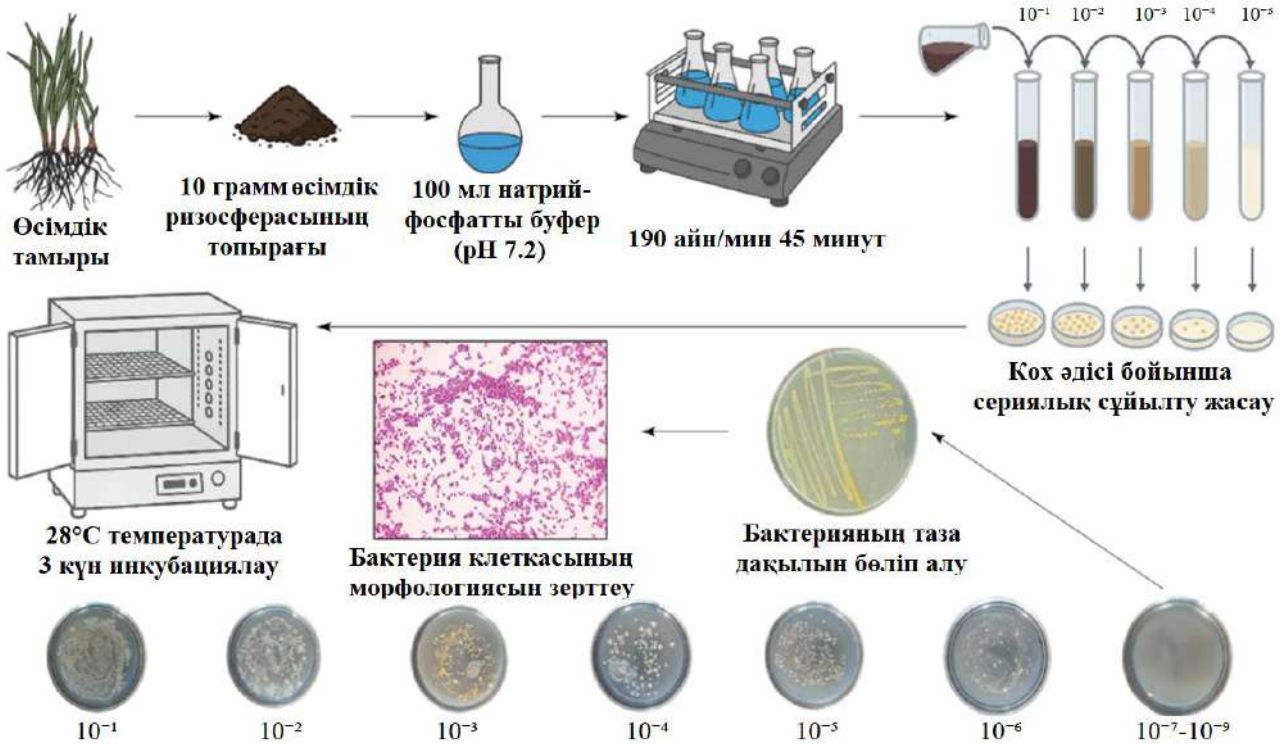
2.2 Зерттеу әдістері

2.2.1 Өсімдіктің өсуін ынталандыратын микробтық изоляттарды іріктеу

2.2.1.1 Ризосферадан бактериялық изоляттарды бөліп алу

Өсімдік үлгілерін жинау және алғашқы өңдеу процедурасы ISO 18400-206:2018 халықаралық стандартына сәйкес орындалды [122]. Вегетативті өсу кезеңінде бір-бірінен 10 м қашықтықта орналасқан әр түрдің екі өсімдігі қазып алынды. Қазып алынғаннан кейін бірден өсімдіктің жер үсті биомассасы 70%-дық этанолмен стерильденген қайшының көмегімен алынып тасталды [123]. Қалған жер асты бөліктері (тамырлары) бос топырақтан арылту үшін жеңіл сілкіленді. Әр тамыр мен оларға жабысып қалған ризосфералық топырақ үлгісі стерильді полиэтилен пакетіне жеке-жеке салынып, белгіленіп, әрі қарай өңдеу үшін зертханаға жеткізілді [124].

Зертханаға жеткізілгеннен кейін жиналған тамыр үлгілері бірден ризосфералық топырақты бөліп алу үшін өңделді. Бұл процедура Макферсон әдістемесіне сәйкес орындалды [123] (7-сурет).



Сурет 7 - Үлгілерден микроорганизмдерді бөліп алу және идентификациялау кезеңдерінің схемасы

Микроорганизмдерді бөліп алу үшін Кохтың сұйылтудың сатылы әдісі қолданылды [41]. Ол үшін 10 г ризосфералық топырақ 100 мл стерильді фосфат-буферлік ерітіндіге (PBS, pH 7,2) суспензияланып, 190 айн/мин жылдамдықта 45 минут бойы шайқалды. Алынған суспензия 10^{-1}-ден 10^{-9} дейін сатылы түрде сұйылтылып, әрбір сұйылту стерильденген пробиркаларда 9 мл дистилденген суда (dH_2O) дайындалды [125]. Әрбір сұйылтудан 0,1 мл алынып, Лурия-Бертани (LB) қатты қоректік ортасы бар Петри табақшаларына (Himedia, Үндістан) егілді, қоректік ортаның құрамы 4-кестеде берілген. Петри табақшалары 28 °C температурада 3 тәулік бойы инкубацияланды.

Әр Петри табақшасынан морфологиялық тұрғыдан ерекшеленетін колониялар таңдалып, LB-агарға штрих әдісімен егілді де, 28 °C температурада 1-2 тәулік инкубацияланды. Таза дақылдарды алу үшін жеке колониялар бірнеше рет қатты қоректік ортаға қайталама егілді. Бөлініп алынған колониялар ризобактериялардың морфологиялық сипаттамалары (түс, колония шеттерінің пішіні, беткі құрылымы, формасы, биіктігі, пигментациясы) бойынша морфотиптерге бөлініп зерттелді. Зерттеу Мохайт әдісіне сәйкес жүргізілді [126].

Кесте 4 - Изоляттардың өсуді ынталандыру қасиеттерін бағалауда қолданылатын қоректік орталардың құрамы

Компонент	Өлшем	LB	TNB	Пиковская	B&R	Эшби	SDA	CAS
Сілтемелер	–	[127]	[128]	[129]	[130]	[131]	[132]	[133]
Агар	г	20	–	–	15	–	15,0	15
Глюкоза	г	–	–	10	10	–	40,0	2
Пептон	г	–	–	–	1,0	–	10,0	–
Сахароза	г	–	–	–	–	20	–	–
Триптон	г	10	10	–	–	–	–	–
Ашытқы экстрактісі	г	5	5	0,5	1,0	–	–	–
Chrome azurol S	мг	–	–	–	–	–	–	60,5
HDTMA	мг	–	–	–	–	–	–	72,9
$CaCl_2$	г	–	–	–	–	0,02	–	–
$CaCO_3$	г	–	–	–	–	5	–	–
$Ca_3(PO_4)_2$	г	–	–	5	–	–	–	–
$FeCl_3$	г	–	–	–	–	0,01	–	–
$FeSO_4 \times \cdot 7H_2O$	мг	–	–	0,1	–	–	–	–
$FeCl_3 \cdot 6H_2O$	мг	–	–	–	–	–	–	2,7
KCl	г	–	–	0,2	–	–	–	–
KH_2PO_4	г	–	–	–	–	0,4	–	3
K_2HPO_4	г	–	–	–	0,18	0,1	–	–
L-триптофан	г	–	0,5	–	–	–	–	–
$MgCl_2$	г	–	–	–	0,2	–	–	–
$MgSO_4 \times \cdot 7H_2O$	г	–	–	0,1	–	0,2	–	0,2
$MnSO_4 \times \cdot 7H_2O$	мг	–	–	0,1	–	–	–	–
NaCl	г	5	0,5	0,2	–	0,1	–	0,5
NH_4Cl	г	–	–	–	–	–	–	1
Na_2MoO_4	г	–	–	–	–	0,002	–	–
$(NH_4)_2SO_4$	г	–	–	0,5	0,5	–	–	–
10 mM HCl	мл	–	–	–	–	–	–	10
Дистилденгенсу	л	1	1	1	1	1	1	1
pH	–	7,0	7,0	7,0	7,2	6,9	5,6	7,0
Ескертпелер: LB - Лурия-Бертани қоректік ортасы; TNB -триптофан қосылған қоректік орта; B&R -Бунта және Ровира қоректік орта; SDA - декстрозды агар Сабуро қоректік ортасы; CAS - хром азурол сульфонат агар қоректік ортасы.								

2.2.1.2 Изоляттардың фосфорды мобилизациялау белсенділігін бағалау

Фосфаттың еру қабілетін талдау трикальцийфосфат ($Ca_3(PO_4)_2$) қосылған Пиковская ортасы негізінде жүргізілді (кесте 4) [134]. Зерттеу барысында сапалық та, сандық та бағалау әдістері қолданылды. Бактериялық дақыл суспензиясы ортаның бетіне 100 мкл (10^6 КТБ/мл) мөлшерінде нүктелік әдіспен егілді, әрбір дақыл үш қайталымда (әр қайсысына үш Петри табақшасы) орналастырылды және 28 ± 2 °C температурада 7 тәулік бойы инкубацияланды.

Колониялардың айналасында айқын гало аймағының түзілуі фосфат еріткіштік белсенділіктің көрсеткіші ретінде қабылданды. Инкубациядан кейін әрбір изоляттың фосфатты еріткіштік дәрежесі арнайы (1) формула бойынша есептеу арқылы анықталды [135].

$$SI = \frac{d_{\text{колония}} + d_{\text{гало зона}}}{d_{\text{колония}}} \quad (1)$$

Ескертпе: d - диаметр

2.2.1.3 Индол-3-сірке қышқылын түзу қабілетін зерттеу

Бактериялық штамдардың индол-3-сірке қышқылын (ИСҚ) синтездеу қабілеті триптофан құрамды сұйық қоректік ортаны (TNB) қолдану арқылы бағаланды. Бұл орта құрамына LB ортасы және қосымша 0,5 г L-триптофан енгізілді (кесте 4). ИСҚ концентрациясын анықтау үшін 10-100 мкг/мл аралығында стандартты калибрлеу қисығы дайындалды (Serva, Islandia, NY, АҚШ) [134].

Инокуляциядан кейін бактериалды штамдар 28 ± 2 °C температурада шейкер-инкубаторда 3 тәулік бойы өсірілді. Әрбір штамм үш қайталымда зерттелді. Инкубация аяқталған соң дақылдар 6000 айн/мин жылдамдықта 10-15 минут бойы центрифугаланды. Алынған супернатанттың 1 мл үлгісіне 2 мл Сальковский реактиві (құрамы: 35 мл 35% $HClO_4$ және 1 мл 0,5 M $FeCl_3 \times 6H_2O$) қосылып, біркелкі араластырылып, қараңғы жерде 30 минут бойы инкубацияланды. Қоспаның біртіндеп қызыл түске боялуы ИСҚ түзілуін көрсетті [136]. Қоспа жарық сіңіру деңгейі 530 нм толқын ұзындығында УФ-спектрофотометр арқылы (UV-1900, Shimadzu Corporation, Жапония) өлшенді. ИСҚ концентрациясы калибрлеу қисығының теңдеуі бойынша есептелді.

2.2.1.4 Дақылдардың атмосфералық азотты бекіту қабілетін анықтау

Азоттың (N_2) фиксациясы кальций карбонаты ($CaCO_3$) қосылған N_2 көзі жоқ Эшби ортасы (кесте 4) арқылы бағаланды [131]. Бұл орта селективті түрде азотты бекітетін бактериялардың өсуіне ықпал етеді. Изоляттар осы қоректік ортада 28 ± 2 °C температурада 7 тәулік бойы үш қайталамада инкубацияланды (әр дақылға үш Петри табақшасы). Көрінетін колониялар пайда болғаннан кейін өсудің консистенциясын растау үшін бір колония жаңа Эшби қоректік ортасына ауыстырылды. Инкубация кезінде азотсыз ортада бактериялар колонияларының

пайда болуы штамның азотты сіңіру қабілетінің көрсеткіші ретінде қарастырылды [137].

2.2.1.5 Аммиак түзу белсенділігін анықтау

Аммиак өнімін анықтау үшін 24 сағаттық бактерия дақылынан (10^6 КТБ/мл) 0,1 мл суспензия 10 мл стерильді пептонды қоректік ортаға (0,2 г пептон, 10 мл стерильді дистилденген су) инокуляцияланды. Инкубация 28 ± 2°C температурасында роторлы шайкерде (SI-600, *LAB Companion*, Корея) 120айн/мин жылдамдықпен 96 сағат жүргізілді [138]. Одан әрі сынамадан 1 мл аликвота алынып, 10 000 айн/мин жылдамдықта 10 минут центрифугаланды. Алынған супернатантқа 0,5 мл Несслер реактиві қосылды және сарғыш түстің сарғыш қоңыр түске өзгеруі аммиак түзілуінің оң реакциясын көрсетті. Сандық зерттеу үшін 450 нм толқын ұзындығында абсорбциясы өлшенді. Аммиак концентрациясы 0-0,3 мкмоль/мл диапазонында аммоний сульфаты негізінде құрылған стандартты калибрлеу қисығы бойынша есептелді [139].

2.2.1.6 Мырыш солюбилизациялау белсенділігін анықтау

Іріктелген штамдардың Zn-еріткіш потенциалы модификацияланған Бунт және Ровира (B&R) ортасын қолдану арқылы анықталды (кесте 4) [130]. Әрбір штамм ерімейтін мырыш көзі ретінде 1,0 мг/мл концентрацияда ZnO қосылған B&R ортасына 100 мкл мөлшерінде (10^6 КТБ/мл) егілді [140] және 28 ± 2 °C температурада 7 тәулік инкубацияланды. Тәжірибе үш қайталымда жүргізілді. Колониялардың диаметрі мен оларды қоршаған гало-зоналардың өлшемдері 24, 48 және 72 сағат сайын тіркелді. Мырыш еріту тиімділігі ерігіштік индексін (SI) (1) формуласына сәйкес есептеу арқылы сандық тұрғыда бағаланды [135].

2.2.1.7 Іріктелген изоляттардың генетикалық идентификациясы

Бактериялық изоляттардың молекулалық идентификациясы 16S рРНҚ генін секвенирлеу арқылы жүргізілді. Геномдық ДНҚ Уилсон сипаттаған әдістеме бойынша бөлініп, тазартылды [141]. ПТР-амплификация әмбебап праймерлер 27F (5′-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3′) және 806R (5′ GGACTACCAGGGTATCTAAT-3′) көмегімен жүзеге асырылды. Секвенирлеу BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems, Уолтем, Массачусетс, АҚШ) жинағы арқылы жүргізіліп, алынған ампликондар 3730xl DNA Analyzer (Applied Biosystems, АҚШ) автоматты ДНҚ-анализаторында талданды [142].

Эволюциялық талдау Тамура-Ней үлгісіне негізделген максималды ықтималдық әдісімен орындалды [143]. Филогенетикалық ағашты құру барысында ең жоғары логарифмдік ықтималдық мәні бар ағаш (-1967,51) таңдалды. Репликаттардағы сәйкес таксондардың бір тармаққа топтасу пайызы ағаштың бұтақтарында көрсетілді. Эвристикалық іздеу үшін бастапқы ағаштар Тамура-Ней үлгісі бойынша есептелген қашықтық матрицасына қолданылған Neighbour-Join және BioNJ алгоритмдері негізінде автоматты түрде жасалды. Соңғы нәтиже ретінде ең жоғары логарифмдік ықтималдық мәні бар топология қабылданды. Филогенетикалық ағаш масштабталған түрде құрылып,

бұтақтардың ұзындығы сайтқа шаққандағы орын басулар санына пропорционалды болды. Талдауға кодонның 1-, 2-, 3-позициялары мен кодталмайтын аймақтарды қамтитын 22 нуклеотидтік тізбек енгізілді. Бос орындар мен жетіспейтін деректері бар барлық позициялар толық жою параметрі арқылы алынып тасталды, нәтижесінде 529 позициядан тұратын деректер жиынтығы алынды. Эволюциялық талдау MEGA X бағдарламасы көмегімен жүргізілді [144].

Изоляттар Ла Пьер және әріптестері [145] сипаттаған әдістің модификацияланған нұсқасы арқылы идентификацияланды. ПТР қоспасының жалпы көлемі 25 мкл құрайды, оның құрамына: 2,5 мкл 10× Taq-полимераза буфері, әрқайсысы 2 мкл праймер (10 пМ/100 мкл), 2,5 мкл 2 мМ dNTP, 2 мкл 25 мМ $MgCl_2$, 11,7 мкл нуклеазасыз H_2O, 0,3 мкл Taq-полимераза (5 ед/мкл) және 2 мкл матрицалық ДНҚ (20 нг/мкл) енгізілді. ПТР протоколы келесі кезеңдерді қамтыды: бастапқы денатурация 95°C-та 5 минут; одан кейін 30 цикл, әрқайсысы - 94 °C-та 60 секунд (денатурация), 55°C-та 50 секунд (праймердің отыруы), 72 °C-та 100 секунд (элонгация); соңғы элонгация 72°C-та 5 минут жүргізілді. Амплификацияланған өнімдер 1% агарозды гельде электрофорез арқылы бөлініп, ультракүлгін жарықта gelLITE жүйесімен (Cleaver Scientific, Ұлыбритания) визуализацияланды. Ампликондар GeneJET PCR Purification Kit (K0701; Thermo Fisher Scientific, Уолтем, Массачусетс, АҚШ) көмегімен тазартып, Сэнгер әдісімен секвенирленді (Macrogen Inc., Сеул, Оңтүстік Корея). Тізбектердің контигтері тура және кері оқылымдарды жинақтау арқылы құрастырылды.

Алынған тізбектер NCBI BLAST құралымен ашық қолжетімді деректер базасындағы тізбектермен салыстырылды [146]. Ең жақын филогенетикалық туыстас тізбектер деректер қорларынан алынып, жұптық салыстырулар Sequence Demarcation Tool v.1.2 бағдарламасы арқылы орындалды. Филогенетикалық байланыстар MEGA 11 бағдарламасында максималды ықтималдық әдісімен анықталып, 1000 қайта үлгілеу (bootstrapping) жүргізілді (Macrogen Inc., Сеул, Оңтүстік Корея).

2.2.2 Микробтық штамдардың биобақылау потенциалын бағалау

2.2.2.1 Ферментативтік белсенділікті анықтау

Амилолитикалық белсенділікті анықтау

Амилолитикалық белсенділікті анықтау мақсатында бактериалды изоляттар крахмал қосылған агар қоректік ортасына 100 мкл мөлшерінде (10^6КТБ/мл) егілді. Инкубация 28 ± 2 °C температурада 48 сағат бойы жүргізілді. Инкубация аяқталғаннан кейін ортаның беткі қабаты калий йодиді (KI) ерітіндісімен өңделіп, артық ерітінді дереу төгілді. Колониялардың айналасында айқын мөлдір гало аймағының пайда болуы крахмалдың гидролизін және сәйкесінше зерттелген штамдардың амилолитикалық белсенділігін дәлелдеді [147].

Протеолитикалық белсенділікті анықтау

Протеолитикалық белсенділікті анықтау үшін бактериалды изоляттар құрамында майсыздандырылған сүті бар агарлық ортаға (SMA) 100 мкл

мөлшерінде (10^6 КТБ/мл) егілді. SMA ортасы 1 л дистилденген суға 15,0 г агар, 5,0 г казеин, 1,0 г глюкоза, 7,0 г майсыздандырылған сүт, 2,5 г ашытқы экстрактісі және 10,0 г пептон қоспасынан дайындалды (pH 7,0). Дақылдау 28±2°C температурада 48 сағат бойы инкубацияланды. Инкубациядан кейін колониялардың айналасында мөлдір гало аймағының пайда болуы сүт ақуыздарының гидролизін және зерттелген штамдармен протеолитикалық ферменттердің (протеазалардың) түзілетінін көрсетеді [147].

Липолитикалық белсенділікті анықтау

Липолитикалық бесенділікті зерттеуде TWA ортасы 1 л дистилденген суға 20,0 г агар, 10,0 г пептон, 5,0 г NaCl, 0,3 г $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 0,5 г KH_2PO_4 және 1 % Tween 80 енгізу арқылы дайындалады, pH көрсеткіші 7,2 дайындалды. Изолят қатты қоректік ортаға 100мкл мөлшерінде (10^6 КТБ/мл) егілді және 28±2°C температурада 48 сағат бойы инкубацияланды.Липазалық белсенділіктің көрінісі егу аймағының айналасында бұлыңғыр аймақтың (ореолдың) түзілуімен анықталды. Мұндай аймақ липазалардың әсерінен ортаға енгізілген майлы субстраттың гидролизге ұшырауын көрсетеді [148].

Целлюлозалитикалық белсенділікті анықтау

Целлюлозалитикалық белсенділік бактериалды изоляттарды 100 мкл мөлшерін (10^6 КТБ/мл) мөлшерінде көміртектің жалғыз көзі ретінде натрийкарбоксиметилцеллюлоза енгізілген СМС қоректік ортасында (1 л дистилденген су негізінде дайындалып, құрамында 20,0 г агар, 0,2 г карбоксиметил целлюлоза, 2,0 г глюкоза, 1,0 г пептон, 0,01 г $FeSO_4 \cdot 7H_2O$, 0,3 г KCl және 1,0 г KH_2PO_4, pH 6,9) дақылдау арқылы анықталды [149]. Инкубация 28 ± 2 °C температурада 2 тәулік бойы жүргізілді. Инкубация аяқталғаннан кейін Петри табақшасының бетіне Грамм әдісі бойынша дайындалған йод ерітіндісі (2,0 г калий йодиді (KI), 1,0 г йод (I) 300 мл дистилденген су) құйылып, 28 ± 2°C температурада 3-5 минутқа қалдырылды. Целлюлолитикалық белсенділіктің көрсеткіші ретінде колониялардың айналасында айқын гидролиз аймағының түзілуі целлюлозаның ыдырауын дәлелдеді [150].

2.2.2.2 Бактериялық сидерофорлардың синтезін анықтау

Ризобактериялардың сидерофор түзу белсенділігін анықтау мақсатында әр штамнан дайындалған бактериалды суспензияның (10^6 КТБ/мл) 100 мкл көлемі құрамы 4-кестеде көрсетілген CAS агар ортасының бетіне нүктелік егу әдісі арқылы енгізіліп, 28 ± 2 °C температурада 48-72 сағат бойы инкубацияланды. Осы уақыт аралығында штамдар темірді байланыстыратын қосылыстар синтездеген жағдайда, колония шетін қоршай пайда болған ашық-сары, түссіздеу немесе қызғылт-сары түсті аймақ байқалды. Мұндай хромогенді ореолдың қалыптасуы зерттелген изоляттардың сидерофор өндіру қабілетінің оң көрсеткіші ретінде есептелді [133]. Аймақ диаметрлерін ($d_{зона}$, мм) және колония диаметрлерін ($d_{колония}$, мм) инкубациядан кейін сызғышпен өлшеді.

Синтез аймағының таза өлшемі келесі формула бойынша есептелді (2) [151]:

$$d = d_{зона} - d_{колония} \quad (2)$$

Сидерофор өндіру индексі (SID) (3):

$$SID = \frac{d_{\text{зона}}}{d_{\text{колония}}} \quad (3)$$

Сидерофор синтезінің деңгейі SID индексі мен түзілген аймақтың диаметріне (d) байланысты бағаланады. Егер SID < 1 және d < 5 мм болса, сидерофор синтезі жоқ немесе өте әлсіз деп есептеледі; SID 1-2 аралығында және d 5-10 мм болған жағдайда синтез орташа деңгейде байқалады; ал SID > 2 және d > 10 мм болған кезде сидерофор синтезі жоғары немесе күшті деп сипатталады.

2.2.2.3 Микроорганизмдердің антагонистік белсенділігін анықтау

Бактерия штамдарының фитопатогендерге қарсы белсенділігі диффуздық лунка әдісімен бағаланды [152]. Фитопатогенді саңырауқұлақтар штамдары, соның ішінде *Fusarium graminearum, Fusarium solani, Fusarium oxysporum, Alternaria alternata* және *Pythium aphanidermatum* әл-Фараби атындағы Қазақ Ұлттық Университетінің биотехнология кафедрасының микроорганизмдер коллекциясынан алынды.

Фитопатоген спораларының суспензиясы (10^6 спора/мл) көлемі 100 мкл мөлшерде Сабуро декстрозды агар (SDA) ортасының (кесте 4) бетіне залалсыздандырылған Дригальский шпателімен егілді. Диффуздық лунка әдісі бойынша Петри табақшасына бірдей өлшемдегі үш лунка жасалады. Екі лункаға зерттелетін бактерия штамы 100 мкл көлемінде енгізілсе, үшінші лункаға дәл сондай мөлшерде фитопатоген суспензиясы енгізіледі және ол теріс бақылау ретінде пайдаланылды [132]. Эксперимент үш қайталымда жүргізілді. Антагонистік белсенділік лункалардың айналасында пайда болған фитопатоген өсуін тежеу аймақтарының диаметрін өлшеу арқылы бағаланды. Бұл бактерия штамдарының фитопатогендердің өсуін басу қабілетінің көрсеткіші болып саналды.

2.2.3 Ризобактериялардың бидай өскіндерінің өсуіне әсерін зерттеу

Бидай (*Triticum aestivum L.*) «Алмалы» сорты дәндерінің өнуіне таңдап алынған ризобактерия штамдарының әсері in vitro жағдайында зерттелді. Тәжірибе төрт нұсқадан тұрды: инокуляцияланбаған бақылау және үш ризобактерия штамымен инокуляцияланған тәжірибелік нұсқалар. Әр нұсқа үш рет қайталанып, әр қайталымда 10 дәннен қолданылды. Зерттеу алдында дәндердің беткі қабаты 0,1% сынап хлориді ($HgCl_2$) ерітіндісімен 1 минут бойы залалсыздандырылып, кейін төрт рет стерильді деионизацияланған сумен жуылды. Залалсыздандырылған дәндер әрбір зерттелетін изоляттың 10^6 КТБ/мл концентрациясындағы бактериялық суспензиясына асептикалық жағдайда 1 сағат бойы өңделіп, дәндердің бетінде бактериялық жасушалардың біркелкі колонизациялануы қамтамасыз етілді. Бақылау нұсқасындағы дәндер сәйкесінше стерильді деионизацияланған суға (dH_2O) 1 сағат бойы ұсталды**.** Одан кейін әр қайталымдағы 10 дән стерильді сүзгі қағазы төселген Петри табақшаларына орналастырылып, 25 °C температурада 14 тәулік бойы инкубацияланды.

Субстраттың ылғалдылығын 60–70% деңгейінде сақтау үшін қажеттілігіне қарай стерильді dH_2O қосылып отырды. Өскіндердің өсу көрсеткіштері егуден кейінгі 14-тәулікте бағаланды. Бағалау барысында тұқымдардың өнуі, өскіндердің тамыр және сабақ ұзындығы анықталды.

Өскіндердің өміршеңдік индексі (4) төмендегі формула бойынша есептелді [153]:

$$\text{ӨӨИ} = (\text{ТҰ} + \text{СҰ}) \times \text{ӨП}\ (\%) \qquad (4)$$

мұндағы ТҰ - тамыр ұзындығы, СҰ - сабақ ұзындығы, ӨП – өнгіштік пайызы.

Тамыр және сабақ ұзындығы өнудің соңғы есептеу кезеңінде қалыптасқан қалыпты өскіндерден өлшеніп, әр нұсқа бойынша орташа мән ретінде анықталды. Өнгіштік пайызы өнген тұқымдар санының себілген тұқымдардың жалпы санына қатынасы арқылы есептелді (5) [153]:

$$\text{ӨП}\ (\%) = N_1/N_2 \times 100 \qquad (5)$$

мұндағы N_1 - өнген тұқымдар саны, N_2 - тәжірибеге алынған тұқымдардың жалпы саны.

2.2.4 Сорбенттердің құрылымдық ерекшеліктерін зерттеу

2.2.4.1 Сорбенттердің морфологиясын микроскопиялық зерттеу

Сорбенттердің морфологиялық ерекшеліктерін анықтау мақсатында микроскопиялық зерттеу жүргізілді. Зерттеу жұмыстары KERN Optics бинокулярлы стереомикроскопының көмегімен орындалды. Микроскоп жоғары ажыратымдылықтағы цифрлық камерамен және мониторлық жүйемен жабдықталған, бұл зерттелетін үлгілердің кескіндерін нақты уақыт режимінде бақылауға, фотофиксациялауға және кейіннен сандық өңдеуге мүмкіндік береді [154]. Микроскопиялық талдау барысында сорбент үлгілерінің микрофотосуреттері ×10, ×20 және ×40 еселік үлкейтулерде алынды.

Алынған микрофотосуреттер сандық форматта тіркеліп, кейінгі морфологиялық талдау үшін пайдаланылды. Зерттеу барысында сорбент бөлшектерінің пішіні, құрылымдық біртектілігі салыстырмалы түрде бағаланды. Морфологиялық талдау нәтижелері сорбенттердің физикалық қасиеттерін және микроорганизмдерді иммобилизациялау мен қоректік элементтерді сорбциялау әлеуетін бағалау үшін негіз ретінде қолданылды [155].

2.2.4.2 Сорбенттердің құрамына элементтік талдау

Сорбенттердің элементтік құрамы екі әдіспен бағаланды. Индуктивті байланысқан плазмалы оптикалық эмиссиялық спектроскопия ICP-OES (Integra XL, GBC Scientific Equipment, Австралия) талдауы үлгінің жалпы химиялық құрамындағы макро және микроэлементтердің концентрациясын анықтаса, сканерлеуші электрондық микроскопиямен біріккен энергия-дисперсиялық рентгендік спектроскопия (SEM-EDS) талдауы материалдың беткі қабатындағы элементтердің салыстырмалы үлесін көрсетті [156].

Индуктивті байланысқан плазмалы оптикалық эмиссиялық спектроскопиялық талдау Integra XL спектрометрінде жүргізілді. Талдау барысында үлгілер алдын ала минерализацияланып, алынған ерітінділер спектрометрде талданды. Әдіс жоғары температуралы аргон плазмасында (6000-10000 K) атомдардың қозуына негізделген, нәтижесінде әр элемент өзіне тән толқын ұзындығында сәуле шығарады. Осы сәуленің интенсивтілігі бойынша элементтердің концентрациясы есептелді. Сандық анықтау алдын ала дайындалған стандартты ерітінділер негізінде калибрлеу қисықтары арқылы жүргізілді. Нәтижелер мкг/г бірлігінде беріледі.

Сканерлеуші электрондық микроскопиямен біріккен энергия-дисперсиялық рентгендік спектроскопия (SEM-EDS) EDS детекторымен жабдықталған Quanta 3D 200i SEM жүйесі (FEI, АҚШ) арқылы орындалды. Талдау алдында үлгілер ауада кептірілді және жақсы өткізгіштік пен үлгінің минималды зарядталуын қамтамасыз ету үшін көміртекті жабысқақ төсемдерді пайдаланып, алюминий таяқшаларына орнатылды. Визуализация мен талдаудың дәлдігін жақсарту үшін қажет болған жағдайда үлгілердің бетіне алтынның немесе көміртектің жұқа өткізгіш қабаты шашыранды. SEM бақылаулары 15 кВ жеделдету кернеуінде, ~12-15 мм жұмыс қашықтығында, максималды ×20000 үлкейтуде жүргізілді. EDS спектрлері репрезентативті аймақтардан алынып, ZAF түзету факторлары арқылы өңделді. Бұл әдіс негізгі және қосалқы элементтердің сапалық және жартылай сандық анықталуына мүмкіндік беріп, материалдардың беттік химиясы мен функционалдық қасиеттерін бағалауға мүмкіндік береді.

2.2.4.3 Сорбенттердің беттік және поралы құрылымын сипаттау

Сорбенттердің поралы құрылымы ризобактерияларды иммобилизациялау тиімділігін анықтайтын негізгі факторлардың бірі болып табылады. Поралық сипаттамаларын анықтау үшін азоттың физикалық адсорбция-десорбция изотермасын алу әдісі қолданылды, бұл BET, Langmuir, BJH, DR, t-plot және HK модельдері арқылы беттік аудан мен пора параметрлерін кешенді бағалауға мүмкіндік береді.

Сорбент үлгілері (0,05-0,2 г) Kubo X1000 автоматтандырылған сорбциялық анализаторында алдын ала вакуумдық дегазациядан өткізілді (100-300 °C, 4-24 сағ), бұл беттегі адсорбцияланған газдар мен органикалық қалдықтарды жою арқылы өлшеу дәлдігін арттырды. Адсорбция-десорбция изотермалары сұйық азот температурасында (77 K) тіркелді. Азот молекуласының қималық ауданы 0,162 нм² деп қабылданды, салыстырмалы қысым диапазоны P/P_0 = 0,001-0,995 болды.

Беттік аудан BET және Langmuir модельдері бойынша есептелді (P/P_0 = 0,05-0,35; $R^2 > 0,995$). Мезопоралардың (>2 нм) таралуы BJH әдісімен Кельвин теңдеуі негізінде анықталды, ал микропора (<2 нм) Dubinin-Radushkevich (DR) теңдеуімен есептелді. t-plot әдісі сыртқы және ішкі беттік аудандарды ажыратуға мүмкіндік берді, ал Horvath-Kawazoe (HK) моделі микропоралардың нақты өлшемдерін бағалау үшін қолданылды.

Алынған параметрлердің типтік диапазоны: беттік аудан 10-3000 м²/г,

жалпы пора көлемі 0,01-1,0 см³/г және орташа пора радиусы 1-50 нм. Әдістеме IUPAC стандарттарына сәйкес жүргізілді және сорбенттердің ӨӨЫР-ды иммобилизациялауға жарамдылығын (мезопора үлесі >70%, өлшемі 2-10 нм) объективті бағалауға мүмкіндік береді. Барлық есептеулер Kubo X1000 бағдарламалық қамтамасыз етуі арқылы орындалды.

2.2.5 Сорбент-ризобактериялық композиттерді алу

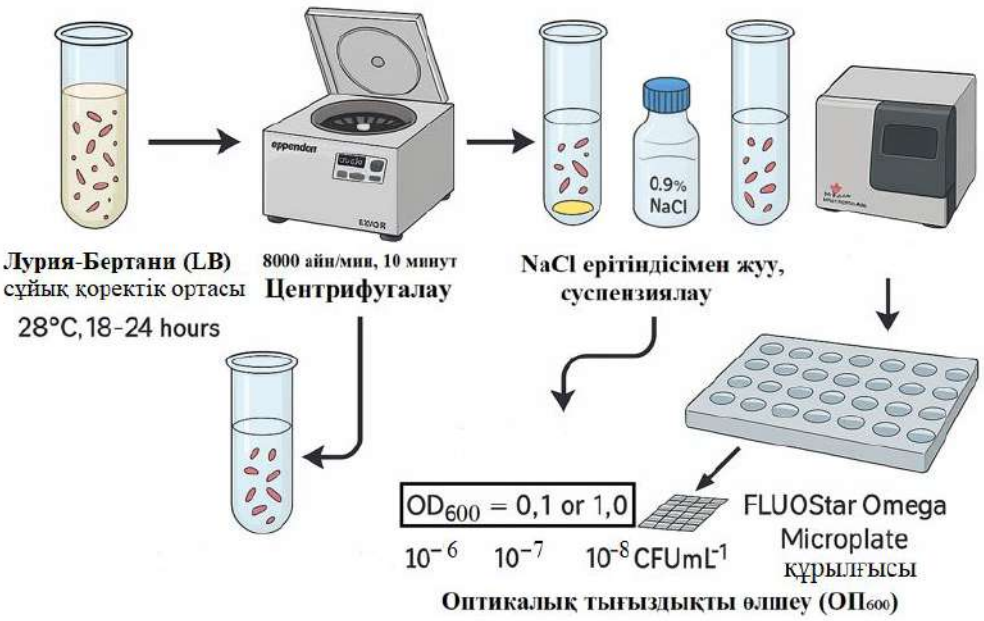
2.2.5.1 Ризобактериялардың стандартталған инокуляттарын дайындау

Иммобилизациялық эксперименттерді жүргізуге үшін алдыңғы жұмыстар барысында алдын ала скринингтен өткен үш бактериялық штамм таңдап алынды. Иммобилизация тиімділігін салыстыру және тәжірибелердің қайталанымдылығын қамтамасыз ету мақсатында микробтық суспензиялар стандартталды (5-кесте).

Кесте 5. OD = 1 (λ = 600 нм) жағдайында зерттелген штамдардың болжамды бастапқы жасуша концентрациясы.

Штамм	OD_{600}	Концентрация, КТБ $мл^{-1}$	Сілтеме
Stenotrophomonas indicatrix AS8	0.5	10^9	[157]
Bacillus thuringiensis AS31	1	10^9	[158,159]
Pantoea agglomerans AS23	1	10^9	[160,161]

Стандартау үшін скринингтен өткен ризобакетриялардың әрбір штамы жеке-жеке Лурия-Бертани (LB) сұйық қоректік ортасында 28 °C температурада 18-24 сағат бойы өсіріліп, логарифмдік өсу фазасына дейін жеткізілді (8-сурет).



Сурет 8 - Бактериялық суспензияларды дайындау сызбанұсқасы

Стандартталған инокуляттарды дайындау барысында бактериялық суспензиялардың жасуша тығыздығы спектрофотометрлік әдіспен бастапқы оптикалық тығыздыққа (OD_{600}) 0,1 немесе 1,0 теңестірілді (5-кесте), ал кейіннен 10^{-9}, 10^{-8} немесе 10^{-7} КТБ $мл^{-1}$ концентрациясына дейін сұйылтылды. Бұл мақсатта FLUOstar Omega Multi-Mode Microplate Reader құрылғысы CCD-спектрометрлік жүйемен (BMG LABTECH) қолданылды.

Инкубациядан кейін дақылдар 8000 айн/мин жылдамдықта 10 минут бойы центрифугаланды (Eppendorf Centrifuge 5810R) [162]. Тұнбаға түскен жасуша биомассасы стерильді физиологиялық ерітіндімен (0,9% NaCl) екі рет жуылды, кейін сол ерітіндіде қайта суспензияланды, бұл жасушалардың жоғары тіршілік ету қабілеті мен тазалығын қамтамасыз ету үшін жүргізілді [10,162]. Әрбір 500 мл Эрленмейер колбаларына 250 мл физиологиялық ерітінді құйылып, оған 1,25 мл микробтық биомасса (0,5% v/v) қосылды. Колбалар 30 °C температурада және 160 айн/мин жылдамдықта 1 сағат инкубацияланып, жасушалардың біркелкі таралуына мүмкіндік берілді. Оптикалық тығыздық (OD_{600}) стерильді физиологиялық ерітіндіге қарсы бланк ретінде UV-Visible спектрофотометрде өлшеніп, қайталамалардың біркелкілігі статистикалық түрде расталды.

2.2.5.2 Ризобактерия жасушаларын сорбентке иммобилизациялау әдістемесі мен иммобилизация дәрежесін анықтау

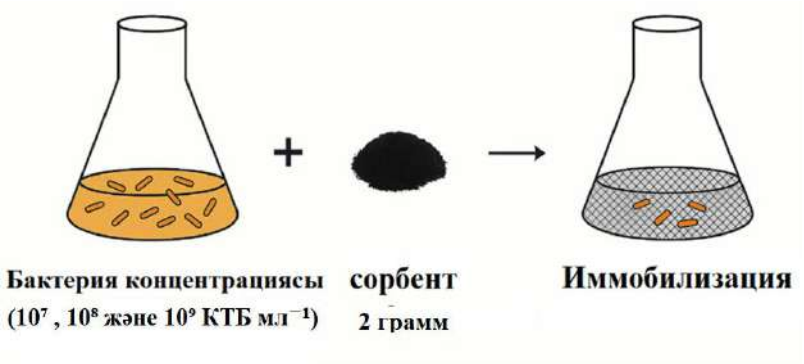
Тасымалдаушы материал ретінде салыстырмалы түрде төмен меншікті беткі ауданы бар Акмеко биокөмірі (АБ) таңдалды. Беткі дамуы шектеулі биокөмірді пайдалану бактериялар мен тасымалдаушылардың өзара әрекеттесуін қатаңырақ тексеруге және иммобилизация тиімділігін бағалауға мүмкіндік береді. Беткі ауданы төмен тасымалдаушыда сәтті иммобилизациялау жоғары поралы құрылымдарда қарапайым физикалық ұсталудан тыс жасуша-беттік аффинділік пен өзара әрекеттесу механизмдерін көрсетеді. Сондықтан, АБ таңдау бактериялық иммобилизация процестерін сенімді бағалауға мүмкіндік береді және тасымалдаушылардың беткі ауданы кең болуымен байланысты иммобилизация тиімділігін шамадан тыс бағалау мүмкіндігін азайтады.

Микробтық жасушалардың биокөмір бетіне адсорбциялану қабілетін бағалау мақсатында стандартталған бактериялық суспензияларға концентрациясы 5% болатын биокөмір қосылды, бұл 20 мл суспензияға 2 г биокөмірге сәйкес келеді (9-сурет). Тәжірибелік топтармен қатар екі түрлі бос бақылау үлгілері қолданылды:

(i) ешқандай қоспасы жоқ физиологиялық ерітінді

(ii) құрамында 5% биокөмір бар физиологиялық ерітінді.

Бұл бақылаулар тасымалдаушы материалға байланысты фондық оптикалық тығыздықты түзету үшін пайдаланылды.



Сурет 9 - Бактерияларды сорбентке иммобилизациялау сызбанұсқасы

Сорбент қосылғаннан кейін суспензиялар бөлшектердің біркелкі таралуын қамтамасыз ету және жасушалар мен сорбент арасындағы жанасуды күшейту мақсатында қолмен жұмсақ түрде араластырылды. Бір дақылдан бірнеше рет үлгі алуды болдырмау және тәжірибенің дәлдігін қамтамасыз ету үшін әрбір инкубация уақытына жеке-жеке колбалар дайындалды. Үлгілер алты уақыт нүктесінде жиналды: 30 мин, 60 мин, 3 сағ, 6 сағ, 18 сағ және 24 сағ. Әрбір интервалда жеке колбадан суспензия стерильді жағдайларда алынды.

Жиналған суспензиялар биокөмірдің қалдық бөлшектерін жою мақсатында сапалық сүзгі қағазы арқылы сүзілді. Алынған фильтраттар сұйық фазада қалған адсорбцияланбаған жасушалардың концентрациясын анықтау үшін 600 нм толқын ұзындығында (OD_{600}) спектрофотометриялық әдіспен талданды. Әрбір уақыт нүктесіне арналған жеке колбаларды қолдануға негізделген бұл эксперименттік дизайн адсорбция үдерісінің бұзылу ықтималдығын барынша азайтып, биокөмір бетінде микробтардың иммобилизациялану кинетикасын бағалау үшін сенімді деректер жиынтығын алуға мүмкіндік берді [16].

Адсорбция тиімділігі (АЕ, %) төмендегі (6) теңдеу бойынша есептелді:

$$\text{АТ} = \frac{OD_{\text{БМ}} - OD_{\text{Б}}}{OD_0} \times 100\% \qquad (6)$$

мұндағы OD_0 - бастапқы микробтық суспензияның оптикалық тығыздығы, $OD_Б$ - тек биокөмір қосылған физиологиялық ерітіндінің (бақылау) оптикалық тығыздығы, ал $OD_{БМ}$ - биокөмір енгізілген микробтық суспензияның оптикалық тығыздығы ретінде қабылданды.

Жасушалардың биокөмір матрицасына бекіну тұрақтылығын бағалау мақсатында жаңа физиологиялық ерітіндіде десорбция сынамасы жүргізілді. Әрбір инкубация кезеңінің соңында (30 мин, 60 мин, 3 сағ, 6 сағ, 18 сағ және 24 сағ) культураның сұйық фазасы мұқият декантацияланып, биомассаны сақтаған биокөмір бөлшектерінен бөлінді. Қалған биокөмір 250 мл стерильді 0,9% NaCl ерітіндісінде қайта суспензияланды. Физиологиялық ерітінді қосылғаннан кейін колбалар мұқият араластырылып, тасымалдаушы бетінде әлсіз байланысқан жасушалардың босап шығуына ықпал етілді.

Десорбция тиімділігі (ДТ, %) келесі теңдеу бойынша есептелді:

$$\text{ДТ} = \frac{OD_{\text{ИБ}} - OD_{\text{Б}}}{OD_0} \times 100\% \quad (7)$$

мұндағы $OD_{ИБ}$ - десорбциядан кейін иммобилизденген биокөмір қосылған физиологиялық ерітіндінің оптикалық тығыздығы; $OD_Б$ - тек биокөмір қосылған физиологиялық ерітіндінің (бақылау) оптикалық тығыздығы; OD_0 - бастапқы микробтық суспензияның оптикалық тығыздығы.

Суспензиядан үлгілер екі уақыт нүктесінде алынды: қайта суспензияланғаннан кейін бірден (0 мин) және сол жағдайларда 30 минуттық инкубациядан соң. Әрбір үлгі он есе сұйылтылып, стерильді дистилденген суда дайындалды, кейіннен қалдық биокөмір бөлшектерін жою үшін сапалық сүзгі қағазынан өткізілді. Алынған сүзінділер 600 нм толқын ұзындығында (OD_{600}) спектрофотометрлік талдаудан өткізілді. Бұл өлшемдер микроорганизмдердің десорбция дәрежесін сандық тұрғыда анықтауға мүмкіндік беріп, әрі қарай десорбция тиімділігі (ДТ, %) (7) есептеуге және түзету арқылы соңғы иммобилизация тиімділігін (ИТ, %) (8) анықтауға пайдаланылды.

Соңғы иммобилизация тиімділігі (ИТ, %) (7) теңдеу бойынша қайта есептелді [16]:

$$\text{ИТ} = \text{АТ} - \text{ДТ} \quad (8)$$

мұндағы АТ - адсорбция тиімділігі; ДТ - десорбция тиімділігі (жоғарыда көрсетілген).

2.2.5.3 Ризобактериялардың сорбентке иммобилизациялануын зерттеу

Стерильді биокөмір және микроорганизмдер иммобилизденген үлгілер стерильді жағдайда кептіріліп, Quanta 3D 200i сканерлеуші электрондық микроскопында (FEI, АҚШ) жоғары вакуумда (~10^{-3} Па) зерттелді. Үлгілер электрондық сәулелену кезінде тұрақтылығын қамтамасыз ету және зарядталуды азайту үшін екіжақты көміртекті таспа арқылы алюминий тіректерге бекітілді. Бейнелеу екінші реттік электрондар (SE) детекторы арқылы жүргізіліп, бет рельефі мен морфологиялық ерекшеліктерді жоғары ажыратымдылықпен визуализациялауға мүмкіндік берді. SEM бақылаулары 15 кэВ кернеу және ~12 мм жұмыс қашықтығында орындалып, ×1000-×30000 үлкейту аралығында жүргізілді. Бұл әдіс үлгілердің бет құрылымын, бөлшек өлшемін және біртектілігін сапалық бағалауға мүмкіндік беріп, олардың физика-химиялық қасиеттерін әрі қарай талдауға негіз жасады.

2.2.6 Жылыжай жағдайындағы тәжірибе әдістемесі

Жылыжай тәжірибесі барысында модельдік дақыл ретінде негізгі азық-түлік дақылдарының бірі және микробты инокулянттар мен топыраққа енгізілетін қоспаларға сезімтал өсімдік - жүгерінің (*Zea mays L.*) Ceklad 235

үшлиниялы гибриді (OSEVA, a.s., Бзенец, Чехия) таңдап алынды. Жүгері - әлемдік маңызы бар негізгі дәнді және мал-азықтық дақылдардың бірі. Жүгері өсімдігі ризобактериялар мен биостимуляторлардың өсімдік өсуіне әсерін бағалауда қолайлы модельдік объект ретінде кеңінен қолданылады. Оның модельдік жүйе ретінде таңдалуы онтогенездің бастапқы кезеңінде ризосфера жағдайларына ерекше сезімтал болуында, яғни қарқынды бастапқы өсуі және өскін фазасында қуатты алғашқы тамыр жүйесінің қалыптасуы өсімдіктің кейінгі өнімділік әлеуетін айқындайды, өсіру жағдайларына бейімділігі және өсудің морфометриялық көрсеткіштерінің инокуляция әсеріне сезімталдығымен негізделеді [163–167].

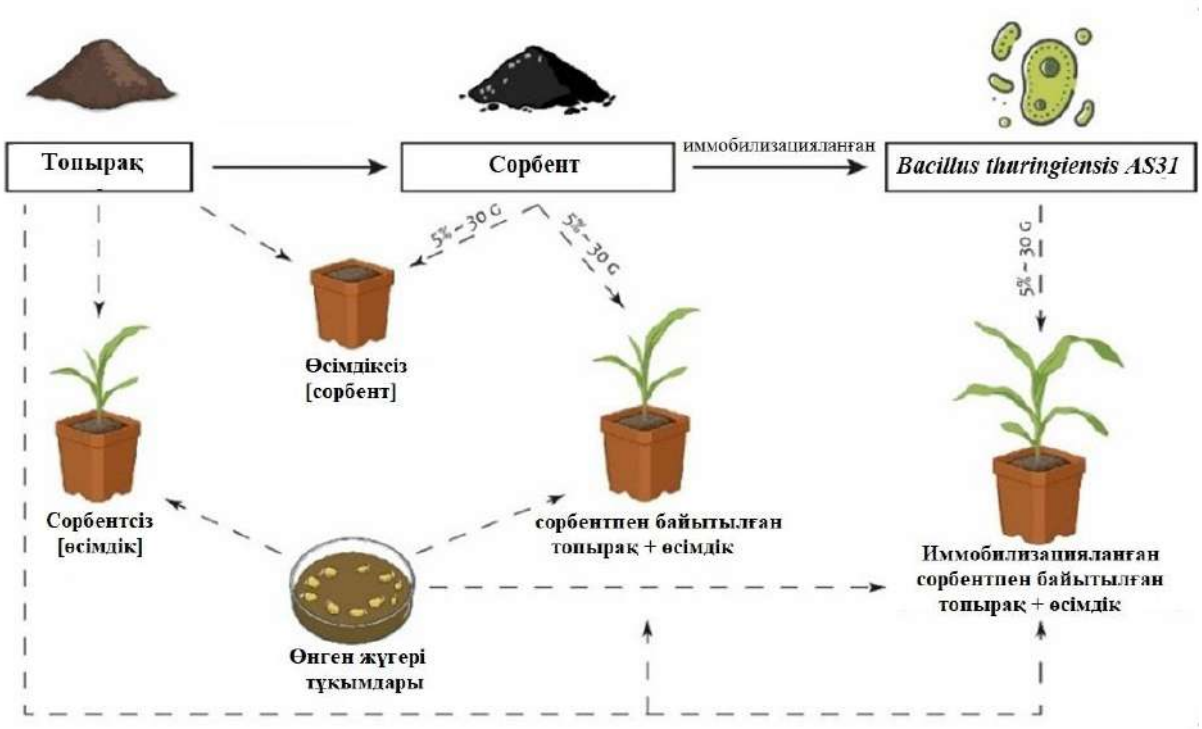
Жалпы тәжірибелік жұмыста 24,1 кг өңделген топырақ пайдаланылып, ол 46 тәжірибелік бірлікке бөлінді. Тәжірибеде пайдаланылатын топырақ Чехияның Чехияның агроазық-түлік зерттеу орталығы эксперименттік станциясынан алынған (50.4591714° N, 13.3813938° E; 366 м биіктік).

Кесте 6 - Жылыжай тәжірибесінде пайдаланылатын топырақтың элементтік құрамы

Элемент	Концентрация (мг/г)	Элемент	Концентрация (мг/г)
Si	274,30 ± 0,33	Sr	0,42 ± 0,01
Al	87,62 ± 0,30	Zr	0,36 ± 0,01
Fe	63,45 ± 0,38	Cr	0,29 ± 0,10
Ca	56,53 ± 0,36	Zn	0,25 ± 0,01
K	21,29 ± 0,79	Rb	0,17 ± 0,005
Mg	14,14 ± 0,28	Pb	0,09 ± 0,01
Ti	10,02 ± 0,43	Cu	0,09 ± 0,02
P	2,89 ± 0,75	Ni	0,08 ± 0,03
S	1,50 ± 0,08	Y	0,05 ± 0,004
Mn	1,20 ± 0,09	Br	0,01 ± 0,003

Топырақ ауылшаруашылық алқабынан алынған, алқап бұрын дәстүрлі егіншілік жүргізілді. Жиналған топырақ бөлме жағдайында ауада кептіріліп, 2 мм болат елек арқылы өткізіліп, ірі қоспалар, тастар және өсімдік қалдықтары алынды. Жылыжай тәжірибесінде пайдаланылатын топырақтың элементтік құрамы 6-кестеде көрсетілген. Алынған ұсақ фракция сынақ субстраты ретінде жылыжайдағы бақылау экспериментінде пайдаланылды.

Жылыжай жағдайында жүргізілген тәжірибенің жалпы әдістемелік сызбасы 10-суретте көрсетілген.



Сурет 10 - Жылыжай жағдайында жүргізілген тәжірибенің жалпы әдістемелік сызбасы

Топырақ және бактерия иммобилизденген немесе бактерия иммобилизденбеген сорбент қоспалары бар әрбір нұсқаны дайындау барысында диаметрі 15 см болатын гүл өсіруге арналған ыдысқа 0,57 кг топырақ пен 5% сорбент материалдары енгізілді, мұқият араластырыла отырып, субстраттың біркелкі байытылуы қамтамасыз етілді. Топырақ-сорбент қоспалары 2 литрлік полиэтилендік zip-lock пакеттерде жеке дайындалып, 5 минут бойы физикалық әдіспен толық араласуын қамтамасыз етті. Қоспалардың біртектілігі, визуалды түрде, агрегаттардың болмауы және биокөмір бөлшектерінің топырақ матрицасы бойынша біркелкі таралуымен расталды.

Біртектес қоспалар кейіннен өздерінің тиісті құмыраларына қайта салынды, әр өңдеу үшін үш биологиялық қайталауды қамтамасыз етті. Тәжірибе ыдыстары бақылаулы қоршаған орта жағдайында (25 °C; су ұстау қабілетінің 60%) бір апта бойы инкубацияланды, бұл топырақ-сорбент өзара әрекеттесуінің бастапқы тұрақтануын қамтамасыз ету үшін қажет болды. Ал құрамында сорбент жоқ нұсқаларға 0,60 кг топырақ салынды. Кейін әрбір тәжірибелік нұсқаға сәйкес әр ыдысқа үш дана алдын ала өңделген жүгері дәні отырғызылды.

Тәжірибелік нұсқалар алты негізгі топқа біріктірілді:

1) топырақ пен жүгері дәндері (бақылау);
2) топырақ пен ризобактериямен инокуляцияланған жүгері дәндері;
3) 5% мөлшерінде сорбенттермен байытылған топырақ пен жүгері дәндері;

4) 5% мөлшерінде сорбенттермен байытылған топырақ пен ризобактериямен инокуляцияланған жүгері дәндері;
5) ризобактерия иммобилизденген 5% сорбентпен байытылған топырақ пен жүгері дәндері.

Тәжірибе әдістемесі бойынша алдымен жүгері дәндерін эпифиттік микроорганизмдердің ықпалын шектеу мақсатында беткі қабатын 0,1% сынап хлориді ($HgCl_2$) ерітіндісінде 1 минут бойы стерилдеп, кейін төрт рет стерильді деионизацияланған сумен жуылды. Стерилизациядан кейін дәндер тәжірибелік сызбаға сәйкес екі бағытта дайындалды: бір бөлігі өңделмеген күйінде қалдырылды, ал екінші бөлігі зерттелген штамымен - *Bacillus thuringiensis AS31* - инокуляцияланды. Инокуляция процесі үшін *B. thuringiensis AS31* штамы Лурия- Бертани сұйық ортасында 28 ± 2 °C температурада, 200 айн/мин тұрақты шейкерде 24 сағат бойы инкубацияланды. Бұл жағдай аэрацияны оңтайландырып, биомассаның жеткілікті жиналуын қамтамасыз етті. Инкубациядан кейін бактериалды суспензия спектрофотометр көмегімен оптикалық тығыздығы OD_{600} = 1.0 (10^8 КТБ/мл) деңгейіне келтірілді.

Стерильденген дәндер бактериалды суспензиямен асептикалық жағдайда 30 минут инокуляцияланды. Бұл тәсіл дән бетінде микроорганизмдердің біркелкі колонизациясын қамтамасыз етіп, алдағы симбиотикалық өзара әрекеттестіктерге қолайлы жағдай жасады. Өңделмеген дәндер дәл сол шарттарда стерильді деионизацияланған суда (dH_2O) сіңірілді. Мұндай салыстыру инокуляцияның нақты әсерін айқындауға және дән бетінде қалыптасатын микробты қауымдастықтың ықпалын бағалауға мүмкіндік берді.

Инокуляциядан кейін дәндер бақылаулы зертхана жағдайында бес тәулік бойы өніп шықты. Алғашқы 24 сағат ішінде морфологиялық өзгерістер анықталған жоқ. 48 сағаттан кейін дәннің су сіңіру процесі байқалды, бұл дәннің ісінуі және қабығының біртіндеп жарылуымен көрінді. Өсу стерильді Петри табақшаларында, стерильді сүзгі қағазымен төселіп, оптималды ылғалдық, жеткілікті оттегі қамтамасыз етілген (табақшалар аздап ашық қалдырылды) және 20-25 °C температурада жүргізілді. Дәннің тыныштық күйінен белсенді өсуге өтуі су сіңіру, оттегімен қамтамасыз ету және оптималды температураның біріктірілген әсерімен іске асырылды. Өсу процесі кезеңдерге бөлінді: су сіңіру (48 сағат), дән қабығының жарылуы (72 сағат), тамыршаның шығуы (96 сағат) және кейінгі сабақшаның дамуы. 72 сағаттан кейін алғашқы көрінетін тамыршалар пайда болды. Бактериялық инокулянтпен өңделген дәндерде өну бақылаумен салыстырғанда едәуір жоғары болды. Бесінші тәулікте біркелкі өніп шыққан дәндер дайындалған топырақ немесе топырақ-сорбент қоспасы бар ыдыстарға отырғызылды, әр ыдысқа үш өнген дәннен егілді. Бұл тәсіл өну динамикасының біркелкілігін қамтамасыз етіп, отырғызудан бұрын әртүрлі емдеу топтары арасындағы өзгергіштікті азайтты.

Тәжірибелік нұсқалар келесідей құрамда болды:

1. Топырақ + дәндер.
2. Топырақ + ризобактериямен инокуляцияланған дәндер.
3. Топырақ + 5% Бидай биокөмірі (ББ) + дәндер.
4. Топырақ + 5% Вермикулит (В) + дәндер.

5. Топырақ + 5% Акмеко биокөмірі (АБ) + дәндер.
6. Топырақ + 5% Мискантус биокөмірі (МБ) + дәндер.
7. Топырақ + 5% ББ + ризобактериямен инокуляцияланған дәндер.
8. Топырақ + 5% В +ризобактериямен инокуляцияланған дәндер.
9. Топырақ + 5% АБ + ризобактериямен инокуляцияланған дәндер.
10. Топырақ + 5% МБ + ризобактериямен инокуляцияланған дәндер.
11. Топырақ + ризобактерия иммобилизденген 5% ББ + дәндер.
12. Топырақ + ризобактерия иммобилизденген 5% В + дәндер.
13. Топырақ + ризобактерия иммобилизденген 5% АБ + дәндер.
14. Топырақ + ризобактерия иммобилизденген 5% МВ + дәндер.

Аталған әдіс өсімдік даму кезеңдерінің бастапқы сатыларында «дән-микроб» өзара әрекеттестігінің тиімді қалыптасуына ықпал етіп, ризобактерия инокуляциясының жүгерінің өсуіне топырақ пен сорбент жағдайларына қарай әсерін бағалауға сенімді негіз қалады. Факторлық тәжірибе сызбасы жүйелі түрде: (i) сорбент енгізудің бастапқы әсерін, (ii) еркін тіршілік ететін ӨӨЫ инокуляциясының үлесін және (iii) сорбент-микробты кешендердің биотыңайтқыш ретінде қолданылу әлеуетін айқындауға мүмкіндік береді.

Эксперимент 2024 жылғы маусым айынын басталып, тамыз айында аяқталды. Өсімдіктердің өсу жағдайларын тұрақтандыру мақсатында тәжірибе нұсқалары аптасына екі рет суарылып, топырақтағы ылғалдылық далалық ылғал сыйымдылығына жуық деңгейде ұсталды. Аяқталғаннан кейін өсімдік биомассасы жинақталып, одан кейін физиологиялық және биохимиялық талдау жүргізілді. Статистикалық сенімділік пен эксперименттің қайта өндіру мүмкіндігін қамтамасыз ету үшін толық рандомизацияланған дизайн (CRD) қолданылып, әр өңдеудің үш биологиялық қайталауы жүргізілді. Бұл тәжірибе нәтижелерінің статистикалық нақтылығын арттырып, позициялық қателіктерді азайтты.

2.2.7 Иммобилизденген Вермикулит-Мискантус биокомпозитін дайындау

Иммобилизациялау рәсімі *Bacillus thuringiensis AS31* штамының оңтайлы физиологиялық және рецептуралық параметрлері негізінде әзірленді. Иммобилизациялау үшін бастапқы концентрациясы 10^7 КТБ/мл болатын бактериялық суспензия дайындалды. Алдын ала жүргізілген скрининг нәтижелері бойынша дәл осы концентрация бактерия жасушаларының тасымалдағыш бетіне тиімді бекінуін қамтамасыз етіп, иммобилизацияның жоғары әрі тұрақты тиімділігін көрсетті. Иммобилизация бактерия жасушаларының тасымалдағыштың поралы бетіне адсорбциялануы және колонизациялануы арқылы жүзеге асырылды. Бұл ретте тасымалдағыштың меншікті бет ауданы, пора құрылымы және ылғалды ұстап тұру қабілеті бактериялардың бекінуі мен тіршілікке қабілеттілігін анықтайтын негізгі факторлар болып табылады [168].

Вермикулит пен Мискантустан алынған биокөмір алдын ала кептіріліп, кейін композитті тасымалдағыш құрастыру үшін белгіленген 1:1 (50:50,

массалық қатынаста) арақатынаста араластырылды. Бұл сорбенттің жалпы мөлшерін тұрақты деңгейде ұстап, композиттік материалдың жеке сорбенттермен салыстырғандағы тиімділігін ғылыми тұрғыдан объективті бағалауға мүмкіндік береді. Кейін композитке дайындалған *Bacillus thuringiensis AS31* суспензиясы енгізіліп, бактерия жасушаларының тасымалдағыш бетіне жеткілікті дәрежеде адсорбциялануын және қолжетімді пораларға енуін қамтамасыз ететін жағдайларда 18 сағат бойы инкубацияланды. Бұл тәсіл әдебиетте сипатталған тасымалдағыш негізіндегі микробтық композициялардың қағидаттарына сәйкес келеді, онда поралы матрицалар микроорганизмдердің бекінуін қамтамасыз етіп, олардың тұрақтылығын арттырады және топыраққа енгізілгеннен кейін инокуляттың жылдам жойылуынан қорғайды [168,169].

Тәжірибе барысында диаметрі 15 см болатын вегетациялық құмыраларға 0,57 кг топырақ орналастырылып, субстратқа топырақ массасының 5%-ы мөлшерінде иммобилизденген Вермикулит-Мискантус биокөмірі негізіндегі композит енгізіліп, араластырылды. Композиттің топырақта біркелкі таралуы микроорганизмдердің иммобилизденген тасымалдағыштағы тіршілікке қабілеттілігін сақтаумен қатар, олардың тамыр аймағында тиімді орналасуын қамтамасыз ететін маңызды фактор болып табылады, бұл өз кезегінде «топырақ +ризобактерия иммобилизденген 5% композит + жүгері дәндері» жүйесінде инокуляттың тұрақтылығы мен өсімдікпен өзара әрекеттесу тиімділігін арттыруға ықпал етеді [168,170].

2.2.8 Өсімдік үлгілерін жинау әдістемесі

Эксперимент аяқталғаннан кейін өсімдік биомассасы физиологиялық және агрохимиялық талдаулар жүргізу үшін жиналды. Өсімдіктің жалпы биіктігі, жерүсті және тамыр ұзындығы мен салмағы сияқты морфофизиологиялық көрсеткіштер өлшенді. Тәжірибе соңында *Zea mays L.* (Ceklad 235 гибриді) өсімдіктерінің жерүсті биомассасы мен тамыр жүйесі ISO 11464:2007 стандартты хаттамасына сәйкес жиналды [171]. Өсімдіктер тамыр жүйесінің тұтастығын сақтау үшін мұқият қазылып алынып, тамырлары топырақ бөлшектерінен тазартылды. Өсімдіктің жерүсті (жапырақ, сабақ) және жерасты (тамыр) бөліктері тұрақты массаға дейін ауада кептірілді. Құрғақ салмақтың тұрақтылығы қатарынан өлшенген мәндердің айырмашылығы 0,0001 г-нан аспаған жағдайда расталды.

2.2.9 Топырақтың агрохимиялық талдауы

Топырақ үлгілері екі кезеңде алынды: өсімдік отырғызу алдында (топырақ-сорбент жүйесін бір апта инкубациялағаннан кейін) және соңғы өнім жинау кезінде. Әрбір құрама үлгі біртектендіріліп, бірнеше қосалқы үлгілерге бөлінді. Үлгілер ауада кептіріліп, ≤2 мм електен өткізілді. Топырақтың қолжетімді қоректік элементтерді (K, Ca, Mg, P) анықтау Mehlich 3 әдісімен экстракцияланып, индуктивті байланысқан плазмалы оптикалық эмиссиялық спектроскопия (ICP-OES, Integra XL, GBC Scientific Equipment) арқылы талданды. Топырақтағы жалпы азот (TN) пен жалпы көміртек (TC) мөлшері элементтік талдау әдісімен (Vario MAX CNS/CN, Elementar) анықталды.

Топырақтың pH (H_2O) көрсеткіші ISO 10390:2021 стандарты бойынша өлшенді, ал құрғақ зат мөлшері (DM) ISO 11465:1993 (2020) әдісіне сәйкес анықталды [172]. Топырақ үлгілерін дайындау ISO 11464:2006 стандартына сәйкес жүргізілді. Үлгілер 105 °C температурада тұрақты массаға дейін кептіріліп, бөгде қоспалардан тазартылды, ұсақталып, толық араластырылды. Орташа үлгі квартирлеу әдісімен алынып, кейін 0,25 мм електен өткізіліп, химиялық талдауға пайдаланылды [173].

2.2.10 Статистикалық талдау

Деректерді талдау JASP бағдарламалық қамтамасыздандыруы (нұсқа 0.98.1, JASP Team, https://jasp-stats.org/) көмегімен жүргізілді. Барлық эксперименттік зерттеулер үш қайталымда орындалды. Топтар арасындағы айырмашылықтардың статистикалық маңыздылығын бағалау үшін дисперсиялық талдау (ANOVA) әдісі қолданылды. Суреттер мен кестелерде зерттеу жұмыстарының орташа арифметикалық нәтижелері мен олардың стандартты ауытқулары көрсетілді. Статистикалық маңыздылық деңгейлері p-мәні (p-value) бойынша келесідей бағаланды:

$p < 0,05$ - статистикалық маңызды айырмашылық (significant);

$p < 0,01$ - жоғары статистикалық маңыздылық (highly\ significant);

$p < 0,001$ - өте жоғары статистикалық маңыздылық (extremely\ highly\ significant).

3. ЗЕРТТЕУ НӘТИЖЕЛЕРІ ЖӘНЕ ОЛАРДЫ ТАЛДАУ

3.1 Өсімдіктің өсуін ынталандыруға қатысатын бактериялардың скринингі

3.1.1 Изоляттардың фосфорды мобилизациялау белсенділігін бағалау

Өсімдік ризосферасы өсімдік пен топырақ арасындағы өзара әрекеттесуді қамтамасыз ететін және өсімдік өсуін ынталандыратын микроорганизмдерге бай табиғи орта болып табылады. Ризосфералық бактериялардың арасында өсімдіктің өсуі мен дамуына оң әсер ететін ризобактериялар маңызды орын алады. Ризобактерия изоляттарын оқшаулау барысында колониялардың түсі, пішіні, шеттерінің сипаты, беткі құрылымы, биіктігі және пигментациясы сияқты морфологиялық белгілері бойынша ерекшеленетін 149 бактериялық изолят бөлініп алынды. Таза дақылдарды алу мақсатында таңдалған колониялар қатты қоректік ортаға бірнеше рет қайта егіліп, олардың морфологиялық тұрақтылығы бағаланды. Нәтижесінде зерттеулерге пайдалануға жарамды таза бактериялық изоляттар коллекциясы қалыптастырылды [174,175].

Зерттеудің бастапқы кезеңінде өсімдіктердің өсуін ынталандыру қабілеті жоғары перспективті микробтық изоляттар тобы іріктеліп алынды. Бұл штамдардың функционалдық әлеуетін кешенді түрде бағалау мақсатында олар бірнеше маңызды биологиялық қасиеттер бойынша сарапталды: изоляттардың фосфорды (P) мобилизациялау, индол-3-сірке қышқылын (ИСҚ) синтездеу қабілеті, атмосфералық азотты (N_2) биологиялық фиксациялау мүмкіндігі, аммиак өндіру белсенділігі анықталды. Алынған нәтижелер таңдалған штамдардың өсімдік-микроорганизм өзара әрекеттесуіндегі агрономиялық маңызды механизмдерге ықпал ету әлеуетін жан-жақты бағалауға мүмкіндік берді [176].

Зерттеуде алғашқы скрининг фосфор-солюбилизациялау қабілетіне бағытталды, өйткені топырақтағы фосфордың едәуір бөлігі өсімдіктерге тікелей қолжетімсіз, ерімейтін минералды қосылыстар, атап айтқанда Ca-P, Fe-P және Al-P формаларында болады. Фосфордың қолжетімді формаларының тапшылығы өсімдіктердің тамыр жүйесінің дамуын, энергия алмасуын және бірқатар физиологиялық процестерін шектеп, нәтижесінде дақылдардың өнімділігін 30-50%-ға дейін төмендетеді [177]. Осыған байланысты ризосфералық микроорганизмдердің минералды фосфаттарды ерітіп, өсімдіктерге қолжетімді фосфат иондарына айналдыру қабілеті олардың агрономиялық тұрғыдан құнды қасиеттерінің бірі болып саналады.

Фосфат-солюбилизациялаушы бактериялар органикалық қышқылдар, протондар және хелаттаушы қосылыстар синтездеу арқылы ерімейтін фосфаттардың еруін қамтамасыз етіп, топырақтағы фосфордың өсімдікке қолжетімділігін арттыра алады. Мұндай микроорганизмдерді қолдану минералдық фосфор тыңайтқыштарына тәуелділікті төмендетуге және топырақтағы қоректік элементтердің тиімді пайдаланылуын арттыруға мүмкіндік береді. Сондықтан зерттеу барысында бөлініп алынған бактериалды изоляттардың ішінен фосфорды мобилизациялау қабілеті жоғары штамдарды

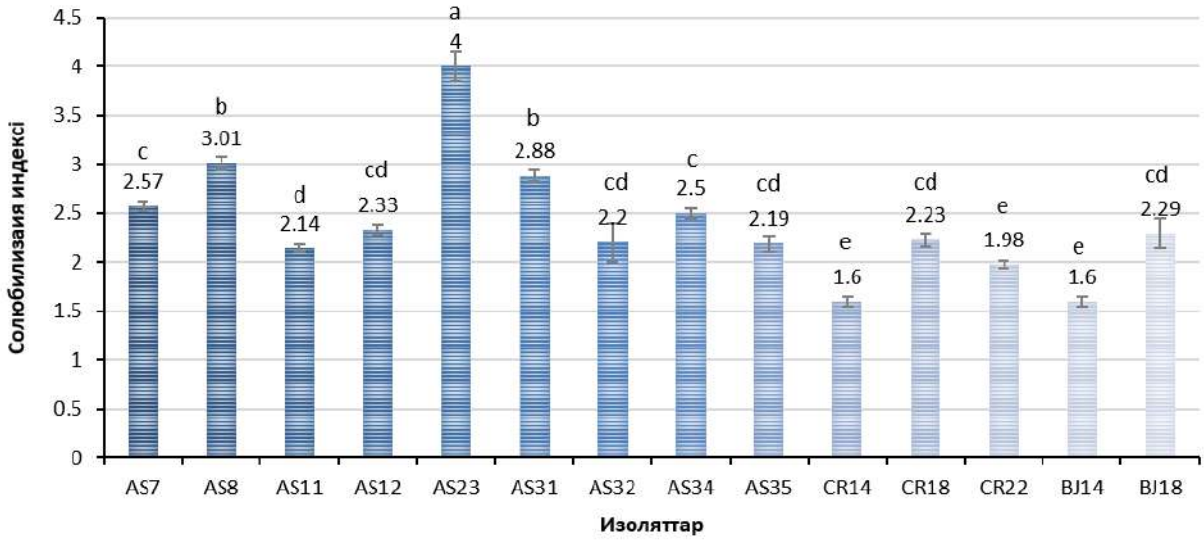
бастапқы кезеңде іріктеу олардың әрі қарайғы өсімдікті ынталандырушы қасиеттерін кешенді бағалау үшін негіз болды.

Зерттеу нәтижелері бойынша, ауыл шаруашылық дақылдарының ризосферасынан бөлініп алынған 149 бактериялық изоляттың ішінен тек 36 штамм ғана фосфатты еріту қабілетін көрсетіп, Пиковская қоректік ортасында инкубацияның 7-тәулігінде айқын еріту аймағын қалыптастырды. Тәжірибелік Петри табақшаларындағы колониялар айналасында айқын мөлдірлену аймақтарының (гало-зоналардың) түзілуі бактериялардың бейорганикалық фосфорды солюбилизациялау үдерісін растайды. Бұл үдеріс ризосферадағы элементтердің, әсіресе, кальций мен темірдің фосформен түзетін ерімейтін кешендерін ыдыратуда шешуші рөл атқарады. Бұл штамдар функционалдық тұрғыдан белсенді изоляттар ретінде тіркеліп, фосфатты солюбилизациялау қасиетінің микробтық қауымдастық ішінде біркелкі таралмағанын дәлелдеді. 11-суретте фосфатты ең жоғары деңгейде солюбилизациялауға қабілетті 14 изолят көрсетілген.



Сурет 11 - Ризобактерия изоляттарының фосфорды солюбилизациялау қабілеті

Фосфатты еріту индексі (SI) бактерияның фосфордың ерімейтін қосылыстарын ($Ca_3(PO_4)_2$) өсімдіктерге қолжетімді формаға айналдыру қабілетін сандық тұрғыда сипаттайтын маңызды көрсеткіші және микроорганизмдердің агрономиялық тиімділігін бағалаудың сенімді критерийі болып табылады. Халықаралық стандарттарға сәйкес, солюбилизация индексінің (SI > 1,5) жоғары болуы органикалық қышқылдар мен ферменттердің бөлінуіне және орта pH-ының төмендеуіне байланысты микроорганизмдердің фосфатсолюбилизациялау белсенділігін айғақтайды. Бұл топырақтағы биожетімді фосфор мөлшерінің 2–4 есеге артуына ықпал етеді [175,178].



Ескертпе: Бағандар үстіндегі әртүрлі әріптер штамдар арасындағы фосфат еріту белсенділігінің статистикалық тұрғыдан мәнді айырмашылықтарын білдіреді ($p<0,05$).

Сурет 12 -Зерттелген бактерия изоляттарының солюбилизация көрсеткіштері

12 суретте AS7, AS8, AS11, AS12, AS23, AS31, AS32, AS34, AS35, CR14, CR18, CR22, BJ14 және BJ18 штамдарының SI көрсеткіштері 1,56-4,00 аралығында ауытқып, олардың фосфор қосылыстарын тиімді солюбилизациялау әлеуетінің жоғары екенін айқындады. Статистикалық өңдеу нәтижелері әртүрлі әріптермен белгіленген бағандар арасында фосфатты еріту индексі бойынша сенімді айырмашылықтардың бар екенін көрсетті ($p<0,05$). Бұл өз кезегінде зерттелген штамдардың солюбилизациялық белсенділігі деңгейі бірдей емес екенін және олардың функционалдық қасиеттері айқын түрде жіктелетінін дәлелдейді.

Статистика бойынша, AS23 изоляты ең жоғары көрсеткішке ие болып (SI = 4,0 ± 0,15), өзге штамдардан айқын басымдық көрсетті. Сондай-ақ, AS8 (SI = 3,01 ± 0,07) және AS31 (SI = 2,88 ± 0,06) изоляттары жоғары белсенділікке ие топқа жатқызылды. Керісінше, CR14 (SI = 1,59 ± 0,07) және BJ14 (SI = 1,56 ± 0,04) изоляттарында төменгі солюбилизациялау деңгейі тіркелді.

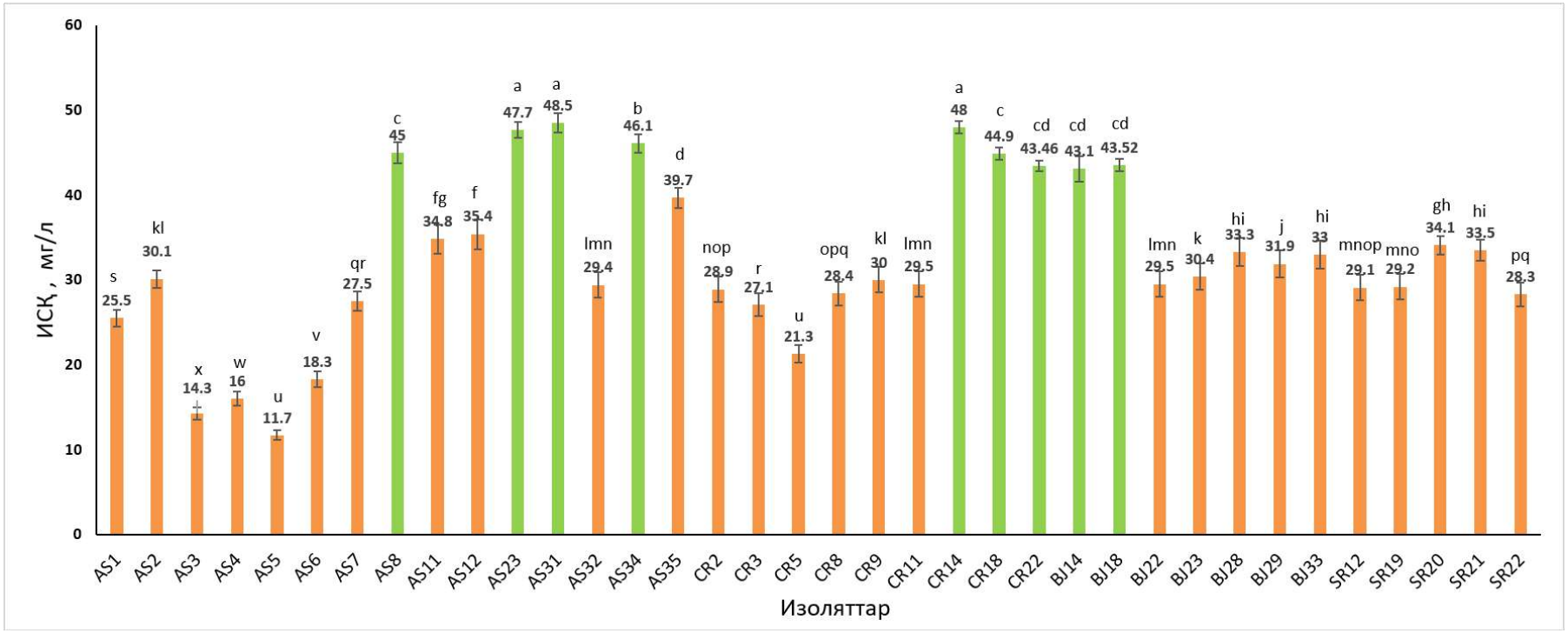
Фосфатты тиімді ерітетін бактериялардың жоғары белсенділігі, әдетте, органикалық қышқылдардың (глюкон, лимон, сүт және басқа қышқылдар) түзілуімен, сондай-ақ фосфатты гидролиздейтін ферменттердің синтезімен байланысты. Мысалы, *Bacillus firmus* MAJ PSB12 штамы кальций фосфатын органикалық қышқылдарды белсенді синтездеу және қоректік ортаның қышқылдануы арқылы тиімді түрде P еріткені көрсетілген, бұл құбылыс микробтық фосфорды солюбилизациялаудың орталық механизмі ретінде кеңінен танылған [179]. Сулейманова және әріптестері [180] *Pantoea agglomerans* және *Pantoea rodasii* штамдарының $Ca_3(PO_4)_2$ бар NBRIP қоректік ортасында фосфатты еріту белсенділігі инкубацияның алғашқы тәуліктерінде айқын көрінетінін атап өткен [181]. Бұл деректер аталған штамдардың ерімейтін фосфор қосылыстарын жылдам еріту қабілетінің жоғары екендігін

және олардың метаболикалық белсенділігінің бастапқы кезеңдерде басым болатынын көрсетеді. Мұндай тиімді солюбилизация, негізінен, органикалық қышқылдардың және фосфатазалық ферменттердің секрециясымен байланысты екені анықталған [179]. Бұл қасиеттер өсімдіктердің фосфорды сіңіруін едәуір жақсартып, ауыл шаруашылығы дақылдарының өсуі мен дамуына оң әсер ететіні дәлелденген [182]. *Pantoea agglomerans* P5 штамы геномының аннотациясы фосфатты еріту үдерісіне қатысатын және глюкон қышқылының биосинтезімен байланысты бірнеше функционалдық гендердің бар екенін көрсетті, бұл аталған штамдардың жоғары солюбилизациялық әлеуетін молекулалық деңгейде негіздейді [161]. Бұл метаболикалық механизмдер ризосферада pH-тың төмендеуіне және фосфор қосылыстарының биожетімділігінің артуына ықпал етіп, өсімдіктің минералдық қоректенуін және өнімділігін жақсартады. Алынған нәтижелер фосфатты тиімді ерітетін бактериалдық изоляттардың жоғары агроэкологиялық әлеуетке ие екенін және оларды биологиялық инокулянттар ретінде қолданудың орынды екенін көрсетеді.

3.1.2 Микробтық изоляттардың индол-3-сірке қышқылын синтездеу қабілетін зерттеу

Ризобактериялардың өсімдіктердің өсуін ынталандыру қабілетін бағалауда олардың фитогормондар, әсіресе индол-3-сірке қышқылын (ИСҚ) синтездеу белсенділігі маңызды көрсеткіштердің бірі болып табылады. ИСҚ - ауксиндік белсенділігі бар фитогормон, ол жасуша бөлінуі мен созылуын, тамырдың бастапқы өсуін, бүйір тамырлардың түзілуін және тамыр түктерінің дамуын реттейді. Ризобактериялар ИСҚ-ны негізінен триптофанға тәуелді және триптофанға тәуелсіз метаболизм жолдары арқылы түзеді; ризосферадағы өсімдік тамырларының экссудаттарындағы триптофан бактериялардың ИСҚ синтезі үшін маңызды алғышарт бола алады [183,184].

Бактериялар түзетін ИСҚ тамыр жүйесінің архитектурасын өзгертіп, тамырдың ұзындығын, бүйір тамырлар санын және сіңіру бетін арттырады. Мұндай өзгерістер өсімдіктің топырақтан су мен қоректік элементтерді, әсіресе фосфор, азот және микроэлементтерді тиімдірек сіңіруіне ықпал етеді. Сонымен қатар, ИСҚ өндіретін ризобактериялар құрғақшылық, тұздылық және ауыр металдармен ластану сияқты абиотикалық стресстерге өсімдіктердің төзімділігін арттырады. Жүгеріде PGPR штаммдарымен тұқым өңдеу тамыр мен сабақтың ұзындығын, құрғақ биомассасын, тамырдың сіңіру бетін және N, P мөлшерін айтарлықтай арттырғаны көрсетілген. Сондықтан ИСҚ өндіру белсенділігі перспективалы ризобактерия штаммдарын іріктеудің маңызды скринингтік критерийі болып саналады [184,185].



Ескертпе: Бағандар үстіндегі әртүрлі әріптер изоляттардың ИСҚ өндіру қабілеті арасындағы статистикалық мәнді айырмашылықтарды көрсетеді ($p<0,001$).

Сурет 13- Изоляттардың ИСҚ синтездеу белсенділігі

13-суретте алғашқы скринингтен өткен 36 бактериалды изоляттардың ИСҚ өндіру белсенділігінің салыстырмалы профилінде суреттегі жасыл түсті бағандар белсенділігі ең жоғары, перспективті штамдарды көрсетеді; қызғылт сары түсті бағандар белсенділігі төмен штамдарды білдіреді.

Талдау нәтижелері бойынша ИСҚ концентрациясы изоляттар арасында айтарлықтай өзгеріп**,** 11,7-48,5 мг·л$^{-1}$ аралығында ауытқыды, бұл штамдардың ауксин синтездеу қабілетінің жоғары деңгейдегі вариабельділігін айқындайды. ИСҚ өндірудің ең төмен көрсеткіші AS5 штамында тіркелді (11,7 мг·л$^{-1}$), ал салыстырмалы түрде төмен деңгей AS3 (14,3 мг·л$^{-1}$), AS4 (16,0 мг·л$^{-1}$) және AS6 (18,3 мг·л$^{-1}$) изоляттарында байқалды. Көпшілік изоляттарда ИСҚ синтезі орташа диапазонда (шамамен 25-35 мг·л$^{-1}$) қалыптасып, олардың стандартты қоректік орта жағдайында тұрақты метаболикалық белсенділік көрсететінін дәлелдейді. Ең жоғары ауксин өндіру қабілеті AS31 (48,5 мг·л$^{-1}$), CR14 (48 мг·л$^{-1}$), AS23 (47,7 мг·л$^{-1}$) және AS34 (46,1 мг·л$^{-1}$) штамдарында анықталды. Аталған изоляттар ИСҚ синтезі бойынша өзгелерден статистикалық тұрғыдан сенімді түрде басым түсіп ($p \leq 0,05$), олардың фитогормондық белсенділігі жоғары екенін көрсетті. Сонымен қатар AS8 (45 мг·л$^{-1}$), CR18 (44,9 мг·л$^{-1}$) және CR22 (43,46 мг·л$^{-1}$), BJ14 (43,1 мг·л$^{-1}$), BJ18 (43,52 мг·л$^{-1}$), штамдары да жоғары деңгейдегі ауксин синтезімен ерекшеленді.

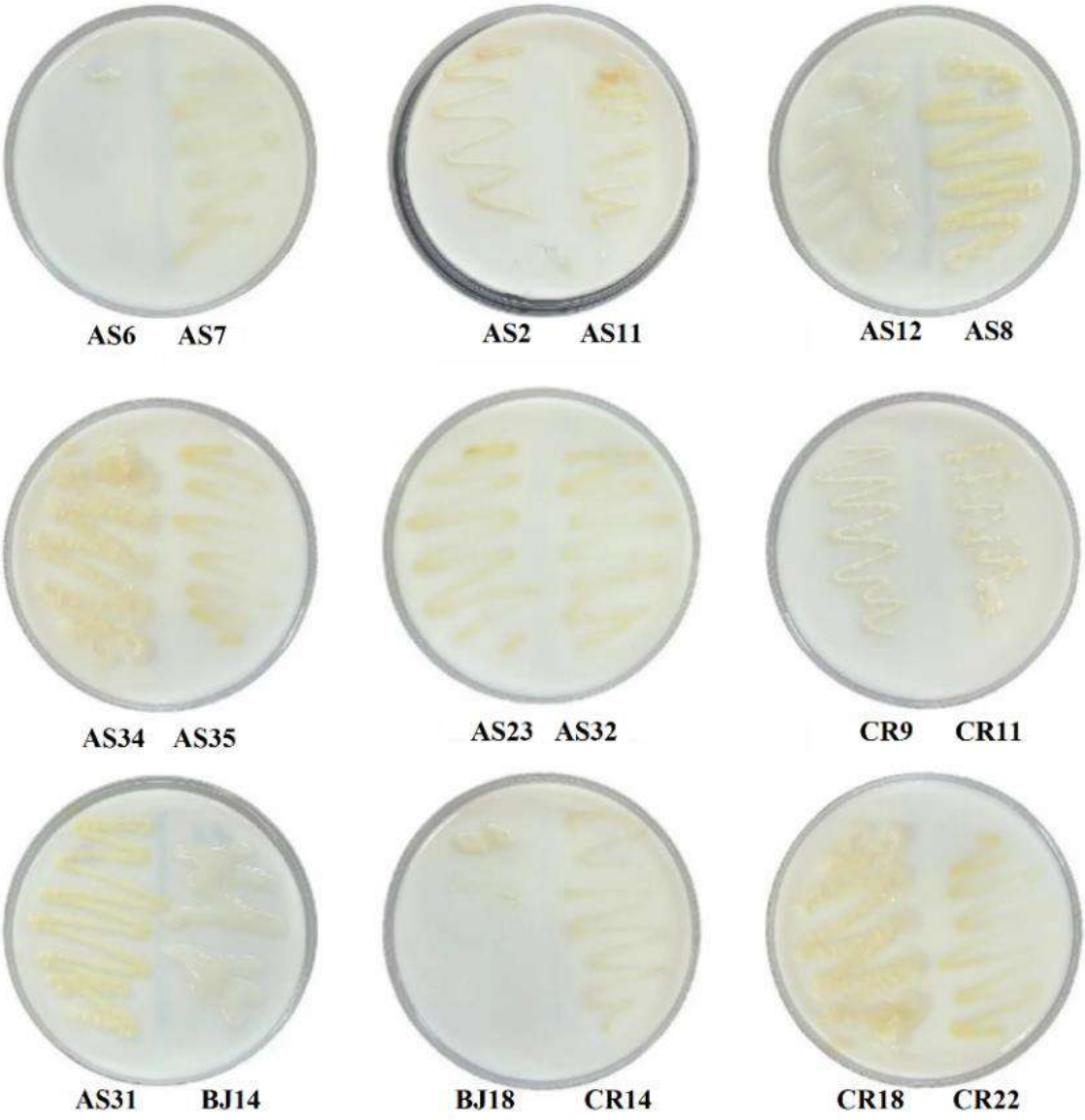
Статистикалық өңдеу нәтижелері зерттелген изоляттар арасында ИСҚ мөлшері бойынша сенімді айырмашылықтардың бар екенін көрсетті ($p<0,001$). Бұл изоляттардың индол-3-сірке қышқылын синтездеу белсенділігі әртүрлі екенін және олардың фитогормондық белсенділік деңгейі бойынша айқын жіктелетінін дәлелдейді.

Алынған нәтижелер ИСҚ өндіруші бактериялардың өсімдік өсуін жеделдетудегі және стресс жағдайларына төзімділігін арттырудағы маңызын көрсеткен алдыңғы зерттеулермен үйлеседі [186]. Әдетте ИСҚ өндіру деңгейінің 50 мг·л$^{-1}$ шамасына жуық болуы жоғары көрсеткіш ретінде бағаланады, себебі көптеген ризосфералық изоляттар көбіне 10-50 мг·л$^{-1}$ аралығында ғана ауксин түзеді. Салыстырмалы деректер ӨЫР арасында ИСҚ өндіру деңгейінің едәуір өзгермелі екенін көрсетеді. *Streptomyces* туысына жататын штамдар оңтайландырылған жағдайда 50-130 мг·л$^{-1}$ деңгейінде ИСҚ өндіре алса [187], кейбір *Klebsiella* изоляттары 56 мг·л$^{-1}$-ге дейін, көптеген *Pseudomonas* spp. штамдарында бұл көрсеткіш 10-50 мг·л$^{-1}$ шегінде болады [188,189]. Yan және т.б. (2024) [190] *S. marcescens* Lnkb100 штамы өндірген ИСҚ мөлшері шамамен 10,24 мг·л$^{-1}$-ге дейін жинақталып, қонақ өсімдікте (соргода) *Fusarium graminearum*-ға қарсы қорғаныс реакцияларын күшейткенін дәлелдеді. Бактериялық ИСҚ тек өсу стимуляторы ғана емес, сонымен қатар индукцияланған жүйелік төзімділіктің маңызды медиаторы екенін айқындайды. Ризобактериялардың өсімдікке тигізетін оң әсері фитогормондармен шектелмейді - азот айналымы мен аммиак синтезі де өсімдіктің қоректік балансын қамтамасыз етудегі маңызды физиологиялық механизмдер болып табылады. Осыған орай, зерттеудің келесі кезеңінде бөліп

алынған изоляттардың атмосфералық азотты биологиялық бекіту және аммиак өндіру қабілеттері бағаланды.

3.1.3 Изоляттардың атмосфералық азотты бекіту және аммиак түзу қабілетін анықтау

Азот өсімдіктің өсуі мен дамуы үшін аса маңызды макроэлемент болғанымен, топырақтағы минералдық азоттың жетіспеушілігі жағдайында тек диазотрофты бактериялар ғана атмосферадағы молекулалық азотты (N_2) өсімдікке қолжетімді формаға айналдыра алады. Осы қасиет ризобактерияларды химиялық азот тыңайтқыштарының биологиялық баламасы ретінде қарастыруға негіз береді. Бөліп алынған изоляттардың осы қабілетін бағалау мақсатында азотсыз қоректік ортада (N-free medium) өсу белсенділігі тексерілді.

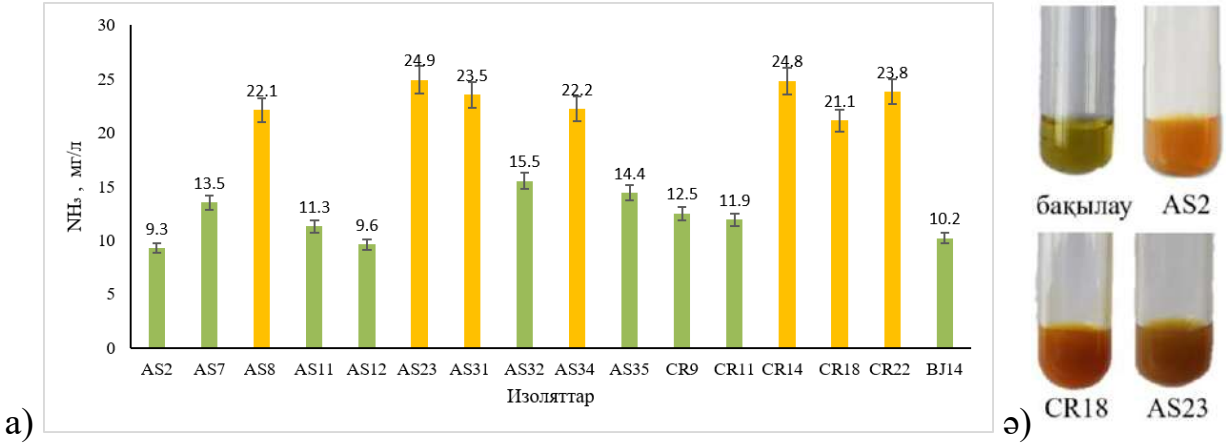


Сурет 14 - Бактериялардың азотты (N_2) бекіту белсенділігі.

14-суретте азотсыз қоректік ортада (N-free medium) егілген тек атмосфералық азотты фиксациялауға қабілетті изоляттар көрсетілген. Изоляттар зигзаг әдісімен штрихталып егілді және 7 тәулік инкубациядан кейін өсу қарқындылығы бойынша бағаланды. Зерттелген изоляттардың ішінен тек 18-і атмосфералық азотты (N_2) фиксациялау қабілетін көрсетті. Дегенмен, AS6 және BJ18 штамдары әлсіз азотфиксациялаушы белсенділікпен сипатталды: олар 7 тәулік бойы қоректік ортада өте баяу өсті, колониялар сирек, түсі солғын және даму қарқыны төмен, зиг заг тәрізді сызық бойымен айқын әрі тұрақты колониялық даму байқалмады. Ал қалған 16 изолят атмосфералық азотты тиімді фиксациялай алатынын көрсетті. Бұл олардың қарқынды әрі айқын өсуімен дәлелденді. Мұндай белсенділік аталған изоляттардың азот көзі шектеулі жағдайларда метаболикалық бейімделу қабілетінің жоғары екенін және оларды перспективті азотфиксациялаушы бактериялар ретінде қарастыруға мүмкіндік беретінін растайды. Барлық изоляттар азот шектеулі ортаға сәтті бейімделу қабілетін көрсеткеніне қарамастан, олар колония морфологиясында айтарлықтай айырмашылықтарды көрсетті [191].

Азотсыз қоректік орталарда жүргізілген ұқсас скринингтік зерттеулер топырақ изоляттары арасында N_2 фиксациялау қабілетінің айқын өзгермелі болатынын растаған. Азотпен шектелген қатты немесе жартылай қатты ортада өсуі диазотрофтық әлеуеттің бастапқы фенотиптік көрсеткіші ретінде қарастырылады. Әдетте мұндай бастапқы бағалау кейіннен *nifH* генін анықтау немесе ацетиленді редукциялау сынамасы сияқты молекулалық және биохимиялық әдістермен нақтыланады [192]. Terpolini мен әріптестерінің [193] зерттеуінде азотсыз ортаға тікелей егу әдісі арқылы Амазонка топырағынан әртүрлі еркін тіршілік ететін диазотрофтар бөлініп алынған. Анықталған изоляттардың 78%-ында *nifH* гені табылып, 39%-ы ацетиленді редукциялау белсенділігін көрсеткен. Бұл деректер колониялық өсу қарқындылығы мен азот фиксациялау тиімділігі арасында өзара байланыс бар екенін айқындайды және азотсыз ортадағы өсу диазотрофтық әлеуеттің маңызды бастапқы көрсеткіші болып табылатынын дәлелдейді [193].

Биологиялық азот фиксациясы кезінде бактериялар атмосферадағы инертті азотты (N_2) нитрогеназа ферментінің көмегімен аммиакқа (NH_3) айналдырады [191]. Аммиак өндірісі - топырақ бактерияларының органикалық субстраттарды ыдыратуының және азот фиксациялау процесінің жанама көрсеткіші болып табылады. Эшби қоректік ортасында атмосфералық азотты фиксациялау қабілетіне ие 16 изолят іріктеліп, аммиак өндіру қабілетіне зерттелді. Пептон қоректік ортасында 96 сағат өсірілген бактериялық изоляттардың (10^6 КТБ/мл) аммиак өндіру белсенділігі Несслер реактиві көмегімен 450 нм толқын ұзындығында спектрофотометриялық талдау арқылы анықталды.



Сурет 15 - Бактериялық изоляттардың аммиак өндіру белсенділігі: (а) NH_3 концентрациясы (мг/л); (ә) Несслер реакциясының визуалды нәтижелері.

15 суретте зерттелген ризобактериялардың органикалық азотты минералдандыру қабілетін айқындайтын аммиак (NH_3) өндірісінің нәтижесі көрсетілді. Суреттегі қызғылт сары түсті бағандар белсенділігі ең жоғары, перспективті штамдарды көрсетеді; жасыл түсті бағандар белсенділігі төмен штамдарды білдіреді. Статистикалық өңдеу нәтижелері зерттелген изоляттар арасында аммиак (NH_3) түзу деңгейі бойынша сенімді айырмашылықтардың бар екенін көрсетті ($p<0,001$). Алынған нәтиже аммиак синтезі көрсеткішінің өзгергіштігін іс жүзінде толық түсіндірді. Бұл зерттелген штамдардың аммонификациялау белсенділігі бірдей емес екенін және олардың функционалдық қасиеттері бойынша айқын жіктелетінін дәлелдейді.

Талдау нәтижелері бойынша аммиак концентрациясы 9.3 мг/л-ден 24.9 мг/л аралығында ауытқыды. Бұл көрсеткіштер бойынша изоляттардың функционалдық белсенділігі үш деңгейге жіктелді:

Жоғары белсенділік: Бұл топқа 22-25 мг/л аралығында аммиак жинақтаған AS23 (24.9 мг/л), CR14 (24.8 мг/л), CR22 (23.8 мг/л) және AS31 (23.5 мг/л) штамдары енді. Несслер реагентін қосқанда бұл изоляттарда түстің қарқынды қоңыр-қызылға өзгеруі байқалды (15-сурет, AS23) [194]. Ре және басқаларының (2021) зерттеуінде *P. agglomerans* ризосферада 42-58 мг/л NH_4^+ өндіреді. *Bacillus* туының эндофиттік штамдары да осы деңгейді (23-25 мг/л) растайды [195].

Орташа белсенділік: Бұл санатқа AS34 (22.2 мг/л), AS8 (22.1 мг/л) және CR18 (21.1 мг/л) сияқты изоляттар жатқызылды және сапалық талдау бойынша Несслер реактивін қосқанда қоңыр-қызыл түске боялды (15-сурет, CR18). Олардың көрсеткіштері тұрақты аммонификация процесін сипаттайтын *Serratia* туысы мен тұрақты протеолизбен сипатталатын *Stenotrophomonas* туыс өкілдеріне тән (11-21 мг/л) көрсетеді [196].

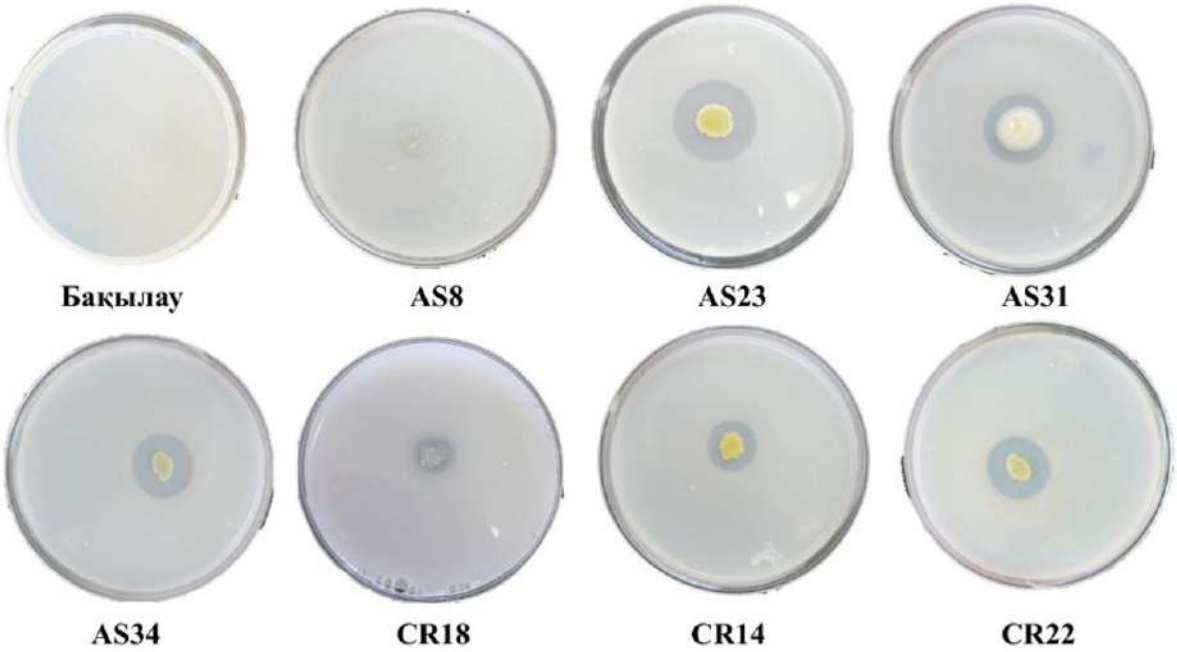
Төмен белсенділік 15 мг/л-ден төмен болған AS12 (9.6 мг/л), AS2 (9.3 мг/л) және BJ14 (10.2 мг/л) изоляттары. Сапалық талдау негізінде аммоний өндірісі бойынша төмен белсенділік көрсеткен изоляттар 15-суретте AS2 мысалында ашық қоңыр-қызыл түске ие болды. Бұл типтік әлсіз

аммонификациялаушыларға ұқсас: *Pseudomonas spp.* (8-14 мг/л), *Acinetobacter spp.* (7-12 мг/л), *Burkholderia cepacia* (10-13 мг/л) [197]. Аммиак өндірісінің жоғары деңгейі бактериялардың аминқышқылдарын дезаминизациялау қабілетіне тікелей байланысты. Бұл процесс топырақтағы азот циклінде маңызды рөл атқарады, өйткені бөлінген аммиак тамыр аймағында аммоний иондарына айналып, өсімдік үшін тікелей қорек көзіне айналады [54,198,199].

Жүргізілген скрининг нәтижесінде ризобактерия изоляттарының фитостимуляциялық қасиеттері бойынша айқын айырмашылықтар анықталды. ИСҚ синтезі, фосфаттарды солюбилизациялау, азот фиксациясы және аммоний өндіру белсенділіктерін кешенді бағалау негізінде жоғары белсенділік көрсеткен 7 изолят іріктеліп, мультифункционалды изоляттар ретінде анықталды. Келесі кезеңде іріктелген изоляттардың мырышты (Zn) солюбилизациялау қабілеті зерттелді.

3.1.4 Цинкті мобилизациялау белсенділігін бағалау

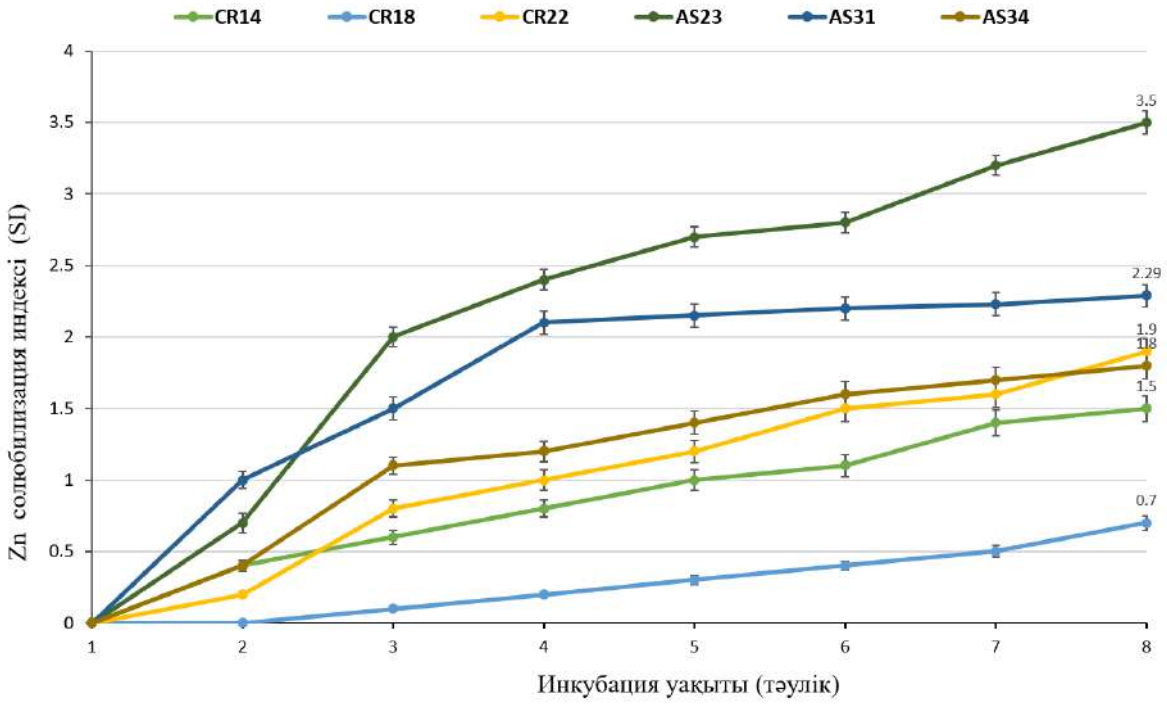
Топырақта цинк көп мөлшерде өсімдікке сіңбейтін, ерімейтін қосылыстар түрінде кездеседі. Осы мәселені биологиялық жолмен шешу үшін ерімейтін цинкті органикалық қышқылдар бөлу арқылы өсімдікке қолжетімді формаға айналдыратын цинк-солюбилизациялаушы ризобактерияларды зерттеу мен іріктеу өте өзекті. Зерттелетін изоляттардың цинкті еріту қабілетін зерттеу екі бағытта - сапалық және сандық талдау - жүргізіліп, нәтижелер өзара толықтырылды. Іріктелген жеті изоляттың мырышты (Zn) солюбилизациялау қабілетін бағалау модификацияланған Бунт және Ровира (B&R) қоректік ортасында жүргізілді.



Сурет 16 - Ризобактерия изоляттарының цинкті еріту қабілеті.

Сапалық бағалау барысында 16-суретте ризобактериялар ZnO қосылған қоректік ортада колония айналасында мөлдір еріту аймақтарын (halo zone)

қалыптастырды. Аймақтардың пайда болуы бактериялардың органикалық қышқылдар мен протондар бөлу арқылы ерімейтін мырыш қосылыстарын еріткіш формаға айналдыра алатынын тікелей дәлелдейді. Еріту аймақтарының диаметрі изоляттар арасында өзгеріп отырды, бұл олардың солюбилизациялау белсенділігінің деңгейі бірдей еместігін көрсетеді. AS23, AS31 және CR22 изоляттары колония айналасында айқын да кең көлемді мөлдір аймақ қалыптастырып, ең жоғары мобилизациялау әлеуетін көрсетті. Ал AS34 және CR14 изоляттары орташа деңгейдегі белсенділік танытса, CR18 штамдарында еру аймағының нашар дамуы олардың цинкті еріту механизмдерінің төмендігін көрсетті. Ал AS8 изоляты тәжірибе барысында мырыш оксидін еріту қабілетін көрсетпеді.



Сурет 17 -Изоляттардың мырышты (Zn) еріту қабілеті динамикасы ($p<0,001$).

17-суреттегі сандық бағалау үшін солюбилизация индексі (SI) есептеліп, оның инкубация уақыты бойынша өзгеру динамикасы бақыланды. SI мәндерінің уақыт өткен сайын артуы бактериялардың мырышты мобилизациялау белсенділігінің тұрақты және үдемелі сипатта екенін растайды. ANOVA нәтижелері инкубация ұзақтығы, изолят түрі және олардың өзара әрекеттесуінің мырышты (Zn) еріту қабілетіне статистикалық тұрғыдан жоғары әсер ететінін көрсетті ($p<0,001$). AS31 изоляты инкубацияның алғашқы үш тәулігінде солюбилизация индексінің экспоненциалды өсуін көрсеткенімен, кейінгі кезеңде оның белсенділігі біршама тұрақтанып, тәжірибе соңында SI=2.29 деңгейінде қалыптасты. Бұл көрсеткіш *Bacillus, Burkholderia* және *Acinetobacter* сияқты тиімді ӨӨЫР бактериялары үшін хабарланған көрсеткіштермен қатар деңгейде болды [130,200].

Tukey HSD нәтижелері бойынша AS23 изолятының Zn еріту белсенділігі CR18-ге қарағанда 2,157 бірлікке жоғары болды ($p<0,001$), сондай-ақ AS23 пен

AS31 арасында статистикалық мәнді айырмашылық анықталды (0,547; p=0,015), бұл AS23 изолятының мырышты солюбилизациялау қабілетінің жоғары (SI = 3.50) екенін көрсетті. Ал AS34 тұрақты PGP қасиетін (SI ≈ 2.3) сақтады.

Әдебиеттегі деректер бойынша *Serratia nematodiphila* RGK штамы фосфор мен мырышты еріту қабілеті жоғары екені анықталып, жылыжай тәжірибелерінде куркума өсімдігінің тамырсабақ биомассасын айтарлықтай арттырған [201]. Ал цинк мобилиздеуші *Pantoea agglomerans* және *Pantoea rodasii* штамдарымен инокуляция жүргізілген жағдайда күріштің өнімділігі айтарлықтай артатыны анықталған [180,202,203].

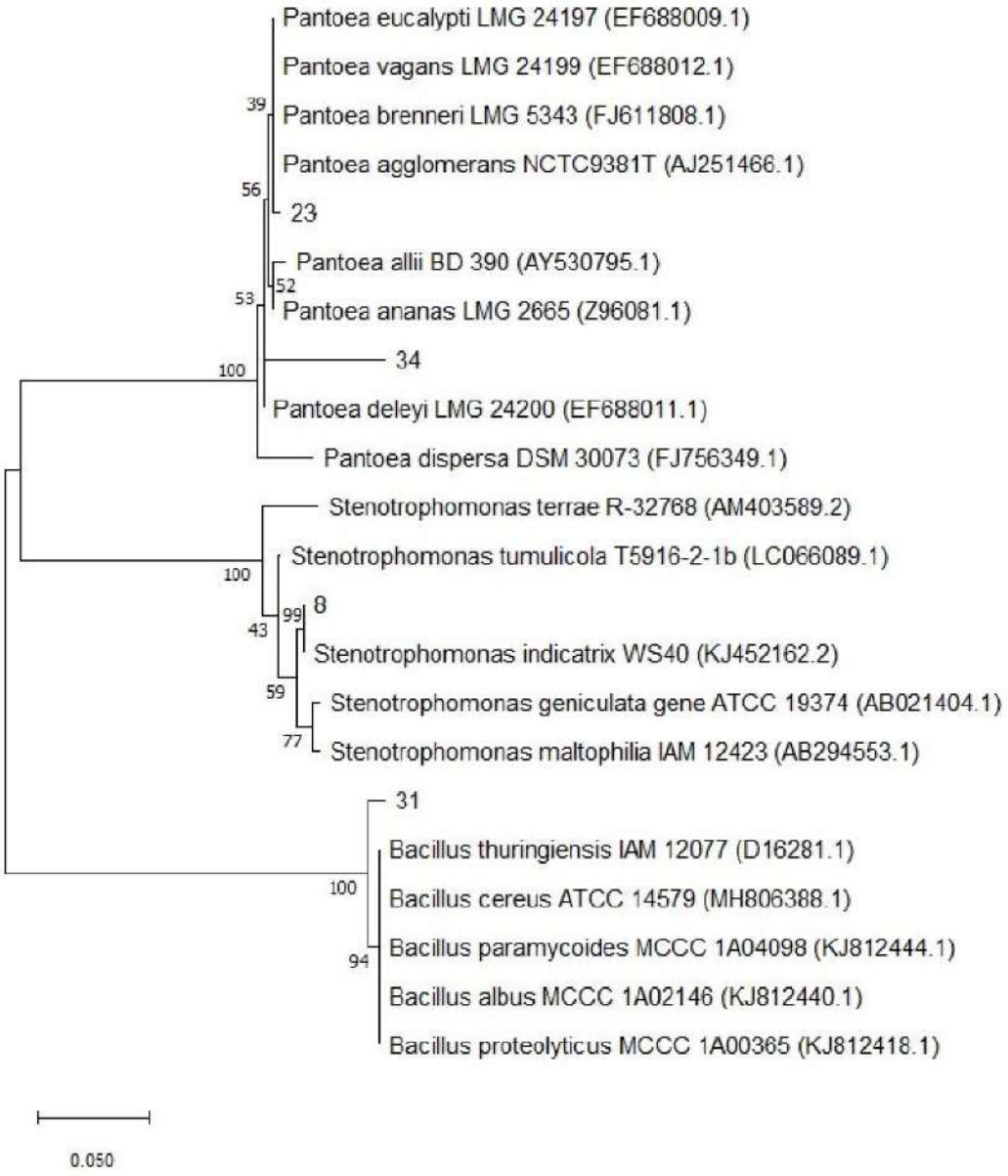
Мырышты мобилизациялау қабілетінің анықталуы іріктелген изоляттардың топырақтағы микроэлементтер айналымына белсенді қатыса алатынын көрсетті. Іріктелген изоляттардың филогенетикалық орнын айқындау және әрі қарай қолдану мүмкіндігін бағалау мақсатында келесі кезеңде изоляттардың генетикалық идентификациясы жүргізілді.

3.1.5 Изоляттардың генетикалық идентификациясы

Зерттеу барысында скрининг нәтижелері бойынша өсімдіктің өсуін ынталандыру белсенділігі жоғары изоляттар іріктеліп алынды. Іріктелген микроорганизмдердің түрлік деңгейдегі таксономиялық тиесілілігін нақтылау және олардың филогенетикалық өзара байланысын анықтау мақсатында молекулалық-генетикалық талдау жүргізілді.

Бактериялардың таксономиялық сәйкестендіруінде 16S rRNA гені кеңінен қолданылатын молекулалық маркер болып табылады, себебі оның құрамында әртүрлі таксондар арасындағы эволюциялық арақатынастарды көрсететін консервативті және гиперөзгергіш аймақтар бар. Бұл геннің ұзындығы шамамен 1500 жұп негізді (bp) құрайды және оның консервативті аймақтары әртүрлі бактерия топтарына арналған әмбебап праймерлерді жобалауға мүмкіндік берсе, өзгергіш аймақтары түрлер мен штаммдар арасындағы айырмашылықтарды анықтауға қолданылады [204,205].

Зерттеу барысында скринингтен өткен 7 изоляттың таксономиялық тиесілілігін анықтау мақсатында 16S rRNA генінің нуклеотидтік тізбектері анықталып, олардың нәтижелері GenBank референс базасындағы тиісті тізбектермен салыстырылды. Алынған тізбектер негізінде филогенетикалық ағаш құрылып, зерттелген изоляттардың белгілі бактерия түрлерімен туыстық деңгейі және филогенетикалық топтасуы анықталды. 16S rRNA тізбегінің ұқсастығы 98,65-99% және одан жоғары болған жағдайда изоляттарды белгілі бір түрге жатқызу мүмкіндігі жоғары болады, алайда жақын туыс түрлерді дәл ажырату үшін қосымша геномдық талдаулар қажет болуы мүмкін.



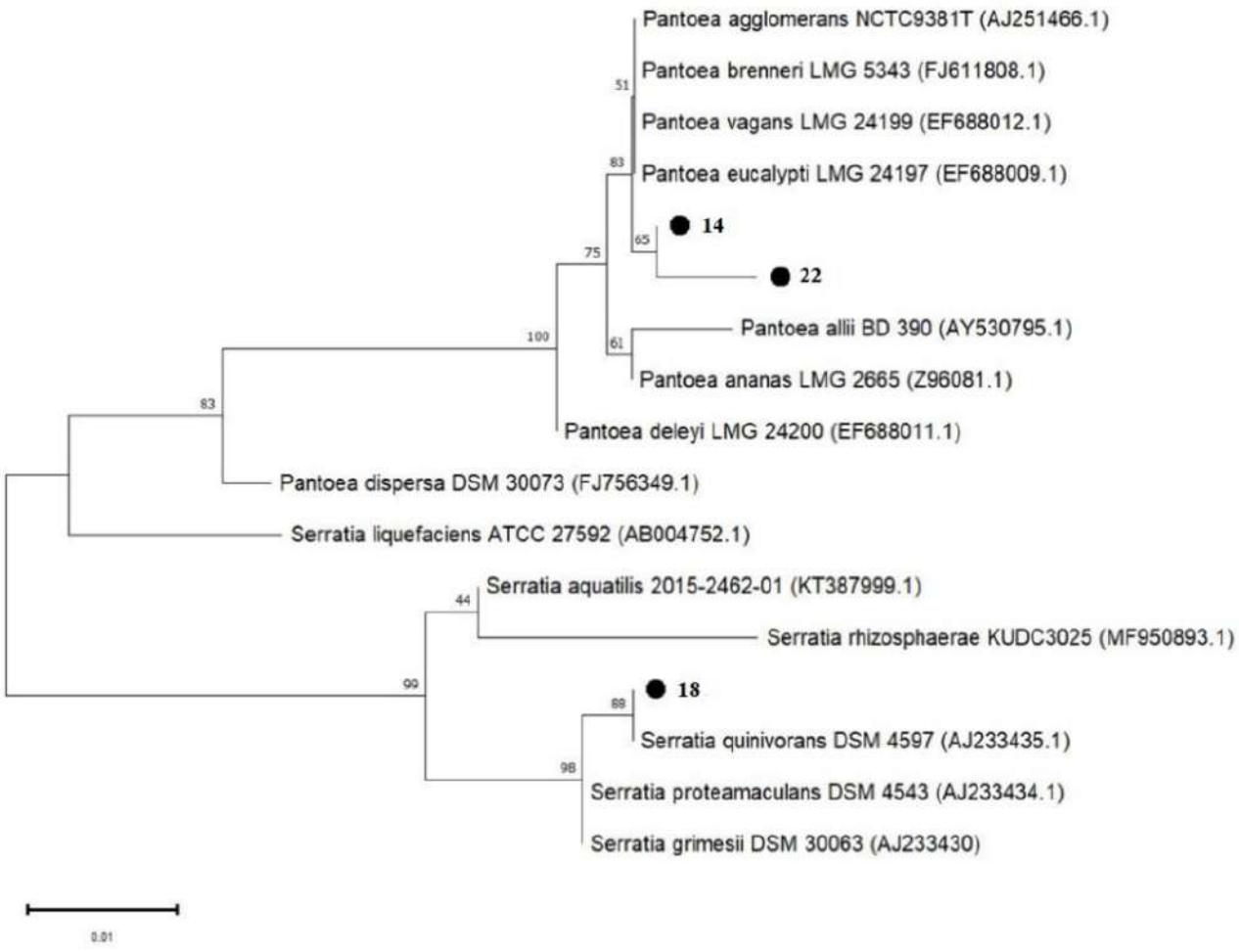
Сурет 18 - 16S rRNA генінің нуклеотидтік тізбектеріне негізделген бактериялық изоляттардың филогенетикалық ағашы.

Филогенетикалық ағаш құрылымы бойынша жоғарғы бөлігінде орналасқан кластер *Pantoea* туысына жататын түрлерді біріктіреді. Бұл топта *Pantoea eucalypti LMG 24197, Pantoea vagans LMG 24199, Pantoea agglomerans NCTC9381T* және басқа да түрлер бір кластерге жоғары bootstrap мәндерімен топтасқан. Бұл көрсеткіштер олардың генетикалық тұрғыдан бір-біріне жақын екенін дәлелдейді. Ортаңғы бөлікте *Stenotropomonas* туысының өкілдері орналасқан: *Stenotropomonas indicatrix, Stenotropomonas maltophilia* және *Stenotropomonas tumulicola* түрлері бір тармаққа бірігіп, 99-100 деңгейіндегі bootstrap қолдауымен бекітілген.Төменгі бөлігінде *Bacillus* туысына жататын түрлер жеке кластер түзген. Мұнда *Bacillus thuringiensis, Bacillus cereus, Bacillus paramycoides* және басқа жақын түрлер 94-100 bootstrap мәндерімен топтасқан. Филогенетикалық ағаштағы бұтақ ұзындықтары (масштаб 0.050) нуклеотидтік алшақтық деңгейін көрсетеді, ал жоғары bootstrap мәндері (≥94-100) алынған кластерлердің сенімділігін айғақтайды.

Кесте 7 - Ризобактерия штамдарының 16S rRNA идентификация нәтижелері

№	Шартты атау	Штамм атауы	Тіркеу нөмірі	Сәйкестік
1	AS8	*Stenotropomonas indicatrix*	MG273677	100%
2	AS23	*Pantoea agglomerans*	MK350312	98,7%
3	AS31	*Bacillus thuringiensis*	ON329202	98,5%
4	AS34	*Pantoea vagans*	MH537739	99,7%
5	CR14	*Pantoea agglomerans*	CP068440	100%
6	CR18	*Serratia quinivorans*	JN859195	99,93%
7	CR22	*Pantoea* spp.	OM095341	99,6%

Алынған нәтижелер молекулалық-генетикалық тұрғыдан сәйкестікті толық растайды және 16S rRNA гені негізіндегі таксономиялық идентификацияның дұрыстығын дәлелдей отырып, 7-кестеде берілген 16S rRNA идентификация нәтижелері бойынша AS8 штамы *Stenotropomonas indicatrix* түрімен, AS23 штамы *Pantoea agglomerans* түрімен, AS31 штамы *Bacillus thuringiensis*, ал AS34 штамы *Pantoea vagans* түрімен сәйкестікті құрады.



Сурет 19 - 16S rRNA генінің нуклеотидтік тізбектеріне негізделген бактериялық изоляттардың филогенетикалық ағашы.

Ұқсас молекулалық-филогенетикалық талдау 19-суретте көрсетілген.Филогенетикалық ағаш бойынша CR14 және CR22 изоляттары *Pantoea* туысына жататын кластерге топтасып, *Pantoea eucalypti LMG 24197* және *Pantoea vagans LMG 24199* түрлерімен жоғары деңгейдегі генетикалық ұқсастық танытты. Ал CR18 изоляты *Serratia* туысына жататын кластерде орналасып, *Serratia quinivorans DSM 4597* және *Serratia proteamaculans DSM 4543* түрлерімен филогенетикалық тұрғыдан жақын байланыс көрсетті.

Жұптық нуклеотидтік тізбектерді салыстыру нәтижелері филогенетикалық талдауды растады: CR14 штамы *Pantoea agglomerans* түрімен, CR18 штамы *Serratia quinivorans* түрімен ұқсастыққа ие болса, CR22 штамы *Pantoea* spp. туысына жататын штаммен сәйкестікке ие болды.

Аталған штамдардың 16S rRNA ген тізбектері халықаралық нуклеотидтік деректер қорына GenBank (National Center for Biotechnology Information) енгізілді: *P. vagans AS34* - PQ670080, *P. agglomerans AS23* - PQ670058.1, *B. thuringiensis AS31* - PQ670040.1, *S. indicatrix AS8* - PQ669679.1, *P. agglomerans* CR14 - PV932893.1, *S. quinivorans* CR18 - PX673922.1, *Pantoea* sp. CR22 - PX673945.1 тіркеу нөмірлерімен жарияланды. Бұл тізбектер зерттелген штамдардың таксономиялық статусын нақтылау үшін референттік дерек көзі ретінде қызмет етеді және ғылыми қауымдастық үшін еркін қолжетімді (7-кесте).

Таңдалған изоляттардың таксономиялық сипаттамасы олардың биоинокулянт ретіндегі функционалдық әлеуетін түсінуге мүмкіндік береді. Бұл таксондардың анықталуы *Pantoea, Stenotropomonas, Serratia* және *Bacillus* туысының өсімдіктердің өсуін ынталандыратын тиімді ризобактериялар (ӨӨЫР) ретіндегі маңыздылығы туралы көптеген ғылыми деректермен сәйкес келеді.

Pantoea штамдарының геномдық талдауы олардың көпфункционалды өсуді ынталандырушы қабілеттерін растайды: глюкозадегидрогеназа *(gcd)* және глюкон қышқылы дегидрогеназасы *(gad)* ферменттері, пирролохинолинхинон кофакторлары *(pqqBDEF)* мен фосфаттардың жоғары аффиндік тасымалдаушылары *(pstBACS, phnE2E1DC)* арқылы жүзеге асатын фосфор солюбилизациясының генетикалық тетіктері бар [211-213].

Stenotrophomonas туысына жататын штамдардың геномдық талдауы бойынша Жао мен әріптестерінің (2024) [209] еңбегінде 213 штамм негізінде құрылған пан-геном 27 186 ген отбасын қамтиды, оның ішінде 710-ы *core*-гендер қатарына жатады. Геномдық аннотация нәтижелері көмірсуларды ыдыратуға жауапты *gh3* целлюлазалары мен *gh2/gh31* гемицеллюлазаларының болуын, орталық метаболизмнің толық гликолиз жолы мен Кребс циклінің сақталғанын көрсетті.

Serratia туысына жататын штамдардың геномдары фитогормон синтезіне және стресс реттеуіне қатысатын гендермен сипатталады: ИСҚ биосинтездеу жолдары, ACC-деаминаза *(acdS)* гені және протеолитикалық ферменттерді кодтайтын гендер анықталған [196,203]. *Serratia grimesii* BXF1 штамының геномы фитотоксиндерге және *hrp/hrc* тип III секрециялық

жүйесіне жауапты гендерге бай екені байқалды. PGP-қасиеттерге байланысты *nifH* (азотфиксация) және *acdS* (этилен деңгейін реттеу) гендерінің болуы өсімдікпен өзара әрекеттесу әлеуетін көрсетеді. β-лактамаза ферменттері мен эффлюкс-сорғыларының гендері антибиотиктерге төзімділік механизмдерін қамтамасыз етеді [196].

Bacillus туысының өкілдерінің геномдық талдауы олардың биобақылау және эндофиттік тіршілікке бейімділігін дәлелдейді [195]. Спора түзу және инсектицидтік токсиндер синтезіне жауапты cry-гендері, азотфиксацияға қатысатын *nifH* кластерлері, фосфонаттарды тасымалдауға жауапты *phnC2DE* гендері, глюкозадегидрогеназа (*gcd)* және фитогормондар биосинтезіне қатысатын *ipt/ptr* гендері табылды [210].

Жалпы алғанда, таңдалған штамдардың геномдық талдауы олардың өсімдіктің өсуін ынталандыруға қатысты функционалдық гендермен жабдықталғанын және биоинокулянт ретіндегі әлеуетін молекулалық деңгейде растайды. *Pantoea, Stenotrophomonas, Serratia* және *Bacillus* туыстарының өкілдері фосфор мобилизациясы, азот фиксациясы, фитогормон синтезі және стресске төзімділік механизмдері бойынша бірін-бірі толықтыратын генетикалық жабдықталғандыққа ие екені зерттеулерде анықталды. Бұл деректер аталған штамдардың топырақта тиімді колонизацияланып, өсімдікпен тұрақты өзара әрекеттесуге қабілетті екенін ғылыми тұрғыдан дәлелдейді.

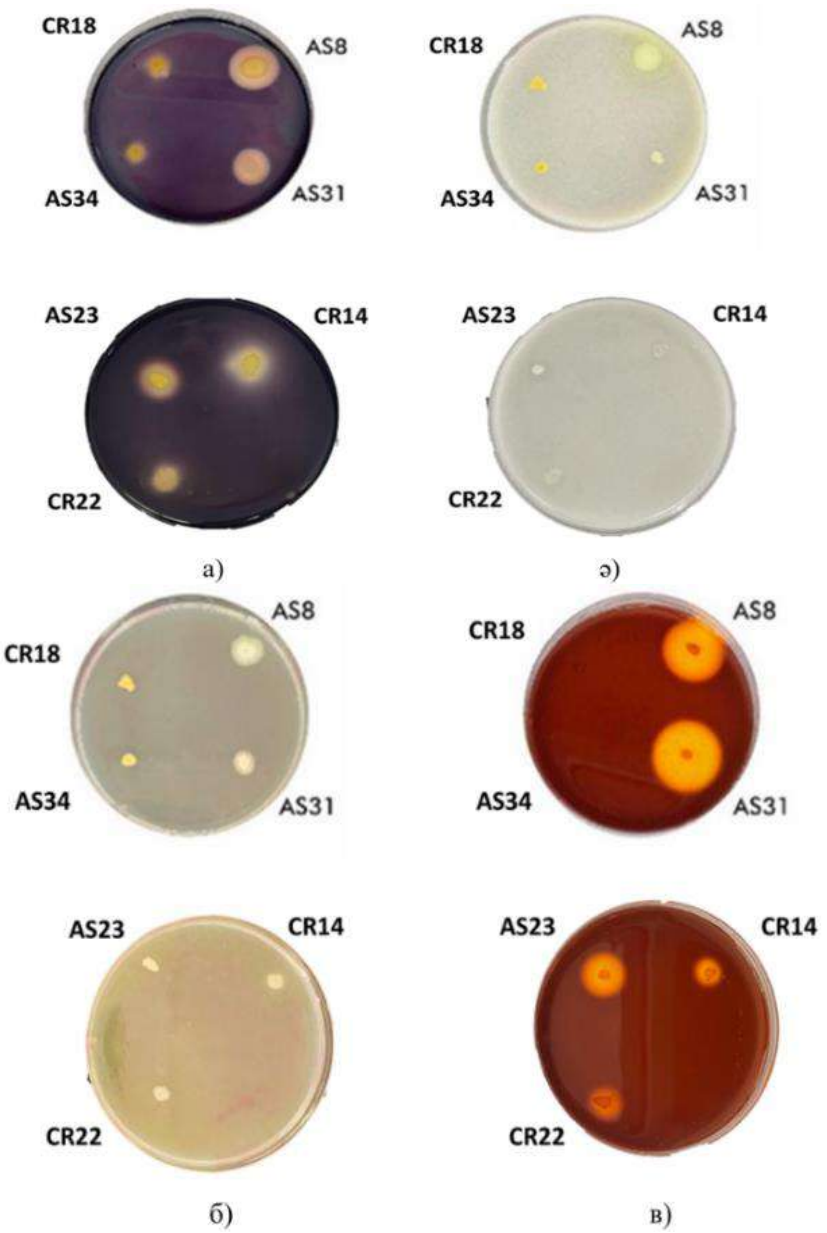
3.2 Микробтық штамдардың биобақылау потенциалын бағалау

3.2.1 Ферментативтік белсенділікті анықтау

Ризобактериялардың патогенді микроорганизмдерге қарсы қорғаныс механизмдерін іске асыру қабілеті олардың функционалдық маңыздылығын айқындайтын басты қасиеттердің бірі болып табылады. Ризобактериялардың биобақылау потенциалы антагонистік әсер, сидерофор синтезі, гидролитикалық ферменттер өндіру арқылы көрінеді. Бұл механизмдерді кешенді зерттеу штамдардың биопрепарат ретіндегі тиімділігін толық бағалауға мүмкіндік береді [211].

Микроорганизмдер синтездейтін гидролитикалық ферменттер, соның ішінде целлюлазалар, протеазалар, липазалар және амилазалар өсімдіктердің өсуін ынталандыру және биобақылау механизмдерінде маңызды рөл атқарады. Олар саңырауқұлақ патогендерінің жасуша қабырғасындағы құрылымдық полимерлерді, патогендердің вируленттігі үшін маңызды ақуыздарды ыдыратады. Нәтижесінде патогенді жасушалардың қабырғасы бұзылып, олардың өсуі, спораланuы және өсімдік тіндеріне енуі тежеледі. Сидерофорлар ризобактериялардың темірді тиімді сіңіруін қамтамасыз етіп, патогендердің темір алу мүмкіндігін шектейді. Темір тапшылығы жағдайында сидерофор өндіретін ӨӨЫР штаммдары патогендік саңырауқұлақтар мен бактериялардың көбеюін тежеп, ризосферадағы микробиота құрамын реттеуге

ықпал етеді. Бұл екі жақты әрекет патогендердің көбеюін тежеп қана қоймай, өсімдіктің жалпы денсаулығын жақсартады [212,213].



Сурет 20 - Штамдардың ферменттік белсенділігін скринингтік бағалау нәтижелері: а) амилолитикалық; ә) протеолитикалық; б) липолитикалық; в) целлюлозалитикалық белсенділік.

Зерттеу нәтижелері бойынша 20а-суретте амилолитикалық белсенділік крахмалдың ферментативті гидролизі нәтижесінде колониялар айналасында түссіз аймақтардың түзілуімен дәлелденді. Зерттелген 7 штамның барлығы белгілі бір деңгейде амилолитикалық белсенділік көрсетті. Амилаза ферменттері крахмал мен басқа күрделі көмірсуларды глюкоза және мальтоза сияқты қарапайым қосылыстарға дейін ыдыратып, ризосферадағы көміртек айналымына қатысады. Сонымен қатар мұндай бактериялар тұқым өнуі кезінде өсімдіктің энергиямен қамтамасыз етілуін жақсартып, тамыр жүйесінің жылдам қалыптасуына ықпал етеді.

20ә-суреттегі протеолитикалық белсенділік бойынша ақуыздардың гидролизі нәтижесінде колониялар айналасында мөлдір аймақтардың пайда болуы протеаза ферменттерінің түзілуін көрсетеді. Нәтижелер бойынша зерттелген штамдардың ішінде тек *S. indicatrix AS8* штамы протеолитикалық белсенділік көрсетті, оның ферментативтік индексі 1,04 ± 0.09 болды. Қалған штамдарда ақуыз гидролизінің айқын белгілері байқалмады. Протеазалар ақуыздарды амин қышқылдары мен пептидтерге гидролиздеп, топырақтағы қоректік зат айналымын жақсартады, сондай-ақ патогендердің ақуыз құрылымдарын бұзып, олардың қызметін және жоғары тіршілік ету қабілетін төмендетеді [214]. Бұл өсімдіктің қорғаныс механизмдерін күшейтіп, топыраққа байланысты ауруларды тежеп, өсімдіктің өсуін қолдайды [215].

Кесте 8 - Штамдардың гидролитикалық ферменттер белсенділігі және ферментативтік индексі

Штамм	Амилолитикалық белсенділік (M ± SE)	Протеолитикалық белсенділік (M ± SE)	Липолитикалық белсенділік (M ± SE)	Целлюлозалитикалық белсенділік (M ± SE)
AS8	2,61 ± 0,31	1,04 ± 0,09	2,15 ± 0,03	2,76 ± 0,14
AS23	1,96 ± 0,26	-	0 ± 0	2,40 ± 0,11
AS31	2,38 ± 0,19	-	1,57 ± 0,09	2,83 ± 0,17
AS34	1,06 ± 0,32	-	0 ± 0	-
CR14	2,31 ± 0,17	-	1 ± 0,09	1,25 ± 0,37
CR18	1,3 ± 0,32	-	-	-
CR22	1,28 ± 0,26	-	-	1,13 ± 0,10
p-value	p < 0,05	-	p <0,001	p <0,001

8 кесте негізінде липолитикалық белсенділік липидті субстраттар қосылған ортада колониялар айналасында бұлыңғырлану аймағы байқалып, май тәрізді қосылыстардың ферментативті гидролизге ұшырағанын тек *S. indicatrix* AS8, *B. thuringiensis* AS31 және *P. agglomerans* CR14 штамдарында анықталды (20б-сурет, 8-кесте). Липазалар липидтерді май қышқылдары мен глицеролға ыдыратады, бұл топырақтағы органикалық заттардың ыдырауын және қоректік зат айналымын жақсартады [216]. Липазалардың тікелей биобақылау рөлі целлюлазалар мен протеазаларға қарағанда аз байқалса да, олар жасуша мембраналарындағы липид компоненттерін гидролиздеу арқылы патогендерді тежейді, құрылымдық зақым келтіріп, жасушаларды лизиске ұшыратады [217]. Осы ферменттің жанама әрекетін ескере отырып, *S. indicatrix AS8* және *B. thuringiensis AS31* сияқты ризобактериялардың липазалық белсенділігі топыраққа қоректік заттардың баяу шығуын жақсартып, микроб-сорбент кешендері ретінде ұзақ мерзімді қолдануға ыңғайлы болуы мүмкін.

Целлюлоза гидролизі нәтижесінде колониялар айналасында ашық аймақтардың пайда болуы целлюлаза ферменттерінің бөлінуін көрсетеді. Зерттелген 7 штамның ішінде 5 штамм целлюлолитикалық белсенділік

көрсетті (20в -сурет). Ең жоғары көрсеткіш *B. thuringiensis* AS31 штамында байқалды. Сонымен қатар жоғары белсенділік *S. indicatrix* AS8 және *P. agglomerans AS23* штамдарында тіркелді. *P. agglomerans* CR14 және *Pantoea* sp. CR22 штамдары төмен деңгейдегі целлюлозалитикалық белсенділік көрсетті, ал AS34 және CR18 штамдарында бұл белсенділік анықталмады. Целлюлазалар өсімдік жасуша қабырғалары мен топырақтағы органикалық заттардың негізгі құрамын, ыдыратып, глюкоза және басқа қанттарды бөліп шығарады. Бұл топырақтың қоректік құрамын байытып, өсімдіктің өсуін ынталандырады [212]. Сонымен қатар, целлюлазалар саңырауқұлақ патогендерінің жасуша қабырғасындағы целлюлозаны гидролиздеп, патогендердің көбеюін тиімді түрде тежейді [212].

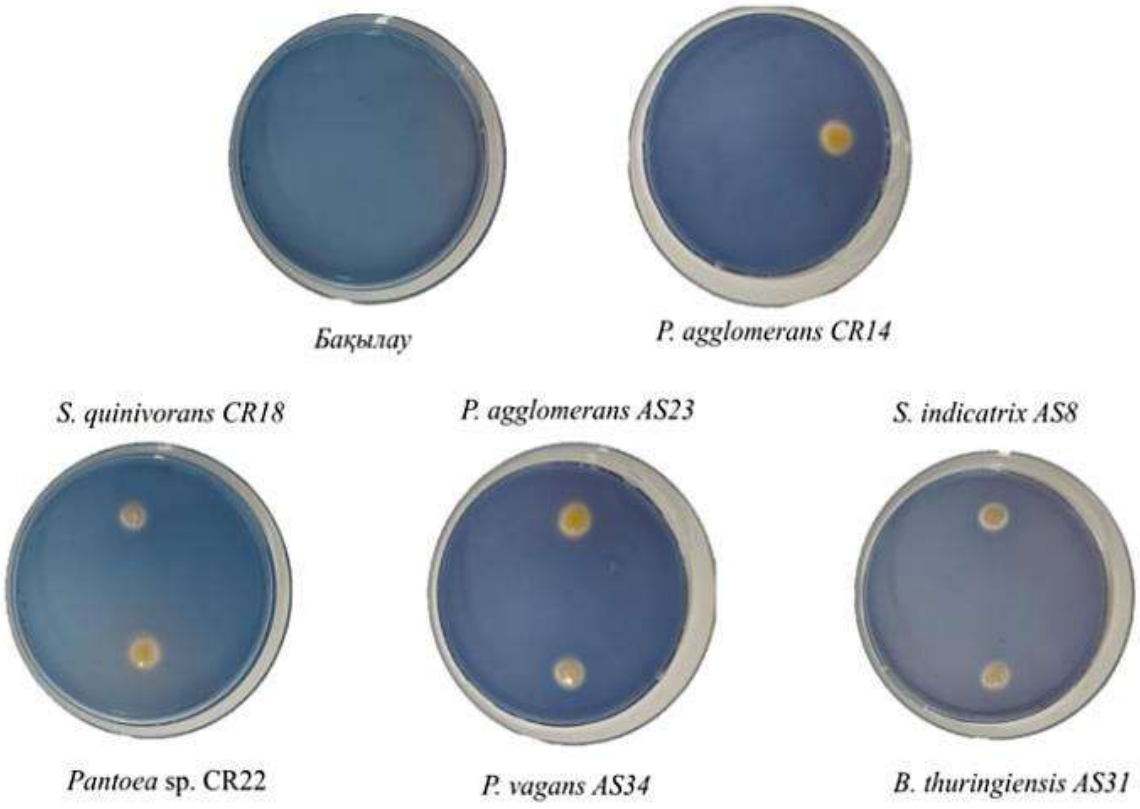
Экзоферменттер синтездеу қабілеті штамдардың биобақылау әлеуетінің маңызды көрсеткіші және алынған нәтижелер бойынша *S. indicatrix AS8* мен *B. thuringiensis AS31* штамдарының барлық 4 фермент бойынша белсенділік көрсетуі, олардың патогенді микроорганизмдерге қарсы кешенді қорғаныс механизмдерін іске асыра алатынын дәлелдейді. Ферменттік белсенділікпен қатар, темірді байланыстыратын төмен молекулалық қосылыстар - сидерофорлардың синтезі де биобақылаудың тағы бір маңызды тетігі болып табылады.

3.2.2 Сидерофор синтездеу белсенділігін анықтау

Сидерофорлар ризосферадағы темірдің қолжетімділігі төмен жағдайда ризобактериялардың темір иондарын байланыстырып, сіңіруіне мүмкіндік береді. Осы арқылы олар патогендік микроорганизмдермен темір үшін бәсекелестікте артықшылыққа ие болып, фитопатогендердің өсуі мен дамуын шектейді. Сидерофор түзетін ӨӨЫР өсімдіктердің темірмен қоректенуін жақсартуға, хлороздың алдын алуға, тамыр жүйесінің дамуын және биомассаның қалыптасуын ынталандыруға ықпал етеді [218].

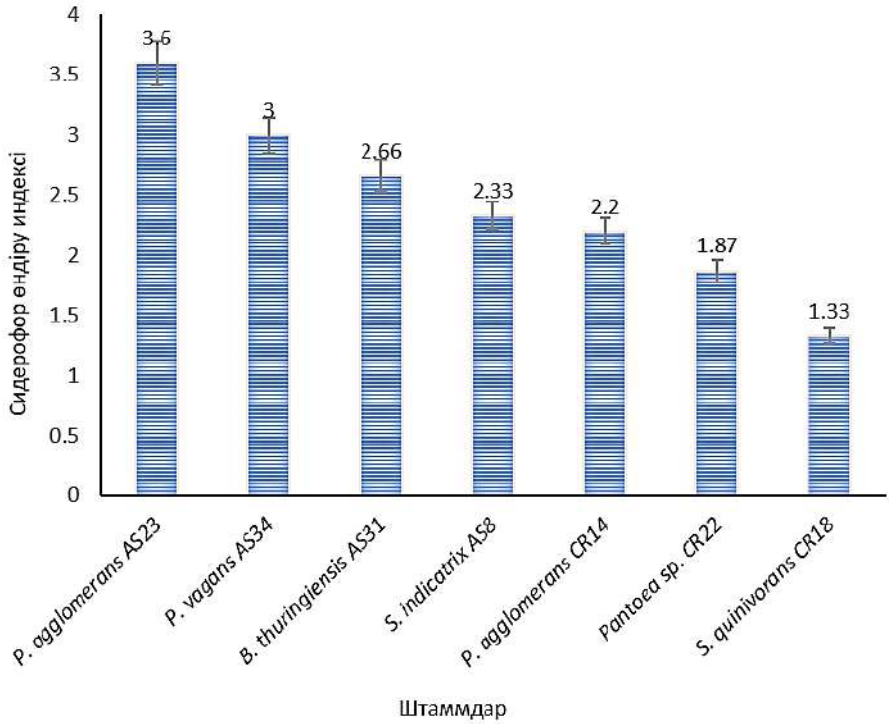
Сидерофорлардың түзілуін бағалау үшін құрамында Chrome Azurol S (CAS) реагенті бар қоректік орта қолданылды. Әдіс сидерофорлардың темірдің үш валентті иондарын (Fe^{3+}) байланыстыру қабілетіне негізделген. CAS-агар ортасында сидерофор өндіретін бактериялардың колониялары айналасында көк түстен сары-қызғылт, сары және түссіз түске ауысатын гало қалыптастырады, бұл темір-CAS кешенінің ыдырауын көрсетеді. Зерттелген штамдардың сидерофор синтездеу қабілеті сапалық бағалау және SID (Siderophore Index) индексін есептеу арқылы сандық тұрғыдан анықталды. SID индексі гало диаметрі мен колония диаметрінің қатынасын көрсетіп, штамдардың сидерофор өндіру белсенділігін салыстырмалы бағалауға мүмкіндік береді [219].

Сапалық бағалау барысында CAS-агар қоректік ортасындағы көк түстің сары-қызғылт, сары, түссізге ауысуы сидерофорлардың темірді (Fe^{3+}) CAS-бояғыш кешенінен тартып алуымен түсіндіріледі, бұл Schwyn and Neilands (1987) [220] тарапынан сипатталған классикалық механизмге толық сәйкес келеді.



Сурет 21 - Бактерия штамдарының сидерофор түзу қабілетін бағалау

Зерттелген штамдардың айналасындағы аймақтардың пайда болуы олардың темірді байланыстыратын сидерофорларды белсенді синтездей алатынын тікелей көрсетеді. Halo-зоналардың диаметрі штамдар арасында өзгеріп, белсенділіктің біркелкі еместігін аңғартты (21-сурет).



Сурет 22 - Штамдардың сидерофор өндіру индексі (SID).

Сандық бағалау барысында 22-суреттегі график негізінде SID индексі бойынша штамдар арасындағы айырмашылық айқын көрінді. Алынған нәтижелерге жүргізілген ANOVA талдау штамдар арасында статистикалық тұрғыдан жоғары мәнді айырмашылықтардың бар екенін көрсетті ($p<0,001$).

Tukey HSD критерийі негізіндегі Post Hoc талдау *P. agglomerans AS23* штамының SID көрсеткіші барлық зерттелген штамдарға қарағанда статистикалық тұрғыдан жоғары екенін көрсетті ($p<0,001$). Қалған штамдар арасындағы жұптық салыстырулар олардың SID көрсеткіштері бойынша статистикалық тұрғыдан айырмашылықтарға ие екенін көрсетті ($p<0,05$).

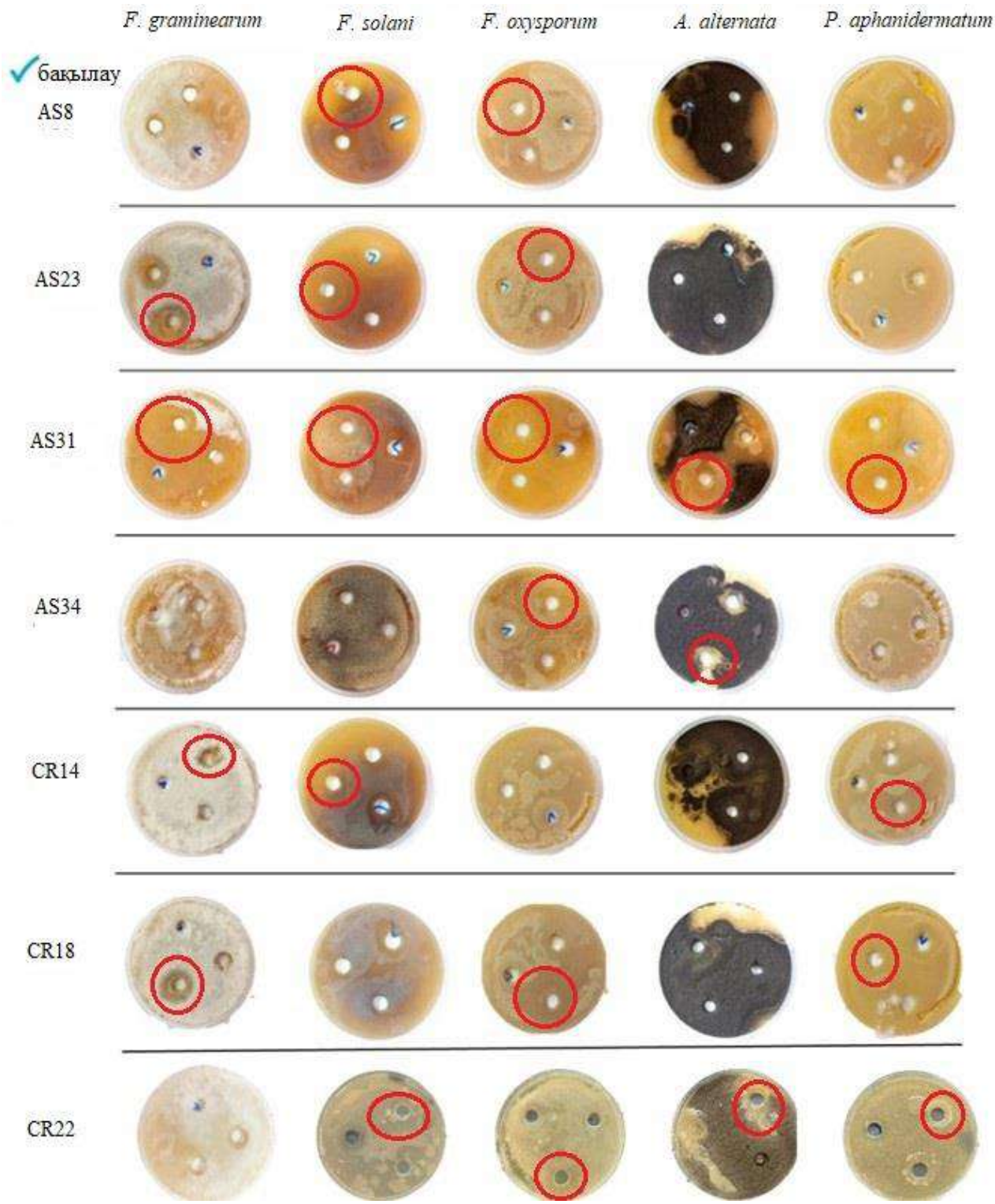
Сидерофор өндіру индексі бойынша *P. agglomerans AS23* (3,60±0,12) және *P. vagans AS34* (3,00±0,06) штамдары ең жоғары белсенділік көрсетті. Бұл көрсеткіштер *Pantoea* туыстастығының өкілдері үшін тән жоғары сидерофорлық әлеуетті растайды [221]. Ahmad және әріптестері (2008) [151] жүргізген зерттеулерде *Pantoea* туысына жататын ризобактериялардың сидерофор өндіру индекстері 1.5-тен 3.5-ке дейінгі диапазонда болған, бұл зерттеудегі *P. agglomerans* AS23, *P. agglomerans* CR14 (2,20±0,06) және *Pantoea sp. CR22 (*1,90±0,06) штамдарының нәтижесімен деңгейлес. *B. thuringiensis AS31* (2,70±0,06) штамы *Bacillus* эндофиттерінің типтік мәнін растап, биобақылау әлеуетін күшейтеді [195]. Vejan және әріптестері (2016) [222] жұмысында *Bacillus* туыстастығына жататын штамдардың сидерофор синтезі олардың антифунгалды белсенділігінің негізгі факторы екені атап өтілген. *S. indicatrix AS8* штамы (2,30±0,06) *Stenotrophomonas* туысының орташа-жоғары қабілетін көрсетеді [209]. *S. quinivorans* CR18 (1,33±0,03) төмен мәні *Serratia* туысының әлсіз синтезімен сәйкес, бірақ NH_4^+ өндіруі (22.1 мг/л) және Zn солюбилизациясы PGP профилін толықтырады [196].

Алынған нәтижелер іріктелген штамдардың сидерофор синтездеу белсенділігі бар екенін дәлелдеп, олардың биобақылау потенциалын және өсімдіктің темірмен қамтамасыз етілуіне оң үлес қосатынын көрсетті. Алайда биобақылаудың тиімділігін толық бағалау үшін штамдардың фитопатогенді бактерияларға қарсы тікелей антагонистік әсерін зерттеу де аса маңызды. Антагонистік белсенділік литикалық ферменттер және органикалық қосылыстар арқылы патогендердің өсуін тікелей тежеу механизміне негізделеді. Осы тұрғыдан іріктелген штамдардың фитопатогенді саңырауқұлақтарға қарсы антагонистік қасиеті бағаланды.

3.2.3 Ризобактериялардың антагонистік қасиетін бағалау

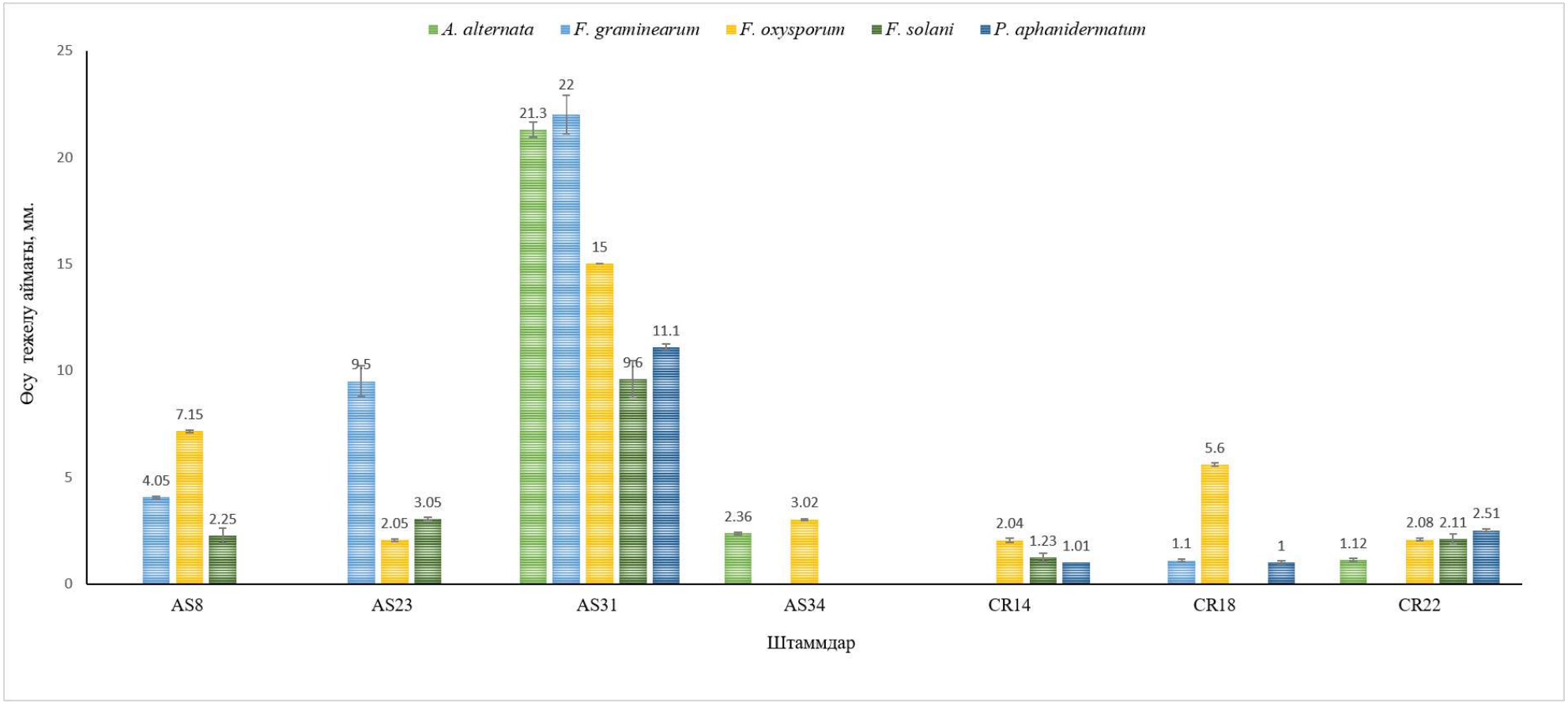
Ризобактериялардың фитопатогенді микроорганизмдерге қарсы антагонистік белсенділігін бағалау өсімдіктерді ауру қоздырғыштарынан қорғауға қабілетін сипаттайтын маңызды көрсеткіштердің бірі ретінде зерттелді. Зерттелген изоляттардың антагонистік белсенділігі бес фитопатогенді саңырауқұлаққа: *F. graminearum, F. solani, F. oxysporum, A. alternata* және *P. aphanidermatum* қарсы бағаланды. Антагонистік белсенділік саңырауқұлақ мицелийінің өсуін тежеу аймағының диаметрі (мм) бойынша бағаланды. Зерттеу нәтижелері таңдалған ризобактериялардың (S. *indicatrix AS8, P. agglomerans AS23, B. thuringiensis AS31, P. vagans AS34, P. agglomerans*

CR14, S. quinivorans CR18 және *Pantoea sp. CR22*) фитопатогенді саңырауқұлақтарға қарсы антагонистік белсенділігінің спектрлік ерекшеліктерін айқындады (23, 24-сурет).



Ескертпе: Қызыл белгі штамның фитопатогенге қарсы тежелу аймағының қалыптасқанын көрсетеді.

Сурет 23- Ризобактериялардың антагонистік белсенділігі



Сурет 24 -Ризобактериялардың антагонистік белсенділік деңгейін сандық талдау ($p<0.001$).

23-суретте зерттелген ризобактерия штамдарының фитопатогенді саңырауқұлақтарға қарсы антагонистік белсенділігі көрсетілген. Бақылау нұсқаларында саңырауқұлақ мицелийі еркін таралып, ешқандай тежелу аймағы байқалмайды, ал ризобактерия штамдары енгізілген нұсқаларда кейбір фитопатогендердің колонияларының өсуі шектеліп, бактерия орналасқан аймақтың айналасында өсу тежелу аймақтары (ингибирлеу зоналары) қалыптасқаны көрінеді. Қызыл шеңберлер аталған ингибирлеу зоналарын көрсетеді. Антагонистік әсердің айқындылығы зерттелген ризобактерия штамына және фитопатоген түріне байланысты өзгеріп отырғаны байқалады.

24 сурет бойынша *B. thuringiensis AS31* штамының барлық зерттелген фитопатогендерге қарсы (*Fusarium graminearum* – 22,0±1,41 мм, *F. solani* – 9,60±0,85 мм, *F. oxysporum* – 15,0±0,01 мм, *A. alternata* – 21,3±0,35 мм, *P. aphanidermatum* – 11,1±0,14 мм) ең жоғарғы антагонистік әсер көрсеткені байқалады: саңырауқұлақ мицелийінің өсуі едәуір шектеліп, айқын тежелу аймақтары қалыптасқан. Ал *S. indicatrix AS8* және *P. agglomerans AS23 Fusarium* туына (*F. graminearum* үшін AS8 – 4,05±0,07 мм, AS23 – 9,50±0,71 мм; *F. solani* - AS8 – 2,25±0,35 , AS23 – 3,05±0,07 мм; *F. oxysporum* – 7,15±0,07мм және 2,05±0,07 мм) қарсы белсенді болғанымен, *Alternaria* және *Pythium* генустарына әсері жоқ немесе әлсіз болды. *P. vagans AS34, P. agglomerans CR14, S. quinivorans CR18* және *Pantoea sp. CR22* штамдары жекелеген патогендерге қарсы орташа/төмен белсенділік танытты, жалпы спектрлік тиімділіктері шектеулі болды.

Статистикалық өңдеу бойынша екі факторлы дисперсиондық талдау антагонистік белсенділікке штамм**,** фитопатоген және олардың өзара әрекеттесуі айтарлықтай әсер ететінін көрсетті ($p<0.001$).

AS31 штамының саңырауқұлаққа қарсы аса перспективті агент ретінде қарастырылуы *Bacillus thuringiensis* түріне тән Cry-токсиндердің, липопептидтердің және сидерофорлардың жоғары деңгейде синтезделуінің үйлесімді әсерімен байланысты [223]. *S. indicatrix* AS8 және *B. thuringiensis* AS31 штамдарында анықталған протеаза мен целлюлаза белсенділігі олардың жоғары антифунгалдық тиімділігін түсіндіруі ықтимал. Бұл деректер Adeleke және әріптестері [224] сипаттаған нәтижелермен сәйкес келеді, олар *S. indicatrix* BOVIS40 және *B. thuringiensis* BSA123 штамдарының амилаза, целлюлаза және протеаза ферменттерін өндіретінін көрсеткен.

Pantoea туысына жататын бактериялар өсімдік ауруларына қарсы қолданылатын аггломерин, феназин, гербиколин және пантоцин сияқты антимикробтық қосылыстарды синтездей алатыны белгілі [186]. *Bacillus subtilis, Pseudomonas fluorescens* және *Streptomyces spp* сияқты бактериялар өндіретін хитиназа, глюканаза ферменттері патогенді саңырауқұлақтардың жасуша қабырғаларында хитин мен β-глюканды гидролиздеу арқылы споралардың өнуін және мицелийдің өсуін тежейді [225]. *Bacillus thuringiensis* UM96 ризобактериясы *B.cinerea* сұр зеңді тудыратын патогенге қарсы хитиназа ферментін синтездейді [291]. *Pseudomonas aeruginosa* изоляттары жылыжай жағдайында *Rhizoctonia solani* өсуін айтарлықтай тежейтін хитиназа және протеаза белсенділігінің жоғары екендігі туралы айтылды [227].

Зерттелген штамдардың биобақылау потенциалы өсімдіктерді патогендерден қорғаумен шектелмей, олардың ферментативтік қорғаныс механизмдерін күшейтуге де ықпал етуі мүмкін [223]. Биобақылау әлеуетін бағалау негізінде жүргізілген скрининг нәтижесінде үш штамм - *S. indicatrix* AS8, *P. agglomerans* AS23 және *B. thuringiensis* AS31 - іріктеліп, әрі қарай зерттеулер үшін таңдалды.

Штамдардың функционалдық қасиеттерін кешенді зерттеу олардың өсімдікпен өзара әрекеттесу механизмдерін молекулалық және биохимиялық деңгейде айқындады [228]. Алайда зертханалық жағдайда анықталған белсенділіктің өсімдіктің нақты өсу-даму үдерістеріне тигізетін тікелей әсерін бағалау биопрепараттың тиімділігін дәлелдеудің келесі міндетті кезеңі болып табылады. Осы мақсатта іріктелген штамдардың бидай дәндерінің өнгіштігіне, бастапқы тамыр және өркен ұзындығына тигізетін әсері *in vitro* жағдайда зерттелді.

3.3 Ризобактериялардың бидай өскіндерінің өсуіне әсерін зерттеу

Іріктелген ризобактериялардың бидай тұқымының өнуі мен өскіндердің бастапқы өсуіне әсерін бағалау мақсатында модельдік өсімдік ретінде бидайдың (*Triticum aestivum L.*) Алмалы сорты таңдалды. Бұл сортты таңдау жүргізілген бастапқы скрининг нәтижелеріне негізделді, онда Алмалы сортының ризосферасынан бөлініп алынған перспективті ризобактериялар кейінгі зерттеулер үшін іріктелді. Осыған байланысты in vitro тәжірибесінде ризобактериялардың әсерін дәл сол өсімдік объектісінде бағалау зерттеудің кезеңдік сабақтастығын қамтамасыз етті. Сонымен қатар, бидайдың ерте даму кезеңіндегі өну және өскіннің өсу көрсеткіштері ризобактериялардың өсуді ынталандыру әсерін салыстырмалы түрде бағалауға мүмкіндік беретіндіктен, бидай модельдік объект ретінде қолданылды.



Сурет 25 - Ризобактерия штамдарының бидай (*Triticum aestivum L.*) өскіндерінің өсуіне әсері.

Таңдалған ризобактерия штамдарымен бидайдың (*Triticum aestivum L.*) Алмалы сортының тұқымдарын инокуляциялау өскіндердің өміршеңдігінің индексін айтарлықтай жақсартты. 25-суретте бидай тұқымдарының 7 тәуліктік стерильді жағдайдағы Петри табақшаларында өсірілуін көрсетеді. Бактериялық штамдармен инокуляцияланған дақылдардың тамыры мен өскіндерінің өсуі бақылауға қарағанда айтарлықтай жоғары болды.

Кесте 9 – Штамдардың дәндердің өнуіне әсері (n = 3).

Өңдеу нұсқасы	Өскіннің ұзындығы, см	Бақылауға қатысты, %	Тамырдың ұзындығы, см	Бақылауға қатысты, %	Өскіннің өміршеңдік индексі	Бақылауға қатысты, %
7 тәулік						
Бақылау	0,40 ± 0,14 b	100	-	100	24,0 ± 8,49 b	100
AS8	0,50 ± 0,08 b	-	0,18 ± 0,10 b	-	45,0 ± 10,4 b	-
AS23	4,22 ± 0,67 a	1 055	1,12 ± 0,26 a	-	558 ± 45,5 a	2 325
AS31	5,25 ± 0,17 a	1 313	1,38 ± 0,17 a	-	580 ± 51,2 a	2 415
p-value	<0,001	-	<0,01	-	<0,001	-
14 тәулік						
Ctrl	3,40 ± 1,27 d	100	0,46 ± 0,11 c	100	40,0 ± 6,53 d	100
AS8	6,78 ± 0,36 c	199	1,04 ± 0,18 b	227	784 ± 66,6 c	1 960
AS23	12,7 ± 0,72 b	374	2,46 ± 0,33 a	534	1 540 ± 105 b	3 850
AS31	16,6 ± 0,73 a	488	2,83 ± 0,29 a	616	1 737 ± 70,2 a	4 343
p-value	<0,001	-	<0,001	-	<0,001	-

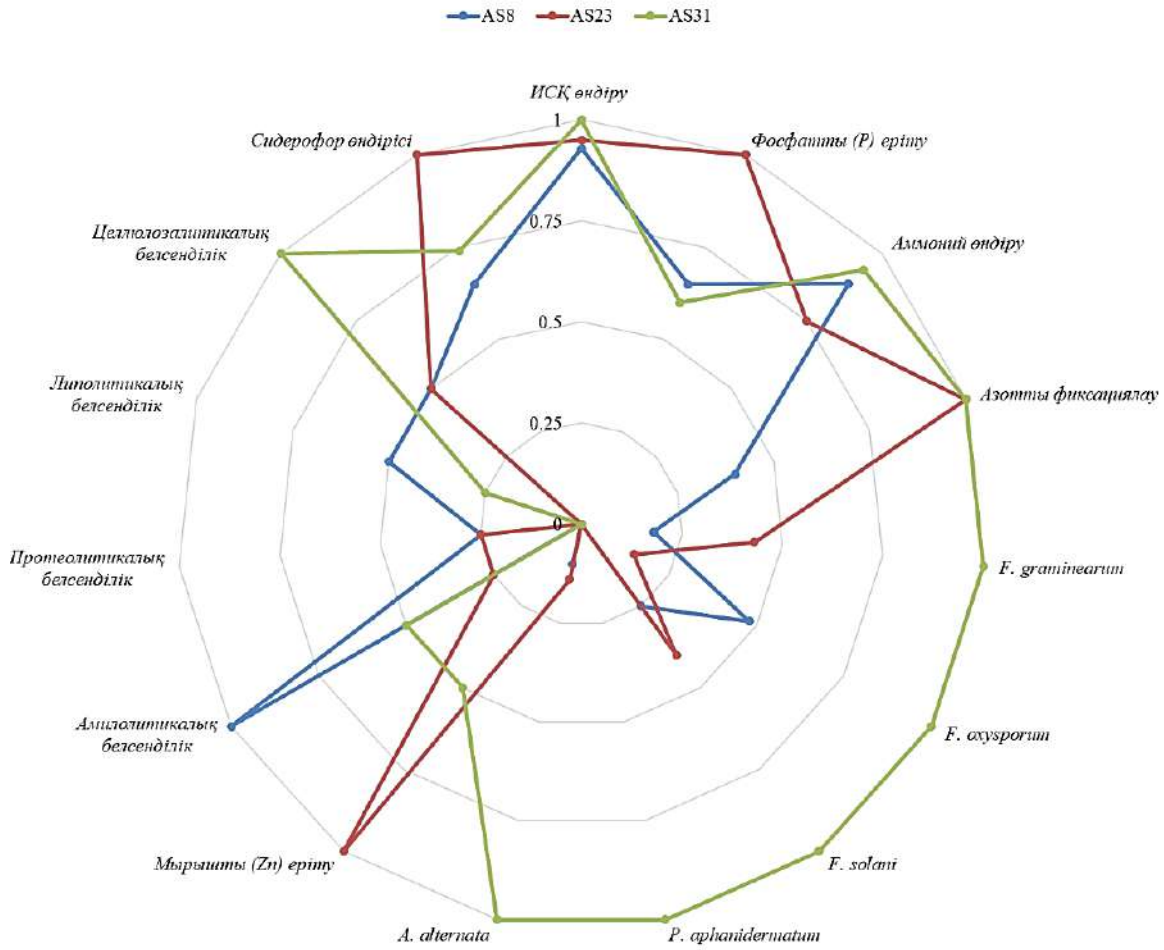
Ескерту: Бір параметр шегінде әртүрлі әріптер өңдеулер арасындағы статистикалық маңызды айырмашылықты көрсетеді (p < 0,001).

9 кестедегі зерттеу нәтижесі бойынша тәжірибеде 7 тәуліктен кейін *P. agglomerans AS23* және *B. thuringiensis AS31* штамдарымен өңделген тұқымдардың өскіндері ең жоғары ұзындыққа жетті: сәйкесінше 4,22 ± 0,67 см және 5,25 ± 0,17 см (бақылаудың 0,40 ± 0,14 см-нен 10 есе артық). Бұл штамдар тамыр ұзындығын да 1,12 ± 0,26 см (AS23) және 1,38 ± 0,17 см (AS31) дейін арттырды, ал өміршеңдік индексі 558 ± 45,5 және 580 ± 51,2 болды.

14 тәуліктен кейін ризобактериялардың әсері айқын көрінді: AS31 штамы өскіндерді 16,6 ± 0,73 см-ге және тамырларды 2,83 ± 0,29 см-ге дейін ынталандырды. AS23 өскіндерді 12,7 ± 0,72 см-ге және тамырларды 2,46 ± 0,33 см-ге дейін өсірді. AS8 штамы орташа жақсартулар берді, ал бақылау тәжірибе топтарынан әлдеқайда артта қалды (кесте 9).

Зерттеудің нәтижелері ризобактерия штамдары, әсіресе, *P. agglomerans* AS23 - штамымен өңделген тұқымдар ең белсенді өсу көрсетті, өскіндердің ұзындығы 6,2 см-ге дейін жетті. Тамырдың дамуына ең елеулі оң әсер *B. thuringiensis* AS31 штамымен өңделген тұқымдарда байқалды, бұл штамның тамыр жүйесін ынталандырудағы потенциалын көрсетті. Бұл көрсеткіштер фосфат солюбилизациясы, ИСҚ синтезі және азот фиксациясы сияқты PGP қасиеттерінің синергетикалық әсерінен туындайды [229-231].

Ғылыми деректер бойынша Sharma және әріптестерінің зерттеуінде (2024) [231] бидай ризосферасынан оқшауланған *Pantoea agglomerans* PS1 және PS2 штамдарының тұқымдарды алдын ала өңдеу арқылы өсімдік өсуін және ризосфера микробиотасын жақсартқанын көрсеткен, бұл біздің AS23 деректерімізге ұқсас. Сол сияқты, Ashraf және әріптестерінің зерттеу жұмысында (2019) [230] бидай ризосферасынан оқшауланған *Bacillus thuringiensis*-тің өскіндердің өсуін ынталандыруын растайды. Сондай-ақ, Agha және әріптестері (2023) [232] *Bacillus* штамының (BCB16) бидай тұқымдарының өнуін және өміршеңдік индексін фитопатогендерге қарсы жақсартқанын ескерткен. Majeed және әріптестері (2014) [233] Гималай бидай ризосферасынан оқшауланған ӨӨЫР-лердің тамыр биомассасын 100-172%-ға, өскін ұзындығын 25-45%-ға арттырғанын сипаттаған. Sezen және әріптестері (2016) Түркия бидайынан AS1-AS16 штамдарын (NF, PS, IAA өндірушілер) сипаттап, өсімдік биіктігін және құрғақ затты $p < 0,05$ деңгейінде жақсартқанын анықтаған [234]. 14-ші тәулікте ең жоғарғы ұзындық көрсеткіші AS31 штамымен өңделген тұқымдарда байқалды, өскіндердің ұзындығы 16,6 см-ге дейін жеткені тіркелді. Сонымен қатар, бұл изолят тамырдың ұзындыққа өсуін ең көп ынталандырғанын көрсетті.



Ескертпе: белсенділік мәндері heatmap визуализациясы үшін 0-1 шкаласына нормализацияланды, мұнда 0 - белсенділіктің жоқтығын, ал 1 - байқалған ең жоғары қарқындылықты білдіреді

Сурет 26 – Штамдардың функционалдық қасиеттер қарқындылығының визуалды көрінісі.

Зерттелген 3 штамның - AS8, AS23 және AS31 - функционалдық қасиеттерін кешенді салыстыру мақсатында барлық белсенділік көрсеткіштері 0-1 шкаласына нормализацияланып, 26 суреттегі жылу картасы түрінде визуализацияланды.

AS8 штамы ИСҚ синтезі, аммоний өндіру және амилолитикалық белсенділік бойынша 3 штамның ішінде жетекші орынды иеленді. Фосфатты еріту қабілеті орташа деңгейде тіркелді. Бұл штамның фитогормондар арқылы өсімдіктің тамыр жүйесін дамытуға және қоректік заттар сіңіруін жеңілдетуге басымдық танытатынын көрсетеді.

AS23 штамы фосфат пен мырышты еріту, сидерофор өндіру және азот фиксациясы бойынша ең жоғары белсенділікпен ерекшеленді. ИСҚ және аммоний өндіру деңгейі AS8 штамына жуық болды. Бұл нәтижелер AS23 штамының топырақтағы минералдық қоректік заттарды мобилизациялауда және темір алмасуында шешуші рөл атқаратынын дәлелдейді.

AS31 штамы ИСҚ түзілуі, азот фиксациясы, аммоний өндіру, целлюлозаны ыдырату және бес фитопатогенге қарсы антагонистік белсенділік бойынша ең жоғары жиынтық көрсеткіштерді көрсетті. Бұл AS31 штамының тек өсуді ынталандырып қана қоймай, патогендерге қарсы биобақылау функциясын да тиімді орындай алатынын растайды.

Жоғарыда келтірілген салыстырмалы талдау үш штамның да ауыл шаруашылығында қолдануға жарамды функционалдық әлеуетке ие екенін, алайда олардың биологиялық белсенділік бағыттары бойынша бір-бірінен принципті түрде өзгешеленетінін анықталды. Бактериялық жасушалардың сыртқы ортаның қолайсыз факторларына сезімталдығын, сақтау мен тасымалдау кезіндегі жоғары тіршілік ету қабілетін жоғалтуына байланысты, зерттеудің келесі кезеңі - сорбенттердің құрылымын зерттеуге бағытталды.

3.4 Сорбенттердің құрылымдық ерекшеліктерін зерттеу

3.4.1 Морфологиялық құрылымды микроскопиялық зерттеу

Зерттеуге алынған әртүрлі сорбенттердің химиялық құрамы мен құрылымдық сипаттамаларын анықтау олардың беткі қасиеттерін, поралық ерекшеліктерін және ризобактерияларды иммобилизациялау үшін жарамдылығын бағалаудың маңызды кезеңі болып табылады. Осы мақсатта зерттеу барысында сорбенттердің морфологиялық құрылымы зерттелді.

Сорбенттердің морфологиялық ерекшеліктерін бағалау KERN Optics бинокулярлы стереомикроскопы көмегімен әртүрлі үлкейту деңгейлерінде жүргізілді. Аталған оптикалық жүйе зерттелетін материалдардың бөлшектік құрылымын, олардың пішінін, өлшемдік ерекшеліктерін және беткі рельефін визуалды түрде сипаттауға мүмкіндік берді. Зерттеу нысандары ретінде бидай сабаны, *Miscanthus* биомассасы және ағынды су тұнбасы негізінде алынған биокөмірлер, сонымен қатар вермикулит минералы пайдаланылды.

Бидай сабаны негізіндегі биокөмір (ББ). ББ оттегі шектеулі ортада баяу пиролиз әдісімен 500 °C температурада, 20 °C/мин қыздыру жылдамдығымен және 3 сағат ұстау уақытында алынды. Әдеби деректер бойынша, бидай сабанын шамамен 500 °C температурада пиролиздеу нәтижесінде көміртек

мөлшері жоғары және салыстырмалы түрде тұрақты поралы материал қалыптасады [235]. Пиролиз температурасының жоғарылауы өсімдік қалдықтары негізіндегі биокөмірлердің поралылығының артуына ықпал ететіні, ал 300-500 °C аралығында температураның жоғарылауымен бидай сабаны биокөмірінің поралы-түтікшелі құрылымы айқынырақ қалыптасатыны анықталды [236].

Вермикулит (В). В-тің қабатты құрылымы тетраэдрлік кремнийлі және октаэдрлік қабаттардан, сондай-ақ су молекулалары мен алмасуға қабілетті катиондар орналасатын қабатаралық кеңістіктен тұратындығы сипатталды. Вермикулиттің түсі оның химиялық құрамына, әсіресе темір мөлшеріне және бастапқы слюдалық минералдың өзгеру дәрежесіне тәуелді [237]. Вермикулитті шамамен 900-1000 °C температурада термиялық өңдеу барысында минерал бөлшектерінің көлемі ұлғайып, тығыздығы төмен және ашық поралы құрылым қалыптасады [238].

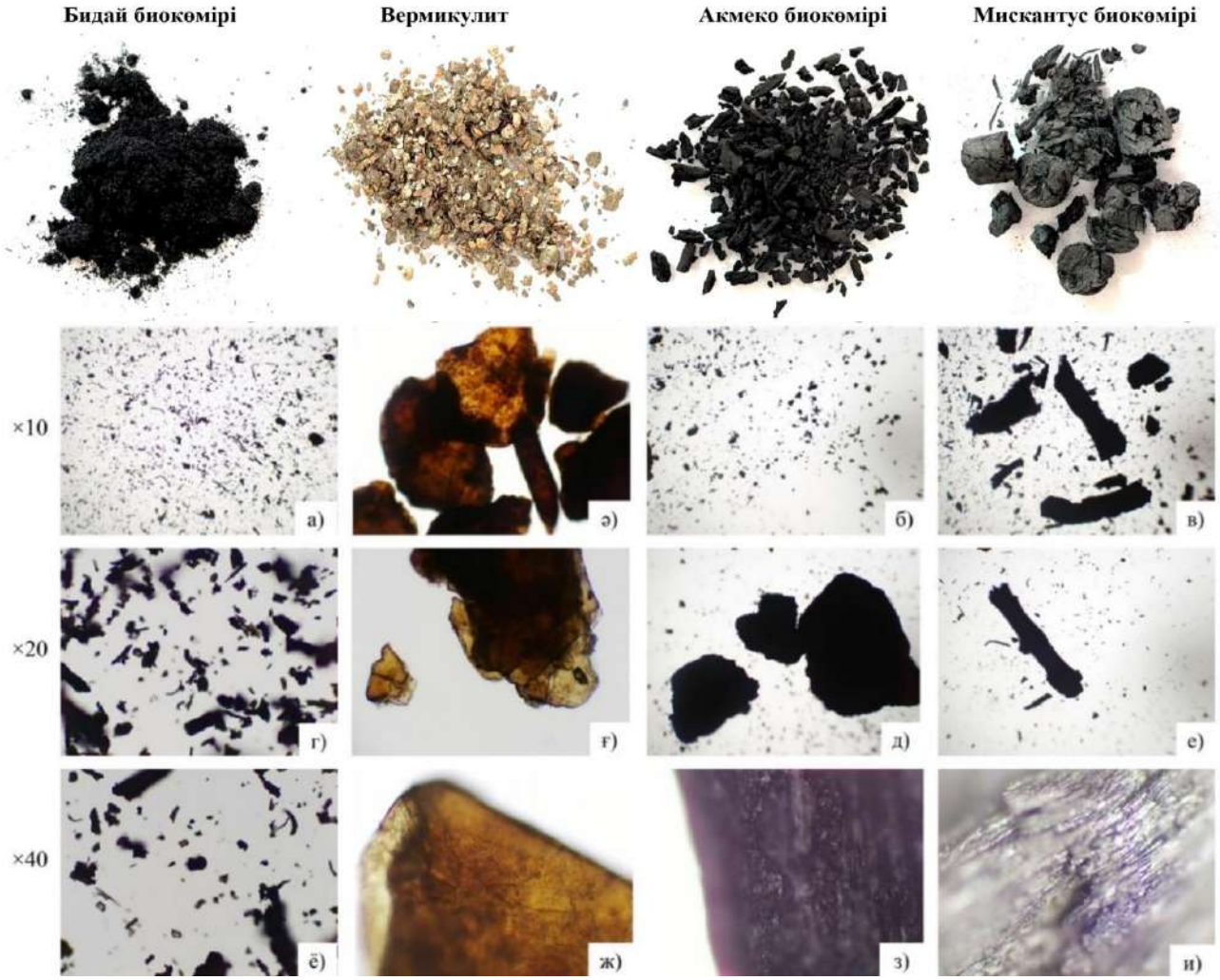
Акмеко биокөмірі (АБ). АБ Чехияның Карловы Вары қаласындағы қалалық ағынды суларды тазарту қондырғысында алынған ағынды су тұнбасы негізінде Agmeco компаниясының тәжірибелік қондырғысында дайындалған. Биомасса азот атмосферасында баяу пиролиз әдісімен 600-650 °C температурада өңделген. Аталған температуралық диапазон ағынды су тұнбасынан биокөмір алу үшін әдебиетте сипатталған жағдайларға сәйкес келед [239].

Мискантус биокөмірі (МБ). *Miscanthus* × *giganteus* биомассасынан биокөмір Киев қаласындағы тәжірибелік зауыттың үздіксіз пиролиз қондырғысында 600°C температурада, оттегі шектеулі ортада шамамен 4 сағат өңдеу арқылы алынған. Мискантус биомассасын 400-600 °C температура аралығында пиролиздеу кезінде бастапқы өсімдік құрылымының белгілі бір бөлігі сақталады және поралы көміртекті материал түзіледі. Сонымен қатар, МБ-нің сорбциялық қасиеттерін арттыруда пиролиз температурасы мен кейінгі белсендіру жағдайлары маңызды рөл атқарады [240].

Микроскопиялық зерттеу нәтижелері зерттелген сорбенттердің морфологиялық құрылымы бойынша айтарлықтай ерекшеленетінін көрсетті. Сорбенттер бөлшектерінің пішіні, беткі рельефі, талшықты құрылымының сақталу дәрежесі және поралы-қуысты жүйесінің даму деңгейі олардың бастапқы шикізатына және өңдеу жағдайларына байланысты қалыптасқаны байқалды.

ББ-нің макроскопиялық сипаттамасы оның қара түсті, жеңіл, борпылдақ және салыстырмалы түрде біркелкі бөлшектерден тұратынын көрсетті. Микроскопиялық деңгейде бөлшектердің пішіні ретсіз, ұсақ фрагменттер түрінде сипатталды. Үлкейту деңгейі артқан сайын олардың талшықты-таяқшалық құрылымы және беткі қабатындағы жарықшақтар мен қуыстар айқынырақ байқалды. Бұл ерекшеліктер бастапқы бидай сабанының лигноцеллюлозалық қаңқасының пиролиз процесінен кейін ішінара сақталуымен байланысты. Yadav және әріптестері [241] бидай сабаны негізіндегі биокөмірге тән ретсіз, түйіршікті және кедір-бұдырлы

морфологияны, сондай-ақ беткі саңылаулар мен жарықшақтардың қалыптасуын сипаттаған (27-суретте (а,г,ё)).



Сурет 27 - Сорбенттердің макроскопиялық сипаттамасы: Бидай биокөмірі (а, г, ё); Вермикулит (ә, ғ, ж); Акмеко биокөмірі (б,д,з); Мискантус биокөмірі (в, е, и).

Табиғи алюмосиликатты сорбент - вермикулит өзінің морфологиялық сипаттамалары бойынша көміртекті сорбенттерден айқын ерекшеленді. Макроскопиялық тұрғыдан оның құрылымы алтын-қоңыр және сарғыш реңкті, қабыршақты-қабатты және ірі түйіршікті бөлшектермен сипатталды. Микроскопиялық кескіндерде (27-сурет, ә, ғ, ж) В-тің қабатты минералдық құрылымы және жарық өткізгіштігі салыстырмалы жоғары пластинкалы бөлшектері байқалды.Жоғары үлкейту кезінде (28-сурет, ж) бөлшектердің беткі рельефінде микроқатпарлар, деформациялық жарықшақтар анықталды. Бұл морфологиялық ерекшеліктер вермикулиттің термиялық өңдеу (1000 °С) нәтижесінде кеңеюімен байланысты. Қыздыру кезінде алдымен қабатаралық және адсорбциялық су бөлініп, жоғары температурада құрылымдық гидроксил топтарының дегидратациясы жүреді. Қабатаралық судың буға айналуы минерал қабаттарының арасындағы қысымды арттырып, нәтижесінде

бастапқы тығыз қабыршақтар ажырап, қатпарланған және поралы құрылым түзіледі.

АБ-нің макроскопиялық сипаты күңгірт, жылтырлығы төмен, орташа дисперсті және кесектелген бөлшектердің болуымен ерекшеленді. Бөлшектердің геометриялық пішіні негізінен бұрышты-қырлы және сопақша контурлармен сипатталды. Микроскопиялық талдау кезінде (27-сурет, б, д, з) материалдың жарық өткізбейтін, оптикалық тығыздығы жоғары агрегаттардан тұратыны анықталды. Жоғары үлкейту кезінде осы агрегаттардың шеткі бөліктерінде бойлық бағытталған микрокапиллярлық қуыстар мен поралы арналардың желісі байқалды. Gaga және әріптестері [242] ағынды су тұнбасы негізіндегі биокөмірдің ұсақ бөлшектердің тығыздалған агрегаттарынан тұратынын және оның бетінде кедір-бұдырлы, ретсіз поралы құрылым қалыптасатынын көрсеткен. Peng және әріптестері [243] мұндай биокөмірдің морфологиялық ерекшеліктері бастапқы шикізат құрамындағы органикалық және минералдық компоненттердің арақатынасына тәуелді екенін атап көрсеткен. Бұл мәліметтер біздің зерттеу нәтижелерімен сәйкес келеді.

МБ-ің макроскопиялық талдауы оның қатты, салыстырмалы түрде ірі, цилиндрлік және таяқша тәрізді фрагменттерден тұратынын көрсетті. Бұл материалда бастапқы шикізаттың анатомиялық-морфологиялық архитектоникасы пиролизден кейін де айтарлықтай дәрежеде сақталған. Микроскопиялық кескіндерде (27-сурет, в, е, и) айқын талшықты және анизотропты құрылым байқалды. Жоғары үлкейту кезінде (27-сурет, и) биокөмір матрицасында параллель бағытталған өсімдік капиллярлары мен жіпшелі микроталшықтар жүйесі анықталды. Stefanovska және әріптестері [244] Мискантус биомассасын пиролиздегеннен кейін өсімдік жасушаларының жалпы морфологиясы сақталатынын және 600 °C температурада ұшпа компоненттердің бөлінуі нәтижесінде поралы құрылым қалыптасатынын көрсетті. Pidlisnyuk және әріптестері [245] Мискантус тамырсабақтарын 400-700 °C температурада өңдеу барысында 600 °C-та алынған биокөмірдің меншікті бет ауданы шамамен 217 м²/г болғанын және оның бетінде таяқша тәрізді құрылымдар, жарықшақтар мен ұсақ флокулалар қалыптасатынын анықтаған. Мұндай ашық капиллярлық жүйе сорбциялық процестер кезінде сорбаттардың материалдың ішкі белсенді орталықтарына диффузиялануына қолайлы жағдай қалыптастырады.

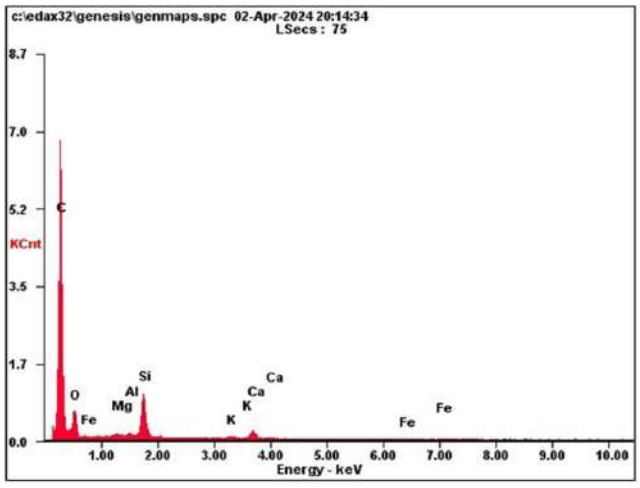
Жүргізілген макро- және микроморфологиялық зерттеулер зерттелген сорбенттердің құрылымдық ерекшеліктері олардың шығу тегіне және өңдеу технологиясына тікелей байланысты екенін көрсетті. Өсімдік тектес шикізаттардан алынған биокөмірлерде бастапқы лигноцеллюлозалық құрылымның элементтері сақталып, талшықты-капиллярлық және поралы жүйе қалыптасқан. Акмеко биокөмірі, керісінше, минералдық компоненттердің қатысуына байланысты тығыз агрегатталған құрылымымен және олардың шеттеріндегі микрокапиллярлық қуыстарымен ерекшеленді. Вермикулитте қабатты минералдық құрылым мен термиялық эксфолиация нәтижесінде қалыптасқан ашық қуыстар басым болды.

Сорбенттердің құрылымдық ерекшеліктерімен қатар, олардың химиялық құрамы да сорбциялық қасиеттері мен микроорганизмдерді иммобилизациялау қабілетін анықтайтын маңызды фактор болып табылады. Осыған байланысты келесі кезеңде зерттелген сорбенттердің элементтік құрамы және олардың беткі қабатындағы негізгі химиялық элементтердің таралу ерекшеліктері қарастырылды.

3.4.2 Сорбенттердің құрамына элементтік талдау

Сорбенттердің элементтік құрамы екі әдіспен зерттелді: индуктивті байланысқан плазмалы оптикалық эмиссиялық спектроскопия үлгінің жалпы химиялық құрамындағы элементтер концентрациясын анықталды. Энергия-дисперсиялық рентгендік спектроскопия (SEM-EDX) материалдың беткі қабатындағы элементтердің салыстырмалы үлесін көрсетті.

ББ жақсы карбонизацияланған органикалық матрицаға ие: SEM-EDX бойынша көміртектің (C) массалық үлесі 80,14% деңгейінде анықталды. Бұл биокөмірдің жақсы карбонизацияланған тұрақты органикалық матрицаға ие екенін көрсетті. Ал минералдық құрамда кремний (Si) басым элемент ретінде ерекшеленіп, оның жоғары концентрациясы өсімдіктердің стресс төзімділігін арттыратынын зерттеулер арқылы дәлелденді [246,247]. *Le* және т.б. (2014) [248] бидай қалдықтарын пиролиздеу нәтижесінде Si-дің сақталуы топырақтың құрылымдық тұрақтылығын арттыратынын көрсеткен. Кальций (Ca) мен калийдің (K) айтарлықтай жинақталуы ББ-інің топырақ құнарлылығын жақсартудағы потенциалын растайды. Темірдің беттік үлесі төмен болғанымен, жалпы мөлшері жоғары - бұл оның биокөмірдің терең қабаттарында шоғырланғанын білдірді. ББ топырақтың көміртек қорын байытып қана қоймай, Si, Ca және K арқылы өсімдіктерді қажетті элементтермен қамтамасыз ете алатын тиімді агромелиорант екендігін көрсетті (28-сурет, 10-кесте).

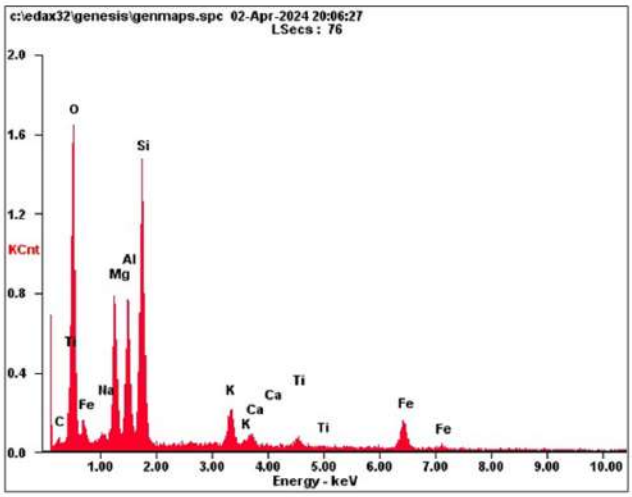


Element	Wt%	At%
C	80.14	87.18
O	11.57	9.45
Mg	0.23	0.13
Al	0.36	0.17
Si	4.50	2.09
K	0.54	0.18
Ca	1.95	0.64
Fe	0.70	0.16
Matrix	Correction	ZAF

Сурет 28 - Бидай биокөмірінің EDS элементтік құрамы (массалық үлес Wt% және атомдық үлес At%).

Кесте 10 - Сорбент үлгілеріндегі элементтердің массалық концентрациясы

Элемент	Бидай биокөмірі	Вермикулит	Ағынды су тұнбасынан алынған биокөмір	Мискантус биокөмірі
Концентрациясы (мг/г)				
Mg	5,79 ± 1,21	123,17 ± 0,95	15,86 ± 1,68	17,15 ± 1,32
Si	269,52 ± 1,27	178,55 ± 0,74	81,06 ± 0,95	165,24 ± 1,59
P	7,21 ± 0,72	5,66 ± 0,34	117,18 ± 0,94	26,45 ± 1,10
S	8,28 ± 0,45	22,83 ± 0,45	25,82 ± 0,42	31,41 ± 0,76
K	57,22 ± 0,66	74,68 ± 0,42	17,10 ± 0,32	98,77 ± 1,09
Ca	91,48 ± 0,75	25,82 ± 0,42	172,55 ± 0,73	239,57 ± 1,50
Mn	2,58 ± 0,33	-	5,86 ± 0,16	3,40 ± 0,59
Fe	101,89 ± 0,67	15,86 ± 2,68	74,68 ± 0,42	13,11 ± 0,67
Br	0,07 ± 0,03	-	0,20 ± 0,01	0,26 ± 0,09
Rb	0,08 ± 0,04	-	0,08 ± 0,02	0,16 ± 0,11
Sr	0,60 ± 0,04	-	1,97 ± 0,02	0,97 ± 0,12
Pb	-	-	0,17 ± 0,02	0,13 ± 0,09
Cr	14,52 ± 0,28	-	0,13 ± 0,10	-
Ni	4,86 ± 0,35	-	0,25 ± 0,12	-
Cu	0,73 ± 0,53	-	-	-
Zn	1,20 ± 0,86	-	5,66 ± 0,34	-
Al	-	81,06 ± 0,95	36,22 ± 1,24	-
Ti	-	7,08 ± 0,19	7,08 ± 0,19	-
Na	-	43,23 ± 1,41	36,22 ± 1,24	-

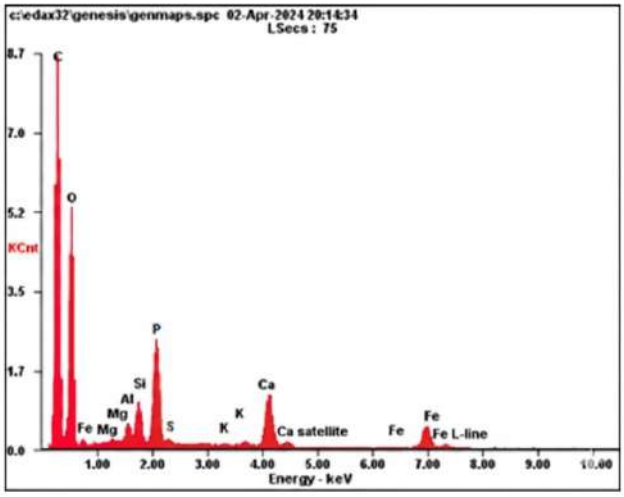


Element	Wt%	At%
C	4.36	8.03
O	37.20	51.41
Na	0.45	0.44
Mg	9.06	8.24
Al	9.66	7.91
Si	18.55	14.61
K	4.75	2.69
Ca	1.47	0.81
Ti	1.75	0.81
Fe	12.75	5.05
Matrix	Correction	ZAF

Сурет 29 - Вермикулиттің EDS элементтік құрамы (массалық үлес Wt% және атомдық үлес At%).

В бойынша кешенді талдау (29-сурет, 10-кесте) нәтижесінде Si мен Al-дің басымдығы оның типтік минералды құрылымды қаңқасын айқындады. Mg-дің аса жоғары концентрациясы топырақтың катион алмасу

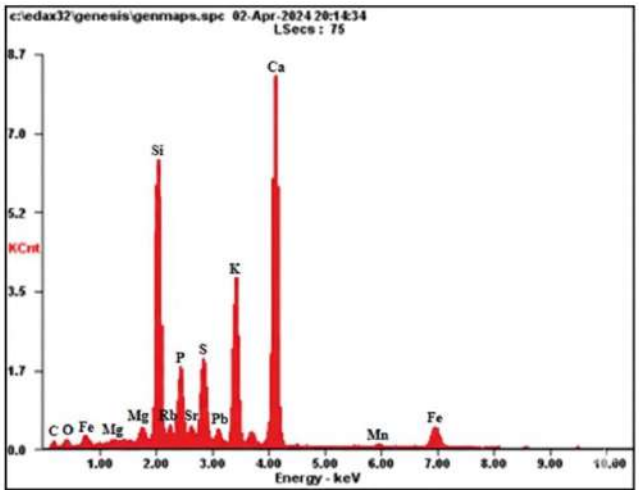
сыйымдылығын арттырудағы шешуші рөлін дәлелдеді. Mg мен Si мөлшерінің жоғарылығы топырақ құрылымы мен су ұстамдылығын жақсартатынын ауыл шаруашылығы зерттеулері растады [249].



Element	Wt%	At%
C	52.19	48.61
O	30.95	33.12
P	11.72	6.24
Ca	9.25	3.81
Si	4.60	2.41
Fe	3.83	1.10
Al	3.05	1.11
Mg	0.82	0.56
S	0.53	0.27
K	0.46	0.20
Matrix	Correction	ZAF

Сурет 30 - Акмеко биокөмірінің EDS элементтік құрамы (массалық үлес Wt% және атомдық үлес At%).

АБ нәтижелері (30-сурет, 10-кесте) бойынша C пен O-нің басымдығы органикалық матрицаның үстемдігін көрсетіп, өсімдіктер мен микробтар үшін тұрақты қорғаныстық қор ретінде қызмет ете алатынын дәлелдеді [250]. Ca мен P-дың жоғары концентрациялары оның функционалдық белсенділігін айқындайтын басты минералдық компоненттер болып табылады: бұл қасиет АБ-ін баяу әсер ететін P тыңайтқышы ретінде қарастыруға негіз береді [251]. Gondek және т.б. (2019) [58] мұндай биокөмірді баяу әсер ететін фосфор тыңайтқышы ретінде жоғары бағалады. Si, Fe және Al пиктерінің екі әдісте де үйлесімді болуы материалдың тұрақты алюмосиликатты-темірлі кешенімен сипатталды [253]. Бұл элементтердің өзара байланысы АБ-нің тек қоректік ресурс қана емес, сонымен қатар топырақ құрылымын жақсартатын және ауыр металдардың (Pb, Cr, Ni) төмен деңгейіне байланысты экологиялық қауіпсіз болып табылатын полифункционалды мелиорант екенін ғылыми түрде негіздеді [254].



Element	Wt%	At%
C	0.36	0.03
O	0.20	0.41
Mg	2.84	1.75
Si	25.72	18.32
P	4.39	2.12
S	4.89	3.46
K	15.37	8.91
Ca	39.72	14.79
Mn	0.56	0.15
Fe	2.17	0.58
Matrix	Correction	ZAF

Сурет 31 - Мискантус биокөмірінің EDS элементтік құрамы (массалық үлес Wt% және атомдық үлес At%).

МБ ерекше силикатты-кальцийлі фазаның үстемдігімен сипатталды (31-сурет, 10-кесте). Нәтижелер бойынша Ca мен Si-дің басымдығы биокөмірдің минералды қаңқасын құрап, топырақ қышқылдығын бейтараптандыруда және өсімдік тіндерінің механикалық беріктігін арттыруда стратегиялық ресурс болатынын дәлелдеді [255]. Одан бөлек K мен Ca-дің үстемдігі K тапшы топырақтарда тиімділігін көрсетеді, ұқсас зерттеулерде МБ өсімдік өнімділігін 15-30%-ға арттырғаны анықталған [245]. K, S және P пиктерінің екі әдісте үйлесімді болуы материалдың бай қоректік-минералды кешенін сипаттады. Fe-дің қатысуы Мискантус биокөмірінің тек мелиорант ғана емес, топырақ микрофлорасы үшін оңтайлы буферлік орта қалыптастыратын полифункционалды биостимулятор екені ғылыми тұрғыдан негізделді.

Берілген деректер сорбенттердің элементтік құрамы олардың ауыл шаруашылығында қолдануға жарамды ерекше қоректік профильдері бар екенін айқындайды. Дегенмен, сорбенттің тасымалдаушы ретіндегі тиімділігі тек химиялық құраммен ғана емес, оның физикалық құрылымымен - атап айтқанда, меншікті беттік ауданымен, пора өлшемімен және поралылығы дәрежесімен тікелей анықталады. Осы тұрғыдан зерттелген сорбенттердің беттік және поралы құрылым параметрлерін кешенді бағалау ғылыми негіздің маңызды буыны болып табылады.

3.4.3 Сорбенттердің беттік және поралық құрылымын сипаттау

Сорбенттердің беттік ауданның жоғарылығы бактерия жасушаларының сорбентке бекінуін жеңілдетіп, иммобилизация тиімділігін арттырса, поралы құрылым микроорганизмдердің сыртқы стресс факторларынан қорғалуына қолайлы микроорта қалыптастырады. Тасымалдаушылардың текстуралық қасиеттеріндегі айқын айырмашылықтар бастапқы шикізат пен пиролиз жағдайларының сорбент құрылымына күшті әсерін көрсетеді.

Бидай биокөмірінің (ББ) текстуралық қасиеттері төмен температурадағы азоттың адсорбция-десорбция әдісі арқылы зерттелді. Алынған изотерма IUPAC жіктемесіне сәйкес IV типке жатады, бұл материалдың негізінен мезопоралы құрылымға ие екенін көрсетті. ББ-нің меншікті беткі ауданы 17м²/г құрады. Бұл көрсеткіш көбіне микропоралардың қарқынды түзілуінен қарағанда поралардың кеңеюі басым болатын жағдайларда алынатын биокөмірлерге тән орташа дамыған беткі құрылымды сипаттайды. Адсорбция тармағы бойынша BJH әдісімен есептелген жалпы пора көлемі 12.9 мм³/г болды, бұл материалдың мезопоралы табиғатын қосымша растайды. Пора өлшемдерінің таралуын талдау нәтижесінде поралардың негізгі бөлігі 2-5 нм диапазонында орналасқаны анықталды. Микропора көлемінің өте аз болуы ББ-дегі адсорбциялық үдерістердің негізінен мезопоралардың қолжетімділігімен анықталатынын көрсетеді (11-кесте). Меншікті беткі ауданының төмен болуы, өсімдік қалдықтарынан орташа температурада алынған биокөмірлерге тән [256].

Кесте 11 - Сорбенттердің поралық және беттік сипаттамалары

Сорбент	Беткі ауданы (BET), м²/г	Vмикропора, мм³/г	Sмезопора, м²/г	Vжалпы, мм³/г
Бидай биокөмірі	17	2.724	7.05	12,9
Вермикулит	23.24	8.5	23.25	54.96
Акмеко биокөмірі	59	17	24	109
Мискантус биокөмірі	174	54	70,7	240
Ескерту: Сорбенттердің меншікті беткі ауданы (BET), микропора көлемі (Vмикро), мезопора бетінің ауданы (Sмезо) және жалпы пора көлемі (Vжалпы) физикалық адсорбция әдісімен анықталды. Кестеде аспаптық талдау нәтижелері көрсетілгендіктен, статистикалық өңдеу және орташа қателік (±SE) берілмеді.				

Вермикулиттің меншікті беткі ауданы 23.24 м²/г-ге тең болды, яғни адсорбциялық процестердің жүруі үшін жеткілікті белсенді бет қалыптасқанының көрсеткіші. Пора көлемін бағалау барысында үлгінің жалпы пора көлемі шамамен 54.96мм³/г екені анықталды. Сонымен қатар, DR әдісі бойынша микропора көлемі 8.5 мм³/г шамасында болды, яғни беттік көрсеткіш салыстырмалы түрде аз екенін білдіреді. Орташа пора радиусы BET әдісі бойынша 4.73 нм яғни мезопора ауданы 23.25 м²/г болды. Бұл көрсеткіштер IUPAC жіктемесіне сәйкес материалдың мезопоралы құрылымына жататынын дәлелдеді.

Акмеко биокөмірінің поралы құрылымы мен беткі сипаттамалары жақсы дамыған поралы құрылымды көрсетеді. BET әдісі бойынша меншікті беткі ауданы 59 м²/г құрады, бұл физикалық және химиялық өзара әрекеттесулер үшін қолжетімді беткі ауданның айтарлықтай жоғары екенін білдірді. Материалда микро- және мезопоралардың қатар болуы оның текстуралық құрылымының күрделілігін арттырды. Биокөмірдің микропора көлемі 17мм³/г деңгейінде анықталды. Мезопоралардың беткі ауданы 24 м²/г және жалпы пора көлемі 109 мм³/г құрап, материалдың жоғары поралы құрылымын сипаттады. *Guan және т.б.* [101] еңбектерінде ағынды сулар тұнбасынан алынған биокөмір жоғары дамыған поралы құрылымымен, BET беткі ауданының жоғары мәндерімен және микропоралары басым.

Мискантус биокөмірінің меншікті беткі ауданы 174 м²/г-ге тең болды. Бұл көрсеткіш ұқсас жағдайларда алынған көптеген лигноцеллюлозалық биокөмірлермен салыстырғанда жақсы дамыған беткі құрылымды көрсетті [245]. Беткі ауданнан бөлек, материалдың жалпы поралы құрылымы су адсорбциясы арқылы жанама түрде бағаланды. Биокөмірдің жалпы пора көлемі 240 мм³/г, ал микропора көлемі 54 мм³/г құрады. Микропоралардың жалпы пора көлеміндегі үлесі шамамен 22,5% болды.

Келесі кезеңде ризобактериялар мен сорбенттер негізінде тиімді микробиологиялық композиттерді қалыптастыруға бағытталған зерттеулер жүргізілді. Бұл кезеңде жоғары биологиялық белсенділік көрсеткен штамдар іріктеліп, оларды сорбенттерге иммобилизациялаудың оңтайлы параметрлері анықталды.

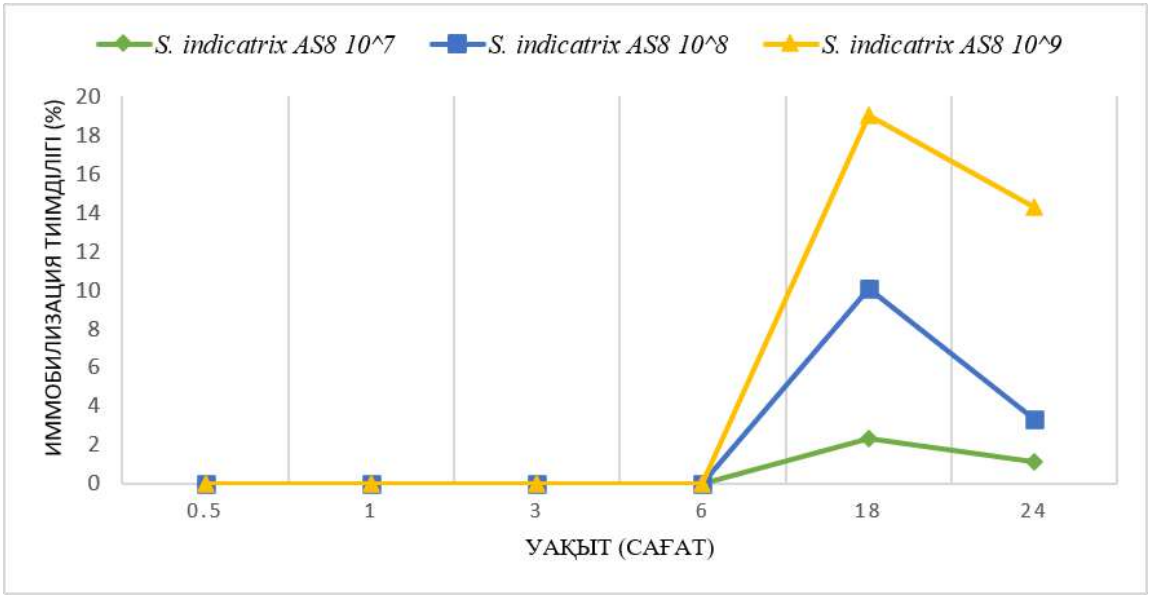
3.5 Сорбент-ризобактериялық композиттерді қалыптастыру

3.5.1 Штамды іріктеу және иммобилизация параметрлерін оңтайландыру

Бактериялық жасушалардың сорбент бетіне иммобилизациясы өзара байланысқан адсорбция-десорбция процестерімен анықталды, бұл процестер бастапқы жасуша концентрациясының әсеріне, уақытқа тәуелділікпен және штамға тән ерекшеліктермен сипатталды. Иммобилизация тәжірибелері бактериялардың сорбент бетіне адгезиясы күрделі әрі уақытқа тәуелді көпфакторлы процесс екенін көрсетті. Бұл үдеріс штамм физиологиясымен, инокулюмды стандарттау деңгейімен және тасымалдағыштың текстуралық қасиеттерімен анықталды.

Экспериментте бактерияларды иммобилизациялау тасымалдағышы ретінде Акмеко биокөмірі таңдалды. Оның сорбциялық-поралы құрылымының зерттелетін ӨӨЫР штамдарының өлшемі мен физиологиялық талаптарына оңтайлы сәйкестігіне негізделді: Акмеко биокөмірінің меншікті беттік ауданы (BET = 59 м²/г) және жалпы поралық көлемі (Vжалпы = 109 мм³/г) бидай биокөмірі мен вермикулитке қарағанда айтарлықтай жоғары болып, бактерия жасушаларының адгезиясы, биопленка түзуі және пора ішінде қорғалуы үшін жеткілікті орын мен қолайлы микроорта қамтамасыз етеді; ал мискантус биокөмірі параметрлері жоғары болғанымен, оның поралық құрылымында тым ұсақ микропоралардың басым болу ықтималдығын ескере отырып, Акмеко биокөмірі зерттеу мақсаттарына ғылыми және технологиялық тұрғыдан негізді таңдау болып табылды.

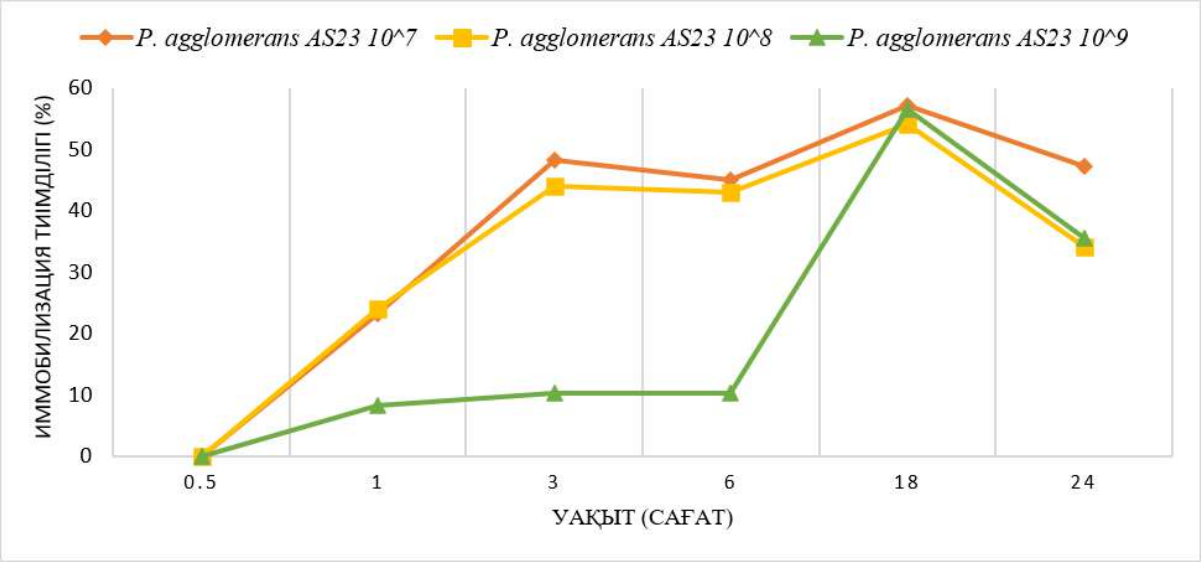
Иммобилизация процесін зерттеу барысында *Stenotrophomonas indicatrix AS8, Bacillus thuringiensis AS31* және *Pantoea agglomerans AS23* штамдарының әрқайсысының үш түрлі концентрациясы (10^7, 10^8 және 10^9 КТБ/мл) алты түрлі уақытқа (30 мин., 1 сағат, 3 сағат, 6 сағат,18 сағат және 24 сағат) тәуелділігі қарастырылды.



Сурет 32 - *S.indicatrix* AS8 штамының әртүрлі концентрациялардағы жасушаларының тасымалдаушыға иммобилизациялану динамикасы

Әр штамға жеке тоқталатын болсақ, 32-суретте *S. indicatrix* AS8 штамы үшін иммобилизацияның баяу әрі шектеулі өсуі жасуша-сорбент байланыстарының бастапқыда тұрақсыз болғанын көрсетеді. Барлық үш концентрацияда (10^7, 10^8 және 10^9 КТБ/мл) 6 сағатқа дейін иммобилизация тиімділігінің (ИТ) мәндерінің байқалмауы адсорбциядан гөрі десорбцияның немесе қайтымды бекінудің басым жүргенін білдіреді, яғни жасушалар сорбент бетіне уақытша жабысып, кейін қайта бөлініп отырған. Мұндай құбылыс бастапқы бекіну кезеңінде ван-дер-Ваальс, электростатикалық тартылыс және беткі гидрофобтық әсерлердің себебінен және Cabrera және т.б. (2014) [257] еңбегі бойынша бұл құбылыс тұрақты көпірлік байланыстар түзілгенге дейін орын алады. [258]. Әлсіз физикалық адсорбцияның механикалық әсерлер кезінде оңай бұзылатынын көрсеткен, сондықтан қысқа мерзімді тәжірибелер тіршілік қабілетін артық бағалауға алып келуі мүмкін екені атап өтілді [257]. Төмен және орташа концентрацияда жасушалар бір-бірімен және сорбентпен жеткілікті кооперативті матрикс түзбегендіктен, жүйе тепе-теңдікке баяу келеді, ал ұзақ инкубациядан кейін ғана аздаған оң ИТ мәндері байқалады. Ең жоғары иммобилизация деңгейі 10^9 КТБ/мл концентрациясында тіркеліп, шамамен 19%-ға жетті. Ал 10^8 КТБ/мл концентрациясында бұл көрсеткіш шамамен 10%, ал 10^7 КТБ/мл-де 2-3% болды. 24 сағаттан кейін барлық нұсқаларда ИТ мәні төмендегенімен, ең жоғары мән 10^8 КТБ/мл нұсқасында сақталды (шамамен 14-15%). *S. indicatrix* AS8 штамының ұзақ мерзімді инкубациядан кейін де ИТ мәнінің 20%-дан аспауы ғылыми еңбектер бойынша бірнеше себептермен түсіндіреді: біріншіден, жасушалардың ұзақ мерзімді бекінуі әлсіз, ал десорбция қайта-қайта жүріп отырған [258,259]. Feng және т.б. (2023) зерттеулерінде [258], *Stenotrophomonas pavanii* DJL-M3 күріш сабаны биокөмірінде карбендазим биоремедиациясында баяу колонизация көрсеткен, тұрақты бекіну тек 48 сағаттан кейін жүзеге асқан, бұл ерте кезеңдегі тұрақсыз адгезияның табиғи

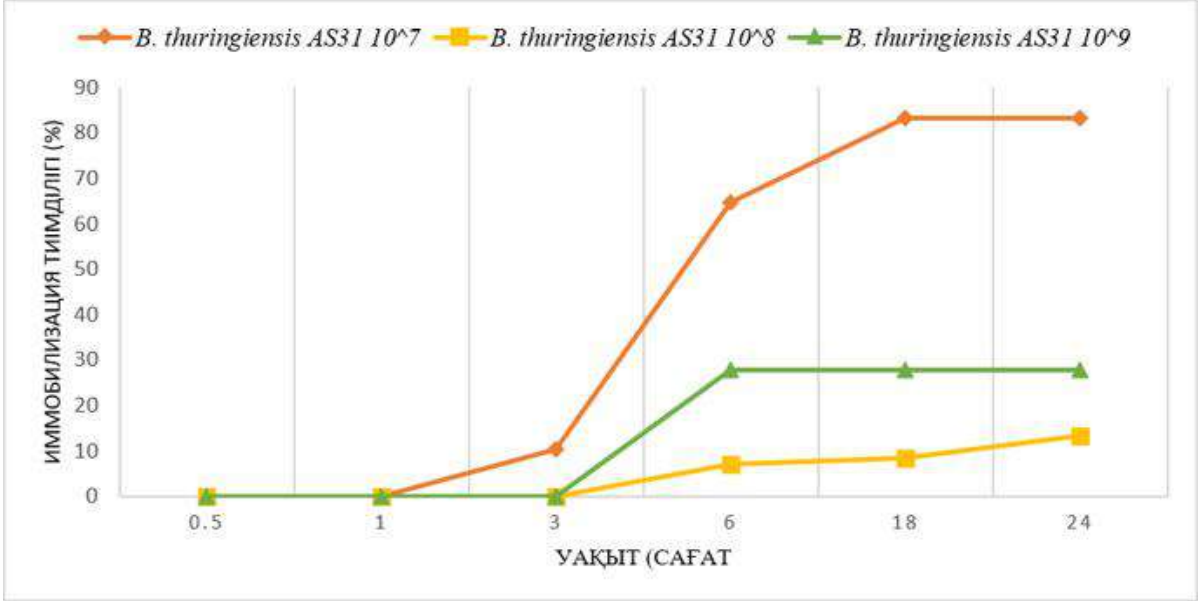
құбылыс екенін дәлелдейді. Екінші әсер ететін факторлардың бірі - бактерияның полярлық шашақтары (flagella) сорбенттің пораларын бітеп, экзополимер шығаруы жеткіліксіз болғандықтан терең енуді шектеуі қарастырылады [258]. Sun және т.б. (2022) [260] гибридтік матрицаларда ұқсас әлсіздік байқалған, өңделмеген беттерде сақталу тек 20%-дан аспаған, бұл қозғалысты бәсеңдету немесе кеңірек поралар қажет екенін көрсетті. Осылайша, *S. indicatrix AS8* штамының сорбентке иммобилизациялану деңгейінің төмен болуы жасушалардың тұрақсыз адгезиясымен, десорбция процестерінің жүруімен және бактериялардың сорбент пораларына терең енуін шектейтін морфологиялық-физиологиялық ерекшеліктерімен байланысты болуы мүмкін.



Сурет 33 - *P. agglomerans AS23* штамының әртүрлі концентрациялардағы жасушаларының тасымалдаушыға иммобилизациялану динамикасы

P. agglomerans AS23 штамының иммобилизация тиімділігі *S. indicatrix* AS8 штамымен салыстырғанда айтарлықтай жоғары болғанымен, 33-суретте *P. agglomerans AS23* штамында инокулюм концентрациясына тәуелді адсорбция-десорбция процестерінің ауысуы байқалды. Төменгі концентрацияларда (10^7 және 10^8 КТБ/мл) процесс алғашқы сағаттарда қарқынды жүріп, 1-сағаттың өзінде иммобилизация тиімділігі 23–24%-ды, ал 3-сағатта 44–48%-ды құрады. Керісінше, жоғары концентрацияда (10^9 КТБ/мл) алғашқы 6 сағат ішінде байланысу көрсеткіші 10%-дан аспайтын баяу динамика байқалды.Үш концентрация үшін де иммобилизацияның максималды оптимумы 18-сағатта тіркелді: 10^7 КТБ/мл титрі үшін – 57%, 10^9КТБ/мл үшін – 56%, ал 10^8 КТБ/мл үшін – 54%. Алайда, 24 сағаттық инкубациядан кейін 10^8 және 10^9 КТБ/мл үшін тиімділік 34–35%-ға дейін күрт төмендесе, 10^7 КТБ/мл концентрациясында байланысу деңгейі 47% шамасында тұрақты сақталды. Бұл штамм инокулюм концентрациясына сезімталдық танытып, иммобилизация тиімділігі тербелетінін көрсетті. Тао және әріптестерінің зерттеу жұмысында (2018) [261] *P. agglomerans* қатысқан минералдық жүйелерде де ұқсас құбылыс сипатталған: катионмен

модификацияланған саз минералы бактериялардың адсорбциясын күшейтті, ал адсорбция тиімділігі минералдың беткі қасиеттері мен zeta-потенциал айырмасына байланысты өзгерген. Бастапқы кезеңде жасушалар мен сорбент беті арасында уақытша тұрақсыз байланыс пайда болды, ал кейінірек неғұрлым орнықты бекіну қалыптасты. Мұндай құбылыс бастапқы адсорбцияның әлі толық тұрақтанбағанын, яғни жасуша-сорбент беті өзара әрекеттесуінің динамикалық және қайтымды сипатта болғанын көрсетеді. Басқаша айтқанда, алғашқы бекіну фазасынан кейін жүйеде десорбция басым болып, уақытша тепе-теңдік бұзылған. Xiang және т.б. (2022) [262] зерттеулерінде *Pantoea* ағаш биокөмірінде иммобилизденген кезде, шамадан тыс биомасса (10^9 КТБ/мл) бастапқы 30% жойылуды тудырып, экзополисахаридті (ЭПС) көпірлер арқылы тұрақтанған. Бактериялардың экзополисахаридтер түзуі сорбент пен жасуша арасында полимерлік көпірлер түзіп, адгезиялық өзара әрекеттесулерді күшейтеді. Kumar және т.б. (2022) [263] еңбегінде штамның жоғарғы концентрациясында адсорбцияның қайта басым болуы көпшілік жасушалардың бір мезетте бетке орналасып, агрегат түзуі және ЭПС-ке негізделген көпіршелердің қалыптасуымен байланысты болуы ықтимал. Бұл тұжырым *P. agglomerans* CPHN2 геномдық талдауымен де үйлеседі: онда хемотаксис, қозғалғыштық, адгезияға жауапты гендер анықталып, олардың тиімді колонизация үшін маңызды екені көрсетілген [263]. Сонымен қатар, Ansari және әріптерстерінің (2022) *P. agglomerans* FAP10 туралы зерттеуде [264] биоқабықша және ЭПС түзу қабілеті бұл штамның ұзақ уақыт колонизацияда тұрақты болуына мүмкіндік беретіні айтылған, яғни адгезияның тек бастапқы бекіну емес, кейінгі тұрақтану кезеңі де штамның физиологиялық қасиетіне тәуелді.



Сурет 34 - *B. thuringiensis* AS31 штамының әртүрлі концентрациялардағы жасушаларының тасымалдаушыға иммобилизациялану динамикасы

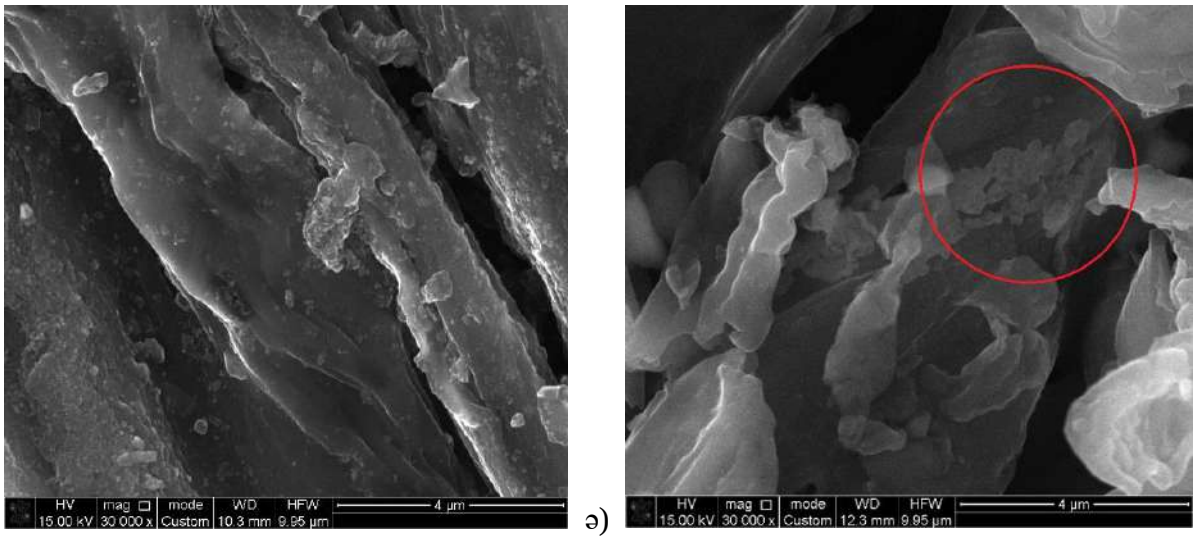
34-сурет негізінде *B. thuringiensis* AS31 штамының иммобилизация дәрежесінің инокулюм концентрациясы мен уақытқа тәуілділігіне келетін болсақ, инкубацияның бастапқы кезеңінде, иммобилизация мәндері төмен деңгейде болғанымен, сорбент бетімен ұзақ уақыт жанасу нәтижесінде жүйе тұрақтанып отырды. Эксперимент нәтижелері көрсеткендей, барлық коцентрацияда алғашқы 1 сағат ішінде иммобилизация байқалған жоқ. Ең жоғары сорбциялық белсенділік 10^7 КТБ/мл төменгі концентрациясында тіркелді: 3-сағатта байланысу тиімділігі 10.5%-ға жетсе, 6-сағатқа қарай 64.7%-ға дейін күрт өсті. Инкубацияның 18-сағатында иммобилизация тиімділігі максималды 83.3% деңгейіне жетіп, 24-сағатқа дейін осы жоғары деңгейде (83.3%) тұрақты сақталды.Концентрация өскен сайын иммобилизация көрсеткіші төмендеді: 10^9 КТБ/мл титрінде процесс 3-сағаттан кейін басталып, 6-сағатқа қарай 27.8% максимумына жетті және 24 сағат бойы осы деңгейде қалды. Ал 10^8 КТБ/мл клнцентрациясында байланысу өте баяу жүріп, 6-сағатта 7.1%-ды, ал 24-сағаттың соңында нәтижелі максимумы 13.3%-ды құрады. *Bacillus thuringiensis AS31* штамы үшін 10^7 КТБ/мл бастапқы титрі абсолютті оңтайлы болып табылады, өйткені ол 18–24 сағат ішінде жасушалардың сорбциялық матрицаға максималды және тұрақты иммобилизациялануын (83.3%) қамтамасыз етеді. Ірі жасушалардың жоғары тығыздығында (10^8 және 10^9 КОЕ/мл) туындайтын кеңістіктік кедергілер сорбент сыйымдылығын айтарлықтай шектейді. ИТ мәнінің жоғарылауы *Bacillus* туысына тән эндоспора түзу қабілеті, тейхой қышқылдары арқылы зарядтық тартылыс және ұзақ инкубация кезінде беткі адгезияның тұрақтануымен түсіндіріледі [259,265]. Zhou және т.б. (2024) зерттеуінде [266] *Bacillus subtilis* бидай биокөмірінде иммобилизацияланып, 40% бастапқы шығыннан кейін 72 сағатта 85% ұстап қалуды көрсетті. Сол сияқты *Bacillus thuringiensis* H38 штамының иммобилизациясы бойынша зерттеуде иммобилизденген бактериялар бос жасушалармен салыстырғанда әлдеқайда жоғары тиімділік көрсетіп, 36 сағатта ластаушыны жою деңгейі 98%-ға жеткен. Бұл *Bacillus* өкілдерінде ұзақ жанасу барысында сорбентке бекіну нығаятынын және бастапқы десорбция кейінгі кезеңде тежелетінін дәлелдейді [168].

Зерттеу нәтижелері бойынша иммобилизация үрдістері Schommer және т.б. (2024) [88], зерттеулерімен үндесіп, Грам-теріс *Stenotrophomonas/Pantoea* штамдарының уақытша өзгергіштігі мен *Bacillus* штамдарының тұрақтылығын салыстырды. Айырмашылықтарды гидрофильділік градиенттері мен шашақ қозғалысының тартылу әсері ретінде түсіндіріледі. Zhang және т.б. (2017) зерттеулерінде [267] *Bacillus*-ты биокөмірде иммобилизациялағанда ұзақ мерзімді адгезиясы споралы штамдардың басым екенін көрсетті. Барлық штамның бастапқы концентрациясында инкубацияның алғашқы сағаттары (0,5-6 сағатта) ИТ төмен мәндерін көрсетті. Қысқа мерзімді адсорбция нәтижелері соңғы иммобилизация тиімділігін дәл болжай алмайды, ал тұрақты әрі берік бактериялық бекіну үшін ұзақ уақыттық инкубация қажет. Бұл әртүрлі штамдарды салыстыру үшін биомассаны нормалаудың маңыздылығын көрсеткен Jiang және т.б. (2024) [268]

зерттеулерімен сәйкес келеді. *S. indicatrix* AS8 ұзақ мерзімді иммобилизацияда төмен тиімділік көрсетсе, *P. agglomerans* AS23 биомасса мөлшеріне байланысты орташа және жоғары тұрақтану деңгейіне жетті. *B. thuringiensis* AS31 10^7 КТБ/мл концентрациясында және 18 сағаттық инкубациядан кейін ең жоғары және тұрақты иммобилизация тиімділігін көрсетті. Осы штамға тән ерекшеліктерді ескере отырып, әрі қарай зерттеулер үшін *B. thuringiensis* AS31 штамы 10^7 КТБ/мл бастапқы концентрацияда және 18 сағат иммобилизация уақытымен таңдалды. Келесі ретте иммобилизацияның оңтайлы параметрлері анықталғаннан кейін, түзілген сорбент-ризобактерия композиттерінің морфологиялық ерекшеліктерін бағалау және бактериялық жасушалардың сорбент бетінде таралуын зерттеу мақсатында СЭМ талдауы жүргізілді.

3.5.2 Сорбент-ризобактериялық композиттерді алу және олардың құрылымын СЭМ-талдау

Сканерлеуші электрондық микроскопия (СЭМ) тасымалдағыштардың иммобилизацияға дейінгі бет құрылымын және иммобилизациядан кейін бактериялық жасушалардың кеңістік бойынша таралуын талдау үшін қолданылды. СЭМ бақылаулары x1000, x10000 және x30000 үлкейту деңгейінде жүргізіліп, бактериялық жасушалардың морфологиясын және жасуша-тасымалдағыш өзара әрекеттесуін детальды түрде визуализациялауға мүмкіндік берді.



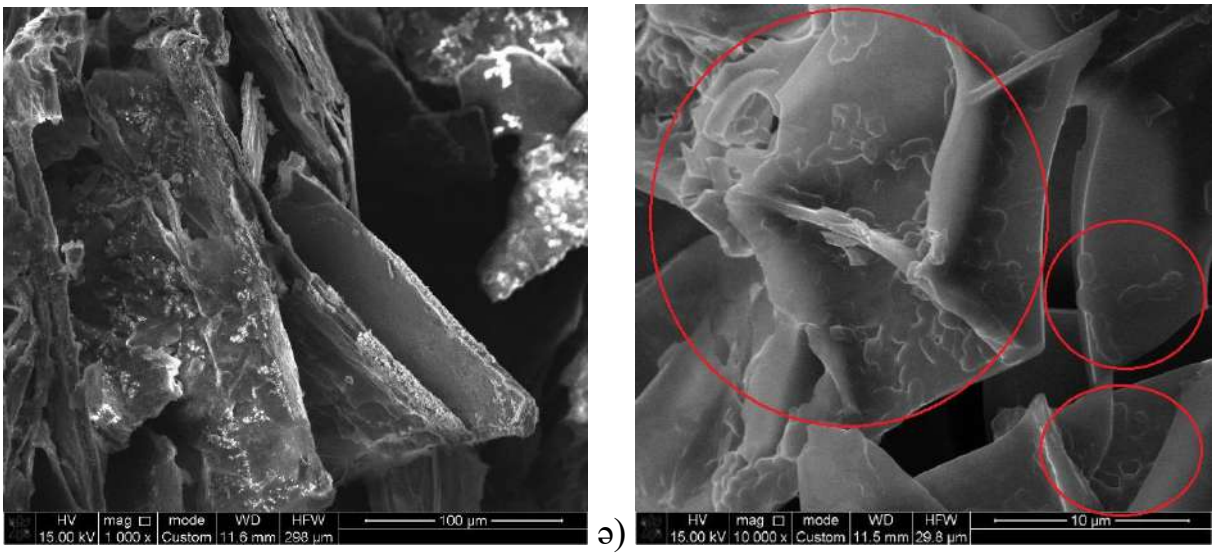
ә)

Сурет 35 - Бидай биокөмірінің (ББ) СЭМ арқылы сипатталуы. (а) Иммобилизацияға дейінгі ББ; (ә) Бактериялық иммобилизациядан кейінгі ББ.

35-суретте бидай биокөмірінің (ББ) иммобилизацияң дейінгі және кейінгі СЭМ суреттері ұсынылды. 35а-суретте иммобилизациядан бұрын ББ-нің СЭМ талдауы бетінің жоғары деңгейде әртүрлі және қырлы морфологиясын көрсетті. Сорбент беті әртүрлі және қалыпсыз морфологияға ие. Биокөмір матрицасы бетінде біркелкі емес фрагменттер мен поралардан тұрып, күрделі микротопографияны қалыптастырды. Биологиялық

құрылымдардың жоқтығы тасымалдағыш беті иммобилизацияға дейін бактериялық ластанудан таза болғанын растады.

Ал 35ә-суретте иммобилизациядан кейінгі ББ бетінде бактериялық жасушалардың нақты бекінгенін анық көруге болады. Таяқша пішінді бактериялық жасушалар негізінен беттегі қырлы құрылымдар мен микропораларға байланысты тасымалдағышқа тығыз орналасқан. Кейбір аймақтарда жасушалар біркелкі таралмай, жергілікті кластерлерде топтасқан сияқты көрінеді. Қызыл шеңбер ішіндегі фрагменттер иммобилизация үдерісінің жоғары тиімділігін көрсетіп, бактерия штамдарының қатты фаза бетінде тұрақталғанын айғақтайды.

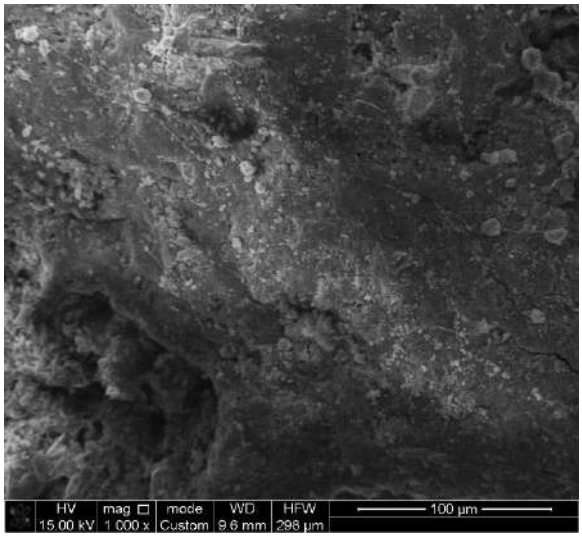


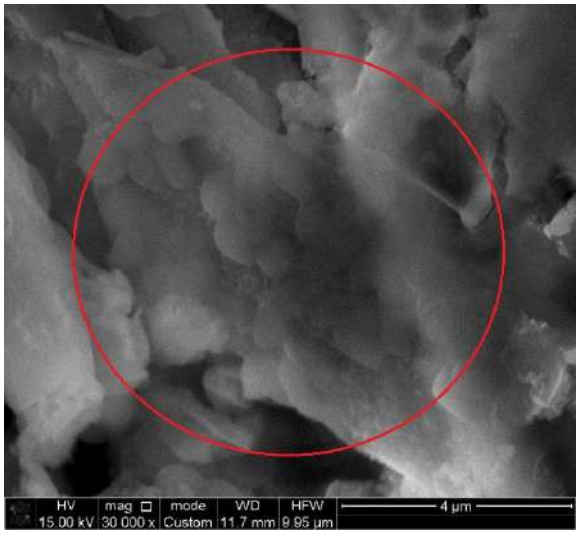
а) ә)

Сурет 36 - Вермикулиттің (В) СЭМ арқылы сипатталуы. (а) Иммобилизацияға дейінгі вермикулит; (ә) Бактериялық иммобилизациядан кейінгі вермикулит.

36а-суретте вермикулиттің қабатталған, қырлы және көпжолақты құрылымы анық байқалады, кейбір бөліктерінде жіңішке қабатшалар мен шағын саңылаулар бар. Қабаттар арасындағы саңылаулар мен дамыған поралы кеңістік сорбенттің жоғары меншікті бет ауданы болды. Бетінде қандай да бір биологиялық агенттердің байқалмауы үлгінің бастапқы күйін растайды және бактериялардың адгезиясы мен колонизациясын зерттеу үшін қолайлы матрица екенін көрсетеді.

36ә-суретінде иммобилизациядан кейінгі вермикулит микроструктурасы көрсетілген және оның ішінде бактериялық жасушалардың иммобилизденгенін байқауға болады. Графикалық түрде қызыл түспен ерекшеленген аймақтар сорбенттің қатпарлы рельефінде бактериялық жасушалардың микроагрегаттар түрінде орнығып, субстратпен тығыз байланыс орнатқанын дәлелдейді. Бактериялық жасушалар поралар арқылы құрылымға енгенін көруге болады. Мұндай орналастыру жасушалардың ұзақ мерзімді бекілуін қамтамасыз етеді. Қабаттардың ішіндегі микроорта жасушаларды қорғауға және олардың тұрақтылығын арттыруға мүмкіндік береді, бұл иммобилизация тиімділігін жоғарылатады.

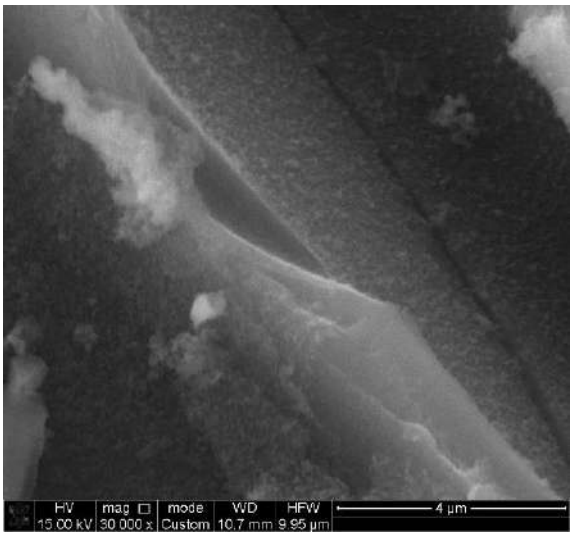
а) 

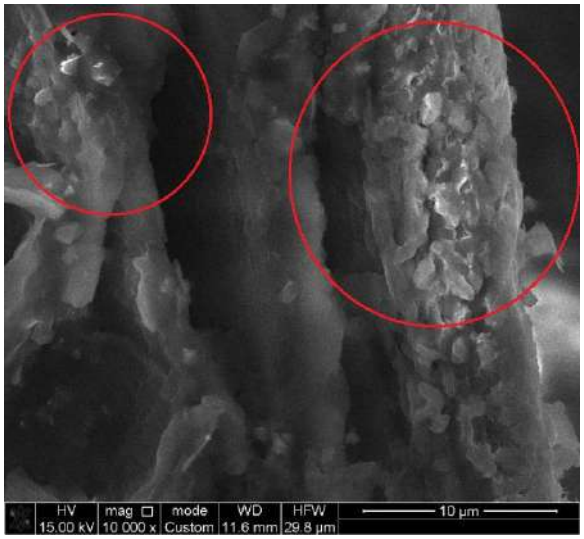
ә) 

Сурет 37 - Акмеко биокөмір (АБ) СЭМ арқылы сипатталуы. (а) Иммобилизацияға дейінгі АБ; (ә) Бактериялық иммобилизациядан кейінгі АБ.

37а-суретте иммобилизацияға дейін Акмеко биокөмірінің (АБ) беткі морфологиясы ББ-не қарағанда салыстырмалы түрде тығыз. Бетінде үлкен қуыстар саны шектеулі болғанымен, көптеген микропоралар мен қалыпсыз құрылымдар байқалды, бұл жергілікті микроорганизмдерді қалыптастырып, микробтардың бекінуіне жағдай жасай алады.

37ә-суретте иммобилизациядан кейін *B. thuringiensis* AS31 жасушалары x30000 үлкейту деңгейінде биокөмірдің бетінде анық көрінеді. Визуалды талдау жасушалардың көбінесе беттегі пораларда орналасқанын және биокөмір матрицасына тығыз адгезия көрсететінін көрсетті.

а) 

ә) 

Сурет 38 - Мискантус биокөмірінің (МБ) СЭМ зерттеуі. (а) Иммобилизацияға дейінгі МБ; (ә) Бактериялық жасушаларды иммобилизациялағаннан кейінгі МБ.

Мискантус биокөмірінің (МБ) СЭМ микросуреттерінің нәтижелері оның микроқұрылымдық ерекшеліктерін және оның бактерияларды

иммобилизациялауға тиімді екені анықталды. МБ-нің СЭМ зерттеуі 38а-суретте иммобилизация алдында оның поралық және талшықты бет құрылымы байқалды. Биокөмір матрицасы ұзын құрылымдық элементтер мен өзара байланысты саңылау желілерінен тұрады. Бұл оның өсімдік тектес шығу тегін көрсетті. Иммобилизацияға дейінгі бастапқы үлгі болғандықтан, талшықтардың жиектері мен ішкі қуыстары кез келген бөгде органикалық нысандардан (бактериялық жасушалардан) бос, таза күйінде бейнеленген.

Ал 38ә-сурет бойынша, иммобилизация үдерісінен кейін МБ бетінде бактериялық жасушалардың колонизациясы байқалады. Жасушалар талшықты құрылымдар бойымен және саңылаулар ішінде орналасқан шағын агрегаттар түрінде кездеседі. Суреттегі қызыл шеңбермен белгіленген аймақтарда бактериялардың субстратқа сәтті бекінгені көрінеді. Бактериялық жасушалар бойлық талшықты құрылымдарды және сорбциялық қасиетті арттыратын қуыстар мен саңылауларды тиімді пайдаланғанын көруге болады.

Осы зерттеуде алынған СЭМ нәтижелері көрсеткендей, сорбенттердің саңылау құрылымы мен бет морфологиясындағы айырмашылықтар бактерияларды иммобилизациялау тиімділігінде шешуші рөл атқарады. Нәтижелер сынақтан өткен сорбенттердің бактерияларды иммобилизациялау үшін қолайлы екенін және иммобилизация тиімділігі үрдістерімен сәйкес келетінін дәлелдейді. Ғылыми зерттеулер бойынша бактериялардың сорбентке адсорбциясы негізінен тасымалдаушының беткі ауданы, саңылау архитектурасы, гидрофобтық қасиеттері және макросаңылаулары сияқты физико-химиялық сипаттарына тәуелді [269]. Ерекше, жақсы дамыған саңылау жүйесіне ие сорбенттер иммобилизделген бактерияларды экологиялық стресс пен сыртқы факторлардан қорғап, оларды топыраққа енгізгеннен кейін ұзақ уақыт бойы тіршілігін сақтауға ықпал етеді [270,271].

B. thuringiensis AS31 бактерияларының СЭМ микрографтары таяқша тәрізді жасушаларды, айқын контурлары бар және тегіс бет морфологиясын көрсетті, бұл *Bacillus* тұқымдасына тән сипаттар. Жасушалардың көлденең диаметрі 0,93-1,40 μm аралығында өзгеріп, вегетативтік *Bacillus* жасушалары үшін хабарланған өлшемдер ауқымына сәйкес келеді. Көрінетін құрылымдық зақым немесе деформация байқалмады, бұл қолданылған тәжірибелік жағдайларда жасушалардың тұтастығы сақталғанын көрсетеді.

Үлкен және қолжетімді саңылаулары бар сорбенттер бастапқы жасушалық бекінуді және қорғалған микроорталарды қамтамасыз етеді, сонымен қатар жасуша-сорбент өзара әрекеттесулерінің күшеюі арқылы десорбцияны біртіндеп төмендетеді. Бұл құрылымдық бақылау ерте инкубация кезеңдерінде байқалған нөлдік иммобилизация тиімділігін түсіндіреді, өйткені бұл кезеңде адсорбция әлсіз және кері қайтарылатын өзара әрекеттерге негізделген, ал ұзақ уақыт байланыс кезінде жасушалар қолайлы микроортаға орналасып, биопленка тәрізді агрегаттар түзеді [88]. Бидай сабаны, Акмеко мен Мискантус биокөмірлері және вермикулит арасындағы айырмашылықтар көрсеткендей, шикізатқа тәуелді саңылау байланыстары мен бет химиясы иммобилизацияның жылдамдығы мен тұрақтылығына әсер етеді, бұл сорбент микроструктурасын адсорбция-десорбция динамикасы мен

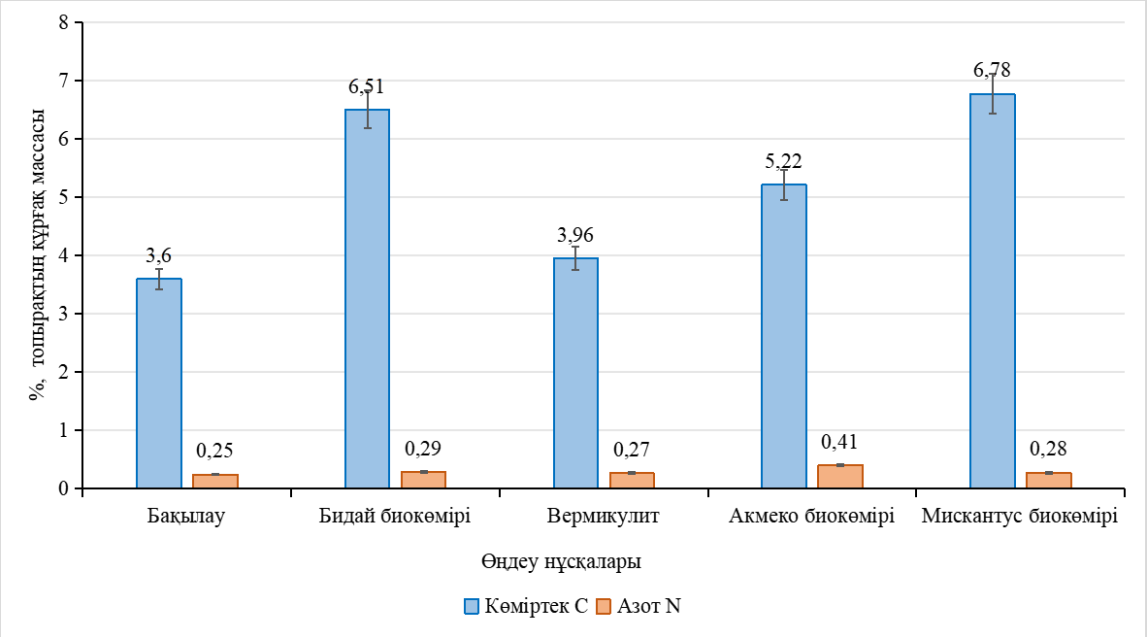
бактериялық жасушалардың ұзақ мерзімді сақталуымен тікелей байланыстырады [269].

Жоғарыда келтірілген нәтижелер сорбенттердің физика-химиялық қасиеттері мен олардың бактериялық жасушаларды иммобилизациялау қабілеті арасындағы тығыз байланысты көрсетті. Алайда сорбенттің жоғары адсорбциялық сыйымдылығы мен жасушалардың тұрақты бекітілуі олардың ауылшаруашылық дақылдарының өсуіне ықпал ету тиімділігін толық сипаттай алмайды. Сондықтан келесі бөлімде жүгері вегетациясына дейінгі және кейінгі кезеңдердегі топырақтың негізгі органикалық көрсеткіштерінің өзгерісі талданады.

3.6 Композиттердің «топырақ–өсімдік» жүйесіндегі тиімділігін жылыжай тәжірибесі жағдайында бағалау

3.6.1 Топырақтың негізгі физика-химиялық көрсеткіштерінің өзгеруі

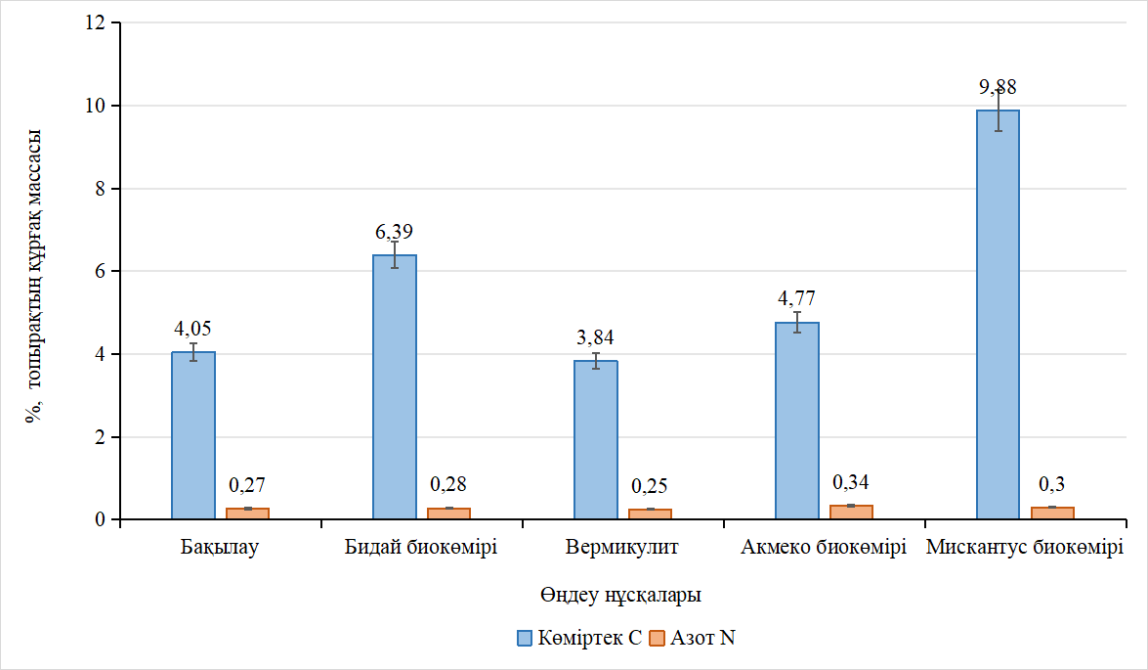
Топырақ-сорбент нұсқаларын зерттеуде топырақ үлгілері екі кезеңде алынды: өсімдік отырғызу алдында және жылыжай тәжірибесі аяқталғаннан кейін. Тәжірибеде модельдік дақыл ретінде жүгерінің (*Zea mays L.)* Ceklad 235 үшлиниялы гибриді таңдалды. Жүгері ризосфералық факторлар мен микробтық инокуляцияға сезімталдығы, бастапқы өсу кезеңіндегі тамыр жүйесінің қарқынды қалыптасуы және морфометриялық көрсеткіштерінің өзгерістерін бағалауға қолайлылығымен таңдалды [272–274]. Өсімдікті отырғызуға дейін топыраққа 5% сорбент енгізіліп, 7 тәулік инкубациялағаннан кейін топырақ-сорбент жүйелеріне физико-химиялық талдау жасалды. Бақылау ретінде сорбентсіз топырақтың өзі пайдаланылды.



Сурет 39 - Жүгері отырғызылғанға дейінгі сорбентпен өңдеудің әсері (7 тәуліктен соң)

Сорбент енгізу топырақтағы көміртек (C) және азот (N) құрамында өзгерістер тудырды. Сурет 39-те жүгері вегетациясына дейінгі кезеңде әртүрлі сорбенттік өңдеулердің топырақтағы жалпы N пен C мөлшеріне әсері көрсетілген. Вегетацияға дейінгі кезеңде бақылау нұсқасында жалпы C мөлшері 3,6% болса, сорбенттерді қолдану оның мөлшерін 3,96-6,78% аралығына дейін арттырды. Ең жоғары көрсеткіш МБ (6,78%) және ББ (6,51%) нұсқаларында тіркелді. Құрғақ массадағы C және N мөлшерінің айырмашылықтары негізінен енгізілген материалдардың табиғатына және пиролиздік өңдеу дәрежесіне байланысты болды, мысалы пиролиз күшейген сайын C үлесі артады, ал қолжетімді N-тың бір бөлігі жоғалады. Лигноцеллюлозалық шикізаттан яғни өсімдіктектес алынған биокөмірлерде C үлесінің жоғары болуы топырақ органикалық заттарын арттыруда тиімділігін көрсетеді [275]. Азот (N) динамикасы да сорбент енгізгеннен кейін айқын өзгерді, дегенмен бұл өзгеріс C-ке қарағанда ауқымы жағынан төмен болды. N мөлшері бойынша көшбасшы АБ нұсқасы болды - 0,41%, бұл шикізаттың органо-минералдық азот кешендеріне бай болуымен, сондай-ақ пиролиздің салыстырмалы төмен температурасында (300°C) ұшқыш газ азотты қосылыстардың сақталып қалуымен түсіндіріледі [276].

Сорбенттердің түріне байланысты көміртек (C) мөлшерінде статистикалық тұрғыдан айырмашылық анықталды ($p < 0.001$). Зерттелген барлық сорбенттер бақылау нұсқасымен салыстырғанда көміртек мөлшерінің статистикалық тұрғыдан маңызды артуын қамтамасыз етті ($p < 0.01$). Азот (N) мөлшері бойынша да сорбенттер арасында статистикалық тұрғыдан маңызды айырмашылық анықталды ($p < 0.01$). Атап айтқанда, Ақмеко биокөмірінде азот мөлшері басқа сорбенттермен салыстырғанда жоғары болды және бұл айырмашылық статистикалық тұрғыдан маңызды болды ($p < 0.05$).



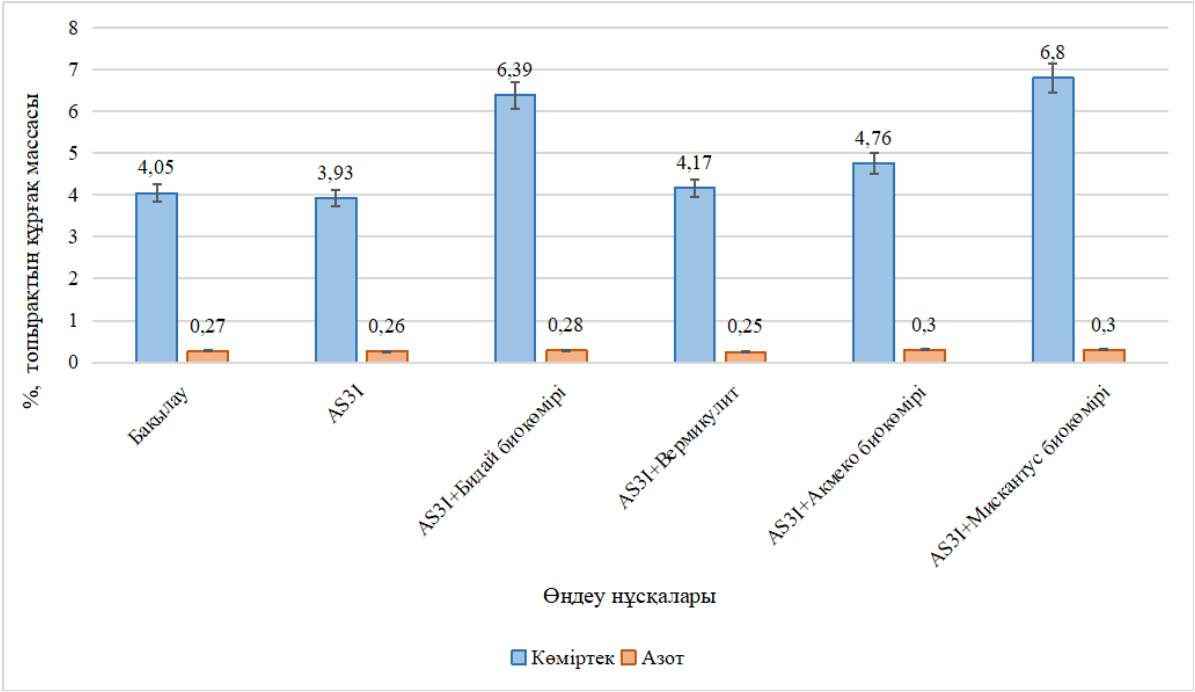
Сурет 40 - Жүгері вегетациясынан кейінгі сорбентік өңдеудің әсері

Вегетациядан кейінгі кезеңдегі 40-суретте сорбенттер әсерінен С мөлшерінің өзгерісі байқалды. Вегетация кезеңіндегі С мөлшерінің азаю ризосфералық микробтық белсенділіктің күшеюімен, яғни органикалық заттардың минерализация үдерісінің жеделдеуімен байланысты деп түсіндіріледі. Дегенмен МБ нұсқасы ең жоғары көрсеткішті сақтады (9,88%) және бұл динамика оның поралық құрылымы мен дамыған меншікті бетінің органикалық заттарды биологиялық ыдыраудан тиімді қорғайтынын айғақтайды. ББ (6,39%) және АБ (4,77%) нұсқалары да бақылаудан жоғары деңгей көрсетті. В нұсқасында С мөлшері бақылауға жуық деңгейде қалды. Бұл минералдық сорбенттердің органикалық көміртек қорын арттырмайтынын растайды [275].

Жалпы алғанда, екі кезеңді салыстыру сорбенттік өңдеулердің топырақтағы С-тің жиналуына оң әсер еткенін көрсетті. Вегетациядан кейін АБ нұсқасындағы N мөлшері 0,41%-дан 0,34%-ға дейін азайды - бұл табиғи заңдылық, өйткені өсімдіктер белсенді өсу кезеңінде қолжетімді азотты қарқынды сіңіреді [277]. Junior және әріптестерінің (2023) [83] зерттеулері ағынды су тұнба биокөмірінің агрегат тұрақтылығын жақсартып, топырақ pH-ын сәл көтеретінін көрсетті, бұл жанама түрде азотты сақтауды арттырады [84]. Өсімдік қалдықтарынан алынған биокөмір негізінде дайындалған микробтық инокулянттарды қолдану топырақтың органикалық зат мөлшерін, жалпы азотты, сондай-ақ фосфор мен калий құрамын айтарлықтай арттыратыны анықталды [262].

Сорбенттердің түріне байланысты көміртек (С) мөлшерінде статистикалық өңдеу бойынша айырмашылық анықталды ($p<0.001$). Көміртектің ең жоғары мөлшері мискантус биокөмірі қолданылған нұсқада, ал ең төменгі көрсеткіш вермикулит нұсқасында тіркелді. Бұл нәтижелер сорбенттердің химиялық құрамының көміртек мөлшеріне әсер ететінін көрсетеді. Азот (N) мөлшері бойынша да сорбенттер арасында статистикалық тұрғыдан маңызды айырмашылық анықталды $p < 0.001$).

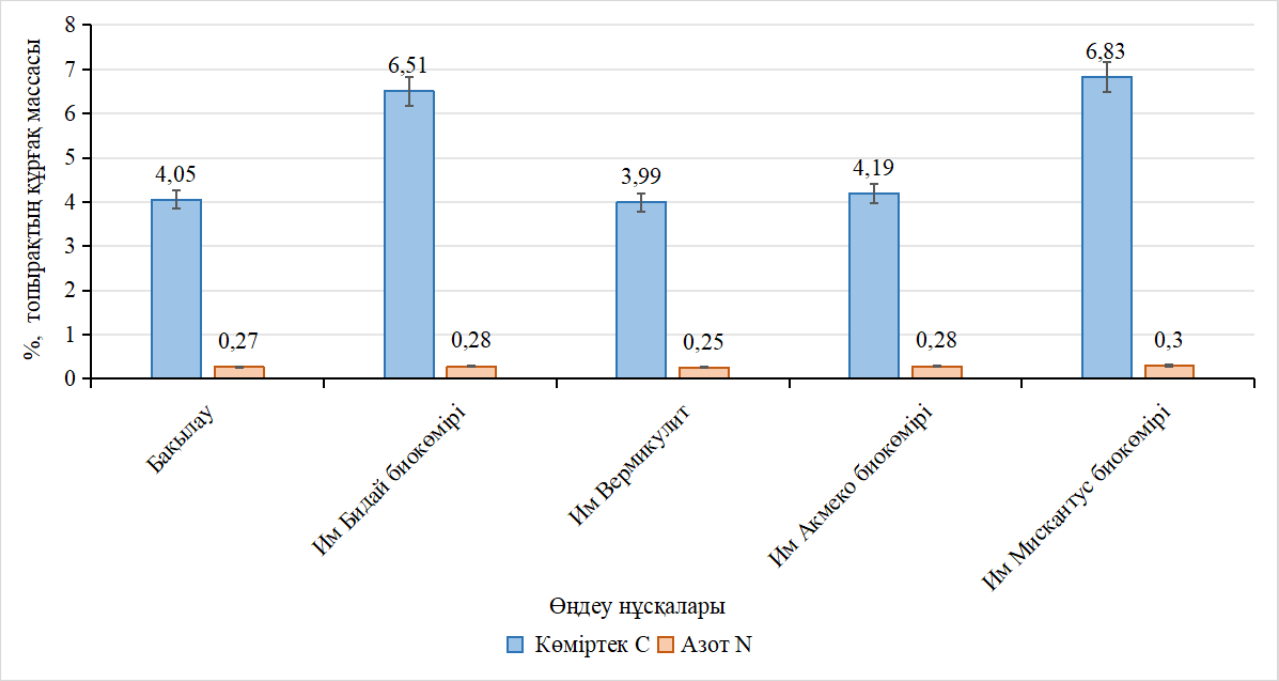
AS31 штамымен инокуляцияланған дәндерді сорбенттермен бірге қолдану топырақтағы С мөлшерінің едәуір артуына ықпал етті. Алайда жеке AS31 штамымен тікелей инокуляциялау бақылау нұсқасымен салыстырғанда С мөлшері төмендетті. Бұл ӨӨЫР штамдарының топырақтағы органикалық С-ды субстрат ретінде пайдаланып, CO_2 түрінде шығаруымен түсіндіріледі. Алайда сорбенттермен бірге қолданғанда, сорбенттер С-ды адсорбциялап, минерализациядан қорғайды, нәтижесінде С жоғарылайды.



Сурет 41 - Жүгері вегетациясынан кейінгі инокуляцияланған дәндер + сорбентпен өңдеудің әсері

41-суретте Ең жоғары көрсеткіш AS31 + МБ нұсқасында тіркеліп, бақылау көрсеткішінен шамамен 1,68 есе жоғары болды. Бұл әсер Мискантус биокөмірінің жоғары C, Ca және K мөлшерімен, сондай-ақ AS31 штамымен синергиялық әрекеттесуімен түсіндіріледі. Сонымен қатар AS31 + ББ (6,39%) және AS31 + АБ (4,76%) нұсқаларында да C мөлшерінің жоғарылағаны байқалды. Бұл сәйкесінше бидай биокөміріндегі Si, Cr, Fe және ағынды су тұнбасынан алынған биокөмірдегі P, Ca, Fe мөлшерінің жоғарылығымен байланысты. Бұл элементтер C-дың тұрақтылығын арттырып, минерализацияны баяулатады. Ал AS31 + В нұсқасында бұл көрсеткіш бақылау деңгейіне жақын болды, себебі вермикулит минералды сорбент болып табылады және органикалық C мөлшері өте төмен. Сонымен қатар, вермикулиттегі жоғары Mg мөлшері C-дың ыдырауын жылдамдатады [278,279].

Зерттеу нәтижелері бойынша тәжірибелік нұсқалар арасында көміртек (C) мөлшерінің статистикалық тұрғыдан айырмашылығы анықталды ($p < 0.01$). Азот (N) мөлшері бойынша да тәжірибелік нұсқалар арасында статистикалық бойынша айырмашылық анықталды ($p < 0.05$). Алынған нәтижелер тәжірибелік нұсқалардың көміртек мөлшеріне әсері айқын екенін көрсетеді.



Сурет 42 - Жүгері вегетациясынан кейінгі иммобилизденген сорбентпен өңдеудің әсері

42-суретте эксперименттік үлгілердегі көміртек (С) мөлшерін дисперсиялық талдау (ANOVA) нәтижелері зерттелген нұсқалар арасында жоғары статистикалық маңызды айырмашылықтардың бар екенін көрсетті ($p<0,001$). Азот (N) мөлшерін бағалау барысында да нұсқалар арасында статистикалық тұрғыдан маңызды айырмашылықтар анықталды ($p < 0,05$).

Иммобилизденген сорбенттерді қолдану нәтижесінде С мөлшері бақылаумен салыстырғанда Им ББ нұсқасында 60,7%-ға, Им АБ нұсқасында 3,5%-ға және Им МБ нұсқасында 68,6%-ға артқан, ал Им В нұсқасында 1,5%-ға төмендеген. Бұл нәтижені биокөмірдің поралық құрылымы, үлкен меншікті беті және микробтық колонизацияға қолайлы микрожайлар түзумен байланыстыруға болады; мұндай қасиеттер топырақтағы көміртекті бекітіп, оның минерализациясын баяулататыны зерттеулерде де көрсетілген [275]. Өсімдік тектес биокөмір мен азотфиксациялаушы бактерия штамының синергиялық әсері органикалық заттардың жиналуын едәуір ынталандырады. Осы тәжірибедегі С мөлшерінің өсу диапазоны 3,5-143,9%-ға дейін созылды, бұл әдебиеттердегі 13,2-155,1% аралықтағы деректермен үйлесімді [275]. Жалпы ғылыми деректер бойынша да биокөмір органикалық көміртекті және гумус фракцияларын арттырады, себебі оның ароматты құрылымы баяу шіриді және ыдырамайды. Mierzwa-Hersztek және әріптестерінің [280] зерттеуі Мискантус биокөмірін енгізгеннен кейін жалпы С-тің 35% ұлғаюын тіркеген, бұл шикізат көзінің көміртекті сіңіру тиімділігін көрсетеді. Ал вермикулит минералдық табиғаты салдарынан органикалық С пен N-ды айтарлықтай қоспай, көрсеткіштерді бақылауға жуық деңгейде сақтады [281,282].

Иммобилизденген сорбенттерінің топырақтағы азот мөлшеріне әсері салыстырмалы түрде аз болды. Азоттың ең жоғары мөлшері бақылаумен салыстырғанда иммобилизденген Мискантус биокөмірі (Им Мискантус)

нұсқасында байқалып, 0,30% құрады. Иммобилизденген бидай биокөмірі және иммобилизденген Акмеко биокөмірі нұсқаларында азот мөлшері 0,28%, ал иммобилизденген вермикулит нұсқасында 0,25% болды. Яғни, мискантус және бидай биокөмірлері иммобилизденген *B. thuringiensis* AS31 жасушалары үшін қолайлы тасымалдаушы болып, топырақтағы азоттың сақталуына ықпал еткен, олардың негізгі артықшылығы азотты тікелей көбейтуде емес, оны шайылудан және жылдам айналымнан қорғауда байқалды [283]. Осы тұрғыдан алғанда, Им В нұсқасының әсері шектеулі болды, ал С пен N арасындағы тепе-теңдікті жақсарту үшін биокөмір негізіндегі тасымалдаушылар анағұрлым тиімді екені байқалды. Биокөмір енгізу топырақтағы органикалық С-ті тұрақтандырып, микробтық белсенділік арқылы С және N айналымын өзгертетіні meta-analysis деңгейінде дәлелденген [283]. Ең тиімді нұсқа - иммобилизденген мискантус биокөмірі, онда азот мөлшері бақылаумен салыстырғанда шамамен 11,1% жоғары болды. МБ жөніндегі зерттеулер оның топырақта ұзақ сақталатынын және минералдануға төзімді екенін көрсетеді, бұл Им МБ нұсқасындағы жоғары С көрсеткішін жақсы түсіндіреді [284].

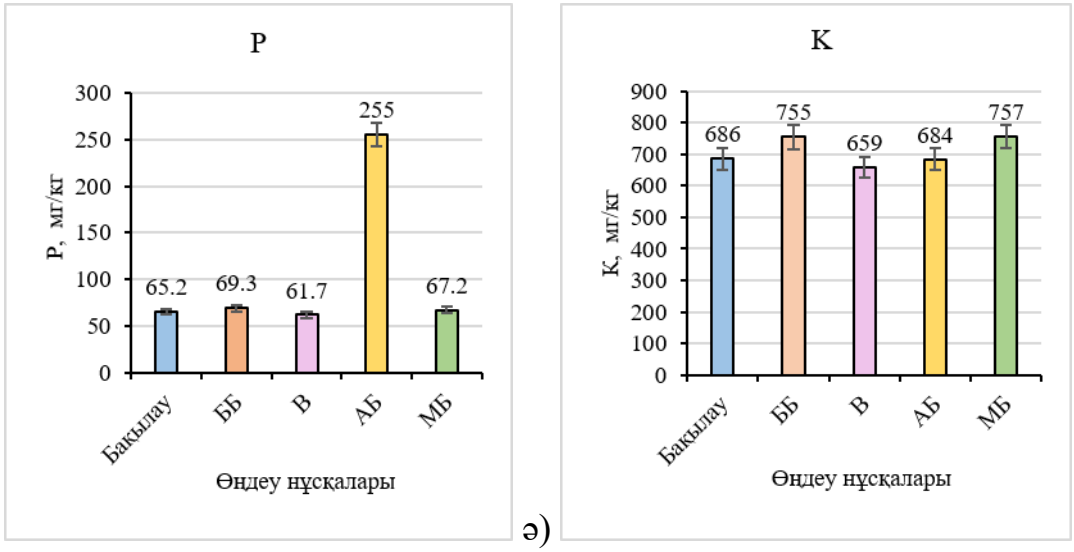
Жүргізілген зерттеу нәтижелері әртүрлі сорбенттер мен *Bacillus thuringiensis* AS31 штамын қолдану топырақтың көміртек (С) және азот (N) қорына оң әсер ететінін көрсетті. Бұл өсімдіктің қоректік заттарды пайдалануымен және ризосферадағы микробиологиялық үдерістердің белсенділігімен байланысты. Ризобактерияны сорбенттермен бірге қолдану көміртектің жиналуын одан әрі күшейтті. Иммобилизденген сорбенттер де оң нәтиже берді, бұл сорбенттердің микробтық тіршілікке қолайлы орта қалыптастырып, органикалық заттардың минерализациясын баяулатуы және көміртектің тұрақтануына ықпал етуімен түсіндіріледі. Бұл технология топырақ құнарлылығын жақсарту, көміртекті секвестрлеу және ауыл шаруашылығы дақылдарын өсіруде биологиялық белсенді әрі экологиялық қауіпсіз тәсіл ретінде перспективалы болып табылады. Органикалық заттардың өзгеруі топырақтың қоректік элементтер режимімен тығыз байланысты. Сондықтан келесі бөлімде сорбент-бактериялық өңдеулердің топырақтағы макроэлементтердің динамикасына және олардың өсімдікке қолжетімділігіне әсері талданады.

3.6.2 Топырақтағы макроэлементтердің мөлшері мен қолжетімділігінің динамикасы

Топырақтың қоректік элементтермен қамтамасыз етілуі өсімдіктердің өсуі мен өнімділігін айқындайтын негізгі факторлардың бірі болып табылады. Әсіресе фосфор (P), калий (K), кальций (Ca) және магний (Mg) сияқты макроэлементтердің мөлшері мен өсімдікке қолжетімділігі топырақтың агрохимиялық жағдайын сипаттайтын маңызды көрсеткіштер болып саналады. Сорбенттерді, соның ішінде биокөмір мен вермикулитті қолдану топырақтың физика-химиялық қасиеттерін өзгертіп, қоректік элементтердің сақталуына және олардың өсімдіктерге қолжетімді түрге ауысуына ықпал етуі мүмкін. Осыған байланысты зерттеу барысында әртүрлі сорбенттермен өңделген топырақ үлгілеріндегі негізгі макроэлементтердің мөлшері мен

өзгерісі бағаланды. Алынған нәтижелер сорбенттердің топырақтың қоректік режиміне әсерін салыстырмалы түрде сипаттауға және олардың өсімдік өсуін ынталандырудағы ықтимал рөлін анықтауға мүмкіндік берді.

Тәжірибе барысында өсімдікті отырғызуға дейін топыраққа 5% сорбент енгізіліп, 7 тәулік инкубациялағаннан кейін топырақ-сорбент жүйелеріне физико-химиялық талдау жасалды. Зерттеу нәтижелері бойынша барлық топырақ–сорбент қоспаларының физика-химиялық көрсеткіштері өңдеу нұсқасына байланысты белгілі бір айырмашылықтар көрсетті.



а) ә)

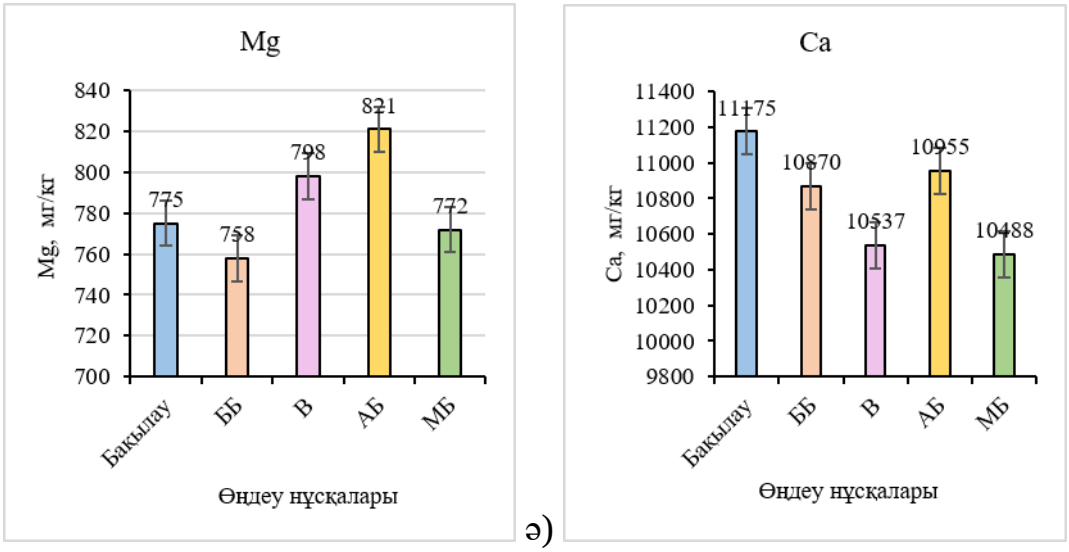
Ескерту: ANOVA талдау нәтижесінде зерттелген нұсқалар арасында жоғары статистикалық маңызды айырмашылықтардың бар екенін көрсетті ($p < 0,05$).

Сурет 43 - Жүгері отырғызылғанға дейінгі сорбенттік өңдеудің әсері (7 тәуліктен соң). а) P мөлшері; ә) K мөлшері.

Сурет 43 бойынша сорбенттер фосфор (P) динамикасында ең айқын өзгерісті көрсетті. Бақылау нұсқалары бойынша жүгеріні отырғызғанға дейінгі топырақта P концентрациясы 65,2 мг/кг болса, Акмеко биокөмірі (АБ) қосылған топырақта 3,9 есе артты. Бұл оның бай P құрамымен және Ca-Fe фосфаттарынан кезең-кезеңімен бөлінуімен байланысты. Glaser et al. (2019) [285] зерттеулері АБ-нің ұзақ мерзімді P көзі ретінде тиімділігін, ал жануартекті немесе тұрмыстық қалдықтардан алынған биокөмірдің лигноцеллюлозалық түрлерден артық екенін көрсетті. Ал бидай биокөмірі (ББ) және Мискантус биокөмірі (МБ) қосылған топырақта P мөлшері бақылаумен шамалас болса, вермикулит (В) қосылған топырақта P мөлшері төмендеп, 61,7 мг/кг болды. Вермикулиттің өзі P-дың белсенді көзі емес, сондықтан ол топыраққа қосылғанда P концентрациясын көбейтуге емес, көбіне иондарды ұстап қалуға бейім болады. Екінші маңызды себеп - вермикулиттің фосфаттармен сорбциялық және ионалмасу әрекеттесуі. Вермикулитті зерттеуде P алдымен қабатаралық катиондармен алмасу арқылы ұсталып, кейін $H_2PO_4^-$ және HPO_4^{2-} иондарымен тұнба түзуі мүмкін екені көрсетілген. Топырақ жүйесінде де осыған ұқсас механизм фосфатты ерітіндіден шығарып,

оны минерал бетіне уақытша немесе берік байланыстыруы мүмкін, сондықтан қолжетімді фосфор азайып көрінеді.

Калий (K) концентрациясы бойынша ең жоғары мәндер ББ және МБ қосылған топырақта тіркелді және бұл бақылауға қарағанда 10-15% жоғары болды. Көптеген зерттеулерде биокөмір топырақтағы қолжетімді K жоғарылатады [286,287]. Adekiya (2025) [81] биокөмірдің поралық құрылымын және pH-ны арттыра отырып, екі валентті катиондардың теңгерімін бұзбайтынын, ал Xiu және әріптестерінің (2025) [286] зерттеуі K мөлшерінің еріген фракциялар арқылы көбейетінін дәлелдеді. Antonangelo және әріптестерінің (2024) [288] биокөмірдің катион алмастыру қабілетін (CEC) реттейтінін, алайда кең көлемді екі валентті дисбалансты тудырмайтынын атап өтті. АБ енгізілген топырақта K мөлшері бақылаумен деңгейімен шамалас болды, ал B қосылған топырақта төмен (659 мг/кг) болды, себебі вермикулиттің K-ды босатушы емес, керісінше K-ды ұстап қалушы минерал ретінде әрекет етеді [289].



а) ә)

Ескерту: ANOVA талдау нәтижесінде зерттелген нұсқалар арасында жоғары статистикалық маңызды айырмашылықтардың бар екенін көрсетті ($p < 0,05$).

Сурет 44 - Жүгері отырғызылғанға дейінгі сорбенттік өңдеудің әсері (7 тәуліктен соң. а) Mg мөлшері; ә) Ca мөлшері;

Сурет 44 бойынша кальций (Ca) және магний (Mg) мөлшері 10 488-11 175 мг/кг және 758-821 мг/кг диапазонында өзгерді. Ал K:Mg қатынасы 0,825-0,996 аралығында өзгеріп, қоректік элементтердің өзара теңгерімді сақталғанын дәлелдейді. Ca және Mg деңгейлерінің салыстырмалы тұрақты болуының басты себебі - екі элементтің топырақтың алмаспа катиондар қорында табиғи түрде жоғары үлеске ие болып, минералдық матрицада жақсы ұсталып тұруы.

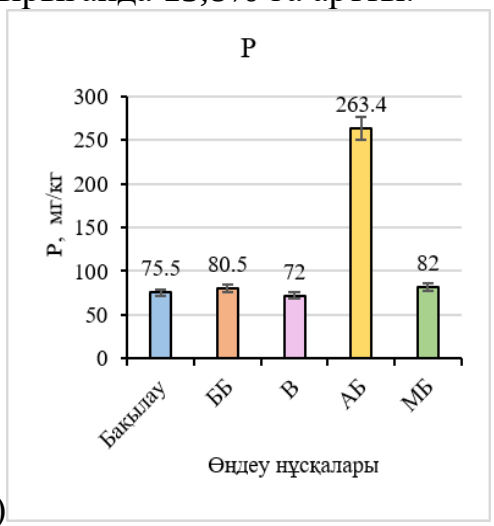
Көптеген зерттеулерде биокөмір қолдану топырақтағы Ca мен Mg мөлшерін көбінесе арттыратыны немесе кемінде тұрақтандырады және катиондардың шайылуын азайтады. Сондықтан ББ және МБ нұсқаларында Ca

мен Mg-дың бақылауға жуық немесе сәл жоғары сақталуы осы механизммен үйлеседі [281,290]. Ең жоғары Mg концентрациясы АБ енгізілген топырақта (821 мг/кг) анықталды, ал ең төмен көрсеткіш ББ нұсқасында (758 мг/кг) байқалғанымен, ол топырақта жоғары коэффициент (0,996) калийдің магнийге қарсы қолжетімділігін жақсартатынын көрсетеді. Вермикулит негізінен топырақтың катиондық тепе-теңдігін сақтауға көмектеседі, сондықтан Ca мен Mg айқын төмендемей, бастапқы минералдық қордың жеткіліктілігін көрсетеді [281].

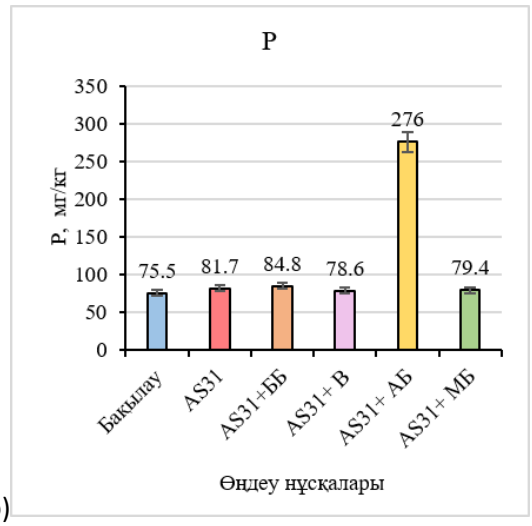
Жүгері вегетациясына кейінгі сорбент және бактерия-сорбент комплекстерінің әсері

Фосфор (P) мөлшерінің өзгеру динамикасы

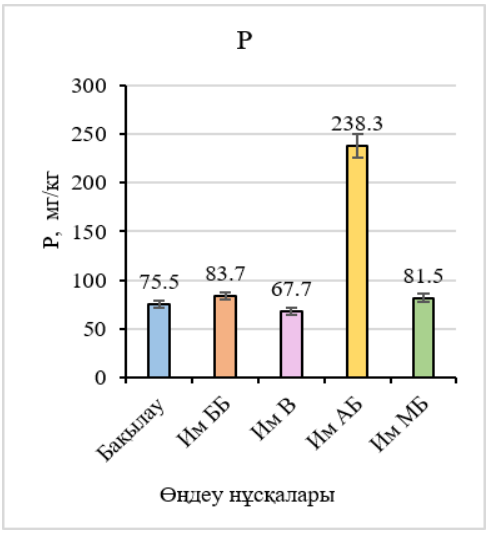
Жылыжай тәжірибесі аяқталғаннан кейінгі зерттеу нәтижелерінде бақылау топырағында P мөлшері жүгеріні отырғызғанға дейінгі нәтижемен салыстырғанда 15,8%-ға артты.



а)



ә)



б)

Ескерту: ANOVA талдау нәтижесінде зерттелген нұсқалар арасында жоғары статистикалық маңызды айырмашылықтардың бар екенін көрсетті ($p < 0,001$).

Сурет 45 - Әртүрлі өңдеулердің жүгері вегетациясынан кейінгі топырақтағы фосфор (P) мөлшеріне әсері: а) жеке сорбенттер; ә) AS31 және сорбенттер комбинациясы; б) AS31 иммобилизденген сорбенттер.

Бақылау нұсқаларындағы айырмашылық жөнінде Chen және оның әріптестерінің (2024) [291] зерттеулерінде, жүгері тамырлары органикалық қышқылдар (цитрат, мальтат) бөледі, бұл темір/алюминий фосфаттарын ерітіп, P-ды босатады. Ал da Silva және оның әріптестерінің (2024) жұмыстарында [292] топырақ pH 7,02-7,49 (сілтілік), жүгері N-ассимиляции кезинде H^+ бөліп, pH деңгейін аздап төмендетеді және бұл P-дың қолжетімділігін жақсартады (pH 6-7).

Сорбентсіз тек ризобактериямен инокуляцияланған дәндер өсірілген топырақта P мөлшері 8%-ға артты (45ә-сурет). Алынған нәтиже *B. thuringiensis AS31* негізіндегі инокуляцияның P мобилизациясында маңызды рөл атқаратынын дәлелдейді (45а-сурет). Әдеби деректерге сәйкес, *Bacillus* туысына жататын бактериялар органикалық қышқылдар мен ферменттер (әсіресе фосфатазалар) синтездеп, ерімейтін фосфаттарды ерітіп, оларды өсімдікке қолжетімді формаға айналдыра алады [293,294].

ББ сорбенті енгізілген барлық нұсқаларда топырақтағы P деңгейі бақылаумен салыстырғанда жоғары болды. Бақылаумен салыстырғанда ББ+AS31 нұсқасы 12,3%-ға, иммобилизденген ББ нұсқасы 10,9%-ға, ал тек 5% ББ енгізілген нұсқада P концентрациясы 6,6%-ға жоғары болды (45-сурет). Бұл құбылыс биокөмірдің фосфорды байланыстырушы қосылыстардан (Ca-P, Fe-P) босату қабілетімен және микробиологиялық белсенділікті арттыруымен түсіндіріледі. Zhang және оның әріптестерінің (2024) зерттеуіне де биокөмірдің топырақтағы фосфор динамикасын жақсартып, оның өсімдікке қолжетімділігін арттыратыны көрсетілген [295].

Вермикулит сорбентімен өңделген нұсқаларда P мөлшері барлық тәжірибелік нұсқаларда бақылаумен салыстырғанда жоғарылаған, бұл қолданылған биологиялық өңдеулердің топырақтағы P қолжетімділігін арттырғанын көрсетеді. Тек вермикулит қосылған нұсқа бақылаудан 6%-ға және инокуляцияланған AS31+B нұсқа 4% мөлшерде жоғары болды. Ал иммобилизденген вермикулит нұсқасында P мөлшері салыстырмалы түрде төмен болды (67,7 мг/кг, -10%), бұл тасымалдағыштың белгілі бір жағдайларда фосфаттарды бекітіп, олардың өсімдікке қолжетімділігін шектеуі мүмкін екенін көрсетеді.

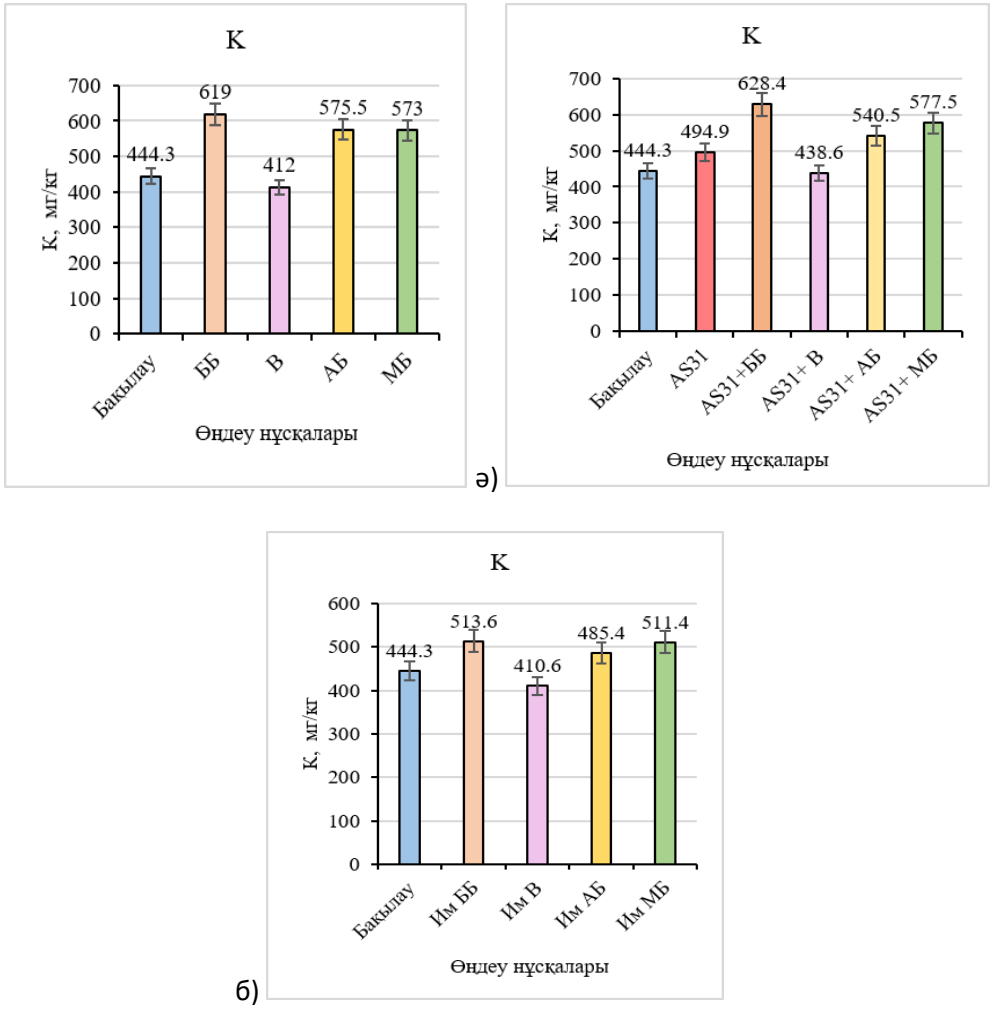
АБ сорбентімен өңдеулерге байланысты P деңгейінде айқын айырмашылықтарды көрсетті: ең жоғары мән дәндерді AS31-мен инокуляциялау + АБ комбинациясында тіркелді (276 мг/кг); иммобилизденген АБ - 238,3 мг/кг деңгейінде, ал АБ-мен ғана өңделген нұсқада 263,4 мг/кг болды. Мұндай айқын өсім әсіресе биокөмірдің жоғары сорбциялық қасиеттерімен және фосфаттарды ұстап, оларды біртіндеп босату қабілетімен түсіндіріледі, нәтижесінде топырақта өсімдікке қолжетімді фосфор қоры артады. Сонымен қатар *B. thuringiensis*-тің фосфат солюбилизациялаушы қабілеті де P-дың жоғарылауын қосымша түсіндіреді. Жалпы, алынған нәтижелер биокөмірдің сорбциялық әсері мен микробтық мобилизация процестерінің үйлесуі топырақтағы фосфор айналымын күшейтіп, оның қолжетімділігін арттыратынын көрсетеді [296].

Мискантус биокөмірімен өңдеуде Р мөлшері бақылаумен салыстырғанда барлық нұсқаларда жоғарылаған: МБ (~82 мг/кг), AS31 + МБ (79,4 мг/кг) және иммобилизденген МБ (81,5 мг/кг). Ең жоғары мән тек МБ қатысқан нұсқаларда байқалады. Бұл биокөмірдің фосфаттарды сорбциялап, оларды біртіндеп босатуымен және топырақтағы микробтық белсенділікті арттыруымен түсіндіріледі [297].

Арнайы өңдеу нұсқаларының жүгері өсімдігіндегі Р мөлшеріне тигізетін әсерін ANOVA нәтижелері зерттелген нұсқалар арасында жоғары статистикалық маңызды айырмашылықтардың бар екенін көрсетті ($p < 0,001$). Эффект өлшемінің көрсеткіші өсімдік ұлпаларындағы фосфор кумуляциясының 95,6%-ы қолданылған биопрепараттар мен иммобилизация факторларының ықпалына байланысты екенін айғақтайды.

Калий (К) мөлшерінің өзгеру динамикасы

Топырақтағы К мөлшерінің өзгеруі сорбенттердің қоректік элементтерді сақтау және олардың өсімдікке қолжетімділігін реттеу қабілетін сипаттайды.



Ескерту: ANOVA талдау нәтижесінде тәжірибе нұсқалары арасында статистикалық маңызды айырмашылық анықталды ($p < 0,001$).

Сурет 46 - Әртүрлі өңдеулердің жүгері вегетациясынан кейінгі топырақтағы калий (Р) мөлшеріне әсері: а) жеке сорбенттер; ә) AS31 және сорбенттер комбинациясы; б) AS31 иммобилизденген сорбенттер.

Зерттеу барысында әртүрлі сорбенттермен өңделген топырақ үлгілеріндегі К мөлшерінің өзгеру динамикасы бағаланды (46-сурет). Бақылау топырағында К мөлшерінің жүгері вегетациясынан кейін 35,27%-ға төмендеуі жүгерінің жоғары К қажеттілігімен байланысты. Жүгері К-ді көп мөлшерде тұтынатын дақылдардың қатарына жатады. Әдеби деректер бойынша, 1 гектар жердегі жүгері өсімдігі вегетация барысында 200-360 кг K_2O (≈166-300 кг таза К) сіңіреді [298].

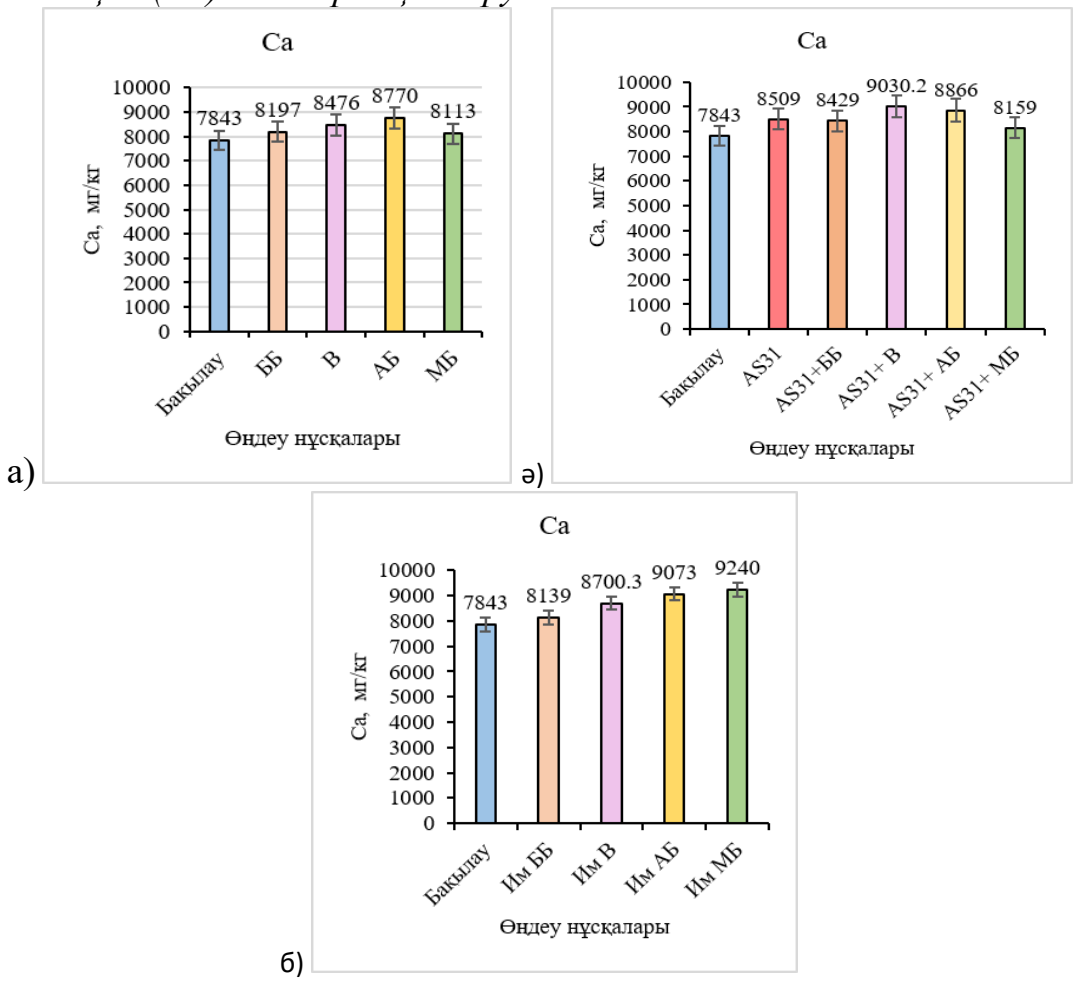
Жылыжай жағдайында жоғары температура мен булану қарқындылығы К-дің өсімдік ішінде жақсы тасымалдануына ықпал етеді, нәтижесінде ризосферадағы оның концентрациясы азаяды. Жүгері тамырлары сіңірілген К-дің едәуір бөлігін (шамамен 60-70%) өсімдік тіндерінде ұстап қалады және оны топыраққа қайта шығармайды. Бұл топырақ ерітіндісіндегі К-дің қайта жинақталуын шектейді [299]. Ризобактериямен инокуляцияланған дәндер өсірілген топырақта К мөлшері бақылаумен салыстырғанда шамамен 11,4%-ға жоғары. Негізгі себептерінің бірі ризобактерияның органикалық қышқылдар бөліп, қолжетімсіз К-ді солюбилизациялау арқылы өсімдікке сіңімді K^+ иондарына айналдыруы болып саналады [300]. Бұл процесс топырақ ерітіндісіндегі калий концентрациясын тікелей арттырады.

ББ және бактериямен өңделген нұсқаларда К мөлшерінің ең жоғары деңгейі ризобактериямен инокуляцияланған дәндер + ББ комбинациясында тіркеліп, бақылаумен салыстырғанда 41,4%-ға жоғары болды. Кейінгі орындарда топыраққа 5% ББ енгізілген нұсқада К мөлшері 39,3%-ға артты, ал ризобактерия иммобилизденген ББ қолданылған нұсқада 15,6%-ға жоғары болды (46-сурет). Tian және оның әріптестерінің (2024) зерттеулерінде ұқсас нәтижелер көрсетілген, онда биокөмір К-дің қолжетімділігін арттырып, топырақтағы қоректік режимді жақсартатыны дәлелденген [301].

Вермикулит қолданылған нұсқада К-дің ең жоғары деңгейде сақталуы байқалды (619 мг/кг), бұл бақылаумен салыстырғанда шамамен 39%-ға артық екенін көрсетті. Бұл нәтиже ең алдымен вермикулиттің жоғары катионалмасу сыйымдылығымен (CEC) түсіндіріледі. Вермикулит теріс зарядталған қабатты құрылымға ие болып, K^+ сияқты катиондарды тиімді адсорбциялап, оларды топырақта ұстап тұрады [14,302]. Сонымен қатар, арнайы зерттеулер вермикулиттің К-ді фиксациялау қабілеті жоғары екенін және оның құрылымдық ерекшеліктеріне байланысты K^+ иондары интерқабат кеңістікте бекітілетінін көрсетеді [303]. Біріктірілген жүйелерде (AS31+B - 438,6 мг/кг; иммобилизденген B - 410,6 мг/кг) күтілген синергетикалық әсер байқалмады, керісінше К деңгейі бақылауға жақындады немесе төмендеді. Синергияның болмауы бірнеше факторлармен түсіндірілуі мүмкін. Біріншіден, микроорганизмдер К-ді өз метаболизмінде уақытша пайдаланып, оның топырақ ерітіндісіндегі концентрациясын төмендетуі ықтимал. Екіншіден, топырақтағы басқа катиондармен (Ca^{2+}, Mg^{2+}) бәсекелестік күшейіп, алмасу процестері өзгеруі мүмкін. Үшіншіден, микробиологиялық белсенділік кей жағдайда элементтердің қайта мобилизациясынан гөрі олардың биологиялық айналымға уақытша байланысуына алып келеді [304].

АБ өңдеулерге байланысты K бойынша алынған нәтижелер барлық өңдеулерде оң динамиканы көрсетті: бақылаумен салыстырғанда АБ қолданылған нұсқада 30%-ға, ал AS31-инокуляциялау + АБ комбинациясында 22%-ға және иммобилизденген АБ 511,4 мг/кг 15%-ға жоғары деңгейде болды. K-дің айқын жоғарылауы, әсіресе биокөмір қатысқан нұсқаларда, оның жоғары поралық құрылымы мен дамыған беткі құрылымына байланысты катиондарды (K^+) адсорбциялап, шайылудан қорғау қабілетімен түсіндіріледі, нәтижесінде топырақта алмасу формасындағы K қоры сақталады [296]. 46-суреттегі деректер бойынша МБ бойынша ең жоғары көрсеткіш МБ нұсқасында бақылаудан 29,5%-ға жоғары болды. AS31 + МБ комбинациясында K мөлшері 21,7%-ға, ал иммобилизденген МБ қолданылған нұсқада 15,1%-ға артқаны анықталды. K-дің айқын артуы биокөмірдің поралық құрылымы мен жоғары катионалмасу сыйымдылығына байланысты, яғни K^+ иондары адсорбцияланып, шайылудан қорғалды [295].

Кальций (Ca) мөлшерінің өзгеру динамикасы



Ескерту: ANOVA талдау нәтижесінде тәжірибе нұсқалары арасында статистикалық маңызды айырмашылық анықталды ($p < 0,05$).

Сурет 47 - Әртүрлі өңдеулердің жүгері вегетациясынан кейінгі топырақтағы кальций (Ca) мөлшеріне әсері: а) жеке сорбенттер; ә) AS31 және сорбенттер комбинациясы; б) AS31 иммобилизденген сорбенттер.

Тәжірибеден кейін бақылау нұсқасында Са мөлшерінің 29,82%-ға азаюы байқалды (47-сурет). Бұл өзгеріс жүгері өсімдігінің физиологиялық ерекшеліктерімен байланысты. Біріншіден, Са өсімдіктер үшін маңызды құрылымдық элемент. Жүгері Са-ді тамыр арқылы белсенді түрде сіңіріп, оны негізінен жапырақтар мен сабақтарда жинақтайды [305]. Осыған байланысты топырақтағы алмасатын Са қоры біртіндеп азаяды. Екіншіден, Са-дің өсімдік ішінде қозғалысы шектеулі. Ғылыми зерттеулер көрсеткендей, Ca^{2+} ксилема арқылы тасымалданады және бір рет өсімдік тіндеріне енгеннен кейін қайтадан топыраққа немесе басқа мүшелерге оңай қайта бөлінбейді. Бұл оның топыраққа қайтарылуын шектеп, жалпы мөлшерінің төмендеуіне әкеледі [306]. Үшіншіден, Са-дің сіңірілуі транспирациямен тығыз байланысты. Су ағыны жоғары болған жағдайда өсімдік Са-ді көбірек сіңіреді, нәтижесінде ризосферадағы оның концентрациясы азаяды [306]. Жылыжай немесе белсенді өсу жағдайында бұл процесс күшейе түседі.

Ризобактериямен инокуляцияланған жүгері өсірілген топырақта оның 8%-ға дейін артуы ризобактерияның топырақтағы Са-дің қолжетімділігін арттыруымен түсіндіріледі. Ризобактерия ризосферадағы pH-ты өзгертіп, органикалық қышқылдар (мысалы, лимон, глюкон қышқылдары) синтездеп, топырақтағы қиын еритін кальций қосылыстарын ($CaCO_3$, Са-фосфаттар) ерітеді. Нәтижесінде Ca^{2+} иондары топырақ ерітіндісіне өтеді де, оның жалпы мөлшері артады [307].

Ризобактерия және ББ комбинацияланған өңдеу нұсқаларымен салыстырғанда жоғары мән тек ризобактериямен инокуляцияланған нұсқада байқалды, алайда жалпы алғанда айырмашылықтар үлкен емес. Бұл топырақтың бастапқы Са-мен жақсы қамтамасыз етілгенін және биокөмірдің бұл элементке шектеулі әсер ететінін көрсетеді. Ғылыми деректер бойынша да биокөмір pH пен катион алмасу қабілетін арттырғанымен, Са деңгейін айтарлықтай өзгерте бермейді [308].

Ал В сорбенті Са мөлшерін артырған (47-сурет). Әсіресе, AS31+вермикулит комбинациясында көрсеткіш 15% өсімге сәйкес келеді,одан кейінгі орында ризобактерия иммобилизденген нұсқасы. Жеке вермикулит (8476 мг/кг) нұсқасында да Са мөлшері артқанымен, олардың әсері комбинациямен салыстырғанда төмен болды. Бұл ӨӨЫР бактерияларының минералдарды еріту және қайта мобилизациялау қабілетімен байланысты.

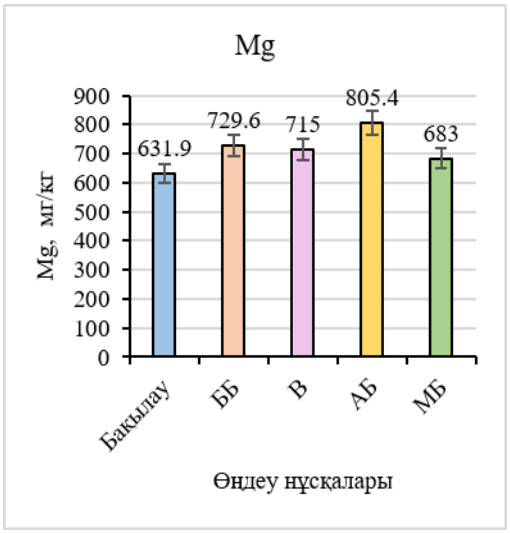
Са мөлшері АБ бар тәжірибелік нұсқаларда бақылаумен және AS31 инокуляциясымен салыстырғанда жоғарылағаны байқалды: тек АБ қолданылғанда 12%-ға, AS31-инокуляциялау + АБ комбинациясында 13%-ға, ал иммобилизденген АБ нұсқасында 16%-ға жоғарылады (47 - сурет). Мұндай үрдіс микробтық белсенділік пен органо-минералдық материалдардың бірлескен әсерінен топырақтағы кальцийдің алмасу формасының артуымен түсіндіріледі [309,310].

МБ қосылған барлық нұсқаларда Са мөлшері бақылау мен ризобактериямен инокуляциялау нұсқаларымен салыстырғанда жоғарылаған: МБ - 8770 мг/кг, AS31 + МБ - 8866 мг/кг және иммобилизденген МБ - 9073 мг/кг (ең жоғары). Бұл МБ мен микроорганизмдердің бірлескен әсері

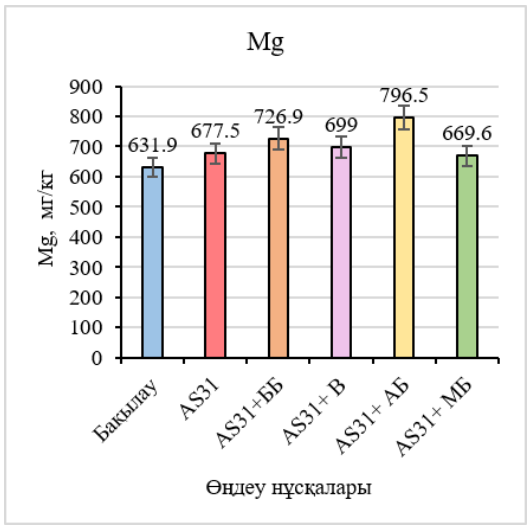
нәтижесінде топырақтың катионалмасу сыйымдылығының артуымен және Ca^{2+} иондарының тұрақтануымен түсіндіріледі. Сонымен қатар, ӨӨЫР органикалық қышқылдар бөліп, кальцийді минералдардан босатады [307].

Магний (Mg) мөлшерінің өзгеру динамикасы

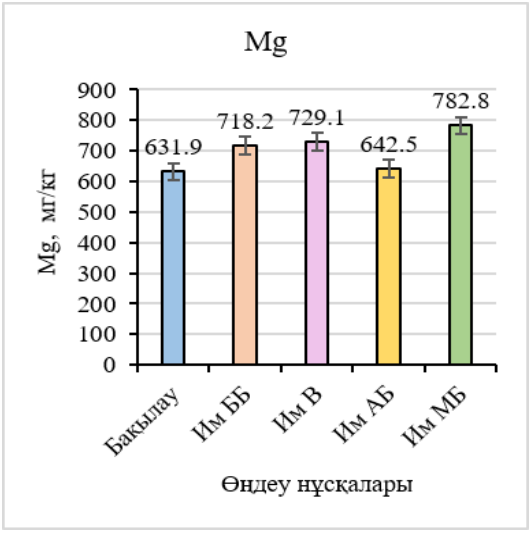
ББ қосылған нұсқа нәтижелерінде Mg мөлшері 631,9-729,6 мг/кг аралығында өзгерді. Ең төменгі деңгей бақылау нұсқасында болды, егер жүгеріні отырғызғанға дейінгі нәтижемен салыстыратын болсақ (775 мг/кг), Mg мөлшері 18,5%-ға азайды. Оған себеп: жүгері тамырлары Mg-ді белсенді түрде сіңіреді, себебі Mg хлорофилл молекуласының құрамына кіреді және фотосинтез процесінде маңызды рөл атқарады [311]. Сол себепті тәжірибе соңында топырақтағы Mg концентрациясы бастапқы нәтижеден айтарлықтай төмендеді (48-сурет).



а)



ә)



б)

Ескерту: ANOVA талдау нәтижесінде тәжірибе нұсқалары арасында статистикалық маңызды айырмашылық анықталды ($p < 0,05$).

Сурет 48 - Әртүрлі өңдеулердің жүгері вегетациясынан кейінгі топырақтағы магний (Mg) мөлшеріне әсері: а) жеке сорбенттер; ә) AS31 және сорбенттер комбинациясы; б) AS31 иммобилизденген сорбенттер.

Тәжірибе аяқталғаннан кейінгі нәтиже бойынша Mg мөлшері ең жоғары көрсеткіш ББ нұсқасында (729,6 мг/кг) тіркелді. Соңғы зерттеулерде биокөмірдің Mg-дің миграциясы мен формаларына әсер етіп, оның қолжетімділігін арттыра алатынын көрсетеді [312]. ББ мен ризобактерияны бірге қолдану P мен K-дің қолжетімділігі айқын артқан, ал Ca мен Mg тұрақты деңгейде сақталған. Бұл топырақтағы қоректік элементтердің теңгерімді күйін қамтамасыз етіп, өсімдік пен микроорганизмдердің дамуына қолайлы орта қалыптастырады [313,314].

Mg бойынша жоғары мән AS31 иммобилизденген B қолданылған нұсқада байқалды (729,6 мг/кг, +15,4%), одан кейін тек B бар нұсқада 715 мг/кг болса, AS31+B комбинациясында 699 мг/кг (+11%) болды (41-сурет). Бұл оның жоғары катионалмасу сыйымдылығымен және қабатты құрылымымен байланысты, яғни Mg^{2+} иондары минерал бетінде адсорбцияланып, шайылудан қорғалады.

Mg мөлшері Ca мөлшері сияқты АБ бар тәжірибелік нұсқаларда бақылаумен (631,9 мг/кг) және AS31 инокуляциясымен (677,5 мг/кг, (+7%) салыстырғанда жоғарылағаны байқалды: АБ қолданылған нұсқада 27% өсім ең жоғары деңгейге жетті, ал AS31 + АБ комбинациясында 26%-ға және иммобилизденген АБ 24% өсім көрсеткіштері тіркелді (48-сурет). Mg-дің айқын жоғарылауы, әсіресе АБ қатысқан нұсқаларда, оның поралық құрылымы мен жоғары сорбциялық қабілетіне байланысты Mg^{2+} иондарын тиімді адсорбциялап, оларды шайылудан қорғауымен түсіндіріледі. Сонымен қатар, микробтық инокуляция топырақтағы биогеохимиялық процестерді белсендендіріп, элементтердің айналымын күшейтеді, бұл Mg-дің өсімдікке қолжетімді формасының артуына ықпал етеді [310].

Mg де график бойынша МБ қосылған барлық нұсқаларда артқан: МБ - 805,4 мг/кг (ең жоғары), AS31 + МБ - 796,5 мг/кг және иммобилизденген МБ - 782,8 мг/кг. Бұл биокөмірдің Mg^{2+} иондарын адсорбциялап, оларды топырақта ұстап тұруымен және микробтық белсенділіктің артуымен байланысты. Зерттеулер биокөмірдің қоректік элементтердің сақталуын және олардың айналымын күшейтетінін көрсетеді [295].

Бақылаумен салыстырғанда, Им ББ нұсқасы P-ды 10,9%-ға, K-ды 15,6%-ға, Ca-ды 3,8%-ға және Mg деңгейін 13,7%-ға арттырды. Им B нұсқасы Ca мөлшерін 10,9%-ға және Mg-ды 15,4%-ға арттырғаны байқалды. Им АБ нұсқасы: P деңгейін 215,6%-ға, K деңгейін 15,1%-ға, Ca-ды 15,7%-ға және Mg-ды 23,9%-ға жоғарылатты. Ал Им МБ нұсқасында P мөлшері 7,9%-ға, K деңгейі 9,2%-ға және Ca 17,8%-ға артты, Mg көрсеткіші 1,7%-ға ғана шамалы өсті. Әдеби деректерге сәйкес, органикалық және минералдық тасымалдағыштарды енгізу топырақтың катионалмасу сыйымдылығын арттырып, қоректік элементтердің сақталуын күшейтеді [315]. AS31 штамының жеке әсері Ca және Mg бойынша айқын болмағанымен, оның P мен K-ді мобилизациялауда тиімділігі байқалды. Топырақтағы қоректік элементтердің қолжетімділігінің артуы өсімдіктің өсуі мен дамуына оң әсер етуі мүмкін. Осыған байланысты келесі бөлімде сорбенттік және бактериялық

өңдеулердің жүгерінің вегетациялық және морфометриялық сипаттамаларына әсері талданады.

3.6.3 Сорбент-ризобактериялық композициялардың жүгерінің морфометриясы мен биомассасына әсері

Жүгері өсімдігінің жер үсті және тамыр биомассасы мен ұзындықтары әртүрлі өңдеулерде айтарлықтай ерекшеленді. Сорбент түрлерін және ризобактерияны қолдану өңдеуге байланысты биомассаның әртүрлі өзгерісін көрсетті, бірақ әсердің сипаты инокуляция мен тасымалдаушының үйлесіміне байланысты өзгерген.

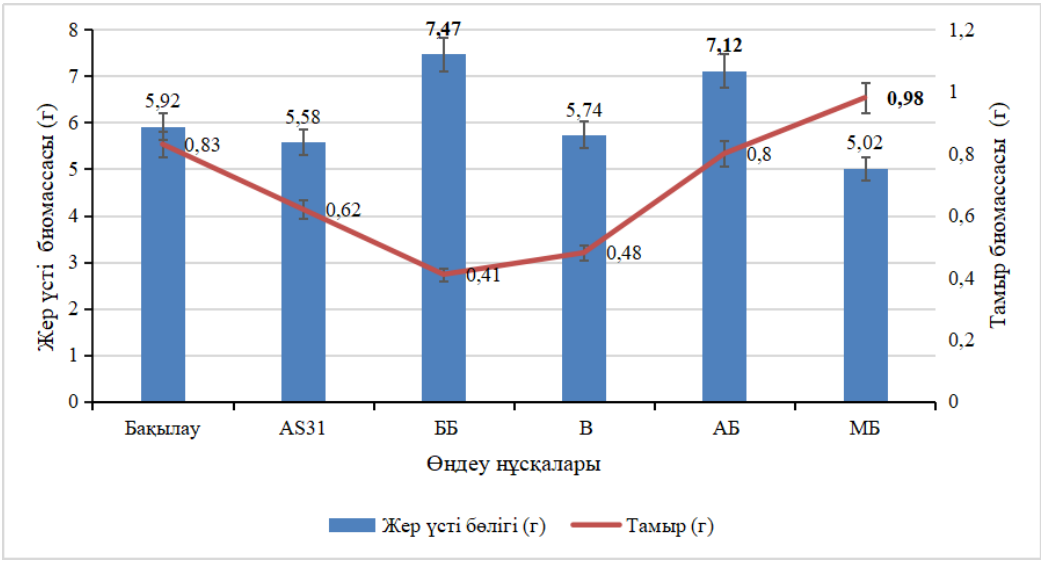


Сурет 49 - Бақылау және AS31 штамымен жеке өңдеу нұсқаларында өсірілген жүгері өсімдіктерінің жерүсті және тамыр жүйесінің дамуы

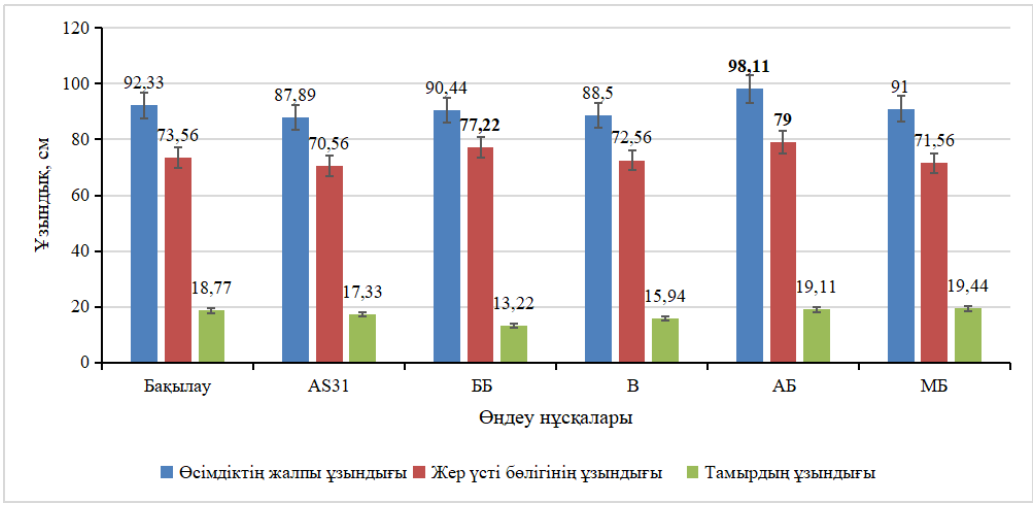
Сурет 49 бойынша бақылау нұсқасында жер үсті биомассасы 5,92 ± 0,78 г, тамыр биомассасы 0,83 ± 0,54 г, ал өсімдіктің жалпы ұзындығы 92.33 ± 4.67 см болып, оның 73.56 ± 3.67 см-і жер үсті бөлігіне, ал 18.77± 2.34 см-і тамыр жүйесіне тиесілі болды. Сабақтың орташа ұзындығы 28.56 ± 2.34 см, ал жапырақтың орташа ұзындығы 46.44 ± 3.29 см деңгейінде тіркелді.

B. thuringiensis AS31 штамымен өңделген дәндерді жеке енгізу бақылаумен салыстырғанда биомассаның төмендеуіне алып келді: жер үсті және тамыр биомассасы тиісінше 5.7%-ға (5,58 ± 2,24 г) және 25.3%-ға (0,62 ± 0,10 г) дейін төмендеді. Соған сәйкес өсімдіктің жалпы ұзындығы 92,33 см-ден 87,89 см-ге дейін, яғни 4,81%-ға, жер үсті бөлігінің ұзындығы 73,56 см-ден 70,56 см-ге дейін 4,08%-ға, ал тамыр ұзындығы 18,77 см-ден 17,33 см-ге дейін 7,67%-ға азайды. Сонымен қатар, сабақ ұзындығы 4,3%-ға, жапырақ ұзындығы 3,3%-ға төмендеді. Бұл *B. thuringiensis* AS31 жалғыз қолданылғанда өсімдіктің морфологиясына әсері шектеулі болғанын немесе оның негізгі әсері топырақ ортасы арқылы емес, тек әлсіз ризосфералық стимуляция арқылы жүргенін көрсетеді [101,316]. Әсер ететін факторлардың бірі - микробтық бәсекелестік. Бұл құбылыс ризосферадағы жергілікті микробтардың бәсекелестік нәтижесінде ығыстырылуымен және ассимиляттардың өсімдіктің жер үсті бөлігіне қайта бөлінуімен түсіндіріледі және бұл ең алдымен тамыр жүйесінде айқын байқалады [317].

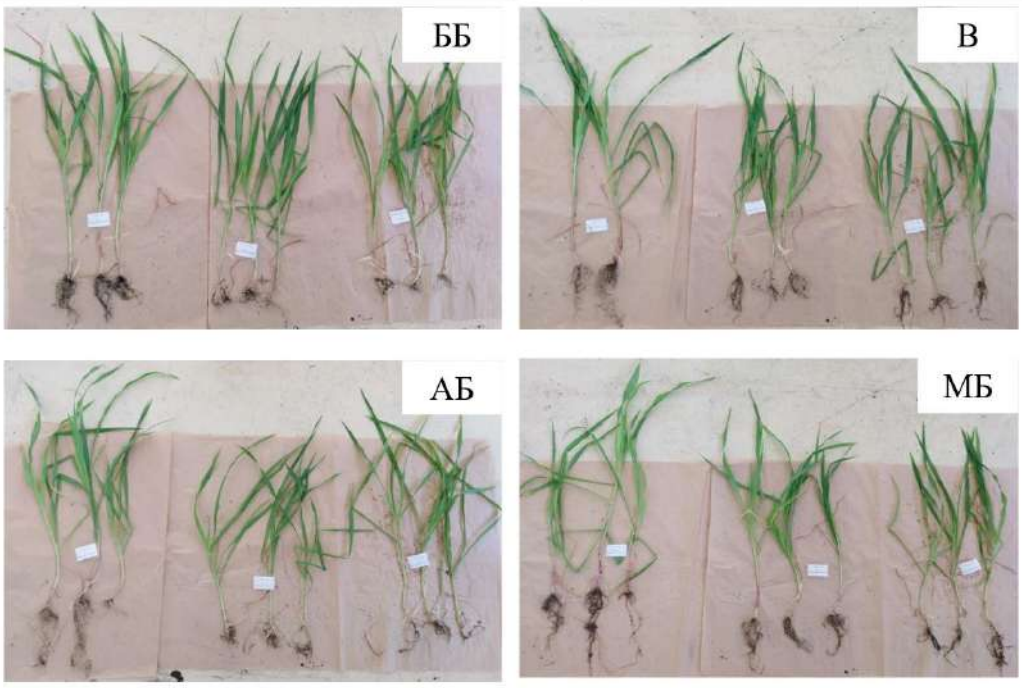
а)



ә)



б)



Сурет 50 - Сорбенттік өңдеулердің әсері: а) жерүсті және тамыр биомассасы; ә)морфометриялық көрсеткіштер; б)өсімдіктердің морфологиялық көрінісі.

Vidal-Quist және оның әріптестерінің (2013) [318] зерттеуі бойынша *B. thuringiensis* I-OL37.1 арқылы инокуляция кезінде *Arabidopsis thaliana* тамыр өсуінің 70%-ға тежелуі негізінен этиленге тәуелді стресс-жауаппен байланысты болды. Өсімдік бактерияны стресс факторы ретінде қабылдап, этилен синтезін күшейтеді, ал оның жоғары деңгейі негізгі тамырдың ұзаруын шектейді. Яғни тамыр өсуінің тежелуі - *B. thuringiensis* колонизациясына өсімдіктің этилен арқылы жүзеге асатын физиологиялық стресс-жауабы болып табылады.

Әртүрлі сорбенттердің жүгері биомассасы мен морфометриялық көрсеткіштеріне әсері

Жекелеген сорбенттердің жүгері өсімдігінің өсуіне әсерін салыстыру барысында олардың өсімдік тіршілігі үшін қолайлы жағдай қалыптастырып, олардың биомасса жинақтауы мен морфометриялық көрсеткіштеріне әсер ететіндігі анықталды.

50-суретте бейнеленген нәтижелер бойынша, ББ нұсқасында жер үсті биомассасы бақылау нұсқасымен салыстырғанда 26,2%-ға жоғары болды. Ал жалпы өсімдік ұзындығы бақылау деңгейіне жақын сақталып, жер үсті бөлігінің ұзындығы 4,98%-ға артты. Ал сабақ ұзындығы 3,5%-ға азайып, жапырақ ұзындығы 11,0%-ға жоғарылады, бұл биокөмірдің топырақ ылғалын ұстап, қоректік заттарды (K, Ca) қолжетімді етудің нәтижесі.

Бұл нұсқада тамыр ұзындығы бақылау көрсеткішінен 29,6%-ға төмен болды, ал тамыр биомассасы ең төмен көрсеткішке ие болды - 0,41 ± 0,19 г (бақылаумен салыстырғанда 50,6%-ға төмен). Ұқсас құбылыс Wan және оның әріптестерінің (2023) [319] нәтижелерінен де байқалды. Деректер бойынша ББ жүгері ризосферасында β-глюкозидаза мен лейцинаминопептидаза белсенділігін арттырып, азот айналымын жеделдетеді және өсімдіктің қоректік заттарды сіңіру қабілетін күшейтеді, алайда тамыр жүйесінің дамуын салыстырмалы түрде шектегенін көрсетеді. Бұл қайшылықты нәтиже ассимиляттардың қайта бөлінуімен түсіндіріледі: ризосфераның азотқа бай болуы цитокинин арқылы өркендердің өсуін күшейтіп, тамыр жүйесінің дамуын салыстырмалы түрде тежейді [248,320].

Вермикулит (В) жеке қолданылған нұсқада жүгерінің биомассалық көрсеткіштеріне айтарлықтай оң әсер байқалмады. Жер үсті биомассасы бақылау деңгейінен төмен болып, ал тамыр биомассасы 42,2%-ға азайды. Осыған сәйкес өсімдіктің жер үсті бөлігінің ұзындығы мен тамыр ұзындығы да бақылаумен салыстырғанда төмен мәндер көрсетті. Мұндай нәтиже вермикулиттің өсімдікке тікелей қоректік немесе биостимуляторлық әсерінің шектеулі болуымен түсіндіріледі. В сорбенті сабақ ұзындығын 16,4%-ға, жапырақ ұзындығын 1,4%-ға жоғарылатты, бұл минералдық сорбенттердің тамыр морфологиясын өзгертетінімен сәйкес. В-тің жеке әсері негізінен топырақтың физикалық қасиеттерін жақсартуға, ылғалды ұзақ уақыт сақтауға және қоректік катиондарды уақытша байланыстыру арқылы олардың шайылуын төмендетуге бағытталған [73]. Сондықтан вермикулит қолайлы ризосфералық орта қалыптастырушы материал ретінде қызмет етеді, ал оның

тиімділігі көбіне микроорганизмдермен немесе қоректік заттар көздерімен біріктірілген жағдайда айқынырақ көрінуі мүмкін.

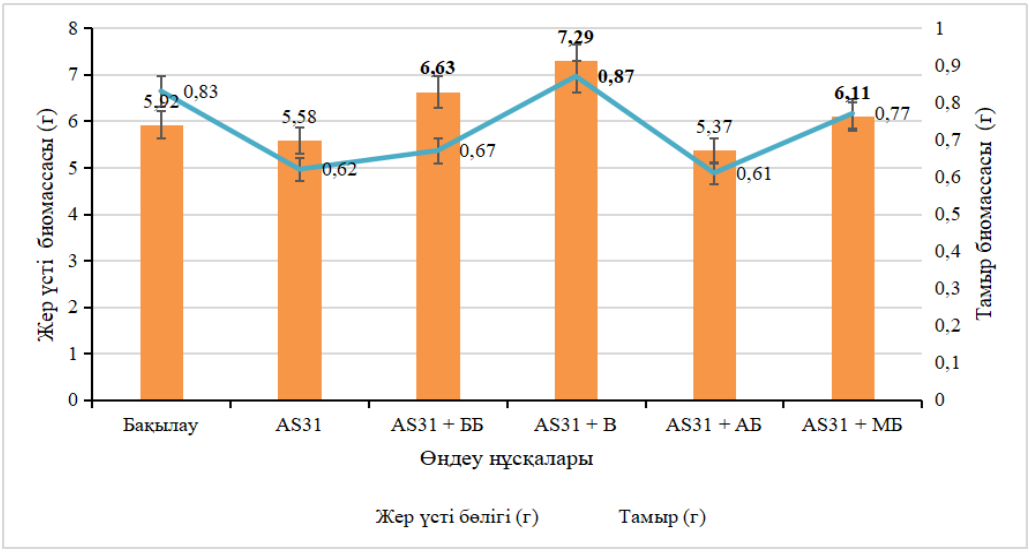
Акмеко биокөмірі (АБ) жеке қолданылған нұсқада бақылаумен салыстырғанда 20,3%-ға жоғары жер үсті биомассасын көрсетті, ал тамыр массасы бақылаумен деңгейлес болды. Ал 50ә-суретте ұсынылған график нәтижесінде АБ өсімдік ұзындығы бойынша барлық сорбент нұсқалары ішінде ең жоғары жалпы ұзындықты (98.44 ± 11.65 см) көрсетіп, бақылаумен салыстырғанда жер үсті бөлігін 7%-ға ұзартты, сонымен қатар тамырдың орташа ұзаруымен сипатталды. Сабақ және жапырақ ұзындығы бойынша ең жоғары нәтиже АБ нұсқасында байқалды, жапырақ ұзындығы бақылаумен салыстырғанда 14,1%-ға артты, алайда сабақ ұзындығы 8,6%-ға төмендеді. Junior & Guo (2023) [83] зерттеуі бойынша, топыраққа 2% мөлшерінде енгізілген мұндай биокөмір күздік бидайдың жер үсті биомассасының айтарлықтай артуына алып келген. Дегенмен, Gbouri және оның әріптестерінің (2022) [321] зерттеуінде АБ 30 т/га мөлшерінде енгізілген жағдайда жүгері тамырларының өсуін ынталандырып, микробтық белсенділікті арттырған. АБ нұсқасында байқалған өсуді ынталандырушы әсер, ең алдымен, ризосфераның физикалық құрылымының жақсаруы және өсімдікке қолжетімді азот мөлшерінің артуы арқылы жүзеге асуы ықтимал [322].

Мискантустан алынған биокөмір (МБ) жеке қолданылған нұсқада жалпы ұзындық пен жер үсті биомассасы бойынша айтарлықтай әсер көрсетпесе де, бақылаумен салыстырғанда тамыр биомассасын 12,6%-ға артты, тамыр ұзындығы да жоғары деңгейде болды (19.44 ± 7.17 см), яғни МБ ризосфералық және тамырлық жауапты көбірек ынталандыратынын көрсетті. *Miscanthus* өсімдігі негізіндегі биокөмірлер тұрақты көміртек құрылымына және салыстырмалы жақсы поралық қасиеттерге ие болғандықтан, көбіне ризосфера мен тамыр архитектурасына көбірек ықпал етеді. Бұл биокөмірдің морфологиялық әсері әрдайым бір бағытта болмайтынын көрсетеді: кей жағдайда ол тамыр дамуын көбірек ынталандырып, жер үсті биомассаға әлсіз әсер беруі мүмкін. Жер үсті биомассасының төмендеуі биокөмірдің алғашқы кезеңде топырақтағы азотты өзіне тартып алуымен («nitrogen immobilization») түсіндірілуі мүмкін [246,321-323].

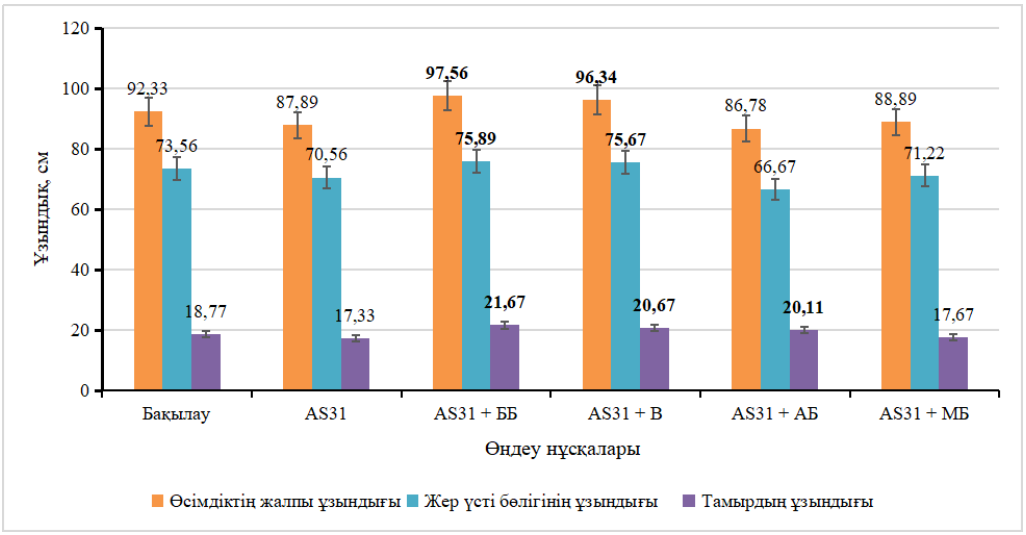
Жекелеген сорбенттерді бағалау нәтижелері олардың жүгері өсімдігінің өсуі мен дамуына әртүрлі бағытта әсер ететінін көрсетті: кейбіреулері жер үсті биомассасының жиналуын ынталандырса, басқалары тамыр жүйесінің дамуына қолайлы жағдай қалыптастырды.

B. thuringiensis AS31 инокуляциясының сорбенттермен үйлескендегі синергетикалық әсерінің нәтижелері

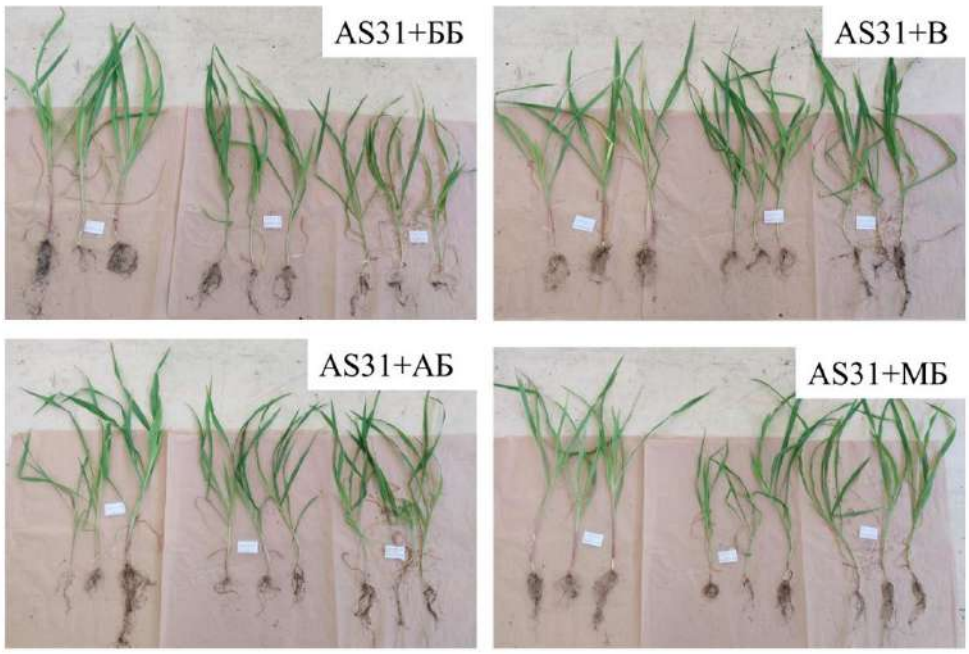
а)



ә)



б)



Сурет 51- AS31 инокуляциясы мен сорбенттер комбинациясының әсері: а) жерүсті және тамыр биомассасы; ә) морфометриялық көрсеткіштер; б) өсімдіктердің морфологиялық көрінісі.

Сорбенттердің толық сыйымдылығы олардың өсімдіктердің өсуін жеделдететін бактериялармен біріктірілген жағдайда айқынырақ көрінуі мүмкін. Осыған байланысты 51-суретте *B. thuringiensis* AS31 штамымен жүгері дәндерін алдын ала инокуляциялау мен сорбентті бірге қолдану (AS31 + сорбент) нұсқаларының нәтижелері бейнелеген.

Нәтиже бойынша ризобактериямен ББ үйлескен жағдайда жер үсті биомассасы бақылаудан 23,1%-ға жоғары мән көрсетті. Ал жеке сорбент қолданылған кездегі қысқарған тамыр жүйесі AS31+ББ комбинациясының әсерінен қайта қалпына келуі байқалды (0,67 ± 0,45 г). Бұл нұсқа бақылаумен салыстырғанда жүгерінің морфометриялық көрсеткіштеріне ең жоғары оң әсер көрсетті: жалпы өсімдік ұзындығы 5,7%-ға, жер үсті бөлігінің ұзындығы 3,2%-ға және тамыр ұзындығы 15,5%-ға, сабақ ұзындығы 16,4%-ға, жапырақ ұзындығы 12,2%-ға артты. ӨӨЫР мен ББ арасындағы мұндай оң синергизм оның поралық құрылымымен түсіндіріледі: бұл құрылым бактериялардың бекінуі мен колонизациясына қолайлы микроорталар қалыптастырады [101,326,327].

AS31 + В нұсқасы да жүгері өсімдігінің өсуі мен дамуына оң әсерін көрсетті. Бұл өңдеу кезінде жер үсті биомассасы бақылаумен салыстырғанда 4,1%-ға артып, тамыр биомассасы да бақылау деңгейінен жоғары болды (0,87%). AS31 + В комбинациясы өсімдіктің барлық негізгі өсу параметрлерін жақсартты. Атап айтқанда, бақылау нұсқасымен салыстырғанда өсімдіктің жалпы ұзындығы 4,3%-ға, жер үсті бөлігінің ұзындығы 2,9%-ға, тамыр ұзындығы 10,1%-ға, сабақ ұзындығы 14,4%-ға, ал жапырақ ұзындығы 9,6%-ға жоғарылады. Алынған нәтижелер бұл үйлесімді жүгері өсімдігінің вегетативтік мүшелерінің қарқынды қалыптасуына және өсу процестерінің белсенді жүруіне ықпал еткенін көрсетеді. Malik et al. (2024) [327] зерттеуінде құрғақшылыққа төзімді ӨӨЫР мен сорбенттерді бірге қолдану, әсіресе орташа ылғал тапшылығы жағдайында, бидай өсімдігінің өсу көрсеткіштерін жеке компоненттерге қарағанда анағұрлым тиімді жақсартатыны көрсетілген. Бұл синергетикалық әсер ризосферадағы су-ауа режимінің оңтайлануы және функционалды микробтық популяциялар тығыздығының артуы арқылы түсіндіріледі.

Ал AS31 + АБ нұсқасында тамыр ұзындығы 7,1%-ға артқанымен, жалпы өсімдік ұзындығы мен жер үсті бөлігінің ұзындығы тиісінше 6,0% және 9,4%-ға төмен көрсеткіш көрсетті, сабақ ұзындығы 23,4%-ға, жапырақ ұзындығы 2,6%-ға төмендеді. Жер үсті және жер асты биомассасының да айтарлықтай төмендеуі (5,37±0,99 г; 0,61±0,40 г) байқалды. Бұл екі ықтимал механизммен түсіндіріледі. Біріншіден, АБ-мен бірге енгізілген *B. thuringiensis* AS31 штамының әсері әрқашан оң бола бермейді; олардың өсімдікке тиімділігі штамның ризосферада орнығуына, тасымалдаушыға бекінуіне және метаболизмдік үйлесіміне тәуелді. Екіншіден, кей *Bacillus* өкілдері белгілі бір жағдайларда антагонистік немесе өсу тежегіш әсер көрсете алады, себебі биомасса бақылаудан төмен болғаны байқалды. Бұл AS31-дің ӨӨЫР ретінде емес, орта жағдайына бейімделуі шектеулі штамм ретінде жұмыс істеуі мүмкін екенін көрсетеді [328]. Үшіншіден, мұндай өсудің тежелуі, ықтимал түрде,

қоректік заттарға бай (әсіресе N және P) ортаға байланысты ризосфералық микробиотаның инокулянт штамымен бәсекелесіп, оны ығыстыруымен түсіндірілуі мүмкін.

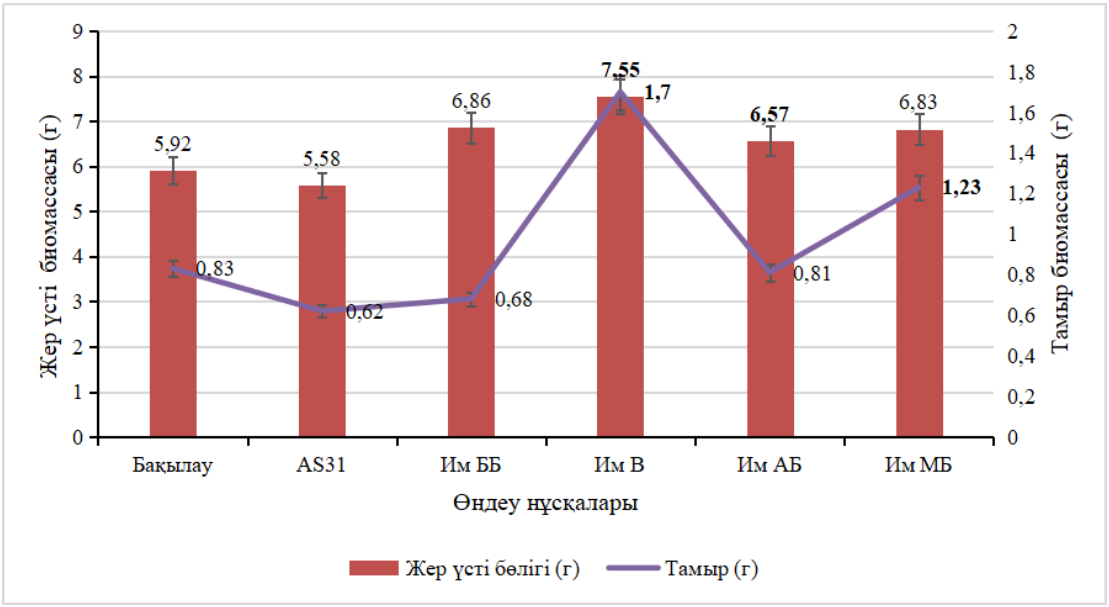
AS31+МБ нұсқасы жер үсті биомассасын 3,2 %-ға арттырды, бұл сорбенттің жеке қолданылған нұсқасымен салыстырғанда айтарлықтай жоғары көрсеткіш. Ал тамыр биомассасын бақылаумен салыстырғанда 7,2 %-ға төмендетті. AS31 + МБ нұсқасында сабақ ұзындығы 18,7%-ға қысқарғанымен, жапырақ ұзындығы 5,5%-ға артты. Бактерия мен МБ сорбентінің комбинациясы вегетативтік мүшелердің ұзындығына ең оң әсер көрсетті. Бұл комбинациядағы өсім толық максималға жетпеген, яғни МБ мен AS31 арасындағы өзара үйлесім әлі де шектеулі болған болуы мүмкін [327-329].

Сорбенттер мен *B. thuringiensis AS31* штамының бірлескен қолданылуы олардың жеке әсерлерімен салыстырғанда өсімдік өсу көрсеткіштерін әртүрлі деңгейде жақсартатынын көрсетті. Алайда бұл нәтижелер бактерияларды жай енгізу мен оларды сорбент бетіне иммобилизациялау арасындағы айырмашылықтарды толық ашпайды.

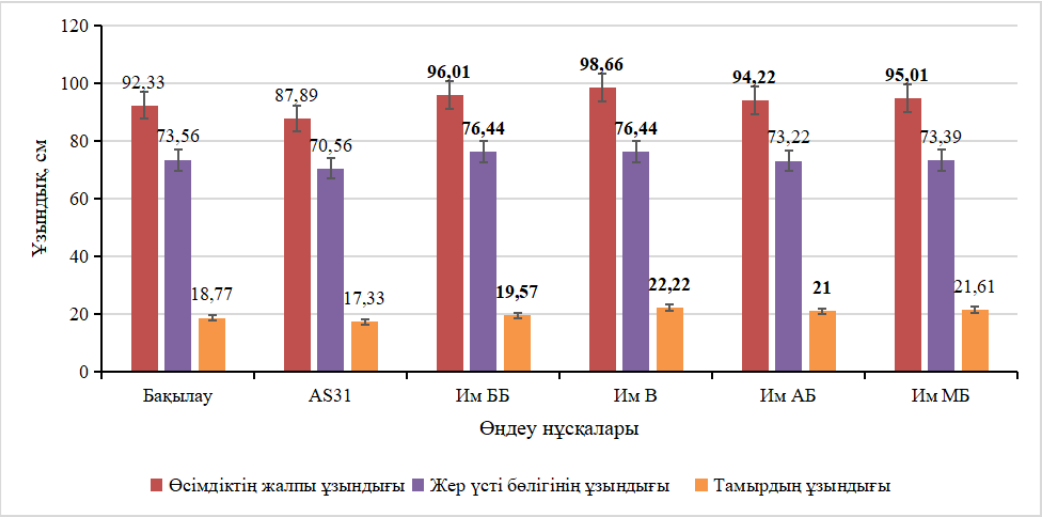
Иммобилизденген сорбенттердің нәтижелері мен механизмдері

Микроорганизмдердің тасымалдаушы матрицада бекітілуі олардың тіршілік ету қабілетін арттырып, қоршаған орта стрессіне төзімділігін күшейтуі және ризосферада ұзақ сақталуын қамтамасыз етуі мүмкін. Иммобилизденген бактериялық препараттардың жүгерінің вегетация-морфометриялық сипаттамаларына әсеріне келетін болсақ, тәжірибе нәтижелері негізінде 52-суретте иммобилизденген сорбенттер жүгері өсімдігінің өсуіне оң әсер еткенін көрсетілді.

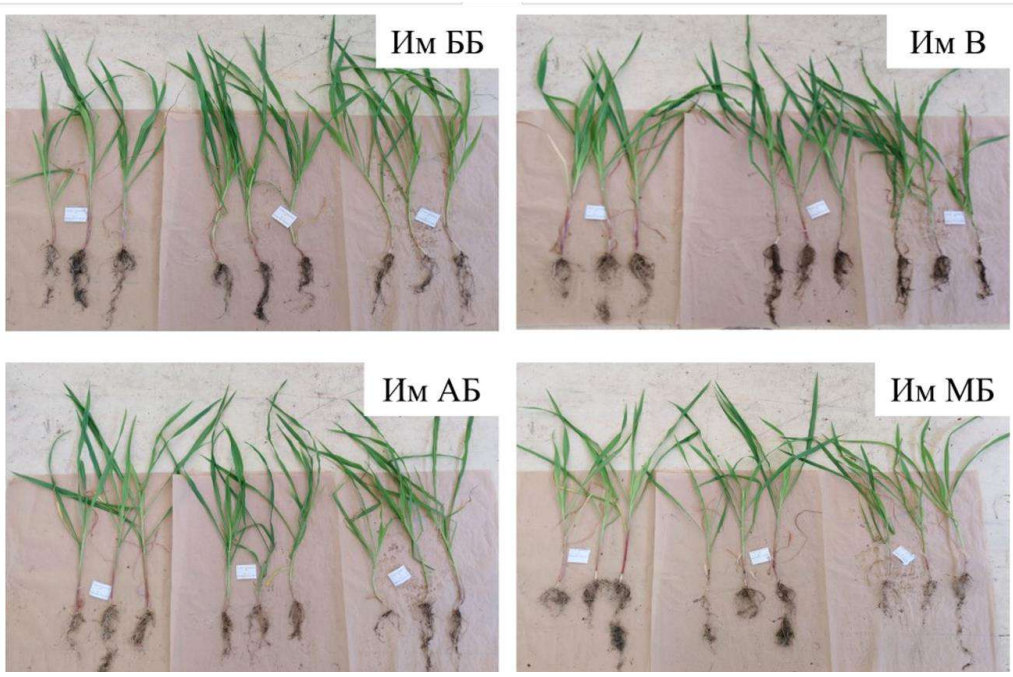
а)



ә)



б)



Сурет 52 - AS31 иммобилизденген сорбенттердің әсері: а) жерүсті және тамыр биомассасы; ә) морфометриялық көрсеткіштер; б) өсімдіктердің морфологиялық көрінісі.

Атап айтқанда, 52-суретте иммобилизденген бидай биокөмірі (Им ББ) нұсқасында жалпы өсімдік ұзындығы бақылаумен салыстырғанда 4,0%-ға, жер үсті бөлігінің ұзындығы 3,9%-ға және тамыр ұзындығы 4,3%-ға артты, ал сабақ ұзындығы 10,5%-ға төмендеп, жапырақ ұзындығы 11,5%-ға артты. Ал жер үсті биомассасы 15,9%-ға жоғарылағанымен, тамыр биомассасы 18,1%-ға төмен болды. Мұндай «жер үстіне бейімделген» немесе «shoot-baised» өсу үлгісі әдебиетте жиі сипатталған [323] және ББ-нің жоғары қолжетімді азот мөлшері есебінен жер үсті бөлігінің қарқынды өсуін ынталандырып, ассимиляттардың тамырдан жер үстіне қайта бөлінуімен байланыстырылады. Тамыр биомассасының төмендеуі, бір жағынан, биокөмірдің беттік аудан (BET) көрсеткішінің салыстырмалы төмен болуымен, иммобилизациялану тиімділігі мен өсімдікке оң ықпалдың толық қалыптаспауы мүмкін екені белгілі [111]. Екінші жағынан, нақты штамм, оның дозасы және орта

жағдайлары да бактерия-биокөмір жүйесінің тиімділігіне шешуші рөл атқарады [350].

Акмеко биокөмірі (Им АБ) нұсқасында да жер үсті биомассасы 11,0%-ға артқанымен, тамыр биомассасы бақылау деңгейінен 2,4%-ға төмендеді. Ал морфометриялық белгілер бойынша жалпы өсімдік ұзындығы 2,0%-ға, тамыр ұзындығы 11,9%-ға артса, жер үсті бөлігінің ұзындығы 0,5%-ға төмен болды. Сабақ ұзындығы 18,3%-ға азайғанымен, жапырақ ұзындығы 8,0%-ға жоғары болды. Жеке қолданылғанда сорбент құрамындағы биогенді элементтердің молдығы есебінен жоғары жер үсті биомассасын қалыптастырады, бірақ оның AS31 мен бірлескен нұсқаларында тиімділіктің төмендеуі байқалды. Бұл құбылыс АБ биокөмірінің қоректік элементтерге байлығы инокуляцияланған штамм мен жергілікті топырақ микробиотасы арасындағы бәсекелестікті күшейтіп, сыртқы штамның ризосфераға бекінуін қиындататынымен түсіндіріледі [330]. Соған қарамастан, АБ-ны иммобилизденген түрде қолдану аталған бәсекелестік кедергіні айтарлықтай бәсеңдетіп, тасымалдаушы матрицасы арқылы ризосфераны тікелей колонизациялауға мүмкіндік туғызады.

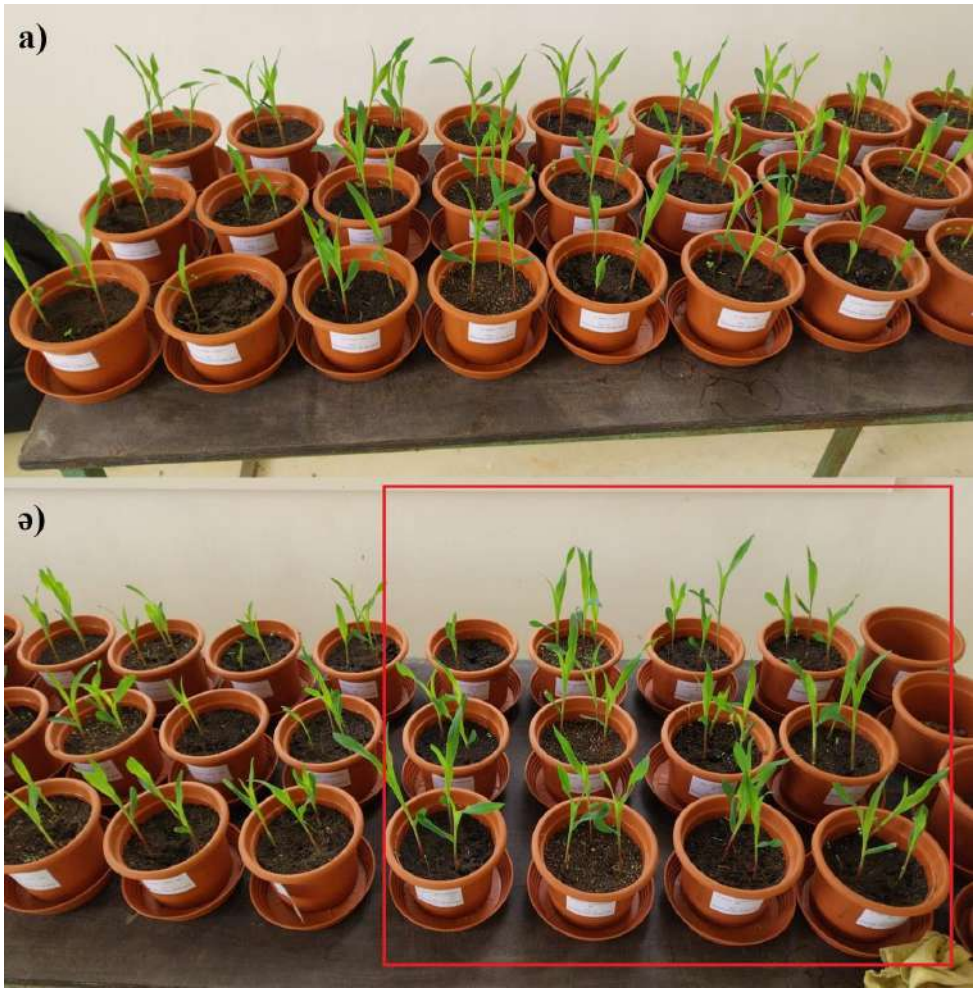
Жоғарғы нәтижелердің бірін иммобилизденген Мискантус биокөмірі (Им МБ) көрсетті: бақылаумен салыстырғанда бұл нұсқа жер үсті биомассасын 15,4%-ға, тамыр биомассасы 48,2%-ға жоғарылап, тамыр жүйесінің дамуына айқын оң әсер көрсетті. Жалпы өсімдік ұзындығы 2,9%-ға, тамыр ұзындығы 15,1%-ға жоғары болды, жер үсті бөлігінің ұзындығы бақылау деңгейіне жақын сақталды, ал сабақ ұзындығы 17,5%-ға төмендеп, жапырақ ұзындығы 9,3%-ға артты. Мұндай нәтиже МБ-інің жоғары меншікті беткейі мен поралық құрылымының бактериялардың тасымалдаушы бетіне тиімді бекітілуіне және ризосферада ұзақ уақыт сақталуына ықпал еткенін көрсетеді [360]. Qi және басқалардың (2023) [92] зерттеуінде *Bacillus megaterium* бактериясын биокөмірге иммобилизациялаудың *Brassica chinensis* өсімдігінің тамыр жүйесін тиімді колонизациялауға және жер үсті өсімін бактерия мен биокөмірді жеке қолданумен салыстырғанда айтарлықтай жоғары деңгейде ынталандыратыны дәлелденген. Бұл заңдылық биокөмір-ӨӨЫР иммобилизденген жүйелерінде жалпы тән болып саналады: матрицада бекітілген микроорганизмдер стресс жағдайында жоғары тіршілік қабілетін сақтап, тамыр аймағындағы қоректік заттарды сіңіруді, ең алдымен тамыр өсімін, тиімді күшейтеді [101,324,330,331].

Статистикалық өңдеу нәтижелері бойынша жер үсті және тамыр массасының артуына ең тиімді нұсқа вермикулит негізіндегі иммобилизацияланған биопрепарат болып анықталды. Барлық нұсқалардың ішінен ең жоғары нәтиже иммобилизденген вермикулит (Им В) нұсқасында тіркелді: жер үсті биомассасы 27,5%-ға, ал тамыр биомассасы 104,8%-ға артып, бақылау көрсеткіштерінен тиісінше 1,28 және 2,05 есе жоғары болды. Им В нұсқасы AS3I штаммын жеке қолданған және иммобилизацияланған сорбент нұсқаларынан статистикалық маңызды жоғары нәтиже көрсетті ($p<0,05$).

Морфометриялық көрсеткіштер бойынша жалпы өсімдік ұзындығы 6,9%-ға, жер үсті бөлігінің ұзындығы 3,9%-ға, ал тамыр ұзындығы бақылау көрсеткішінен 18,4%-ға артты. Сабақ ұзындығы 12,5%-ға төмендегенімен, жапырақ ұзындығы 8,3%-ға артып, өсімдіктің ассимиляциялық аппаратының дамуының жақсарғанын көрсетті. Мұндай нәтиже иммобилизденген жүйенің тамыр аймағында өте қолайлы жағдай туғызып, өсімдіктің қоректік заттарды ең тиімді деңгейде пайдалануын қамтамасыз еткенін дәлелдейді [107]. Вермикулиттің жоғары катионалмасу сыйымдылығы ӨӨЫР жасушаларының айналасында NH^{4+} , K^{+} және Ca^{2+} иондарынан тұратын қолайлы иондық орта қалыптастырып, олардың метаболикалық белсенділігін ұзақ мерзімде қолдайды. Shabir және басқалардың (2026) [332] зерттеуі поралы минералды тасымалдаушылардың сұйық суспензиялар мен органикалық тасымалдаушылармен салыстырғанда ӨӨЫР-дың сақталу және қолдану кезіндегі тіршілік қабілеттілігін айтарлықтай жоғары деңгейде қамтамасыз ететінін дәлелдеген. Malusá және Vassilev [333] еңбектерінде вермикулитке иммобилизденген азотфиксациялаушы бактериялар (*Azospirillum* және *Rhizobium* туыстас штамдар) бидай мен жүгерінің ризосферасын жоғары жылдамдықпен колонизациялап, өсімдіктің тұзды және құрғақшылық стрессіне төзімділігін арттырғаны көрсетілген. Сонымен қатар, *Bacillus subtilis* және *Pseudomonas fluorescens* штамдарының вермикулитте иммобилизденген жағдайда бөлме температурасында 12 айға дейін тіршілік қабілеттілігін сақтайтыны тіркелген, бұл дәстүрлі сұйық бактериалды суспензиялардың сақтау мерзімінен әлдеқайда ұзақ екендігін растайды [334].

Тәжірибе барысында жүгері отырғызылғаннан кейінгі 7-тәулікте тәжірибелік нұсқалар арасында өсімдіктердің бастапқы өсу қарқындылығында айырмашылықтар байқалғанын көрсетті.

Иммобилизденген комбинациялар топырақтағы қолжетімді азот, фосфор және калий мөлшерін жеке қолданылған тасымалдаушы мен бактерияларға қарағанда айтарлықтай арттырып, тамыр жүйесінің дамуын қосымша ынталандырды. Одан бөлек ғылыми деректерде жапырақ ұзындығы сабақ ұзындығымен корреляцияда, бақылау нұсқасындағы мәндерден сабақ ұзындығы көп жағдайда төмендегенімен, жапырақ ұзындығының артуы өсімдіктің ресурстарды жапыраққа бағыттауын көрсетеді [335]. Бұл механизм жүгерінің вегетативті өсуін оңтайландырып, қуаңдық немесе қоректік шектеулерде тиімділікті арттырады [336]. Ұзарған жапырақтар фотосинтезді күшейтіп, көмірсулар мен қоректік заттардың өндірісін арттырады, өйткені жапырақ ұзындығы фотосинтетикалық беттің (LAI - Leaf Area Index) өлшемін анықтайды [337]. LAI жоғарылауы өсімдіктің жалпы өсуін +14-55%-ға дейін арттырады. Жапырақ ұзындығының ұзаруы жүгері өсімдігінде фотосинтез бетін арттырып, ассимиляттар синтезін күшейтеді, транспирацияны реттейді, бұл жалпы өсу мен өнімділікті жақсартады [336].



Сурет 53 - Жүгері өсімдігінің өсіруден кейінгі 7-тәуліктегі өсу қарқыны (ә) нұсқасында иммобилизденген сорбенттердің әсері қызыл төртбұрышпен белгіленген)

53-суретте қызыл төртбұрышпен белгіленген нұсқада иммобилизденген сорбенттердің әсерінен өсімдіктердің жер үсті бөлігінің қалыптасуы салыстырмалы түрде қарқынды жүріп, олардың биіктігі мен жапырақтарының даму деңгейі басқа нұсқаларға қарағанда жоғары болды. Бұл нәтижелер иммобилизденген сорбенттердің жүгерінің бастапқы вегетациялық кезеңіндегі өсу процестерін ынталандыруға оң әсер ететінін көрсетеді.

Зерттеу нәтижелерін жинақтай келе, барлық қолданылған сорбенттер мен *B. thuringiensis AS31* штамының өсімдік биомассасына тигізетін әсері материалдың табиғатына, штамның иммобилизациялану қабілетіне және олардың өзара үйлесімділігіне айқын тәуелді екені анықталды. АБ жер үсті биомассасын тұрақты арттырды, бұл оның жоғары сорбциялық қасиетімен және биогенді элементтерді жинақтап-босату қабілетімен түсіндіріледі. AS31 штамы жеке қолданылған кезде кейбір нұсқаларда биомассаның бақылаудан сәл төмен болуы байқалды, бұл штамның белгілі бір жағдайларда орта шарттарына толық бейімделе алмауымен немесе жергілікті микрофлора тарапынан бәсекелестіктің жоғары болуымен түсіндіріледі. Алайда AS31 сорбенттермен бірлескен, әсіресе иммобилизденген нұсқаларда, оның өсімдікке оң ықпалы айтарлықтай күшейді.

МБ мен В жеке қолданылғанда біркелкі нәтиже бермегенімен, иммобилизденген түрлері тамыр жүйесінің дамуын тиімді күшейтіп, өсімдіктің қоректік заттарды оңтайлы пайдалануына жағдай туғызды. Бұл аталған сорбенттердің тек агрохимиялық әсерімен ғана емес, сонымен қатар ӨӨЫР тасымалдаушысы ретіндегі рөлімен де маңызды болатынын анық көрсетеді. Ең жоғары тиімділік сорбент пен микроорганизмнің иммобилизденген үйлесімді комбинацияларында байқалды - мұндай тәсіл жер үсті және тамыр биомассасын арттыруға, ризосфералық процестерді жандандыруға және қоректік заттардың өсімдікке қолжетімділігін жақсартуға бір мезгілде мүмкіндік береді.

Иммобилизденген жүйелердің артықшылығы бірнеше өзара байланысты механизммен түсіндіріледі. Біріншіден, тасымалдаушы матрицасы экзогенді бактерияларды жергілікті топырақ микрофлорасының бәсекелестік ығыстыруынан физикалық тұрғыда қорғайды: Ahmed және басқалардың (2024) [338] деректері бойынша сұйық инокулянттар топыраққа енгізілген соң тез арада топырақ бөлшектеріне адсорбцияланып, ризосфераны колонизациялау қабілетін жоғалтады. Екіншіден, сорбенттердің поралы құрылымы ӨӨЫР жасушалары үшін тұрақты микрониша қалыптастырып, өсімдіктің критикалық өсу кезеңі бойына ризосфераға бактериялардың бірқалыпты, реттелген түрде бөлінуін қамтамасыз етеді. Үшіншіден, Guan және басқалардың (2023) [101] нәтижелері бойынша тасымалдаушыға иммобилизденген ӨӨЫР топырақтағы қолжетімді азот, фосфор және калий мөлшерін жеке қолданылған тасымалдаушы мен бактерияларға қарағанда айтарлықтай арттырып, тамыр жүйесінің дамуын қосымша ынталандырады. Алынған нәтижелер вермикулит пен Мискантус биокөміріне иммобилизденген AS31 штамы негізіндегі биопрепараттарды жаңа буын биотыңайтқыштар ретінде практикада қолданудың ғылыми негізін қалайды.

3.7 «Вермикулит–Мискантус» иммобилизденген биокомпозитін әзірлеу

3.7.1 Иммобилизденген биокомпозитті қалыптастыру

Жылыжай тәжірибесінің нәтижелері мен сорбенттердің және топырақтың физика-химиялық сипаттамаларын біріктіре отырып, композиттік биопрепарат құрастыру үшін ең перспективалы жұп ретінде вермикулит пен Мискантус биокөмірі таңдалды. Әртүрлі иммобилизденген сорбенттер бойынша жылыжай тәжірибесінің нәтижелеріне сүйенсек, ең жоғары тиімділік *Bacillus thuringiensis* AS31 ризобактериясы иммобилизденген вермикулит (Им В) нұсқасында байқалды: ол жүгерінің жер үсті және тамыр биомассасын айқын арттырып, өсімдіктің морфометриялық көрсеткіштерін жақсартты. Вермикулиттің меншікті беттік ауданы ($23\ м^2/г$) Мискантус биочарымен салыстырғанда төмен, сондықтан оның рөлі көбіне минералдық тасымалдаушы, катионалмасу және ылғал ұстау қабілетімен түсіндіріледі. Оның жоғары ионалмасу қабілеті, қоректік ерітіндінің құрамын өзгерте алатыны және әсіресе жүгерінің белсенді өсу кезеңінде аса қажетті Mg^{2+}, Ca^{2+}, K^{+} сияқты катиондармен алмасуға қатысатыны белгілі.

Вермикулит элементтерді жай ғана өз бойында ұстап қалмайды, оларды эквивалентті ионалмасу арқылы топырақ ерітіндісіне өсімдікке қолжетімді түрде қайта бере алады. Бұл вермикулиттің тек бактерия тасымалдаушысы емес, сонымен бірге жүгері тамырының айналасында қолайлы минералдық орта қалыптастыратын функционалды матрица екенін көрсетеді. Сондықтан тәжірибеде вермикулит нұсқасында элементтердің бір бөлігі өсімдікке қолжетімді формада сақталып, жүгерінің тамыр жүйесінің биомассасының артуына (1.7 г дейін) жағдай жасайды. Вермикулит топырақ-өсімдік жүйесінде қоректік элементтердің қолжетімділігін тұрақтандырып, *nutrient buffering* (қоректік буферлеу) қызметін атқаратын функционалды матрица ретінде қарастырылады [277,339].

Екінші жағынан, иммобилизденген Мискантус биочары (Им МБ) да жоғары нәтижелер көрсетті, себебі оның жоғары меншікті беттік ауданы (174 $м^2/г$), поралық құрылымы және жалпы пора көлемі *B. thuringiensis* AS31 бактерияларын тиімді иммобилизациялауға, бактериялар мен қоректік иондарды тұрақты ұстап тұруға және оларды біртіндеп босатуға өте қолайлы матрица қызметін атқарады. Оның физикалық құрылымы өзі де топырақ-өсімдік жүйесіне оң әсер етеді. Әдеби деректер Мискантус жүйесінің қоректік элементтерді тиімді реутилизациялайтынын және әсіресе жүгерінің вегетациялық кезеңінде аса маңызды болып табылатын K пен P айналымына әсер ететінін көрсетеді [340,341].



Сурет 54 - *Bacillus thuringiensis* AS31 иммобилизденген Вермикулит-Мискантус биокөмір композитінің сыртқы морфологиялық көрінісі

Байқалған оң әсер тек тасымалдаушылардың физикалық қасиеттеріне ғана емес, бірінші кезекте иммобилизденген *Bacillus thuringiensis* AS31 штамының айқын білінген фитостимуляциялық қасиеттеріне тікелей байланысты. Аталған ризобактерия өсімдіктің өсуін белсенді ынталандыратын фитогормон - индолил-3-сірке қышқылын синтездейді. Бұл гормон жүгері тамыр түктерінің созылып өсуіне және тамыр жүйесінің тармақталуына серпін береді. Оған қоса, *B. thuringiensis* AS31 штамының фосфаттар мен цинкті солюбилизациялау (еріту) қабілеті топырақтағы қиын еритін минералды қосылыстарды жүгері оңай сіңіре алатын қолжетімді

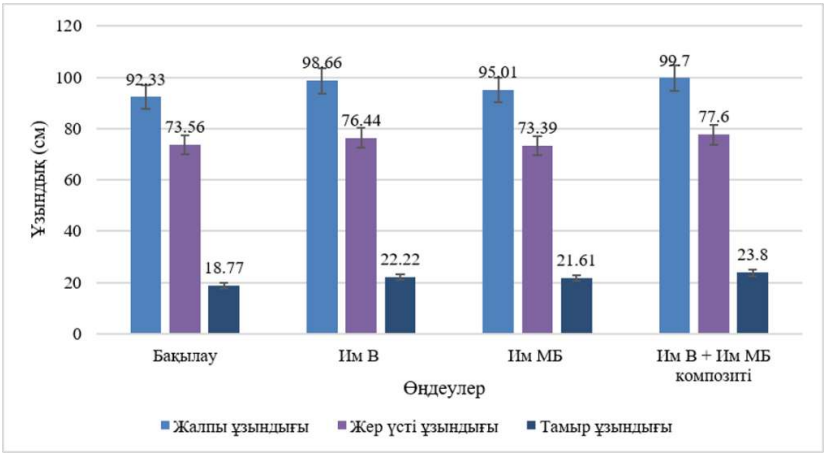
формаларға айналдырады. Сондай-ақ, бактерияның атмосфералық азотты фиксациялау белсенділігі жүгерінің азоттық қоректену деңгейін айтарлықтай жақсартады. Сондықтан байқалған оң әсер тек физика-химиялық тұрғыда ғана емес, *B. thuringiensis* AS31 ризобактериясының осы көпфункционалды биотехнологиялық қасиеттерімен де түсіндіріледі.

Вермикулит пен Мискантус биочары топырақтағы қоректік элементтердің өзгерісіне әртүрлі, бірақ өзара толықтыратын механизм арқылы әсер етеді. Вермикулиттің жоғары ионалмасу қабілеті катиондардың алмасуын және элементтердің өсімдікке қолжетімділігін реттесе, Мискантус биочарының жоғары беткі ауданы мен поралық құрылымы жоғарғы деңгейде бактерияларды адсорбциялап, олардың шайылуын баяулатады және біртіндеп босауына жағдай жасайды. Осылайша, аталған материалдардың комбинациясы өсімдік өсуін қолдайтын және топырақтағы қоректік режимді реттейтін функционалды композит алуға мүмкіндік береді [342].

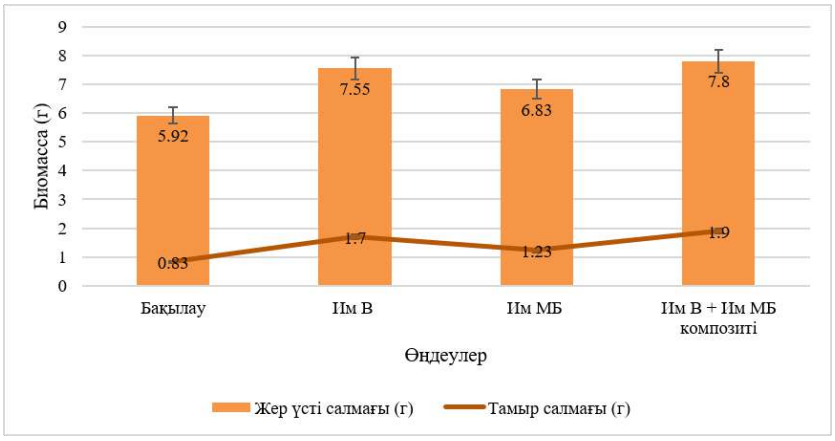
3.7.2 Биопрепараттың өсімдіктердің морфометриялық және биомассалық көрсеткіштеріне әсері

Жылыжай тәжірибесінде *Bacillus thuringiensis* AS31 негізіндегі иммобилизденген бикомпозитті биопрепараттың жүгері өсімдігінің вегетативті дамуына әсері морфометриялық және биомассалық көрсеткіштер арқылы бағаланды.

а)



ә)



Сурет 55 - Биокомпозиттің әсері: вермикулит (Им В), Мискантус биокөмірі (Им МБ) және олардың композиті (Им В+Им МБ).

Сурет 55-те *Bacillus thuringiensis* AS31 штамы Им В, Им МБ және олардың композитінің жүгері өсімдігінің морфометриялық көрсеткіштері мен биомасса жинақталуына әсері көрсетілген. Им В қолданылған нұсқада өсімдіктің жалпы ұзындығы 6,9%-ға, жер үсті бөлігінің ұзындығы 3,9%-ға, ал тамыр ұзындығы 18,4%-ға жоғарылады. Им МБ биокөмір енгізілген кезде жалпы ұзындықтың 2,9%-ға, тамыр ұзындығының 15,1%-ға артуы байқалса, жер үсті бөлігінің ұзындығы бақылау деңгейіне жақын сақталды.

Им В + Им МБ композиті қолданылған нұсқада өсімдіктің жалпы ұзындығы бақылаумен салыстырғанда 8,0%-ға, жер үсті бөлігінің ұзындығы 5,5%-ға, ал тамыр ұзындығы 26,8%-ға артты. Әсіресе тамыр жүйесінің қарқынды дамуы композиттің топырақтағы ылғал мен қоректік элементтердің тиімді пайдаланылуына қолайлы жағдай қалыптастырғанын және бактериялардың ризосферада белсенді колонизациялануына ықпал еткенін көрсетеді.

Өсімдіктің биомасса көрсеткіштері де осы үрдісті растады. Им В жер үсті биомассасын 27,5%-ға, ал тамыр биомассасын 104,8%-ға арттырды. Им МБ биокөмір қолданылған нұсқада жер үсті биомассасының 15,4%-ға, тамыр биомассасының 48,2%-ға жоғарылағаны байқалды. Ал ең жоғары биомасса жинақталуы Им В + Им МБ композиті қолданылған жағдайда тіркеліп, жер үсті биомассасы бақылаумен салыстырғанда 31,8%-ға, ал тамыр биомассасы 128,9%-ға ұлғайды. Тамыр биомассасының екі еседен астам артуы өсімдіктің минералдық қоректенуін жақсартып, оның физиологиялық белсенділігінің күшейгенін көрсетеді.

Алынған нәтижелер *Bacillus thuringiensis* AS31 штамын Вермикулит-Мискантус биокөмірі негізіндегі композитке иммобилизациялау жүгерінің бастапқы өсуін ынталандыратынын көрсетті. Композит қолданылған жағдайда өсімдіктің морфометриялық көрсеткіштері мен жерүсті және тамыр биомассасының артуы бактериялық инокулянт пен минералдық-көміртекті тасымалдаушының қосымша немесе синергиялық әсерімен түсіндіріледі [262].

Ұқсас нәтижелер *Bacillus* бактериялары биокөмірге иммобилизденген зерттеулерде де байқалған. *Bacillus* негізіндегі биокөмірлі препаратты қолдану жүгері тұқымының өнуін, тамыр мен өркен ұзындығын және көшеттің өсу қарқынын жеке биокөмір немесе бос бактерия қолданылған нұсқалармен салыстырғанда жақсартқан. Авторлар бактерияларды биокөмірге бекіту олардың тұрақтылығын және өсімдікпен өзара әрекеттесуін арттырғанын көрсетті. Тасымалдаушы мен *B. thuringiensis* бірге қолданылғанда өсімдік биомассасы мен тамыр жүйесінің дамуы жеке қолдану нұсқаларына қарағанда жоғары болуы мүмкін екені соңғы зерттеулерде көрсетілген [343].

Зерттеу нәтижелеріндегі тамыр биомассасының жоғарылауы ерекше маңызды. Тамыр жүйесінің жақсы дамуы өсімдіктің су мен минералды элементтерді сіңіру аумағын кеңейтеді, топырақтағы микробиологиялық процестерді күшейтеді және өсімдіктің бастапқы кезеңдегі стресс факторларына төзімділігін арттырады. Биокомпозиттің әсері оның физика-химиялық қасиеттеріне де байланысты болуы мүмкін. Мискантус биокөмірінің pH-ы, күлділігі, поралық құрылымы, BET бетінің ауданы және

функционалдық топтары бактериялардың бекінуіне және топырақтағы қоректік элементтердің қозғалысына әсер етеді. Вермикулиттің бөлшек өлшемі мен ылғал ұстау қабілеті де осы процестерді реттейді. Сондықтан алынған биомассаның артуын тек бактериялық әсермен емес, композиттің қоректік режимді буферлеуімен, ылғалдың сақталуымен және тамыр маңындағы микробтық ортаның жақсаруымен бірге түсіндіру қажет.

Осылайша, вермикулит-Мискантус биокөмір композитіне иммобилизденген *B. thuringiensis* AS31 жүгерінің бастапқы даму кезеңінде перспективалы биопрепарат ретінде бағаланады. Оның негізгі артықшылығы - бактерияның жоғары тіршілік ету қабілетін сақтау, тасымалдаушыда тұрақты орналасу, топырақта біртіндеп босап шығу және өсімдіктің тамыр жүйесі мен жалпы биомассасының қалыптасуын ынталандыру.

3.7.3 «Вермикс» иммобилизацияланған биопрепаратын алу технологиясы

Эксперименттік зерттеулер барысында әзірленген иммобилизациялау тәсілі мен Вермикулит-Мискантус биокомпозиті негізіндегі сорбциялық матрица *Bacillus thuringiensis AS31* штамының иммобилизденген түрдегі биопрепаратын алудың теориялық және әдістемелік негізін құрады. Әзірленген биопрепарат бактериялық биомассаны биокомпозитке бекіту арқылы алынатын, микроорганизмдердің тіршілікке қабілеттілігін сақтауға және олардың субстраттағы тұрақтылығын арттыруға бағытталған композициялық жүйе болып табылады.

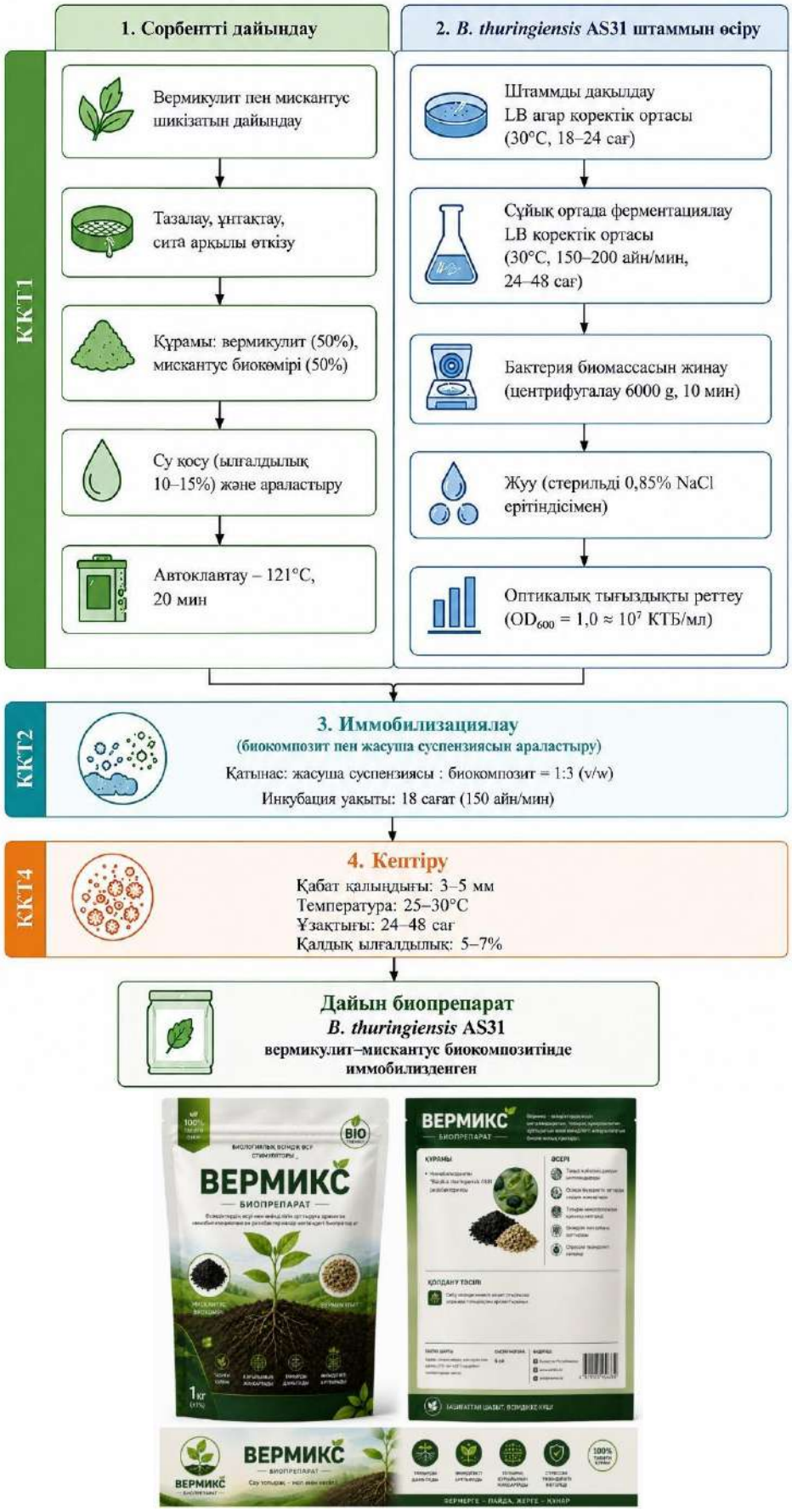
Препаратты алу технологиясы бірнеше өзара байланысты кезеңдерден тұрады:

1-кезең. Вермикулит-Мискантус биокомпозитін дайындау.

Алдымен биокомпозит құрамына енгізілетін Вермикулит пен Мискантус шикізаты дайындалады. Шикізат механикалық қоспалардан тазартылады. Дайындалған компоненттер 50:50 қатынасында араластырылып, биокомпозит түзіледі. Биокомпозитке 10-15% ылғалдылыққа дейін су қосылып, біркелкі араластырылады. Алынған қоспа автоклавта 121 °C температурада 20 минут стерилизация процесінен өтеді. Стерилизациядан кейін биокомпозит асептикалық жағдайда салқындатылады.

2-кезең. *B. thuringiensis AS31* штамын дақылдау және стандарттау.

B. thuringiensis AS31 штамын LB агар қоректік ортасында 30 °C температурада 18-24 сағат дақылданды. Алынған өсінді кейін сұйық Лурия Бертани қоректік ортасына көшіріліп, бактериялық биомассаның жинақталуы үшін ферментацияланады. Ферментациялау барысында қоректік ортаның температурасы 30 °C, араластыру жылдамдығы 150-200 айн/мин, өсіру ұзақтығы 24 сағат деңгейінде жүргізіледі. Ферментация аяқталғаннан кейін бактерия жасушалары культуралық сұйықтықтан центрифугалау арқылы бөлініп алынады (56-сурет).



Сурет 56 - Иммобилизденген Вермикулит-Мискантус биопрепаратын алудың технологиялық сызбанұсқасы

Бактерия биомассасы стерильді 0,85% NaCl ерітіндісімен жуылып, қажетсіз қоректік орта компоненттерінен тазартылады. Алынған бактериялық суспензияның концентрациясы оптикалық тығыздық көрсеткіші бойынша стандартталады. Иммобилизациялау алдында бактериялық суспензияның концентрациясы 10^7 КТБ/мл деңгейіне келтіріледі.

3-кезең. Бактериялық биомассаны биокомпозитке иммобилизациялау.

Дайындалған *B. thuringiensis AS31* бактериялық суспензиясы алдын ала стерильденген Вермикулит-Мискантус биокомпозитімен араластырылады. Иммобилизация кезінде бактериялық суспензия мен биокомпозиттің арақатынасы 1:3 (v/w) мөлшерінде алынады. Қоспа бактериялық жасушалардың биокомпозиттің поралық құрылымына және оның беткі қабатына біркелкі бекітілуін қамтамасыз ету мақсатында 18 сағат бойы инкубацияланады. Осы кезеңде бактериялық жасушалардың биокомпозит матрицасына бекінуі және тұрақтануы жүзеге асады.

4-кезең. Иммобилизденген биопрепаратты кептіру.

Иммобилизация үдерісі аяқталғаннан кейін алынған масса кептіруге жіберіледі. Кептіру 25-30 °С температура жағдайында жүргізіледі. Кептіру ұзақтығы 24-48 сағатты құрайды. Кептірудің жұмсақ температуралық режимі бактериялық жасушалардың тіршілікке қабілеттілігін мүмкіндігінше сақтауға бағытталған.

5-кезең. Дайын биопрепаратты алу және сапасын бақылау.

Кептірілген және дайын күйге келтірілген биопрепаратының сапалық көрсеткіштерін бағалау жүргізіледі. Сапаны бақылау барысында препараттың сыртқы түрі, біркелкілігі, ылғалдылығы, бактериялық жасушалардың тіршілікке қабілеттілігі және *B. thuringiensis AS31* жасушаларының концентрациясы анықталады. Микробиологиялық бақылау иммобилизациядан кейінгі бактериялық жасушалардың сақталуын бағалауға және препараттың биологиялық белсенділігін сипаттауға бағытталады. Сонымен қатар, препараттың сақтау кезінде тұрақтылығын бағалау үшін бактериялық жасушалардың жоғары тіршілік ету қабілеті мен жалпы микробиологиялық көрсеткіштерінің өзгерісі бақыланады.

Алынған нәтижелер дайын биопрепараттың белгіленген технологиялық параметрлерге сәйкестігін бағалауға мүмкіндік береді.Сапа көрсеткіштері белгіленген талаптарға сәйкес келген дайын «Вермикс» биопрепараты стерильді немесе санитариялық талаптарға сәйкес дайындалған қаптамаға салынады. Қаптау кезінде препараттың ылғалдануын, сыртқы орта әсерін және микробиологиялық ластануын болдырмайтын жағдайлар қамтамасыз етіледі. Қаптамаға препараттың атауы, құрамындағы *B. thuringiensis AS31* штамы, нетто массасы, дайындалған тәулікі, сақтау мерзімі және сақтау шарттары туралы ақпарат көрсетіледі (60-сурет).

«Вермикс» - өсімдіктердің тамыр жүйесінің дамуын ынталандырады, қоректік заттардың сіңірілуін жақсартады, топырақтың құрылымын қалпына келтіруге ықпал етуге арналған, иммобилизденген өсуді ынталандырушы ризобактерия негізінде әзірленген биологиялық препарат.

ҚОРЫТЫНДЫ

Жүргізілген зерттеу нәтижелері келесі қорытындыларды жасауға мүмкіндік береді:

1. Перспективті ризобактерия штамдары ретінде *Stenotrophomonas indicatrix AS8, Pantoea agglomerans AS23* және *Bacillus thuringiensis AS31* идентификацияланды. Аталған штамдар индол-3-сірке қышқылын (43,1-48,5 мг/л), сидерофорларды (1,33-3,6 мг/л) және аммиакты (22-25 мг/л) синтездеп, фосфаттар мен мырышты еріту қабілетін көрсетті (SI 2,3-4,0). Сонымен қатар, олар *Fusarium graminearum, F. solani, F. oxysporum, Alternaria alternata* және *Pythium aphanidermatum* фитопатогенді саңырауқұлақтарына қатысты антагонистік белсенділік танытты.

2. Әртүрлі сорбент-тасымалдаушының химиялық құрамы және құрылымдық параметрлері анықталды:

Бидай сабанынан алынған биокөмір құрамында Si, Ca және K элементтерінің жоғары мөлшерімен және дамыған мезопоралық құрылымы мен сипатталды. Оның меншікті беткі ауданы 17 м²/г, ал пора өлшемі 2-5 нм аралығында болды. Вермикулит құрамында Mg, Si және Al элементтері анықталып, қабатты-минералдық құрылымымен және дамыған мезопоралы жүйесімен ерекшеленді. Оның меншікті беткі ауданы 23,24 м²/г, поралардың жалпы көлемі 54,96 мм³/г құрады. Акмеко биокөмірінің меншікті беткі ауданы 59 м²/г, ал микропора көлемі 17 мм³/г болды. Мискантус биокөмірінің құрамында Ca, Si, K, S және P элементтері анықталып, меншікті беткі ауданы 174 м²/г, микропора көлемі 54 мм³/г құрады. Зерттелген сорбенттердің ішінде Мискантус биокөмірі ең жоғары меншікті беткі ауданымен және дамыған поралық құрылымымен ерекшеленіп, жоғары сорбциялық әлеуетке ие перспективалы тасымалдаушы ретінде анықталды.

3. Иммобилизацияның ең жоғары тиімділігі *Bacillus thuringiensis AS31* үшін анықталды және 83,3% құрады. Иммобилизациялау үшін бастапқы бактериялық суспензия концентрациясы 10^7 КТБ/мл, ал иммобилизация ұзақтығы 18 сағатты құрады.

4. *Bacillus thuringiensis AS31* негізіндегі сорбент-бактериялық композициялардың тиімділігі анықталды. Қосарлы әсер ету қағидасына сәйкес вермикулит пен мискантус биокөмірі перспективалы сорбент-тасымалдаушылар ретінде таңдалды. Вермикулит жүгерінің жерүсті және тамыр биомассасының тиісінше 27,5 және 104,8 %-ға жоғарылауын, топырақтағы Ca мөлшерін 10,9%-ға, Mg мөлшерін 15,4%-ға арттуын қамтамасыз етті. Мискантус биокөмірі жерүсті және тамыр биомассасының тиісінше 15,4 және 48,2 %-ға жоғарылауына және топырақтағы P мөлшерінің 7,9 %, K - 9,2 %, Ca - 17,8 % және Mg -1,7%-ға артуына ықпал етті. Алынған нәтижелер тиімді микробтық биопрепарат құрастыру үшін вермикулит пен мискантус биокөмірін сорбент-тасымалдаушы ретінде қолданудың перспективтілігін дәлелдейді.

5. Сорбенттердің физика-химиялық сипаттамаларын, топырақтағы макроэлементтер мөлшерінің өзгеруін және вегетациялық тәжірибе нәтижелерін кешенді бағалау негізінде «Вермикулит-Мискантус»

биокомпозитінің оңтайлы құрамы негізделді. Алынған нәтижелер негізінде иммобилизацияланған «Вермикс» биопрепаратын алу технологиялық сызбасы әзірленді. Технологиялық процестің негізгі параметрлері белгіленді: вермикулит пен мискантус биокөмірінің арақатынасы - 50:50, бастапқы бактериялық суспензия концентрациясы - 10^7 КТБ/мл, бактериялық суспензия мен биокомпозиттің арақатынасы - 1:3 (v/w), иммобилизациялау ұзақтығы - 18 сағат.

ПАЙДАЛАНЫЛҒАН ӘДЕБИЕТТЕР ТІЗІМІ

1. Akanmu A.O., Olowe O.M., Phiri A.T., Nirere D., Odebode A.J., Karemera Umuhoza N.J., Asemoloye M.D., Babalola O.O. Bioresources in Organic Farming: Implications for Sustainable Agricultural Systems // Horticulturae. – 2023. – Vol. 9, No. 6. – Article 659. – DOI: https://doi.org/10.3390/horticulturae9060659.
2. Smirnova I., Sadanov A., Baimakhanova G., Faizulina E., Tatarkina L. Metabolic interaction at the level of extracellular amino acids between plant growth-promoting rhizobacteria and plants of alfalfa (*Medicago sativa* L.) // Rhizosphere. – 2022. – Vol. 21. – Article 100477. – DOI: https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2022.100477.
3. Batykova Z.K., Kistaubayeva A.S., Savitskaya I.S., Pidlisnyuk V. Isolation and study of plant growth promoting rhizobacteria from *Triticosecale* Wittmack growing in Almaty region // International Journal of Biology and Chemistry. – 2024. – Vol. 17, No. 1. – P. 53–59. – DOI: https://doi.org/10.26577/IJBCh2024v17i1-a6.
4. Ajijah N., Fiodor A., Pandey A.K., Rana A., Pranaw K. Plant Growth-Promoting Bacteria (PGPB) with Biofilm-Forming Ability: A Multifaceted Agent for Sustainable Agriculture // Diversity. – 2023. – Vol. 15, No. 1. – Article 112. – DOI: https://doi.org/10.3390/d15010112.
5. Nosheen S., Ajmal I., Song Y. Microbes as Biofertilizers, a Potential Approach for Sustainable Crop Production // Sustainability. – 2021. – Vol. 13, No. 4. – Article 1868. – DOI: https://doi.org/10.3390/su13041868.
6. Wang L., Cheng D., Liu X., Ye Y. Utilizing microorganisms immobilized on carbon-based materials for environmental remediation: a mini review // Wecn. – 2024. – DOI: https://doi.org/10.20517/wecn.2024.14.
7. Pidlisnyuk V., Mamirova A., Newton R.A., Stefanovska T., Zhukov O., Tsygankova V., Shapoval P. The Role of Plant Growth Regulators in *Miscanthus* × *giganteus* Growth on Trace Elements-Contaminated Soils // Agronomy. – 2022. – Vol. 12, No. 12. – Article 2999. – DOI: https://doi.org/10.3390/agronomy12122999.
8. Hasan A., Tabassum B., Hashim M., Khan N. Role of Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) as a Plant Growth Enhancer for Sustainable Agriculture: A Review // Bacteria. – 2024. – Vol. 3, No. 2. – P. 59–75. – DOI: https://doi.org/10.3390/bacteria3020005.
9. Deng M., Li K., Yan Y.-J., Huang F., Peng D. Enhanced cadmium removal by growing *Bacillus cereus* RC-1 immobilized on different magnetic biochars through simultaneous adsorption and bioaccumulation // Environmental Science and Pollution Research. – 2022. – Vol. 29. – P. 18495–18507. – DOI: https://doi.org/10.1007/s11356-021-17125-x.
10. Sun T., Miao J., Saleem M., Zhang H., Yang Y., Zhang Q. Bacterial compatibility and immobilization with biochar improved tebuconazole degradation, soil microbiome composition and functioning // Journal of Hazardous Materials. – 2020. – Vol. 398. – Article 122941. – DOI: https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.122941.
11. Schommer V.A., Vanin A.P., Nazari M.T., Ferrari V., Dettmer A., Colla L.M., Piccin J.S. Biochar-immobilized *Bacillus* spp. for heavy metals bioremediation: A

review on immobilization techniques, bioremediation mechanisms and effects on soil // Science of the Total Environment. – 2023. – Vol. 881. – Article 163385. – DOI: https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.163385.
12. Bolan S., Hou D., Wang L., Hale L., Egamberdieva D., Tammeorg P., Li R., Wang B., Xu J., Wang T., Sun H., Padhye L.P., Wang H., Siddique K.H.M., Rinklebe J., Kirkham M.B., Bolan N. The potential of biochar as a microbial carrier for agricultural and environmental applications // Science of the Total Environment. – 2023. – Vol. 886. – Article 163968. – DOI: https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.163968.
13. Kumar Soda P.R., Chakravarthi K., Mini K.M. Experimental and statistical investigation on strength and microcracks remediation in cement mortar using expanded vermiculite as a bacterial carrier // Journal of Building Engineering. – 2023. – Vol. 63. – Article 105567. – DOI: https://doi.org/10.1016/j.jobe.2022.105567.
14. Pan Z., Wu Y., Zhai Q., Tang Y., Liu X., Xu X., Liang S., Zhang H. Immobilization of bacterial mixture of *Klebsiella variicola* FH-1 and *Arthrobacter* sp. NJ-1 enhances the bioremediation of atrazine-polluted soil environments // Frontiers in Microbiology. – 2023. – Vol. 14. – DOI: https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1056264.
15. Wahla A.Q., Anwar S., Mueller J.A., Arslan M., Iqbal S. Immobilization of metribuzin degrading bacterial consortium MB3R on biochar enhances bioremediation of potato vegetated soil and restores bacterial community structure // Journal of Hazardous Materials. – 2020. – Vol. 390. – Article 121493. – DOI: https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.121493.
16. de la Fuente Cantó C., Simonin M., King E., Moulin L., Bennett M.J., Castrillo G., Laplaze L. An extended root phenotype: the rhizosphere, its formation and impacts on plant fitness // The Plant Journal. – 2020. – Vol. 103. – P. 951–964. – DOI: https://doi.org/10.1111/tpj.14781.
17. Zambelli A., Nocito F.F., Araniti F. Unveiling the multifaceted roles of root exudates: chemical interactions, allelopathy, and agricultural applications // Agronomy. – 2025. – Vol. 15. – Article 845. – DOI: https://doi.org/10.3390/agronomy15040845.
18. Wu L., Weston L.A., Zhu S., Zhou X. Editorial: Rhizosphere interactions: root exudates and the rhizosphere microbiome // Frontiers in Plant Science. – 2023. – Vol. 14. – DOI: https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1281010.
19. Anderson H.M., Cagle G.A., Majumder E.L.-W., Silva E., Dawson J., Simon P., Freedman Z.B. Root exudation and rhizosphere microbial assembly are influenced by novel plant trait diversity in carrot genotypes // Soil Biology and Biochemistry. – 2024. – Vol. 197. – Article 109516. – DOI: https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2024.109516.
20. Shi X., Zhao Y., Xu M., Ma L., Adams J.M., Shi Y. Insights into plant–microbe interactions in the rhizosphere to promote sustainable agriculture in the new crops era // New Crops. – 2024. – Vol. 1. – Article 100004. – DOI: https://doi.org/10.1016/j.ncrops.2023.11.002.

21. Yang L., Qian X., Zhao Z., Wang Y., Ding G., Xing X. Mechanisms of rhizosphere plant-microbe interactions: molecular insights into microbial colonization // Frontiers in Plant Science. – 2024. – Vol. 15. – DOI: https://doi.org/10.3389/fpls.2024.1491495.
22. Muhammad A., Kong X., Zheng S., Bai N., Li L., Khan M.H.U., Fiaz S., Zhang Z. Exploring plant-microbe interactions in adapting to abiotic stress under climate change: a review // Frontiers in Plant Science. – 2024. – Vol. 15. – DOI: https://doi.org/10.3389/fpls.2024.1482739.
23. Philippot L., Raaijmakers J.M., Lemanceau P., van der Putten W.H. Going back to the roots: the microbial ecology of the rhizosphere // Nature Reviews Microbiology. – 2013. – Vol. 11. – P. 789–799. – DOI: https://doi.org/10.1038/nrmicro3109.
24. Carvalho T.L.G., Balsemao-Pires E., Saraiva R.M., Ferreira P.C.G., Hemerly A.S. Nitrogen signalling in plant interactions with associative and endophytic diazotrophic bacteria // Journal of Experimental Botany. – 2014. – Vol. 65. – P. 5631–5642. – DOI: https://doi.org/10.1093/jxb/eru319.
25. Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): the bugs to debug the root zone // Critical Reviews in Microbiology. – Vol. 36, No. 3. – URL: https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.3109/10408411003766806 (қаралған күні: 21.06.2025).
26. Etesami H., Maheshwari D.K. Use of plant growth promoting rhizobacteria (PGPRs) with multiple plant growth promoting traits in stress agriculture: action mechanisms and future prospects // Ecotoxicology and Environmental Safety. – 2018. – Vol. 156. – P. 225–246. – DOI: https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.03.013.
27. Zhang T., Jian Q., Yao X., Guan L., Li L., Liu F., Zhang C., Li D., Tang H., Lu L. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) improve the growth and quality of several crops // Heliyon. – 2024. – Vol. 10. – Article e31553. – DOI: https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e31553.
28. Rajkumari J., Katiyar P., Dheeman S., Pandey P., Maheshwari D.K. The changing paradigm of rhizobial taxonomy and its systematic growth upto postgenomic technologies // World Journal of Microbiology and Biotechnology. – 2022. – Vol. 38. – Article 206. – DOI: https://doi.org/10.1007/s11274-022-03370-w.
29. Ling N., Wang T., Kuzyakov Y. Rhizosphere bacteriome structure and functions // Nature Communications. – 2022. – Vol. 13. – Article 836. – DOI: https://doi.org/10.1038/s41467-022-28448-9.
30. Mengstie G.Y., Awlachew Z.T., Degefa A.M. Screening of rhizobacteria for multi-trait plant growth-promoting ability and antagonism against *B. fabae*, the causative agent of chocolate spot disease of faba bean // Heliyon. – 2024. – Vol. 10. – Article e25334. – DOI: https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e25334.
31. Pantigoso H.A., Newberger D., Vivanco J.M. The rhizosphere microbiome: Plant–microbial interactions for resource acquisition // Journal of Applied Microbiology. – 2022. – Vol. 133. – P. 2864–2876. – DOI: https://doi.org/10.1111/jam.15686.

32. Yang L., Wan X., Zhou R., Yuan Y. The composition and function of the rhizosphere bacterial community of *Paeonia lactiflora* varies with the cultivar // Biology. – 2023. – Vol. 12. – Article 1363. – DOI: https://doi.org/10.3390/biology12111363.
33. Maphosa S., Steyn M., Lebre P.H., Gokul J.K., Convey P., Marais E., Maggs-Kölling G., Cowan D.A. Rhizosphere bacterial communities of Namib Desert plant species: Evidence of specialised plant-microbe associations // Microbiological Research. – 2025. – Vol. 293. – Article 128076. – DOI: https://doi.org/10.1016/j.micres.2025.128076.
34. Kalam S., Basu A., Podile A.R. Functional and molecular characterization of plant growth promoting *Bacillus* isolates from tomato rhizosphere // Heliyon. – 2020. – Vol. 6. – Article e04734. – DOI: https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e04734.
35. Wahab A., Batool F., Abdi G., Muhammad M., Ullah S., Zaman W. Role of plant growth-promoting rhizobacteria in sustainable agriculture: Addressing environmental and biological challenges // Journal of Plant Physiology. – 2025. – Vol. 307. – Article 154455. – DOI: https://doi.org/10.1016/j.jplph.2025.154455.
36. Jiao X., Takishita Y., Zhou G., Smith D.L. Plant associated rhizobacteria for biocontrol and plant growth enhancement // Frontiers in Plant Science. – 2021. – Vol. 12. – DOI: https://doi.org/10.3389/fpls.2021.634796.
37. Vacheron J., Desbrosses G., Bouffaud M.-L., Touraine B., Moënne-Loccoz Y., Muller D., Legendre L., Wisniewski-Dyé F., Prigent-Combaret C. Plant growth-promoting rhizobacteria and root system functioning // Frontiers in Plant Science. – 2013. – Vol. 4. – DOI: https://doi.org/10.3389/fpls.2013.00356.
38. Khoshru B., Mitra D., Khoshmanzar E., Myo E.M., Uniyal N., Mahakur B., Mohapatra P.K.D., Panneerselvam P., Boutaj H., Alizadeh M., Cely M.V.T., Senapati A., Rani A. Current scenario and future prospects of plant growth-promoting rhizobacteria: An economic valuable resource for the agriculture revival under stressful conditions // Journal of Plant Nutrition. – 2020. – Vol. 43. – P. 3062–3092. – DOI: https://doi.org/10.1080/01904167.2020.1799004.
39. Kunal, Pranaw K., Kumawat K.C., Meena V.S. Editorial: Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) and plant hormones: An approach for plant abiotic stress management and sustainable agriculture // Frontiers in Microbiology. – 2023. – Vol. 14. – DOI: https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1285756.
40. Deb C.R., Tatung M. Siderophore producing bacteria as biocontrol agent against phytopathogens for a better environment: A review // South African Journal of Botany. – 2024. – Vol. 165. – P. 153–162. – DOI: https://doi.org/10.1016/j.sajb.2023.12.031.
41. Janati W., Mikou K., El Ghadraoui L., Errachidi F. Isolation and characterization of phosphate solubilizing bacteria naturally colonizing legumes rhizosphere in Morocco // Frontiers in Microbiology. – 2022. – Vol. 13. – DOI: https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.958300.
42. Wan W., Qin Y., Wu H., Zuo W., He H., Tan J., Wang Y., He D. Isolation and characterization of phosphorus solubilizing bacteria with multiple phosphorus sources utilizing capability and their potential for lead immobilization in soil //

Frontiers in Microbiology. – 2020. – Vol. 11. – DOI: https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00752.
43. Luo D., Shi J., Li M., Chen J., Wang T., Zhang Q., Yang L., Zhu N., Wang Y. Consortium of phosphorus-solubilizing bacteria promotes maize growth and changes the microbial community composition of rhizosphere soil // Agronomy. – 2024. – Vol. 14. – Article 1535. – DOI: https://doi.org/10.3390/agronomy14071535.
44. Alori E.T., Glick B.R., Babalola O.O. Microbial phosphorus solubilization and its potential for use in sustainable agriculture // Frontiers in Microbiology. – 2017. – Vol. 8. – DOI: https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00971.
45. Khatoon Z., Huang S., Rafique M., Fakhar A., Kamran M.A., Santoyo G. Unlocking the potential of plant growth-promoting rhizobacteria on soil health and the sustainability of agricultural systems // Journal of Environmental Management. – 2020. – Vol. 273. – Article 111118. – DOI: https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2020.111118.
46. Ganesh J., Hewitt K., Devkota A.R., Wilson T., Kaundal A. IAA-producing plant growth promoting rhizobacteria from *Ceanothus velutinus* enhance cutting propagation efficiency and *Arabidopsis* biomass // Frontiers in Plant Science. – 2024. – Vol. 15. – DOI: https://doi.org/10.3389/fpls.2024.1374877.
47. Orozco-Mosqueda M. del C., Santoyo G., Glick B.R. Recent advances in the bacterial phytohormone modulation of plant growth // Plants. – 2023. – Vol. 12. – Article 606. – DOI: https://doi.org/10.3390/plants12030606.
48. Keswani C., Singh S.P., García-Estrada C., Mezaache-Aichour S., Glare T.R., Borriss R., Rajput V.D., Minkina T.M., Ortiz A., Sansinenea E. Biosynthesis and beneficial effects of microbial gibberellins on crops for sustainable agriculture // Journal of Applied Microbiology. – 2022. – Vol. 132. – P. 1597–1615. – DOI: https://doi.org/10.1111/jam.15348.
49. Jia Y., Liao Z., Chew H., Wang L., Lin B., Chen C., Lu G., Lin Z. Effect of *Pennisetum giganteum* Z.X. Lin mixed nitrogen-fixing bacterial fertilizer on the growth, quality, soil fertility and bacterial community of pakchoi (*Brassica chinensis* L.) // PLOS ONE. – 2020. – Vol. 15. – Article e0228709. – DOI: https://doi.org/10.1371/journal.pone.0228709.
50. Wang Y., Li W., Du B., Li H. Effect of biochar applied with plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) on soil microbial community composition and nitrogen utilization in tomato // Pedosphere. – 2021. – Vol. 31. – P. 872–881. – DOI: https://doi.org/10.1016/S1002-0160(21)60030-9.
51. Riaz U., Murtaza G., Anum W., Samreen T., Sarfraz M., Nazir M.Z. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) as biofertilizers and biopesticides // Microbiota and Biofertilizers: A Sustainable Continuum for Plant and Soil Health / Eds. K.R. Hakeem, G.H. Dar, M.A. Mehmood, R.A. Bhat. – Cham: Springer International Publishing, 2021. – P. 181–196. – DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-030-48771-3_11.
52. de Andrade L.A., Santos C.H.B., Frezarin E.T., Sales L.R., Rigobelo E.C. Plant growth-promoting rhizobacteria for sustainable agricultural production // Microorganisms. – 2023. – Vol. 11. – Article 1088. – DOI: https://doi.org/10.3390/microorganisms11041088.

53. Soumare A., Diédhiou A.G., Arora N.K., Tawfeeq Al-Ani L.K., Ngom M., Fall S., Hafidi M., Ouhdouch Y., Kouisni L., Sy M.O. Potential role and utilization of plant growth promoting microbes in plant tissue culture // Frontiers in Microbiology. – 2021. – Vol. 12. – DOI: https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.649878.
54. Sepp S.-K., Vasar M., Davison J., Oja J., Anslan S., Al-Quraishy S., Bahram M., Bueno C.G., Cantero J.J., Fabiano E.C., Decocq G., Drenkhan R., Fraser L., Garibay Oriel R., Hiiesalu I., Koorem K., Kõljalg U., Moora M., Mucina L., Öpik M., Põlme S., Pärtel M., Phosri C., Semchenko M., Vahter T., Vasco Palacios A.M., Tedersoo L., Zobel M. Global diversity and distribution of nitrogen-fixing bacteria in the soil // Frontiers in Plant Science. – 2023. – Vol. 14. – DOI: https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1100235.
55. Zhang X., Han L., Wang Q., Zhang C., Yu Y., Tian J., Kong Z. The host actin cytoskeleton channels rhizobia release and facilitates symbiosome accommodation during nodulation in *Medicago truncatula* // New Phytologist. – 2019. – Vol. 221. – P. 1049–1059. – DOI: https://doi.org/10.1111/nph.15423.
56. Singh D., Prasanna R. Potential of microbes in the biofortification of Zn and Fe in dietary food grains: A review // Agronomy for Sustainable Development. – 2020. – Vol. 40. – Article 15. – DOI: https://doi.org/10.1007/s13593-020-00619-2.
57. Upadhayay V.K., Singh A.V., Khan A., Sharma A. Contemplating the role of zinc-solubilizing bacteria in crop biofortification: An approach for sustainable bioeconomy // Frontiers in Agronomy. – 2022. – Vol. 4. – DOI: https://doi.org/10.3389/fagro.2022.903321.
58. Srithaworn M., Jaroenthanyakorn J., Tangjitjaroenkun J., Suriyachadkun C., Chunhachart O. Zinc solubilizing bacteria and their potential as bioinoculant for growth promotion of green soybean (*Glycine max* L. Merr.) // PeerJ. – 2023. – Vol. 11. – Article e15128. – DOI: https://doi.org/10.7717/peerj.15128.
59. Upadhayay V.K., Gangola S., Taj G., Gaurav K., Rani A., Kumar S., Garg S., Gupta G., Ali H., Siddiqui S., Alamri S.A.M., Mittal A., Alrumman S.A., Pandey M. Zinc-solubilizing bacterial consortia: A promising approach for zinc biofortification of crops // Frontiers in Microbiology. – 2025. – Vol. 16. – DOI: https://doi.org/10.3389/fmicb.2025.1575514.
60. Upadhyay H., Gangola S., Sharma A., Singh A., Maithani D., Joshi S. Contribution of zinc solubilizing bacterial isolates on enhanced zinc uptake and growth promotion of maize (*Zea mays* L.) // Folia Microbiologica. – 2021. – Vol. 66. – P. 543–553. – DOI: https://doi.org/10.1007/s12223-021-00863-3.
61. Bhagwat A., Collins C.H., Dordick J.S. Selective antimicrobial activity of cell lytic enzymes in a bacterial consortium // Applied Microbiology and Biotechnology. – 2019. – Vol. 103. – P. 7041–7054. – DOI: https://doi.org/10.1007/s00253-019-09955-0.
62. Kloepper J.W., Leong J., Teintze M., Schroth M.N. *Pseudomonas* siderophores: A mechanism explaining disease-suppressive soils // Current Microbiology. – 1980. – Vol. 4. – P. 317–320. – DOI: https://doi.org/10.1007/BF02602840.

63. Silva U.C., Cuadros-Orellana S., Silva D.R.C., Freitas-Júnior L.F., Fernandes A.C., Leite L.R., Oliveira C.A., Dos Santos V.L. Genomic and phenotypic insights into the potential of rock phosphate solubilizing bacteria to promote millet growth in vivo // Frontiers in Microbiology. – 2020. – Vol. 11. – DOI: https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.574550.
64. McLaren T.I., Smernik R.J., McLaughlin M.J., Doolette A.L., Richardson A.E., Frossard E. The chemical nature of soil organic phosphorus: A critical review and global compilation of quantitative data // Advances in Agronomy / Ed. D.L. Sparks. – Academic Press, 2020. – Vol. 161. – P. 51–124. – DOI: https://doi.org/10.1016/bs.agron.2019.10.001.
65. Fodor F. Iron nutrition and its biochemical interactions in plants: Iron uptake, biofortification, bacteria, and fungi in focus // Plants. – 2024. – Vol. 13. – Article 561. – DOI: https://doi.org/10.3390/plants13050561.
66. Grillet L., Schmidt W. Iron acquisition strategies in land plants: Not so different after all // New Phytologist. – 2019. – Vol. 224. – P. 11–18. – DOI: https://doi.org/10.1111/nph.16005.
67. Din M., Nelofer R., Salman M., Abdullah, Khan F.H., Khan A., Ahmad M., Jalil F., Din J.U., Khan M. Production of nitrogen fixing *Azotobacter* (SR-4) and phosphorus solubilizing *Aspergillus niger* and their evaluation on *Lagenaria siceraria* and *Abelmoschus esculentus* // Biotechnology Reports. – 2019. – Vol. 22. – Article e00323. – DOI: https://doi.org/10.1016/j.btre.2019.e00323.
68. Semwal P., Dave A., Israr J., Misra S., Kumar M., Paul D. Exploring microbial ecosystem services for environmental stress amelioration: A review // International Journal of Molecular Sciences. – 2025. – Vol. 26. – Article 4515. – DOI: https://doi.org/10.3390/ijms26104515.
69. Dursun A.Y., Tepe O. Internal mass transfer effect on biodegradation of phenol by Ca-alginate immobilized *Ralstonia eutropha* // Journal of Hazardous Materials. – 2005. – Vol. 126. – P. 105–111. – DOI: https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2005.06.013.
70. Gannett M., DiTommaso A., Sparks J.P., Kao-Kniffin J. Microbial nitrogen immobilization as a tool to manage weeds in agroecosystems // Agriculture, Ecosystems & Environment. – 2024. – Vol. 366. – Article 108904. – DOI: https://doi.org/10.1016/j.agee.2024.108904.
71. Yehya S., Delannoy M., Fournier A., Baroudi M., Rychen G., Feidt C. Activated carbon, a useful medium to bind chlordecone in soil and limit its transfer to growing goat kids // PLOS ONE. – 2017. – Vol. 12. – Article e0179548. – DOI: https://doi.org/10.1371/journal.pone.0179548.
72. Khalid S., Shahid M., Murtaza B., Bibi I., Natasha, Naeem M.A., Niazi N.K. A critical review of different factors governing the fate of pesticides in soil under biochar application // Science of the Total Environment. – 2020. – Vol. 711. – Article 134645. – DOI: https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.134645.
73. Parmar S., Singh V., Sharma V.K., Yadav B.K., Kharwar R.N. Effect of vermiculite soil amendment on immobilization of selected heavy metals of rhizospheric zone of maize // Communications in Soil Science and Plant Analysis. – 2022. – Vol. 53. – P. 384–395. – URL:

https://agris.fao.org/search/en/providers/122535/records/65de3e6c7c7033e84bea39ad (қаралған күні: 22.04.2026).
74. Kaur R., Kaur S. Carrier-based biofertilizers // Metabolomics, Proteomes and Gene Editing Approaches in Biofertilizer Industry / Eds. S. Kaur, V. Dwibedi, P.K. Sahu, G.S. Kocher. – Singapore: Springer Nature, 2023. – P. 57–75. – DOI: https://doi.org/10.1007/978-981-99-3561-1_4.
75. Wang Z., Li J., Kang Y., Ran J., Song J., Jiang M., Li W., Zhang M. Effects of wheat straw-derived biochar on soil microbial communities under phenanthrene stress // Agriculture. – 2025. – Vol. 15. – Article 77. – DOI: https://doi.org/10.3390/agriculture15010077.
76. Duan M., Wu F., Jia Z., Wang S., Cai Y., Chang S.X. Wheat straw and its biochar differently affect soil properties and field-based greenhouse gas emission in a Chernozemic soil // Biology and Fertility of Soils. – 2020. – Vol. 56. – P. 1023–1036. – DOI: https://doi.org/10.1007/s00374-020-01479-4.
77. Burdová H., Brázová V., Kwoczynski Z., Snow J., Trögl J., Kříženecká S. *Miscanthus* × *giganteus* biochar: Effective adsorption of pharmaceuticals from model solution and hospital wastewater // Journal of Cleaner Production. – 2024. – Vol. 460. – Article 142545. – DOI: https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2024.142545.
78. Pidlisnyuk V., Newton R.A., Ust'ak S., Al Souki K.S., Burdová H., Trögl J., Grycová B., Klemencová K., Leštinsky P., Mamirova A. Assessing the potential of different biochars to support *Miscanthus* × *giganteus* phytoremediation in petroleum hydrocarbons-contaminated soil // Industrial Crops and Products. – 2025. – Vol. 229. – Article 120971. – DOI: https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2025.120971.
79. Kononchuk O., Pidlisnyuk V., Mamirova A., Khomenchuk V., Herts A., Grycová B., Klemencová K., Leštinský P., Shapoval P. Evaluation of the impact of varied biochars produced from *M.* × *giganteus* waste and application rate on the soil properties and physiological parameters of *Spinacia oleracea* L. // Environmental Technology & Innovation. – 2022. – Vol. 28. – Article 102898. – DOI: https://doi.org/10.1016/j.eti.2022.102898.
80. Stefanovska T., Pidlisnyuk V., Skwiercz A., Newton R.A., Zhukov O., Ust'ak S., Szczech M., Kowalska B. Field scale evaluation of the influence of organic amendments on *Miscanthus* × *giganteus* biomass production and soil bioindicators in the marginal degraded land // Industrial Crops and Products. – 2025. – Vol. 232. – Article 121281. – DOI: https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2025.121281.
81. Houben D., Sonnet P., Cornelis J.-T. Biochar from *Miscanthus*: A potential silicon fertilizer // Plant and Soil. – 2014. – Vol. 374. – P. 871–882. – DOI: https://doi.org/10.1007/s11104-013-1885-8.
82. An D.-H., Chang D.-C., Kim K.-S., Lee J.-E., Cha Y.-L., Jeong J.-H., Choi J.-B., Kim S.-Y. *Miscanthus*-derived biochar enhanced soil fertility and soybean growth in upland soil // Agriculture. – 2023. – Vol. 13. – Article 1738. – DOI: https://doi.org/10.3390/agriculture13091738.
83. Junior A., Guo M. Efficacy of sewage sludge derived biochar on enhancing soil health and crop productivity in strongly acidic soil // Frontiers in Soil Science. – 2023. – Vol. 3. – DOI: https://doi.org/10.3389/fsoil.2023.1066547.

84. Zhao L., Sun Z.-F., Pan X.-W., Tan J.-Y., Yang S.-S., Wu J.-T., Chen C., Yuan Y., Ren N.-Q. Sewage sludge derived biochar for environmental improvement: Advances, challenges, and solutions // Water Research X. – 2023. – Vol. 18. – Article 100167. – DOI: https://doi.org/10.1016/j.wroa.2023.100167.
85. Namdari M., Soleimani M., Mirghaffari N., Kharrazi S.M. Effect of biological sewage sludge and its derived biochar on accumulation of potentially toxic elements by corn (*Zea mays* L.) // Scientific Reports. – 2024. – Vol. 14. – Article 5985. – DOI: https://doi.org/10.1038/s41598-024-56652-8.
86. Balidakis A., Matsi T., Karagianni A.-G., Ipsilantis I. Sewage sludge treated with bentonite, vermiculite or biochar can improve soil properties and enhance growth of grasses // Soil Use and Management. – 2023. – Vol. 39. – P. 1403–1421. – DOI: https://doi.org/10.1111/sum.12931.
87. Kirillov V., Pathak A., Stikhareva T., Ercisli S., Daulenova M., Kazangapova N., Rakhimzhanov A. In vitro propagation and ex vitro rooting of *Euonymus verrucosus* Scop. (Celastraceae) – a rare species of Kazakhstan flora on the southern border of its areal // Journal of Forest Research. – 2022. – Vol. 27. – P. 289–296. – DOI: https://doi.org/10.1080/13416979.2022.2031477.
88. Schommer V.A., Nazari M.T., Melara F., Braun J.C.A., Rempel A., dos Santos L.F., Ferrari V., Colla L.M., Dettmer A., Piccin J.S. Techniques and mechanisms of bacteria immobilization on biochar for further environmental and agricultural applications // Microbiological Research. – 2024. – Vol. 278. – Article 127534. – DOI: https://doi.org/10.1016/j.micres.2023.127534.
89. He S., Zhong L., Duan J., Feng Y., Yang B., Yang L. Bioremediation of wastewater by iron oxide-biochar nanocomposites loaded with photosynthetic bacteria // Frontiers in Microbiology. – 2017. – Vol. 8. – DOI: https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00823.
90. Lu L., Li A., Ji X., He S., Yang C. Surfactant-facilitated alginate-biochar beads embedded with PAH-degrading bacteria and their application in wastewater treatment // Environmental Science and Pollution Research. – 2021. – Vol. 28. – P. 4807–4814. – DOI: https://doi.org/10.1007/s11356-020-10830-z.
91. Jenjaiwit S., Supanchaiyamat N., Hunt A.J., Ngernyen Y., Ratpukdi T., Siripattanakul-Ratpukdi S. Removal of triclocarban from treated wastewater using cell-immobilized biochar as a sustainable water treatment technology // Journal of Cleaner Production. – 2021. – Vol. 320. – Article 128919. – DOI: https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2021.128919.
92. Qi W.-Y., Chen H., Wang Z., Xing S.-F., Song C., Yan Z., Wang S.-G. Immobilization of *Bacillus megaterium* on biochar enhances Cd immobilization in soil and promotes the growth of *Brassica chinensis* // Journal of Hazardous Materials. – 2023. – Vol. 458. – Article 131921. – DOI: https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2023.131921.
93. Nie Z., Yan B., Xu Y., Awasthi M.K., Yang H. Characterization of pyridine biodegradation by two *Enterobacter* sp. strains immobilized on *Solidago canadensis* L. stem derived biochar // Journal of Hazardous Materials. – 2021. – Vol. 414. – Article 125577. – DOI: https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.125577.

94. Tu C., Wei J., Guan F., Liu Y., Sun Y., Luo Y. Biochar and bacteria inoculated biochar enhanced Cd and Cu immobilization and enzymatic activity in a polluted soil // Environment International. – 2020. – Vol. 137. – Article 105576. – DOI: https://doi.org/10.1016/j.envint.2020.105576.
95. Vassileva M., Malusà E., Sas-Paszt L., Trzcinski P., Galvez A., Flor-Peregrin E., Shilev S., Canfora L., Mocali S., Vassilev N. Fermentation strategies to improve soil bio-inoculant production and quality // Microorganisms. – 2021. – Vol. 9. – Article 1254. – DOI: https://doi.org/10.3390/microorganisms9061254.
96. Kiruba N.J.M., Saeid A. An insight into microbial inoculants for bioconversion of waste biomass into sustainable “bio-organic” fertilizers: A bibliometric analysis and systematic literature review // International Journal of Molecular Sciences. – 2022. – Vol. 23. – Article 13049. – DOI: https://doi.org/10.3390/ijms232113049.
97. Педерсен Х.Х., Веиерганг И., Веиерганг И. Способ получения композиции, содержащей высушенные бактерии, и ее применение: патент RU 2370525 C2. – 2009. – URL: https://patents.google.com/patent/RU2370525C2/ru.
98. Jayaprakash P., Gaiani C., Edorh J.-M., Borges F., Beaupeux E., Maudhuit A., Desobry S. Comparison of electrostatic spray drying, spray drying, and freeze drying for *Lacticaseibacillus rhamnosus* GG dehydration // Foods. – 2023. – Vol. 12. – Article 3117. – DOI: https://doi.org/10.3390/foods12163117.
99. Khuzhanazarova M.K., Murodova S.S. Technology of obtaining biopreparations on the basis of rhizobacteria, immobilized in GIPAN // НО БН (SR BS). – 2022. – P. 34–38. – DOI: https://doi.org/10.17513/srbs.1281.
100. Chaudhari S.N. Capsulated formulation with beneficial microbes for healthy plant growth: patent WO 2013035032 A3. – 2013. – URL: https://patents.google.com/patent/WO2013035032A3/en
101. Guan T.-K., Wang Q.-Y., Li J.-S., Yan H.-W., Chen Q.-J., Sun J., Liu C.-J., Han Y.-Y., Zou Y.-J., Zhang G.-Q. Biochar immobilized plant growth-promoting rhizobacteria enhanced the physicochemical properties, agronomic characters and microbial communities during lettuce seedling // Frontiers in Microbiology. – 2023. – Vol. 14. – DOI: https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1218205.
102. Yu K., Wang Z., Yang W., Li S., Wu D., Zheng H., Ye Z., Yang S., Liu D. Application of biochar-immobilized Bacillus megaterium for enhancing phosphorus uptake and growth in rice // Plants. – 2025. – Vol. 14. – Article 214. – DOI: https://doi.org/10.3390/plants14020214.
103. Nygymetova A.M., Sadvakasova A.K., Zaletova D.E., Kossalbayev B.D., Bauenova M.O., Wang J., Huang Z., Sarsekeyeva F.K., Kirbayeva D.K., Allakhverdiev S.I. Development and transfer of microbial agrobiotechnologies in contrasting agrosystems: Experience of Kazakhstan and China // Plants. – 2025. – Vol. 14. – Article 2208. – DOI: https://doi.org/10.3390/plants14142208.
104. Gregorio P.R.D., Michavila G., Muller L.R., Borges C. de S., Pomares M.F., Sá E.L.S. de, Pereira C., Vincent P.A. Beneficial rhizobacteria immobilized in nanofibers for potential application as soybean seed bioinoculants // PLOS ONE. – 2017. – Vol. 12. – Article e0176930. – DOI: https://doi.org/10.1371/journal.pone.0176930.

105. Cesari A.B., Paulucci N.S., Yslas E.I., Dardanelli M.S. Immobilization of Bradyrhizobium and Azospirillum in alginate matrix for long time of storage maintains cell viability and interaction with peanut // Applied Microbiology and Biotechnology. – 2020. – Vol. 104. – P. 10145–10164. – DOI: https://doi.org/10.1007/s00253-020-10910-7.
106. Benítez S.V., Carrasco R., Roldán A., Caravaca F., Campoy M., Cofré J., Ortiz J., Giraldo J.D., Schoebitz M. Soil and root responses in hazelnut rhizosphere to inoculate rhizobacteria immobilized via JetCutter technology // Horticulturae. – 2025. – Vol. 11. – Article 808. – DOI: https://doi.org/10.3390/horticulturae11070808.
107. Kupryashina M.A., Sadvakasova K.M., Ponomareva E.G., Zaletova P.E., Pylaev T.E. Immobilization of Azospirillum bacteria on various carriers // Microbiology. – 2024. – Vol. 93. – P. 91–98. – DOI: https://doi.org/10.31857/S0026365624010097.
108. Mushtaq N., Iqbal A., Batool S., Janiad S., Ahmed M., Al-Asmari F., Rahim M.A., Ramadan M.F., Zongo E. Alginate beads encapsulated auxin-producing PGPR as a biofertilizer promotes Triticum aestivum growth // ACS Omega. – 2025. – Vol. 10. – P. 4303–4314. – DOI: https://doi.org/10.1021/acsomega.4c06066.
109. Kucharzyk K.H., Cafmeyer J., Fulwider V., Duong A.D. Immobilization of plant growth promoting microorganisms in hydrophobic carriers: Patent WO2021168466A1. – 2021. – URL: https://patents.google.com/patent/WO2021168466A1/de
110. Villaverde M.J., Martinez A.I.F. Soil conditioner, biofertilizer and bioprotector for inoculating plants: Patent US20230159405A1. – 2023. – URL: https://patents.google.com/patent/US20230159405A1/en.
111. Ржевская В.С., Крыжко А.В., Бауэр Т.В., Сушкова С.Н., Минкина Т.М., Барбашев А.И., Горовцов А.В., Дудникова Т.С., Замулина И.В., Иванов Ф.Д., Омельченко А.В., Пуликова Е.П., Манджиева С.С. Method for immobilizing microorganisms on biochar: Patent RU2819374C1. – 2024. – URL: https://patents.google.com/patent/RU2819374C1/en (қаралған күні: 22.04.2026).
112. Belcher R.W., Kim H.S., Buege B., Jarand M.L., Cheiky M.C., Sills R.A. Biochar as a microbial carrier: Patent US11384031B2. – 2022. – URL: https://patents.google.com/patent/US11384031B2/en.
113. Shearer D., Gaunt J., Peacocke G.V.C. Biochar: Patent US8361186B1. – 2013. – URL: https://patents.google.com/patent/US8361186B1/en.
114. Swann W.E. Vermiculite support for immobilized biological materials: Patent BE897340A. – 1983. – URL: https://patents.google.com/patent/BE897340A/en (қаралған күні: 13.08.2026).
115. McCabe D.E., Paau A., Martinell B.J., Graham-Weiss L.L. Production of microbial field crop inoculants: Patent EP0226394B1. – 1993. – URL: https://patents.google.com/patent/EP0226394B1/en.
116. Koga K., Masuda S. Bacteria that reduce content of heavy metals in plant: Patent US8383390B2. – 2013. – URL: https://patents.google.com/patent/US8383390B2/en.

117. Li P., Zhang Z., Xiao G., Zhao Z., He K., Yang X., Pan Q., Mi G., Jia Z., Yan J., Chen F., Yuan L. Genomic basis determining root system architecture in maize // Theoretical and Applied Genetics. – 2024. – Vol. 137. – Article 102. – DOI: https://doi.org/10.1007/s00122-024-04606-z.
118. Mahinpey N., Murugan P., Mani T., Raina R. Analysis of bio-oil, biogas, and biochar from pressurized pyrolysis of wheat straw using a tubular reactor // Energy & Fuels. – 2009. – Vol. 23. – P. 2736–2742. – DOI: https://doi.org/10.1021/ef8010959.
119. Liu Y., Zhao X., Li J., Ma D., Han R. Characterization of bio-char from pyrolysis of wheat straw and its evaluation on methylene blue adsorption // Desalination and Water Treatment. – 2012. – Vol. 46. – P. 115–123. – DOI: https://doi.org/10.1080/19443994.2012.677408.
120. Callegari A., Capodaglio A.G. Properties and beneficial uses of (bio)chars, with special attention to products from sewage sludge pyrolysis // Resources. – 2018. – Vol. 7. – Article 20. – DOI: https://doi.org/10.3390/resources7010020.
121. Malinská H., Pidlisnyuk V., Nebeská D., Erol A., Medžová A., Trögl J. Physiological response of Miscanthus × giganteus to plant growth regulators in nutritionally poor soil // Plants. – 2020. – Vol. 9. – Article 194. – DOI: https://doi.org/10.3390/plants9020194.
122. ISO 18400-206:2018. Soil quality — Sampling — Part 206: Collection, handling and storage of soil for the assessment of biological functional and structural parameters in the laboratory // International Organization for Standardization. – URL: https://www.iso.org/standard/68249.html.
123. McPherson M.R., Wang P., Marsh E.L., Mitchell R.B., Schachtman D.P. Isolation and analysis of microbial communities in soil, rhizosphere, and roots in perennial grass experiments // Journal of Visualized Experiments. – 2018. – DOI: https://doi.org/10.3791/57932.
124. Hartmann A., Schmid M., van Tuinen D., Berg G. Plant-driven selection of microbes // Plant and Soil. – 2009. – Vol. 321. – P. 235–257. – DOI: https://doi.org/10.1007/s11104-008-9814-y.
125. Khan M.F., Liao J., Liu Z., Chugh G. Bacterial cytochrome P450 involvement in the biodegradation of fluorinated pyrethroids // Journal of Xenobiotics. – 2025. – Vol. 15. – Article 58. – DOI: https://doi.org/10.3390/jox15020058.
126. Mohite B. Isolation and characterization of indole acetic acid (IAA) producing bacteria from rhizospheric soil and its effect on plant growth // Journal of Soil Science and Plant Nutrition. – 2013. – Vol. 13. – P. 638–649. – DOI: https://doi.org/10.4067/S0718-95162013005000051.
127. Khan M.S., Gao J., Zhang M., Chen X., Moe T.S., Du Y., Yang F., Xue J., Zhang X. Isolation and characterization of plant growth-promoting endophytic bacteria Bacillus stratosphericus LW-03 from Lilium wardii // 3 Biotech. – 2020. – Vol. 10. – Article 305. – DOI: https://doi.org/10.1007/s13205-020-02294-2.
128. Mamarasulov B., Davranov K., Jahan M.S., Jabborova D., Nasif O., Ansari M.J., Danish S., Datta R. Characterization, enzymatic and biochemical properties of endophytic bacterial strains of the medicinal plant Ajuga turkestanica (Rgl.) Brig

(Lamiaceae) // Journal of King Saud University – Science. – 2022. – Vol. 34. – Article 102183. – DOI: https://doi.org/10.1016/j.jksus.2022.102183.
129. Pikovskaya R. Mobilization of phosphorus in soil in connection with vital activity of some microbial species // Microbiology. – 1948. – Vol. 17. – P. 362–370.
130. Chanu P.H., Yadav J. Exploring microbial solutions: A comprehensive study on isolating, characterizing, and selecting zinc-solubilizing fungi from rhizospheric soil // International Journal of Plant & Soil Science. – 2024. – Vol. 36. – P. 369–377. – DOI: https://doi.org/10.9734/ijpss/2024/v36i34435.
131. Abdelkefi N., Louati I., Mechichi H.-Z., Sayahi N., El-Sayed W.S., Nayal A.E., Ismail W., Hanin M., Mechichi T. Enhanced salt stress tolerance in tomato plants following inoculation with newly isolated plant growth-promoting rhizobacteria // Scientia Horticulturae. – 2024. – Vol. 328. – Article 112921. – DOI: https://doi.org/10.1016/j.scienta.2024.112921.
132. Wijerathna R.M.N., Wijeweera A.A., Wijethunga A.M., Mapa M.M.S.T. Determination of oil quality and antifungal effect of selected citronella accessions (Cymbopogon nardus, Cymbopogon winterianus) to formulate an anti-dandruff shampoo // Biology, Medicine, & Natural Product Chemistry. – 2023. – Vol. 12. – P. 485–498. – DOI: https://doi.org/10.14421/biomedich.2023.122.485-498.
133. Nithyapriya S., Lalitha S., Sayyed R.Z., Reddy M.S., Dailin D.J., El Enshasy H.A., Suriani N.L., Herlambang S. Production, purification, and characterization of bacillibactin siderophore of Bacillus subtilis and its application for improvement in plant growth and oil content in sesame // Sustainability. – 2021. – Vol. 13. – Article 5394. – DOI: https://doi.org/10.3390/su13105394.
134. Ali B., Wang X., Saleem M.H., Sumaira, Hafeez A., Afridi M.S., Khan S., Zaib-Un-Nisa, Ullah I., do Amaral Júnior A.T., Alatawi A., Ali S. PGPR-mediated salt tolerance in maize by modulating plant physiology, antioxidant defense, compatible solutes accumulation and bio-surfactant producing genes // Plants. – 2022. – Vol. 11. – Article 345. – DOI: https://doi.org/10.3390/plants11030345.
135. Boubekri K., Soumare A., Mardad I., Lyamlouli K., Hafidi M., Ouhdouch Y., Kouisni L. The screening of potassium- and phosphate-solubilizing actinobacteria and the assessment of their ability to promote wheat growth parameters // Microorganisms. – 2021. – Vol. 9. – Article 470. – DOI: https://doi.org/10.3390/microorganisms9030470.
136. Khianngam S., Meetum P., Chiangmai P.N., Tanasupawat S. Identification and optimisation of indole-3-acetic acid production of endophytic bacteria and their effects on plant growth // Tropical Life Sciences Research. – 2023. – Vol. 34. – P. 219–239. – DOI: https://doi.org/10.21315/tlsr2023.34.1.12.
137. Shalaby M., Elbagory M., El-Khateeb N., Mehesen A., El-Sheshtawy O., Elsakhawy T., Omara A.E.-D. Potential impacts of certain N_2-fixing bacterial strains and mineral N doses for enhancing the growth and productivity of maize plants // Plants. – 2023. – Vol. 12. – Article 3830. – DOI: https://doi.org/10.3390/plants12223830.
138. AlKahtani M.D.F., Fouda A., Attia K.A., Al-Otaibi F., Eid A.M., Ewais E.E.-D., Hijri M., St-Arnaud M., Hassan S.E.-D., Khan N., Hafez Y.M., Abdelaal K.A.A. Isolation and characterization of plant growth promoting endophytic bacteria from

desert plants and their application as bioinoculants for sustainable agriculture // Agronomy. – 2020. – Vol. 10. – Article 1325. – DOI: https://doi.org/10.3390/agronomy10091325.
139. Mahdi I., Fahsi N., Hafidi M., Allaoui A., Biskri L. Plant growth enhancement using rhizospheric halotolerant phosphate solubilizing bacterium Bacillus licheniformis QA1 and Enterobacter asburiae QF11 isolated from Chenopodium quinoa Willd // Microorganisms. – 2020. – Vol. 8. – Article 948. – DOI: https://doi.org/10.3390/microorganisms8060948.
140. Chaffai R., Ganesan M., Cherif A. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) and plant growth-promoting fungi (PGPF) for alleviating abiotic stress in plants // Plant Adaptation to Abiotic Stress: From Signaling Pathways and Microbiomes to Molecular Mechanisms / Eds. R. Chaffai, M. Ganesan, A. Cherif. – Singapore: Springer Nature, 2024. – P. 457–496. – DOI: https://doi.org/10.1007/978-981-97-0672-3_17.
141. Wilson K. Preparation of genomic DNA from bacteria // Current Protocols in Molecular Biology. – 2001. – Vol. 56. – P. 2.4.1–2.4.5. – DOI: https://doi.org/10.1002/0471142727.mb0204s56.
142. Tamura K., Stecher G., Peterson D., Filipski A., Kumar S. MEGA6: Molecular evolutionary genetics analysis version 6.0 // Molecular Biology and Evolution. – 2013. – Vol. 30. – P. 2725–2729. – DOI: https://doi.org/10.1093/molbev/mst197.
143. Tamura K., Nei M. Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees // Molecular Biology and Evolution. – 1993. – Vol. 10. – P. 512–526. – DOI: https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a040023.
144. Kumar S., Stecher G., Li M., Knyaz C., Tamura K. MEGA X: Molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms // Molecular Biology and Evolution. – 2018. – Vol. 35. – P. 1547–1549. – DOI: https://doi.org/10.1093/molbev/msy096.
145. La Pierre K.J., Simms E.L., Tariq M., Zafar M., Porter S.S. Invasive legumes can associate with many mutualists of native legumes, but usually do not // Ecology and Evolution. – 2017. – Vol. 7. – P. 8599–8611. – DOI: https://doi.org/10.1002/ece3.3310.
146. Zahra S.T., Tariq M., Abdullah M., Azeem F., Ashraf M.A. Dominance of Bacillus species in the wheat (Triticum aestivum L.) rhizosphere and their plant growth promoting potential under salt stress conditions // PeerJ. – 2023. – Vol. 11. – Article e14621. – DOI: https://doi.org/10.7717/peerj.14621.
147. Ntabo R.M., Nyamache A.K., Lwande W., Kabii J., Nonoh J. Enzymatic activity of endophytic bacterial isolates from selected mangrove plants in Kenya // The Open Microbiology Journal. – 2018. – Vol. 12. – DOI: https://doi.org/10.2174/1874285801812010354.
148. Sáhó A., Karikás V., Ásványi B., Lakatos E., Varga L., Greff B. Bioactive potential of Actinobacteria strains isolated from the rhizosphere of lavender, lemon balm, and oregano // Agriculture. – 2024. – Vol. 14. – Article 1758. – DOI: https://doi.org/10.3390/agriculture14101758.

149. Kasana R.C., Salwan R., Dhar H., Dutt S., Gulati A. A rapid and easy method for the detection of microbial cellulases on agar plates using Gram's iodine // Current Microbiology. – 2008. – Vol. 57. – P. 503–507. – DOI: https://doi.org/10.1007/s00284-008-9276-8.
150. Shaikh N.M., Patel A., Mehta S., Patel N. Isolation and screening of cellulolytic bacteria inhabiting different environment and optimization of cellulase production // Universal Journal of Environmental Research & Technology. – 2013. – Vol. 3. – P. 39–49. – URL: https://www.environmentaljournal.org/.
151. Ahmad F., Ahmad I., Khan M.S. Screening of free-living rhizospheric bacteria for their multiple plant growth promoting activities // Microbiological Research. – 2008. – Vol. 163. – P. 173–181. – DOI: https://doi.org/10.1016/j.micres.2006.04.001.
152. Balouiri M., Sadiki M., Ibnsouda S.K. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review // Journal of Pharmaceutical Analysis. – 2016. – Vol. 6. – P. 71–79. – DOI: https://doi.org/10.1016/j.jpha.2015.11.005.
153. Akter Z., Jannat S., Shibly S., Sultana A., Amran A., Faria J., Yeasmin S., Anwar M. Biostimulatory Influence of Commercial Seaweed Extract on Seed Emergence, Seedling Growth, and Vigor of Winter Rice // Phyton. – 2026. – Vol. 95. – DOI: https://doi.org/10.32604/phyton.2026.075524.
154. Gun'ko V.M. Polymer Adsorbents vs. Functionalized Oxides and Carbons: Particulate Morphology and Textural and Surface Characteristics // Polymers. – 2021. – Vol. 13. – Article 1249. – DOI: https://doi.org/10.3390/polym13081249.
155. Szewczuk-Karpisz K., Nowicki P., Sokołowska Z., Pietrzak R. Hay-based activated biochars obtained using two different heating methods as effective low-cost sorbents: Solid surface characteristics, adsorptive properties and aggregation in the mixed Cu(II)/PAM system // Chemosphere. – 2020. – Vol. 250. – Article 126312. – DOI: https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.126312.
156. Mehlich A. Mehlich 3 soil test extractant: A modification of Mehlich 2 extractant // Communications in Soil Science and Plant Analysis. – 1984. – Vol. 15. – P. 1409–1416. – DOI: https://doi.org/10.1080/00103628409367568.
157. Chang H.-C., Chen C.-R., Lin J.-W., Shen G.-H., Chang K.-M., Tseng Y.-H., Weng S.-F. Isolation and Characterization of Novel Giant Stenotrophomonas maltophilia Phage φSMA5 // Applied and Environmental Microbiology. – 2005. – Vol. 71, No. 3. – P. 1387–1393. – DOI: https://doi.org/10.1128/AEM.71.3.1387-1393.2005.
158. Johnston P.R., Crickmore N. Gut Bacteria Are Not Required for the Insecticidal Activity of Bacillus thuringiensis toward the Tobacco Hornworm, Manduca sexta // Applied and Environmental Microbiology. – 2009. – Vol. 75. – P. 5094–5099. – DOI: https://doi.org/10.1128/AEM.00966-09.
159. Román-Ponce B., Cruz-Camarillo R., Wang E.T., Leyva-Ovalle O.R., Rojas-Avelizapa L.I. Extracellular Amylases Produced by Bacillus thuringiensis // Microbiology Research Journal International. – 2018. – Vol. 24. – P. 1–17. – DOI: https://doi.org/10.9734/MRJI/2018/44092.
160. De Armas S., Galván G.A., Lapaz M.I., González-Barrios P., Vicente E., Pianzzola M.J., Siri M.I. Phylogeny and Identification of Pantoea Species

Associated with Bulb Rot and Bacterial Leaf Blight of Onion Crops in Uruguay // Plant Disease. – 2022. – Vol. 106. – P. 1216–1225. – DOI: https://doi.org/10.1094/PDIS-06-21-1140-RE.
161. Vasseur-Coronado M., Vlassi A., du Boulois H.D., Schuhmacher R., Parich A., Pertot I., Puopolo G. Ecological Role of Volatile Organic Compounds Emitted by Pantoea agglomerans as Interspecies and Interkingdom Signals // Microorganisms. – 2021. – Vol. 9. – Article 1186. – DOI: https://doi.org/10.3390/microorganisms9061186.
162. Zhang S., Wang J. Removal of chlortetracycline from water by Bacillus cereus immobilized on Chinese medicine residues biochar // Environmental Technology & Innovation. – 2021. – Vol. 24. – Article 101930. – DOI: https://doi.org/10.1016/j.eti.2021.101930.
163. Lopes M.S., Araus J.L., van Heerden P.D.R., Foyer C.H. Enhancing drought tolerance in C4 crops // Journal of Experimental Botany. – 2011. – Vol. 62. – P. 3135–3153. – DOI: https://doi.org/10.1093/jxb/err105.
164. Ríos-Ruiz W.F., Tarrillo-Chujutalli R.E., Rojas-García J.C., Tuanama-Reátegui C., Pompa-Vásquez D.F., Zumaeta-Arévalo C.A. The Biotechnological Potential of Plant Growth-Promoting Rhizobacteria Isolated from Maize (Zea mays L.) Cultivations in the San Martin Region, Peru // Plants. – 2024. – Vol. 13. – Article 2075. – DOI: https://doi.org/10.3390/plants13152075
165. Oliva G., Vigliotta G., Terzaghi M., Guarino F., Cicatelli A., Montagnoli A., Castiglione S. Counteracting action of Bacillus stratosphericus and Staphylococcus succinus strains against deleterious salt effects on Zea mays L. // Frontiers in Microbiology. – 2023. – Vol. 14. – Article 1171980. – DOI: https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1171980.
166. Salungyu J., Thaitad S., Bucksch A., Kengkanna J., Saengwilai P.J. From lab to field: Open tools facilitating the translation of maize root traits // Field Crops Research. – 2020. – Vol. 255. – Article 107872. – DOI: https://doi.org/10.1016/j.fcr.2020.107872.
167. Erenstein O., Jaleta M., Sonder K., Mottaleb K., Prasanna B.M. Global maize production, consumption and trade: Trends and R&D implications // Food Security. – 2022. – Vol. 14. – P. 1295–1319. – DOI: https://doi.org/10.1007/s12571-022-01288-7.
168. Wen S., Liu H., Yang R., Wang L., Zhu L., Wang J., Kim Y.M., Wang J. Immobilization of Bacillus thuringiensis and applicability in removal of sulfamethazine from soil // Environmental Pollution. – 2023. – Vol. 333. – Article 122080. – DOI: https://doi.org/10.1016/j.envpol.2023.122080.
169. Hu H., Shen Z., Tang C.-S., Mu W., Wang M., Li S., Pan X., Liu H., Wang B.-J. A combined biochar and biomineralization approach for enhanced soil Pb immobilization under accelerated aging // Journal of Environmental Sciences. – 2026. – Vol. 163. – P. 474–480. – DOI: https://doi.org/10.1016/j.jes.2025.09.007.
170. Su Y., Jin P. Application of encapsulated expanded vermiculites as carriers of microorganisms and nutrients in self-repairing concrete // Biochemical Engineering Journal. – 2022. – Vol. 187. – Article 108672. – DOI: https://doi.org/10.1016/j.bej.2022.108672.

171. ISO 11464:2007. Soil quality — Pretreatment of samples for physico-chemical analyses. – International Organization for Standardization, 2007.
172. ISO 10390:2021. Soil quality — Determination of pH of soil, treated biowaste and sludge. – International Organization for Standardization, 2021.
173. ISO 11464:2006. Soil quality — Pretreatment of samples for physico-chemical analyses. – Geneva: International Organization for Standardization, 2006. – URL: https://www.iso.org/standard/37718.html
174. Батықова Ж., Кистаубаева А., Сайдуллаева Л., Ережетова У., Абдулжанова М., Наурызбаева Ж. Жүгері ризобактериялары – өсімдіктердің өнімділігін және қорғанысын арттырудың перспективалы биоинокулянттары // ҚазҰУ хабаршысы. Экология сериясы. – 2025. – Т. 85. – DOI: https://doi.org/10.26577/EJE20258511.
175. Batykova Z., Pidlisnyuk V., Kistaubayeva A., Ust'ak S., Savitskaya I., Saidullayeva L., Mamirova A. Isolation and Screening of the Novel Multi-Trait Strains for Future Implications in Phytotechnology // Microorganisms. – 2025. – Vol. 13. – Article 1902. – DOI: https://doi.org/10.3390/microorganisms13081902.
176. Batykova Z., Saidullayeva L., Kistaubayeva A. Plant Growth-Promoting Rhizobacteria from Maize Rhizosphere: Isolation, Characterization, and Biotechnological Potential // Mammadov F.S., Kacprzyk J., Pedrycz W., Abbasov A. (eds.). 2nd International Conference on Smart Environment and Green Technologies – ICSEGT2025. – Cham: Springer Nature Switzerland, 2026. – P. 469–478. – DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-032-15926-7_50.
177. Thepbandit W., Athinuwat D. Rhizosphere Microorganisms Supply Availability of Soil Nutrients and Induce Plant Defense // Microorganisms. – 2024. – Vol. 12. – Article 558. – DOI: https://doi.org/10.3390/microorganisms12030558.
178. Batykova Z., Kistaubayeva A., Abdulzhanova M., Doktyrbay G., Saidullayeva L., Baimirzayeva Z., Turaliyeva M., Ibraimova Z. Multifunctional Maize Rhizobacteria: Isolation, Characterization and Prospects for Sustainable Agriculture // International Journal of Plant Biology. – 2025. – Vol. 17. – DOI: https://doi.org/10.3390/ijpb17010002.
179. Wang Z., Zhang H., Liu L., Li S., Xie J., Xue X., Jiang Y. Screening of phosphate-solubilizing bacteria and their abilities of phosphorus solubilization and wheat growth promotion // BMC Microbiology. – 2022. – Vol. 22. – Article 296. – DOI: https://doi.org/10.1186/s12866-022-02715-7.
180. Suleimanova A., Bulmakova D., Sokolnikova L., Egorova E., Itkina D., Kuzminova O., Gizatullina A., Sharipova M. Phosphate Solubilization and Plant Growth Promotion by Pantoea brenneri Soil Isolates // Microorganisms. – 2023. – Vol. 11. – Article 1136. – DOI: https://doi.org/10.3390/microorganisms11051136.
181. Lv L., Luo J., Ahmed T., Zaki H.E.M., Tian Y., Shahid M.S., Chen J., Li B. Beneficial Effect and Potential Risk of Pantoea on Rice Production // Plants. – 2022. – Vol. 11. – Article 2608. – DOI: https://doi.org/10.3390/plants11192608.
182. da Silva L.I., Pereira M.C., de Carvalho A.M.X., Buttrós V.H., Pasqual M., Dória J. Phosphorus-Solubilizing Microorganisms: A Key to Sustainable Agriculture // Agriculture. – 2023. – Vol. 13. – Article 462. – DOI: https://doi.org/10.3390/agriculture13020462.

183. Bhat M.A., Mishra A.K., Jan S., Bhat M.A., Kamal M.A., Rahman S., Shah A.A., Jan A.T. Plant Growth Promoting Rhizobacteria in Plant Health: A Perspective Study of the Underground Interaction // Plants. – 2023. – Vol. 12. – Article 629. – DOI: https://doi.org/10.3390/plants12030629.
184. Mesele E., Gebreslassie G., Yaekob A.T., Semere T. Molecular Mechanisms of Plant Growth–Promoting Rhizobacteria (PGPR) in Biofertilization and Disease Suppression of Crops // International Journal of Agronomy. – 2026. – Article 9398708. – DOI: https://doi.org/10.1155/ioa/9398708.
185. Jefferson T.A., Alizadeh M., Prismantoro D., Albert M., Rossiana N., Miranti M., Abdullah N.S., Permadi N., Doni F. Maize microbiome assembly and engineering: Implications for nutrient acquisition, stress resilience, and disease suppression // Archives of Agronomy and Soil Science. – 2026. – Vol. 72. – P. 1–20. – DOI: https://doi.org/10.1080/03650340.2026.2679300.
186. Sheirdil R.A., Hayat R., Zhang X.-X., Abbasi N.A., Ali S., Ahmed M., Khattak J.Z.K., Ahmad S. Exploring Potential Soil Bacteria for Sustainable Wheat (Triticum aestivum L.) Production // Sustainability. – 2019. – Vol. 11. – Article 3361. – DOI: https://doi.org/10.3390/su11123361.
187. Devi V.V., Rani K.C.M.E., Asaph R.S., Suresh P., Gomathinayagam S., Shanmugaiah V. Prevalent Plant Growth Hormone Indole-3-acetic Acid Produced by Streptomyces sp. VSMKU1027 and its Potential Antifungal Activity against Phytofungal Pathogens // Journal of Pure and Applied Microbiology. – 2024. – Vol. 18. – P. 2721–2733. – DOI: https://doi.org/10.22207/JPAM.18.4.45.
188. Bharucha U., Patel K., Trivedi U.B. Optimization of Indole Acetic Acid Production by Pseudomonas putida UB1 and its Effect as Plant Growth-Promoting Rhizobacteria on Mustard (Brassica nigra) // Agricultural Research. – 2013. – Vol. 2. – P. 215–221. – DOI: https://doi.org/10.1007/s40003-013-0065-7.
189. Popržen T., Nikolić I., Krstić-Milošević D., Uzelac B., Trifunović-Momčilov M., Marković M., Radulović O. Characterization of the IAA-Producing and -Degrading Pseudomonas Strains Regulating Growth of the Common Duckweed (Lemna minor L.) // International Journal of Molecular Sciences. – 2023. – Vol. 24. – Article 17207. – DOI: https://doi.org/10.3390/ijms242417207.
190. Yan J., Qi N., Xu J., Hu L., Jiang Y., Bai Y. Metabolomic Analyses Reveal That IAA from Serratia marcescens Lkbn100 Promotes Plant Defense during Infection of Fusarium graminearum in Sorghum // Plants. – 2024. – Vol. 13. – Article 2184. – DOI: https://doi.org/10.3390/plants13162184.
191. Koirala A., Alshibli N.A., Das B.K., Brözel V.S. Bacterial Isolation from Natural Grassland on Nitrogen-Free Agar Yields Many Strains Without Nitrogenase // Microorganisms. – 2025. – Vol. 13. – Article 96. – DOI: https://doi.org/10.3390/microorganisms13010096.
192. Mirza B.S., Rodrigues J.L.M. Development of a Direct Isolation Procedure for Free-Living Diazotrophs under Controlled Hypoxic Conditions // Applied and Environmental Microbiology. – 2012. – Vol. 78. – P. 5542–5549. – DOI: https://doi.org/10.1128/AEM.00714-12.
193. Terpolilli J.J., Hood G.A., Poole P.S. What Determines the Efficiency of N2-Fixing Rhizobium-Legume Symbioses? // Advances in Microbial Physiology. –

Elsevier, 2012. – P. 325–389. – DOI: https://doi.org/10.1016/B978-0-12-398264-3.00005-X.
194. Hasek T., Kastanek F., Smirnova T.A., Solcova O., Kuckova S., Branska B., Melzoch K., Patakova P. Ammonia release from hydrolysed animal and food waste by the hop endophyte, Pantoea agglomerans // World Journal of Microbiology and Biotechnology. – 2025. – Vol. 41. – Article 494. – DOI: https://doi.org/10.1007/s11274-025-04720-0.
195. Li K., Chen M., Shi J., Mao T. An overview of the production and use of Bacillus thuringiensis toxin // Open Life Sciences. – 2024. – Vol. 19. – Article 20220902. – DOI: https://doi.org/10.1515/biol-2022-0902.
196. Nascimento F., Vicente C., Cock P., Tavares M., Rossi M., Hasegawa K., Mota M. From plants to nematodes: Serratia grimesii BXF1 genome reveals an adaptation to the modulation of multi-species interactions // Microbial Genomics. – 2018. – Vol. 4. – Article e000178. – DOI: https://doi.org/10.1099/mgen.0.000178.
197. Bueno Batista M., Dixon R. Manipulating nitrogen regulation in diazotrophic bacteria for agronomic benefit // Biochemical Society Transactions. – 2019. – Vol. 47. – P. 603–614. – DOI: https://doi.org/10.1042/BST20180342.
198. Kuan K.B., Othman R., Rahim K.A., Shamsuddin Z.H. Plant Growth-Promoting Rhizobacteria Inoculation to Enhance Vegetative Growth, Nitrogen Fixation and Nitrogen Remobilisation of Maize under Greenhouse Conditions // PLOS ONE. – 2016. – Vol. 11. – Article e0152478. – DOI: https://doi.org/10.1371/journal.pone.0152478.
199. Dadook M., Mehrabian S., Salehi M., Irian S. Morphological, Biochemical and Molecular Characterization of Twelve Nitrogen-Fixing Bacteria and Their Response to Various Zinc Concentration // Jundishapur Journal of Microbiology. – 2014. – Vol. 7. – Article e9415. – DOI: https://doi.org/10.5812/jjm.9415.
200. Gupta R., Kumar R., Al-Qahtani W.H., Abdel-Maksoud M.A. Exploring the uncharted: Zinc and phosphate solubilization in Zn-P isolates from wheat rhizosphere inceptisols // Journal of King Saud University – Science. – 2024. – Vol. 36. – DOI: https://doi.org/10.1016/j.jksus.2024.103509.
201. Jagtap R.R., Mali G.V., Waghmare S.R., Nadaf N.H., Nimbalkar M.S., Sonawane K.D. Impact of plant growth promoting rhizobacteria Serratia nematodiphila RGK and Pseudomonas plecoglossicida RGK on secondary metabolites of turmeric rhizome // Biocatalysis and Agricultural Biotechnology. – 2023. – Vol. 47. – Article 102622. – DOI: https://doi.org/10.1016/j.bcab.2023.102622.
202. Friedrich I., Bodenberger B., Neubauer H., Hertel R., Daniel R. Down in the pond: Isolation and characterization of a new Serratia marcescens strain (LVF3) from the surface water near frog's lettuce (Groenlandia densa) // PLOS ONE. – 2021. – Vol. 16. – Article e0259673. – DOI: https://doi.org/10.1371/journal.pone.0259673.
203. Heenan-Daly D., Coughlan S., Dillane E., Doyle Prestwich B. Volatile Compounds From Bacillus, Serratia, and Pseudomonas Promote Growth and Alter the Transcriptional Landscape of Solanum tuberosum in a Passively Ventilated

Growth System // Frontiers in Microbiology. – 2021. – Vol. 12. – Article 628437. – DOI: https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.628437.
204. Liu R., Qiao X., Shi Y., Peterson C.B., Bush W.S., Cominelli F., Wang M., Zhang L. Constructing phylogenetic trees for microbiome data analysis: A mini-review // Computational and Structural Biotechnology Journal. – 2024. – Vol. 23. – P. 3859–3868. – DOI: https://doi.org/10.1016/j.csbj.2024.10.032.
205. Kim G.-E., Gwak Y.-S., Bae C.-I., Jeong K.C., Kim M.-J. Full-Length 16S rRNA Amplicon Sequencing for the Simple and Simultaneous Detection of Multiple Probiotic Species in Commercial Products // Journal of Microbiology and Biotechnology. – 2026. – Vol. 36. – Article e2603005. – DOI: https://doi.org/10.4014/jmb.2603.03005.
206. Apine O.A., Jadhav J.P. Optimization of medium for indole-3-acetic acid production using Pantoea agglomerans strain PVM // Journal of Applied Microbiology. – 2011. – Vol. 110. – P. 1235–1244. – DOI: https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2011.04976.x.
207. Omar A.F., Abdelmageed A.H.A., Al-Turki A., Aggag A.M., Rehan M., Abdelhameid N.M. Assessment of the Plant Growth-Promoting Potential of Three Pseudomonas and Pantoea Isolates to Promote Pepper Growth // Agronomy. – 2025. – Vol. 15. – Article 2419. – DOI: https://doi.org/10.3390/agronomy15102419.
208. Jia Q., Fan Y., Duan S., Qin Q., Ding Y., Yang M., Wang Y., Liu F., Wang C. Effects of Bacillus amyloliquefaciens XJ-BV2007 on Growth of Alternaria alternata and Production of Tenuazonic Acid // Toxins. – 2023. – Vol. 15. – Article 53. – DOI: https://doi.org/10.3390/toxins15010053.
209. Zhao Y., Ding W.-J., Xu L., Sun J.-Q. A comprehensive comparative genomic analysis revealed that plant growth promoting traits are ubiquitous in strains of Stenotrophomonas // Frontiers in Microbiology. – 2024. – Vol. 15. – Article 1395477. – DOI: https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1395477.
210. Devidas P.C., Pandit B.H., Vitthalrao P.S. Evaluation of Different Culture Media for Improvement in Bioinsecticides Production by Indigenous Bacillus thuringiensis and Their Application against Larvae of Aedes aegypti // The Scientific World Journal. – 2014. – Article 273030. – DOI: https://doi.org/10.1155/2014/273030.
211. Satognon F., Akuku V. Mechanisms of Pseudomonas spp. as plant growth promoting rhizobacteria: plant nutrition and biocontrol // Antonie van Leeuwenhoek. – 2026. – Vol. 119. – Article 141. – DOI: https://doi.org/10.1007/s10482-026-02352-4.
212. Riseh R.S., Vatankhah M., Hassanisaadi M., Barka E.A. Unveiling the Role of Hydrolytic Enzymes from Soil Biocontrol Bacteria in Sustainable Phytopathogen Management // Frontiers in Bioscience-Landmark. – 2024. – Vol. 29. – Article 105. – DOI: https://doi.org/10.31083/j.fbl2903105.
213. Кистаубаева А.С., Сайдуллаева Л.Н., Батыкова Ж.К., Мамирова А.А., Аханов Ұ.Қ. Соя ризосферасынан бөлінген ризобактериялардың ферментативтік қасиеттері мен өсуін ынталандыру потенциалы // Experimental Biology. – 2025. – Т. 104. – С. 140–154. – DOI: https://doi.org/10.26577/bb2025104311.

214. Wang H., Liu R., You M.P., Barbetti M.J., Chen Y. Pathogen Biocontrol Using Plant Growth-Promoting Bacteria (PGPR): Role of Bacterial Diversity // Microorganisms. – 2021. – Vol. 9. – Article 1988. – DOI: https://doi.org/10.3390/microorganisms9091988.
215. Rivera-Hernández G., Tijerina-Castro G.D., Cortés-Pérez S., Ferrera-Cerrato R., Alarcón A. Evaluation of functional plant growth-promoting activities of culturable rhizobacteria associated to tunicate maize (Zea mays var. tunicata A. St. Hil), a Mexican exotic landrace grown in traditional agroecosystems // Frontiers in Microbiology. – 2024. – Vol. 15. – Article 1478807. – DOI: https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1478807.
216. Zalila-Kolsi I., Ben-Mahmoud A., Al-Barazie R. Bacillus amyloliquefaciens: Harnessing Its Potential for Industrial, Medical, and Agricultural Applications—A Comprehensive Review // Microorganisms. – 2023. – Vol. 11. – Article 2215. – DOI: https://doi.org/10.3390/microorganisms11092215.
217. Sritongon N., Boonlue S., Mongkolthanaruk W., Jogloy S., Riddech N. The combination of multiple plant growth promotion and hydrolytic enzyme producing rhizobacteria and their effect on Jerusalem artichoke growth improvement // Scientific Reports. – 2023. – Vol. 13. – Article 5917. – DOI: https://doi.org/10.1038/s41598-023-33099-x.
218. Shree D., Khunt N.G., Krishna A.P., Jayasudha S.M. Enhancing microbiome functionality and plant disease resistance through rhizosphere probiotic diversity // International Journal of Research in Agronomy. – 2024. – Vol. 7. – P. 767–772. – DOI: https://doi.org/10.33545/2618060X.2024.v7.i8j.1396.
219. Ali M.S., Eisenback J.D., Mony F.T.Z. Siderophore Detection Assay. – 2025. – URL: https://www.protocols.io/view/siderophore-detection-assay-kqdg3184el25/v1.
220. Schwyn B., Neilands J.B. Universal chemical assay for the detection and determination of siderophores // Analytical Biochemistry. – 1987. – Vol. 160. – P. 47–56. – DOI: https://doi.org/10.1016/0003-2697(87)90612-9.
221. Luziatelli F., Ficca A.G., Cardarelli M., Melini F., Cavalieri A., Ruzzi M. Genome Sequencing of Pantoea agglomerans C1 Provides Insights into Molecular and Genetic Mechanisms of Plant Growth-Promotion and Tolerance to Heavy Metals // Microorganisms. – 2020. – Vol. 8. – Article 153. – DOI: https://doi.org/10.3390/microorganisms8020153.
222. Vejan P., Abdullah R., Khadiran T., Ismail S., Nasrulhaq Boyce A. Role of Plant Growth Promoting Rhizobacteria in Agricultural Sustainability—A Review // Molecules. – 2016. – Vol. 21. – Article 573. – DOI: https://doi.org/10.3390/molecules21050573.
223. Fadiji A.E., Babalola O.O. Elucidating Mechanisms of Endophytes Used in Plant Protection and Other Bioactivities With Multifunctional Prospects // Frontiers in Bioengineering and Biotechnology. – 2020. – Vol. 8. – Article 467. – DOI: https://doi.org/10.3389/fbioe.2020.00467.
224. Adeleke B.S., Ayangbenro A.S., Babalola O.O. In vitro Screening of Sunflower Associated Endophytic Bacteria With Plant Growth-Promoting Traits //

Frontiers in Sustainable Food Systems. – 2022. – Vol. 6. – Article 903114. – DOI: https://doi.org/10.3389/fsufs.2022.903114.
225. Compant S., Samad A., Faist H., Sessitsch A. A review on the plant microbiome: Ecology, functions, and emerging trends in microbial application // Journal of Advanced Research. – 2019. – Vol. 19. – P. 29–37. – DOI: https://doi.org/10.1016/j.jare.2019.03.004.
226. Martínez-Absalón S., Rojas-Solís D., Hernández-León R., Prieto-Barajas C., Orozco-Mosqueda M.C., Peña-Cabriales J.J., Sakuda S., Valencia-Cantero E., Santoyo G. Potential use and mode of action of the new strain Bacillus thuringiensis UM96 for the biological control of the grey mould phytopathogen Botrytis cinerea // Biocontrol Science and Technology. – 2014. – Vol. 24. – P. 1349–1362. – DOI: https://doi.org/10.1080/09583157.2014.940846.
227. Saito T., Buitenhuis R., Brownbridge M. Use of the generalist predator Anystis baccarum in greenhouse IPM: Interactions with other biological control agents, a laboratory study// Biological Control. – 2023. – Vol. 177. – Article 105127. – DOI: https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2022.105127.
228. Ignatova L., Kistaubayeva A., Brazhnikova Y., Batykova Z., Savitskaya I., Usmanova A., Egamberdieva D. Screening of fungal strains resistant to heavy metals // Plant Endophytes and Secondary Metabolites / Eds. D. Egamberdieva, J.A. Parray, K. Davranov. – Academic Press, 2024. – P. 175–204. – DOI: https://doi.org/10.1016/B978-0-443-13365-7.00009-9.
229. Panhwar Q.A., Ali A., Depar N., Shah J.A. Screening of plant growth promoting rhizobacteria for sustainable wheat (Triticum aestivum L.) crop production // Pakistan Journal of Botany. – 2020. – Vol. 52. – P. 345–353. – DOI: https://doi.org/10.30848/PJB2020-1(20).
230. Ashraf A., Bano A., Ali S.A. Characterisation of plant growth-promoting rhizobacteria from rhizosphere soil of heat-stressed and unstressed wheat and their use as bio-inoculant // Plant Biology. – 2019. – Vol. 21. – P. 762–769. – DOI: https://doi.org/10.1111/plb.12972.
231. Sharma P., Pandey R., Chauhan N.S. Unveiling wheat growth promotion potential of phosphate solubilizing Pantoea agglomerans PS1 and PS2 through genomic, physiological, and metagenomic characterizations // Frontiers in Microbiology. – 2024. – Vol. 15. – Article 1467082. – DOI: https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1467082.
232. Agha S.I., Ullah M., Khan A., Jahan N., Ullah S.M., Tabassum B., Parveen S., Rehmat Z., Hussain A., Ahmed S., Hamdard M.H. Biocontrol rhizobacteria enhances growth and yield of wheat (Triticum aestivum) under field conditions against Fusarium oxysporum // Bioengineered. – 2023. – Vol. 14. – Article 2260923. – DOI: https://doi.org/10.1080/21655979.2023.2260923.
233. Majeed A., Abbasi M.K., Hameed S., Imran A., Rahim N. Isolation and characterization of plant growth-promoting rhizobacteria from wheat rhizosphere and their effect on plant growth promotion // Frontiers in Microbiology. – 2015. – Vol. 6. – Article 198. – DOI: https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00198.
234. Sezen A., Ozdal M., Koc K., Algur O.F. Isolation and Characterization of Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) and Their Effects on Improving

Growth of Wheat // Journal of Applied Biological Sciences. – 2016. – Vol. 10. – P. 41–46. – URL: https://jabsonline.org/index.php/jabs/article/view/485.
235. Hassan M., Strezov V. Wheat straw pyrolysis fundamentals during production of biochar // Journal of Thermal Analysis and Calorimetry. – 2025. – Vol. 150. – P. 14903–14914. – DOI: https://doi.org/10.1007/s10973-025-14766-9.
236. Luo Q., Deng Y., Li Y., He Q., Wu H., Fang X. Effects of pyrolysis temperatures on the structural properties of straw biochar and its adsorption of tris-(1-chloro-2-propyl) phosphate // Scientific Reports. – 2024. – Vol. 14. – Article 25711. – DOI: https://doi.org/10.1038/s41598-024-77299-5.
237. Lahchich A., Álvarez-Lloret P., Reynes J.F., Marcos C. Relationships Between Physicochemical and Structural Properties of Commercial Vermiculites // Materials. – 2025. – Vol. 18. – Article 831. – DOI: https://doi.org/10.3390/ma18040831.
238. Hillier S., Marwa E.M.M., Rice C.M. On the mechanism of exfoliation of 'Vermiculite' // Clay Minerals. – 2013. – Vol. 48. – P. 563–582. – DOI: https://doi.org/10.1180/claymin.2013.048.4.01.
239. Halalsheh M., Shatanawi K., Shawabkeh R., Kassab G., Mohammad H., Adawi M., Ababneh S., Abdullah A., Ghantous N., Balah N., Almomani S. Impact of temperature and residence time on sewage sludge pyrolysis for combined carbon sequestration and energy production // Heliyon. – 2024. – Vol. 10. – Article e28030. – DOI: https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e28030.
240. Singh A., Nanda S., Guayaquil-Sosa J.F., Berruti F. Pyrolysis of Miscanthus and characterization of value-added bio-oil and biochar products // The Canadian Journal of Chemical Engineering. – 2021. – Vol. 99. – P. S55–S68. – DOI: https://doi.org/10.1002/cjce.23978.
241. Yadav M., Yadav D.K., Jayaraman D.A. Biochar Produced Through The Pyrolysis Of Wheat And Rice Straw: Examining Its Physiochemical Properties // African Journal of Biomedical Research. – 2024. – Vol. 27. – P. 1–7. – DOI: https://doi.org/10.53555/AJBR.v27i1S.1222.
242. Gaga Y., Mehdaoui I., Kara M., Assouguem A., Al-Hashimi A., AbdelGawwad M.R., Elshikh M.S., Saoudi Hassani E.M., Alwahibi M.S., Bahhou J., Taleb M., Rais Z. Elaboration and Characterization of a Biochar from Wastewater Sludge and Olive Mill Wastewater // Sustainability. – 2023. – Vol. 15. – Article 2409. – DOI: https://doi.org/10.3390/su15032409.
243. Peng C., Zhai Y., Hornung A., Wang B., Li S., Wang T., Li C., Zhu Y. In-depth comparison of morphology, microstructure, and pathway of char derived from sewage sludge and relevant model compounds // Waste Management. – 2020. – Vol. 102. – P. 432–440. – DOI: https://doi.org/10.1016/j.wasman.2019.11.007.
244. Stefanovska T., Tsygankova V., Klius V., Medkov A. Enhancing the Vegetative Growth of Maize using Biochar from Miscanthus × giganteus Waste and Synthetic Nitrogen-Containing Heterocyclic Compounds // European Journal of Biology. – 2025. – Vol. 84. – P. 170–180. – DOI: https://doi.org/10.26650/EurJBiol.2025.1641893.
245. Pidlisnyuk V.V., Stefanovska T.R., Borysenko L.I., Klius V.P., Chetveryk H.O., Medkov A.I., Lisnyak V.V. Influence of the initial biomass state and pyrolysis

conditions on the properties of biochar produced from Miscanthus × giganteus waste // Him. Fiz. Tehnol. Poverhni. – 2025. – Vol. 16. – P. 385–405. – DOI: https://doi.org/10.15407/hftp16.03.385.
246. Sattar A., Sher A., Abourehab M.A.S., Ijaz M., Nawaz M., Ul-Allah S., Abbas T., Shah A.N., Imam M.S., Abdelsalam N.R., Hasan M.E., Abbas A., Javaid M.M. Application of silicon and biochar alleviates the adversities of arsenic stress in maize by triggering the morpho-physiological and antioxidant defense mechanisms // Frontiers in Environmental Science. – 2022. – Vol. 10. – Article 979049. – DOI: https://doi.org/10.3389/fenvs.2022.979049.
247. Farouk S., Al-Huqail A.A., El-Gamal S.M.A. Potential Role of Biochar and Silicon in Improving Physio-Biochemical and Yield Characteristics of Borage Plants under Different Irrigation Regimes // Plants. – 2023. – Vol. 12. – Article 1605. – DOI: https://doi.org/10.3390/plants12081605.
248. Le D.M., Sørensen H.R., Knudsen N.O., Schjoerring J.K., Meyer A.S. Biorefining of wheat straw: accounting for the distribution of mineral elements in pretreated biomass by an extended pretreatment–severity equation // Biotechnology for Biofuels. – 2014. – Vol. 7. – Article 141. – DOI: https://doi.org/10.1186/s13068-014-0141-7.
249. Papadopoulos A.P., Bar-Tal A., Silber A., Saha U.K., Raviv M. Inorganic and synthetic organic components of soilless culture and potting mixes // Soilless Culture / Ed. M. Raviv et al. – Elsevier, 2008. – P. 505–543. – DOI: https://doi.org/10.1016/B978-044452975-6.50014-9.
250. Marmiroli M., Bonas U., Imperiale D., Lencioni G., Mussi F., Marmiroli N., Maestri E. Structural and Functional Features of Chars From Different Biomasses as Potential Plant Amendments // Frontiers in Plant Science. – 2018. – Vol. 9. – Article 1119. – DOI: https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01119.
251. Gondek K., Mierzwa-Hersztek M., Kopeć M., Sikora J., Lošák T., Grzybowski P. Sewage Sludge Biochar Effects on Phosphorus Mobility in Soil and Accumulation in Plant // Ecological Chemistry and Engineering S. – 2019. – Vol. 26, No. 2. – P. 367–381. – DOI: https://doi.org/10.1515/eces-2019-0026.
252. Zhou D., Liu D., Gao F., Li M., Luo X. Effects of Biochar-Derived Sewage Sludge on Heavy Metal Adsorption and Immobilization in Soils // International Journal of Environmental Research and Public Health. – 2017. – Vol. 14, No. 7. – Article 681. – DOI: https://doi.org/10.3390/ijerph14070681.
253. Irewale A.T., Elemike E.E., Aikpokpodion P.E., Thangavelu R.M., Dimkpa C.O., Oguzie E.E. Morphological and Chemical Profiling of Biochar Derived from Invasive Aquatic Weed towards Bio-Nanofertilizer Development // RSC Sustainability. – 2025. – Vol. 3. – P. 3947–3963. – DOI: https://doi.org/10.1039/D5SU00052A.
254. Pandey S.D., Mendonça F.G., Rodrigues M.N., Faria B.P.Z., Campos J.L.E., Noronha I.F.P.C., Vieira S.S., Santos N.A.V., Fernandes L.A., Sampaio R.A., Colen F., Magriotis Z.M., Jorio A. Structural and Elemental Analysis of Biochars in the Search of a Synthetic Path to Mimetize Anthropic Amazon Soils // Journal of Environmental Management. – 2021. – Vol. 279. – Article 111685. – DOI: https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2020.111685.

255. Alptekin F.M., Dunford N.T., Celiktas M.S. Miscanthus-Derived Energy Storage System Material Production // ACS Omega. – 2023. – Vol. 8. – P. 8779–8790. – DOI: https://doi.org/10.1021/acsomega.3c00024.
256. Edeh I.G., Masek O., Fusseis F. 4D Structural Changes and Pore Network Model of Biomass during Pyrolysis // Scientific Reports. – 2023. – Vol. 13. – Article 22863. – DOI: https://doi.org/10.1038/s41598-023-49919-z.
257. Cabrera A., Cox L., Spokas K., Hermosín M.C., Cornejo J., Koskinen W.C. Influence of Biochar Amendments on the Sorption–Desorption of Aminocyclopyrachlor, Bentazone and Pyraclostrobin Pesticides to an Agricultural Soil // Science of the Total Environment. – 2014. – Vol. 470–471. – P. 438–443. – DOI: https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.09.080.
258. Feng F., Sun X., Jiang W., Ma L., Wang Y., Sheng H., Li Y., Yu X. Stenotrophomonas pavanii DJL-M3 Inoculated Biochar Stabilizes the Rhizosphere Soil Homeostasis of Carbendazim-Stressed Rice // Environmental Pollution. – 2023. – Vol. 329. – Article 121723. – DOI: https://doi.org/10.1016/j.envpol.2023.121723.
259. Saravanan A., Swaminaathan P., Kumar P.S., Yaashikaa P.R., Kamalesh R., Rangasamy G. A Comprehensive Review on Immobilized Microbes–Biochar and Their Environmental Remediation: Mechanism, Challenges and Future Perspectives // Environmental Research. – 2023. – Vol. 236. – Article 116723. – DOI: https://doi.org/10.1016/j.envres.2023.116723.
260. Sun P., Huang X., Xing Y., Dong W., Yu J., Bai J., Duan W. Immobilization of Ochrobactrum sp. on Biochar/Clay Composite Particle: Optimization of Preparation and Performance for Nitrogen Removal // Frontiers in Microbiology. – 2022. – Vol. 13. – DOI: https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.838836.
261. Tao K., Zhao S., Gao P., Wang L., Jia H. Impacts of Pantoea agglomerans Strain and Cation-Modified Clay Minerals on the Adsorption and Biodegradation of Phenanthrene // Ecotoxicology and Environmental Safety. – 2018. – Vol. 161. – P. 237–244. – DOI: https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.05.091.
262. Xiang L., Harindintwali J.D., Wang F., Redmile-Gordon M., Chang S.X., Fu Y., He C., Muhoza B., Brahushi F., Bolan N., Jiang X., Ok Y.S., Rinklebe J., Schaeffer A., Zhu Y., Tiedje J.M., Xing B. Integrating Biochar, Bacteria, and Plants for Sustainable Remediation of Soils Contaminated with Organic Pollutants // Environmental Science & Technology. – 2022. – Vol. 56. – P. 16546–16566. – DOI: https://doi.org/10.1021/acs.est.2c02976.
263. Kumar P., Rani S., Dahiya P., Kumar A., Dang A.S., Suneja P. Whole Genome Analysis for Plant Growth Promotion Profiling of Pantoea agglomerans CPHN2, a Non-Rhizobial Nodule Endophyte // Frontiers in Microbiology. – 2022. – Vol. 13. – DOI: https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.998821.
264. Ansari F.A., Ahmad I., Pichtel J., Husain F.M. Pantoea agglomerans FAP10: A Novel Biofilm-Producing PGPR Strain Improves Wheat Growth and Soil Resilience under Salinity Stress // Environmental and Experimental Botany. – 2024. – Vol. 222. – Article 105759. – DOI: https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2024.105759.
265. Zhang Y., Hu H., Pan W., Wang Z., Chen Y., Qiu M., Luo X., Xu Q., Su H., Lin F., Huang T. A Biofilm-State Bacillus thuringiensis Formulation Drives Midgut

Structural Disruption and Transcriptomic Reprogramming in Ectropis grisescens // Microorganisms. – 2026. – Vol. 14, No. 2. – Article 366. – DOI: https://doi.org/10.3390/microorganisms14020366.
266. Zhou Y., Liu Y., Li S., Yang Q. The Combination of Biochar and Bacillus subtilis Biological Agent Reduced the Relative Abundance of Pathogenic Bacteria in the Rhizosphere Soil of Panax notoginseng // Microorganisms. – 2024. – Vol. 12, No. 4. – Article 783. – DOI: https://doi.org/10.3390/microorganisms12040783.
267. Zhang A., Cheng G., Hussain Q., Zhang M., Feng H., Dyck M., Sun B., Zhao Y., Chen H., Chen J., Wang X. Contrasting Effects of Straw and Straw-Derived Biochar Application on Net Global Warming Potential in the Loess Plateau of China // Field Crops Research. – 2017. – Vol. 205. – P. 45–54. – DOI: https://doi.org/10.1016/j.fcr.2017.02.006.
268. Jiang Z., Li Q., Peng F., Yu J. Biochar Loaded with a Bacterial Strain N33 Facilitates Pecan Seedling Growth and Shapes Rhizosphere Microbial Community // Plants. – 2024. – Vol. 13, No. 9. – Article 1226. – DOI: https://doi.org/10.3390/plants13091226.
269. Jia H., Lv X., Sohail M.A., Li M., Huang B., Wang J. Control Efficiency of Biochar Loaded with Bacillus subtilis Tpb55 against Tobacco Black Shank // Processes. – 2022. – Vol. 10, No. 12. – Article 2663. – DOI: https://doi.org/10.3390/pr10122663.
270. Wang G., Ma Y., Chen H.Y., Govinden R., Luo J., Ren G. Biochar-Mediated Control of Phytophthora Blight of Pepper Is Closely Related to the Improvement of the Rhizosphere Fungal Community // Frontiers in Microbiology. – 2020. – Vol. 11. – Article 1427. – DOI: https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01427.
271. Quilliam R.S., Glanville H.C., Wade S.C., Jones D.L. Life in the 'Charosphere' – Does Biochar in Agricultural Soil Provide a Significant Habitat for Microorganisms? // Soil Biology and Biochemistry. – 2013. – Vol. 65. – P. 287–293. – DOI: https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2013.06.004.
272. Liu X., Zhang A., Ji C., Joseph S., Bian R., Li L., Pan G., Paz-Ferreiro J. Biochar's Effect on Crop Productivity and the Dependence on Experimental Conditions—A Meta-Analysis of Literature Data // Plant and Soil. – 2013. – Vol. 373. – P. 583–594. – DOI: https://doi.org/10.1007/s11104-013-1806-x.
273. Jat S.L., Jat H.S., Rakshit S., Sharma P.R., Kumar B., Kakraliya M., Gathala M.K., Bijarniya D., Kalwania K.C., Singh Y., Choudhary M., Jat M.L. Maize as an Alternative to Resource-Intensive Rice: Empirical Insights from On-Farm Participatory Study under Diverse Agricultural Scenarios in the Indo-Gangetic Plains of Northwestern India // Frontiers in Sustainable Food Systems. – 2025. – Vol. 9. – DOI: https://doi.org/10.3389/fsufs.2025.1700854.
274. Pidlisnyuk V., Herts A., Kononchuk O., Khomenchuk V., Horyn O., Markiv V., Mamirova A. Comprehensive Study of Biochars from Different Vegetative Feedstocks: Influence on Soil Properties and Development of Zea mays L. // Environmental Sciences Europe. – 2025. – Vol. 37. – Article 77. – DOI: https://doi.org/10.1186/s12302-025-01118-5.
275. Yang W., Zhang L., Wang Z., Zhang J., Li P., Su L. Effects of Biochar and Nitrogen Fertilizer on Microbial Communities, CO_2 Emissions, and Organic Carbon

Content in Soil // Scientific Reports. – 2025. – Vol. 15. – Article 9789. – DOI: https://doi.org/10.1038/s41598-025-94784-7.
276. Ajeng A.A., Abdullah R., Ling T.C., Ismail S., Lau B.F., Ong H.C., Chew K.W., Show P.L., Chang J.-S. Bioformulation of Biochar as a Potential Inoculant Carrier for Sustainable Agriculture // Environmental Technology & Innovation. – 2020. – Vol. 20. – Article 101168. – DOI: https://doi.org/10.1016/j.eti.2020.101168.
277. Wang R., Hou J., Chen L., He L., Na L., Wang Y., Lu H., Yang S., Liu Y. Priming Effects of Vermiculite Modified Rice Straw Biochar on Soil Organic Carbon: A New Perspective of Soil Bacteria // Biochar. – 2025. – Vol. 7. – Article 54. – DOI: https://doi.org/10.1007/s42773-025-00440-8.
278. Wang T., Kou L., Luo Q., Dai W., He Q., Deng Y., Wei Z. Effects of Biochar from Populus alba × Populus berolinensis and Pinus sylvestris var. mongolica Application on Soil Physicochemical Properties // Scientific Reports. – 2025. – Vol. 15. – Article 33434. – DOI: https://doi.org/10.1038/s41598-025-19016-4.
279. Kesavardhini K., Nayak A.K., Tharani E., Banu A.S., Vijayalakshmi R., Gayathri K., Lokeshwari B., Saranraj P. Biochar-Microbe Synergy: Boosting Soil Health and Fertility // Discover Applied Sciences. – 2026. – Vol. 8. – Article 901. – DOI: https://doi.org/10.1007/s42452-026-08957-8.
280. Mierzwa-Hersztek M., Gondek K., Klimkowicz-Pawlas A., Baran A. Effect of Wheat and Miscanthus Straw Biochars on Soil Enzymatic Activity, Ecotoxicity, and Plant Yield // International Agrophysics. – 2017. – Vol. 31. – P. 367–375. – DOI: https://doi.org/10.1515/intag-2016-0063.
281. Adekiya A.O., Ogunbode T.O., Esan V.I., Adedokun O., Olatubi I.V., Ayegboyin M.H. Short Term Effects of Biochar on Soil Chemical Properties, Growth, Yield, Quality, and Shelf Life of Tomato // Scientific Reports. – 2025. – Vol. 15. – Article 24965. – DOI: https://doi.org/10.1038/s41598-025-10411-5.
282. Xiao X., Chen B., Chen Z., Zhu L., Schnoor J.L. Insight into Multiple and Multilevel Structures of Biochars and Their Potential Environmental Applications: A Critical Review // Environmental Science & Technology. – 2018. – Vol. 52. – P. 5027–5047. – DOI: https://doi.org/10.1021/acs.est.7b06487.
283. Zhang L., Jing Y., Chen C., Xiang Y., Rezaei Rashti M., Li Y., Deng Q., Zhang R. Effects of Biochar Application on Soil Nitrogen Transformation, Microbial Functional Genes, Enzyme Activity, and Plant Nitrogen Uptake: A Meta-Analysis of Field Studies // Global Change Biology Bioenergy. – 2021. – Vol. 13. – P. 1859–1873. – DOI: https://doi.org/10.1111/gcbb.12898.
284. Rasse D.P., Budai A., O'Toole A., Ma X., Rumpel C., Abiven S. Persistence in Soil of Miscanthus Biochar in Laboratory and Field Conditions // PLOS ONE. – 2017. – Vol. 12. – Article e0184383. – DOI: https://doi.org/10.1371/journal.pone.0184383.
285. Glaser B., Lehr V.-I. Biochar Effects on Phosphorus Availability in Agricultural Soils: A Meta-Analysis // Scientific Reports. – 2019. – Vol. 9. – Article 9338. – DOI: https://doi.org/10.1038/s41598-019-45693-z.
286. Xiu L., Sun Y., Han X. Effects of Biochar Amendment on Potassium Supply Capacity and Potassium Accumulation in Soybean Across Diverse Soils // Plants. –

2025. – Vol. 14, No. 13. – Article 1959. – DOI: https://doi.org/10.3390/plants14131959.
287. Al-Hamandi H., Al Janabi Y.H., Ahmed A.M., Aljumaily M.M., Al-Obaidi M.A. Relationship between Biochar Addition, Clay Minerals, Potassium Forms and Soil Properties in Some Gypsiferous Soils in Iraq // Tikrit Journal for Agricultural Sciences. – 2025. – Vol. 25. – P. 69–87. – DOI: https://doi.org/10.25130/tjas.25.1.6.
288. Antonangelo J.A., Culman S., Zhang H. Comparative Analysis and Prediction of Cation Exchange Capacity via Summation: Influence of Biochar Type and Nutrient Ratios // Frontiers in Soil Science. – 2024. – Vol. 4. – DOI: https://doi.org/10.3389/fsoil.2024.1371777.
289. Wu L.F., Shinzato M.C., Andrade S., Franchi J.G., Andrade V.D.S. Efeito da adição de zeólita e vermiculita na lixiviação de potássio do solo // Revista do Instituto Geológico. – 2013. – Vol. 34. – P. 57–68. – DOI: https://doi.org/10.5935/0100-929X.20130004.
290. Ndoung O.C.N., de Figueiredo C.C., Ramos M.L.G. A Scoping Review on Biochar-Based Fertilizers: Enrichment Techniques and Agro-Environmental Application // Heliyon. – 2021. – Vol. 7. – Article e08473. – DOI: https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e08473.
291. Chen C., Xiang Y., Jiao X., Gong H. Enhancing Maize Phosphorus Uptake with Optimal Blends of High and Low-Concentration Phosphorus Fertilizers // Frontiers in Plant Science. – 2024. – Vol. 15. – DOI: https://doi.org/10.3389/fpls.2024.1451073.
292. da Silva L.J.R., da Silva Sandim A., da Silva A.P.R., Deus A.C.F., Antonangelo J.A., Büll L.T. Evaluating the Agronomic Efficiency of Alternative Phosphorus Sources Applied in Brazilian Tropical Soils // Scientific Reports. – 2024. – Vol. 14. – Article 8526. – DOI: https://doi.org/10.1038/s41598-024-58911-0.
293. Liu X., Chen C., Wang J., Zou S., Long X. Phosphorus Solubilizing Bacteria Bacillus thuringiensis and Pantoea ananatis Simultaneously Promote Soil Inorganic Phosphate Dissolution and Soil Pb Immobilization // Rhizosphere. – 2021. – Vol. 20. – Article 100448. – DOI: https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2021.100448.
294. Iqbal Z., Ahmad M., Raza M.A., Hilger T., Rasche F. Phosphate-Solubilizing Bacillus sp. Modulate Soil Exoenzyme Activities and Improve Wheat Growth // Microbial Ecology. – 2024. – Vol. 87. – Article 31. – DOI: https://doi.org/10.1007/s00248-023-02340-5.
295. Zhang L., Chang L., Liu H., de Jesús Puy Alquiza M., Li Y. Biochar Application to Soils Can Regulate Soil Phosphorus Availability: A Review // Biochar. – 2025. – Vol. 7. – Article 13. – DOI: https://doi.org/10.1007/s42773-024-00415-1.
296. Shultana R., Zuan A.T.K., Naher U.A., Islam A.K.M.M., Rana M.M., Rashid M.H., Irin I.J., Islam S.S., Rim A.A., Hasan A.K. The PGPR Mechanisms of Salt Stress Adaptation and Plant Growth Promotion // Agronomy. – 2022. – Vol. 12, No. 10. – Article 2266. – DOI: https://doi.org/10.3390/agronomy12102266.

297. Prakash J., Arora N.K. Phosphate-Solubilizing Bacillus sp. Enhances Growth, Phosphorus Uptake and Oil Yield of Mentha arvensis L. // 3 Biotech. – 2019. – Vol. 9. – Article 126. – DOI: https://doi.org/10.1007/s13205-019-1660-5.
298. Purvis R. Nutrition of Maize [Электронный ресурс]. – Potash Development Association (PDA), 2025. – URL: https://www.pda.org.uk/nutrition-of-maize/ (дата обращения: 27.03.2026).
299. Samal D., Kovar J.L., Steingrobe B., Sadana U.S., Bhadoria P.S., Claassen N. Potassium Uptake Efficiency and Dynamics in the Rhizosphere of Maize (Zea mays L.), Wheat (Triticum aestivum L.), and Sugar Beet (Beta vulgaris L.) Evaluated with a Mechanistic Model // Plant and Soil. – 2010. – Vol. 332. – P. 105–121. – DOI: https://doi.org/10.1007/s11104-009-0277-6.
300. Olaniyan F.T., Alori E.T., Adekiya A.O., Ayorinde B.B., Daramola F.Y., Osemwegie O.O., Babalola O.O. The Use of Soil Microbial Potassium Solubilizers in Potassium Nutrient Availability in Soil and Its Dynamics // Annals of Microbiology. – 2022. – Vol. 72. – Article 45. – DOI: https://doi.org/10.1186/s13213-022-01701-8.
301. Tian L., Shao G., Gao Y., Song E., Lu J. Effects of Biochar on Soil Organic Carbon in Relation to Soil Nutrient Contents, Climate Zones and Cropping Systems: A Chinese Meta-Analysis // Land. – 2024. – Vol. 13, No. 10. – Article 1608. – DOI: https://doi.org/10.3390/land13101608.
302. Fung E., Wang J., Zhao X., Farzamian M., Allred B., Clevenger W.B., Levison P., Triantafilis J. Mapping Cation Exchange Capacity and Exchangeable Potassium Using Proximal Soil Sensing Data at the Multiple-Field Scale // Soil and Tillage Research. – 2023. – Vol. 232. – Article 105735. – DOI: https://doi.org/10.1016/j.still.2023.105735.
303. Barshad I., Kishk F.M. Factors Affecting Potassium Fixation and Cation Exchange Capacities of Soil Vermiculite Clays // Clays and Clay Minerals. – 1970. – Vol. 18. – P. 127–137. – DOI: https://doi.org/10.1346/CCMN.1970.0180302.
304. Dai Z., Xiong X., Zhu H., Xu H., Leng P., Li J., Tang C., Xu J. Association of Biochar Properties with Changes in Soil Bacterial, Fungal and Fauna Communities and Nutrient Cycling Processes // Biochar. – 2021. – Vol. 3. – P. 239–254. – DOI: https://doi.org/10.1007/s42773-021-00099-x.
305. Antonius. Soil Calcium Cheat Sheet for Farmers – Stuff You Should Know – Horticulture [Электрондық ресурс]. – 2019. – URL: https://horticulture.org.za/soil-calcium-cheat-sheet-farmers/ (қаралған күні: 27.03.2026).
306. Wang Y., Martins L.B., Sermons S., Balint-Kurti P. Genetic and Physiological Characterization of a Calcium Deficiency Phenotype in Maize // G3: Genes, Genomes, Genetics. – 2020. – Vol. 10. – P. 1963–1970. – DOI: https://doi.org/10.1534/g3.120.401069.
307. Oubohssaine M., Sbabou L., Aurag J. Enhancing Ecosystem Restoration and Soil Productivity through PGPR: A Sustainable Approach to Bioremediation and Biofertilization // Discover Applied Sciences. – 2025. – Vol. 7. – Article 1379. – DOI: https://doi.org/10.1007/s42452-025-07510-3.

308. Teng X., Huang D., Zhi Y., Li Y., Dong D., Wu X., Wang Y., Jiang Z., Huang H., Tang Y., Liu D., Xu W. Effects of Biochar on Soil Properties as Well as Available and TCLP-Extractable Cu Contents: A Global Meta-Analysis // Scientific Reports. – 2025. – Vol. 15. – Article 32853. – DOI: https://doi.org/10.1038/s41598-025-18170-z.
309. Pan J., Peng F., Xue X., You Q., Zhang W., Wang T., Huang C. The Growth Promotion of Two Salt-Tolerant Plant Groups with PGPR Inoculation: A Meta-Analysis // Sustainability. – 2019. – Vol. 11. – Article 378. – DOI: https://doi.org/10.3390/su11020378.
310. He Z., Shang X., Jin X. Effects of Calcium and Magnesium Fertilization on the Rhizosphere Bacterial Community Assembly and Specific Biomarkers in Rainfed Maize // Plants. – 2025. – Vol. 15, No. 1. – Article 60. – DOI: https://doi.org/10.3390/plants15010060.
311. Chen Z.C., Peng W.T., Li J., Liao H. Functional Dissection and Transport Mechanism of Magnesium in Plants // Seminars in Cell & Developmental Biology. – 2018. – Vol. 74. – P. 142–152. – DOI: https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2017.08.005.
312. Li Z., Li J., Hao Y., Peng Y., Lian Y., Guo Q., Chang J., Wu L., Chen L., Hao Y., Zhang B. Magnesium Fertilizer Combined with Biochar Improves Soil Magnesium Availability by Affecting Soil Magnesium Form Transformation and Migration // Industrial Crops and Products. – 2025. – Vol. 237. – Article 122171. – DOI: https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2025.122171.
313. Tao J., Chen D., Wu S., Zhang Q., Xiao W., Zhao S., Ye X., Chu T. The Comprehensive Effects of Biochar Amendments on Soil Organic Carbon Accumulation, Soil Acidification Amelioration and Heavy Metal Availability in the Soil–Rice System // Agronomy. – 2024. – Vol. 14. – Article 2498. – DOI: https://doi.org/10.3390/agronomy14112498.
314. Gupta R.K., Vashisht M., Naresh R.K., Dhingra N., Sidhu M.S., Singh P.K., Rani N., Al-Ansari N., Alataway A., Dewidar A.Z., Mattar M.A. Biochar Influences Nitrogen and Phosphorus Dynamics in Two Texturally Different Soils // Scientific Reports. – 2024. – Vol. 14. – Article 6533. – DOI: https://doi.org/10.1038/s41598-024-55527-2.
315. Kerner P., Struhs E., Mirkouei A., Aho K., Lohse K.A., Dungan R.S., You Y. Microbial Responses to Biochar Soil Amendment and Influential Factors: A Three-Level Meta-Analysis // Environmental Science & Technology. – 2023. – Vol. 57. – P. 19838–19848. – DOI: https://doi.org/10.1021/acs.est.3c04201.
316. Ali B., Hafeez A., Ahmad S., Javed M.A., Sumaira, Afridi M.S., Dawoud T.M., Almaary K.S., Muresan C.C., Marc R.A., Alkhalifah D.H.M., Selim S. Bacillus thuringiensis PM25 Ameliorates Oxidative Damage of Salinity Stress in Maize via Regulating Growth, Leaf Pigments, Antioxidant Defense System, and Stress Responsive Gene Expression // Frontiers in Plant Science. – 2022. – Vol. 13. – DOI: https://doi.org/10.3389/fpls.2022.921668.
317. Bargaz A., Elhaissoufi W., Khourchi S., Benmrid B., Borden K.A., Rchiad Z. Benefits of Phosphate Solubilizing Bacteria on Belowground Crop Performance for

Improved Crop Acquisition of Phosphorus // Microbiological Research. – 2021. – Vol. 252. – Article 126842. – DOI: https://doi.org/10.1016/j.micres.2021.126842.
318. Wan H., Liu X., Shi Q., Chen Y., Jiang M., Zhang J., Cui B., Hou J., Wei Z., Hossain M.A., Liu F. Biochar Amendment Alters Root Morphology of Maize Plant: Its Implications in Enhancing Nutrient Uptake and Shoot Growth under Reduced Irrigation Regimes // Frontiers in Plant Science. – 2023. – Vol. 14. – DOI: https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1122742.
319. Jing Y., Zhang Y., Han I., Wang P., Mei Q., Huang Y. Effects of Different Straw Biochars on Soil Organic Carbon, Nitrogen, Available Phosphorus, and Enzyme Activity in Paddy Soil // Scientific Reports. – 2020. – Vol. 10. – Article 8837. – DOI: https://doi.org/10.1038/s41598-020-65796-2.
320. Gbouri I., Yu F., Wang X., Wang J., Cui X., Hu Y., Yan B., Chen G. Co-Pyrolysis of Sewage Sludge and Wetland Biomass Waste for Biochar Production: Behaviors of Phosphorus and Heavy Metals // International Journal of Environmental Research and Public Health. – 2022. – Vol. 19, No. 5. – Article 2818. – DOI: https://doi.org/10.3390/ijerph19052818.
321. Kuppusamy S., Thavamani P., Megharaj M., Venkateswarlu K., Naidu R. Agronomic and Remedial Benefits and Risks of Applying Biochar to Soil: Current Knowledge and Future Research Directions // Environment International. – 2016. – Vol. 87. – P. 1–12. – DOI: https://doi.org/10.1016/j.envint.2015.10.018.
322. Sheffield S.B., Hoefer T.A., Petersen J.E. Biochar Has Positive but Distinct Impacts on Root, Shoot, and Fruit Production in Beans, Tomatoes, and Willows // Frontiers in Sustainable Food Systems. – 2024. – Vol. 8. – DOI: https://doi.org/10.3389/fsufs.2024.1346529.
323. Gaurav S., Diptanu B., Mehta C.M., Prasann K., Nishihara E., Inubushi K., Sudo S., Hayashida S., Patra P.K., Minkina T., Rajput V.D. Effects of Biochar Amendment at Various Soil Depths on Maize Roots and Growth Indices // Scientific Reports. – 2025. – Vol. 15. – Article 26310. – DOI: https://doi.org/10.1038/s41598-025-09218-1.
324. Janus A., Pelfrêne A., Heymans S., Deboffe C., Douay F., Waterlot C. Elaboration, Characteristics and Advantages of Biochars for the Management of Contaminated Soils with a Specific Overview on Miscanthus Biochars // Journal of Environmental Management. – 2015. – Vol. 162. – P. 275–289. – DOI: https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2015.07.056.
325. Malik L., Sanaullah M., Mahmood F., Hussain S., Siddique M.H., Anwar F., Shahzad T. Unlocking the Potential of Co-Applied Biochar and Plant Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPR) for Sustainable Agriculture under Stress Conditions // Chemical and Biological Technologies in Agriculture. – 2022. – Vol. 9. – Article 58. – DOI: https://doi.org/10.1186/s40538-022-00327-x.
326. Malik L., Hussain S., Shahid M., Mahmood F., Ali H.M., Malik M., Sanaullah M., Zahid Z., Shahzad T. Co-Applied Biochar and Drought Tolerant PGPRs Induced More Improvement in Soil Quality and Wheat Production than Their Individual Applications under Drought Conditions // PeerJ. – 2024. – Vol. 12. – Article e18171. – DOI: https://doi.org/10.7717/peerj.18171.

327. Liang Z., Ali Q., Wu H., Gu Q., Liu X., Sun H., Gao X. Biocontrol Mechanism of Bacillus thuringiensis GBAC46 Against Diseases and Pests Caused by Fusarium verticillioides and Spodoptera frugiperda // Biomolecules. – 2025. – Vol. 15, No. 4. – Article 519. – DOI: https://doi.org/10.3390/biom15040519.
328. Liu Q., Nie H., Sun X., Dong L., Xiang L., Zhang J., Liu X. Synergistic Effects of Biochar and Bacillus thuringiensis NL-11 on Ophiopogon japonicus Growth and Soil Microbial Diversity in Trampled Urban Forest Soils // Microorganisms. – 2025. – Vol. 13, No. 9. – Article 2004. – DOI: https://doi.org/10.3390/microorganisms13092004.
329. Zou Q., Zhao L., Guan L., Chen P., Zhao J., Zhao Y., Du Y., Xie Y. The Synergistic Interaction Effect between Biochar and Plant Growth-Promoting Rhizobacteria on Beneficial Microbial Communities in Soil // Frontiers in Plant Science. – 2024. – Vol. 15. – DOI: https://doi.org/10.3389/fpls.2024.1501400.
330. Ma H., Shurigin V., Jabborova D., dela Cruz J.A., dela Cruz T.E., Wirth S., Bellingrath-Kimura S.D., Egamberdieva D. The Integrated Effect of Microbial Inoculants and Biochar Types on Soil Biological Properties, and Plant Growth of Lettuce (Lactuca sativa L.) // Plants. – 2022. – Vol. 11, No. 3. – Article 423. – DOI: https://doi.org/10.3390/plants11030423.
331. Shabir R., Li Y., Rashti M.R., Esfandbod M., Megharaj M., Chen C. Alternative Carrier Materials for Plant Growth-Promoting Rhizobacteria: Progress and Perspectives // Journal of Soils and Sediments. – 2026. – Vol. 26. – Article 39. – DOI: https://doi.org/10.1007/s11368-026-04232-w.
332. Malusá E., Vassilev N. A Contribution to Set a Legal Framework for Biofertilisers // Applied Microbiology and Biotechnology. – 2014. – Vol. 98. – P. 6599–6607. – DOI: https://doi.org/10.1007/s00253-014-5828-y.
333. Bashan Y., de-Bashan L.E., Prabhu S.R., Hernandez J.-P. Advances in Plant Growth-Promoting Bacterial Inoculant Technology: Formulations and Practical Perspectives (1998–2013) // Plant and Soil. – 2014. – Vol. 378. – P. 1–33. – DOI: https://doi.org/10.1007/s11104-013-1956-x.
334. Cong M., Hu Y., Sun X., Yan H., Yu G., Tang G., Chen S., Xu W., Jia H. Long-Term Effects of Biochar Application on the Growth and Physiological Characteristics of Maize // Frontiers in Plant Science. – 2023. – Vol. 14. – DOI: https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1172425.
335. Vidal T., Aissaoui H., Rehali S., Andrieu B. Two Maize Cultivars of Contrasting Leaf Size Show Different Leaf Elongation Rates with Identical Patterns of Extension Dynamics and Coordination // AoB PLANTS. – 2021. – Vol. 13. – Article plaa072. – DOI: https://doi.org/10.1093/aobpla/plaa072.
336. Wang Y., Xu C., Fan Q., Li H., Yang Y., Zheng Y., Zhang Q. Acid-Modified Corn Straw Biochar Immobilized Pseudomonas hibiscus CN-1 Facilitated the Bioremediation of Carbendazim-Contaminated Soil // Journal of Environmental Management. – 2025. – Vol. 373. – Article 123608. – DOI: https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2024.123608.
337. Ahmed T., Shou L., Guo J., Noman M., Qi Y., Yao Y., Masood H.A., Rizwan M., Ali Md.A., Ali H.M., Li B., Qi X. Modulation of Rhizosphere Microbial Community and Metabolites by Bio-Functionalized Nanoscale Silicon Oxide

Alleviates Cadmium-Induced Phytotoxicity in Bayberry Plants // Science of the Total Environment. – 2024. – Vol. 933. – Article 173068. – DOI: https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2024.173068.
338. Indrasumunar A., Gresshoff P.M. Vermiculite's Strong Buffer Capacity Renders It Unsuitable for Studies of Acidity on Soybean (Glycine max L.) Nodulation and Growth // BMC Research Notes. – 2013. – Vol. 6. – Article 465. – DOI: https://doi.org/10.1186/1756-0500-6-465.
339. Gelardi D.L., Ainuddin I.H., Rippner D.A., Patiño J.E., Abou Najm M., Parikh S.J. Biochar Alters Hydraulic Conductivity and Impacts Nutrient Leaching in Two Agricultural Soils // SOIL. – 2021. – Vol. 7. – P. 811–825. – DOI: https://doi.org/10.5194/soil-7-811-2021.
340. Ramesh K., Raghavan V. Agricultural Waste-Derived Biochar-Based Nitrogenous Fertilizer for Slow-Release Applications // ACS Omega. – 2024. – Vol. 9. – P. 4377–4385. – DOI: https://doi.org/10.1021/acsomega.3c06687.
341. Khan S., Irshad S., Mehmood K., Hasnain Z., Nawaz M., Rais A., Gul S., Wahid M.A., Hashem A., Abd_Allah E.F., Ibrar D. Biochar Production and Characteristics, Its Impacts on Soil Health, Crop Production, and Yield Enhancement: A Review // Plants. – 2024. – Vol. 13, No. 2. – Article 166. – DOI: https://doi.org/10.3390/plants13020166.
342. Vlajkov V., Pajčin I., Vučetić S., Anđelić S., Loc M., Grahovac M., Grahovac J. Bacillus-Loaded Biochar as Soil Amendment for Improved Germination of Maize Seeds // Plants. – 2023. – Vol. 12, No. 5. – Article 1024. – DOI: https://doi.org/10.3390/plants12051024.



«Микроорганизмдердің республикалық коллекциясы» жауапкершілігі шектеулі серіктестігі

«Republican Collection of Microorganisms» Limited Liability Partnership

Товарищество с ограниченной ответственностью «Республиканская коллекция микроорганизмов»

25.09.2025 № 04-03-20/251

МИКРОАҒЗАНЫ ДЕПОНИРЛЕУ ТУРАЛЫ

КУӘЛІК

Мекеме атауы: «Әл-Фараби атындағы ҚазҰУ» КЕАҚ
Депозитордің(лердің) аты-жөні: Батыкова Ж.К., Кистаубаева А.С.

1.МИКРОАҒЗА АТАУЫ

Bacillus thuringiensis

Таңымдық сілтеме (депозитордің штаммға берген номірі, сілтемесі және т.б.)	Коллекцияның берген коллекциялық нөмірі
AS31	B-RKM 1248

2. МИКРОАҒЗАНЫҢ ҒЫЛЫМИ СИПАТТАМАСЫ ЖӘНЕ/НЕМЕСЕ ТАКСОНОМИЯЛЫҚ АНЫҚТАМАСЫ

Туыс: ***Bacillus***
Түр: ***thuringiensis***

1 – тармақта аталған микроағзаға депонирлеу туралы сұрау салу қоса беріледі, оның ішінде

- [ ] [1]Паспорт
- [ ] [1]Қауіптілік класын зерттеу бойынша қорытынды

001204



3. ҚАБЫЛДАУ

Осымен 1-тармақта аталған микроағза **Микроорганизмдердің республикалық коллекциясында патентті депонирлеу мақсатында депонирленгені** көрсетілген.

Депонирлеу күні
25.09.2025 ж.

4. КОЛЛЕКЦИЯ

«Микроорганизмдердің республикалық коллекциясы» ЖШС

Коллекция атауы:
«Микроорганизмдердің республикалық коллекциясы» ЖШС

Коллекцияға өкілдік етуге уәкілетті тұлғаның немесе уәкілетті лауазымды тұлғаның қолы:

Өндірістік микроағзалар биобанкінің меңгерушісі **Алмағамбетов К.Х.**

Бас директор **Бекшин Ж.М.**

«25» қыркүйек 2025 г.

Коллекция мекен-жайы:

010000, Астана қаласы,
Ш. Уәлиханова көшесі 13/1
факс 8 (7172) 20-10-32
e-mail: rem-info@mail.ru

Мекеме мөрі (ресми)

ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫ РЕСПУБЛИКА КАЗАХСТАН

REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

ПАТЕНТ
PATENT

№ 11603

ПАЙДАЛЫ МОДЕЛЬГЕ / НА ПОЛЕЗНУЮ МОДЕЛЬ / FOR UTILITY MODEL

(21) 2025/1596.2

(22) 17.10.2025

(45) 26.12.2025

(54) Фунгицидтік және өсуді ынталандыратын қасиеттері бар Bacillus thuringiensis AS31 бактерияларының штаммы
Штамм бактерий Bacillus thuringiensis AS31, обладающий фунгицидными и ростостимулирующими свойствами
Bacillus thuringiensis AS31 bacterial strain with fungicidal and growth-stimulating properties

(73) Батықова Жұлдыз Казбекқызы (KZ)
Batykova Zhuldyz Kazbekkyzy (KZ)

(72) Батықова Жұлдыз Казбекқызы (KZ) Batykova Zhuldyz Kazbekkyzy (KZ)
Кистаубаева Аида Сериковна (KZ) Kistaubaeva Aida Serikovna (KZ)
Сайдуллаева Лайла (KZ) Saidullaeva Laila (KZ)
Абдулжанова Малика Анварбеговна (KZ) Abdulzhanova Malika Anvarbegovna (KZ)

ЭЦҚ қол қойылды С. Ахметов
Подписано ЭЦП С. Ахметов
Signed with EDS S. Akhmetov

«Ұлттық зияткерлік меншік институты» РМК директоры
Директор РГП «Национальный институт интеллектуальной собственности»
Director of the «National Institute of Intellectual Property» RSE