АҢДАТПА

8D05105 - «Биотехнология» білім беру бағдарламасы бойынша философия докторы (PhD) ғылыми дәрежесін алу үшін дайындалған диссертация

Батықова Жұлдыз Казбекқызы

«Әртүрлі сорбенттерге иммобилизденген ризобактериялар негізінде биопрепарат құрастыру»

Зерттеу жұмысының 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 өсімдіктердің 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 жүгеріңің морфометриялық және физиологиялық көрсеткіштері негізінде бағаланды. Өсімдіктердің биологиялық өнімділігін арттыру мақсатында иммобилизденген ризобактерия формаларын ауыл шаруашылығында қолданудың ғылыми-практикалық негіздері анықталды.

Зерттеу тақырыбының өзектілігі. Минералдық тыңайтқыштар мен пестицидтерді дәстүрлі түрде қарқынды қолдану өнімділікке оң әсер еткенімен, топырақ құнарлылығының төмендеуіне, қоректік элементтер теңгерімінің бұзылуына және қоршаған ортаның ластануына алып келеді. Бұл мәселелер топырақтың деградациясы байқалатын Қазақстанның ауыл шаруашылығы алқаптары үшін ерекше өзекті болып табылады.

Аталған мәселелер ауыл шаруашылығында топырақ құнарлылығын сақтап, өнімділікті арттыра отырып, ұзақ мерзімді экологиялық тұрақтылықты қамтамасыз ететін био-негізделген шешімдердің қажеттілігін айқындайды. Осы тұрғыда өсімдіктердің өсуін ынталандыратын ризобактерияларды (ӨӨЫР) пайдалану аса перспективті бағыттардың бірі болып саналады. Олар өсімдіктердің минералдық қоректенуін жақсартуға, фитогормондар өндіруге, фитопатогендердің дамуын тежеуге қабілетті. Алайда еркін күйдегі ризобактериялық жасушалар қолайсыз орта факторларына төзімділігінің төмендігі мен топырақтың аборигенді микробиотасымен бәсекелестігі салдарынан топыраққа енгізілген соң тұрақты сақталмайды. ӨӨЫР тұрақтылығы мен тіршілікке қабілеттілігін арттырудың тиімді тәсілдерінің бірі - оларды табиғи сорбенттерге иммобилизациялау.

Перспективті тасымалдаушылар ретінде кеуекті және қабатты құрылымымен, жоғары сорбциялық белсенділігімен, қоректік элементтерді ұстап тұру қабілетімен ерекшеленетін биокөмір мен вермикулит қарастырылады. Оларды ризобактерияларды иммобилизациялау үшін пайдалану бактериялардың тіршілікке қабілеттілігін сақтап, олардың топыраққа бақыланатын түрде босап шығуына және «өсімдік-микроорганизм-топырақ» жүйесіндегі өзара оң әсерлесуінің күшеюіне ықпал етеді.

Зерттеу 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. Иммобилизациялау үшін тасымалдаушы сорбенттер ретінде вермикулит, бидай сабанынан алынған биокөмір, Мискантус және ағынды су тұнбасынан алынған биокөмір пайдаланылды. Жылыжай жағдайында модельдік өсімдік ретінде жүгерінің түріне жататын Ceklad 235 үшлиниялы жүгері гибриді пайдаланылды.

Зерттеу әдістері.

Диссертациялық жұмыс барысында зерттеулер зертханалық жағдайларда микробиологиялық, молекулалық-генетикалық, физика-химиялық және статистикалық әдістерді қолдану арқылы жүргізілді. Зерттеу әдістеріне 16S рРНҚ генінің фрагментін секвенирлеу, физикалық адсорбция әдісі, энергия-дисперсиялық рентгендік спектроскопия (EDS), сканерлеуші электрондық микроскопия (SEM) және дисперсиялық талдау (ANOVA) кірді.

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, иммобилизацияланған ризобактериялардың жоғары тіршілік ету қабілеті, топырақтың функционалдық сипаттарының өзгеруі және модельдік нысан - жүгерінің өсуі арасындағы өзара байланыс анықталды.

Жұмыстың ғылыми - практикалық маңыздылығы.

Өсімдіктердің өсуін ынталандыратын 3 жаңа ризобактерия штамы өсімдіктер ризосферасынан бөлініп алынып, скринингтен өтіп, идентификацияланды және бактерия штамдарының 16S rRNA генінің нуклеотидтік тізбектері GenBank халықаралық деректер базасында тіркелді: *Stenotrophomonas indicatrix AS8, Pantoea agglomerans AS2*3 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 иммобилизациялау әдістері жетілдірілді.

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

Қорғауға шығарылған 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 кеуектілік сипаттамаларының бактериялық жасушаларды иммобилизациялау тиімділігіне әсері анықталды. Иммобилизациялау 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.

Зерттеу нәтижелері бойынша келесі қорытындылар жасалды:

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-тасымалдаушылардың химиялық құрамы мен құрылымдық параметрлері анықталды. Бидай сабаны биокөмірі мен вермикулиттің меншікті беткі ауданы тиісінше 17 және 23,24 м²/г, Акмеко және Мискантус биокөмірлерінде 59 және 174 м²/г құрады. Мискантус биокөмірі ең жоғары меншікті беткі ауданымен және дамыған кеуекті құрылымымен ерекшеленіп, ризобактерияларды иммобилизациялау үшін 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 артуын қамтамасыз етті. Мискантус биокөмірі жоғары меншікті беткі ауданымен ерекшеленіп, 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. 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.

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, 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.

Жұмыстың сыннан өтуі:

Диссертациялық жұмыстың нәтижелері төмендегідей халықаралық ғылыми конференциялар баяндалды және талқыланды:

–Халықаралық ғылыми-тәжірибелік конференция «2nd International Conference on Sustainable Energy and Green Technology (ICSEGT 2025)», 29-31 мамыр 2025 жыл, Баку, Әзірбайжан.

–Халықаралық ғылыми-тәжірибелік конференция «RemTech Europe: International Conference and Exhibition on Land and Water Remediation Markets and Technologies», 15-19 қыркүйек 2025 жыл, Феррара, Италия.

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

–Халықаралық ғылыми-тәжірибелік конференция «IABEP: International Conference of the International Association for Biochar, Environment and Pollution», 13-15 қазан 2024 жыл, Белград, Сербия.

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.

Диссертациялық жұмыстың құрылымы мен көлемі

Диссертациялық жұмыс 174 мәтіндік бетте жазылды. Оның құрамына нормативтік сілтемелер, анықтамалар, белгілеулер мен қысқартулар, кіріспе, әдебиеттерге шолу, зерттеу материалдары мен әдістері, зерттеу нәтижелері және оларды талқылау, қорытынды және 342 пайдаланылған әдебиеттер тізімі кіреді. Диссертация құрамында 56 - сурет, 11 - кесте, 2 қосымша бар.