

АНДАТПА

Диссертациялық жұмыстың жалпы сипаттамасы.

Жұмыс дәрілік өсімдіктердің эндофитті микроорганизмдерінің таралу ерекшеліктерін, өсімдіктер мен микроорганизмдер арасындағы қатынастарды, олардың өсімдіктерге кешенді оңтайлы әсерін зерттеуге және дақылдардың өсуін жақсарту үшін осы микроорганизмдерді қолдану тәсілдерін дамытуға арналған.

Зерттеу тақырыбының өзектілігі.

Дәрілік өсімдіктер биологиялық белсенді қосылыстардың құнды көзі болып табылады. Олар синтездейтін екіншілік метаболиттер өсімдіктермен ассоциацияланған микробтық ассоциацияға және олардың физиологиялық функцияларына әсер етуі мүмкін. Сонымен қатар, өсімдіктер өздерінің микробиомасына, оның ерекше қасиеттері мен белсенділігіне, соның ішінде өсуді ынталандыруға, қоректік заттарды жинауға, индукцияланған жүйелік төзімділікті тудыру қасиеттеріне тәуелді.

Ауылшаруашылық өсімдіктерінің өнімділігін шектейтін қоршаған ортаның негізгі факторлары – құрғақшылық, топырақтың тұздануы, температураның ауытқуы, ауыр металдар, фитопатогендер болып табылады. Стресстің жағымсыз әсерлері климаттың өзгеруімен және ауа-райының болжанбауымен күшейеді. Негізгі биотикалық және абиотикалық стрестерге төзімділік – дақылдардың заманауи сорттарына және оларды өсіру технологияларына қойылатын негізгі талаптардың бірі. Көптеген ауылшаруашылық дақылдары үшін стресстік факторларға кешенді ұзақ мерзімді төзімділік мәселесі әлі де шешілмеген, сондықтан қанағаттанарлық өнім алу үшін өсімдіктерді қорғаудың химиялық құралдарын қолдану қажет. Мұның барлығы егін шығынын азайтатын және өсімдіктердің өнімділігін тұрақтандыратын тиімді әдістер мен құралдарды іздеуге итермелейді. Осындай әдістерге микроорганизмдер мен олардың метаболиттерінен тұратын биологиялық заттардың тікелей әсері, сондай-ақ табиғи қорғаныс механизмдерін индукциялау арқылы биотикалық және абиотикалық табиғаттың қолайсыз факторларына өсімдіктердің жалпы төзімділігін арттыру кіреді.

Дәрілік өсімдіктердің эндофиттері өсімдіктің тіршілік етуіне және оның белсенді метаболиттерінің өндірісін арттыруына ықпал етеді. Эндофиттік микроорганизмдерді өсімдіктердің өсуін ынталандырушы агент ретінде пайдалану агроөнеркәсіптік кешендердің де тұрақты өнімділігін қамтамасыз етуге, биотикалық және абиотикалық факторлардың әсеріне байланысты проблемаларды азайтуға көмектеседі.

Эндофитті микроорганизмдер фитогормондарды өндіру, су мен қоректік заттардың тасымалдануын жақсарту, биологиялық қорғаныс механизмдерінің әрекетін активациялау және фитопатогендерге жүйелік төзімділікті индукциялау арқылы өсімдіктің өсуі мен дамуына ықпал етеді. Бұл микроорганизмдер өсімдіктерге ене отырып, ең алдымен, жүйелік биобақылауға қатысатын агенттер ретінде қызығушылық тудырады.

Осыған байланысты эндофитті микроорганизмдердің өсімдіктердің биотикалық және абиотикалық экологиялық факторлардың әсеріне төзімділігін арттыру қабілетін анықтауға бағытталған зерттеулер ерекше өзекті болып отыр.

Зерттеу жұмысының мақсаты: эндофитті микроорганизмдерді биотехнологиялық пайдалану мүмкіндігін негіздеу және оларды қолданудың тиімді әдістерін әзірлеу.

Қойылған мақсатқа жету үшін зерттеудің негізгі міндеттері:

1. Эндофитті микроорганизмдердің сандық құрамы мен таксономиялық құрылымының сипаттамасын беру
2. Биотехнологиялық құнды қасиеттері бар штамдардың скринингін жасау
3. Галотолерантты бактериялардың тұзды топырақ жағдайында арпа өсімдіктерінің өсуін ынталандыру қабілетін зерттеу
4. Егін жинаудан кейінгі ауруларды биобақылау агенті ретінде жаңа микробтық ПГА қолдану тиімділігін бағалау
5. Эндофитті микроорганизмдер мен олардың ББЗ негізделген тұқымдарды егу алдындағы өңдеу әдісін жасау

Зерттеу нысаналары: 11 дәрілік өсімдіктерден бұрышты жалбыз (*Méntha piperíta*), дәрілік шалфей (*Sālvia officinālis*), кәдімгі цикорий (*Cichórium antybus*), күлгін эхинацея (*Echinácea purpúrea*), қос үйлі қалақай (*Urtíca díóica*), қарапайым орегано (*Origanum vulgáre*), дәрілік жусан (*Artemisia abrotanum*), батпақты ирис (*Iris pseudacorus*), жалаңаш мия (*Glycyrrhiza glabra*), дәрілік мелисса (*Melissa officinalis*), себілген сарымсақ (*Állium satívum*) оқшауланған эндофитті микроорганизмдердің штамдары.

Зерттеу пәні: эндофитті микроорганизмдердің тиімді әдістерін дайындау, агродақылдарға ынталандырушы және протекторлық әсер ету механизмдері.

Зерттеу әдістері: жұмыста заманауи микробиологиялық, биохимиялық, молекулалық-биологиялық, физика-химиялық және вегетациялық әдістер қолданылады. Деректерді статистикалық өңдеу Statistica 10.0 нұсқасы бағдарламасының лицензияланған пакетін пайдалана отырып жүргізілді.

Зерттеу нәтижелерінің ғылыми жаңалығы:

Қазақстанның он бір дәрілік өсімдігінің эндофитті микроорганизмдерінің сандық құрамы мен таксономиялық құрылымы алғаш рет сипатталды. Эндофитті микробтық ассоциациялардың құрылымында бактериялар арасында ең жоғары көрсеткішті *Pseudomonas* және *Bacillus* туысының өкілдері, микромицеттер арасында *Penicillium* және *Aspergillus* өкілдері алғаны көрсетілді.

Дәрілік өсімдіктерден алынған эндофиттердің оңтайлы әсері өсімдіктің өсуін тікелей ынталандыратын ауксиннің (негізінен ИСК) синтезіне, оттегінің белсенді формаларын нейтралдайтын антиоксидантты жүйенің ферменттеріне, тургор қысымын төмендететін және клеткадағы су мөлшерін реттейтін пролиннің құрылымына, қоректік заттардың қолжетімділігін арттыруына, топырақ патогендерінен қорғайтын антагонистік белсенділігіне

негізделген. Алғаш рет *P. expansum* саңырауқұлағына қарсы айқын антимикробтық белсенділігі бар полигидроксиалконатты (ПГА) қолдана отырып, алманы егін жинаудан кейінгі инфекциялардан қорғаудың инновациялық экологиялық әдісі ұсынылды. Алғаш рет эндофиттердің отандық штамдары, сондай-ақ олардың метаболиттері негізінде композициялар жасалды және оларды дақылдардың өсуін жақсарту мақсатында қолданудың тиімді әдістері ұсынылды.

Зерттеудің практикалық маңыздылығы зерттеу жүргізу үшін құнды биологиялық ресурс болып табылатын ауыл шаруашылығы мақсатындағы тиімді эндофит штамдарының кең жинағын құрумен байланысты. Бұл штамдарды биологиялық препараттардың құрамында пайдалану ауыл шаруашылығын дамыту және қоршаған ортаны қорғау саласындағы жекелеген және кешенді міндеттерді шешу барысында жоғары маңызға ие. Зерттеу барысында 2 штамға (*Pseudomonas flavescens* D5 және *Bacillus aerophilus* A2) өнертабысқа патент № 37123 және ҚР пайдалы моделіне патент № 9024 (А Қосымшасы) алынды. Анықталған бірқатар бақылаулар мен заңдылықтарды микроорганизмдерге негізделген биологиялық препараттарды жасау үшін практикалық ұсыныстар ретінде пайдалануға болады. Эндофиттер мен олардың метаболиттері негізінде жасалған композициялар агродақылдардың өсуін жақсарту үшін, соның ішінде тұздану және фитопатогеннің әсері жағдайында пайдаланылуы мүмкін.

Зерттеудің теориялық маңыздылығы. Нәтижелер эндофиттердің экологиясы мен жердегі экожүйелердің жұмысының маңызды мәселесі болып табылатын дәрілік өсімдіктердің эндофиттік қауымдастықтарының құрамы мен қасиеттері туралы білімді тереңдетеді және кеңейтеді. Өсімдіктерге эндофитті микроорганизмдердің оң әсер ету механизмдерін зерттеу агроөнеркәсіптік дақылдардың өсуін ынталандырудың артындағы процестерді түсіну үшін өте маңызды, сонымен қатар оларды қолдану стратегияларын жасаудың іргелі платформасын ұсынады. Зерттеу биотехнология, микробиология, биохимия және агробиология салаларының дамуына іргелі және қолданбалы тұрғыдан әсер етуі мүмкін.

Диссертацияның қорғауға ұсынылатын негізгі қағидалары:

- Дәрілік өсімдіктердің эндофитті микробиомасы биотехнологиялық құнды қасиеттері бар тиімді штамдардың перспективті көзі болып табылады.
- Эндофитті галотолерантты штамм *Ps. flavescens* D5 және *Lysinibacillus* sp. S1 тұзды стресс жағдайында өсімдіктерге пайдалы әсерлер кешенін көрсетеді, олардың өсуін жақсартады және өсімдіктердің қорғаныс механизмдерін күшейтеді.
- Микробқа қарсы белсенділігі бар жаңа микробтық ПГА егін жинаудан кейінгі зақымдануларды биобақылаудың потенциалды агенттері болып табылады.
- Эндофитті штамдар және олардың метаболиттері негізінде құрастырылған композицияларды қолдану агродақылдардың өсуі

мен дамуына ынталандырушы әсер ететін тұқымдарды егу алдындағы өңдеудің тиімді әдісі болып табылады.

Негізгі нәтижелер мен қорытындылар:

Жүргізілген зерттеу нәтижелері келесі қорытындыларды жасауға мүмкіндік береді:

1. Дәрілік өсімдіктердің эндофитті бактериялар ассоциациясының негізгі компоненттерін *Pseudomonas* және *Bacillus* туыстарының бірнеше түрлері, ал микромицеттер арасында *Penicillium* және *Aspergillus* туыстарының өкілдері құрады. Эндофитті штамдардың колонизация деңгейі және бөліну коэффициенті 6,67-ден 60% - ға дейін және 0,07-ден 0,83-ке дейін, ал микромицеттер үшін бұл көрсеткіштер сәйкесінше 3,33-тен 43,33% - ға дейін және 0,03-тен 0,57-ге дейінгі аралықта өзгерді. Өсімдік мүшелеріндегі микроорганизмдердің сандық таралуы келесідей: тамырлар > сабақтар > жапырақтар > гүлдер. Эндофиттердің ең үлкен колонизациясы жалбыз және кәдімгі цикорийге тән.

2. Скрининг нәтижесінде 386 бактериялық және 160 микромицеттік изоляттар арасынан құнды биотехнологиялық қасиеттер кешеніне ие, соның ішінде ИСК және ПГА өндіруге қабілетті, *Fusarium solani* және *Fusarium oxysporum* фитопатогендеріне қарсы антагонистік белсенділігі бар, бейорганикалық фосфорды мобилизациялау және тұзға төзімділік қабілеттеріне ие 6 штамм таңдалды: *Pseudomonas flavescens* D5, *Bacillus aerophilus* A2, *Serratia proteamaculans* B5, *Peribacillus simplex* B9, *Pseudomonas putida* D7, *Lysinibacillus* sp. S1.

3. *Ps. flavescens* D5 және *Lysinibacillus* sp. S1 эндофитті галотолерантты штамдары өсімдіктерге тұзды стресс жағдайында оңтайлы әсер етті, олардың өсуін жақсартты және өсімдіктердің қорғаныс механизмдерін күшейтті. Сонымен қатар, өсімдіктердің морфометриялық көрсеткіштерінің жоғарылауы байқалды: сабақтардың биомассасы 8-30%, тамыр биомассасы 7-20%. Өңделген өсімдіктерде хлорофилл құрамының 41%—ға жоғарылауы және пролин деңгейінің бақылаумен салыстырғанда 1,5-2,2 есе төмендеуі байқалды. Инокуляцияланған өсімдіктерде антиоксиданттық жүйе ферменттерінің белсенділігінің артуы анықталды: каталаза 1,4–7,4 есе, аскорбат пероксидаза 1,3–3,1 есе, гваяколпероксидаза 1,2–2,4 есе. Тұзды стресс жағдайында бактериялық штамдармен емдеу Na иондарының жоғарылауына және Ca иондарының деңгейін төмендеуіне ықпал етті.

4. Алманы *P. expansum* микробтық ПГА көмегімен егін жинаудан кейінгі инфекциялардан қорғаудың инновациялық экологиялық таза әдісі жасалды. Май өнеркәсібінің қалдықтары – соапсток негізінде ПГА өнімділігін (5,9 г/л дейін) арттыру үшін коректік орта ұсынылды. ПГА үлгілеріне ИҚ-спектроскопиялық және термогравиметриялық талдау жүргізілді, сондай-ақ олардың фунгицидтік белсенділігі зерттелді. ПГА-ты биобақылау агенті ретінде *P. expansum* саңырауқұлағымен жемістерді жұқтырудан 24 сағат бұрын қолданғанда тиімді болды (профилактикалық емдеу). ПГА-пен өңдеу бақылау нұсқаларымен салыстырғанда 10-шы күні зақымданудың 2 есе

төмендеуіне алып келді. ПГА-мен өңделген жемістерде салмақтың төмендеуі бақылау жемістеріне қарағанда 2 есе аз болды.

5. Биосәйкес штамдардан тұратын ассоциацияға негізделген биопрепаратты пайдалана отырып, тұқым себу алдындағы өңдеу әдісі ұсынылды: *Pseudomonas flavescens* D5, *Bacillus aerophilus* A2, *Serratia proteamaculans* B5, *Pseudomonas fluorescens* D7 және *Lysinibacillus sp.* S1 және полимерлі компонент (пуллулан, пектин және ПГА 2:1:0,1 қатынасында). Жасалған биологиялық өнімнің фитопатогеннің әсері жағдайында арпаның өсуіне әсері бағаланды. Тұқымның өсу және өну энергиясының артуы, өсімдіктердің морфометриялық көрсеткіштерінің жақсаруы байқалды: сабақтардың ұзындығы мен биомассасы 8-30%, тамыр ұзындығы мен биомассасы 7-20%. Биопрепараттың оң әсері жапырақтардағы Хл *a* құрамының 1.4–2.1 есе, Хл *b* – 2-2.4 есе, сондай-ақ Хл (*a+b*) жиынтық құрамының 1.6-2.2 есе жоғарылауымен және пролин деңгейінің бақылау нұсқасымен салыстырғанда 3,7 есе төмендеуімен сипатталды. Тұқым себу алдындағы өңдеу стресстік жағдайларда каталаза белсенділігінің 1.3–1.5 есе, аскорбат-пероксидаза 2,4 есе, гваякол-пероксидаза 2,7 есе артуына алып келді.

Диссертацияның негізгі мазмұны 12 баспа жұмыстарында, соның ішінде Web of Science және Scopus дерекқорларында индекстелетін журналдардағы 3 мақалада, КОКСНВО МНВО тізбегіне енгізілген республикалық ғылыми журналдардағы 2 мақалада, ҚР 2 патентінде, халықаралық конференция материалдарындағы 1 мақалада және халықаралық конференция материалдарындағы 4 тезисінде жарияланған.

Автордың жеке үлесі теориялық және эксперименттік зерттеулердің негізгі көлемін орындау, алынған нәтижелерді талдау, түсіндіру және рәсімдеу, басылымдардың қолжазбаларын дайындау болып табылады.

Диссертацияның көлемі мен құрылымы. Диссертациялық зерттеу жұмыстың 119 бетінде берілген және келесі бөлімдерден тұрады: белгілер және қысқартулар, нормативтік сілтемелер, кіріспе, әдебиеттерге шолу, материалдар мен зерттеу әдістері, нәтижелер мен оларды талқылау, қорытынды, 234 пайдаланылған дереккөздер тізімі. Жұмыста 19 кесте, 27 сурет және 2 қосымша бар.