Елубаева Ақмейір Елубайқызы

«8D05105 - Биотехнология» мамандығы бойынша
философия докторы (PhD) дәрежесін алуы үшін ұсынылған

АҢДАТПА

«Жеміс дақылдарының бактериялық күйіктерімен күресуге арналған микробты препарат әзірлеу»

Жұмыстың жалпы сипаттамасы. Диссертациялық жұмыс патогенді *Erwinia amylovora* Е22 бактериясынан туындайтын жеміс дақылдарының бактериялық күйігке қарсы биопрепарат жасау. Мониторингтік зерттеулер барысында Қазақстанның бау-бақша ценоздарында осы аурудың таралу аймағы анықталды. Бактериялық күйік қоздырғышына қарсы жоғары антагонистік белсенділігі бар сүт қышқылы бактериясының *Lacticaseibacillus paracasei* М12 штаммы бөлініп алынды. Осы микроорганизм штаммы өндіретін биологиялық белсенді заттардың компоненттік құрамы анықталды. *L. paracasei* М12 штаммы негізінде Еліміздің бау бақшаларының экологиялық аймақтарында және әртүрлі сорттарына сынақ жүргізілген «Лактин АС» биопрепараты жасалынды. Оның *E. amylovora* Е22 қоздырғышына қарсы биологиялық тиімділігі 90,7% құрады. «Лактин АС» биопрепараты бактериялық күйік дамуын айтарлықтай төмендетеді және қолданыстағы пестицидтерге балама болып табылады.

Зерттеу тақырыбының өзектілігі. *E. amylovora* Е22 бактериясы тудыратын бактериялық күйік, әсіресе Қазақстанның оңтүстігі мен оңтүстік-шығысы сияқты климаттық жағдайлары қолайлы аймақтарда жеміс өсіруге үлкен қауіп төндіреді. Ауру алма ағаштарына, алмұрттарға және басқа да жеміс дақылдарына әсер етеді, бұл тек өнімнің жоғалуымен ғана емес, сонымен қатар ауру аумақтарды санитарлық тазарту шығындарымен, соның ішінде ағаштарды жұлып алу және бақтарды қалпына келтірумен байланысты айтарлықтай экономикалық шығындарға әкеледі.

Қазіргі уақытта бактериялық күйік қоздырғышы *E. amylovora* Е22 қарсы тиімді шаралар жоқ. Бұл аурумен күресудің ғылыми ұсынылатын шаралары зардап шеккен бұтақтарды кесу немесе ағаштарды тамырымен қазып алып, оларды жою және құрамында мыс бар препараттармен және антибиотиктермен емдеу болып табылады. Инфекцияның дамуын азайту және жаңа инфекциялардың алдын алу үшін химиялық бақылау әдістері қолданылады. Қазіргі заманғы бактерицидтер, күйік қоздырғышына әсер етпейді. Өкінішке орай, қазіргі уақытта республикада жеміс-жидек дақылдарының бактериялық күйікпен күресетін бірде-бір отандық препарат жоқ. Сондықтан күйік қоздырғышына қарсы отандық биопрепарат жасау және өндіру шетелдік препараттарды жеткізіліміне тәуелділікті азайтады. *E. amylovora* Е22 қоздырғышымен күресу үшін биопрепараттарды қолдану ауыл шаруашылығын дамыту үшін әлеуметтік және экономикалық мәнге ие экологиялық таза өнімдерді өндіру әдістерін жасаудың ең перспективті бағыты болып табылады. Осыған байланысты бактериялық күйік қоздырғышын тежей

алатын белсенді микроорганизм штамы негізінде биопрепарат жасап, оның тиімділігін арттыру өзекті болып табылады.

Жұмыстың мақсаты: Жеміс-жидек дақылдарының *E. amylovora* Е22 бактериялық күйік қоздырғышына қарсы биологиялық тиімді микробтық препарат жасау және оның биологиялық тиімділігін анықтау.

Зерттеу жұмысының міндеттері:

1. Оңтүстік Қазақстан өңіріндегі жеміс дақылдарына бактериялық күйік ауруы бойынша мониторинг және ингибиторлық белсенділігі бар микроорганизмдерге скрининг жүргізу;

2. Белсенді антоганисттік қасиет көрсететін штамының дақылдық сұйықтығының метоболиттік құрамын талдау және микроорганизмдердің молекулалық-генетикалық идентификациялау;

3. *Lacticaseibacillus paracasei* М12 штамына негізделген «Лактин АС» биопрепаратының өсімдіктерге фитоуыттылығын зерттеу.

4. «Лактин АС» микробтық препараттың жеміс дақылдарының биохимиялық метоболиттеріне әсерін зерттеу.

5.Перспективті антагонист штамм негізінде бактериялық күйікке қарсы микробтық препарат жасау және оның биологиялық тиімділігін анықтау.

Зерттеу обьектілері. Жеміс дақылдары ретінде « *Zarja Alatau*», «*Aport*», «*Star Krimson*» сорт алма жемісі және «Шығыс» сортының алмұрты.

Алматы облысының Қарасай ауданының шаруа қожалығынан «Апорт» алма сортының зақымдалған жемісінің экссудатынан бөлініп алынған бактериялық күйік қоздырғышы *E. amylovora* Е22.

«Микробиология және вирусология ҒӨО» ЖШС-нің коллекциясынан алынған штамдар микроорганизмдер мен саңырауқұлақтары, актиномицеттер.

Алматы облысының бау бақша ценозының филосферасынан бөлініп алынды *Lacticaseibacillus paracasei* М12 штамм.

Зерттеу әдістері. Зерттеу барысында дәстүрлі фитопатологиялық, микробиологиялық, биохимиялық, молекулалық-генетикалық және физика-химиялық зерттеу әдістері қолданылды.

Зерттеу жұмысының ғылыми жаңалығы. Диссертациялық жұмыстың ғылыми жаңалығы – жеміс дақылдарының бактериялық күйік ауруына қарсы Қазақстанның табиғи-климаттық жағдайларына бейімделген сүт қышқылды бактериялардың *Lacticaseibacillus paracasei* М12 белсенді антогоннист штамм негізінде Қазақстанда алғаш рет жаңа түпнұсқа микробтық препарат әзірленді.

Зерттеудің теориялық маңыздылығы мен практикалық құндылығы.

Бактериялық күйік – жеміс дақылдарының ең қауіпті ауруларының бірі. Жеміс дақылдарының бактериялық күйікке қарсы антагонист микроорганизмдер негізінде биопрепарат жасау импорттық препараттарға тәуелділікті айтарлықтай төмендетеді. «Лактин АС» биопрепараты өсімдіктерді қорғауда химиялық заттарға өте жақсы балама болып табылады. Оның құрамында биологиялық белсенді метаболиттері бар және адамдар үшін мүлдем қауіпсіз. Бұл препараттың бірқатар артықшылықтары бар:

Биопрепарат адамдар мен жануарлар үшін улы емес, бұл оны үй шаруашылығында және бау-бақша шаруашылығында қолдануға қауіпсіз етеді.

«Лактин АС» биопрепаратымен жұмыс ерітіндісін дайындау арнайы дағдыларды қажет етпейді және тіпті тәжірибесіз бағбандарға да қол жетімді. Сонымен қатар, ерітіндіні дайындауға арналған биопрепаратты тұтыну химиялық препараттармен салыстырғанда айтарлықтай аз.

«Лактин АС» биопрепараты бактериялық күйікке қарсы 90,7% тиімді. Бүркуден кейін жеміс дақылдары патоген қоздырғышына қарсы иммунитетке ие болады, бұл олардың ұзақ мерзімге қорғанысын қамтамасыз етеді.

Бұл сипаттамалар «Лактин АС» биопрепаратын тиімді етеді. Биопрепаратты пайдалану адам денсаулығы мен қоршаған ортаға қауіп төндірмей, жеміс дақылдарын осы қауіпті аурудан қорғауға мүмкіндік береді.

Қорғауға ұсынылатын негізгі қағидалар:

1. *E. amylovora* Е22 қоздырғышына қарсы жеміс дақылдарының бактериялық күйіктің өсуін тежей алатын антагонистік белсенділігі жоғары 2 штамм (16.2, 19.2) топырақтан және 1 штамм М12 бақша өсімдіктері ценоздарының филлосферасынан іріктеп алынды.
2. *L. paracasei* М12 штаммының дақылдық сұйықтығының компоненттік құрамынан бактериялық күйік қоздырғышына қарсы бактерицидтік әсер көрсететін үш негізгі қосылыс — сірке қышқылы, сүт қышқылы және 2,3-бутандион анықталды.
3. «Лактин АС» препараты *L. paracasei* М12 штаммы негізінде әзірленді, ол «бүршіктену» және «толық гүлдеуден кейінгі» фазаларында екі рет қолданғанда жеміс ағаштарын бактериялық күйіктен 90,7% тиімділікпен қорғауға мүмкіндік береді.

Ғылыми жұмыстың негізгі нәтижелері мен қорытындылары.

1. Оңтүстік Қазақстан (Алматы, Жамбыл және Түркістан) облыстарындағы шаруашылықтар да қара өрік және шабдалы, алша, айва, жабайы өріктен бактериялық күйік қоздырғыштары анықталды. Қоздырғыштың таралуы мен ауруға шалдығу дәрежесі, өсімдіктердің сорттық ерекшеліктеріне және ауа райы жағдайына байланысты тіркелді.
2. Жүргізілген скрининг нәтижесінде Түркістан және Жамбыл облыстарының топырақ үлгілерінен бөлініп алынған 16.2 және 19.2 изоляттары мен Алматы облысының бау-бақша ценозының филлосферасынан алынған М12 изоляты *Erwinia amylovora* Е22 бактериялық күйік қоздырғышына қарсы антагонистік белсенділік көрсетті. Атап айтқанда, 16.2 және 19.2 изоляттары сәйкесінше 52,2±0,5 мм және 45,6±0,5 мм шеңберінде өсу тежелу аймағын түзсе, М12 изолятының тежелу аймағы 41,5±0,5 мм-ді құрады. Молекулалық-генетикалық талдау нәтижелері бойынша, М12 изоляты *Lacticaseibacillus paracasei* түріне, ал 16.2 және 19.2 изоляттары *Pseudomonas sp.* туыстығына жататыны анықталды. *L. paracasei* М12 штаммының антагонистік қасиеті оның негізгі метаболиттерінің — сірке қышқылы (48,7%), сүт қышқылы (4,8%) және 2,3-бутандион (4,2%) — құрамымен байланысты екені анықталды. Бұл метаболиттер бактериялық күйік қоздырғышының өсуін тиімді тежейтін биологиялық белсенді қосылыстар ретінде қарастырылады.
3. Бидай үшін ең тиімді концентрациялар 0.1%–0.5% аралығында болды. Бұл деңгейлерде өсімдіктің барлық өсу көрсеткіштері жақсарған. Қияр

үшін де 0.05%–0.5% аралығы ең тиімді концентрациялар болып шықты. 100% концентрация екі өсімдік үшін де кері әсер етіп, өсу көрсеткіштерінің төмендеуіне әкелді. Жалпы алғанда, биопрепараттың төмен және орташа концентрациялары өсімдіктердің өсу энергиясын арттырып, оң әсер еткен, ал жоғары концентрациялары тежегіш әсер көрсеткен.

4. Каталаза (КАТ) және пероксидаза (ПОА) белсенділігі препаратпен өңделген жапырақтарда айтарлықтай артқан. Аскорбатоксидаза (АПО) және СОД ферменттерінің белсенділігі төмендеген. Препараттың антиоксиданттық жүйені қайта құруға әсер ететінін көрсетеді, яғни стресстік жағдайда өсімдіктің қорғаныш механизмдерін күшейтеді. «Лактин АС» микробтық препараты алмұрт жапырағындағы пигменттік құрам мен ферментативтік белсенділікке айтарлықтай әсер етеді. Ең жоғары тиімділік 30 тәулік инкубация кезінде, әсіресе Жабайы сортта байқалады. Каталаза мен пероксидаза белсенділігінің артуы өсімдіктің қорғаныш қабілетін жоғарылататынын көрсетеді. Уақыт өте келе (60 тәулік) пигменттер деңгейінің төмендеуі препараттың әсер ету шегін білдіруі мүмкін. «Лактин АС» биопрепараты алма ағаштарының жапырақтарындағы пигменттердің мөлшерін (хлорофилл a, b және каротиноидтар) арттырады. Бұл өсімдіктің стресс факторларына төзімділігін жоғарылатып, фотосинтез процесінің тиімділігін жақсартады. КТ10 сорты Апортпен салыстырғанда биопрепаратқа жақсырақ

5. Бау-бақша ценоздарында биопрепаратты сынау бойынша далалық тәжірибелерде 5 л/га тұтыну нормасында «Лактин АС» биопрепаратымен екі реттік (1 - бүршіктену фазасы, 2 – толық гүлдеуден кейін) өңдеумен төзімді алма ағаштарындағы аурудың максималды басылуы 90,7% құрады. Жеміс дақылдарының бактериялық күйік ауруына қарсы *L. paracasei* М12 сүт қышқылды штаммы негізіндегі «Лактин АС» биопрепаратына «Ұйымдастыру стандарты» мен өндіріске арналған «Технологиялық нұсқаулық стандарттары» әзірленді.

Диссертациялық жұмыстың апробациясы. Диссертациялық жұмыста алынған материалдар баспадан шыққан 13 ғылыми еңбектерде жарияланды, соның ішінде рецензияланатын шетелдік ғылыми басылымдарда - 3 мақала Web of Science немесе Scopus деректер қорында индекстелетін, нөлдік емес импакт-факоры бар Q2 квартильге енгізілген халықаралық рецензияланатын ғылыми журналдарда – 2 мақала; Q1 квартильге енгізілген халықаралық рецензияланатын ғылыми журналдарда – 1 мақала; Қазақстан Республикасы Білім және Ғылым саласындағы бақылау Комитеті ұсынған республикалық ғылыми басылымдарда – 5 мақала; Халықаралық конференциялар материалдарында – 6 тезис жарияланды. Диссертациялық жұмыс нәтижелері бойынша өнертабысқа ресми сараптамадан өткен, Қазақстан Республикасының 1 патент алуға өтінім берілді.

Қорғауға ұсынылған ғылыми жұмыс нәтижелерінің жасақталуына қосқан диссертантың жеке үлесі. Автор өз бетінше зерттеу тақырыбы бойынша әдебиет деректерін талдауды, тәжірибелік жұмысты, статистикалық

өңдеуді, зерттеу нәтижелерін талдауды және диссертацияның қолжазбасын дайындауды жүзеге асырды.

Жұмыстың ғылыми зерттеу бағдарламасымен байланысы. Диссертациялық жұмыс BR 18574022 «Жеміс-жидек дақылдарының бактериялық күйік қоздырғышына қарсы микробтық препараттар» бағдарламасы аясында орындалды. Бағдарламаның ғылыми жетекшісі: биология ғылымдарының докторы, профессор Саданов А.Қ.

Диссертацияның құрылымы. Диссертация 116 беттен, нормативтік сілтемелерден, белгілеулер мен қысқартулардан, кіріспе, әдебиеттерге шолу, зерттеу объектілері, материалдары мен әдістері, зерттеу нәтижелері мен талқылау, қорытынды бөлімдерінен, 238 пайдаланылған әдебиеттер тізімінен, 27 кестеден, 48 суреттен тұрады.