

Әл-Фараби атындағы Қазақ Ұлттық Университеті

УДК 60:633.80(043)

Қолжазба құқығында

УСМАНОВА АЙЖАМАЛ ДУСЖАНОВНА

**Дәрілік өсімдіктермен ассоциацияланған эндофитті
микроорганизмдердің алуантүрлілігі мен олардың потенциалды
биотехнологиялық қолданылуы**

8D05105-Биотехнология

Философия докторы (PhD) дәрежесін алуға
арналған диссертация

Ғылыми жетекшілер:
биология ғылымдарының кандидаты,
доцент
Игнатова Л.В.
Лейбниц Ауылшаруашылық Ландшафттарын
Зерттеу Орталығының профессоры,
Егамбердиева Д.Р.

Қазақстан Республикасы

Алматы, 2025

МАЗМҰНЫ

Нормативтік сілтемелер	3
БЕЛГІЛЕР МЕН ҚЫСҚАРТУЛАР	4
Кіріспе.....	5
1 ӘДЕБИЕТКЕ ШОЛУ	12
1.1 Дәрілік өсімдіктердің эндофитті микроорганизмдерінің алуантүрлілігі	12
1.2 Өсімдіктерге қатысты эндофитті микроорганизмдердің биологиялық белсенділігі	16
1.3 Фитогормондар мен сигналдық молекулалардың синтезі ауылшаруашылық дақылдарының өсуін ынталандыру механизмі ретінде	17
1.4 Микробтық полимерлердің өсуді ынталандырудағы және өсімдіктерді қорғаудағы рөлі	20
1.5 Өсімдіктердің қоректенуіндегі эндофитті микроорганизмдердің қызметі	22
1.6 Эндофитті микроорганизмдердің өсімдіктерді стресс факторларына бейімдеуге қатысуы	24
1.6.1 Өсімдіктердің тұз стресіне төзімділігін арттырудағы эндофитті микроорганизмдердің қызметі	26
1.7 Эндофитті микроорганизмдердің антагонистік белсенділігі	27
1.8 Эндофиттер мен олардың метаболиттерін ауыл шаруашылығында қолдану мүмкіндіктері	28
1.9 Қазақстанда және шетелде қолданылатын микроорганизмдер және олардың ББЗ негізіндегі биопрепараттар	34
2 ЗЕРТТЕУ НЫСАНДАРЫ МЕН ӘДІСТЕРІ	37
2.1 Зерттеу нысандары	37
2.2 Зерттеу әдістері	37
3 НӘТИЖЕЛЕР МЕН ТАЛҚЫЛАУЛАР.....	51
3.1 Дәрілік өсімдіктермен ассоциацияланған эндофитті микроорганизмдердің сипаттамасы	52
3.1.1 Эндофитті дәрілік өсімдіктердің сандық құрамы және таксономиялық құрылымы	52
3.1.2 Агрономиялық құнды қасиеттері бар эндофитті штамдардың скринингі	58
3.2 Эндофитті микроорганизмдер мен олардың метаболиттерінің ауыл шаруашылығындағы қолданысы	64
3.2.1 <i>Pseudomonas flavescens</i> D5 топыраққа енгізу – тұзды топырақ ...	68
3.2.2 Фунгицидтік қасиеттері бар микробтық полигидроксикарбонатпен жемістерді егін жинаудан кейін өңдеу	76
3.2.3 Тұқымдарды эндофитті микроорганизмдермен және олардың полимерлерімен инокуляциялау алдындағы өңдеу	87

3.2.4	Фитопатогенмен өңделген өсімдіктерді инокуляциялау	95
	ҚОРЫТЫНДЫ	100
	ПАЙДАЛАНЫЛҒАН ДЕРЕККӨЗДЕРДІҢ ТІЗІМІ	102

Нормативтік сілтемелер

Бұл диссертация келесі стандарттарға сәйкес жазылған:

ГОСТ 7.32-2001 – ғылыми-зерттеу жұмысы туралы есеп. Дизайн құрылымы мен ережелері.

ГОСТ 7.1-2003 – Библиографиялық жазба. Библиографиялық сипаттама.

Құрастырудың жалпы талаптары мен ережелері.

БЕЛГІЛЕР МЕН ҚЫСҚАРТУЛАР

АЦК-дезаминаза	1-аминоциклопропан-1-карбоксилат-дезаминаза
ББЗ	биологиялық белсенді заттар
ГҚ	гиберрелин қышқылы
ИСҚ	индолил-3-сірке қышқылы
КТБ	колония жинақтаушы бірлік
ӨӨЫМ	өсімдіктің өсуін ынталандыратын микроорганизмдер
ФММ	фосфат-мобилизациялайтын микроорганизмдер
АБҚ	абсциз қышқылы
ОБФ	оттегінің белсенді формалары
ЭПС	экзополисахарид
ПГА	полигидроксиалканоат
ПГБ	полигидроксибутират

КІРІСПЕ

Диссертациялық жұмыстың жалпы сипаттамасы.

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

Зерттеу тақырыбының өзектілігі.

Дәрілік өсімдіктер биологиялық белсенді қосылыстардың құнды көзі болып табылады [1]. Олар синтездейтін екіншілік метаболиттер өсімдіктермен ассоциацияланған микробтық ассоциацияларға 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 [2].

Ауылшаруашылық өсімдіктерінің өнімділігін шектейтін қоршаған ортаның негізгі факторлары – құрғақшылық, топырақтың тұздануы, температураның ауытқуы, ауыр металдар, фитопатогендер болып табылады. Стрестің жағымсыз әсерлері климаттың өзгеруімен және ауа-райының болжанбауымен күшейеді [3]. 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 [4].

Дәрілік өсімдіктердің эндофиттері өсімдіктің тіршілік етуіне және оның белсенді метаболиттерінің өндірісін арттыруына ықпал етеді [5]. Эндофиттік микроорганизмдерді өсімдіктердің өсуін ынталандырушы агент ретінде пайдалану агроөнеркәсіптік кешендердің де тұрақты өнімділігін қамтамасыз етуге, биотикалық және абиотикалық факторлардың әсеріне байланысты проблемаларды азайтуға көмектеседі [6].

Эндофитті микроорганизмдер фитогормондарды өндіру, су мен қоректік заттардың тасымалдануын жақсарту, биологиялық қорғаныс механизмдерінің әрекеті 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 [7].

Осыған байланысты эндофитті микроорганизмдердің өсімдіктердің биотикалық және абиотикалық экологиялық факторлардың әсеріне төзімділігін арттыру қабілетін анықтауға бағытталған зерттеулер ерекше өзекті болып отыр [8].

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

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 зақымдануларды биобақылау агенті ретінде жаңа микробтық ПГА-ты қолдану тиімділігін бағалау
5. Эндофитті микроорганизмдер мен олардың ББЗ негізделген тұқымдарды инокуляциялау алдындағы өңдеу әдісін жасау

Зерттеу нысандары: 11 дәрілік өсімдіктен, соның ішінде бұрышты жалбыз (*Méntha piperíta*), дәрілік шалфей (*Sālvia officinālis*), кәдімгі цикорий (*Cichórium antybus*), күлгін эхинацея (*Echinácea purpúrea*), қос үйлі қалақай (*Urtíca dióica*), қарапайым орегано (*Oríganum 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 агродақылдарға ынталандырушы және протекторлық әсер ету механизмдері.

Зерттеу әдістері: заманауи микробиологиялық, биохимиялық, молекулалық-биологиялық, физика-химиялық және вегетативтік әдістер. 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 жасалды.

Зерттеудің практикалық маңыздылығы зерттеу жүргізу мақсатында ауыл шаруашылығының құнды биологиялық ресурсы болып табылатын 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 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 ассоциацияларының 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.
- Тиімділігі жоғары микробқа қарсы белсенділігі бар жаңа микробтық ПГА егін жинаудан кейінгі ауруларды биобақылаудың потенциалды агенттері болып табылады.

- Эндофитті штамдар мен олардың метаболиттері негізінде құрастырылған композицияларды қолдану агродақылдардың өсуі мен дамуына ынталандырушы әсер ететін тұқымдарды инокуляциялау алдындағы өңдеудің тиімді әдісі болып табылады.

Негізгі ғылыми жұмыстардың жоспарымен байланыс.

Диссертациялық жұмыс АР19679444 "Агродақылдардың өсуін ынталандыру үшін тиімді микроорганизмдері бар полимерлі матрица негізінде ұзақ әсер ететін биологиялық препаратты жасау" ғылыми жобасы шеңберінде орындалды.

Диссертациялық жұмыстың апробациясы. Жұмыс нәтижелері халықаралық ғылыми-практикалық конференцияларда баяндалды және жарияланды:

- Биологиялық алуантүрлілікті сақтаудың өзекті мәселелері. Студенттер мен жас ғалымдардың халықаралық ғылыми конференциясы "Фараби әлемі". (Алматы, 2021 ж.)

- Биологиялық әртүрлілікті сақтаудың өзекті мәселелері. Студенттер мен жас ғалымдардың халықаралық ғылыми конференциясы "Фараби әлемі". (Алматы, 2022 ж.)

- Биологиялық әртүрлілікті сақтаудың өзекті мәселелері. Студенттер мен жас ғалымдардың халықаралық ғылыми конференциясы "Фараби әлемі". (Алматы, 2023 ж.)

- "EurasiaScience" LV халықаралық ғылыми-практикалық конференция. "РФ өзектілігі" ғылыми-баспа орталығы 2023.

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

Қорғауға ұсынылатын ғылыми жұмыс нәтижелерінің жасақталуына қосқан диссертанттың жеке үлесі

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

Диссертацияның көлемі мен құрылымы. Диссертациялық жұмыс компьютерлік мәтіннің 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.

1 ӘДЕБИЕТКЕ ШОЛУ

1.1 Дәрілік өсімдіктердің эндофитті микроорганизмдерінің алуантүрлілігі

Қазақстан флорасында жоғары тамырлы өсімдіктердің 6500-ге жуық түрі [9], 5100-ге жуық саңырауқұлақтар, 490 қыналар, 2050-ден астам балдырлар және 400-ге жуық мүктектер бар. Біздің елдің өсімдік биотасының алуантүрлілігі 15000-16000 таксонға бағаланады. Емдік қасиеті бар өсімдіктердің түрі 900-ға жуық. Сонымен қатар, енгізілген, өсірілген және шет елдерден кіргізілген өсімдіктердің 500-ден астам түрі бар [10].

Дәрілік өсімдіктердің басым бөлігі [11]: күрделігүлділер (195 түрі), раушангүлділер (88), ерінгүлділер (77), бұршақгүлділер (77), сарғалдақтар (76), қолшатыр (69) және крест тәрізді (64) тұқымдастардан тұрады.

Дәрілік өсімдіктердің көптеген түрлері Тянь-Шань, Сұңғар Алатауы, Алтай және Тарбағатай тауларында кең таралған. Кейбір ұсақ түрлер Оңтүстік аудандарда жиі кездеседі; ал Орталық Қазақстанның аудандарында олардың саны біршама төмен. Қазақстанның Каспий, Ембі, Үстірт, Мойынқұм, Қызылқұм және Маңғышлақ сияқты аумақтарында дәрілік өсімдіктердің түрлері әлсіз немесе мүлдем ұсынылмаған [12].

Шөп медицинасы көптеген жылдар бойы ауруларды емдеу, алдын алу және денсаулықты нығайту, өмір сүру ұзақтығы мен сапасын арттыру үшін кеңінен қолданылуда. Алайда олардың қауіпсіздігі мен тиімділігін бағалауға жүйелі көзқарас жоқ. Денсаулықты сақтаудың біртұтас тәсілі шөп медицинасын көптеген адамдар үшін өте тартымды етеді, бірақ сонымен бірге ғылыми бағалауды қиындатады, өйткені мұндағы көптеген факторларды ескеру қажет. Шөптен жасалған дәрілер кеңінен қолданылады және көптеген адамдар шөптен жасалған дәрілерді қауіпсіз деп санаса да, олар көбінесе басқа да заттармен комбинацияда қолданылады [13]. Шөп сығындыларының ластану және бұрмалану қаупі бар, сонымен қатар олардың құрамында улы қосылыстар болуы мүмкін [14;15]. Бірақ көптеген шөптік препараттардың құрамы мен сапасы туралы деректер тек тиісті саясаттың немесе мемлекеттік талаптардың жоқтығынан ғана емес, сонымен қатар дәстүрлі дәрі-дәрмектерді бағалау үшін жалпы қабылданған зерттеу әдістемесінің болмауынан да аз [16]. Сонымен қатар, тұтас шөп қоспалары туралы зерттеулер өте аз, өйткені дәрі-дәрмектерді мақұлдау процесі табиғи химиялық заттардың дифференциалданбаған қоспаларын есепке алмайды. Әрбір шөптен кез келген белсенді ингредиентті бөліп алу үшін өте ұзақ уақыт пен жоғары шығындар қажет болады, бұл, ең алдымен, оларды өсірушілер үшін тиімсіз болып табылады [17].

Өсімдіктер мен табиғи көздер қазіргі заманғы медицинаның негізін құрайды және бүгінде өндірілетін коммерциялық препараттарға үлкен үлес қосады. Дүние жүзінде тағайындалған дәрі-дәрмектердің шамамен 25% - ы өсімдіктерден алынады. Дегенмен, дәрі-дәрмектерге қарағанда шөптер денсаулық сақтау аясында жиі қолданылады. Алайда, көптеген дамушы елдерде шөп медицинасының негізгі бөлігі болып табылатын дәстүрлі

медицина жалғыз қол жетімді Денсаулық сақтау жүйесі болып табылады. Қазіргі таңда, өсімдіктің өзінен емес, дәрілік өсімдіктермен байланысты микробтардан биоактивті метаболиттердің балама көзін табу маңызды дәрілік өсімдіктердің жойылуын азайтуы мүмкін [18].

Табиғатта кез-келген организм басқа кіші организмдер үшін экологиялық тіршілік ету ортасы болып табылады. Макроорганизмнің оны мекендейтін тіндермен және жасушалармен микроорганизмдермен өзара әрекеттесуі азды-көпті тығыз, сыртқы жағынан асимптоматикалық немесе мамандандырылған құрылымдардың пайда болуымен бірге жүруі мүмкін. Әр түрлі екі немесе бірнеше организмдердің тұрақты бірге тіршілік етуі де Бари ғалымымен симбиоз деп аталды [19]. Симбиотикалық қатынастардың экологиялық мәні - серіктестер жаңа қоректік көздерді алады, оларды еркін тіршілік ететін организмдерде тиісті ферменттік жүйелердің болмауына байланысты тәуелсіз пайдалану мүмкін емес [20]. Симбиотикалық қарым-қатынасқа түсу серіктестерге қоршаған ортаның агрессивті факторларынан қорғауда да артықшылық береді: микросимбионт басқа организмнің ішіндегі жаңа ресурстарға қол жеткізе алады, ал макросимбионт микробтық метаболиттердің арқасында жақсартылған тамақтану мүмкіндіктері мен қолайсыз экологиялық факторларға төзімділікке ие болады. Фитобиом өсімдік ағзасының денсаулығы мен өнімділігіне әсер ететін биотикалық және абиотикалық орта факторларының жиынтығы болып табылады [21].

Фитомикробиом – өсімдік ағзасының өзін-өзі қамтамасыз етуін арттыратын, оны стресстен қорғайтын қоректік элементтермен қамтамасыз ететін, патогенді емес, онымен өзара байланысты микроорганизмдердің интерактивті организмаралық геномы [22]. Фитобиомда аурулардың себебі болуы мүмкін организмдер кешенін оқшаулау үшін патобиом терминін қолданған жөн. Патогендік пен комменсализм, сондай – ақ мутуализм мен паразитизм арасындағы тепе – теңдік өте мобильді және "абиотикалық орта – патоген – биотикалық орта" тетрадасына қатысты қолайсыз факторлардың жиынтығына байланысты екенін ескеру қажет [23].

Фитомикробиом өсімдік бетінде тіршілік ететін эпифитті де, өсімдік тіндеріне енетін эндофитті микроорганизмдерді де қамтиды. Өсімдіктердің сау тіндерінде тіршілік ететін бактериялардың бар екендігі туралы алғашқылардың бірі болып микробтық ризосфералық экология мен топырақ бактериологиясының ізашары, "ризосфера" терминінің авторы – 1904 жылы Лоренц Гильтнер хабарлады. Алайда, бұл саладағы серпіліс XX ғасырдың 70-ші жылдарында пайда болды, осы кезде бактериялардың кең ауқымы фитопатогендерді жою және өсімдіктердің өсуін ынталандыру қасиеттері анықталды [24]. Бұл бактериялар топологиялық тауашасына қарамастан ӨӨЫМ (Өсімдіктердің өсуін ынталандыратын микроорганизмдер) деп аталды. Бүгінгі таңда эндофитті бактериялардың тізімінде 71 тұқымға жататын кем дегенде 219 түр бар. Жоғары таксондар бойынша эндофиттер келесідей бөлінеді: *Proteobacteria* – 54% (*Alfa - proteobacteria* – 18%, *Beta-proteobacteria* – 10%, *Gamma-proteobacteria* – 26 %), *Actinomycetes* – 20%,

Firmicutes-16%, *Bacteroidetes* – 6 %, *Archae* – 4%). Жалпыланған түрде эндофитті микроорганизмдердің сипаттамасы және олардың өсімдіктермен өзара әрекеттесуі 1-кестеде келтірілген.

Кесте 1 – Эндофитті бактериялардың өсімдіктермен өзара әрекеттесуінің сипаттамасы

Белгілері	Сипаттамасы
География	Космополиттер барлық географиялық аудандарда және тіршілік ету орталарында, зерттелген өсімдіктердің барлық түрлерінде кездеседі
Топология	Эндоризосфера, эндофиллосфера, эндоспермосфера
Таксономиялық алуантүрлілігі	<i>Alfa - proteobacteria</i> – 18%, <i>Beta-proteobacteria</i> -10%, <i>Gamma-proteobacteria</i> -26 %), <i>Actinomycetes</i> 20%, <i>Firmicutes</i> -16%, <i>Bacteroidetes</i> – 6 %, <i>Archae</i> – 4%).
Өсімдікпен трофикалық қарым-қатынасы	Мутуализм, комменсализм, паразитизм, сапротрофитизм. Шынайы (бәсекеге қабілетті) эндофиттер алғашқы екі нұсқаға жатады
Иесі өсімдікпен байланыс түрі	Факультативті, экологиялық облигатты, генетикалық облигатты
ӨӨЫМ функционалды рөлі	Биобақылау, азотты бекіту, өсуді реттеу, фитоиммунитет индукциясы, стресске төзімділікті арттыру және т. б.

Эндофиттер сапрофитті микроорганизмдер мен өсімдік қоздырғыштары арасындағы аралық топ ретінде эволюциялық түрде пайда болды деп есептеледі [25] және әлемде бар өсімдіктердің 300 000 түрінің кез келгені эндофиттердің бір немесе бірнеше түрінің иесі болып табылады. Дегенмен, қазіргі уақытта эндофиттердің саны және олардың түрлік құрамы өсімдіктердің бірнеше түрлерінде ғана жақсы зерттелген: олар цитрус жемістері, қант қамысы, жүгері, эвкалипт, құлпынай, қант қызылшасы, картоп және басқалары. Айта кету керек, бір өсімдікті әртүрлі тұқымдарға жататын грам оң және грам-теріс бактериялардың бірнеше түрі колонизациялауы мүмкін, мысалы, *Achromobacter*, *Acinetobacter*, *Agrobacterium*, *Bacillus*, *Brevibacterium*, *Burkholderia*, *Chromobacterium*, *Curtobacterium*, *Enterobacter*, *Kocuria*, *lysiniabacillus*, *methylobacterium*, *microbacterium*, *paneibacillus*, *pantoea*, *Phyllobacterium*, *Pseudomonas*, *Rahnella*, *Rhodanobacter*, *Stenotrophomonas*. Алайда, *Streptomyces sp.* және *Bacillus spp.* туысы эндофитті бактериялардың арасында басымдылық танытты [26]. Ал эндофитті саңырауқұлақтардың ішінде *Curvularia*, *Acremonium*, *Alternaria*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Stemphylium*, *Cladosporium* туыс саңырауқұлақтары басым түрде кездесті.

Bacillus spp. эндофиттері өсімдіктердің әртүрлі бөліктерінің ішкі ұлпаларында кездеседі: тұқымдар, жемістер, сабақтар, жапырақтар, тамырлар мен түйнектер, гүлдер. *Penicillium bilaii* CC09 туыс саңырауқұлақтары камфора ағашының сау тіндерінен (*Cinnamomum camphora*), *Scutellaria baicalensis* Georgi дәрілік өсімдігінен; *B. subtilis* EDR4 – бидай тамыры сүзгісінен, *B. subtilis* ZZ120 – *Prunus mume* сабағынан; *B. licheniformis* және *B. pumilus* – қоңырау гүлінің тамырынан; *B. subtilis*, *B. thuringiensis* және *B. pumilus* штамдары – соя түйіндерінен және бидай ұлпаларынан; *B. subtilis*, *Aspergillus niger* – жүгеріден табылған [27].

Эндофитті микроорганизмдер өсімдіктің кез келген ішкі бөлігін колонизациялай алатынына қарамастан [27], эндофиттердің ең жоғары тығыздығы тамырларда байқалады және тамыр тіндерінен жапырақтарға және басқа жер үсті мүшелеріне қарай таралады, сонымен қатар жасуша концентрациясының осы бағытта төмендеу тенденциясы байқалған. Эндофиттердің әртүрлілігі өсімдіктердің түрі мен сортына, ал популяция тығыздығы ұлпаға, өсімдіктің даму сатысына, қоршаған орта факторларына, мысалы, жыл мезгіліне байланысты болуы мүмкін. Эндофитті колонизация өсімдіктердегі физиологиялық өзгерістерге байланысты және қорғаныс механизмдерімен шектелуі немесе баяулауы мүмкін [28]. Қосжарнақты өсімдіктерде салицил қышқылы, этилен, жасмон қышқылы колонизацияны шектейді. Өсімдіктердің эндофиттермен колонизациялануына тыңайтқыштар әсер етуі мүмкін. Осылайша, азот тыңайтқыштарының әсерінен эндофиттер қолданатын сахарозаның концентрациясы төмендейді және олардың өсімдіктерге енуі нашарлайды [29]. Күріш пен жүгері сияқты кейбір өсімдіктер синтездейтін микробқа қарсы пептидтер осы өсімдіктердің эндофиттік колонизациясының төмендеуіне әкелуі мүмкін [30]. Айта кету керек, эндофиттерді анықтау әрқашан да классикалық микробиология әдістерімен жүзеге асыру мүмкін бола бермейді, сондықтан қазіргі уақытта "метагеномдық" тәсілмен ДНҚ талдауы кеңінен қолданыла бастады. Эндофитті микроорганизмдер тұқымдар, вегетативті отырғызу материалы, сондай-ақ түйнектердегі топырақ арқылы "ұрпақтан-ұрпаққа берілуі" мүмкін [31]. Заңдылыққа сәйкес, потенциалды эндофиттер өсімдіктерге кірер алдында тамыр бетін колонизациялайды. Эндофиттер жасушааралық кеңістікте тіршілік ете алады, онда олар патогенді емес микроорганизмдер сияқты апопластикалық заттармен қоректенеді, бірақ жасушалардың ішінде немесе тамыр жүйесінде де тіршілік етуі мүмкін. Бұл әдебиеттерді талдау эндофитті микроорганизмдердің өте үлкен түрлерін, олардың әртүрлі өсімдік мүшелері мен тіндерінде орналасуын көрсетеді, дегенмен қазіргі таңда эндофитті микроорганизмдермен колонизацияланған барлық өсімдіктердің біршамасы ғана зерттелген. Өсімдіктердің эндофитті микроорганизмдермен симбиозының механизмдері туралы мәселе ашық күйінде қалып отыр.

Көптеген өсімдіктердің биосферада үлкен тауашаларды алуы адам денсаулығына әсер ететін аурулармен күресудегі салыстырмалы дәрілік құндылығына негізделген [32]. Қазіргі таңда дәрілік өсімдіктерді шөптік

препараттарда қолдану қарқынды дамуда; әлем халқының 80% - дан астамы фитомедицинаның тиімділігін растайды; өйткені өсімдіктер улы емес және экономикалық тиімді [33]. Дәрілік өсімдіктер жер үсті немесе су асты орталарын мекен етеді; дегенмен, адамның іс-әрекеті мен патогендердің әсерінен көптеген проблемаларға ұшырап отырады. Әрине, әлем халқының көбеюі және дәрілік заттарды синтездеу кезінде дәрілік құндылығы бар өсімдіктерді пайдалану, егер олардың қолданылуы дұрыс басқарылмаса, болашақта өсімдіктердің таралуы мен биоалунтүрлілігіне қауіп төндіруі мүмкін. Дегенмен, өсімдіктің өзінен емес, дәрілік өсімдіктермен байланысты микробтардан биоактивті метаболиттердің балама көзін табу пайдалы ауылшаруашылық өсімдіктерінің санының жойылуының алдын алуы мүмкін [34].

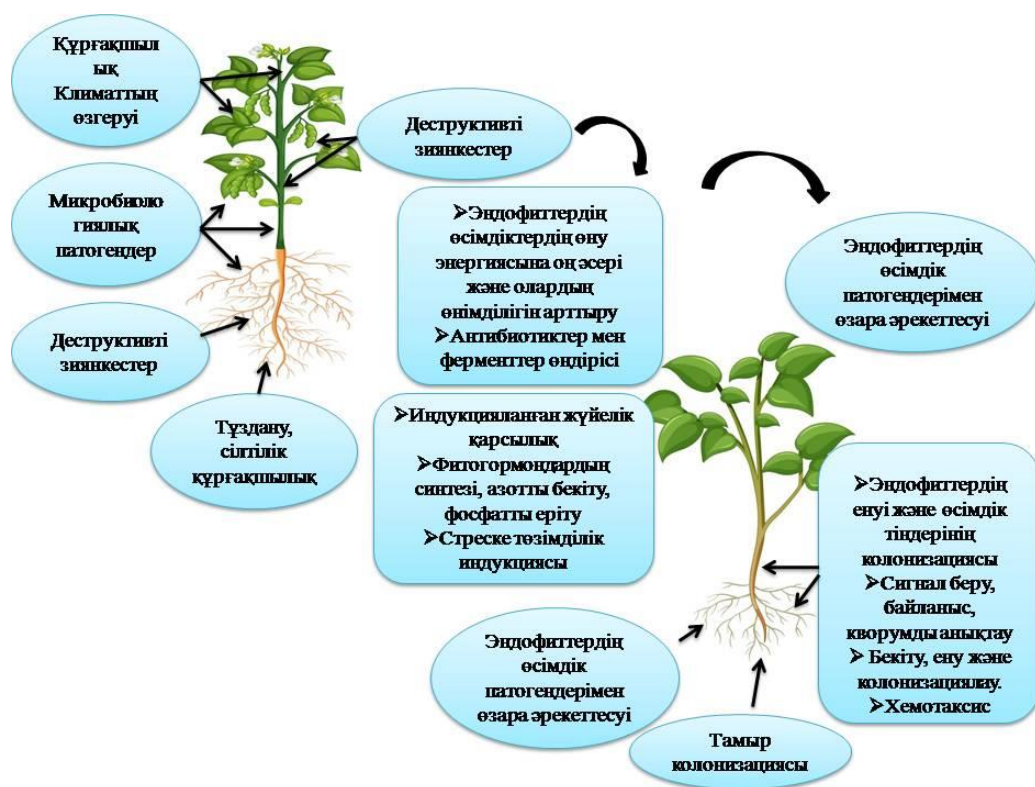
Антимикробтық, антиоксиданттық және диабетке қарсы қасиеттері бар табиғи биоактивті қосылыстарды зерттеу этноботаника және фитомедицина саласындағы ғалымдар тарапынан аз зерттелген, сондықтан қазіргі таңда патогендер тудыратын көптеген дәріге төзімділік синдромдарының алдын алу үшін дәрілік өсімдіктердегі табиғи қосылыстарды анықтау үлкен қызығушылық танытып отыр [35]. Дәрілік өсімдіктердің өзектілігі мен бірегейлігі туралы шектеулі ақпарат фармакология саласында туындайтын мүмкіндіктерге кедергі туғызуда. Ғылыми зерттеулер нәтижесінде анықталғандай, өсімдікпен ассоциацияланған эндофитті микроорганизмдерден алынған биологиялық белсенді заттарды қолдану фармакология саласының дамуына септігін тигізеді [36].

Дәрілік өсімдіктердің әртүрлі биоактивті молекулалары зерттелген, бірақ олармен байланысты микробтардың қосылыстары жеткілікті түрде анықталмағандығы олардың түрлі ауылшаруашылық және өнеркәсіптік қолданбалар аясында пайдаланылуына шектеу қойып отыр [37]. Әртүрлі микроклиматтардағы түрлі өсімдіктермен байланысты микробтардың табиғи биомолекулаларын зерттеу перспективтері қазіргі және болашақ зерттеулер үшін пайдалы болып табылады. Алдыңғы нәтижелер фармацевтика өнеркәсібінде маңызды биологиялық белсенді қосылыстарды синтездеуде эндофитті микроорганизмдердің потенциалын көрсетті [38]. Микроорганизмдер синтездейтін ББЗ фитомедицинада қолданылатын өсімдіктерден алынатын қосылыстарға балама ретінде қолданыла алады. Микробтық эндофиттер қауымдастығын манипуляциялау және олар мекендеген өсімдіктермен өзара әрекеттесуі әртүрлі экологиялық жағдайларда дәрілік өсімдіктерден биологиялық өнімдер мен жаңа метаболиттердің синтезделу дәрежесін айтарлықтай жоғарылата алады [39].

1.2 Өсімдіктермен ассоциацияланған эндофитті микроорганизмдердің биологиялық белсенділігі

Зерттеушілердің эндофитті микроорганизмдердің алуантүрлілігі мен атқаратын қызметіне қызығушылығының артуының басты себебі – өсімдіктермен тұрақты қарым-қатынас орнататын эндофиттер көбінесе өсудің

тамаша стимуляторлары және патогендерді бақылаудың биологиялық агенттері бола алатындығында [40]. Мұндай кең таралған механизмдерге антибиоз, индукцияланған жүйелі төзімділік, қоректік заттар үшін бәсекелестік, жыртқыштық және паразитизм жатады [41]. Өсуді ынталандыратын микроорганизмдер фитогормондарды немесе басқа да пайдалы органикалық қосылыстарды, мысалы, полиаминдерді синтездеу арқылы өсімдіктердің физиологиялық жағдайын жақсартады, олар жасушалардың бөлінуіне және дифференциациясына, ақуыз синтезіне, мембраналардың тұрақтылығына қатысу арқылы маңызды физиологиялық қызметтерге жауап береді; сонымен қатар, әртүрлі абиотикалық стресстерде қорғаныс ролін атқарады (1-сурет).



Сурет 1 – Өсімдіктердің өсуін ынталандыратын микробтық механизмдер

Эндофитті микроорганизмдердің өкілдері фосфор, мырыш немесе кремний оксиді сияқты маңызды, бірақ нашар сіңірілетін микроэлементтердің өсімдікке өнуін күшейтуге қабілетті [42]. Эндофиттердің өсімдіктерге тікелей немесе жанама әсер етуі олардың өздері синтездейтін қосылыстарды (мысалы, фитогормондар мен өсу реттегіштері) макроорганизмге "беру" арқылы немесе өсімдіктерді патогендерден қорғау және жанама түрде төзімділікті индукциялау арқылы өсуді ынталандыруға негізделген. Фитогормондардың әсері жасушалар мен тіндердің белсенділігінің кешенді өзгеруімен анықталады: клеткалардың дифференциациясы, өсу, созылу, пептидтер мен

метаболиттердің барлық түрлерінің синтезі. Кез-келген өсімдік жасушасы гормондардың барлық түрлерін синтездеуге қабілетті. Жануарлар гормондары сияқты, өсімдік гормондары да бір-бірімен өте тығыз әрекеттеседі. Гормоналды жүйедегі тепе-теңдіктің өзгеруі өсімдік ағзасын ұйымдастырудың әртүрлі деңгейлеріне әсер етеді.

1.3 Фитогормондар мен сигналдық молекулалардың синтезі дақылдардың өсуін ынталандыру механизмі ретінде

Эндофиттер барлық негізгі өсімдік гормондары мен гормонға ұқсас қосылыстарды синтездеуге қабілетті: ауксиндер, цитокининдер, гиббереллиндер, абсциз, салицил және жасмон қышқылдары [43]. Эндофиттердің гормоналды және сигналдық функциясы бар заттарды шығару қасиеті өсімдіктердің өсуін ынталандыру және реттеу үшін биологиялық өнімдерді өндіруде қарқынды қолданылады. Ауыл шаруашылығында фитогормондар мен гормонға ұқсас қосылыстар тұқымдар мен түйнектердің өнуін белсендіру, тамыр түзілу процестерін ынталандыру, өсімдіктердің әртүрлі кезеңдердегі өсуі мен дамуын реттеу, пісуді жеделдету және өнімділікті арттыру үшін кеңінен қолданылады. Сонымен қатар, фитогормондар өсімдіктердің реттеуші жүйелерінің маңызды компоненттері бола отырып, стресс жағдайында олардың бейімделу реакцияларын қалыптастыруда маңызды рөл атқарады.

Ауксиндер – бұл өсімдіктердің даму процестеріне қатысатын гормондар-индол туындылары, мысалы: жасушалардың созылуы және дифференциациясы, органдардың қалыптасуы, тамыр мен ксилеманың активтенуі, химо және фототропизм процестері, фотосинтетикалық пигменттердің түзілуі. Ауксиндер, сонымен қатар, өсімдіктердің биотикалық және абиотикалық сипаттағы стресстерге реакциясын бақылайды [44]. Ең үлкен физиологиялық белсенділік индолил-3-сірке қышқылына (ИСК) тән, ал басқа ауксиндер ИСК прекурсорлары немесе оның трансформация өнімдері болып табылады. *Azospirillum*, *Lysinibacillus*, *Pseudomonas*, *Bacillus* және т. б. эндофитті бактериялардың көптеген штамдарында кездесетін ауксиндерді синтездеу қабілеті осы микроорганизмдердің өсімдіктердің тамырының өсуін белсендіруіне байланысты [45]. Мысалы, *B. subtilis* FZB24 бактерияларының ауксиндерді синтездеу қабілеті тамыр жүйесінің дамуын ынталандырды, өсімдіктерге су мен қоректік заттарды белсенді сіңіруге мүмкіндік берді және, сәйкесінше, өсімдіктердің ауруға төзімділігін арттырып қана қоймай, сонымен қатар олардың патогендерге сезімтал даму кезеңдерін тездетуге мүмкіндік тұғызды [46]. Индол-3-ацетамид жолы арқылы триптофанның прекурсорынан ауксиндердің синтезі эндофитті *Fusarium sp.*, *Colletotrichum gloeosporioides* саңырауқұлақтары үшін сипатталған индол-3-пируват жолы арқылы-*Ustilago* және *Rhizoctonia* микроорганизмдері үшін сипатталған [47]. Триптофанға тәуелсіз түзілу жолы эндофитті *Cyanodermella asteris* саңырауқұлақтарында зерттелген.

Цитокининдер – бұл АТФ/АДФ/АМФ немесе тРНҚ деградациясы арқылы пайда болатын аденин туындылары. Цитокининдердің әртүрлі химиялық құрылымы олардың полифункционалдығын анықтайды және оларға физиологиялық процестерді реттеуге мүмкіндік береді: РНҚ синтезі және трансляция, өсімдік жасушаларының бөлінуі, хлоропластардың түзілуі, биотикалық және абиотикалық стресстерде фотосинтетикалық аппараттың тұрақтылығының артуы. Цитокининдерді *Bacillus*, *Arthrobacter*, *Azotobacter*, *Azospirillum*, *Pseudomonas* өкілдері өндіруге қабілетті. Өсімдіктерді цитокинин өндіретін бактериялармен инокуляциялау кезінде *Lysinibacillus xylanilyticus* өсімдіктердің өзінде хлорофилл мөлшері мен цитокининдердің жиналуы артып, сабақ пен тамыр массасының өсуіне алып келетіндігі анықталды. Цитокинин белсенділігі бар қосылыстар *Suillus* және *Paxillus* тұқымдасына жататын эндофитті саңырауқұлақтарда да кездеседі. *Pholidota articulata* және *Paphiopedilum appletonianum* тропикалық орхидеяларымен байланысты *Phoma*, *Fusarium* және *Trichoderma* саңырауқұлақтарында мицелий құрылымы бойынша зеатин мен кинетинге жақын қосылыстар окшауланған [48]. Саңырауқұлақтардың бірнеше түрлері, соның ішінде сапрофитті, патогенді және симбиотикалық цитокининдер түзетіні көрсетілген. Бұл гормондар саңырауқұлақтардың кейбір физиологиялық процестерінде, әсіресе гифалардың дамуында және қоректік заттардың сіңуінде маңызды рөл атқаратыны туралы мәліметтер бар. *Aspergillus* және *Penicillium* тұқымдарының өкілдері цитокининдерді азоттың қосымша көзі ретінде белсенді қолданады.

Гиббереллиндер терпеноидтардың туындылары болып табылады. Бұл қазіргі уақытта 100-ден астам қосылыстарды қамтитын фитогормондардың ең кең тобы [49]. Гиббереллин қышқылдарының әрекеті меристема жасушаларының бөлінуіне және созылуына, амилазалар мен мембраналар синтезін белсендіруге, тұқымдардың өнуін, гүлденуін және жемістердің пісуін ынталандыруға бағытталған.

B. cereus және *B. subtilis* дақылдық сұйықтықтарында гиббереллиндер алғаш рет 1965 жылы анықталған [50], содан бері зерттеушілер осы фитогормонды синтездеуге қабілетті *Bacillus* тұқымдас бактериялардың көптеген штамдарын тапты. Эндофитті саңырауқұлақтар *Phoma glomerata* және *Penicillium sp.*, биологиялық белсенді гибберелл қышқылдарын өндіру стресстік жағдайларда өсімдіктің өсуін жақсартты және қорғаныс механизмдерін белсендірді. Тамыр эндофиті *Piriformospora indica* гибберелл мен жасмон қышқылдарының тепе-теңдігін өзгерту арқылы күріштің төзімділігін арттырды.

Абсциз қышқылы – изопентенилфосфаттан синтезделетін сесквитерпен. Эндофиттер цитозолдағы мевалонат жолы арқылы абсциз қышқылын түзе алады. Абсциз қышқылы инфекциялардан қорғайтын рөл атқарады және құрғақшылық, топырақтың тұздануы, төтенше температура, фосфор тапшылығы сияқты стресстік жағдайларда өскен кезде өсімдіктегі негізгі сигналдық молекула болып табылады [51]. Бұл өсімдік гормоны

жапырақтардың жабылуына ықпал етеді, патогендердің жапырақтарға енуіне жол бермейді, сонымен қатар құрғақшылық жағдайында өсімдіктердің су алмасуын оңтайландыра отырып, жапырақ бетінен судың булану жылдамдығын төмендетеді. Эндофитті саңырауқұлақтарда абсциз қышқылын синтездеу қабілеті алғаш рет *Cercospora risicola*-да анықталды. *Azospirillum*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Brevibacterium* және *Lysinibacillus* эндофитті бактерияларының, әсіресе тұзды топырақ стресстік жағдайында, абсциз қышқылының өсімдіктердегі концентрациясының әсер ету қабілеті анықталды [52]. Жүгері өсімдіктерін *Azospirillum lipoferum* 59В штамымен инокуляциялау өсімдіктердегі АБК деңгейінің төмендеуіне ықпал етті және құрғақшылық жағдайында олардың өсуін ынталандырды. АБК синтездейтін *Bacillus megaterium* ризосфералық бактериясын пайдалана отырып, қызанақ өсімдіктерінде қалыпты АБК деңгейін сақтау өсімдіктің қалыпты және стресс жағдайларында өсуі үшін өте қажетті шарттардың бірі болып табылды [52].

Сонымен, эндофиттердің гормоналды және сигналдық функциясы бар қосылыстарды синтездеу қабілеті өсімдіктердің эндогендік гормоналды тепе-теңдігінің өзгеруіне ықпал етеді. Эндофитті микроорганизмдердің фитогормондардың гиперсинтезімен сипатталатын патогендерден айырмашылығы, эндофиттер өсімдіктерге гормондардың қажетті мөлшерін ғана синтездейді және олардың гормоналды күйін оңтайландырады. Фитогормондар мен эндофиттердің сигналдық молекулалары өсімдіктерді биотикалық және абиотикалық сипаттағы стресстен қорғауға қатысатын бірқатар механизмдерді тудырады. Сондай-ақ, эндофиттер синтездейтін фитогормондар агроценоздар микрофлорасының дамуы мен физиологиялық белсенділігіне әсер ете отырып, бүкіл ассоциацияның жұмысын реттейді.

1.4 Микробтық полимерлердің өсуді ынталандырудағы және өсімдіктерді қорғаудағы рөлі

Микроорганизмдердің көптеген биотехнологиялық өнімдердің көзі ретінде пайдаланылуы оларды дақылдау әдістерінің қарапайымдылығына және метаболиттерінің алуантүрлілігіне негізделген. Осындай өнімдердің бірі – экзополисахаридтер (ЭПС) – айқын физика-химиялық қасиеттеріне, уытсыздығына, биосәйкестігіне, биологиялық ыдырауға қабілеттілігіне және өндірістің қарапайымдылығына байланысты әртүрлі салаларда полимерлер ретінде кеңінен қолданылады. Микробтық полисахаридтердің екі түрі бар - жасушаішілік және жасушадан тыс. Жасушадан тыс полисахаридтер қоршаған ортаға бөлінетін микробтарды (экзоцеллюлярлы полисахаридтер) және ЭПС-ді инкапсуляциялайтын капсулалық полисахаридтерге бөлінеді. Жасушаішілік полисахаридтер – қоректік заттардың жетіспеушілігі туындаған кезде, көміртектің көзі ретінде қызмет атқаратын қосылыстар [53].

ЭПС - молекулалық салмағы $0,5 \times 10^6$ -дан 2×10^6 дальтонға дейінгі жоғары молекулалық қосылыстар. ЭПС қанттың құрамы бойынша гомополимерлі немесе гетерополимерлі болуы мүмкін және құрылымдық жағынан сызықты немесе тармақталған болып келеді [54].

Экзополисахаридтер әртүрлі экожүйелерде микроорганизмдердің дамуына қолайлы жағдай жасайтын көптеген функцияларды орындайды. *Aureobasidium melanogenum* синтездейтін пуллулан әртүрлі абиотикалық стрессерден қорғай отырып, құрғақшылық жағдайында өмірге бейімделуді қамтамасыз етеді [55]. *Pseudoalteromonas strain SM20310* арктикалық теңіз штамы синтездейтін ЭПС жоғары концентрациядағы тұзға төзімділік пен криопротекцияны қамтамасыз ететін теңіз мұзындағы микроорганизмнің экологиялық бейімделуінде маңызды рөл атқарады. ЭПС өсімдіктердің өсуін ынталандыратын *Rhodotorula sp* саңырауқұлағында да анықталған [56]. Сол сияқты, цианобактериялардың ЭПС матрицасының рН-буферлік қасиеті құрғақ жердегі цианобактерияларды қышқылдың зақымдануынан қорғайды.

ЭПС өсімдік-микробтық симбиозды анықтауда маңызды рөл атқарады. *Paraburkholderia phymatum* азотты бекітетін бактериялардың өсімдік тамырларына қосылуы ЭПС өндірісімен анықталады [57]. Топырақта тіршілік ететін өсімдіктердің өсуін ынталандыратын *P. aeruginosa*, *P. syringae*, *P. putida* және *P. fluorescens* бактериялары ЭПС "альгинат" синтездейді. Альгинат Zn^{2+} биосорбциясында және *Pseudomonas* флуоресцентті штамы синтездейтін биобақылау агенті феназин биосинтезінде маңызды рөл атқарады. Альгинат өндірісінің артуы ризосфераның үйлесімділігіне әсер етеді, биофильмнің түзілуін жақсартады және тамырдың микроорганизмдермен колонизациялану деңгейін жоғарылатады [58].

Соңғы жылдары экологиялық тұрақтылық пен жасыл технологияға деген қызығушылықтың артуы инновациялық материалдар мен технологияларды дамыту қажеттілігін тудырды. Полигидроксикапроаттар (ПГА) — әртүрлі құрылымды биологиялық ыдырайтын полиэфир қосылыстары – микроорганизмдер арқылы алынған жалғыз биопластик [59]. Әр түрлі грам-оң және грам-теріс бактериялар, саңырауқұлақтар мен микробалдырлар түрліше субстраттарды қолдана отырып, ПГА-ты жасушаішілік түйіршіктер түрінде синтездеуге және сақтауға қабілетті. ПГА прекурсорлары қанттардың метаболизмі кезінде пайда болады. Май қышқылдарының субстраттары β -тотығу және ПГА май қышқылдарының жаңа синтезі арқылы метаболизденеді [57].

Тізбектің ұзындығына байланысты ПГА 3-5 көміртегі атомы бар қысқа тізбекті (scl), 6-14 көміртегі атомы бар орташа тізбекті (mcl) және 14-тен астам көміртегі атомы бар ұзын тізбекті (lcl) болып бөлінеді. Кристалды және типтік термопластикалық қасиеттері бар scl фазаларымен салыстырғанда mcl және lcl фазаларының молекулалық салмағы аз, кристалдану және балқу температурасы төмен эластомерлер ретінде қарастырылады [60]. ПГА 150-ден астам мономерлерден тұрады, оларды гомополимерлер, статистикалық сополимерлер және блок-сополимерлер жасау үшін біріктіруге болады, олар құрылымдардың шексіз өзгеруін, сондай-ақ биополимерлердің бірегей физика-химиялық қасиеттері мен функцияларын қамтамасыз етеді. ПГА құрылымдары мен қасиеттерінің алуантүрлілігі медицинаның, тамақ

өнеркәсібінің және агробιοтехнологияның бірнеше салаларында пайдаланудың жоғары потенциалын көрсетеді [61].

Химиялық пластмассалармен салыстырғанда ПГА уытсыздығы, биологиялық ыдырау қабілеті, биологиялық сәйкестігі және жаңа буын материалдарының тұрақтылығы сияқты бірқатар артықшылықтарға ие. Алайда, ПГА өндірісінің құны химиялық пластмасса өндірісіне қарағанда жоғары. Бактериялық штамдардың тиімді өндірушілерін табу және дамыту, арзан шикізатты таңдау, өсірудің әртүрлі шарттары және ПГА оқшаулау мен тазарту үшін энергияны үнемдейтін әр түрлі технологияларды қолдану ПГА өндірісінің құнын төмендетуге мүмкіндік береді [62; 63]. Жаңартылатын ресурстарды субстрат ретінде пайдалану туралы мәліметтер бар, соның ішінде органикалық, ауылшаруашылық сүт және жеміс қалдықтары, сондай-ақ ағынды сулар, өсімдік майы, жануар майлары, тамақ дайындауға жұмсалған өсімдік майы және т.б. [64].

Белгілі ПГА өндіретін бактериялардың көпшілігі қоректік заттардың (мысалы, азот, фосфор, оттегі және магний) концентрациясы шектеулі және көміртектің артық мөлшері болған кезде жоғары дәрежеде синтезделеді. Дегенмен, бактериялардың кейбір топтары ПГА өндіру үшін қоректік заттарды шектеуді қажет етпейді [10]. *Alcaligenes lactus*, *azotobacter vinelandii* мутантты штамы және рекомбинантты *Escherichia coli* сияқты бактериялар дақылдану кезеңінде ПГА өндіруге және сақтауға қабілетті [65]. Бүгінгі күні бактериялардың шамамен 92 туысы анаэробты және аэробты жағдайда ПГА өндіре алады. Зерттеулер көрсеткендей, ПГА температураның төмендеуі [40], тотығу және осмостық қысым сияқты басқа да стресстік жағдайларға ұшыраған кезде өндірушілер үшін биологиялық артықшылық ретінде қарастырылады. Қазіргі таңда *Pseudomonas* түрлері олардың әмбебаптығы мен әртүрлі көміртегі көздерінен полимерлерді синтездеу қабілетіне байланысты ПГА өндірісі үшін кеңінен зерттелуде.

ПГБ-ты алғаш рет 1925 жылы ғалым Морис Лемуан бөліп алып сипаттады [66]. 100 пайыз биологиялық ыдырайтындығына, биоүйлесімділігіне және уытсыздығына байланысты ПГБ ПГА-ның ең маңызды және жиі қолданылатын түрлерінің біріне айналды [97; 98]. Қазіргі уақытта ПГБ сызықтық полимер тізбегімен сипатталатын алифатты полиэфирлер болып табылады. Сызықтық ПГБ полимер тізбегі ұзындығы төрт-бес көміртек атомынан жасалған қысқа тізбекті 3-гидроксibuтират мономерлерінен тұрады. Әрбір 3-гидроксibuтират β-гидроксиді май қышқылынан тұрады, оның ішінде карбоксил (-COOH) және спирттік (-OH) функционалды топтары бар. ПГБ полимер тізбегінің құрылымына хромофор болып табылатын карбонил тобы кіреді, ал бұл, өз кезегінде, ПГБ-ға оптикалық тұрақтылықты қамтамасыз етеді. Дегенмен, ПГБ оптикалық белсенді, ультракүлгін сәулесіне төзімді екенін ескеру маңызды. Сонымен қатар, ПГБ полимер тізбегінің құрылымы изотактикалық және R конфигурациясымен жартылай кристалды болып табылады.

ПГБ полиэтилентерефталат (ПЭТЕ) және полипропиленге (ПП) карағанда оттегіге жоғары тосқауыл қасиеттеріне ие. Сонымен қатар, оттегі атомдарына қатысты тосқауыл қасиеттері, ПГБ-дағы иіс пен майға қатысты тосқауыл қасиеттері полипропиленге карағанда жоғары. Мұндай қасиеттер ПГБ-ты тағамдық қаптамада қолдануға жарамды етеді. Полигидроксibuтираттың уытсыздығы оны ауыз суды денитрификациялау барысында қолдануға мүмкіндік береді [67].

ПГБ-тың бірнеше аспектілер бойынша жоғары белсенділігіне карамастан, оны өнеркісіпте қолдану маңызды кемшіліктермен шектеледі. Олардың бірі – ПГБ сокқыға төтеп беру қабілеті төмендігі. Олардың созылуы полипропилендегі 400% - бен салыстырғанда шамамен 6% құрайды. Тағы бір маңызды кемшілігі – ПГБ 177°C балқу температурасынан 10°C жоғары ыдырайды, сондықтан оны қайта өңдеу процестері қиынға соғады. Дегенмен, бұл мәселе әдетте гидроксил қышқылы мономерінің, мысалы, гидроксивалератты топтарын қосу арқылы шешіледі. Нәтижесінде полигидроксibuтират-бірлескен валерат сополимері пайда болады, ол ПГБ-қа карағанда беріктігі мен икемділігі жоғары болып келеді [68].

1.5 Өсімдіктердің қоректенуіндегі эндофитті микроорганизмдердің қызметі

Эндофитті микроорганизмдер өсімдіктер физиологиясында, соның ішінде қоректік заттардың өсімдікке сіңірілуінде маңызды рөл атқарады [69]. Өсуді ынталандыратын микроорганизмдер қоректік заттардың енуін жақсартуға ықпал етеді, олардың қолжетімділігін арттырады, азотты бекітуге, минералды заттардың еруіне, органикалық қосылыстардың минералдануына қатысады [70].

Фосфор өсімдіктердің қажетті және маңызды қоректік элементтерінің бірі болып табылады, ол екі негізгі формада болуы мүмкін – ерімейтін минералды қосылыстар түрінде және органикалық, соның ішінде инозитол фосфаты түрінде кездеседі. Топырақта оның еритін формадағы концентрациясы өте төмен. Микроорганизмдердің қатысуымен өсімдіктер үшін фосфордың қолжетімділігін арттырудың негізгі тетіктеріне мыналар жатады: 1) оларға кешен түзетін немесе минералды қосылыстардың, мысалы, органикалық қышқылдардың аниондарының бөлінуі; 2) жасушадан тыс ферменттердің синтезделуі (фитаза, биохимиялық фосфат минералдануы); 3) субстраттың деградациясы процесінде фосфаттың бөлінуі (биологиялық фосфаттың минералдануы) 4) органикалық қышқылдардың өндірісі [72]. Сонымен, *Pseudomonas fluorescens* CHA0 штамының әсерінен фосфаттардың еруі оның глюкон қышқылын өндіру қабілетіне байланысты болып табылады. Ашытқылардың күнбағыс жапырақтарынан оқшауланған эндофитті штамдары *Meyerozyma caribbica* JYC358, *Candida sp.* JYC363, *Torulaspora sp.* JYC369, *Cryptococcus laurentii* JYC370, *Pseudozym sp.* JYC372 және *Aureobasidium pullulans* JYC375 ерімейтін бейорганикалық қосылыстардан фосфаттарды еріту қабілетіне ие екендігі анықталған. Наурин және т. б.

олардың фосфогипсті кальций карбонатына айналуын немесе қауіпті H_2S газын тудыратын кальцит (CaCO_3) биотрансформациялау қабілетін зерттеді. *Lysinibacillus sphaericus* GUMP2 штаммы фосфогипсті ауылшаруашылық тыңайтқышына, CaCO_3 моншақ тәрізді және аммоний сульфатына тиімді түрлендіре алады [73].

Фитазаның белсенділігі және мұндай ферменттерді кодтайтын гендер әртүрлі өсімдіктердің тамырларынан оқшауланған *Bacillus spp.* бактериясының бірнеше өкілдерінде анықталды. Кейбір өсуді ынталандыратын микроорганизмдер фитазалардың белсенді өндірушілері болып табылады, олар қышқыл және сілтілі фосфатазаларды белсенді синтездейді, бұл эндофиттердің топырақтағы фосфорды еріту потенциалын көрсетеді. Фитаттардың гидролизінің арқасында ӨӨЫМ фосфордың ассимиляциясын жақсарту қабілетінен басқа, фитат кешендерінің осындай элементтермен түзілуін шектеу арқылы басқа маңызды элементтердің (Zn^{2+} , Fe^{2+} және Ca^{2+}) сіңуін күшейту мүмкіндігі де қарастырылған.

Бидайдың өнімділігінің жоғарылауы, дәндердегі мырыштың концентрациясының артуы бактериялардың осы элементті еріту қабілетіне негізделген. Мырыш мобилизациялау қабілеті әртүрлі бактериялық таксондарда кездеседі. *Pseudomonas* туысының бактериялары ерімейтін элементтердің қосылыстарын гидролиздеп, соя тұқымындағы мырыш мөлшерін арттырады [74].

Эндофитті микроорганизмдердің өкілдерінің арасында азотты бекітуге қабілетті түрлер де бар, олар *Bradyrhizobium*, *Pseudomonas*, *B. megaterium*, *B. cereus* және т.б. Эндофитті микроорганизмдердің жоғарыда аталған қасиеттері ауадан азотты сіңіру қабілетімен қатар, осы түрдегі бактерияларды күрделі миробиологиялық тыңайтқыштардың бір түрі ретінде қарастыруға мүмкіндік береді.

Көптеген зерттеулер эндофиттердің сидерофорлардың күшті өндірушілері екенін және осылайша өсімдіктердің өсуіне ықпал етіп, патогендердің антагонистері ретінде әрекет ете алатынын көрсетті [75]. Сидерофоралар темір хелаторлары болып табылады және өсімдіктердің өсуін ынталандыруда тікелей, өсімдікке темір беру арқылы немесе жанама түрде патогендерге темірге қол жеткізуді шектеу арқылы маңызды жұмыс атқарады. Сидерафора өндірісі *Aspergillus fumigatus* тұқымдасының эндофитті саңырауқұлақтарында, сондай-ақ *Pseudomonas syringae*, *Klebsiella pneumoniae* туысының эндофитті бактерияларында анықталды. Өсімдіктер эндофиттердің өсуін қатаң шектейтіндіктен, соңғылары өсімдік ішіндегі тіршілік ету ортасына біртіндеп бейімделу үшін көптеген әртүрлі механизмдерді қолдануға мәжбүр, сонымен бірге өсімдіктің өсуін тіршілік ету орны ретінде ынталандырады. Ол үшін эндофиттер өсімдіктердің қоршаған ортаға жақсы бейімделуіне көмектесетін әртүрлі қосылыстарды синтездейді. Айта кету керек, эндофитті микроорганизмдер коэволюциялық процестер арқылы өсімдіктермен тығыз қарым-қатынасты дамытады және олардың

физиологиясына жоғарыда сипатталған әдістермен ғана емес, осы күнге дейін анықталмаған тәсілдермен де әсер етуі мүмкін [76].

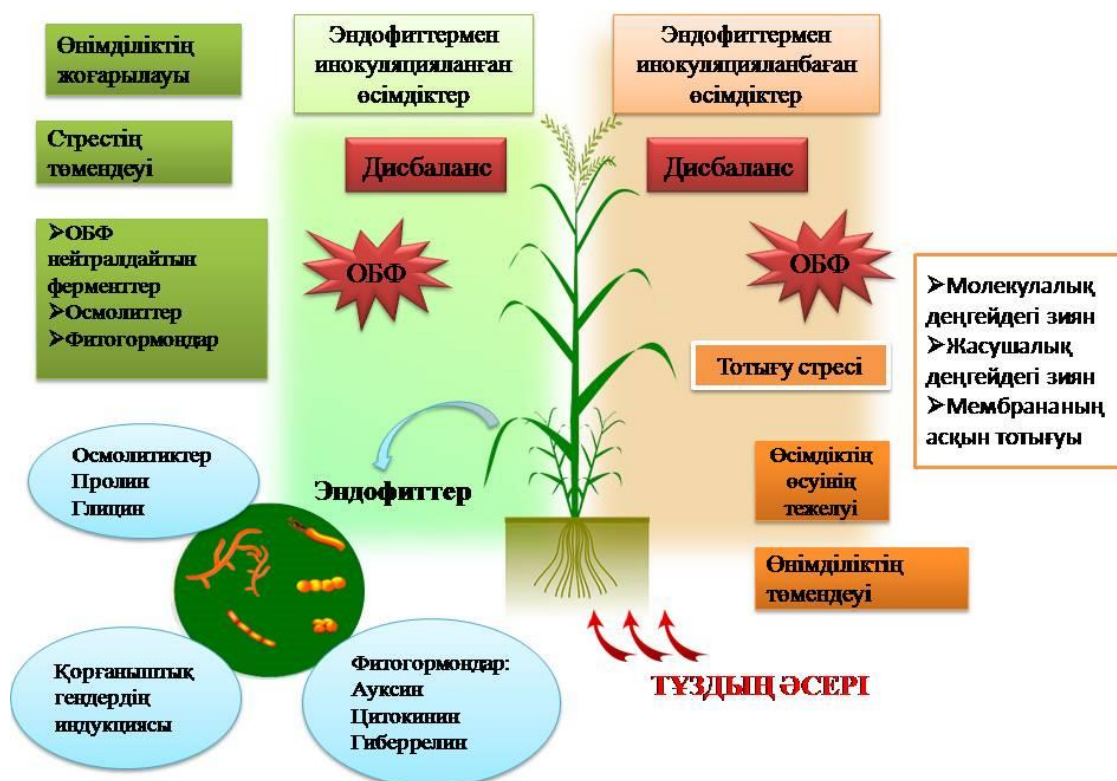
Эндофитті микроорганизмдердің жоғарыда аталған қасиеттері ауадан азотты сіңіру қабілетімен қатар, эндофитті микроорганизмдерді күрделі микробиологиялық тыңайтқыштардың бір түрі ретінде қарастыруға мүмкіндік береді.

1.6 Эндофитті микроорганизмдердің өсімдіктерді стресс факторларына бейімдеуге қатысуы

Өсімдіктердің иммундық жүйесі өсімдік-патогендік өзара әрекеттесуді сипаттауда жақсы анықталған, бірақ бактериялық комменсализммен бетпе-бет келгенде иммунитет моделі аз зерттелген. Эндофиттер өсімдік тінінің бетін толтыру және эндосфераға ену үшін өсімдіктердің бастапқы қорғанысын айналып өтуі керек. Өр түрлі тәсілдер эндофитті микроорганизмдердің фитопатогендерден айырмашылығы өсімдік қорғанысының шамадан тыс реакциясын болдырмау үшін микробпен байланысты молекулалық заңдылықтарын шығара алатынын көрсетті. Молекулалық байланыс оттегінің белсенді формаларын (ОБФ) өндіру және фосфорлану каскадтары сияқты әртүрлі реакцияларын тудыратыны белгілі, сонымен қатар молекулалық паттерндер қоздыратын иммунитет арқылы транскрипцияны қайта бағдарламалауды және қайталама метаболиттерді синтездеуді бастайды. Алайда, эндофиттер өсімдікпен байланысқа түскенде, бұл сигналдар басқаша болуы мүмкін. Өсімдіктерді қорғаудағы сигналдарды қабылдау мен берудің тағы бір маңызды факторы – ОБФ өндіру және реттеу. ОБФ транскрипция деңгейінде каталазалар (CAT), супероксид дисмутазалар (SOD) және глутатион-S-трансферазалар (GST) сияқты антиоксидантты ферменттерді өндіру арқылы кейбір бактериялар бақылай алады. Бактериялық стратегиялардың барлығы МАМП дивергенциясы арқылы өсімдіктердің реакциясынан жалтаруға, бірдей МАМП нұсқаларын дамытуға немесе оларды қандай да бір жолмен сіңіре алатын басқа қосылыстарды бөлу арқылы деградацияға негізделген [77].

Абиотикалық стресстер, ғалымдардың болжауынша, жаһандық климаттың өзгеруіне және адам әрекетіне байланысты жыл сайын артып отыр. Қоршаған ортаның қолайсыз жағдайлары (құрғақшылық, температуралық ауытқулар, тұздану, ауыр металдар және т.б.) өсімдіктердің өсуіне теріс әсер етеді және бүкіл әлемде дақылдардың шығынының негізгі себебі болып табылады. Абиотикалық стресстердің барлығы дерлік тотығу стресіне алып келеді және өсімдік жасушаларында супероксид (O_2^-), гидроксил радикалы, жалғыз оттегі (O_2) және сутегінің асқын тотығы (H_2O_2) [78] сияқты оттегінің белсенді формаларының түзілуін қамтиды. ОБФ түзілуі мембраналық липидтердің, ақуыздардың асқын тотығуына, ферменттер белсенділігінің тежелуіне, нуклеин қышқылдарының зақымдалуына және кейіннен жасуша өліміне алып келеді. Әдетте, өсімдіктерде антиоксидантты ферменттерді (мысалы, супероксид дисмутаза, аскорбат пероксидаза, монодегидроаскорбат

редуктаза, дегидроаскорбат редуктаза, глутатион редуктаза, каталаза, глутатион пероксидаза) активациялауы және ОБФ деңгейін тиімді төмендететін (залалсыздандыратын) бейэнзимді қосылыстардың (цистеин, төмендетілген глутатион, каротиноидтар, аскорбин қышқылы, α -токоферол және басқалар) жинақталуы арқылы олардың тотығу дәрежесін төмендету механизмдері анықталған. Алайда, егер ОБФ түзілуі өсімдіктің детоксикациялану күшінен асып кетсе, дегенеративті реакциялар пайда болады және типтік белгілер осмостық потенциалдың жоғалуы, солу және некроз сияқты ауру белгілері пайда болады. Демек, ОБФ синтезі мен инактивациясы арасындағы тепе-теңдік өсімдіктердің белсенді өсуі мен метаболизмін сақтау үшін өте маңызды және қоршаған ортадағы стресске төзімділікті индукциялайды (2 сурет).



Сурет 2 – Стрестік факторлардың әсері кезіндегі эндофиттер мен өсімдіктердің өзара байланысы.

Өсімдіктер эндофитті микроорганизмдердің белсенділігі арқылы стресске оңай бейімделеді. Тұтас ағзада бос радикалдар генерациясы, оттегінің бос формалары және антиоксиданттық қорғаныс динамикасы тепе-теңдікте болуы қажет. Тепе-теңдіктің бұзылуы биологиялық мембрана тұрақсыздығына, липопероксидазаның белсенді жүйесіне, гомеостазға, васкуляризация бұзылыстарына, тіннің оксигенация және трофикасына, бактериялық токсиннің цитопатологиялық әсеріне әкелуі мүмкін. Тепе-

теңдікті қалпына келтіретін антиоксидант жүйесінің ферменттері протоонкогенез белсенділігін тежейді, иммундық статусты қалыптастырады.

1.6.1 Өсімдіктердің тұз стресіне төзімділігін арттырудағы эндофитті микроорганизмдердің рөлі

Топырақтың тұздануы көптеген аймақтарда кеңінен таралуда және 2050 жылға қарай ғалымдар барлық егістік алқаптардың 50%-дан астамы тұздануы мүмкін деп болжайды [79]. Топырақтың минералдануы осмостық стресске, су тапшылығына, өсімдік саңылауларының жабылуына әкеледі. Сонымен қатар, топырақтың тұздануы K^+ иондары сияқты маңызды элементтердің жетіспеушілігін тудырады. Өсімдік ішіндегі Na^+ иондары концентрациясының жоғарылауы фотосинтез жылдамдығын және биомассаның жиналуын төмендетеді. *Pseudomonas*, *Bacillus*, *pantoea*, *Burkholderia*, *Rhizobium* және т.б. сияқты кейбір өсімдіктің өсуін ынталандыратын бактериялар ортаның тұздануы кезінде бұршақ, жүгері, бидай, жүзім, күріш өсімдіктерінің стресске төзімділігін арттыратыны көрсетілген.

B. subtilis бактериялары қызанақ өсімдіктерінің өсуіне ықпал етіп, $NaCl$ иондарының улы әсеріне қарсы тұруды жеңілдететіні анықталды. Чжан және басқа да авторлар тұздану кезінде *B. subtilis* N111 штамы бананның құрау процесін баяулатуы анықталған. *L. sphaericus* бактериялары ұшпа органикалық қосылыстардың күрделі қоспасын бөліп алып, арабидопсистегі абиотикалық стресстің өсуі мен төзімділігін арттырды, оның құрамында 25-тен астам әртүрлі ұшпа заттар табылды, олар жасуша қабырғасының өзгеруіне, бастапқы және қайталама метаболизмге, стресс реакцияларына, гормоналды реттеуге байланысты шамамен 600 арабидопсис генінің дифференциалды экспрессиясын тудырды. Бацилланың дәл осы штамы гомеостазды реттеді, фотосинтез процесін күшейтті, тұзға төзімділікті арттырды, сонымен қатар АТНКТ1 генінің экспрессиясын реттеу арқылы Na^+ иондарының жалпы мөлшерін азайтты. Тұзды стресс жағдайында *Pseudomonas putida* FRT13 бактериялары сабақ пен тамырдың ұзындығын, беде массасын арттырды. Хлорофиллдің жоғарылауы байқалды, МДА мөлшері екі есе төмендеді, бұл бактериялардың тотығу стресіне және жасуша мембранасының тұтастығына әсерін көрсетті. Сонымен қатар, бактериялар әр түрлі тұз концентрациясында инокуляцияланған өсімдіктердің өсінділеріндегі Na^+ мөлшерін едәуір төмендеткені белгілі. Этилен деңгейінің төмендеуі АЦК-деаминаза ферментінің синтезіне негізделеді [80].

Enterobacter ludwigii KRT16 бактерияларымен арпа өсімдіктерін инокуляциялау $NaCl$ концентрациясының жоғарылауы жағдайында өсімдік биомассасының, хорофилл мен пролиннің көбеюіне ықпал етті. Инокуляцияланған өсімдіктердегі фенолдық қосылыстардың жалпы мөлшері егілмеген өсімдіктерге қарағанда аз болды; пероксидаза белсенділігінің біршама өзгергені анықталды. Тұздың жоғары концентрациясында фенолдардың 55% - ға азаюы, ал пероксидаза белсенділігінің бақылау

нұсқасындағы өсімдіктермен салыстырғанда 80% - ға дейін жоғарылауы байқалды.

1.7 Эндофитті микроорганизмдердің антагонистік белсенділігі

Эндофитті микроорганизм штамдары әртүрлі микробқа қарсы заттардың көп мөлшерін синтездей отырып, өсімдіктерді фитопатогендерден, сондай-ақ зиянды жәндіктерден қорғау үшін белсенді биологиялық бақылау агенттері ретінде қолданылады және химиялық пестицидтерге перспективті балама болып табылады [81]. Өсімдіктердің фитопатогенді саңырауқұлақтарға қарсы қорғаныс механизмдеріне целлюлозолитикалық ферменттер қатысуы мүмкін. Осындай механизмдердің бірі целлюлоза ыдыраған кезде пайда болатын көмірсулардың олигомерлі молекулаларымен қорғаныс реакцияларын қоздыруды қамтуы мүмкін, екіншісі-*Pythium* және *Phytophthora* өкілдері сияқты патогендердің жасуша қабырғаларының литикалық бұзылуы. Сондай-ақ, көмірсулар полимері болып табылатын хитин – саңырауқұлақтар мен жәндіктердің жасуша қабырғаларының кең таралған құрамдас бөлігі екені белгілі. Оның гидролизі үшін β -1,4-N-гликозидтік байланыстарды хитинолитикалық ферменттер – хитиназалармен кесу қажет. *Lysinibacillus sphearicus* PRE16 штамы *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* және *Bacillus subtilis* микроорганизмдерінің өсуін тежейтіні хабарланды [82]. *Lysinibacillus* өкілі шіріген жеміс-көкөніс қалдықтарынан бөлінгеннен кейін тағамдық патогендерге шамамен 51 кДа ақуызды синтездеп, тежегіштік әсер ететіні көрсетілген. Бактерияға қарсы әсерден басқа, *Lysinibacillus*-тың тағы екі өкілі *Aspergillus spp* және *Fusarium* саңырауқұлағына қарсы әсер етеді деп хабарлайды [83]. *Pseudomonas* және *Stenotrophomonas* тұқымдасының көптеген түрлерімен синтезделген хитиназалар саңырауқұлақ фитопатогендерінің өсуі мен дамуын тежеп, жәндіктердің әртүрлі мүшелерінің жасушаларына теріс әсер ете отырып, антибиоздың тағы да бір механизмі ретінде қарастырылуы мүмкін.

Өсімдік ауруларының қоздырғыштарын биобақылаудың ең тиімді механизмі бактериялардың антибиотиктерді синтездеуі болып табылады. *Pseudomonas* өкілдерінің геномының шамамен 4-5% - ы антибиотиктердің синтезіне жауап береді, олардың саны 160-тан асады [84]. Көптеген эндофитті микроорганизмдер рибосомалық сипаттағы (субтилиин, субтилозин, тасА, субланцин, эрицин, мерсацидин) және рибосомалық емес (хлоротетайн, микобациклин, ризатацин, бациллиан, диффицидин) антагонистік заттардың кең спектрін синтездейді. Псевдомонадалар 2,4-диацетилфлороглюоцин шығаратын мембраналардың бұзылуына және *Pythium spp* оомицетінің зооспораларының өнуін тежеуге әкеледі [85;86].

B. subtilis штамдары шығаратын субтилиин әртүрлі грам-позитивті бактериялардың, соның ішінде адам үшін ықтимал патогенді бактериялардың өсуін тежеуде тиімді. *Bacillus* антибиотиктерінің көпшілігі грам-позитивті және грам-теріс бактерияларға, сондай-ақ фитопатогенді *Alternaria solani*, *Aspergillus flavus*, *Botryosphaeria ribis*, *Colletotrichum gloeosporioides* F.

oxysporum, *Helminthosporium maydis*, *Phomopsis gossypii* саңырауқұлақтарына қарсы белсенді. *Sclerotinia sclerotiorum* (ақ күнбағыс шірігінің қоздырғышы), *Alternaria alternate*, *Drechlera oryzae* және *Fusarium roseum* топырақ саңырауқұлақтары, сондай-ақ *Rissipia graminis* дәнді тот қоздырғышы өсіп келе жатқан гифтердің ұштарында ісінудің пайда болуын көрсетеді [87]. Антибиотиктердің өндірісі көптеген бактериялардың эндофитті штамдарына тән болғандықтан, бұл метаболиттердің өсімдіктердің патогендерге төзімділігін көрсетудегі тікелей рөлі айқын. Бактериялық антибиотиктердің антипатогендік әсерінің маңызды құрамдас бөлігі олардың өсімдіктің қорғаныс жүйелерін реттеуге қатысуы болып табылады. Мысалы, *P. Fluorescens* SN0 өндіретін 2,4-диацетилфлороглюцин арабидопсис өсімдіктерінде *Hyaloperonospora arabidopsidis* оомицетіне, қызанақта - *Meloidogyne javanica* өт нематодына антибиотикалық әсер көрсетті [88].

1.8 Эндофиттер мен олардың метаболиттерін ауыл шаруашылығында қолдану мүмкіндіктері

Қазіргі уақытта дамып келе жатқан биотехнологиялық өнеркәсіп дәстүрлі түрде монодақылдарды бақылауға, метаболизм жолдары туралы заманауи білімге және олардың қатаң биоқауіпсіздік нормаларына сәйкес келуіне байланысты пайдалануға негізделген. Алайда, монодақылдарды қолданудың негізгі проблемасы олардың ластану қаупінің жоғарылығына байланысты өндіріс жұмыстарының барысында экономикалық шығындар мен шикізаттың жоғалуына алып келеді [89]. Бұндай мәселелерді шешудің жолы-ластану қаупін төмендетуге бағытталған симбиотикалық бірлескен төзімді және қоршаған ортаның өзгеруіне оңай бейімделгіш болып келетін дақылдарды пайдалану.

Бірлескен микроорганизм дақылдары немесе консорциум мүшелері бір-бірімен әрекеттесе алатын саналуан түрлерден немесе бір түрден, бірақ әртүрлі штамдардан түзілген микроорганизмдердің табиғи жиынтығы. Бірлескен дақылдау жүйелері стерильді жағдайды сақтамай-ақ тамақ өнімдерін өндіру, ағынды суларды тазарту, улы заттарды жою, қоршаған ортаны қалпына келтіру сияқты көптеген технологиялық қосымшаларға ие.

Дегенмен, нәтижелердің сәйкессіздігіне және микробтық консорциумдардың уақыт өте келе тұрақты микробиомамен ығысуына байланысты өсімдіктердің өсуін ынталандыратын микробтарды егістіктерде практикалық қолдану мәселесі ашық күйінде қалып отыр.

Жоғарыда аталған шектеулерді жеңілдету мақсатында микроорганизмдердің шағын консорциумы ретінде синтетикалық микробтық ассоциациятар қолданылуда. Бұл шешім өсімдік микробиомасының кейбір ерекше функцияларын сақтаудың перспективті әдісі болып табылады [90]. Бұл стратегия зертханада өсімдіктердің өсуін ынталандыру, өсімдіктерді патогендік инфекциядан қорғау немесе өсімдіктерді қоректендіру қабілетіне сәйкес белгілі бір микроорганизмдерді таңдауға мүмкіндік береді.

Зерттеушілер микробтардың әртүрлі белгілерін синтетикалық консорциумдарға біріктіре отырып, өсімдіктің өсуін ынталандыру және ауруға төзімділік сияқты өсімдік сипаттамаларын жақсарту жұмыстарын жүзеге асыруда. Мысалы, қызанақтың өсуіне ықпал ететін немесе қызанақтың фузариоз ауруының белгілерін басатын бактериялардың әртүрлі тұқымдары бар екі ассоциация құрылған. Сондай-ақ, *Flavobacterium* және *Chitinophaga* консорциумы қант қызылшасын *Rhizoctonia solani* саңырауқұлақтарының инфекциясынан тұрақты қорғауды қамтамасыз етеді. Басқа авторлар [91] төрт атоксигенді штамдардан тұратын ассоциация жержаңғақ пен жүгерінің *Aspergillus flavus* саңырауқұлақтарынан синтезделетін афлатоксиндермен ластануын төмендетті. *Fusarium* және *Curvularia* тұқымдас саңырауқұлақтарды ассоциацияда пайдалану жеке штамдарға қарағанда өсімдіктерге көбірек оңтайлы әсер ететіні көрсетілді. Сол сияқты, авторлар төрт түрден тұратын бактериялық консорциум (*Stenotrophomonas rhizophila*, *Xanthomonas retroflexus*, *Microbacterium oxydans* және *Paenibacillus amylolyticus*) арабидопсис тұқымдас өсімдіктердің құрғақшылыққа төзімділігін тудырғанын анықтаған.

Бірлескен өсіру жүйелерін пайдалану кейбір түрлердің биологиялық мінез-құлқын және олардың экожүйедегі рөлін бақылаудан басталған. Дәстүрлі тағамды ашыту процестерін микроорганизмдердің алғашқы симбиотикалық бірлестіктері жүзеге асырды. Бұл микробтық бірлестіктер ірімшік, сыра, сүт өнімдері, шұжықтар және кейбір тұздықтар сияқты тағамдардың түсін, хош иісін, дәмін және құрылымын анықтайтын биомолекулаларды өндіруде маңызды рөл атқарады [92].

Микробтық консорциумдар строматолиттер, микробтық төсеніштер және биофильмдер сияқты популяция деңгейіндегі синергетикалық құрылымдарды қалыптастыру арқылы әртүрлі жағдайларда тіршілік ете алады [93]. Микроорганизмдердің жеке штамдары әртүрлі әсер ету механизмдеріне ие болса да, бірнеше микроорганизмдерді консорциумдарға біріктіру өсімдік патогендерінің кең ауқымына қатысты олардың белсенділік спектрін кеңейтуі мүмкін. Сонымен қатар, консорциум құраған микроорганизмдер өсімдіктердің өсуін ынталандыруға және басқа да микроорганизмдердің белсенділігін арттыруға мүмкіндік туғызады.

Табиғи консорциумның мысалы – *Ferroplasma acidiphilum* және *Leptospirillum ferriphilum* симбиозды қарым-қатынаста, қышқыл шахта дренаждарында (табиғи ортасында) бірге тіршілік етеді. Микроорганизмдер арасындағы бұндай симбиотикалық ассоциация *Ferroplasma acidiphilum* өсуі үшін *Leptospirillum ferriphilum* синтездейтін органикалық заттарды пайдаланатынын, қоректік ортада органикалық қосылыстардың төмен деңгейін ұстап тұратынын және олардың *Leptospirillum ferriphilum*-ға улы әсерін жоятындығын көрсетті.

Дақылдаудың табиғи бірлескен жүйелерін зерттеу жасанды микробтық консорциумдарды жобалауға және жаңа биомолекулаларды дамытуға зор мүмкіндіктер ашуда. Осылайша, жасуша-жасуша байланыс механизміне

қатысатын биосинтез жолдарын түсіну "үнсіз" метаболикалық жолдардың активациялануы туралы білімді тереңдете түседі, әсіресе жаңа фармацевтикалық препараттарды жасауда перспективті бағыт болып саналады [94]. Сонымен қатар, әртүрлі штамдарды қолдану арқылы арзан субстраттарды пайдалануға мүмкіндік береді, соңғы өнімдердің сапасын жақсартуға, шығындарды азайтуға және қоршаған ортаға келетін кері әсерлерді төмендетуге микробтық консорциумдарды пайдалана отырып, биоөндеу әдістері қолданылады [95;96].

Микробтық консорциумдарды дақылдарға инокуляциялау ретінде пайдалану ауыл шаруашылығында перспективті тәжірибе болып табылады. Бұндай әдістер мультисстресті препараттың құрамындағы екі немесе одан да көп пайдалы микроорганизмдердің қосындысы дақылдарға аддитивті және синергетикалық әсер етуіне негізделген (2-кесте).

Кесте 2 – Микроорганизмдердің консорциумдарына негізделген микробтық препараттар.

Коммерциялық өнімдер	Микроорганизм штамдары	Мақсатты өсімдік дақылдары	Препараттың функциясы
FZB24 flRhizovital 42® (ABiTEP GmbH, Германия)	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> , <i>B. amyloliquefaciens sp. plantarum</i>	Сәндік, далалық дақылдар, көкөністер	Фосформен қамтамасыз ету
Inomix® Biostimulant, Inomix® phosphate, and Inomix® Biofertilisant (IAB, Испания)	<i>Azotobacter vinelandii</i> , <i>Azospirillum lipoferum</i> , <i>P. fluorescens</i> , <i>B. circulans</i> , <i>B. megaterium</i> , <i>B. subtilis</i>	Дәнді дақылдар	Өсімдіктердің өсуін ынталандыру тамырлармен сабақ массасын арттыру, тамыр жүйесін нығайту
BactoFilB10® (AGRO.bio Hungary Kft., Венгрия)	<i>Azotobacter vinelandii</i> , <i>Azospirillum lipoferum</i> , <i>P. fluorescens</i> , <i>B. circulans</i> , <i>B. megaterium</i> , <i>B. subtilis</i>	Картоп, күнбағыс, рапс	Топырақтың мелиорациясы; өсімдіктердің өсуін ынталандыратын гормондар шығарады - ауксиндер, гиббереллиндер
Bio-Gold (BioPower, Sri Lanka)	<i>Pseudomonas fluorescens</i> , <i>Azotobacter chroococcum</i> .	Ауыл шаруашылығы және бау-бақша дақылдары	Өсуді ынталандыру азоты бекіту азоты иммобилизациялау, құрғақшылыққа төзімділік

Cedomon® (Lantmannen BioAgri AB, Sweden)	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	Дәнді дақылдар	Патогендерге қарсы антагонистік қасиет
BactoFil A10® (AGRO.bio Hungary Kft., Hungary)	<i>Azotobacter vinelandii</i> , <i>Azospirillum brasilense</i> , <i>P.fluorescens</i> , <i>B.polymyxa</i> , <i>B.megaterium</i>	Дәнді дақылдар(бидай)	Қоректік заттардың жоғарылауы, өсуді ынталандыру
Bioscrop BT16 (Motivos Campestres, Portugal)	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Жапырақты жеміс ағаштары, пияз, мақта, цитрус, қырыққабат, бұрыш, банан және қызанақ	Зиянкестерден (қоңыздардан) қорғау

Өртүрлі дақылдардың компазициясымен инокуляциялау монодақылмен салыстырғанда біршама артықшылықтарға ие. Инокуляциялау мақсатында қолданылатын консорциумдарда жиі қолданылатын пайдалы микроорганизмдер ретінде *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Rhizobium*, *Acinetobacter*, *Azospirillum* және *Burkholderia* туыс бактериялары, сондай-ақ *Glomus* және *Trichoderma* микромицет өкілдері қамтиды [97]. Мұндай консорциумдардың синергетикалық әсерлері бір-бірін толықтыратын әрекет ету әдістеріне және экологиялық талаптарға байланысты болуы мүмкін, бұл жеке организмдерге қарағанда сенімдірек функционалдық нәтижелерге әкеледі. *Bacillus* штамдары бар консорциумдардағы *Pseudomonas* туысының бірнеше штамдары қарасораның өсуін бір штаммен инокуляциялау нұсқаларымен салыстырғанда едәуір көп ынталандырды [98].

Құрамында тірі микроорганизмдер бар биотыңайтқыштар өсімдіктердің өсуін жақсартуда және өнімділікті арттыруда маңызды рөл атқарады. Биотыңайтқыштарды қолдану топырақтың құнарлылығын сақтауға, оның құрылымын жақсартуға және өнімділікті арттыруға көмектеседі. Жүргізілген зерттеулерге сәйкес Шутц және басқалар [99], биотыңайтқыштармен инокуляциялау бақылаумен салыстырғанда дақылдардың өнімділігін орта есеппен 16,2% - ға арттырды. Дегенмен, олардың жарамдылық мерзімі қысқа, жоғары температураға сезімталдық және топырақ жағдайларына тәуелділік сияқты шектеулері бар.

Биотыңайтқыштарды жасау кезінде жиі қолданылатын микробтық штамдар өртүрлі тасымалдаушыларға бекітіледі. Биологиялық өнімге әдетте сақтау және тасымалдау кезінде микроорганизмдердің тұрақтануы мен қорғалуын қамтамасыз ететін қоспалары бар қолайлы тасымалдаушыға орналастырылған белсенді ингредиент кіреді.

Иммобилизация биотехнологиялық матрицаға жасушаларды бекітудің әртүрлі әдістерін қамтитын тәсіл. Флокуляция, беттердегі адсорбция, тасымалдаушылармен ковалентті байланысу, жасушалардың бір — біріне жабысуы және полимерлі гельге инкапсуляциялау — бұл кең таралған әдістер болып табылады [100]. Инкапсуляциялау процесінде микробтық жасушалар қорғаныш қабықпен қоршалған немесе қолайлы полимерлі материалдарға қосылып, қоректік заттарға, газдарға және метаболиттерге өткізгіш жол түзеді. Инкапсуляция қоршаған ортаның қолайсыз жағдайларынан қорғаудың арқасында өсімдіктерге пайдалы микроорганизмдердің өміршеңдігін едәуір арттыруға ықпал етеді. Сонымен қатар, инкапсуляцияланған қосылыстарды бөлме температурасында немесе 4°C температурада салыстырмалы түрде ұзақ уақыт сақтауға болады. Басқа да зерттеулерде натрий бентониті және альгинатпен инкапсуляцияланған *Raoultella planticola* RS-2 шамамен 88,9%-ға 6 ай бойы тіршілігін сақтап тұруға көмектескен.

Инкапсуляциялау процесінде шығу тегі табиғи болып келетін полимерлер (мысалы, полисахаридтер және ақуыз материалдары) немесе синтетикалық (мысалы, полиакриламид және полиуретан) қолданылады. Химиялық құрылымына байланысты полимерлер гомополимерлер, гетерополимерлер немесе сополимерлер болуы мүмкін. Биоинкапсуляция үшін жиі қолданылатын полимерлерге агар, крахмал, хитозан, альгинат, геллан сағызы, желатин, каррагенан, ксантан сағызы, сүт ақуыздары (казеин, сарысу ақуызы), полиакриламид және поливинил спирті жатады [101].

Жақында өсімдіктерге пайдалы микроорганизмдерге негізделген инокуляциялау құралдарын жасаудың жаңа перспективтік әдістері анықталды. Осындай әдістердің бірі микробтық биофильмдерді потенциалды тасымалдауыш ретінде пайдалануды қамтиды [96].

120 жылдан астам уақыт бұрын *Rhizobium* sp. көмегімен өсімдіктерді инокуляциялау үшін "Нитрагин" енгізілген биотыңайтқыштарды коммерциялық қолдану жұмыстары бастау алған. Бір ғасырдан астам уақыт бойы ризобий штамдарына негізделген биоинокулянттар аграрлық нарықта болды. Опен және басқалардың [101] мәліметтері бойынша, ризобиалды биоинокулянттар соңғы жылдары ең көп сұранысқа ие микробтық инокулянттарға айналды, бұл әлемдік сұраныстың шамамен 79% құрайды. Фосфаттарды ерітуге қабілетті биотыңайтқыштар әлемдік нарықтың 15% - алады, ал микоризалық саңырауқұлақтар сияқты басқа инокулянттар 7% құрайды.

Өсімдіктерді қоршаған ортаның қолайсыз факторларынан қорғау мақсатында, олардың өсуін ынталандыру мақсатында биологиялық өнімдерді пайдалану биотехнология мен қоршаған ортаны қорғаудағы басым және перспективті бағыттардың бірі болып табылады. Мұндай технологиялар құрамында суспензияланған немесе тасымалдаушыда адсорбцияланған микроорганизмдердің тірі жасушалары бар микробиологиялық препараттарды қолдануды көздейді. Биопрепараттардың оң әсері бірқатар факторлардың арқасында қол жетімділікке ие болады: азотты фиксациялау, өндірілетін

метаболиттермен өсімдіктердің өсуін ынталандыру, минералды қоректік заттар мен ылғалдың сіңуін жақсарту, өсімдіктердің гормоналды күйін реттеу, фитопатогендік микрофлораны және басқа механизмдерді биобақылау.

Тұқым себуге дейінгі кезеңде биологиялық өнімдерді қолдану өну энергиясын және өнгіштігін едәуір арттырады, сонымен қатар өсімдіктерді тамыр шіріктерінен қорғайды. Өсімдік дамуының вегетативті кезеңінде препараттарды қолдану минералды тамактанудың қол жетімді түрлерінің шығуына ықпал етеді, дамудың бастапқы кезеңдерінде патогендік микроорганизмдердің дамуын тежейді, өсімдіктердің гормоналды фонын реттейді, өмірлік маңызды функцияларды және қорғаныс-бейімделу реакцияларын реттеуге ықпал етеді. Алайда, препараттардың оң әсер ету дәрежесі өсімдіктердің түрлері мен сорттық ерекшеліктеріне, микроорганизмдердің түрлеріне, топырақ-климаттық жағдайларға және жүргізілетін агротехникалық шараларға байланысты айтарлықтай өзгереді [102; 103].

1.9 Қазақстанда және шетелде қолданылатын микроорганизмдер және олардың ББЗ негізіндегі биопрепараттар

Қазіргі уақытта Қазақстанда отандық, ресейлік және қытайлық өндірістің 19 биопрепараты тіркелген және қолдануға рұқсат етілген. Барлық препараттар бактериялық және саңырауқұлақ этиологиясының ауруларымен, сондай-ақ жәндіктер зиянкестерімен күресуге арналған. Бұл препараттардың басым көпшілігінде белсенді ингредиент ретінде бактериялардың әртүрлі штаммдарының споралары мен метаболиттері бар *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus subtilis* және *Pseudomonas fluorescens* микроорганизмдері пайдаланылған. Үш биологиялық препарат мицелий саңырауқұлақтарының штамдары негізінде жасалған: Биобовин, Миколар-М және Миколар-В [104].

Жоғарыда сипатталған тіркелген биопрепараттардан басқа, қазақстандық ғалымдар топырақтың құнарлылығын және ауыл шаруашылығы дақылдарының өнімділігін арттыратын биопрепараттар жасау саласында ғылыми-қолданбалы зерттеулерді белсенді түрде жүргізуде.

Заядан Б. К. бастаған қызметкерлер тобы ZOB-1 (*Anabaena variabilis*–*Chlorella vulgaris*–*Azotobacter* sp.) және ZOB-2 (*Nostoc caldicola*–*Chlorella Vulgaris*–*Azotobacter* sp.) цианобактерияларға, микробалдырларға және азотобактерияларға негізделген микробтық консорциум құрды. Бұл консорциумдар агробиотехнологияда дақылдарға арналған биостимуляторлар мен биотыңайтқыштар ретінде қолдануға ұсынылады [104].

Оңтүстік Қазақстан облысының климаттық жағдайында тиімді "Олжа" препараты жасалды. Препарат құрамында мицелий саңырауқұлақтарының, бактериялардың және актиномицеттердің термофильді штамдарының консорциумы бар: *Aspergillus niger* MT-65, *Penicillium chrysogenum* MT-65, *Leuconostoc citrovorum* MT-55, *Lactobacillus bulgaricus* MT-65, *Lactobacillus acidophilus* MT-65, *azotobacterchroococcum* MT-55, *azotobacter vinelandii* MT-55, *Azotobacter agilis* MT-55, *Streptococcus lactis* MT-60, *Actinomyces*

antocyaneus MT-65. "Олжа" биологиялық өнімі инокуляциялау алдында тұқымдарды өңдеуге, өсімдіктерді бүрку арқылы өңдеуге, тамақ және өсімдік қалдықтарын өңдеуге, содан кейін компостты топыраққа биологиялық тыңайтқыш ретінде енгізуге, өсімдіктердің құнарлылығын жақсартуға және өнімділігін арттыруға арналған. Препараттың тиімділігі бидай өсімдіктерінде көрсетілген [105].

Бұршақ дақылдарының өнімділігін арттыру және топырақты азотпен байыту үшін ҚР БҒМ Микробиология және вирусология институтында А. К. Садановтың жетекшілігімен біршама қызметкерлер тобы "Ризовит АКС" биопрепаратын әзірледі. "Ризовит АКС" биологиялық өнімі түйінді бактериялардың жергілікті штамдары негізінде алынған, ұнтақ және сұйық түрінде жасалған. Бұл биологиялық өнім жоңышқа мен тәтті беде өнімділігін екі есе арттырады, ал топырақты өсімдіктерге оңай қол жетімді биологиялық азотпен байытады. Биологиялық өнімді қолдану кейінгі дақылдардың өнімін орта есеппен 30-40% - ға арттыруға мүмкіндік береді. 2008-2013 жылдары препарат "Ризовит-АКС" Алматы, Қарағанды, Солтүстік Қазақстан және Шығыс Қазақстан облыстарының шаруа қожалықтарында 60 мың гектардан астам алқапта қолданылды [106].

Халықаралық тәжірибеде бактериялар мен олардың метаболиттеріне негізделген препараттар кеңінен қолданылды. Препараттардың құрамында *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus subtilis* және *Pseudomonas fluorescens* тұқымдас саңырауқұлақтарды қолдану туралы көптеген деректер бар [107].

Бактериялық препараттардың әсерінің расталған тиімділігіне және ауқымды қолданылуына қарамастан, Қазақстанда бактерия штамдары негізінде биологиялық препараттарды жасау және пайдалану жұмыстары шектеулі. Аборигендік штамдарды қосатын препараттарды жасау шығу тегі өзге жерлік штамдарымен салыстырғанда анағұрлым қолайлы болып табылады, өйткені жергілікті изоляттар Қазақстанның топырақ-климаттық жағдайларына бейімделген, бұл олардың өмір сүруін және бәсекеге қабілеттілігін және нәтижесінде тиімділігін айтарлықтай арттырады. Мұның бәрі ұсынылған жұмыстың өзектілігін, жаңалығын мен болашағын негіздейді.

Өсімдіктердің бірнеше түрлерінен оқшауланған эндофитті бактерияларды зерттеу өсімдіктің және оның физиологиясының микроорганизмдермен тығыз байланысын көрсетеді, ал бұл, өз кезегінде, эндофиттер мен өсімдіктердің коэволюциясының белгісі болуы мүмкін. Эндофитті бактериялар өз орнын белсенді түрде алып, өсімдіктердің өсуіне, фитопатогендерге және абиотикалық стресс факторларына төзімділікке ықпал ететін әртүрлі заттарды синтездейді. Эндофиттердің өздері өсімдіктер ішіндегі тіршілік ету ортасына бейімделу үшін көптеген механизмдерді қолданатыны сөзсіз, осылайша өсімдік ағзасының физиологиялық және биохимиялық көрсеткіштеріне және өсімдіктер ішінде, сондай-ақ ризосферада өмір сүретін басқа да микроорганизмдерге әсер етеді. Осы салада жүргізілген көптеген зерттеулер, өкінішке орай, эндофиттер мен өсімдіктер арасындағы қарым-қатынастың барлық механизмдерін қамтымайды. Жеке штамдар мен өсімдік

түрлерінің өзара әрекеттесуінің бар ерекшелігі туралы мәселе толық зерттелмеген. Дәрілік өсімдіктермен ассоциацияланған эндофиттер өсімдіктің тіршілік етуіне және оның белсенді метаболиттерінің өндірісінің артуына ықпал етеді. Эндофиттердің қатысуымен өсімдіктердің әртүрлі абиотикалық стресстерге төзімділігін арттыруға байланысты зерттеу бағыты ерекше қызығушылық тудырады. Өсімдік пен эндофитті бактериялар арасындағы қарым-қатынас механизмдерін жан-жақты ашу үшін зерттеулерге кешенді көзқарас қажет, өйткені мұндай симбиоздың пайда болуын терең түсіну биотехнология, өсімдік шаруашылығы және қоршаған ортаны қорғаудың жаңа перспективтерін ашады [108].

2 ЗЕРТТЕУ НЫСАНДАРЫ МЕН ӘДІСТЕРІ

2.1 Зерттеу нысандары

Зерттеу нысаны ретінде 11 дәрілік өсімдіктен (бұрышты жалбыз (*Méntha piperíta*), дәрілік шалфей (*Sālvia officinālis*), кәдімгі цикорий (*Cichórium antybus*), күлгін эхинацея (*Echinácea purpúrea*), қос үйлі қалақай (*Urtíca dióica*), қарапайым орегано (*Oríganum vulgáre*), дәрілік жусан (*Artemisia abrotanum*), батпақты ирис (*Iris pseudacorus*), жалаңаш мия (*Glycyrrhiza glabra*), дәрілік мелисса (*Melissa officinalis*), себілген сарымсақ (*Állium satívum*)) окшауланған эндофитті микроорганизмдер алынды. Өсімдіктерді жинау орны: Алматы облысы, Алатау бөктері (43°10'29" с. е. 76°46'03" ш. б.). Дәрілік өсімдіктердің жалпы сипаттамасы және классификациясы 3 кестеде келтірілген.

Кесте 3 – Дәрілік өсімдіктердің жалпы сипаттамасы

Дәрілік өсімдіктер	Өсімдіктердің тұқымдасы	Өсімдіктерден синтезделетін метаболиттер	Метаболиттердің қасиеттері
бұрышты жалбыз (<i>Méntha piperíta</i>)	Ерінгүлділер (<i>Lamiaceae</i>)	терпеноидтар, каротин, рутин, аскорбин қышқылы, танин	антиканцерогенді, иммунмодуляциялық және гипотензивті әсерлер
дәрілік шалфей (<i>Sālvia officinālis</i>)	Ерінгүлділер (<i>Lamiaceae</i>)	полифинолдар, терпеноидтар, сальвианол қышқылы	пребиотикалық және микробқа қарсы әсерлер
кәдімгі цикорий (<i>Cichórium antybus</i>)	Астралылар (<i>Asteraceae</i>)	инулин, танин, тиамин, рибофлавин, аскорбин қышқылы	иммуномодуляциялық, вирусқа қарсы және қабынуға қарсы әсерлер
күлгін эхинацея (<i>Echinácea purpúrea</i>)	Астралылар (<i>Asteraceae</i>)	эфир майлары, танин, флаваноидтар, полисахаридтер	сергітетін, антисептикалық, қақырық түсіретін, бактерицидтік әсерлер
қос үйлі қалақай (<i>Urtíca dióica</i>)	Қалақайлылар (<i>Urticaceae</i>)	темір, гистамин, аскорбин қышқылы, хлорофилл, ацелтилкон	диафоретикалық, қабынуға қарсы және тыныштандыратын әсерлер
қарапайым орегано (<i>Oríganum vulgáre</i>)	Ерінгүлділер (<i>Lamiaceae</i>)	фенолдар, флаваноидтар, танин, эфир майлары	тыныштандыратын және антисептикалық әсерлер
дәрілік жусан (<i>Artemisia abrotanum</i>)	Астралылар (<i>Asteraceae</i>)	кумарин аскорбин қышқылы сапониндер, таниндер, алкалоидтар	вирусқа және қабынуға қарсы әсерлер, бактерицидтік әсерлер
батпақты ирис (<i>Iris pseudacorus</i>)	Ирис (<i>Iridaceae</i>)	флаваноидтар, терпеноидтар, танин	қабынуға, жөтелге қарсы әсерлер, бактерицидтік әсерлер

жалаңаш мия (<i>Glycyrrhiza glabra</i>)	Бұршақ гүлділер (<i>Fabaceae</i>)	флаваноидтар, сапониндер, терпеноидтар	қабынуға қарсы және антивирустық әсерлер
дәрілік мелисса (<i>Melissa officinalis</i>)	Ерінгүлділер (<i>Lamiaceae</i>)	эфир майлары, цитраль, гераниоль, фенилпропоноидтар, фенолдар	антисептикалық, микробқа қарсы әсерлер
себілген сарымсақ (<i>Allium sativum</i>)	Амариллистер (<i>Amaryllidaceae</i>)	аллицин, аскорбин қышқылы, сапониндер, танин	қабынуға қарсы, антигельминтикалық әсерлер

2.2 Зерттеу әдістері

2.2.1 Эндифиттердің оқшаулануы және эндифиттік ассоциациялардың сипаттамасы

Өсімдіктерді жинау. Вегетативті өсу кезеңінде бір-бірінен 10 м қашықтықта орналасқан әр түрдің бес өсімдігі жиналды. Артық топырақтан арылу үшін әр өсімдіктің тамыры сумен шайқалды. Әр үлгі стерильді полиэтилен пакетіне жеке-жеке орналастырылды.

Эндифитті микроорганизмдердің бөлінуі. Өсімдік мүшелерінен (тамырлар, сабақтар, гүлдер мен жапырақтар) эндифитті микроорганизмдерді оқшаулау бактериялар үшін қоректік агар (ҚА) және микромицеттер үшін Сабуро қоректік ортасын қолдана отырып, өсімдік фрагменттерін орналастыру арқылы жүргізілді [109]. Өсімдіктердің әр түрінен жиырма жетілген жапырақ, бес жетілген сабақ, бес гүл және бес негізгі тамыр алынды. Жиналған өсімдік мүшелері ағынды сумен жуылды, содан кейін мөлшері 0,5 см фрагменттерге кесілді (әр түрдегі өсімдіктің мүшесіне 50 дана). Бұл фрагменттер 1 мин 70% этанолға және 2 мин 3% натрий гипохлоритіне батыру арқылы зарарсыздандырылды, содан кейін эпифитті микроорганизмдерді кетіру үшін стерильді тазартылған суда 2 мин жуылды. Дақылдар 25°C температурада 14 күн бойы инкубацияланды және күн сайын тексерілді. Зарарсыздандырудың деңгейін тексеру мақсатында өсімдік фрагменттерін шайқаған 100 мкл су қоректік агардың бетіне себілді. Эндифитті микроорганизмдердің сандық есебі келесі көрсеткіштер бойынша жүзеге асырылды: изоляттар саны, колонизация деңгейі және бөліну коэффициенті. Колонизация деңгейі бір немесе бірнеше эндифитті микроорганизмдермен колонизацияланған өсімдік үлгілерінің фрагменттерінің саны ретінде анықталды, олар пайызбен көрсетілген инкубацияланған фрагменттердің жалпы санына бөлінді.

Эндифитті микроорганизмдердің сандық есебі келесі көрсеткіштер бойынша жүзеге асырылды: изоляттар саны, колонизация деңгейі және бөліну коэффициенті [110]. Колонизация деңгейі бір немесе бірнеше эндифитті микроорганизмдермен колонизацияланған өсімдік үлгілерінің

фрагменттерінің саны ретінде анықталды, олар пайызбен көрсетілген инкубацияланған фрагменттердің жалпы санына бөлінді. Эндофиттердің бөліну коэффициенті өсімдік фрагменттерінен алынған изоляттардың саны ретінде есептелді, фрагменттердің жалпы санына бөлінді.

Эндофит ассоциацияларының таксономиялық құрамын анықтау. Эндофитті микроорганизмдердің өсіп келе жатқан колониялары макроморфологиялық типтерге бөлінді, содан кейін әр типтегі колониялардың саны шыныаяқта есептелді. Микроорганизмдерді анықтау эндофиттердің тиісті топтары мен тұқымдары үшін заманауи детерминанттарды қолдана отырып, морфологиялық белгілер мен дақылдық-физиологиялық қасиеттердің жиынтығы бойынша классикалық микробиологиялық әдістермен жүзеге асырылды [111].

Эндофит ассоциацияларының таксономиялық құрылымы әртүрлі тұқымдастардың өкілдерінің салыстырмалы көптігі мен кеңістіктік жиілігі бойынша бағаланды. Тұқымның салыстырмалы көптігі осы түрдегі колониялардың пайызбен көрсетілген осы нұсқадағы колониялардың жалпы санына қатынасы ретінде анықталды. Кеңістіктік пайда болу жиілігі талданған үлгілердің жалпы санынан берілген тұқым табылған үлгілердің үлесі ретінде анықталды [112].

2.2.2 ИСК өнімдерін талдау

Микроорганизмдер синтездейтін ИСК мөлшері Сальковский реагентінің көмегімен колориметриялық әдіс арқылы анықталды. Микроорганизмдердің штамдары 1000 мкг мл^{-1} концентрациясында L-триптофан қосылған сұйық қоректік ортада, содан кейін 2 күн бойы шейкерде минутына 240 айналымда дақылданды [113]. Инкубациядан кейін дақылдар 20 минут бойы 6000 айн/мин центрифугаланды. ИСК концентрациясы 10^{-8} - 10^{-2} г л^{-1} зат концентрациясының диапазонында салынған калибрлеу қисығына сәйкес анықталды. ИСК концентрациясы мкг мл^{-1} -де көрсетілді.

2.2.3. Бактериялардың фосфатты мобилизациялау белсенділігін анықтау.

Фосфат-мобилизация белсенділігі штамдардың құрамында ерімейтін Р қосылыстары (Са-фосфат және Са-фитат) бар Пиковскийдің тығыз қоректік ортасында өсу және колониялардың айналасында гало аймақтарын қалыптастыру қабілетімен анықталды. Фосфатты мобилизациялау қабілеті (1) формула бойынша мобилизация индексі және (2) фосфорды мобилизациялау тиімділігін есептеу арқылы бағаланды [114]:

$$\text{МИ} = \text{гало аймағының диаметрі} / \text{колония диаметрі}, \quad (1)$$

$$\text{МТ} = \text{гало аймағының диаметрі} / \text{колония диаметрі} \times 100\% \quad (2)$$

2.2.4 Микроорганизмдердің антагонистік белсенділігін анықтау

Фитопатогенді саңырауқұлақтарға микроорганизмдер штамдарының антагонистік белсенділігін талдау (*F. graminearum*, *F. solani*, *F. oxysporum*, *Alternaria alternata*) агар блоктары әдісімен жүргізілді [115]. Құрамында 10^6 жасуша⁻¹ мл бар фитопатогенді саңырауқұлақ спораларының суспензиясы және Петри табақшасына 1 мл көлемінде 10^9 жасуша/мл тығыздықтағы сыналатын микроорганизмдердің суспензиясы агардың беттік аймағына егілді. Өскен бактериялық газон агар блоктарына стерильді қуыс бұрғымен кесіліп, фитопатогенді саңырауқұлақтардың өсіп келе жатқан сынақ дақылдары бар Петри табақтарының ортасына төмен қарай орналастырылды. Эндофитті штамдардың антагонистік белсенділік дәрежесі себуден 3-10 тәуліктер аралығында тест-дақылдың өсуін тежейтін аймақтардың мөлшерімен анықталды. Бақылау тек фитопатоген дақылдары бар табақшалар болды.

2.2.5 Микроорганизмдердің галотолеранттылығын анықтау

Микроорганизмдердің галотолеранттылығын анықтау үшін 5%, 10%, 15% және 25% концентрациясында NaCl қосылған NA ортасы пайдаланылды. Микроорганизмдер әр түрлі NaCl концентрациялары бар NA-планшеттеріне штрих әдісімен егілді және тұздың жоғары концентрациясында өсіруге қабілетті штамдар таңдалды [116].

2.2.6 ПГА өнімдерін талдау

ПГА өнімдерін талдау.

Потенциалды ПГА өндірушілері ретінде амилолитикалық және целлюлолитикалық белсенділігі бар дақылдар 3 күн ішінде 30°C температурада MSM ортасында инкубацияланды [116]. Орта құрамы (г л⁻¹): K₂HPO₄ - 1,73; KH₂PO₄ - 0,68; MgSO₄×7H₂O - 0,1; NaCl - 4,0; FeSO₄×7H₂O - 0,03; NH₄NO₃ - 1,0; CaCl₂×2H₂O - 0,02; глюкоза - 5,0; агар - 20,0. Ніл көгімен бояғаннан кейін колониялардағы флуоресценцияның пайда болуын бақылай отырып, ультракүлгін сәулесінің астында анықталды [36]. Жарқын флуоресценцияны көрсететін колониялар ПГА өндірушілері ретінде таңдалды.

Потенциалды ПГА өндірушілерін дақылдау

ПГА өндірушілері MSM сұйық ортасында 150 айн/мин 48 сағат бойы өсірілді, содан кейін суспензия 6000 айн/мин 10 минут бойы центрифугаланды, супернатант ағызылды және тұнбадан ПГА бөлінді. Тұнбаға натрий гипохлориті мен ыстық хлороформ 1:1 қатынасында қосылып, 30°C температурада 1 сағаттан кейін бөліп алынды. Суспензия 15 минут бойы 6000 айн/мин центрифугаланып, жоғарғы және орта қабаттар алынып тасталды. Тұнба этанол және ацетонмен 1:1 қатынасында тұндырылып, 35°C температурада кептіріліп өлшенді [117].

2.2.7 Молекулалық-генетикалық идентификация

Геномдық ДНҚ өндірушінің хаттамасына сәйкес (Invitrogen, Carlsbad, USA) PURELINK genomic DNA Kit ДНҚ оқшаулау жинағы арқылы бактериялардың күнделікті дақылдарынан оқшауланған. Үлгілердегі ДНҚ концентрациясы Qubit™ dsDNA HS Assay Kit (Life Technologies, Oregon, USA) көмегімен Qubit® 2.0 флуориметрінде анықталды. Генетикалық маркер ретінде 16S рРНҚ генінің бөлімі пайдаланылды. 16S учаскесін күшейту үшін РНҚ 25 мкл мөлшерінде реакция қоспасын дайындады: 12,5 мкл Q5® Hot start high-Fidelity 2x Master Mix (New England Biolabs Inc., USA); әмбебап праймерлер жұбы: 8F (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') және 806R (5'-GGASTACCAGGGTATCTAAT-3') [118]. 10 мкм концентрациясында 1,2 мкл; ДНҚ шаблон және 25 мкл су алынды. Амплификация режимі келесі циклдардан тұрды: 5 минут ішінде 95°C, содан кейін: 95°C – 30 секунд, 55°C – 40 секунд, 72°C – 50 сек - 30 цикл; 10 минут ішінде 72°C-та созылу.

ПТР өнімін тазарту CleanSweep™ PCR Purification (Life Technologies, Carlsbad, CA) реагентінің көмегімен жүргізілді.

Бактериялардың 16S rRNA генінің фрагменттерін ретке келтіру big Dye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems, АҚШ) өндірушінің хаттамасына сәйкес (BIGDYE® Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit Protocol Applied Biosystems, АҚШ), содан кейін фрагменттерді бөлу автоматты генетикалық анализаторда 3500 DNA генетикалық анализаторында (Applied Biosystems, Хитаки, Токио Жапония) іске асырылды.

Секвенирлеу нәтижелері SEQ (Applied Biosystems) бағдарламасында өңделді. 16S rRNA гендерінің гомологиялық нуклеотидтер тізбегін іздеу АҚШ Ұлттық биотехнологиялық ақпарат орталығының (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) Gene Bank халықаралық деректер базасында BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) бағдарламасы арқылы жүзеге асырылды). Филогенетикалық талдау Mega 6 бағдарламасында жүзеге асырылды [119].

Алынған ПТР ДНҚ-дан геннің 16s rRNA фрагменті күшейтілді, шамамен 600 ж.н.

Секвенирлеу реакциясынан кейін BigDye XTerminator Purification Kit секвенирлеу реакцияларын тазарту жинағымен екінші ПТР өнімін тазарту жүргізілді және капиллярлық фореиз жасау үшін Abi 3500 генетикалық анализаторына жүктелді.

Анықталатын штамм генінің 16S rRNA нуклеотидтер тізбегі талданды және SeqA (Applied Biosystems) бағдарламалық құралында жалпы тізбекке біріктірілді. Ұзындығы шамамен 600 н.ж. нуклеотидтер тізбегін алғаннан кейін BLAST алгоритмі бойынша Genbank халықаралық деректер базасында сәйкестендіру жүргізілді.

Зерттелетін штамдардың 16s rRNA генінің нуклеотидтер тізбегі және филогенетикалық талдау нәтижелері MEGA 6 бағдарламасында салынған филогенетикалық нұсқау түрінде берілген.

2.2.8 Эндофиттер мен олардың метаболиттерін биотехнологиялық қолдану

Вегетациялық тәжірибелерді жүргізу үшін жаздық арпа (*Hordeum vulgare*) Байшешек сортының тұқымдары пайдаланылды, олар алдымен хлоргексидиннің 5% ерітіндісінде зарарсыздандырылды, содан кейін стерильді тазартылған суда үш рет жуылды. Тұзды стресс жағдайлары топыраққа NaCl ерітіндісін қосу арқылы жасалды, бір килограмм құрғақ топыраққа 3, 4, 5 және 6 г мөлшерінде NaCl енгізілді. Құрғақ стерильді емес топырақ (300 г) 65×65×100 мм пластикалық ыдыстарға салынып, 60% тазартылған сумен ылғалдандырылды. Беттік аймағы зарарсыздандырылған арпа тұқымдары ыдыстарға орналастырылды (бір ыдысқа 15 тұқым, бір нұсқаға 5 ыдыс) және әр тұқымға 1 мл көлемінде 10^8 жасуша/мл тығыздықтағы бактериялық суспензия егілді, бақылау тұқымдары стерильді сумен өңделді. Үлгілер фотон ағынының тығыздығы $100 \text{ мкмоль/м}^2 \text{ с}^{-1}$ болған кезде жарық/қараңғылық циклінің 16 сағ/8 сағ бойы 22°C температурада өсетін камерада инкубацияланды. Инкубацияның 21-ші күні өсімдіктер жиналып, тамырлар мен өркендердің ұзындығы мен құрғақ массасы анықталды.

Хлорофилл концентрациясын анықтау

Өсімдіктердегі хлорофилл мөлшері стандартты әдіс арқылы анықталды [120]. Жалпы алғанда, 200 мг өсімдік 15 мл 90% этанолда гомогенизацияланды. Гомогенат 6000 айн/мин 20 минут бойы центрифугаланды. Пигменттің концентрациясы келесі теңдеулерді қолдану арқылы есептелді:

$$X_{\text{Ла}} = 13,70 \times A_{667} - 5,76 \times A_{550} \quad (3)$$

$$X_{\text{Лб}} = 25,80 \times A_{650} - 7,60 \times A_{667} \quad (4)$$

Бос пролин концентрациясын анықтау

Бос пролин концентрациясы нингидрин реагентінің көмегімен анықталды [121]. Жаңа өсімдік материалы сульфосалицил қышқылының 3% сулы ерітіндісінде гомогенизацияланған. Гомогенат 6500 айн/мин 40 минут бойы центрифугаланды. Содан кейін CH_3COOH 2 мл, нингидрин реагентінен 2 мл және 2 мл дайындалған экстракт сығындысы қосылды. Үлгілер 100°C температурада 1,5 сағат бойы инкубацияланып, бөлме температурасына дейін салқындатылды. Спектрофотометрде сіңіру спектрі 520 нм ұзындықта өлшенді. Экстракт сығындысы қосылмаған нұсқа бақылау ретінде пайдаланылды. Пролин мөлшері стандарт ретінде Sigma пролинін (Берлингтон, Массачусетс, АҚШ) пайдаланып, калибрлеу қисығы арқылы есептелді.

Антиоксидантты ферменттердің белсенділігін анықтау

Каталазаны, сондай-ақ гваяколпероксидаза мен аскорбат пероксидазаны оқшаулау мақсатында белгілі сығынды қоспасы дайындалды [122]. Сығындының құрамы: 50 mM фосфат буфері (РН 7,5); 1 mM ЭДТА және 1 mM аскорбин қышқылы. Центрифугалаудан кейін (20 мин, 6000 айн/мин) бұл

ферменттердің белсенділігі алынған тұнба үстіндегі сұйықтықта анықталды. Ферменттерді оқшаулаудың барлық процедуралары 4°C температурада жүргізілді.

Каталаза белсенділігін зерттеу

Каталаза белсенділігін анықтайтын ортаның құрамы: 100 мМ-фосфат буфері (РН 7,0), 15 мМ H_2O_2 және 0,1 мл үлгі [122]. Реакция H_2O_2 қосудан басталды. Оптикалық тығыздықтың өзгеруі 3 минут ішінде 240 нм толқын ұзындығында анықталды, ал ферменттің белсенділігі $\varepsilon = 0,03 \text{ мм}^{-1} \text{ см}^{-1}$ экстинция коэффициенті арқылы есептелді. Ферменттің белсенділігі мг ақуызға 1 ммоль H_2O_2 мин⁻¹ тотығу үшін қажетті фермент мөлшері ретінде көрсетілді.

Аскорбат пероксидазасының белсенділігін зерттеу

Аскорбат пероксидазасының белсенділігі аскорбаттың тотығу жылдамдығымен анықталды [123]. Реакция қоспасы құрамында 0,1 мМ ЭДТА, 0,5 мМ аскорбат және 0,1 мМ H_2O_2 және 50 мМ калий-фосфат буфері (РН 7,0) бар. Реакция кварц кюветіндегі 0,1 мл ферментативті сығындыға 3,9 мл буфер қосу арқылы басталды. Оптикалық тығыздықтың өзгеруі 1 минут ішінде 290 нм толқын ұзындығында анықталды, ал ферменттің белсенділігі $\varepsilon = 2,8 \text{ мм}^{-1} \text{ см}^{-1}$ экстинция коэффициенті арқылы есептелді. Ферменттің белсенділігі 1 мг ақуызға 1 ммоль аскорбат мин⁻¹ тотығу үшін қажетті фермент мөлшері ретінде көрсетілді.

Гваяколпероксидаза белсенділігін зерттеу

Гваяколпероксидазаның белсенділігі гваяколдың тотығуын есепке алатын спектрофотометриялық әдісті қолдану арқылы анықталды [124]. Реакция қоспасы 50 мМ фосфат буферінен (РН 7), 9 мМ гваяколдан, 10 мМ H_2O_2 және 0,2 мл экстракт сығындысынан тұрды. Оптикалық тығыздықтың модификациясы 1 минут ішінде 470 нм толқын ұзындығында жүргізілді және ферменттің белсенділігі $\varepsilon = 26,6 \text{ мм}^{-1} \text{ см}^{-1}$ экстинция коэффициентін қолдана отырып есептелді және 1 мг ақуызға 1 ммоль аскорбат мин⁻¹ тотығу үшін қажетті фермент мөлшері ретінде өрнектелді.

Ақуыздың мөлшерін анықтау

Ақуыз мөлшері Брэдфорд әдісімен анықталды [125]. Пробиркаға барлығы 1 мл сығынды салынып, 4 мл тазартылған суы бар 0,01 мл Брэдфорд реагенті қосылды. Үлгі 30 минутқа қалдырылды. Нәтижелер спектрофотометрде 595 нм толқын ұзындығында өлшенді.

Өсімдіктердің элементтік құрамын анықтау

Элементтердің құрамын талдауға арналған өсімдік үлгілері ағынды сумен жуылды, бөлме температурасында кептірілді және біртекті масса алынғанша ұсақталды [126]. Сынама дайындау Speedwave XPERT (Berghof Products+Instruments GmbH, Энинген, Германия) аппаратында ультратолқынды өңдеу әдісімен жүргізілді. Өсімдік үлгілері 67% HNO_3 және 35% H_2O_2 ерітіндісімен өңделді; толық ашытудан кейін алынған үлгілер ионсыздандырылған сумен 15 см³ көлеміне дейін жеткізілді және 1:10 қатынасында 1% HNO_3 сұйылтылды. Алынған ерітінділерде К, Са, Na, Mg, Fe,

Mn, Cu, Zn, Cd және Pb құрамы Agilent 7700x (Agilent Technologies, Токио, Жапония) құралында индуктивті байланысқан плазмоспектрометрия әдісімен анықталды.

2.2.9 Жемістерді өңдеу

ПГА өнімдерін талдау

Эндофитті бактериялардың *Pseudomonas flavescens* D5 және *B. aerophilus* A2 штамдары құрамында 10 г/л мөлшерінде глюкоза, зәйтүн майы, меласса және соапсток сияқты әртүрлі көміртегі көздері бар минералды орталарда дақылданды. Ортаның құрамы (г л⁻¹) келесідей болды: 0,5 (NH₄)₂ SO₄; 0,4 мг SO₄×7H₂O; 9,65 Na₂HPO₄×12H₂O; 2,65 KH₂PO₄. Ортаға қосымша келесі құрамдағы микроэлементтердің 1 мл ерітіндісі қосылды (г л⁻¹): 0,05 MnCl₂ ×4H₂O, 20,0 FeCl₃×6H₂O, 10,0 CaCl₂×H₂O, 0,03 CuSO₄×5H₂O және 0,1 ZnSO₄×7H₂O және 0,5 HCl. Штамдар 48 сағат бойы 30°C температурада және шейкерде аэробты жағдайда минутына 180 айналымда инкубацияланды [127].

Бактериялық жасушалардан ПГА алу үшін хлороформ, натрий гипохлориті, 2н NaOH, спирт және ацетон қолданылды. Қоспа 30°C температурада және минутына 180 айналымда 90 минут бойы инкубацияланды, содан кейін 5000 айн/мин 18 минут бойы центрифугаланды. Фракциялар изопропил спиртінің екі еселенген көлемімен тұндырылып кептірілді.

ПГА түзілуі тұнбаны өлшеу арқылы сандық түрде анықталды және литріне граммен көрсетілді. Бактериялық жасуша түйіршіктері литріне граммен көрсетілген құрғақ жасуша салмағын (ҚЖС) бағалау үшін кептірілді [128]. ПГА пайыздық мөлшері келесі формулаға сәйкес пайыздық құрам ретінде бағаланды:

$$\text{ПГА мөлшері \%} = \frac{\text{ПГА құрғақ салмағы}}{\text{Құрғақ жасуша биомассасы}} 100\% \quad (5)$$

Фурье түрлендіруі бар фазалық объектілердің инфрақызыл сипаттамасы (FTIR)

Кері Фурье түрлендіретін инфрақызыл спектроскопия Carry 660 спектрофотометрін (Agilent, Санта-Клара, Калифорния, АҚШ) кристалмен жабдықталған 800–ден 4000 см⁻¹-ге дейінгі толқын ұзындығы диапазонында (Ge ATR crystal) қолдана отырып жүргізілді; ауадағы бақылау сканерлеулерінің саны 8 болды және кері Фурье түрлендіру үлгі инфрақызыл спектроскопиясы арқылы алынды. Объект 24 рет сканерлеуден өткізілді.

Фазалық ауысуларды термогравиметриялық талдау

Термогравиметриялық талдау (ТГТ) Labsys EVO термогравиметриялық жабдығын (Setaram, Caluire-et-Cuire, Франция) 30-дан 600°C дейінгі температура диапазонында және азот атмосферасында минутына 10 °C қыздыру жылдамдығын (ағын жылдамдығы N₂ = минутына 40 мл) қолдана отырып жүргізілді [129].

In vitro жағдайында фунгицидтік белсенділік сынақтары

P. expansum саңырауқұлағына қатысты полигидроксиалканоаттардың фунгицидтік қабілеті шайқау әдісі арқылы сыналды [130].

Алдымен 0,15 г полигидроксиалканоат рН 7,4 болатын 15 мл фосфатты буферлік ерітіндімен сұйылтылды. Ерітіндіге 1 мл 10^5 жасуша мл^{-1} *P. expansum* суспензиясы қосылды. 24 сағаттан кейін 100 мкл сынамалар алынып, коректік ағары бар Петри табақтарына енгізілді. Үлгілер 32°C температурада 24 сағат бойы инкубацияланды. Фунгицидтік белсенділік келесі формула бойынша есептелді:

$$\text{Фунгицидтік белсенділік} = (1 - \text{КТБ}_{(\text{ПГА})} / \text{КТБ}_{\text{бақылау}}) \times 100 \quad (7)$$

ПГА ұнтақтарының фунгицидтік белсенділігі Balouiri сипаттаған әдіс бойынша саңылауы бар пластина арқылы диффузия әдісімен бағаланды [131]. Қысқаша айтқанда, құрамында 10^5 спора/ мл^{-1} *P. expansum* саңырауқұлағы споралары 100 мкл суспензиясы агар шыныаяқтарына себілді. Содан кейін әрбір алдын ала жасалған ұңғымаға 500 мкг мл^{-1} концентрациясында 100 мкл ПГА суспензиясы қосылды. Фитопатогенді тежеу аймағының мөлшері өлшенді.

In vivo антагонистік талдау

P. expansum қоздырғышы PDA ортасында 7 күн бойы 25°C температурада өсірілді, содан кейін әр Петри табағына 10 мл зарарсыздандырылған тазартылған су қосылды. Мицелий мұқият түрде қырылды. Алынған конидиум суспензиясының концентрациясы гемоцитометрдің көмегімен 2×10^8 спора/ мл^{-1} дейін жеткізілді. 500 мкг/мл концентрациясында ПГА сулы ерітіндісі дайындалды.

Алма ағашының жемістері 4 топқа бөлінді, олардың әрқайсысы үшін бес рет қайта өңдеу және талдау екі рет қайталанды. Жемістердің бірінші тобы тек фитопатогенмен жұқтырылды. Екінші топ профилактикалық ем ретінде патогенді жұқтырудан 24 сағат бұрын ПГА-мен өңделді. Жемістердің үшінші тобы бір мезгілде патогенмен және ПГА-мен өңделді. Төртінші топ полигидроксибутиратпен терапевтік агент ретінде патогенді жұқтырғаннан кейін 24 сағаттан соң өңделді [132].

Алма ағашының жемістерінің беттік аймағы зарарсыздандырылды, диаметрі 5 мм және тереңдігі 5 мм тесіктер жасалды, ол тесіктерге *P. expansum* конидиальды суспензиясы 100 мкл мөлшерінде және 100 мкл ПГА суспензиясы (500 мкг/мл) енгізілді. Содан кейін барлық жемістер ылғалды жағдайда 25°C температурада 10 күн бойы сақталды. Алманы ПГА-пен өңдеудің тиімділігі инкубацияның 5-ші және 10-шы күндерінде келесі көрсеткіштер бойынша бағаланды: биомассаның төмендеуі және зақымданудың дәрежесі.

Биомассаның төмендеуін анықтау үшін барлық жемістер 0-ші күні таңбаланып өлшенді, содан кейін сол таңбаланған жемістер 5-ші және 10-шы

күндері қайта өлшенді. Нәтижелер 0-ші және 5-ші немесе 10-шы күндер арасындағы салмақ төмендеуінің айырмашылығының пайызымен көрсетілді.

Зақымдану деңгейін (ЗД) бағалау үшін алма ағашының жемістері Safari еңбектерінде сипатталғандай бес балдық шкала бойынша жіктелді [133]. ЗД есептеу үшін келесі формула қолданылды:

$$\text{ЗД(\%)} = \frac{\sum(\text{Топтар өзегі} \times \text{Әр топтағы зақымдалған жемістердің саны})}{\text{Бағаланған жемістердің жалпы саны} \times \text{Ең жоғары ЗД ұпайы}} \times 100\% \quad (8)$$

S. proteamaculans B5, *Ps. flavescens* D5 және *Ps. fluorescens* D7 штамдарының биомассасын жинақтау және олардың бірлестіктерін анықтау мақсатында Lysogeny Broth (LB) сұйық қоректік ортасы (г/л): пептон – 10,0; ашытқы сығындысы – 5,0; NaCl – 10,0 қолданылды.

Ассоциация құрау үшін таңдап алынған үш штамм сұйық қоректік ортаға көшірілді. Дақылдау IKA KS 260 Basic шейкерінде 160 айн/мин жылдамдықпен және $t=22^{\circ}\text{C}$ 48 сағат бойы жүргізілді.

2.2.10 Микроорганизм дақылдарының биосәйкестігін зерттеу

Биосәйкестікті анықтау үшін таңдалған штамдар қоректік агарда 22°C температурада 24 сағат бойы жеке-жеке дақылданды [134]. Содан кейін колониялар қоректік сорпаға ауыстырылды және түні бойы 160 айн/мин 28°C температурада инкубацияланды.

Қоректік агардың бетіне 100 мкл сыналған микроорганизм (0,5 макФарланд) енгізілді. МакФарланд бойынша концентрациясы 0,5 болатын бактериалды дақылмен стерильді фильтровалды қағаздары ($d=5$ мм) бактериалды дақылмен инокуляцияланды. Инокуляцияланған дискілер сыналатын микроорганизмі бар Петри табақтарына (әрбір нұсқаға 4 диск) орналастырылды және әрқайсысы 4 күн бойы 28°C температурада қараңғыда инкубацияланды [25].

Зерттелетін микроорганизмдердің биосәйкестігін бағалау колониялар санын санау, дақылдардың өсуін тежейтін аймақтардың болуы/болмауы және өскен колонияларды морфологиясын бағалау арқылы анықталды.

Инокуляциялау мерзімінің микроорганизмдер қауымдастығының дақылдануына әсерін зерттеу

Инокуляциялау мерзімінің микроорганизмдер қауымдастығының дақылдануына әсерін зерттеу мақсатында дақылдар қоректік сорпаға 6, 12 және 24 сағатқа егілді. Әрбір нұсқадан дақылданған микроорганизмдерді 48 сағатқа қоректік агарға инокуляциялау жүргізілді.

Зерттелетін микроорганизмдер үшін инокуляция жасының әсерін бағалау өскен колониялардың санын есептеу арқылы анықталды.

Азот пен көміртегі көздерінің дақылдар қауымдастығының өсуіне әсерін зерттеу

Азот көздерінің өсуге әсерін зерттеу үшін келесі құрамдағы орталар пайдаланылды (г/л): пептон – 5,0; аммоний нитраты – 0,1; ет сығындысы – 5,0; NaCl – 5,0.

Көміртегі көздерінің дақылдану әсерін тексеру үшін келесі 3 қоректік орта пайдаланылды (г/л): пептон 5,0; ет сығындысы 1,5; NaCl 5,0; глюкоза/сахароза/меласса 5,0.

Осы орталарда дақылдарды өсіргеннен кейін колонияларды санау және оптикалық тығыздықты өлшеу нөлдік тәулікте және 48 сағаттан кейін жүргізілді. Зерттелетін микроорганизмдер үшін көміртегі мен азот көздерінің тиімділігін бағалау нақты өсу жылдамдығының формуласымен және өскен колониялардың санын есептеу арқылы анықталды [135].

Микроорганизмдердің нақты өсу жылдамдығының формуласы (9):

$$\mu = \ln X_{\text{бақ}} - \ln X_{\text{баст}} / T_{\text{соң}} - T_{\text{баст}} \quad (9)$$

мұндағы μ – өсудің меншікті жылдамдығы, сағ⁻¹, $X_{\text{бақ}}$ – жасушалардың соңғы концентрациясы, КТБ/мл, $X_{\text{баст}}$ – жасушалардың бастапқы концентрациясы, КТБ/мл, $T_{\text{соң}}$ – өсірудің соңғы уақыты, Н, $T_{\text{баст}}$ – өсірудің бастапқы уақыты, сағ.

Дақылдардың және олардың ассоциациясының фосфат-мобилизациялау белсенділігін анықтау

Фосфат-мобилизация белсенділігі штамдардың құрамында ерімейтін Р қосылыстары (Са-фосфат және Са-фитат) бар Пиковскийдің тығыз қоректік ортасында өсу және колониялардың айналасында гало аймақтарын қалыптастыру қабілетімен анықталды. Фосфатты мобилизациялау қабілеті (10) формула бойынша мобилизация индексін және (11) фосфорды мобилизациялау тиімділігін есептеу арқылы бағаланды [114]:

$$\text{МИ} = \text{гало аймағының диаметрі} / \text{колония диаметрі}, \quad (10)$$

$$\text{МТ} = \text{гало аймағының диаметрі} / \text{колония диаметрі} \times 100\% \quad (11)$$

ИСК өнімдерін талдау

Микроорганизмдер синтездейтін ИСК мөлшері Сальковский реагентінің көмегімен колориметриялық әдіс арқылы анықталды. Микроорганизмдердің штамдары 1000 мкг мл⁻¹ концентрациясында L-триптофан қосылған сұйық қоректік ортада, содан кейін 2 күн бойы шейкерде минутына 240 айналымда дақылданды [113]. Инкубациядан кейін дақылдар 20 минут бойы 6000 айн/мин айналымда центрифугаланды. ИСК концентрациясы 10⁻⁸-10⁻² г л⁻¹ зат концентрациясының диапазонында салынған калибрлеу қисығына сәйкес анықталды. ИСК концентрациясы мкг мл⁻¹-де көрсетілді.

Ассоциацияның галотолеранттылығын тексеру

Галотолеранттылықты тексеру үшін ассоциациятар NaCl әртүрлі концентрациясы (2.5%, 5%, 7.5%, 10%, 12.5%) бар қоректік агарда дақылданды. Галотолеранттылықты бағалау колониялардың санын санау және өскен колониялардың морфологиясын бағалау арқылы анықталды.

2.2.11 Биомассаның жинақталуы және пуллулан экстракциясы

Материал мұражай дақылдарының түтіктеріндегі қиғаш агарда болды. 1 см² мөлшеріндегі саңырауқұлақ пленкасы пробиркалардан 50 мл рН 6,5 болатын Чапек-Докс ортасы бар ферментация алдындағы колбаға ауыстырылды, қоректік ортаның құрамы г/л: сахароза-50; KН₂РO₄ – 1.0; MgSO₄ – 0.5; KCl – 0.5; FeSO₄ – 0.01; NaNO₃ – 9.

Өсіру ортасын зарарсыздандыру 30 минут ішінде 0.1 МПа атмосфералық қысыммен жүргізілді, содан кейін микроорганизмдердің дақылдары егілді және 25⁰С температурада микроорганизмдердің тығыздығына байланысты 3 күн ішінде 150 айн/мин жылдамдықпен шейкерде дақылданды. Содан кейін ашыту колбаларына дайын суспензияның 5% қосылды. Ферментация кезеңінде ашытқыны өсіру үшін Чапек-Докс ортасы қолданылды. Ферментация шейкерде 25⁰С температурада 5 күн бойы жүргізілді [136].

Биомасса мен бөлінген полисахаридтің мөлшері мақсатты өнімнің биомасса бірлігіне және экономикалық коэффициентін есептей отырып, гравиметриялық түрде өлшенді.

5-ші күні микроорганизмдердің жасушалары дақылдық ортадан 20 минут бойы минутына 6000 айналымда центрифугалау арқылы бөлінді [137].

Полисахаридті оқшаулау супернатантты тұндыру әдісімен жүргізілді. Ол үшін дақылдық орта минутына 6000 айналымда 20 минут бойы центрифугаланды. Полисахарид супернатант көлеміне 2:1 қатынасында 96.6% этанолмен тұндырылды. Содан кейін тұнба бөлме температурасында 2 күн бойы кептірілді.

2.2.12 Композиттік материалды жасау

Композиттік материалды алу үшін келесі әдіс қолданылды: пуллулан мен пектин 1:1, 2:1 және 3:1 қатынасында суда ерітіліп, магнитті термо араластырғышқа қойылды, онда олар 60⁰С температураға жеткізілді [138]. Қажетті температураға жеткеннен кейін эфир сумен 3:1 қатынасында қосылды, қайнатылды және инициатор ретінде аммоний персульфаты қосылды. Инициатор енгізілгеннен кейін ПГБ енгізілді, содан кейін қоспа 20 минутқа қалдырылды. 0⁰С дейін салқындағаннан соң фазаларға бөліну байқалды. Бұл қоспа эфирде бір күн, содан кейін суда бір күн қалдырылды. Келесі этапта органикалық (жоғарғы) фазадан араласпаған элементтер алынып тасталды. Қалған суда еритін полимерлер ауада қалыпты жағдайда кептірілді.

Реакция нәтижесінде "губкаға" ұқсас қоймалжың суда да, органикалық ортада да еруге төзімді масса пайда болды. Осы массада полимерлерді алу

мақсатында ол пектингке бай сополимерді бөлу үшін ұзақ уақыт суға малынды. Осыдан кейін қалған материал ПГБ-пен байытылған сополимерді оқшаулау үшін мұнай эфирімен өңделді.

Микроорганизмдердің иммобилизациясы

Полимерлі матрицалардағы бактериялардың иммобилизация процесі эндофитті микроорганизмдердің (*Serratia proteamaculans* B5, *Pseudomonas flavescens* D5, *Pseudomonas fluorescens* D7 және *Lysinibacillus* sp. S1) сұйық суспензияда адсорбция әдісін қолдану арқылы жүргізілді. Қоректік агарда дақылданған үш күндік бактериялық дақыл бейтарап рН бар стерильді қоректік сорпаға ауыстырылды, 10^6 жасуша/мл концентрациясы бар суспензия алынды [139]. Биополимер матрицасының үлгісі осы суспензияға орналастырылды, содан кейін ол 24 сағат бойы үздіксіз араластыру жағдайында бөлме температурасында инкубацияланды. Бактерияларды полимерлі талшықтарға бекіту үшін үлгілер қосымша 4°C температурада 12 сағат бойы инкубацияланды. Содан кейін байланыспаған жасушаларды жою үшін матрица стерильді қоректік сорпамен үш рет жуылды.

2.2.13 Фитопатогендермен жұқтырылған өсімдік тұқымдарын өңдеу

Зерттеу үшін 5% натрий гипохлоритінде беттік аймағы зарарсыздандырылған арпа тұқымдары қолданылды. Содан кейін тұқымдар стерильді сумен жуылып, тұқым бетінде бактериялардың жоқтығына көз жеткізу үшін агарлы ортаға себілді.

Ең алдымен барлық бактериялар қоректік сорпада дақылданды. Егістен екі күн бұрын бактериялардың әр штамы бөлме температурасында (24°C) минутына 180 айналымымен шейкерде дақылданды. Бір күндік дақылдаудан кейін әрбір сұйық дақылдың бір бөлігі өсудің жалғасуын қамтамасыз ету үшін жаңа ортаға ауыстырылды. Эксперимент күні әрбір бактериялық дақыл 10 минут ішінде 6000 айн/мин түйіршіктелді және фосфат буфері бар тұзды ерітіндіде қайта суспензияланды (ФБЕ, 8 г/л NaCl, 0,2 г/л KCl, 1,44 г/л Na₂HPO₄ және 0,24 г/л KH₂PO₄). Бактериялардың суспензияларының әрқайсысының оптикалық тығыздығы (ОТ) инокуляциялау алдында осы бактериялардың әрқайсысы үшін 10^8 колония түзетін бірлікке (КТБ) жеткізілді [140].

Жұмыстың осы кезеңінде жасалған препараттың фитопатогендермен өңделген арпаның өсуіне әсері бағаланды.

Тәжірибе келесі нұсқаларды қамтыды:

T1-өңделмеген тұқымдар

T2-өңделмеген тұқымдар + *Fusarium oxysporum*

T3-бактериялық суспензиядағы тұқымдарды қаптау + *Fusarium oxysporum*

T4-тұқымдарды полимер қоспасымен қаптау + *Fusarium oxysporum*

T5-бактериялық суспензиямен және полимер қоспасымен бір мезгілде тұқымдарды қаптау + *Fusarium oxysporum*

Фитопатогендермен жұқтыру 100 г топыраққа 10^8 спора/мл титріндегі *Fusarium oxysporum* фитопатогенді саңырауқұлағының суспензиясын енгізу арқылы модельденген.

Полимер қоспасы 0,05% концентрацияда ПГА және 2% концентрацияда пуллулан көмегімен дайындалды, олар фосфат буферімен тұзды ерітіндіге енгізілді.

Тұқымдарды бактериялық суспензиямен және полимер қоспасымен бір мезгілде жабу үшін бактериялық суспензия қоспасына 0,05% концентрацияда ПГА және 2% концентрацияда пуллулан енгізілді.

Алдын ала зарарсыздандырылған тұқымдар әртүрлі саңырауқұлаққа қарсы қосылыстарға енгізілді, содан кейін тұқымдарды 0,1 М CaCl_2 -ге ауыстырды. Қаптаудан кейін тұқымдар инокуляциялау алдында 20 минут кептірілді.

Құрамында 300 г стерильді топырақ бар әр ыдысқа 10 арпа тұқымы отырғызылды. Эксперимент стерильді жағдайда үш қайталанумен жүргізілді. Өсімдіктер 12 күн бойы өсірілді.

Бос пролин концентрациясын анықтау

Бос пролин концентрациясы нингидрин реагентінің көмегімен анықталды [121]. Жаңа өсімдік материалы сульфосалицил қышқылының 3% сулы ерітіндісінде гомогенизацияланған. Гомогенат 6500 айн/мин 40 минут бойы центрифугаланды. Содан кейін CH_3COOH 2 мл, нингидрин реагентінен 2 мл және 2 мл дайындалған экстракт сығындысы қосылды. Үлгілер 100°C температурада 1,5 сағат бойы инкубацияланып, бөлме температурасына дейін салқындатылды. Спектрофотометрде сіңіру спектрі 520 нм ұзындықта өлшенді. Экстракт сығынды қосылмаған нұсқа бақылау ретінде пайдаланылды. Пролин мөлшері стандарт ретінде Sigma пролинін (Берлингтон, Массачусетс, АҚШ) пайдаланып, калибрлеу қисығы арқылы есептелді.

Хлорофилл концентрациясын анықтау

Өсімдіктердегі хлорофилл мөлшері стандартты әдіс арқылы анықталды [120]. 200 мг өсімдік үлгісі 15 мл 90% этанолда гомогенизацияланды. Гомогенат 6000 айн/мин 20 минут бойы центрифугаланды. Пигменттің концентрациясы келесі теңдеулерді қолдану арқылы есептелді:

$$X_{\text{L}_a} = 13,70 \times A_{667} - 5,76 \times A_{550} \quad (12)$$

$$X_{\text{L}_b} = 25,80 \times A_{650} - 7,60 \times A_{667} \quad (13)$$

Антиоксидантты ферменттердің белсенділігін анықтау

Каталазаны, сондай-ақ гваяколпероксидаза мен аскорбат пероксидазаны оқшаулау мақсатында белгілі сығынды қоспасы дайындалды [122]. Сығындының құрамы: 50 mM фосфат буфері (pH 7,5); 1 mM ЭДТА және 1 mM аскорбин қышқылы. Центрифугалаудан кейін (20 мин, 6000 айн/мин) бұл ферменттердің белсенділігі алынған тұнба үстіндегі сұйықтықта анықталды.

Ферменттерді окшаулаудың барлық процедуралары 4°C температурада жүргізілді.

Каталаза белсенділігін зерттеу

Каталаза белсенділігін анықтайтын ортаның құрамы: 100 мМ-фосфат буфері (рН 7,0), 15 мМ H_2O_2 және 0,1 мл үлгі [122]. Реакция H_2O_2 қосудан басталды. Оптикалық тығыздықтың өзгеруі 3 минут ішінде 240 нм толқын ұзындығында анықталды, ал ферменттің белсенділігі $\varepsilon = 0,03 \text{ мм}^{-1} \text{ см}^{-1}$ экстинция коэффициенті арқылы есептелді. Ферменттің белсенділігі мг ақуызға 1 ммоль H_2O_2 мин⁻¹ тотығу үшін қажетті фермент мөлшері ретінде көрсетілді.

Аскорбат пероксидазасының белсенділігін зерттеу

Аскорбат пероксидазасының белсенділігі аскорбаттың тотығу жылдамдығымен анықталды [123]. Реакция қоспасы құрамында 0,1 мМ ЭДТА, 0,5 мМ аскорбат және 0,1 мМ H_2O_2 және 50 мМ калий–фосфат буфері (рН 7,0) бар. Реакция кварц кюветіндегі 0,1 мл ферментативті сығындыға 3,9 мл буфер қосу арқылы басталды. Оптикалық тығыздықтың өзгеруі 1 минут ішінде 290 нм толқын ұзындығында анықталды, ал ферменттің белсенділігі $\varepsilon = 2,8 \text{ мм}^{-1} \text{ см}^{-1}$ экстинция коэффициенті арқылы есептелді. Ферменттің белсенділігі 1 мг ақуызға 1 ммоль аскорбат мин⁻¹ тотығу үшін қажетті фермент мөлшері ретінде көрсетілді.

Гваяколпероксидаза белсенділігін зерттеу

Гваяколпероксидазаның белсенділігі гваяколдың тотығуын есепке алатын спектрофотометриялық әдісті қолдану арқылы анықталды [124]. Реакция қоспасы 50 мМ фосфат буферінен (рН 7), 9 мМ гваяколдан, 10 мМ H_2O_2 және 0,2 мл экстракт сығындысынан тұрды. Оптикалық тығыздықтың модификациясы 1 минут ішінде 470 нм толқын ұзындығында жүргізілді және ферменттің белсенділігі $\varepsilon = 26,6 \text{ мм}^{-1} \text{ см}^{-1}$ экстинция коэффициентін қолдана отырып есептелді және 1 мг ақуызға 1 ммоль аскорбат мин⁻¹ тотығу үшін қажетті фермент мөлшері ретінде өрнектелді.

3 НӘТИЖЕЛЕР МЕН ТАЛҚЫЛАУЛАР

3.1 Эндофитті микроорганизмдермен ассоциацияланған дәрілік өсімдіктердің сипаттамасы

3.1.1 Эндофитті микроорганизмдердің сандық құрамы және таксономиялық құрылымы

Дәрілік өсімдіктер бүкіл әлемде дәстүрлі түрде әртүрлі ауруларды емдеу мақсатында қолданылады. Олар өздерінің табиғи ортада тіршілік етуі мен дамуы үшін маңызды болып табылатын биологиялық белсенді қосылыстардың біршама спектрін синтездейді. Дәрілік өсімдіктердің биологиялық белсенді қосылыстарының құрамы өсімдіктің түріне, топырақтың жағдайына және олардың микроорганизмдермен байланысына тәуелді. Өсімдіктер синтездейтін белсенді екіншілік метаболиттер өздерімен ассоциацияланған микробтық ассоциацияларға және олардың физиологиялық функцияларына біршама әсер етуі мүмкін [141].

Эндофиттер фитогормондарды өндіру, су мен коректік заттардың тасымалдануын жақсарту, фитопатогендерге жүйелік төзімділікті индукциялау арқылы өсімдіктің өсуі мен дамуына ықпал етеді.

Көптеген ауылшаруашылық дақылдары үшін стресстік факторларға кешенді ұзақ мерзімді төзімділік мәселесі әлі де шешілмеген, сондықтан өсімдік шығынын азайтатын және өсімдік өнімділігін тұрақтандыратын экологиялық таза әдістер мен құралдарды анықтау маңызды болып отыр.

Көптеген дәрілік өсімдіктердің фитохимиялық құрамы мен фармакологиялық қасиеттері анықталған, дегенмен олардың микробиомасы мен өсімдік және микробтар арасындағы физиологиялық өзара әрекеттесу механизмдері жеткілікті түрде зерттелмеген. Осыған байланысты эндофитті микроорганизмдердің өсімдіктердің биотикалық және абиотикалық стресстік факторларының әсеріне төзімділігін арттыру қабілетін зерттеуге бағытталған жұмыстар ерекше өзекті болып отыр.

Эндофиттердің сандық және таксономиялық құрамына зерттелетін өсімдіктің түрі мен тұқымдасы айтарлықтай әсер етеді, ал қоныстану тығыздығы тінге, өсімдіктің даму сатысына, қоршаған орта факторларына, мысалы, жыл мезгіліне байланысты болуы мүмкін. Көптеген зерттеулердің нәтижесі бойынша, эндофитті колонизация өсімдіктердегі физиологиялық өзгерістерге байланысты және қорғаныс механизмдерімен шектелуі немесе баяулауы мүмкін [142].

Зерттелетін дәрілік өсімдіктердің әртүрлі вегетативті және генеративті мүшелерінен 386 бактериялық изоляттары мен 160 микромицет изоляттары оқшауланған. Бактериялардың колонизация деңгейі кең ауқымда 6,67-ден 60% - ға дейін өзгерді. Микромицеттер үшін бұл көрсеткіш 3,33-тен 43,33% - ға дейін болды. Бактериялық штамдардың бөліну коэффициенті 0,07-ден 0,83-ке дейін, саңырауқұлақтар – 0,03-тен 0,57-ге дейінгі көрсеткіште болды (3-кесте).

Эндофитті бактериялық микрофлораның ең үлкен колонизациясы кәдімгі цикорий және қарапайым ореганомен, ал ең төмен көрсеткіштегі колонизация күлгін эхинацеямен анықталды (4-кесте). Микромицеттердің ең көп қоныстануы дәрілік жусанда байқалды. Бұл өсімдіктің әрбір түріне тән эндофитті микроорганизмдердің дамуына қажетті қоректік ресурстардың құрамына байланысты болуы мүмкін.

Кесте 4 – Дәрілік өсімдіктердің әртүрлі ағзаларындағы эндофитті микроорганизмдердің таралуы

Дәрілік өсімдіктер	Эндофитті бактериялар			Эндофитті саңырауқұлақтар		
	Изоляттардың саны	Колонизация деңгейі, %	Бөліп алу коэффициенті	Изоляттардың саны	Колонизация деңгейі, %	Бөліп алу коэффициенті
Бұрышты жалбыз (<i>Méntha piperíta</i>)						
Тамыр	21	53,33	0,70	9	26,67	0,30
сабақ	10	23,33	0,33	5	13,33	0,17
жапырақ	6	16,67	0,20	1	3,33	0,03
гүл	5	14,14	0,15	2	4,46	0,05
дәрілік шалфей (<i>Sālvia officinālis</i>)						
тамыр	18	46,67	0,60	7	20,00	0,23
сабақ	7	20,00	0,23	2	6,67	0,07
жапырақ	4	10,00	0,13	1	3,33	0,03
гүл	2	5,00	0,05	3	6,69	0,09
кәдімгі цикорий (<i>Cichórium íntybus</i>)						
тамыр	25	60,00	0,83	6	20,00	0,20
сабақ	11	23,33	0,37	4	13,33	0,13
жапырақ	9	26,67	0,30	2	6,67	0,07
гүл	4	13,33	0,13	3	5,33	0,06
күлгін эхинацея (<i>Echinácea purpúrea</i>)						
тамыр	11	33,33	0,37	5	13,33	0,17
сабақ	6	16,67	0,20	3	10,00	0,10
жапырақ	3	6,67	0,10	1	3,33	0,03
гүл	3	10,00	0,10	2	2,15	0,02

қос үйлі қалақай (<i>Urtica dióica</i>)						
тамыр	16	36,67	0,53	8	23,33	0,27
сабақ	10	30,00	0,33	2	6,67	0,07
жапырақ	7	16,67	0,23	4	7,72	0,06
гүл	4	10,00	0,13	2	5,3	0,02
кәдімгі орегано (<i>Origanum vulgáre</i>)						
тамыр	24	56,67	0,80	9	23,33	0,30
сабақ	13	30,00	0,43	5	13,33	0,17
жапырақ	8	20,00	0,27	3	10,00	0,10
гүл	4	6,67	0,13	1	3,33	0,03
дәрілік жусан (<i>Artemisia abrotanum</i>)						
тамыр	19	40,00	0,63	17	43,33	0,57
сабақ	8	20,00	0,27	7	13,33	0,23
жапырақ	6	16,67	0,20	2	6,67	0,07
гүл	2	12,00	0,021	1	3,33	0,03
батпақты ирис (<i>Iris pseudacorus</i>)						
тамыр	16	40,00	0,53	8	16,67	0,27
сабақ	11	23,33	0,37	4	10,00	0,13
жапырақ	7	16,67	0,23	1	3,33	0,03
гүл	2	6,67	0,07	1	3,33	0,03
жалаңаш мия (<i>Glycyrrhiza glabra</i>)						
тамыр	16	46,67	0,53	9	23,33	0,30
сабақ	9	20,00	0,30	5	10,00	0,17
жапырақ	6	16,67	0,20	2	6,67	0,07
гүл	2	6,67	0,07	0	0	0
дәрілік мелисса (<i>Melissa officinalis</i>)						
тамыр	17	46,67	0,57	8	26,67	0,27
сабақ	7	16,67	0,23	6	10,00	0,20
жапырақ	5	10,00	0,17	3	6,67	0,10
гүл	3	3,27	0,15	2	5,19	0,09

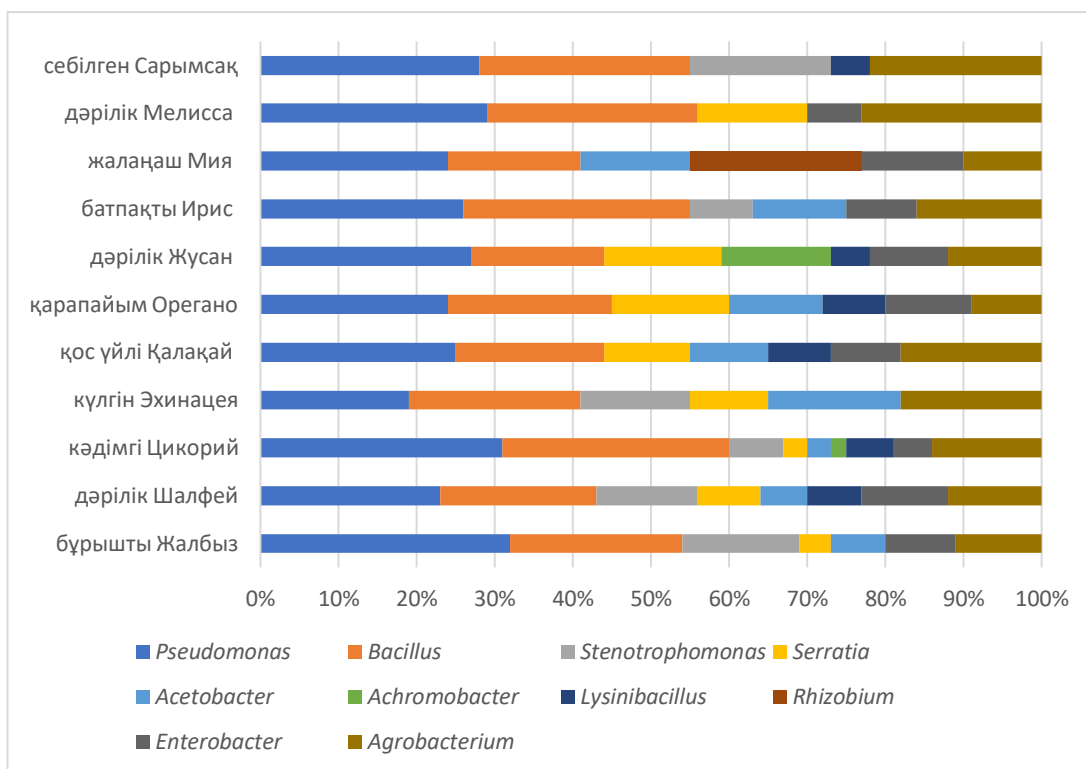
егістік сарымсақ (<i>Allium sativum</i>)						
тамыр	18	50,00	0,60	7	16,67	0,23
сабақ	9	26,67	0,30	4	13,33	0,13
жалбыз	4	10,00	0,13	2	6,67	0,07
гүл	3	9,17	0,07	1	1,19	0,05

Өсімдіктердің жер асты бөлігіндегі изоляттардың саны жер үстіндегіге қарағанда едәуір жоғары екендігі анықталды. Жүргізілген зерттеулердің нәтижесі бойынша эндофиттердің ең жоғары тығыздығы тамырларда анықталды және тамыр тіндерінен сабақтарға және басқа да жер үсті мүшелеріне қарай микроорганизмдермен шоғырлану көрсеткішінің төмендеуі байқалды. Өсімдік мүшелеріндегі эндофитті бактериялардың таралуын келесі ретпен көрсетуге болады: тамырлар (201 изолят) > сабақтар (101) > жапырақтар (65) > гүлдер (19). Айта кету керек, бұл ерекшелік бактерияларға да, микромицеттерге де тән: тамырлар (93 изолят) > сабақтар (47) > жапырақтар (18) > гүлдер (2). Ұқсас нәтижелерді бірқатар авторлар шөптесін өсімдіктердің эндофитті микроорганизмдерін зерттеу кезінде алды [141]. Өсімдіктердің әртүрлі мүшелерінде эндофитті микромицеттердің таралуындағы мұндай ерекшеліктер бірнеше себептерге байланысты болуы мүмкін. Оңай қол жетімді субстраттың негізгі көзі тамырлар мен олардың экссудаттары болып табылады, сондықтан тамыр жүйесін саңырауқұлақтардың көптеген түрлеріне қолайлы салыстырмалы түрде тұрақты тіршілік ету ортасы ретінде қарастыруға болады. Сонымен қатар, кептіру, ультракүлгін сәулесі және қоректік заттардың жетіспеушілігі сияқты қолайсыз факторлар, ең алдымен, өсімдіктердің жер үсті мүшелеріне әсер етеді, бұл, өз кезегінде, тамырлармен салыстырғанда жапырақтар және сабақтардың сирек қоныстануына себеп болуы мүмкін [142;143]. Тағы бір себебі, ауадағы саңырауқұлақтардың саны топырақпен салыстырғанда айтарлықтай төмен болуы жер үсті мүшелерінің аз колонизациясын тудыруы мүмкін [144].

Зерттелетін өсімдіктерден бөліп алынған эндофитті изоляттардың таксономиялық құрылымы бактериялардың 10 туысымен (*Pseudomonas*, *Bacillus*, *Stenotrophomonas*, *Serratia*, *Acetobacter*, *Achromobacter*, *Enterobacter*, *Agrobacterium*, *Lysinibacillus* және *Rhizobium*) және микромицеттердің 8 туысымен (*Penicillium*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Trichoderma*, *Cladosporium*, *Rhodotorula*, *Aureobasidium*, *Metschnikowia*) көрсетілді (3, 4-суреттер).

Өсімдіктердің белгілі бір микроорганизмдердің эндосфераға селективті енуіне байланысты жеке бірегей микробиомы бар екені белгілі. Зерттеу нәтижелері бойынша барлық өсімдіктердің құрамында *Pseudomonas*, *Bacillus* және *Agrobacterium* туыстарының өкілдері кездеседі. *Achromobacter* туысының эндофитті бактериялары тек дәрілік жусан мен кәдімгі цикорийден

табылды, ал *Rhizobium* туысының өкілдері тек жалаңаш мия тамырынан оқшауланған (3-сурет).

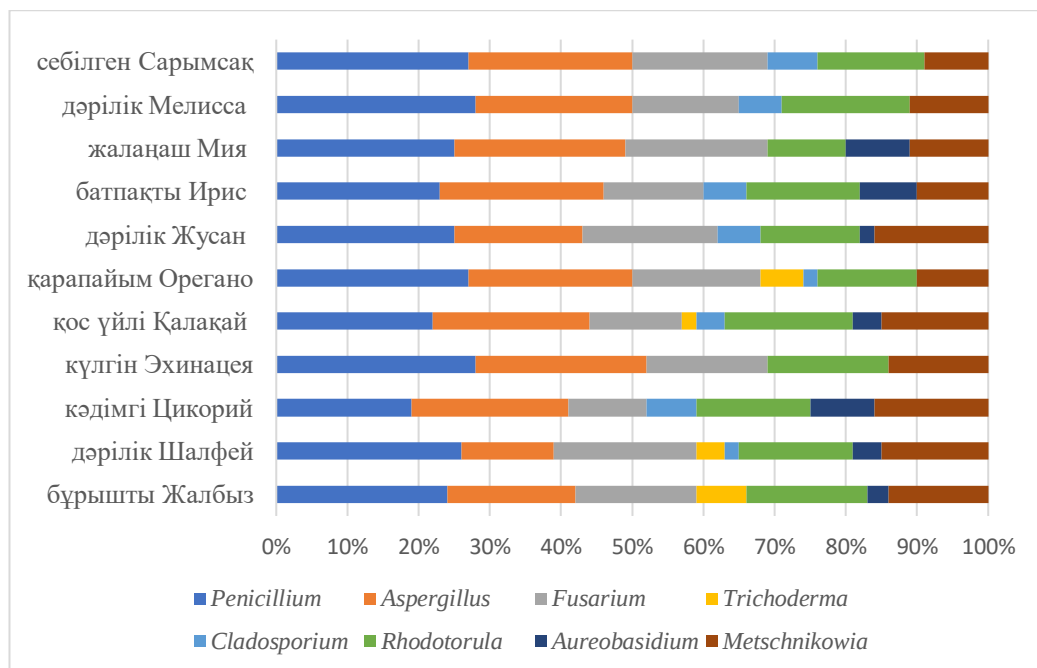


Сурет 3 – Дәрілік өсімдіктердің эндофитті бактериялық ассоциацияларының таксономиялық құрылымы

Ең үлкен таксономиялық алуантүрлілік кәдімгі шалфей мен дәрілік цикорий өсімдіктеріне тән. Бұл өсімдіктерде бактериялардың саны 9-ға жетті, ал қалған өсімдіктерде анықталған туыстардың саны төмен және 7-ден аспады.

Эндофиттік ассоциациялардың негізгі құрамдас бөлігі *Pseudomonas* туысының бактериялары, олардың саны өсімдік түріне байланысты 19-32% аралығын қамтыды. *Bacillus agrobacterium* бактерияларының саны да жоғары көрсеткішті көрсетті, олар сәйкесінше 17-ден 29% - ға дейін және 9-дан 23% - ға дейін болды.

Микромицет ассоциацияларының құрылымындағы ең үлкен үлесті *Penicillium* туысының өкілдері алды (19-28%). Олардың ең жоғары шоғырлану деңгейі күлгін эхинацея және дәрілік мелисса өсімдіктерінде анықталған (4-сурет). *Penicillium* туысының өкілдерінің таралу жиілігі олардың ферменттік жүйесінің алуантүрлілігіне байланысты болуы мүмкін [145-146].



Сурет 4 – Дәрілік өсімдіктердегі эндофитті микромицет ассоциацияларының таксономиялық құрылымы

Микромицет ассоциацияларының маңызды құрамдас бөлігін *Aspergillus* туысының саңырауқұлақтары қамтыды, олардың құрамы 13-тен 24% - ға дейінгі аралықта болды, ал *Fusarium* туысының өкілдері барлық талданатын өсімдіктердің 11-20% - ға дейінгі диапазонында анықталды (4-сурет).

Trichoderma және *Cladosporium* туысының өкілдері мицелий саңырауқұлақтарының эндофиттік ассоциацияларының құрылымында ең аз үлесті алды, олардың салыстырмалы саны 7%-дан аспады. Зерттелетін өсімдіктерде *Trichoderma* тектес саңырауқұлақтар біркелкі таралмады, олардың үлесі 2-ден 7%-ға дейін болды. Бұл туыстың өкілдері жалбыз, шалфей, қалақай және ореганомен оқшауланған. Көптеген өсімдіктерде қара түсті мицелийі бар *Cladosporium* саңырауқұлақтары табылды. *Cladosporium* саңырауқұлақтарының салыстырмалы мөлшері өсімдік үлгісіне байланысты 2-ден 7% - ға дейін өзгерді (4-сурет).

Өсімдіктерден оқшауланған ашытқылардың арасында *Rhodotorula* (11-18%) мен *Metschnikowia* (9-16%) туыстарының өкілдері басым болды. *Aureobasidium* ашытқыларының үлесі айтарлықтай төмен көрсеткіште (2 – 9%) анықталды (4-сурет).

Сонымен, дәрілік өсімдіктердің эндофитті микроорганизмдерінің сандық құрамы мен таксономиялық құрылымын зерттеу кезінде олардың таралуының бірқатар ерекшеліктері мен заңдылықтары көрсетілді:

- өсімдік мүшелерінде эндофиттердің біркелкі емес таралуы анықталды, оны келесі ретпен көрсетуге болады: тамырлар > сабақтар > жапырақтар > гүлдер;

- эндофиттердің ең жоғарғы колонизациясы бұрышты жалбыз, кәдімгі цикорий, кәдімгі орегано және егістік сарымсаққа тән болды, ең төменгі колонизация – екі үйлі қалақай өсімдігіне тән;

- эндофитті микробтық ассоциациятардың құрылымында бактериялардың ең көп үлесі – *Penicillium* мен *Aspergillus*, ал микромицеттердің арасында *Pseudomonas* пен *Bacillus* туыстарына тән.

Зерттеушілердің эндофиттік микроорганизмдердің алуантүрлілігі мен атқаратын қызметіне қызығушылығының артуының басты себебі – өсімдіктермен тұрақты қарым-қатынас орнататын эндофиттер көбінесе өсудің тамаша стимуляторлары және патогенді бақылаудың биологиялық агенттері бола алатындығында [40]. Осындай кең таралған механизмдерге эндофитті микроорганизмдердің фунгицидтік белсенділігі, галотолеранттылығы, фосфатты мобилизациялау және фитогармондарды синтездеу қабілеті жатады.

Диссертациялық жұмыстың келесі кезеңі агрономиялық құнды қасиеттері бар эндофитті штамдардың скринингін жүргізуге арналады.

3.1.2 Агрономиялық құнды қасиеттері бар эндофитті штамдардың скринингі

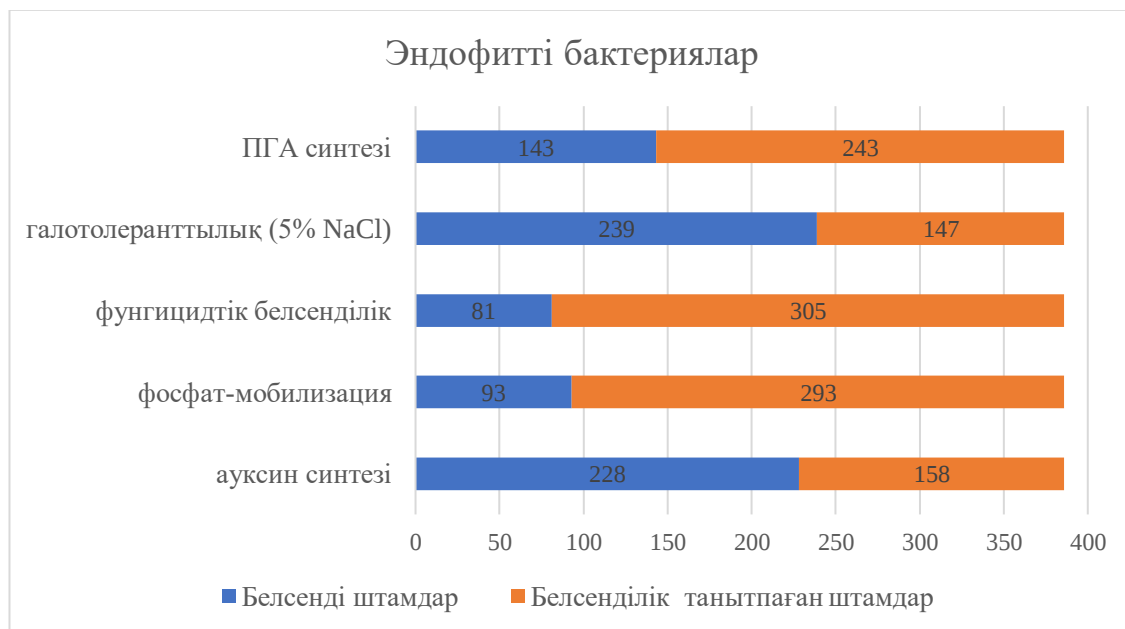
Өсімдіктердің өсуін жақсарту және оларды қолайсыз факторлардан қорғау үшін микроорганизмдердің оңтайлы қасиеттерін қолдану мақсатында келесі кешенді жұмыстар атқарылды. Аталған мәселені шешу үшін жұмыстың осы кезеңінде агрономиялық құнды қасиеттері бар штамдарға скрининг жүргізілді.

Эндофитті микроорганизмдер келесі механизмдерді жүзеге асыру арқылы өсімдіктерге бірқатар оң әсер ететіні белгілі: фитогормондар мен сигналдық молекулалардың синтезі, қоректік заттардың қолжетімділігін арттыру, өсімдіктерді абиотикалық стресс факторларынан қорғау, фитопатогендерді биобақылау, топырақ құнарлылығына әсері, жүйелік төзімділік индукциясы [147;148].

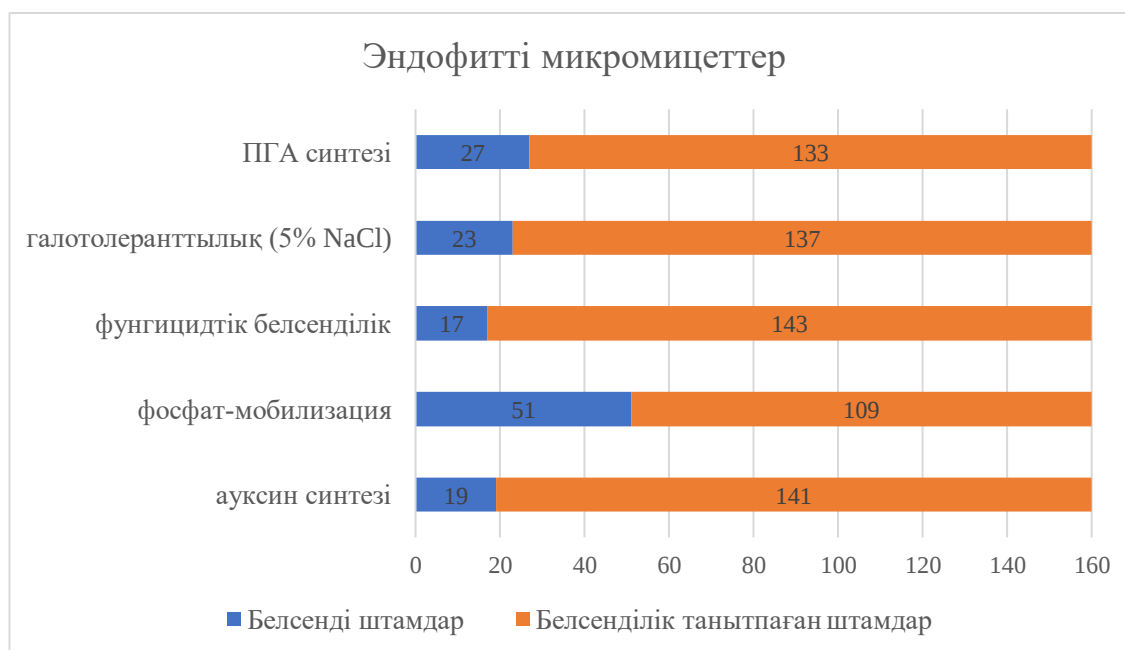
Микроорганизмдердің өсімдіктердің өсуін жақсарту мен реттеудің маңызды механизмдерінің бірі олардың әртүрлі фитогормондарды синтездеу қабілеті болып табылады. Микроорганизмдерді қолдану нәтижесінде өсімдіктердің өсуін ынталандыру олардың ауксиндерді, негізінен ИСК синтездеу, қабілетімен байланыстырады. ИСК өндірісі өсімдіктің тамыр жүйесінің архитектурасының өзгеруіне әкеледі (негізгі және бүйірлік тамырлардың ұзындығының, тамыр түктерінің тығыздығының, тамыр бетінің ауданының және олардың биомассасының жиналуының артуы), бұл судың сіңуіне және топырақтан микро және макронутриенттерді тұтынуды жақсартуға көмектеседі [149]. Эндофитті микроорганизмдердің штамдарындағы ауксинді синтездеу қабілетін анықтау Сальковский реагентінің көмегімен жүзеге асырылды және, зерттелетін штамдар арасында фитогармонды синтездеу қабілеті біркелкі таралмағандығы дәлелденді. Нәтижесінде ауксин синтездеу қабілетіне ие 228 бактерия анықталды. Бұл

эндофитті бактериялардың жалпы санының 59% - на сәйкес келеді. Микромицеттер ИСК фитогормонын синтездеу қабілетін айтарлықтай төмен көрсетті (микромицет штамдарының жалпы санының 12%). Тиісті деректер 5-суретте көрсетілген.

А)



Ә)



Сурет 5 – Агрономиялық құнды қасиеттері бар штамдар саны
А) эндофитті бактериялар; Ә) эндофитті микромицеттер

Микроорганизмдер қоректік заттардың қолжетімділігін арттыру арқылы өсімдіктердің өсуі мен дамуына әсерін тигізеді [147;148]. Топырақтағы фосфордың қолжетімділігі оның ерімейтін түрде болуына байланысты өте шектеулі болғандықтан, өсімдіктердің фосформен қоректенуін жақсарту үшін топырақ фосфорының ерімейтін қосылыстарын өсімдіктерге қол жетімді түрге мобилизациялауға қабілетті микроорганизмдер қолданылады [149]. Құрамында Са-фосфаты бар Пиковскийдің тығыз қоректік ортасында эндофитті микроорганизмдер дақылдарының өсуімен бастапқыда бұлыңғыр ортада колониялардың айналасында гало аймақтарының қалыптасуы байқалды, бұл штамдарда Р-мобилизациялау белсенділігінің болуын көрсетті. Зерттелген 546 эндофиттің ішінен Р-мобилизациялау қабілеті бактериялардың 24% және микромицеттердің 32% - на тән екені анықталды (5-сурет).

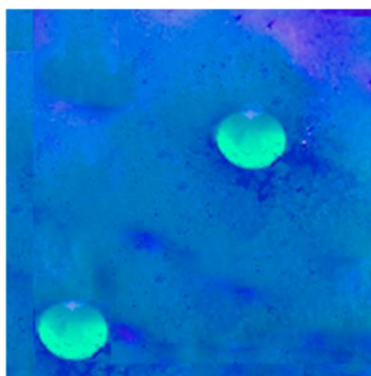
Микроорганизмдердің өсімдіктерге тигізетін оң әсерлерінің кешеніне олардың өсімдіктерді қоршаған ортаның қолайсыз биотикалық және абиотикалық факторларынан қорғау қабілеті жатады [147;148].

Биотикалық табиғаттың қолайсыз факторларының ішінде фитопатогендік микрофлора өте маңызды. Патогендік саңырауқұлақтардан туындаған өсімдік инфекциялары ең кең таралған және зиянды болып табылады, өйткені олар егіннің мөлшерін азайтып қана қоймай, сонымен қатар микотоксиндердің жинақталуы арқылы оның сапасын айтарлықтай төмендетеді. Эндофиттердің агродақылдарға оң әсерінің бірі-өсімдіктердің жүйелік төзімділігін индукциялауды қамтитын тікелей және жанама механизмдер арқылы өсімдіктерді фитопатогендерден қорғау қабілеті, элиситорлық белсенділік, микробқа қарсы қасиеттері бар гидролитикалық ферменттер мен екіншілік метаболиттерді өндіру, гормондардың синтезі және қоректік заттарды тұтынуға әсері жатады. Эндофитті штамдардың антагонистік белсенділігін зерттеу *Fusarium solani* және *Fusarium oxysporum* фитопатогенді саңырауқұлақтардың дамуын тежейтін бактериялық штамдарының үлесі эндофитті бактериялардың жалпы санының 21%-н құрайтынын көрсетті. Эндофитті микромицеттердің ішінде аталған белсенділік 17 штамда ғана анықталды (5-сурет).

Топырақтың тұздануы өсімдіктердің өнімділігіне теріс әсер беретін абиотикалық сипаттағы маңызды стресстердің бірі болып табылады. Тұзға төзімді өсуді ынталандыратын микроорганизмдерді қолдану стрессті жеңілдетуге және тұзды топырақта өсірілген дақылдардың төзімділігін арттыруға ықпал етуі мүмкін. Галотолерантты микроорганизмдер тудырған өсімдіктердің тұзды стресске бейімделуінің негізінде жатқан механизмдерге тотығу стрессін төмендететін осмопротекторлық заттар мен қосылыстардың синтезі, хабаршылар каскадының қорғаныс сигналдарын күшейтуі, сондай-ақ қорғаныс ақуыздарының ген экспрессиясын реттеу қызметтері кіреді. Галотолеранттылықты зерттеу кезінде анықталған 239 бактериялық изоляттың 18% - ы 10% - дық тұз концентрациясына төзімділікті көрсетті, тек екі бактериялық штамм 15% NaCl бар ортада өсу қабілетіне ие болды. Микромицеттер арасында 23 штамда 5% NaCl төзімділігі анықталды.

Құрамында 5% - дан астам NaCl бар ортада өсуге қабілетті микромицеттік эндофиттер табылған жоқ (5-сурет).

Соңғы жылдары экологиялық тұрақтылық пен жасыл технологияға деген қызығушылықтың артуы инновациялық материалдар мен технологияларды дамыту қажеттілігін тудырады. Полигидроксикапроаттар (ПГА) – құрылымдық жағынан әртүрлі биологиялық ыдырайтын полиэфир қосылыстары-микроорганизмдер арқылы алынған жалғыз биопластик [149]. ПГА екіншілік метаболит ретінде микроорганизмдердің қоршаған ортаға төзімділігін арттыра отырып, стресстік жағдайларда микроорганизмдердің дамуын қолдайтыны белгілі [150]. Сонымен қатар, ПГА патогенді бактерияларға және саңырауқұлақтарға төзімділік қасиеттеріне ие [151-152]. Әр түрлі Грам-оң және Грам-теріс бактериялар, саңырауқұлақтар мен микробалдырлар әртүрлі субстраттарды қолдана отырып, жасушаішілік түйіршіктер түріндегі ПГА-ты синтездеуге қабілетті [153]. Бұл зерттеуде скрининг жүргізу кезінде бактериялық және микромицет штамдарының 37%-да Ніл көгімен боялғаннан кейін ультракүлгін сәулесінің астында ашық көк флуоресценция байқалды [117], өз кезегінде, бұл осы штамдардың ПГА өндіру қабілетінің айқын дәлелі болып табылады (6-сурет).



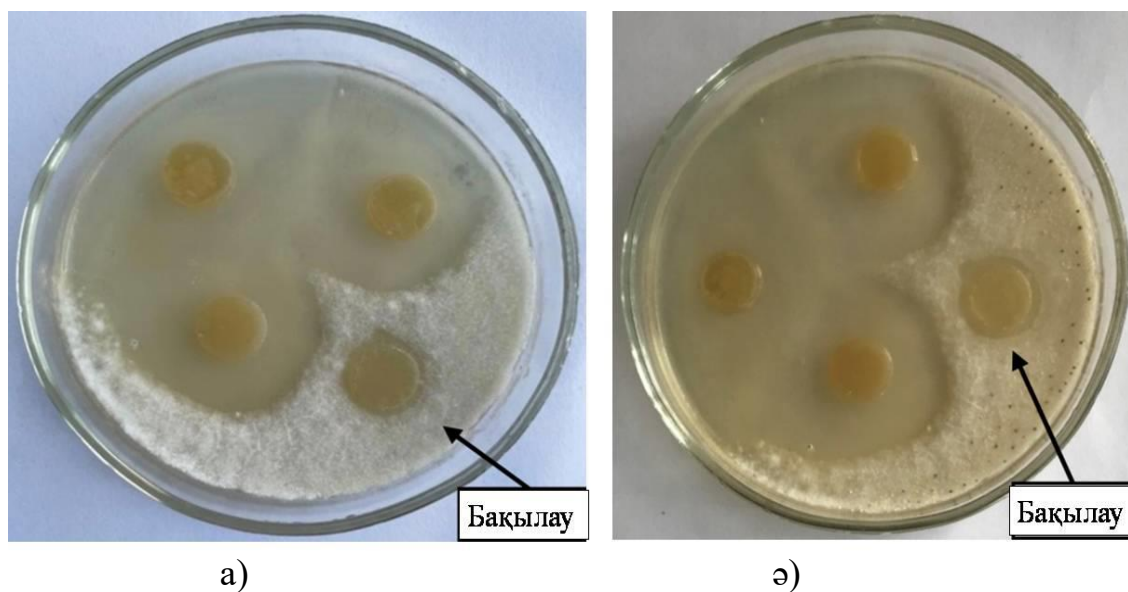
Сурет 6 – Ультракүлгін сәулесінің астындағы ПГА продуценті штамның флуоресценциясы

Дәрілік өсімдіктерден оқшауланған эндофитті микроорганизмдердің кең ауқымды скринингі нәтижесінде 6 штамм таңдалды: *Pseudomonas flavescens* D5, *Bacillus aerophilus* A2, *Serratia proteamaculans* B5, *Peribacillus simplex* B9, *Pseudomonas putida* D7, *Lysinibacillus* sp. S1. Агрономиялық құнды қасиеттері бар штамдарды таңдау критерийі зерттелетін параметрлердің бірі бойынша белсенділіктің айқын көрінісі, сондай-ақ бірнеше биотехнологиялық құнды қасиеттердің болуына негізделді. Таңдалған штамдардың биологиялық белсенділігінің жалпы сипаттамасы 5-кестеде келтірілген.

Кесте 5 – Бактериялық штамдардың агрономиялық құнды қасиеттері

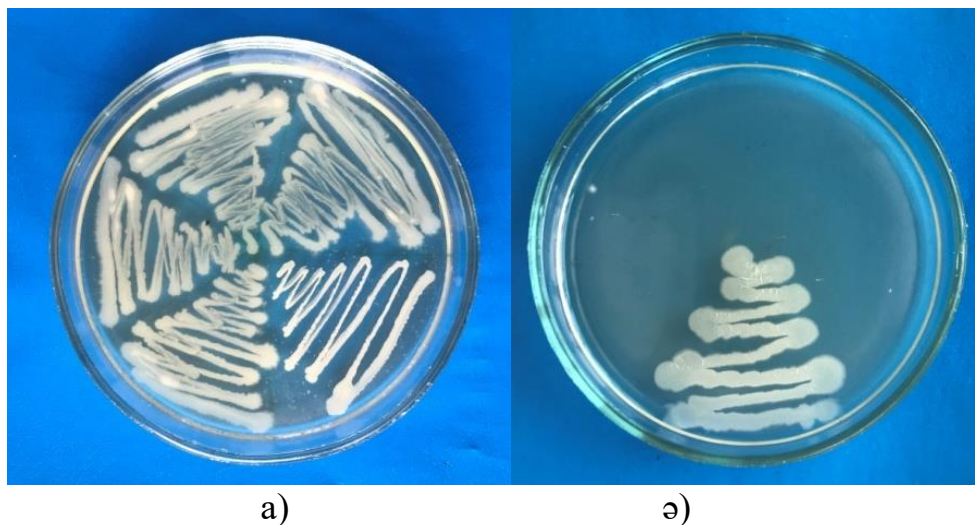
Штамдар	Қасиеттері						
	ИСК, мкг/мл	Фитопатогендердің өсуін тежеу аймағы, см		Галотолерант ылық		Иммобилиз ацияланған фосфордың мөлшері, мкг/мл	ПГА, г/л
		<i>Fusariu m solani</i>	<i>Fusarium oxysporum</i>	5% NaCl	15% NaCl		
<i>Pseudomonas flavescens</i> D5	45.2	-	3.0	+	+	-	2.77 ± 0.07
<i>Bacillus aerophilus</i> A2	52.4	-	-	+	-	-	4.54 ±0.08
<i>Serratia proteamaculans</i> B5	62.7	2.6	-	+	-	57,2±0,4	-
<i>Peribacillus simplex</i> B9	-	2.1	1.8	+	-	-	-
<i>Pseudomonas putida</i> D7	69.2	-	-	+	-	20,1±0,3	-
<i>Lysinibacillus sp.</i> S1	53,3	3.0	2.1	+	+	47,2±0,4	0,214± 0.08
Ескерту: "+" белсенділігі бар штамм; "-" белсенділігі жоқ штамм							

Антагонистік белсенділік 3 штамда анықталды, *Peribacillus simplex* B9 штамы бірден 2 фитопатогенді саңырауқұлаққа фунгицидтік әсерін көрсетті. Фитопатогендердің өсуін тежеу аймағы 1,8-ден 3,0 см-ге дейінгі аралықты қамтыды (5-кесте, 7-сурет).



Сурет 7 – *Fusarium solani* фитопатогенді саңырауқұлағының өсуінің (а) *Peribac. simplex* B9 және (ә) *S. proteamaculans* B5 штамдарымен тежелуі.

Барлық таңдалған штамдарда NaCl 5% мөлшерінде галотолеранттылық қасиеті байқалды. *Ps. flavescens* D5 және *Lysinibacillus* sp. S1 штамдары ғана 15% NaCl төзімділігін көрсетті (5-кесте, 8-сурет).



Сурет 8 – (а) 5% NaCl және (ә) 15% NaCl бар ортада *Ps. flavescens* D5 бактериялық штамының өсуі

Таңдалған штамдарда биологиялық белсенді қосылыстарды (ИСК және ПГА) синтездеу қабілеті және фосфат-мобилизациялау белсенділігі тек сапалық ғана емес, сонымен қатар сандық әдістермен де зерттелді.

Өсімдіктердің өсуін және дамуын ынталандыратын микроорганизмдердің негізгі қасиеттеріне олардың түрлі фитогармондарды синтездеу қабілеттері жатады [149]. Көптеген эндофитті микроорганизмдер ауксинді өсімдіктің ризосфералық аймағына синтездей отыра, оның клеткаларының созылуы арқылы өсуін ынталандырады [43].

Іріктелген штамдардың арасынан ИСК өндіруге *Peribac. simplex* B9 штамынан басқа барлық таңдалған бактериялар қабілетті болды (5-кесте). ИСК-ның ең жоғары концентрациясы *Ps. putida* D7 штамында (69.2 мкг/мл) анықталды. Өндірілетін ИСК мөлшері штамға байланысты 45.2-ден 69.2 мкг/мл-ге дейін өзгерді, бұл көрсеткіш басқа эндофитті бактериялық штамдарымен салыстырғанда айтарлықтай жоғары болып табылады. Мысалы, Chanclud E. және оның әріптестерінің зерттеу нәтижелері бойынша дәрілік өсімдіктерден оқшауланған эндофитті микроорганизмдердің арасында ИСК синтездеу қабілетінің ең жоғары көрсеткіші *B. subtilis* FZB24 бактериясына тән және 39.7 мкг/мл құрады [45].

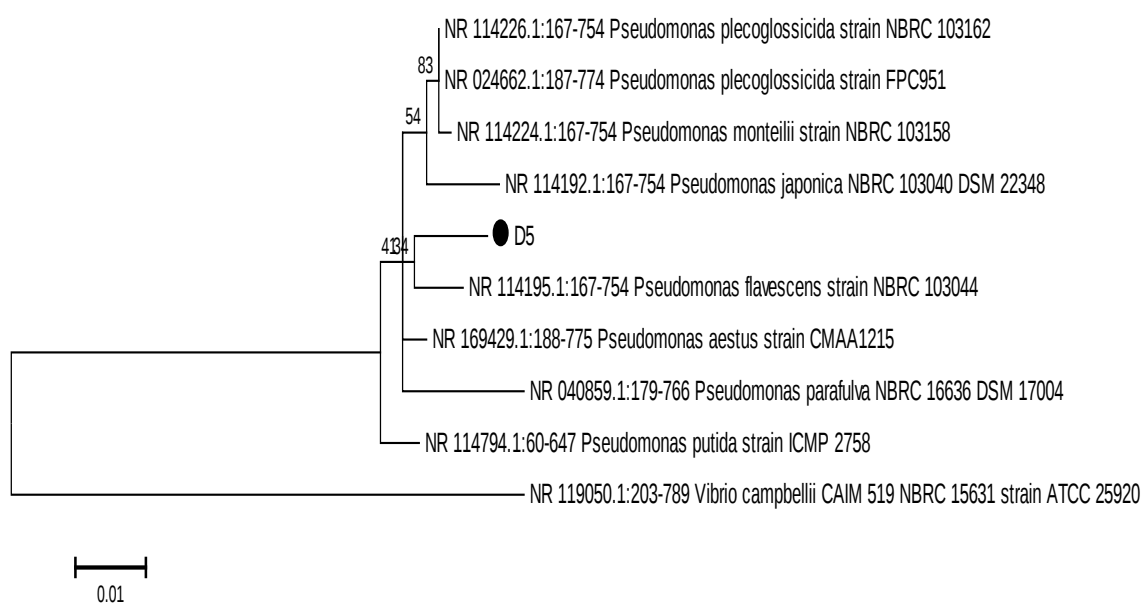
Микроорганизмдер өсімдіктердің өсуін және дамуын қоректік заттардың қолжетімділігін арттыру арқылы жүзеге асыруы мүмкін [69]. Топырақтағы фосфордың биожетімділігі оның ерімейтін түрде болуына байланысты өте шектеулі болғандықтан, өсімдіктердің фосформен қоректенуін жақсарту үшін фосфорды мобилизациялауға қабілетті микроорганизмдер қолданылады [70].

Зерттеу барысында фосфорды мобилизациялау белсенділігі іріктелген микроорганизмдердің арасындағы 2 штамда анықталды: *S. proteamaculans* B5 және *Ps. putida* D7. Са-фосфатты еріту процесінде мобилизацияланған Р мөлшері тиісінше $57,2 \pm 1,4$ және $20,1 \pm 0,3$ мкг/мл құрады (5-кесте). Эндофитті микроорганизмдердің фосфорды мобилизациялау қабілеті олардың топыраққа әртүрлі қышқылдарды (лимон, сүт, глюкон, алма, сірке) синтездей отыра, ортаның рН төмендету қабілетіне байланысты болуы мүмкін. Бұл механизм *Pseudomonas fluorescens* CHA0 штамында кеңінен зерттелген [75].

Жұмыстың келесі кезеңінде микроорганизмдердің көміртегі көзі ретінде әртүрлі субстраттарды қолдана отырып, жасушаішілік түйіршіктер түріндегі ПГА-ты синтездеу қабілеті зерттелді. Нәтижесінде 3 эндофиттік штамм ПГА-ты өндіруге қабілеттілігін көрсетті. Синтезделген полимердің мөлшері 2,77-ден 4,54 г/л-ге дейінгі аралықты қамтыды (5-кесте).

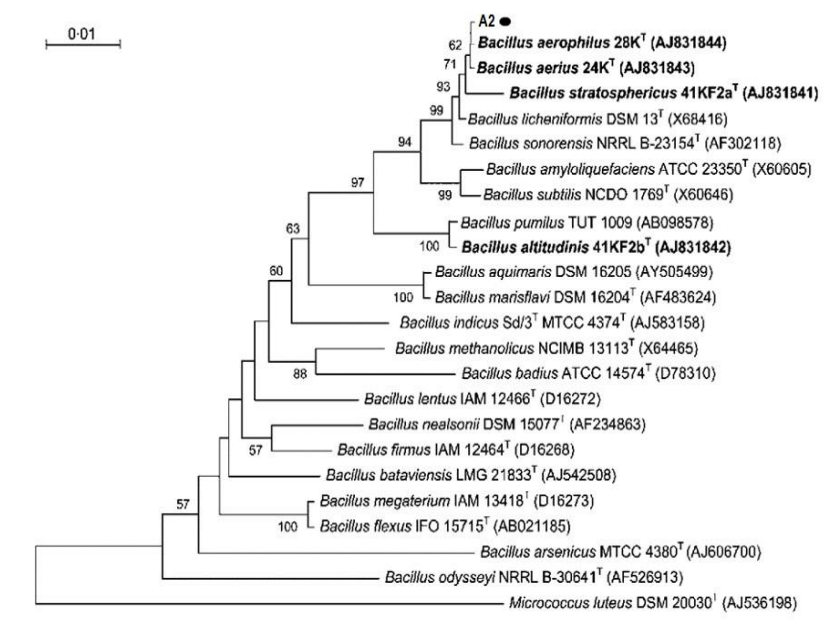
Келесі кезеңде таңдалған штамдардың алдын ала дақылдық-морфологиялық идентификация нәтижелерін нақтылау үшін 16S рРНК гендерінің тізбегіне молекулалық-генетикалық талдау жүргізілді.

Ps. flavescens D5 эндофиттік штамының гомологиясының максималды деңгейі *Ps. flavescens* strain NBRC штамымен анықталды-99,47%. Алынған нәтижелер бойынша штамм *Ps. flavescens* түріне жататындығы дәлелденді (9-сурет).



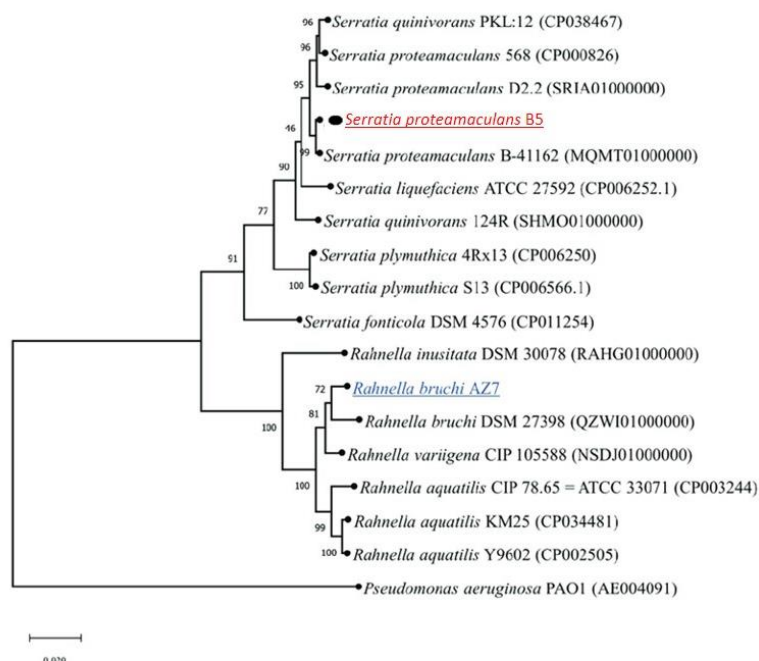
Сурет 9 – *Ps. flavescens* D5 штамының филогенетикалық ағашы және бір-бірімен тығыз байланысты түрлердің типтік штамдары

B. aerophilus A2 эндофиттік штамм гомологиясының максималды деңгейі *B. aerophilus* strain AJ831844 штамымен анықталды-99,95%. Жүргізілген молекулалық-генетикалық және дақылдық морфологиялық зерттеулер нәтижесі бойынша штамм *B. aerophilus* түріне жатқызылды (10-сурет).



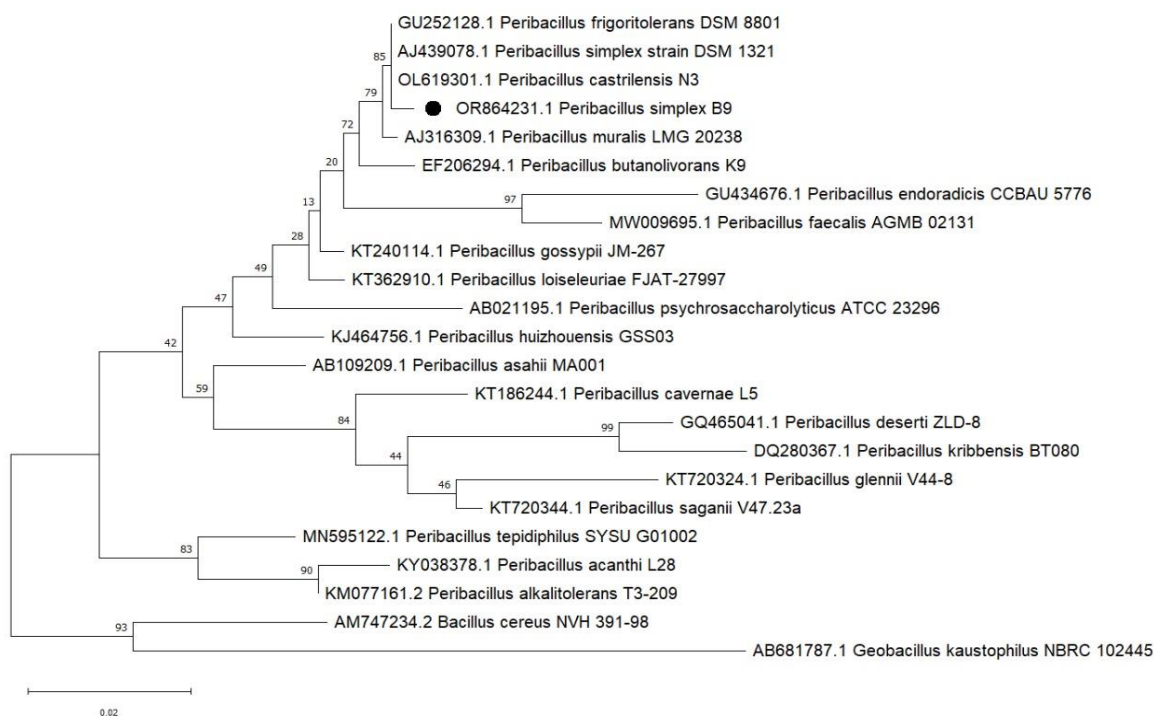
Сурет 10 – *B. aerophilus* A2 штамының филогенетикалық ағашы және бір-бірімен тығыз байланысты түрлердің типтік штамдары

Serratia proteamaculans B5 эндофиттік штамм гомологиясының максималды деңгейі *Serratia proteamaculans* AZ4 штамымен анықталды-95 %. Жүзеге асырылған дақылдық-морфологиялық және молекулалық-генетикалық талдаулар B5 штамын *Serratia proteamaculans* түріне жатқызуға болатынын дәлелдеді (11-сурет).



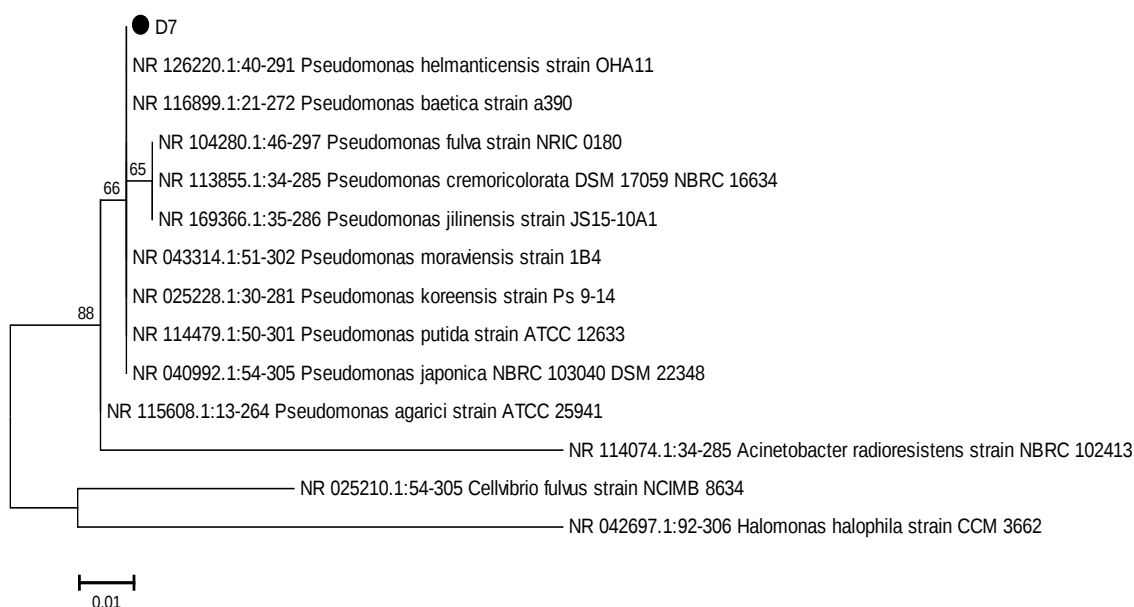
Сурет 11 – *Serratia proteamaculans* B5 штамының филогенетикалық ағашы және бір-бірімен тығыз байланысты түрлердің типтік штамдары

Peribacillus simplex B9 эндофиттік штамм гомологиясының максималды деңгейі *Peribacillus strain* T3-209 штамымен анықталды-99%. Жүзеге асырылған дақылдық-морфологиялық және молекулалық-генетикалық талдаулар B9 штамын *Peribacillus simplex* түріне жатқызуға болатынын дәлелдеді (12-сурет).



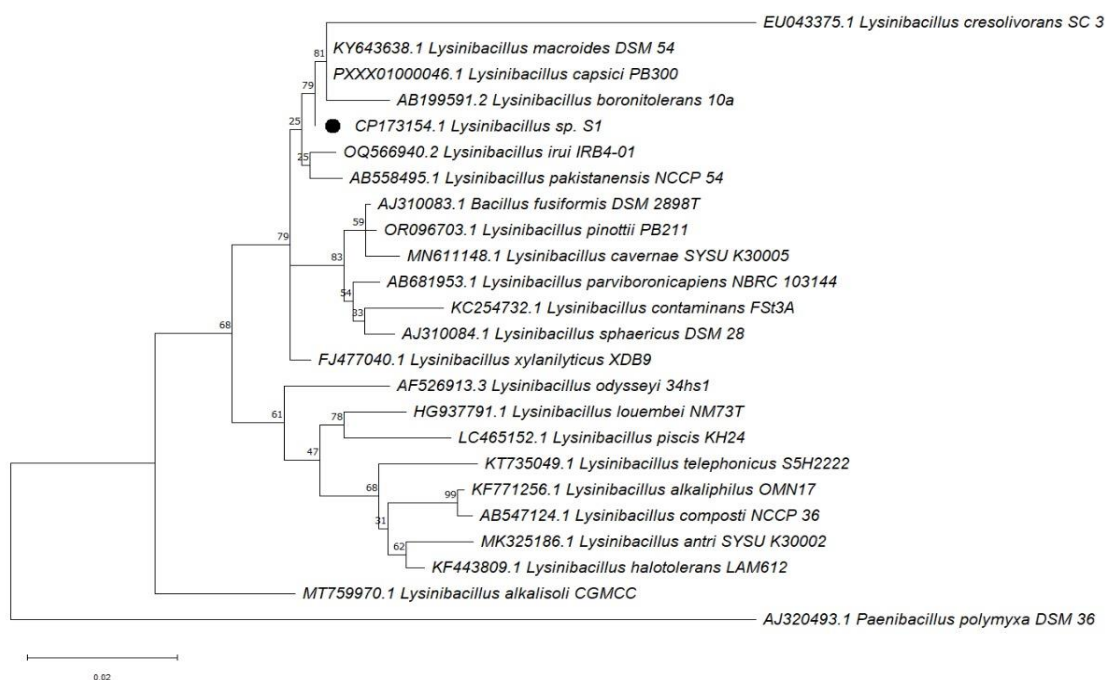
Сурет 12 – *Peribacillus simplex* B9 штамының филогенетикалық ағашы және бір-бірімен тығыз байланысты түрлердің типтік штамдары

Pseudomonas putida D7 эндофиттік штамы гомологиясының максималды деңгейі *Pseudomonas putida* strain ATCC 12633 штамымен анықталды-96,60% (13-сурет).



Сурет 13 – *Pseudomonas putida* D7 штамының филогенетикалық ағашы және бір-бірімен тығыз байланысты түрлердің типтік штамдары

S1 штамының *Lysinibacillus macrolides* және *Lysinibacillus boronitolerans* сияқты типтік штамдары болды. Бұл оның *Lysinibacillus* туысына жататынын көрсетеді. Алайда, S1 және типтік штамдар арасында алшақтықтың болмауы нәтижесінде штамды түр деңгейінде идентификациялауға мүмкіндік болмады (14-сурет).



Сурет 14 – *Lysinibacillus* sp. S1 штамының филогенетикалық ағашы және бір-бірімен тығыз байланысты түрлердің типтік штамдары

Ауыл шаруашылығындағы көптеген дақылдардың өсуі мен өнімділігі құрғақшылық, тұздану, ауыр металдар, температуралық ауытқулардың әсерінен шектеліп отыр. Эндофитті микроорганизмдер өсімдіктердің тіршілік кезеңінде маңызды рөл атқарады; олар өсімдік организмнің көптеген физиологиялық және биохимиялық процестеріне әсер ете алады, соның ішінде өсімдіктердің абиогендік экологиялық стресс факторларының әсеріне төзімділігін жоғарылатуға қабілетті [155]. Сондықтан эндофитті микроорганизмдердің ауыл шаруашылығындағы атқаратын ролін тереңінен зерттеу өзекті мәселелердің бірі болып табылады.

3.2 Эндофитті микроорганизмдер мен олардың метаболиттерінің ауыл шаруашылығындағы қолданысы

Қазіргі таңда халықтың санының көбеюіне байланысты азық-түлік өндірісіне қойылатын талаптардың жоғарылауы байқалуда, ал әртүрлі қолайсыз факторлар егіннің мөлшерінің төмендеуіне себеп болып отыр. Негізгі азық-түлік дақылдарының (бидай, күріш, жүгері, арпа, картоп және

сояны қоса алғанда) шығыны жаһандық бағалау бойынша 17,2% - дан 30,0% - ға дейінгі аралықты қамтиды.

Бұл мәселені шешудің бүгінгі таңдағы стратегиясы инновациялық тиімді әдіс – өсімдіктердің өсуіне ықпал ететін микроорганизмдерді қолдану [154-156]. Бұл микроорганизмдер өсімдіктердің абиотикалық стресске төзімділігін тудырады, сонымен қатар бірнеше оңтайлы әсерін тигізеді: (1) ауксиндердің синтезі, негізінен индолил-3-сірке қышқылы (ИСК), осы өсімдіктердің өсуіне тікелей ықпал етеді; (2) антиоксидантты ферменттердің белсенділігіне әсері (каталаза, супероксид дисмутаза және пероксидаза), бұл оттегінің белсенді түрлерінің зиянды әсерін болдырмайды; (3) өсімдік жасушаларының құрамын түзетін және өсімдіктердің тургор қысымын төмендететін пролиннің құрамына әсері; (4) өсімдіктердің өсуін тікелей жақсартатын қоректік заттардың қолжетімділігін арттыру; (5) стресстен әлсіреген өсімдіктерді топырақ патогендерінен қорғайтын антагонистік белсенділік; және (6) 1-аминоциклопропан-1-карбоксилат (АЦК) дезаминазасының синтезі, ол өсімдіктердегі АЦК мен этилен деңгейін төмендетеді, осылайша өсімдіктердің стресстен туындаған кері әсерін азайтады [147;148].

Өсімдіктер әртүрлі даму кезеңдерінде қолайсыз факторларға ұшырайды, сондықтан өсімдіктердің өсуін тиімді ынталандыруды және олардың қорғауын қамтамасыз ету үшін түрлі өңдеу жасалады (15-сурет). Егіс материалының сапасын сонымен қатар егістікте тұқымның өнуін жоғарлату мақсатында тұқымды себуге дейінгі өңдеудің түрлі нұсқаларын қолданылады [157-158]. Өсу процесінде өсімдіктер қолайсыз факторларға ұшырайды (фитопатогендер, топырақтың тұздануы, құрғақшылық және т.б.), сондықтан қорғауды қамтамасыз ету үшін препараттармен жапырақтарды бүрку немесе топырақты өңдеу түрінде пайдаланады [159]. Сонымен қатар, піскен жемістер мен көкөністер фитопатогендермен колонизациялануы мүмкін; сондықтан егін жинауға дейін немесе жинаудан кейін өсімдіктерді қосымша қорғау қажет [160-161].



Сурет 15 – Өсімдіктердің өсуі мен дамуын ынталандыру мақсатында эндофитті микроорганизмдерді және олардың метаболиттерін қолдану

Зерттеудің осы кезеңінде эндофитті микроорганизмдер және олардың биологиялық белсенді заттарын қолданудың үш нұсқасы зерттелді:

- 1) Өсімдіктерді өсіру барысында тұзды стресс жағдайын тудыра отырып, топыраққа эндофитті бактерияларды енгізу.
- 2) Өсімдіктерді фитопатогендерден қорғау үшін тұқымдарды инокуляциялау алдындағы өңдеу жүргізу.
- 3) Алмаларды сақтау кезінде оларды жеміс жинаудан кейінгі инфекциялардан қорғау үшін бактериялық штамдар өндіретін ПГА пайдалану.

3.2.1 *Pseudomonas flavescens* D5 топыраққа енгізу – тұзды топырақ

Тұздың әр түрлі концентрациясын (3, 4, 5, 6 г/кг топырақ) қолдана отырып, әртүрлі көрсеткіштер (ұзындығы мен массасы сабақтар/тамырлар, пролин, хлорофилл, антиоксидантты ферменттер, элементтік құрам) зерттелді.

Тұзды стресс дақылдардың өсуіне, дамуына және өнімділігіне, сондай-ақ егін сапасына әсер ететін негізгі факторлардың біріне жатады. ФАО мәліметтері бойынша, дүние жүзіндегі егістік топырақтың 3% - дан астамы және дүние жүзіндегі жер қойнауының 6% - дан астамы тұздануға бейім [162]. Тұзды стресске ұшыраған өсімдіктерде олардың өсуі мен дамуына кедергі келтіретін бірқатар морфологиялық, физиологиялық және молекулалық өзгерістер бар. Сонымен, тұздың жоғары концентрациясы ферменттердің белсенділігіне, саңылаулардың өткізгіштігіне және фотосинтез жылдамдығына әсер етеді.

Жұмыстың осы кезеңінде галотолерантты бактериялардың тұзды стресс жағдайындағы арпа өсімдіктерін қорғау және олардың өсуін ынталандыру қабілеті зерттелді.

Скрининг барысында NaCl 15% және NaCl 10% концентрациясында өсуге қабілетті *Ps. flavescens* D5 және *Lysinibacillus* sp. S1 бактериялық штамдары іріктеп алынды.

Галофилдер бірнеше топқа бөлінеді: ортадағы тұз концентрациясы 3% болған кезде қалыпты өсуге қабілетті (әлсіз), орташа тұзға төзімді микроорганизмдер тұз концентрациясы 3-15% диапазонында болған кезде өсуге қабілетті және экстремалды галофилдер тұздың концентрациясы 25% болған кезде өсуге қабілетті [36]. Осы классификацияға сәйкес *Ps. flavescens* D5 және *Lysinibacillus* sp. S1 штамдары қалыпты галофилдер тобына жатқызылды [163-164].

Таңдалған штамдардың агрономиялық құнды қасиеттерін зерттеу барысында олардың ИСКҚ өндіру қабілеті анықталды. *Ps. flavescens* D5 штамы ИСКҚ мөлшерін 45,2 мкг/мл және *Lysinibacillus* sp. S1 штамы 53,3 мкг/мл көлемінде синтездейді (3-кесте). Бұл концентрация бұрын тіркелген өсуді ынталандыратын галотолерантты бактериялар синтездейтін ИСКҚ мәндерінен 1,6-2,8 есе жоғары болды [165-167].

Келесі этапта арпа өсімдігіне NaCl 3, 4, 5, 6 г/кг концентрациясындағы уытты әсері кезіндегі штамдардың қорғаныстық қасиеті зерттелді.

Тұзды стресс кезінде арпа өсімдіктерінің сабақтары мен тамырларының ұзындығына *Ps. flavescens* D5 және *Lysinibacillus* sp. S1 штамдарының оң әсері байқалды. Сабақ пен тамырдың ұзындығы бақылау нұсқаларымен салыстырғанда едәуір жоғары екені анықталды (6-кесте).

Кесте 6 – Тұзды стресс жағдайында эндофитті бактериялармен инокуляциялаудың арпа өсімдіктерінің өсу параметрлеріне әсері.

Нұсқа		Сабақ биомассасы, г	Тамыр биомассасы, г	Сабақ ұзындығы, см	Тамыр ұзындығы, см
NaCl жоқ ортада	Бақылау	5.49 ± 0.17	2.35 ± 0.17	19.7 ± 0.7	15.2 ± 0.5
	<i>Ps. flavescens</i> D5	6.21 ± 0.18	3.45 ± 0.14	22.9 ± 0.9	18.1 ± 0.7
	<i>Lysinibacillus</i> sp S1	6,58 ± 0,15	3,87 ± 0,08	23,5 ± 0,5	19,1 ± 0,8
NaCl 3 г/кг	Бақылау	4.12 ± 0.11	1.87 ± 0.09	16.2 ± 0.7	11.4 ± 1.7
	<i>Ps. flavescens</i> D5	4.75 ± 0.14	2.25 ± 0.09	21.5 ± 1.4	17.9 ± 1.1
	<i>Lysinibacillus</i> sp. S1	4,88 ± 0,12	2,34 ± 0,1	21,2 ± 1,1	18, 7 ± 0,8

NaCl 4 г/кг	Бақылау	3.54 ± 0.1	1.71 ± 0.04	14.5 ± 1.1	10.1 ± 1.3
	<i>Ps. flavescens</i> D5	3.88 ± 0.05	1.92 ± 0.05	20.2 ± 1.5	16.5 ± 1.1
	<i>Lysinibacillus</i> <i>sp. S1</i>	$4,21 \pm 0,2$	$2,15 \pm 0,06$	$22,3 \pm 1,1$	$17,8 \pm 0,5$
NaCl 5 г/кг	Бақылау	3.36 ± 0.1	1.67 ± 0.05	13.2 ± 1.0	9.2 ± 0.9
	<i>Ps. flavescens</i> D5	3.9 ± 0.12	1.85 ± 0.04	18.8 ± 1.5	15.6 ± 0.9
	<i>Lysinibacillus</i> <i>sp. S1</i>	$4,3 \pm 0,1$	$2,1 \pm 0,04$	$21,3 \pm 0,7$	$17,8 \pm 0,4$
NaCl 6 г/кг	Бақылау	2.78 ± 0.14	1.53 ± 0.03	12.5 ± 1.1	8.7 ± 0.7
	<i>Ps. flavescens</i> D5	3.62 ± 0.18	1.64 ± 0.02	16.5 ± 0.9	14.1 ± 1
	<i>Lysinibacillus</i> <i>sp. S1</i>	$3,9 \pm 0,12$	$1,75 \pm 0,03$	$18,1 \pm 0,5$	$16,4 \pm 0,9$

Тұз концентрациясының жоғарылауымен уытты әсер күшейе түсті. Қатты стресске ұшыраған өсімдіктерде өсудің айтарлықтай тежелуі байқалды. *Ps. flavescens* D5 және *Lysinibacillus sp. S1* штамдарымен инокуляцияланған өсімдіктердің өңделмеген өсімдіктермен салыстырғанда өсу параметрлері айтарлықтай жоғары болды. Өсімдіктердің сабақтарының биомассасы 8-30% - ға, ал тамыр биомассасы 7-20% - ға жоғарылады (6-кесте). Ұқсас нәтижелер алдыңғы жүргізілген зерттеулерде [15;16] ұсынылды, тұзды стресс жағдайындағы (*Glycine Max L.*) өсімдігін *Pseudomonas* штамдарымен инокуляциялау барысында өсімдіктің өсу параметрлерінің жақсарғаны байқалған.

Жапырақтардағы фотосинтетикалық пигменттердің саны дақылдың стресске төзімділігінің жанама көрсеткіші болып табылады [168-169], хлорофилл өсімдіктердің қоршаған орта жағдайларына бейімделуіне жауапты, сонымен қатар қоршаған ортаның стресс факторларының әсерінен өзгеріп отырады, яғни өсімдіктің өсу жағдайларына реакциясын көрсетеді [170]. Фотосинтетикалық жүйенің тұрақтылығын қамтамасыз ететін *a/b* хлорофилл қатынасының және хлорофиллдің жалпы құрамының төмендеуі өсімдіктердің фотосинтетикалық белсенділігінің өзгеруінің дәлелі болып табылады [171].

Арпаны *Ps. flavescens* D5 және *Lysinibacillus sp. S1* штамдарымен инокуляциялау, өңделмеген өсімдіктермен салыстырғанда хлорофилл *a* және *b* деңгейін жоғарылатты. Зерттеу нәтижелері бойынша хлорофилл құрамында біршама айырмашылықтар анықталды. Хлорофилл *a* және *b* ең жоғары мөлшері NaCl қатысуымен 3 г/кг топырақ концентрациясында байқалды (7-кесте). Осыған дейін жүргізілген зерттеулер нәтижелерінде де стресстік жағдайларда өсімдіктерді инокуляциялау арқылы қызанақ, соя және күріштегі хлорофилл пигменттерінің концентрациясының жоғарылауы байқалған [172-173].

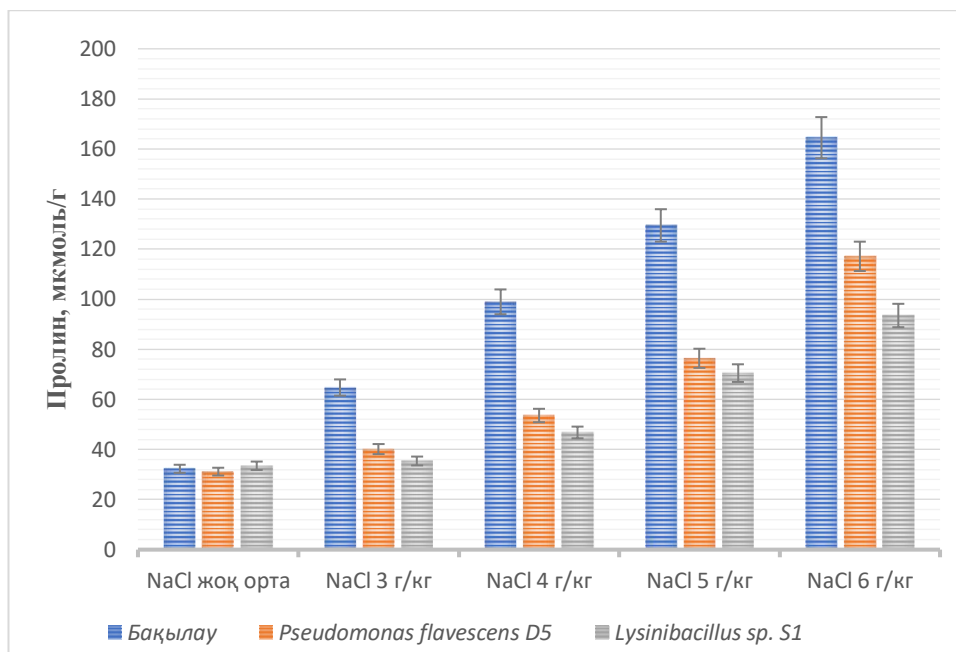
Кесте 7 – Тұзды стресс жағдайындағы эндофитті бактериялармен инокуляцияланған арпа өсімдіктеріндегі хлорофиллдің мөлшері.

Нұсқа		Хлорофилл <i>a</i> , мг/г	Хлорофилл <i>b</i> , мг/г
NaCl жоқ ортада	Бақылау	2.19 ± 0.02	1.18 ± 0.02
	<i>Ps. flavescens</i> D5	2.37 ± 0.01	1.56 ± 0.02
	<i>Lysinibacillus sp.</i> S1	2,4 ± 0.02	1,61 ± 0.02
NaCl 3 г/кг	Бақылау	1.44 ± 0.03	0.80 ± 0.02
	<i>Ps. flavescens</i> D5	1.71 ± 0.01	0.92 ± 0.03
	<i>Lysinibacillus sp.</i> S1	1,75 ± 0.03	0,99 ± 0.02
NaCl 4 г/кг	Бақылау	1.02 ± 0.01	0.76 ± 0.03
	<i>Ps. flavescens</i> D5	1.55 ± 0.02	0.86 ± 0.01
	<i>Lysinibacillus sp.</i> S1	1,6 ± 0.01	0,93 ± 0.02
NaCl 5 г/кг	Бақылау	0.90 ± 0.02	0.67 ± 0.01
	<i>Ps. flavescens</i> D5	1.35 ± 0.03	0.72 ± 0.03
	<i>Lysinibacillus sp.</i> S1	1,41 ± 0.02	0,75± 0.01
NaCl 6 г/кг	Бақылау	0.79 ± 0.04	0.62 ± 0.02
	<i>Ps. flavescens</i> D5	1.15 ± 0.02	0.69 ± 0.01
	<i>Lysinibacillus sp.</i> S1	1,21 ± 0.02	0,75± 0.01

Пролин концентрациясының жоғарылауы стресстік жағдайларда өсімдіктердің бейімделуінің бірінші кезеңін қамтамасыз ететін реакциялардың бірі болып табылады. Топырақтың тұздануы кезінде өсімдіктер су тапшылығына ұшырайды; пролин-жасушаның осмостық потенциалын реттейтін ең кең таралған осмолиттердің бірі [174]. Сонымен қатар, J. H. Venekamp [175] стресс жағдайында пролиннің түзілуі цитозолдың рН реттелу тәсілі деп санайды.

Көптеген зерттеу жұмыстарында пролиннің түзілуі мен өсімдіктердің стресстерге төзімділігі арасындағы байланыс дәлелденген. Алайда, қарама-қарсы әсерлер де тіркелген. Мұндай байланыстың түрі әдістемелік себептерге (әртүрлі эксперименттердегі стресстік әсерлердің күші) және пролиннің басқа да стресстік жүйелермен, атап айтқанда ферментативті жүйемен күрделі өзара әрекеттесуіне байланысты болуы мүмкін.

Тұзды топырақ жағдайында жүргізілген зерттеулерде пролиннің инокуляцияланбаған өсімдіктердегі концентрациясы қалыпты жағдайда өсірілген өсімдіктермен салыстырғанда 2,1-5,3 есе асып, 164,5 мкмоль/г шикі массаға жетті.



Сурет 16 – Эндофитті бактериялармен инокуляциялаудың тұзды стресс жағдайындағы арпа өсімдіктеріндегі пролин құрамына әсері

Ps. flavescens D5 және *Lysinibacillus* sp. S1 бактерияларымен өңделген өсімдіктердегі пролин мөлшері өңделмеген өсімдіктермен салыстырғанда 1,5–2,2 есе төмен және 35,4 – 117,1 мкмоль/г диапазонын қамтиды (16-сурет). Тиісті деректер МаһаАбдallah және оның әріптестерінің зерттеу нәтижелерінде де алынған [174]. Сонымен, тұзды стресс жағдайында *B. subtilis* бактериясымен инокуляцияланған ноқат өсімдіктеріндегі пролин мөлшері инокуляцияланбаған нұсқалармен салыстырғанда 2,9 есе төмен болғаны анықталған.

Микроорганизмдер оттегінің улы түрлерін сіңіру арқылы ферменттерді денатурациядан қорғайды және стрессті жеңілдетеді, сол себепті өсімдіктердің клеткаларының зақымдану қауіпі төмендейді. Алынған нәтижелер өсімдіктерді бактериялық штамдармен инокуляциялау оларды стресстік жағдайлардан қорғаудың тиімді әдісі болып табылатынын дәлелдейді.

Тұзды стресс оттегінің белсенді формаларының (ОБФ) өндірісін арттыру және жасуша мембраналарын, ақуыздарды, липидтерді және нуклеин қышқылдарын зақымдау арқылы тотығу стресін тудыратыны белгілі [177-178]. Каталаза, аскорбатпероксидаза және гваяколпероксидаза сияқты ферменттер өсімдіктерді антиоксидантты қорғаудың негізгі компоненттері ретінде қарастырылады. Сонымен қатар, әртүрлі антиоксидантты ферменттер ОБФ өндірісі мен сіңірілуіндегі тепе-теңдікті сақтауға көмектеседі және бұл ферменттердің белсенділігінің жоғарылауы стресстік факторлардың әсерін төмендетеді [177;178].

Ps. flavescens D5 және *Lysinibacillus* sp. S1 штамдарымен өңделген өсімдіктерде өңделмеген нұсқалармен салыстырғанда каталаза

антиоксидантты ферментінің концентрациясы 1,4–7,4 есе жоғары болғаны анықталды (8-кесте).

Кесте 8 – Эндофитті бактериялармен инокуляциялаудың тұзды стресс жағдайында арпа өсімдіктеріндегі антиоксидантты ферменттердің белсенділігіне әсері

Нұсқа		Каталаза, мкмоль мин ⁻¹ мг белка ⁻¹	Аскорбатпероксидаз а, мкмоль мин ⁻¹ мг белок ⁻¹	Гваяколпероксидаза, мкмоль мин ⁻¹ мг белок ⁻¹
NaCl жоқ орта	Бақылау	0.046 ± 0.001	7.2 ± 0.3	12.3 ± 0.5
	<i>Ps. flavescens</i> D5	0.049 ± 0.001	7.4 ± 0.2	12.6 ± 0.4
	<i>Lysinibacillus sp. S1</i>	0.048 ± 0.001	7.3 ± 0.2	12.7 ± 0.3
NaCl 3 г/кг	Бақылау	0.087 ± 0.002	4.6 ± 0.2	13.13 ± 0.6
	<i>Ps. flavescens</i> D5	0.12 ± 0.003	9.2 ± 0.4	27.1 ± 0.7
	<i>Lysinibacillus sp. S1</i>	0.15 ± 0.002	10.1 ± 0.3	30.4 ± 1.2
NaCl 4 г/кг	Бақылау	0.065 ± 0.001	5.75 ± 0.2	16.26 ± 0.6
	<i>Ps. flavescens</i> D5	0.23 ± 0.01	16.05 ± 0.7	34.1 ± 1.7
	<i>Lysinibacillus sp. S1</i>	0.33 ± 0.002	18.2 ± 0.6	39.2 ± 1.5
NaCl 5 г/кг	Бақылау	0.063 ± 0.003	6.3 ± 0.2	23.1 ± 0.8
	<i>Ps. flavescens</i> D5	0.38 ± 0.005	12.7 ± 0.5	29.2 ± 1.1
	<i>Lysinibacillus sp. S1</i>	0.44 ± 0.01	14.4 ± 0.3	33.7 ± 1.5
NaCl 6 г/кг	Бақылау	0.058 ± 0.002	8.04 ± 0.3	20.3 ± 0.7
	<i>Ps. flavescens</i> D5	0.37 ± 0.01	10.75 ± 0.4	25.3 ± 1.1
	<i>Lysinibacillus sp. S1</i>	0.43 ± 0.005	12.5 ± 0.3	29.4 ± 0.8

Бақылау өсімдіктерімен салыстырғанда тұзды стресс жағдайында өсетін инокуляцияланған өсімдіктердегі аскорбат пероксидаза мөлшерінің жоғарылауы (1,3-3,1 есе) көрсетілген. Инокуляцияланған өсімдіктер ферменттерінің белсенділігінің ең жоғары көрсеткіші 4 г/кг NaCl тұзының концентрациясында анықталды (8-кесте).

Инокуляцияланбаған өсімдіктердегі гваяколпероксидаза белсенділігінің жоғарылауы топырақтағы NaCl концентрациясының жоғарылауына байланысты (8-кесте). Бақылау үлгілерімен салыстырғанда тұзды топырақта өсетін инокуляцияланған өсімдіктердегі фермент белсенділігінің 1,2-2,4 есе көрсеткіште артуы анықталды.

Осы зерттеуде топырақты *Ps. flavescens* D5 және *Lysinibacillus sp. S1* штамдарымен өңдеу тұзды стресс жағдайында өсірілген арпа өсімдіктеріндегі

каталаза, аскорбат пероксидаза және гваяколпероксидаза белсенділігін арттырды, бұл өсімдіктердің тұз стресіне төзімділігін қамтамасыз етудегі атап өтілген штамдардың рөлін растайды. Алынған мәліметтерге сәйкес нәтижелер *A. terreus* эндофитінің қатысуымен жүгері және күріш өсімдіктерінде антиоксидантты ферменттер, соның ішінде каталаза, аскорбат пероксидаза, супероксиддисмутаза және гваяколпероксидаза белсенділігінің 5-28% - ға жоғарылауы көрсетілген. Каталаза мен аскорбат пероксидаза белсенділігі NaCl концентрациясының жоғарылауымен айтарлықтай өскен [179]. Сондай-ақ, *B. subtilis* 26D және *B. subtilis* 11VM бактерияларының тұзды стресске ұшыраған өсімдіктерге қорғаныс әсері анықталған. Нәтижелер бойынша, тұзды стресс жағдайында *B. subtilis* 26D және *B. subtilis* 11VM штамдарымен өңделген өсімдіктерде каталаза белсенділігі 5-23% - ға, ал пероксидаза белсенділігі 48,5% - ға дейін жоғарылаған [177]. Кейбір зерттеулерде өсімдіктердің әртүрлі антиоксидантты ферменттері (аскорбат пероксидазасы, каталаза және гваяколпероксидаза) гендерінің шамадан тыс экспрессиялануы олардың тұзды стресске төзімділігін тудыруына байланысты болатыны дәлелденген. Мұндай қорғаныс механизмі ОБФ-ның баяу дезактивациялануымен немесе төмен молекулалы антиоксиданттардың регенерациясына қатысуымен түсіндірілуі мүмкін [176].

Зерттеу жұмысында *Ps. flavescens* D5 және *Lysinibacillus sp.* S1 эндофитті штамдардың каталаза, аскорбат пероксидаза және гваяколпероксидаза белсенділігін арттыру арқылы өсімдіктердің әртүрлі NaCl концентрацияларына төзімділігін қамтамасыз етудегі рөлі алғаш рет көрсетілген.

Тұздану тек тотығуға ғана емес, сонымен қатар Na^+ және Cl^- иондарының шамадан тыс жиналуына байланысты осмостық стресске әкелетіні белгілі.

Бұл зерттеуде топырақтағы NaCl концентрациясының жоғарылауы Na иондарының көбеюіне және өсімдіктердегі K иондарының төмендеуіне алып келді (9-кесте). Тұзды топырақта өсетін инокуляцияланған өсімдіктерде Na мөлшері бақылау өсімдіктерімен салыстырғанда айтарлықтай төмен болды. Сонымен, *Ps. flavescens* D5 штамымен инокуляцияланған өсімдіктерде NaCl концентрациясы 3 г/кг топырақта Na мөлшері 42,1% - ға; NaCl концентрациясы 4, 5, 6 г/кг топырақта өңделмеген үлгілермен салыстырғанда 54,8%, 23,7% және 2,5% - ға аз болды. *Lysinibacillus sp.* штамы топыраққа енгізілген кезде де жоғарыда келтірілген нәтижеге ұқсас әсер анықталды. *Lysinibacillus sp.* S1 штамы топырақтағы NaCl концентрациясына байланысты өсімдіктердегі Na иондарының 4-52% төмендеуі байқалды.

Кесте 9 – Эндофитті бактериялармен инокуляциялаудың тұзды стресс жағдайында арпа өсімдіктеріндегі элементтердің құрамына әсері.

Нұсқа		Элементтердің құрамы, $\times 10^3$ мг кг ⁻¹				
		Na ⁺	K ⁺	Ca ²⁺	Mn ²⁺	Fe ³⁺
NaCl жоқ ортада	Бақылау	2.9 ± 0.03	30.4 ± 1.9	7.2 ± 0.71	4.1 ± 0.62	0.13 ± 0.02
	<i>Ps. flavescent</i> D5	3.0 ± 0.04	33.8 ± 1.6	8.2 ± 0.12	4.6 ± 0.69	0.19 ± 0.03
	<i>Lysinibacillus</i> sp. S1	2.8 ± 0.02	31.4 ± 1.5	7.7 ± 0.5	4.2 ± 0.56	0.15 ± 0.01
NaCl 3 г/кг	Бақылау	3.8 ± 0.06	23.6 ± 1.8	4.5 ± 0.07	5.2 ± 0.76	0.12 ± 0.03
	<i>Ps. flavescent</i> D5	1.6 ± 0.02	24.4 ± 1.6	6.3 ± 0.09	5.6 ± 0.98	0.16 ± 0.02
	<i>Lysinibacillus</i> sp. S1	1.7 ± 0.01	25.3 ± 1.5	6.6 ± 0.05	5.1 ± 0.51	0.14 ± 0.01
NaCl 4 г/кг	Бақылау	5.4 ± 0.08	27.3 ± 1.0	3.99 ± 0.05	5.4 ± 0.82	0.16 ± 0.02
	<i>Ps. flavescent</i> D5	2.96 ± 0.03	29.8 ± 1.2	4.3 ± 0.03	4.9 ± 0.29	0.13 ± 0.02
	<i>Lysinibacillus</i> sp. S1	2.63 ± 0.02	26.4 ± 0.2	4.5 ± 0.02	5.21 ± 0.15	0.17 ± 0.01
NaCl 5 г/кг	Бақылау	7.6 ± 0.01	26.6 ± 1.7	3.7 ± 0.05	6.6 ± 0.10	0.13 ± 0.02
	<i>Ps. flavescent</i> D5	5.8 ± 0.08	28.5 ± 1.4	4.3 ± 0.04	5.8 ± 0.87	0.15 ± 0.02
	<i>Lysinibacillus</i> sp. S1	5.4 ± 0.05	29.4 ± 0.7	5.1 ± 0.05	6.2 ± 0.82	0.11 ± 0.03
NaCl 6 г/кг	Бақылау	7.8 ± 0.01	29.3 ± 1.3	3.9 ± 0.05	4.6 ± 0.10	0.17 ± 0.02
	<i>Ps. flavescent</i> D5	7.6 ± 0.01	34.9 ± 1.4	6.3 ± 0.53	5.8 ± 0.12	0.15 ± 0.02
	<i>Lysinibacillus</i> sp. S1	7.4 ± 0.01	33.8 ± 0.5	5.8 ± 0.02	5.2 ± 0.1	0.18 ± 0.01

Ps. flavescent D5 және *Lysinibacillus* sp. S1 штамдарды енгізу топырақтағы тұз концентрациясы 6 г/кг болатын нұсқаны қоспағанда, өсімдіктердегі K⁺ құрамына әсер етпеді (9-кесте). Na ағыны мен K ағынын азайту өсімдіктер үшін тұзды стресті төмендетудің ең маңызды стратегиялары болып табылады [179-180]. Сонымен қатар, Na иондарының әсерінен өсімдіктерде осмостық қысымның төмендеуі, су айналымының нашарлауы, тұқымның өнгіштігінің төмендеуі байқалады [173]. Тұздану Na концентрациясының жоғарылауына және өсімдіктердегі K/Na қатынасының төмен болуына байланысты өсімдіктердің өсуін тежейтіні белгілі. Бірнеше зерттеулер өсуді ынталандыратын бактериялармен инокуляциялау Na-дың артық мөлшерін азайтуға және K концентрациясының жоғарылауына ықпал еткенін, сондай-ақ тұзды стресте иондық гомеостазды сақтағанын көрсетті [180-183].

Бактериялық штамдармен емдеу Ca деңгейінің жоғарылауына ықпал етті. Тұздану өсімдіктердегі Fe және Mn концентрациясына әсер еткен жоқ (9-кесте). Тұздану жағдайында микроэлементтердің концентрациясының жоғарылауы, төмендеуі немесе нейтралды болуы мүмкін екендігі белгілі; бұл

өсімдік тінінің түріне, өсімдіктердің тұзға төзімділігінің айырмашылығына, тұздану деңгейіне, топырақтағы микроэлементтердің концентрациясына және қоршаған орта жағдайларына байланысты [184].

Сонымен, *Ps. flavescens* D5 және *Lysinibacillus* sp. S1 эндофитті галотолерантты штамдары тұзды стресс жағдайында өсімдіктерге пайдалы әсерлер кешенін көрсететіндігі, олардың өсуін жақсартуы және өсімдіктердің қорғаныс механизмдерін күшейту мүмкіндіктері анықталды.

3.2.2 Фунгицидті қасиеттері бар микробтық полигидроксикалканоксидпен жемістерді егін жинаудан кейін өңдеу

Ауылшаруашылық өнімдерін сақтау және тасымалдау кезінде оның саңырауқұлақ ауруларынан болатын жыл сайынғы әлемдік шығындары бірнеше миллиард АҚШ долларына бағаланады. Көптеген елдерде мұндай инфекциялардың өсуіне қолайлы тенденция бар, сондықтан саңырауқұлақтың зиянды әсерін төмендететін технологиялық тәсілдер зерттелуде [185-188]. Вегетациялық кезеңде алма ағаштарының зақымдануы өсімдіктерді қорғаудың әртүрлі әдістерімен сәтті күрескеніне қарамастан, жемістерді сақтау кезінде зақымдануды шектеудің тиімді әдістері жоқ. Жыл сайын байқалатын сақтау шіріктері агрессивтілікті көрсетеді, жоғары бейімделу қабілеттерімен, соның ішінде фунгицидтерге де төзімділігі артады және иесіне қатысты төмен ерекшеліктерге ие. Сақтау кезінде алма жемістерінің ең көп таралған қоздырғыштарының бірі-көк зеңді тудыратын *Penicillium expansum* [189-191]. *P. expansum* адам денсаулығына жағымсыз әсер ететін бірқатар микотоксиндер шығарады, соның ішінде жедел (құрысулар, өкпенің тоқырауы, ісіну, асқазан-ішектен қан кету және т. б.) және созылмалы (мысалы, генотоксикалық, нейротоксикалық, иммуносупрессивті, канцерогендік және тератогендік) белгілер [192].

Зерттеудің осы кезеңі бактериялар синтездейтін ПГА қасиеттерін және оларды сақтау кезінде алма жемістерінің зақымдануына қарсы биологиялық бақылау агенттері ретінде қолдану мүмкіндіктерін зерттеуге арналған. Алманы ПГА көмегімен егін жинаудан кейінгі инфекциялардан қорғаудың инновациялық экологиялық таза әдісі ұсынылды,

ПГА – біршама микроорганизмдер синтездейтін экологиялық таза полиэфирлердің әртүрлі тобы болып табылады. Алайда, олардың мұнай-химия өнімдерінен алынған пластмассамен салыстырғанда жоғары құны ПГА-ты кеңінен өндіру мен коммерциялық қолдануды қиындатады [192;193]. ПГА микроорганизмдердің өсуімен тікелей байланысты өнімдер болғандықтан, бактериялардың тиімді өсуі және олардың ПГА жинақталуы үшін қоректік ортаны оңтайландыру маңызды мәселе болып саналады. Қоректік ортада қолданылатын субстрат ПГА биосинтезінде шешуші рөл атқарады [195].

Осы зерттеуде үш бактериялық эндофиттік штамм (*Ps. flavescens* D5, *Lysinibacillus* sp. S1 және *B. aerophilus* A2) коммерциялық субстрат (глюкоза), өсімдік майы (зәйтүн майы), қант өнеркәсібінің жанама өнімдері (меласса)

және май өнеркәсібінің жанама өнімдері (соапсток) сияқты әртүрлі көміртегі көздері бар ортада өсірілген кезде ПГА өндіру қабілетіне сыналды.

Мелассаның химиялық құрамын зерттеу нәтижелері ондағы қанттың жалпы мөлшері 78,42%, соның ішінде сахароза (41,34%), глюкоза (21,96%) және фруктоза (4,04%) екенін көрсетті. Соапсток құрамы келесідей болды: жалпы май 92,44%, майсыз қоспалар 0,9% құрады.

Әр түрлі көміртегі көздерінің бактериялардың көбеюіне әсерін зерттеу кезінде *Ps. flavescens* D5 және *Lysinibacillus* sp. S1 зәйтүн майы көміртектің жалғыз көзі ретінде пайдаланылған кезде ең жоғары биомасса жинақтайды, ал ең төмен биомасса өнімділігі глюкозаны қолданған кезде анықталды. *B. aerophilus* A2 штамы соапсток қолданылған ортада биомассаның ең жоғары концентрациясына қол жеткізілді (10-кесте).

Кесте 10 – Әртүрлі көміртегі көздерінің бактериялардың көбеюіне және ПГА өндірісіне әсері

Субстрат	<i>Pseudomonas flavescens</i> D5			<i>Lysinibacillus</i> sp. S1		
	Құрғақ биомасса, г/л	ПГА мөлшері, %	ПГА синтезі, г/л	Құрғақ биомасса, г/л	ПГА мөлшері, %	ПГА синтезі, г/л
Глюкоза	3.83 ± 0.19	72.2 ± 3.2	6.2 ± 0.25	3.91 ± 0.19	73.2 ± 3.2	6.2 ± 0.25
Меласса	7.23 ± 0.2	60.8 ± 2.2	6.17 ± 0.18	7.8 ± 0.2	61.8 ± 2.2	4.5 ± 0.18
Соапсток	8.2 ± 0.3	72 ± 2.5	8.3 ± 0.34	8.3 ± 0.3	73 ± 2.5	6.9 ± 0.15

ПГА мөлшері пайдаланылған субстрат пен продуцентке байланысты 37,6-дан 76% - ға дейін кең ауқымда өзгерді (10-кесте). Зерттелетін штамдар ПГА-ты 2,77-ден 5,9 г/л-ге дейін жинады, бұл алдыңғы зерттеулерде айтылған басқа штамдардың мәндерінен (0,1–5,1 г/л) айтарлықтай жоғары [196; 197].

ПГА өнімдерінің ең үлкен мәндеріне субстрат ретінде соапсток пайдаланылған кезде қол жеткізілді (10-кесте). Бұл зерттелетін бактериялық штамдардың биосинтетикалық потенциалын толық жүзеге асыруға мүмкіндік беретін бай көп компонентті құрамның арқасында болуы мүмкін. Микроорганизмдер субстратқа негізделген бірнеше метаболикалық жолдарды, соның ішінде қант алмасуын, май қышқылдарының β-тотығуын және *de novo* май қышқылдарының синтезін қолдана отырып, ПГА синтездейтіні белгілі [198-201]. Осыған дейін ПГА-ты микроорганизмдерден бөліп алу бойынша жүргізілген жұмыстарда да ұқсас нәтижелер алынған [198]. Нәтижелер көміртектің қымбат көздерін меласса және соапсток сияқты арзан субстраттармен алмастыруға болады деген қорытынды жасауға мүмкіндік береді. Осылайша, агроөнеркәсіптік қалдықтар мен жанама өнімдерді бактериялық штамның ПГА биосинтезінде көміртегі көзі ретінде пайдалану ашыту процестерінің құнын айтарлықтай төмендетуі мүмкін.

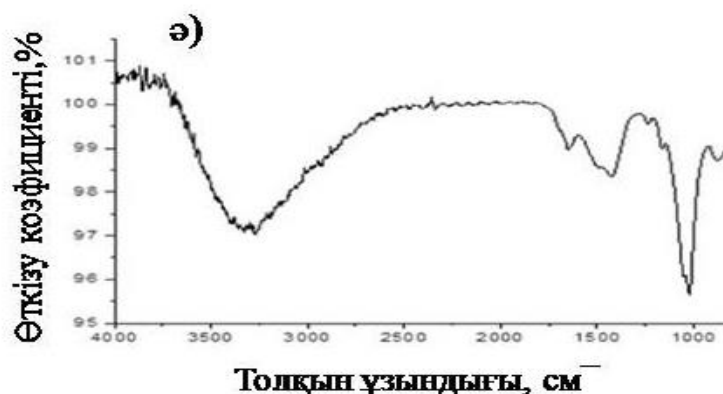
Келесі кезеңде ПГА үлгілерінің физика-химиялық қасиеттері зерттелді. ПГА үлгілерінің химиялық құрамы ИҚ спектроскопиясын қолдану арқылы талданды. *B. aerophilus* A2, *Ps. flavescens* D5 және *Lysinibacillus* sp. S1 көміртегі көзі ретінде құрамында глюкоза, меласса және соапсток бар қоректік орталарда өсірілді. Алынған спектрлік деректерді талдау, содан кейін оларды алдыңғы зерттеулермен және спектрлік мәліметтер базасымен салыстыру көптеген зерттеулерде ПГА-ға тән деп сипатталған бірнеше шыңдарды анықтады (17, 18, 19-суреттер). Барлық ПГА үлгілерінде 1000–нан 3000 см⁻¹-ге дейінгі толқындық сандар диапазонында ұсынылған шыңдардың көпшілігі ПГА аймақтары ретінде белгілі.





Сурет 17 – (а) глюкоза, (ә) меласса, (б) соапсток бар ортада өсіргенде *B. aerophilus* A2 штамынан алынған ПГА үлгілерінің ИҚ спектрлері

13 суретте көрсетілгендей 3250 см^{-1} болатын кең шың О-Н сутегімен байланысқан жолды білдіреді. Карбон қышқылы О-Н-қа тән кең сіңіруді өндіретіні белгілі, сондай-ақ карбонилді созылудың қарқынды сіңірілуін жүзеге асырады. Ерекше күшті болғандықтан сутегі байланысы, карбон қышқылдарында О-Н кең созылу жиілігі шамамен 3000 см^{-1} дейін болады. Бұл кең О-Н сіңіру С-Н созылу аймағындағы шыңдарға тән ісінген пішін береді.

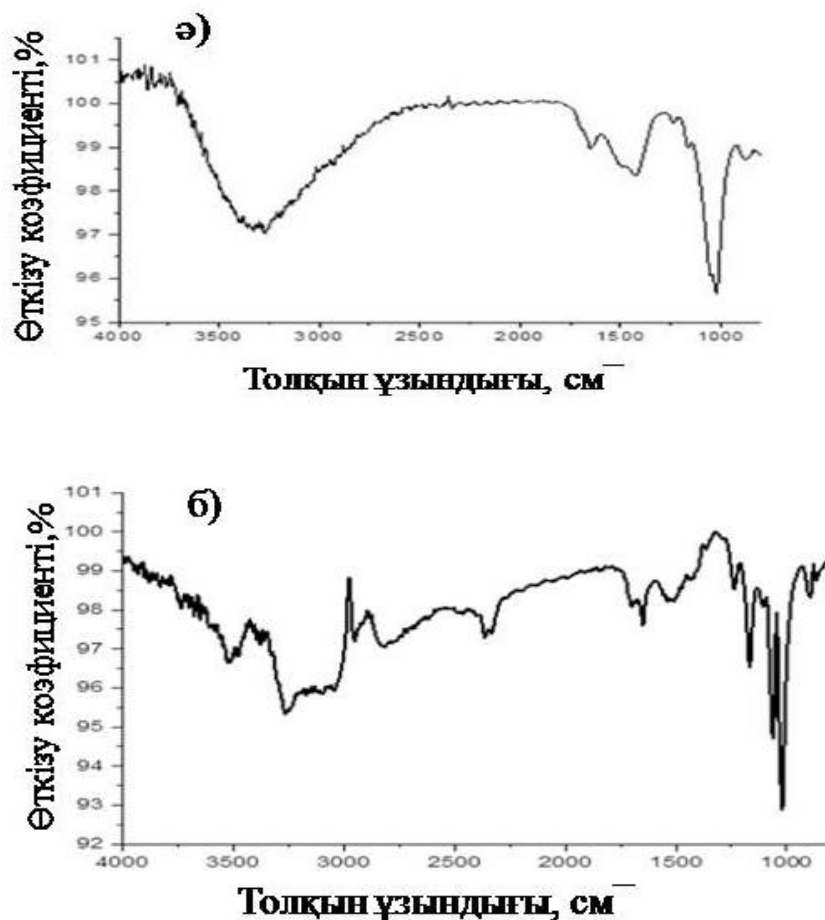




Сурет 18 – (а) глюкоза, (ә) меласса, (б) соапсток бар ортада өсіргенде *Ps. flavescens* D5 штамынан алынған ПГА үлгілерінің ИҚ спектрлері

Эфирлік, метилендік және терминалдык гидроксил топтарында ұсынылған шындар әдетте ПГА полимерлі құрылымын көрсетеді [202]. 1721, 2920 және 3268 cm^{-1} жұтылу шындары сәйкесінше карбонил (C=O), метил (-CH) және гидроксил (-OH) топтарына тән шындар болып табылады. Атап айтқанда, барлық ПГА үлгілері үшін келесі сіңіру жолақтары табылды: 3248 cm^{-1} және 3274 cm^{-1} жолақтары, олар соңғы ОМ тобына сәйкес келеді; Метил және метилен топтарындағы C-H созылуын көрсететін 2932 cm^{-1} және 2951 cm^{-1} жолақтары; эфир тобының C=O созылуына сәйкес келетін 1650 cm^{-1} жолағы; және 1280 cm^{-1} кезінде C-O жолағы. 1648 cm^{-1} жолағы (C=O) карбонил тобының позициясындағы амид тобының созылуын анықтайды, ал сіңіру жолағы 48 cm^{-1} кезінде қант мономерлері арасындағы β -гликозидтік байланысқа сәйкес келуі мүмкін [203].





Сурет 19 – (а) глюкоза, (ә) меласса, (б) соапсток бар ортада өсіргенде *Lysinibacillus sp. S1* штамынан алынған ПГА үлгілерінің ИҚ спектрлері

Ортаға соапсток қосылған кезде *B. aerophilus* A2 штамынан алынған ПГА үлгісінің тек ИҚ–спектрі басқа да әртүрлі пиктерді көрсетті. 2818–2951 cm^{-1} -ге тән жолақ $-\text{CH}_3$ және $-\text{CH}_2$ топтарында $-\text{CH}$ (алкандар) байланыстарының антисимметриялық және симметриялық созылуының болуын көрсетеді (13, 14, 15 сурет). Өндіруші штамды өсіру кезінде қоректік ортаның құрамындағы көміртегі көзі ПГА құрамы мен қасиеттеріне айтарлықтай әсер ететіндігі жайлы бірнеше зерттеулер бар. Naig және т. б. глюкоза, маннитол және қант қамысы мелассасын көміртегі көзі ретінде ортаға қосқан кезде *Bacillus subtilis* штамынан алынған ПГА сипаттамасын зерттеді. Спектрлік деректерді талдау әр түрлі көздері бар ортада продуцентті өсіру кезінде бір полимер алынғанын көрсетті, дегенмен пиктердің қарқындылығы өзгеше болды, оны жоғары реттелген кристалды немесе аморфты құрылыммен түсіндіруге болады [204]. Джаверс пен Карунанити глицерин суы немесе күнбағыс қосылған заттар негізінде конденсацияланған ортада өскен *Pseudomonas putida* KT217 штамынан ПГА үлгілерін алды. Күнбағыс соапстогының қосылуы полимердің мономерлік құрамын өзгертті, атап айтқанда 3-гидроксиоктаноат мономері басым болды [205].

ПГА-тың термиялық қасиеттерін зерттеу үшін дифференциалды термиялық анализатордың көмегімен термогравиметриялық талдау (ТГТ) жүргізілді. Полимерлердің термиялық тұрақтылығын сипаттау үшін салмақтың төмендеуі сәйкесінше 5% және 10% - TD (5%) және Td (10%) болатын температуралар қолданылды. Сондай-ақ, ең төменгі ыдырау температурасы (Tdmin) анықталды. ТГТ нәтижелері 11 кестеде көрсетілген.

Кесте 11 – ПГА үлгілерінің термиялық қасиеттері.

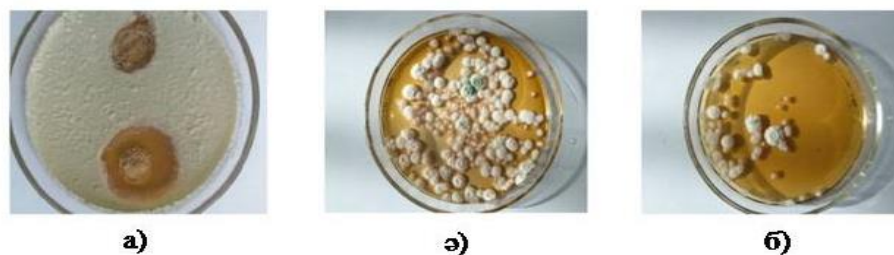
Субстрат	Соңғы деградация кезінде салмақ төмендеуі, T 600 °C, мг/%	Td (5%), °C	Td (10%), °C	Tdmin, °C
<i>Bacillus aerophilus</i> A2				
Глюкоза	–5.8/59	118.1	155	82.7
Меласса	–4.64/38.2	74.0	100.5	32.1
Соапсток	–5.40/40.9	160.5	173.5	103.0
<i>Pseudomonas flavescens</i> D5				
Глюкоза	–4.51/55.0	114.2	147.0	79.9
Меласса	–6.67/55.4	146.0	165.4	77.3
Соапсток	–8.49/60.2	155.0	174.6	85.5
<i>Lysinibacillus</i> sp. S1				
Глюкоза	–6.8/59	119.1	145	79.8
Меласса	–7.64/38.2	84.0	98.5	37.6
Соапсток	–6.40/40.9	161.5	176.5	105.0

ПГА-ның 10% салмақ төмендеуі температура деградациясы 100,5 пен 174,6°C аралығында болды. Tdmin барлық үш субстрат үшін 32,1-ден 103,0 °C-қа дейін болды. *B. aerophilus* A2 штамын соапсток бар ортада өсіру кезінде алынған ПГА үлгісі температурасының жоғарылауына байланысты жоғары термиялық тұрақтылыққа ие болды. Ұқсас нәтижелер *Ps. flavescens* D5 және *Lysinibacillus* sp. S1 штамдарын соапстокта өсіру арқылы алынды. Бұл –CH₃ және –CH₂ топтарындағы антисимметриялық және симметриялық созылу байланыстарын көрсететін әр түрлі қосымша пиктерді көрсеткен ПГА үлгілерінің ИҚ деректер спектрінің ерекшелігіне байланысты болуы мүмкін. Субстрат ретінде мелассасы бар ортада өсірілген *B. aerophilus* A2-ден алынған ПГА үлгілері төмен TD (5%) және Td (10%) температураларына байланысты төмен термиялық тұрақтылықты, сондай-ақ басқа үлгілерге қарағанда төмен температураны көрсетті. Осылайша, 100°C температурада үлгінің ылғал массасының төмендеуі, содан кейін температураның төмендеуімен массаның біртіндеп жоғалуы байқалады (10-кесте).

Жұмыстың келесі кезеңінде *Ps. flavescens* D5, *Lysinibacillus* sp. S1 және *B. aerophilus* A2 штамдары синтездейтін ПГА үлгілерінің антагонистік белсенділігі екі әдіспен зерттелді: агарға диффузия әдісі және колбаларды шайқау әдісі. Әдетте, хитозаннан басқа табиғи полимерлер бактерияға қарсы

белсенділікке ие болмайды. Хитозанның антибактериялдық қасиеті оның құрылымындағы оң зарядталған амин топтарына байланысты [206]. Сондықтан табиғи полимерлер, әсіресе ПГА, көбінесе микробқа қарсы агенттерді қосу үшін полимер матрицалары ретінде зерттеледі [207], ал олардың микробқа қарсы белсенділігі, әсіресе олардың саңырауқұлаққа қарсы белсенділігі дұрыс зерттелмеген.

12-кестеде көрсетілгендей, *B. aerophilus* A2 штамы өндірген ПГА *P. expansum* сынақ дақылына қатысты әлсіз фунгицидтік белсенділікті көрсетті. *Ps. flavescens* D5 және *Lysinibacillus* sp. S1 штамдары өндіретін ПГА үлгілері айқын антагонистік қасиетке ие болды (20-сурет).



Сурет 20 – *Ps. flavescens* D5 штамы өндірген ПГА-ның *P. expansum* саңырауқұлағына қарсы фунгицидтік белсенділігі (а) агарға диффузия әдісі, (ә) колбаларды шайқау әдісі – бақылау, (б) колбаларды шайқау әдісі – ПГА

Ps. flavescens D5 және *Lysinibacillus* sp. S1 штамдары өндіретін ПГА үлгілері *P. expansum*-ға қарсы белсенділік көрсетті, өсудің тежелу аймағы 1,06-дан 1,33 см-ге дейін болды (12-кесте). Колбаларды шайқау барысында ПГА фитопатогеннің өсуінің 62,98–76,18% тежелуін қамтамасыз ететінін және өндіруші штамды өсіру кезінде қоректік ортаның құрамына айтарлықтай тәуелді емес екенін анықталды.

Кесте 12 – ПГА-тың фунгицидтік белсенділігі.

Субстрат	Фунгицидтік белсенділік, %			Өсу аймағының тежелуі, см		
	<i>Ps. flavescens</i> D5	<i>B. aerophilus</i> A2	<i>Lysinibacillus</i> sp. S1	<i>Ps. flavescens</i> D5	<i>B. aerophilus</i> A2	<i>Lysinibacillus</i> sp. S1
Глюкоза	69.27 ± 3	-	73.23 ± 2	1.06 ± 0.02	0.36 ± 0.01	1.1 ± 0.01
Меласса	62.98 ± 2	-	67.45 ± 1.5	1.11 ± 0.01	0.31 ± 0.01	1.17 ± 0.01
Соапсток	73.08 ± 3.2	-	76.18 ± 2.4	1.18 ± 0.02	0.28 ± 0.01	1.26 ± 0.02
"- " белсенділігі анықталмаған.						

ПГА-ның биобақылау белсенділігінің механизмдері микробтық қабырғаның/мембрананың бұзылуымен және трансмембраналық потенциалдың өзгеруімен байланысты болуы мүмкін [208].

ПГА-тың антимикробтық қасиеттері олардың мономерлері мен анионды беттік белсенді заттар ретінде әрекет ететін гидроксил алмастырылған май қышқылдарымен байланысты деп саналады. Олар микробтық жасушаларға сіңіп, олардың өткізгіштігін бұзады және өсуі мен дамуын тежейді. Сонымен қатар, полигидроксibuтираттың микробқа қарсы белсенділігінің болуы көміртегі тізбегінің ұзындығымен байланысты [206].

Осы зерттеуде *Ps. flavescens* D5 және *Lysinibacillus* sp. S1 штамдары өндіретін ПГА, айқын фунгицидтік белсенділікті көрсетті, сондықтан бұл микроорганизмдер келесі *in vivo* эксперименттері үшін пайдаланылды.

Соңғы екі онжылдықта *P. expansum* тудыратын көк алма зеңімен күресудің әртүрлі тиімді әдістері сипатталды. Зертеулердің көпшілігі фитопатогендерді биобақылайтын микроорганизмдер мен олардың метаболиттерін қолдануға арналған [209; 210].

Зерттелетін штамдардың биобақылау агенті ретінде пайдалану мүмкіндігін тексеру үшін алма ағашының жемістерін өндеудің үш нұсқасы зерттелді: ПГА және *P. expansum* фитопатогенімен бір мезгілде инокуляциялау, ПГА-пен фитопатогенді енгізуден 24 сағат алдын профилактикалық емдеу және фитопатогенді инокуляциялауден 24 сағаттан кейін ПГА-пен терапиялық емдеу (21, 22-сурет).

Өндеу	Өндеуден кейінгі күндер		
	0	5	10
<i>Penicillium expansum</i>			
ПГА – ны <i>P.expansum</i> -нан 24 сағат алдын енгізу			
ПГА – мен <i>P.expansum</i> -ды бірдей енгізу			
ПГА – ны <i>P.expansum</i> -нан 24 сағат кейін енгізу			

Сурет 21 – *In vivo* жағдайында *P. expansum*-ға қарсы бақылау агенті ретінде *Ps. flavescens* D5 штамының ПГА қолдану тиімділігі

Алма ағашының жемістерінде *P. expansum* спораларымен инокуляциялау нәтижесінде ашық қоңыр түсті кіші, жұмсақ дақтарға ұқсайтын көк зең зақымданулары пайда болды. Содан кейін дақтар ақ мицелиймен жабылып, ақырында сұр-жасыл конидиялар пайда болды. Зақымданған целлюлозаның иісі және сулы құрылымы болды, ол жемістің тереңіне таралды. Стерильді сумен инокуляцияланған бақылау жемістерінде зақымдану белгілері байқалмады (17, 18-сурет).

Өңдеу	Өңдеуден кейінгі күндер		
	0	5	10
<i>Penicillium expansum</i>			
ПГА – ны <i>P. expansum</i> -нан 24 сағат алдын енгізу			
ПГА – мен <i>P. expansum</i> -ды бірдей енгізу			
ПГА – ны <i>P. expansum</i> -нан 24 сағат кейін енгізу			

Сурет 22 – *In vivo* жағдайында *P. expansum*-ға қарсы бақылау агенті ретінде *Lysinibacillus* sp. S1 штаммының ПГА қолдану тиімділігі

Зерттеу нәтижелерінде ПГА *in vivo* эксперименттерінде алманың көк зеңіне қарсы тиімді екендігі көрсетілді, бұл, өз кезегінде, зақымданудың әсерін жойып, алма салмағының төмендеуінің алдын алды (13-кесте және 21, 22-суреттер). Инфекцияның әсері өңделген алма жемістерін өлшеу және зардап шеккен аймақтардың ауданын анықтау арқылы айқындалды. Барлық жағдайларда емдеу *P. expansum* саңырауқұлағымен жұқтырылған жемістерде шірік белгілерінің дамуына себеп болды. Дегенмен, фитопатогендермен және ПГА-мен бір мезгілде жемістерді инокуляциялау кезінде симптомдардың дәрежесі төмендеді. *P. expansum* (профилактикалық емдеу) жеміс инфекциясынан 24 сағат бұрын биобақылау агентін қолдану ПГА бақылау

жемістерімен салыстырғанда 10-шы күні зақымданудың 2 есе төмендеуімен ерекшеленді.

P. expansum жемістерін бір мезгілде жұқтыру және биоагентті қолдану кезінде зақымдану дәрежесін 44% төмендеді. Сонымен, ПГА-ты терапевтік ем ретінде қолданған кезде (патогенді жұқтырғаннан 24 сағаттан кейін) полимердің ең төменгі ингибиторлық белсенділігі көрсетілді (зақымдану дәрежесі = штамға байланысты 44% және 48% төмендеді).

Кесте 13 – ПГА және *Penicillium expansum* саңырауқұлағымен алма жемістерін инокуляциялау әсері.

Нұсқа	Салмақтың төмендеуі, %		Зақымдану деңгейі, %	
	5 тәулік	10тәулік	5 тәулік	10 тәулік
<i>Penicillium expansum</i>	1.92 ± 0.07	4.18 ± 0.2	36 ± 4	64 ± 6
ПГА (<i>Ps. flavescentis</i> D5)				
ПГА-ты <i>Penicillium expansum</i> -ды жұқтырудан 24 сағ. алдын қолдану	0.95 ± 0.03	2.13 ± 0.08	20 ± 2	32 ± 2
ПГА пен <i>Penicillium expansum</i> -ды бір мезгілде қолдану	1.31 ± 0.04	3.08 ± 0.1	28 ± 2	44 ± 4
<i>Penicillium expansum</i> жұқтырғаннан 24 сағ. кейін ПГА қолдану	1.52 ± 0.05	3.45 ± 0.12	32 ± 2	48 ± 4
ПГА (<i>Lysinibacillus</i> sp. S1)				
ПГА-ты <i>Penicillium expansum</i> -ды жұқтырудан 24 сағ. алдын қолдану	0.99 ± 0.04	2.05 ± 0.05	20 ± 2	32 ± 2
ПГА пен <i>Penicillium expansum</i> -ды бір мезгілде қолдану	1.42 ± 0.03	3.03 ± 0.1	24 ± 2	40 ± 4
<i>Penicillium expansum</i> жұқтырғаннан 24 сағ. кейін ПГА қолдану	1.57 ± 0.04	3.35 ± 0.08	28 ± 2	44 ± 2

Барлық нұсқаларда зақымдану диаметрінің төмендеуі байқалды. Сонымен қатар, *P. expansum*-ді ПГА-мен бір мезгілде инокуляциялау кезінде жараның айналасындағы шіріген тіндердің массасының өзгеруі, сондай-ақ олардың таралу тереңдігінің төмендеуі байқалды (13-кесте және 16, 17-суреттер).

Салмақ төмендеуі және зақымдану деңгейін биобақылау агенттерін қолданудың тиімділігін бағалау маңызды көрсеткіш болып табылады. *P. expansum* патогенін жұқтырғаннан кейін зақымдалған аймақтың дамуы, өңделген және бақыланатын алма жемістерінің салмағының азаюы анықталды. Дегенмен, ПГА-пен өңделген жемістердің салмағының төмендеуі бақылау алмаларына қарағанда айтарлықтай әлсіз болды, бұл, өз кезегінде, ПГА-ты қолдану арқылы басталған сауықтыру процесінің айқын делелі болып табылады. Осы процесс жараларды емдеуге көмектесетін су транспирациясын тиімді тежейтін физикалық тосқауылмен байланысты болуы мүмкін [211].

Алынған нәтижелер егін жинаудан кейінгі зақымдануларға қарсы әлеуетті биобақылау агенті ретінде практикалық пайдалану үшін, сондай-ақ тиімділігі жоғары микробқа қарсы белсенділігі бар жаңа полимерлі материалдар үшін негіз ретінде жаңа микробтарды ұсынуға мүмкіндік береді. Бұл инновациялық әдіс басқа әдістерге, соның ішінде тірі микроорганизмдерді қолдануға қарағанда айтарлықтай артықшылықтарға ие. Әдіс қарапайым және қолдануға ыңғайлы, ал микроорганизмдерді пайдалану үшін олардың тіршілік етуі мен биологиялық белсенділігін сақтау үшін белгілі бір жағдайларды қамтамасыз ету қажет.

3.2.3 Тұқымдарды эндофитті микроорганизмдермен және олардың полимерлерімен инокуляциялау алдындағы өңдеу

Эндофиттер және олардың полимерлері негізінде композиция құрастыру.

Қазіргі уақытта микроорганизмдердің композицияларына негізделген препараттардың монодақылдармен салыстырғанда артықшылығы сенімді түрде анықталып отыр, өйткені мұндай препараттардағы микроорганизмдердің биотехнологиялық потенциалы анағұрлым толық көрінеді. Микробтық консорциумға негізделген препараттар өсімдіктердің өсуіне оң синергетикалық әсер етеді [212]. Көп компонентті препараттардың бірқатар артықшылықтары атап өтілді: әрекеттің поливаленттілігі, синергиялық әсер, әртүрлі агроклиматтық жағдайларда тұрақтылықтың жоғарылауы, құрамы бойынша гетерогенді субстраттарды қолдану мүмкіндігі; микроорганизмдердің функционалдығының неғұрлым толық пайдаланылуы.

Жұмыстың алдыңғы кезеңдерінде агрономиялық құнды қасиеттері бар бактериялық штамдар таңдалды (4-кесте). Бұл штамдар тұқымдарды инокуляциялау алдындағы өңдеуге арналған препараттың құрамына енгізу үшін пайдаланылды.

Мульти-штамдық инокулянттарды жасау кезінде микроорганизмдер арасындағы қарым-қатынас түрін және оларды біріктіру мүмкіндігін ескеру өте маңызды. Сондықтан зерттеудің келесі кезеңі таңдалған штамдарды тығыз қоректік ортада бірге өсіру кезінде *in vitro* жағдайында биосәйкестікке тексеру жүзеге асырылды (14-кесте).

Өсіру кезінде 6 штамның 5-і бір-бірінің өсуін тежемейтіні көрсетілді (14-кесте). Бұл олардың сәйкестігі мен мульти-штамды инокулянттың құрамында қолдану мүмкіндігін көрсетеді. Ерекшелік тек *Peribacillus* B9 штамында анықталды, ол зерттелетін бактериялық штамдардың көпшілігіне қатысты айқын сәйкессіздікті көрсетті (14-кесте). Осылайша, келесі эксперименттерде тұқымдарды өңдеу үшін биологиялық сәйкес 5 штамм қолданылды.

Кесте 14 – Бактериялық штамдардың сәйкестігі

Штамм	<i>Ps. flavescent</i> D5	<i>Bac. aerophilus</i> A2	<i>Ser. proteamaculans</i> B5	<i>Peribac. simplex</i> B9	<i>Ps. fluorescens</i> D7	<i>Lysinibacillus</i> sp. S1
<i>Ps. flavescent</i> D5		-	-	-	-	-
<i>Bac. aerophilus</i> A2	+		-	-	-	-
<i>Ser. proteamaculans</i> B5	+	+		-	-	-
<i>Peribac. simplex</i> B9	-	-	+		-	-
<i>Ps. fluorescens</i> D7	+	+	+	-		-
<i>Lysinibacillus</i> sp. S1	+	+	+	+	+	
Ескерту: "+" сәйкес; "-" сәйкес емес						

Ассоциация құрамында қолданылатын дақылдардың жасы штамм құрамының тиімділігі мен өсу жылдамдығына айтарлықтай әсер етеді. Алдымен әрбір штамм 6, 12 және 24 сағат ішінде қоректік ортада жекеленген түрде өсірілді. Осыдан кейін дақылдар араластырылып бірге өсірілді, содан кейін қоректік агарға себілді. Нәтижелерден көрініп тұрғандай, жас инокуляттан жасалған ассоциацияның өсу қарқыны, биомасса өнімділігі және өскен жасушалар саны жоғары болды (15-кесте).

Колониялардың ең көп саны 6 сағаттық инокулятты қолданған кезде өсіп шықты. Берілген кезеңдегі жасушалардың массасының концентрациясының жоғарылауы олардың экспоненциалды фазада болуына байланысты. Ал 12 және 24 сағаттық инокуляциялау кезінде микроорганизмдер стационарлық өсу фазасында болады. Алынған нәтижелерді ескере отырып, келесі зерттеулерде ассоциацияны құру мақсатында 6 сағаттық инокулят қолданылды.

Кесте 15 – Инокулят жасының бактериялар ассоциацияның өсуіне әсері

Өсіп шыққан микроорганизмдер саны, КТБ/мл		
6-сағаттық инокулят	12-сағаттық инокулят	24-сағаттық инокулят
$(15 \pm 0,75) \times 10^{16}$	$(13 \pm 0,65) \times 10^{14}$	$(7 \pm 0,35) \times 10^{14}$

Ассоциацияның агрономиялық құнды қасиеттері зерттелді және жеке штамдармен түрлі белсенділікке салыстырмалы талдау жүргізілді (16-кесте).

Кесте 16 – Микроорганизмдер ассоциацияның агрономиялық құнды қасиеттері

ИСК, мкг/мл	Фитопатогендердің өсуін тежеу аймағы, см		Галотолеранттылық 7,5% NaCl	Иммобилизацияланған фосфордың мөлшері, мкг/мл
	<i>Fusarium solani</i>	<i>Fusarium oxysporum</i>		
83,4	3,5±0,02	3,3±0,01	+	35,2±0,04
Ескерту: "+" белсенділігі бар ассоциация				

Ассоциация ИСК өнімінің 83,4 мкг/мл-ге дейін өскенін көрсетті, бұл әрбір дақылмен салыстырғанда жеке–жеке 1,8-2,1 есе жоғары (3, 14-кесте). ИСК синтезінің тиімділігін арттыру ассоциациядағы штамдар арасындағы өзара тиімді метаболизммен байланысты болуы мүмкін.

Ассоциация жеке дақылдармен салыстырғанда фосфатты мобилизациялау белсенділігінің орташа мәндерін көрсетті және 35,2 мкг/мл құрады (3, 14-кесте). Алынған нәтижелердің топырақ құнарлылығын арттырудың жаңа әдістерін және тиімді биотыңайтқыштарды жасауда практикалық маңызы өте жоғары.

Галотолеранттылықты зерттеу кезінде ассоциацияның өсуі NaCl 7,5% концентрациясына дейін байқалды.

Жеке штамдармен салыстырғанда ассоциацияның антагонистік белсенділігінің артуы анықталды. Фитопатогендердің өсуін тежеу аймағы 3,5 см-ге дейінгі аймақта болды (5-кесте).

Тұқымдарды қаптау – бұл олардың қасиеттерін жақсарту және белсенді компоненттерді (өсімдіктердің өсуін реттегіштер, қоректік заттар, микробты инокулянттар) жеткізу үшін тұқым бетіне экзогендік материалдарды жағудан тұратын әдіс. Тұқымдарды қаптау әдісі оларды фитопатогендерден қорғайды, өнгіштігін, өсімдіктердің стресстік факторларға төзімділігін арттырады және олардың өсуін ынталандырады [87].

Байланыстырушы компонент ретінде табиғи және синтетикалық полимерлер немесе олардың қоспалары кеңінен қолданылады: метилцеллюлоза, карбоксиметилцеллюлоза, гидроксиметилцеллюлоза, хитозан, полигидроксиалканоаттар және т.б. Соңғы уақыттарда биополимерлер олардың биосәйкестігі және уытсыздық сипаттамаларына және тұқымдарға жақсы жабысуына байланысты көбірек қолданылуда [213;214]. Олар тасымалдаушы ретінде биоагенттің тұқым бетіне таралуына және оның жақсы жабысуына ықпал етеді, сонымен қатар биоагенттің тіршілік ету қабілетін ұзартады [213].

Биополимерлерді химиялық фунгицидтерге балама бола алатын фитопатогендерден өсімдіктерді қорғау құралдарын жасау үшін де қолдануға болады. Биополимерлер улы емес және биологиялық ыдырайтын, жаңартылатын көздерден алынуы мүмкін, сондықтан органикалық ауыл шаруашылығында қолдануға жарамды. Сонымен қатар, олар көптеген

гидрофобты және гидрофильді қосылыстармен әрекеттесе алады. Биополимерлер өсімдіктердің патогенді саңырауқұлақтардан қорғаныш рөлін бірнеше механизмдер арқылы орындайды: саңырауқұлақтармен тікелей әрекеттесіп, споралардың өнуін және мицелийдің өсуін тежейді, бұл хитозан мысалында көрсетілген [214]. Биополимерлер фитопатогендермен күресу үшін өсімдіктердің иммундық жүйесін қоздыратын тиімді алиситорлар ретінде әрекет ете алады [215]. Сонымен қатар, оларды белсенді ингредиенттердің тасымалдаушысы ретінде де пайдалануға болады [216-218].

Бұл зерттеулерде биопрепараттың полимерлі компонентін жасау үшін келесі биологиялық полимерлер қолданылды:

1) *Lysinibacillus sp.* S1 және *Ps. flavescens* D5 штамдары синтездейтін ПГА.

2) *Aureobasidium pullulans* C7 ашытқысы өндірген пуллулан

3) Пектин.

ПГА фунгицидтік қасиеттеріне байланысты қоспаның құрамына енгізілді. Құрылымды қалыптастырушылар мен пластификаторлар ретінде пуллулан мен пектин қолданылды. Пуллулан мен пектиннің өзара қатынастары келесідей болды – 1:1, 2:1 және 3:1.

Қоспаның құрамын оңтайландыру негізгі этаптардың бірі болып табылады, өйткені оның қабығының тығыздығы мен құрылымы бұл тұқымдарды тиімді өңдеу үшін өте маңызды. Тым тығыз биополимер қоспалары тұқымдарды жеткілікті түрде жаба алмайды, тек өткізбейтін қабық жасайды, ал тым сұйық қоспа жеткілікті жабысқақтық қасиеттерге ие емес және қалыпты суару кезінде оңай жуылып кетуі мүмкін.

Биополимер қоспасын алу схемасы жасалды, оған мынадай кезеңдер кіреді: 1) әртүрлі арақатынастарда пуллулан мен пектиннің сулы ерітіндісін 60°C дейін қыздыру (1:1, 2:1, 3:1, 4:1); 2) 0,1% концентрацияда ПГА қосу; 3) алынған қоспаны 0°C температурада салқындату және желе тәрізді массаны қалыптастыру; 5) 50°C температурада кептіру. Қоспаның компоненттерінің оңтайлы және тиімді қатынасын таңдау ерітіндінің жекелеген бөліктерінің реологиялық қасиеттеріне негізделді, олардың функционалдық жүктемесі де ескерілді.

Ең алдымен, биополимер матрицасындағы қажетті пуллулан концентрациясын таңдау керек. Сұйылтылған пуллулан ерітінділерінің динамикалық тұтқырлығын анықтау 25°C кезінде 2% - дан 12% - ға дейінгі әртүрлі концентрациялардағы динамикалық тұтқырлықтың ығысу жылдамдығына тәуелділігін көрсетті. Алайда концентрация 8% - ға дейін өскен кезде ағынның әрекеті псевдопластикалық болып өзгерді. Бұл экзополисахаридтердің бір-бірінен бөлінуіне немесе олардың ығысу өрісіне бағытталуына байланысты болуы мүмкін, бұл тұтқырлықтың шамамен тұрақты мәнге дейін төмендеуіне әкеледі [48]. Сонымен, төмен концентрациядағы (2%) биополимерлі ерітіндідегі пуллулан тұтқырлықтың төмен коэффициентімен сипатталатын және ағынның ньютондық әрекетін көрсететін тұқымдарды қаптау үшін байланыстырғыш ретінде пайдаланылды.

Пектиннің гель түзу қабілеті өте жоғары. 1% - дан жоғары концентрацияда пектиннің қосылуы көрсетілді, нәтижесінде тығыз пленка пайда болды, бұл тұқымның өнуіне кедергі келтіруі мүмкін. Пуллулан мен пектиннің 2:1 қатынасы бар пленка қоспасы пленканың орташа тығыздығын көрсетті.

Жүргізілген зерттеулер нәтижесінде пуллулан, пектин және ПГА – 2:1:0,1 оңтайлы қатынасы таңдалды.

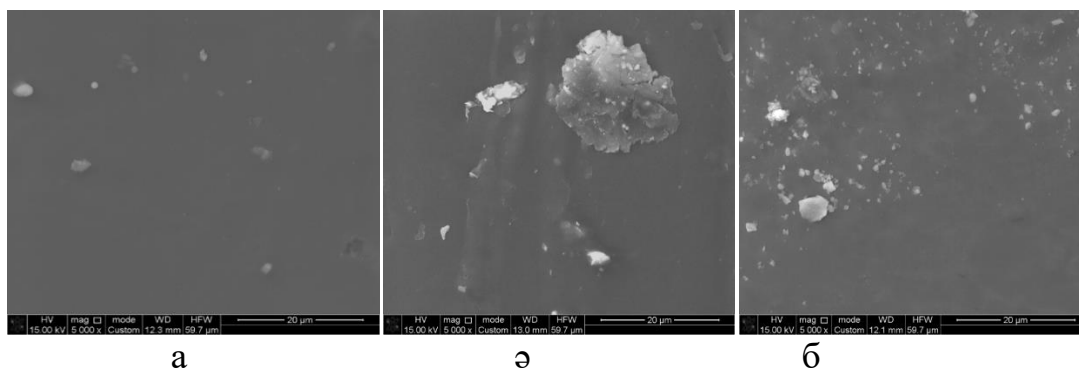
Зерттеулер нәтижесінде алынған тәжірибелі биологиялық нұсқа мөлдір және күңгірт ақ түсті болды (23-сурет).



Сурет 23 – Дайын биополимер матрицасы

Биологиялық өнімнің ыстық және суық суда ерігіштігі сәйкесінше 89,3% және 87,5% құрады. Биопрепараттың ерігіштігін арттыру мақсатында биополимер матрицасының құрамына түзету жүргізілді. Пектин құрамын азайту арқылы компоненттердің қатынасы өзгертілді: 2:1:0,1 (пуллулан: пектин: ПГА). Нәтижесінде ерігіштік 99,7% және 98,2% дейін өсті. Пектиннің азаюы матрицаның ыдырауына да әсер етті. Ыстық немесе суық суда да араластырылған кезде матрицаның үлгілері біркелкі тұнба пайда болғанға дейін кішкене бөліктерге бөлінді.

Биополимер матрицасының морфологиялық қасиеттері сканерлеуші электронды микроскопия арқылы зерттелді. Матрицаның беті салыстырмалы түрде тегіс және біркелкі болды, онда ешқандай тесіктері немесе жаралары жоқ, жоғары құрылымдық тұтастығы анықталды, ал бұл, өз кезегінде, заттар арасындағы жоғары үйлесімділікті көрсетеді (24-сурет).



Сурет 24 – Биополимер матрицасының морфологиялық қасиеттері
а) пуллулан; ә) пектин; б) пуллулан + пектин + микроорганизмдер
-5000x үлкейту арқылы алынған сурет

Биологиялық өнімнің тәжірибелі нұсқаларын алу үшін екі сатылы схема жасалды. Тұқымдарды белсенді компонент ретінде қаптау үшін 5 биосәйкес штамдардан тұратын агрономиялық құнды қасиеттері бар бактериялық ассоциация қолданылды: *Pseudomonas flavescens* D5, *Bacillus aerophilus* A2, *Serratia proteamaculans* B5, *Pseudomonas fluorescens* D7 және *Lysinibacillus* sp.S1.

Бірінші кезеңде келесі схемаға сәйкес биополимерлер қоспасында эндофитті микроорганизмдер ассоциациясын иммобилизациялау жүргізілді: 1) бұрын таңдалған штамдардың таза монодақылдары *Pseudomonas flavescens* D5, *Bacillus aerophilus* A2, *Serratia proteamaculans* B5, *Pseudomonas fluorescens* D7 және *Lysinibacillus* sp. S1, құрамында 5% меласса және 5% пептон бар оңтайландырылған қоректік ортаға егілді және орбиталық шейкерде $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ температурада 12 сағат бойы дақылданды; 2) оңтайландырылған ортада монодақылдар өзара бірлестіріп $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ 3 күн бойы өсірілді; 3) осы кезде биополимерлердің қоспасы дайындалды (пуллулан, пектин және ПГА 2:1:0,1 қатынасында және автоклавтау арқылы залалсыздандырылды $(105^\circ\text{C}, 15 \text{ мин})$; 4) 10^6 жасуша/мл концентрациясындағы бактериялық дақылдар қауымдастығы биополимер қоспасымен $18-22^\circ\text{C}$ температурада орбиталық шейкерде 130 айн/мин 20 минут инкубацияланды.

Биополимер қоспасындағы бактерияларды иммобилизациялау процесі адсорбция әдісін қолдану арқылы жүзеге асырылды. Биополимер қоспасының үлгісі бактериялардың сұйық дақылына орналастырылды, содан кейін 24 сағат бойы үздіксіз араластыру жағдайында $18-22^\circ\text{C}$ температурада инкубация жүргізілді [218-220]. Бактерияларды биополимерлі талшықтарға бекіту үшін үлгілер қосымша 4°C температурада 12 сағат бойы инкубацияланды. Содан кейін байланыспаған жасушалардан арылу мақсатында матрица стерильді қоректік сорпамен үш рет жуылды. Микробтық жасушалардың тасымалдаушыға адсорбция процесі нефелометриялық әдіспен (600 нм) бақыланды.

Биополимерлер арасында карбоксиметилцеллюлоза, сонымен қатар хитозан, ксантан сағызы, гуммиарабик, поливинил спирті, крахмал, желатин, полиакриламид және альгинаттар жиі қолданылады. Бұл полимерлер қызанақ, ноқат, жүгері, бұршақ, баклажан, асқабақ, қияр, беде, соя, бидай сияқты дақылдарды өңдеуде қолданылған.

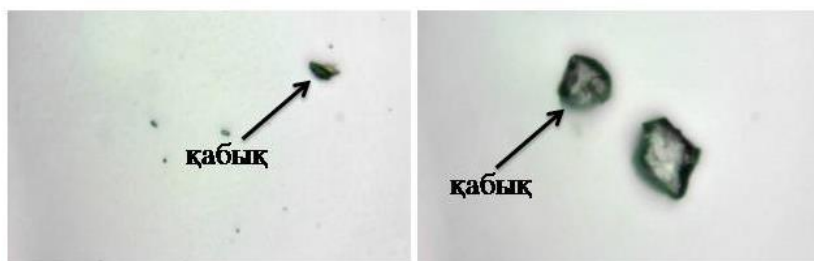
Осыған дейін жүргізілген зерттеулер күріш тұқымын өсіру үшін биологиялық ыдырайтын пленкаларды алу мақсатында поликапролактон қосылған ПГА қолданысын зерттеген [221]. Алайда, тұқым жабындарының бөлігі ретінде ПГА, пектин және пуллулан қоспасын қолдану туралы ақпарат жоқ. Бұл жұмыста алғаш рет биополимерлер (ПГА, пектин және пуллулан) мен тиімді микроорганизмдерді қамтитын тұқымдарды қаптауға арналған бірегей композициялар жасалды.

Өсімдіктердің тұқымдары мен ризосферасындағы микроорганизмдер композициясының өміршеңдігін бағалау.

Өсімдіктердің тұқымдары мен тамырларының микроорганизмдермен колонизациялануы, олардың ризосфера аймағында жоғары мөлшерде жинақталуы интродукциялық штамдарға қойылатын негізгі талаптардың бірі болып табылады [64].

Микроорганизмдердің колонизациялану деңгейі қажетті мөлшерде болған кезде ғана өсімдіктердің өсуі мен дамуына оң әсер көрсете алады.

Арпа тұқымының бетіне биологиялық препараттың бекітілу сапасын анықтау өңделген тұқымдарды жуу, содан кейін оларды микроскопиялау арқылы жүзеге асырылды (25-сурет).



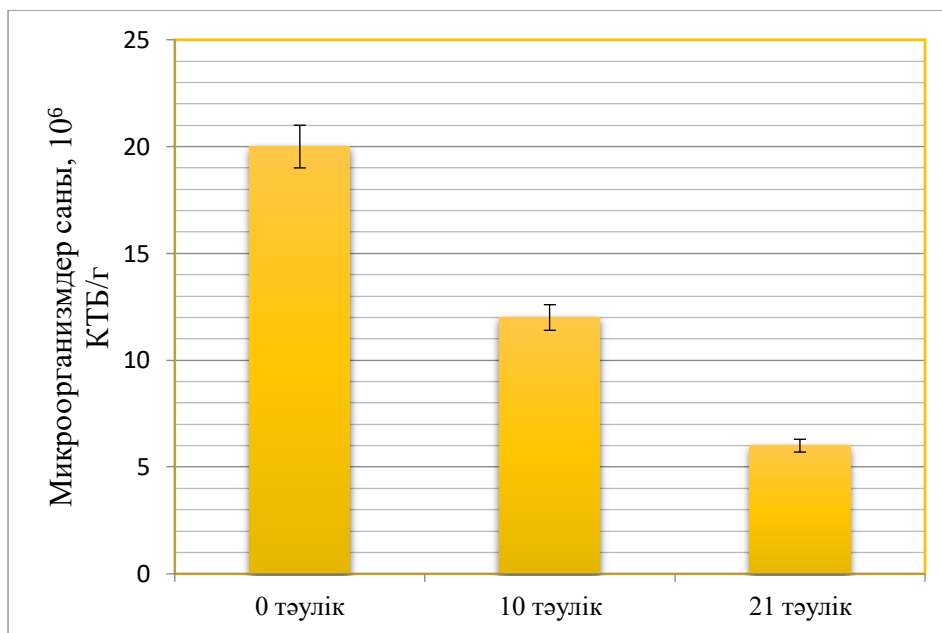
Сурет 25 – Арпа тұқымдарының өңделу сапасы; -х40 үлкейту арқылы алынған сурет

Арпа өсімдіктерінің тұқымдары мен ризосферасында колонизацияланған микроорганизмдердің тіршілік ету қабілетіне баға берілді. Нәтижесінде композицияны құрайтын микроорганизмдер өз тіршілігін сақтап ғана қоймай көбеюге де қабілетті болатындығы дәлелденді. Енгізілген штамдар санының динамикасы жалпы арпа ризосферасындағы бактериялық флора жалпы санының өзгеруіне сәйкес келеді.

Арпаның ризосфера аймағындағы микроорганизмдердің максималды саны олардың композициясын енгізу кезінде байқалды ($20 \pm 1,53 \times 10^6$ КТБ/г топырақ) (21-сурет). Дамудың алғашқы кезеңінде арпа өсімдіктері ылғалдың,

қоректік заттардың және тағы басқа да факторлардың әсеріне өте сезімтал екенін атап өткен жөн. Сондықтан, өсімдікті қосымша биологиялық белсенді қосылыстармен қамтамасыз ететін микроорганизмдердің көп болуы қолайлы фактор болып табылады. Жапырақтардың пайда болу кезеңіне сәйкес келетін эксперименттер жасалған сәттен бастап 21 күн ішінде жалпы микробтардың азаюы байқалды.

Биологиялық препараттың тиімділігін арттыру үшін ризопланда микробтық жасушалардың минималды концентрациясын сақтау қажет (тамыр аймағында $\geq 10^4$ бактерия/см); көрсеткіш өсімдік түріне, оның жасына да байланысты өзгеріп отыруы мүмкін. Зерттеу нәтижелері бойынша интродукциялық бактериялардың саны бүкіл эксперимент барысында өсімдік тамырына іргелес 1×10^6 КТБ/г топырақ деңгейінде сақталды. Вегетациялық кезең аяқталғаннан кейін енгізілген микроорганизмдер экологиялық тепе-теңдікті сақтай отырып және топырақтың бактериялық ластануын тудырмай, топырақ микробиомынан толығымен ығыстырылды. Дегенмен, өсімдіктердің ризосферасында олардың белгілі бір деңгейде болуы айтарлықтай өсімдіктің өуін ынталандырады. Сонымен, енгізілген дақылдық сұйықтықтар өсімдіктердің тамыр секрециясын көміртегі мен энергия көзі ретінде пайдалана отырып, вегетациялық кезеңде дақылдардың ризосферасында олардың санын жоғары мөлшерде сақтап қала алады.



Сурет 26 – Арпа өсімдіктерінің ризосферасындағы микроорганизмдер композициясының тіршілік етуі

Алынған нәтижелер өсімдіктердің тұқымдары мен ризосферасындағы микроорганизмдердің тіршілік ету қабілетін дәлелдейді. Микроорганизмдерді енгізгеннен кейін тірі микроорганизмдердің мөлшері $20 \pm 1,53 \times 10^6$ КТБ/г деңгейінде болды, ал 10 тәулікте бұл көрсеткіш $12 \pm 1,02 \times 10^6$ КТБ/г құрады,

өсімдіктерді өсірудің 21-ші тәулігіне микроорганизмдер саны $6 \pm 0,86 \times 10^6$ КТБ / г дейін төмендеді (26-сурет).

3.2.4 Фитопатогенмен өңделген өсімдіктерді инокуляциялау

Биотикалық табиғаттың қолайсыз факторларының ішінде фитопатогендік микрофлора маңызды орынды алады. Патогенді саңырауқұлақтардан туындаған өсімдік инфекциялары ең кең таралған және зиянды болып табылады, өйткені олар егіннің мөлшерін азайтып қана қоймай, сонымен қатар микотоксиндердің жинақталуы арқылы оның сапасын айтарлықтай нашарлатады. *Fusarium* тұқымдасының саңырауқұлақтары дәнді дақылдардың, соның ішінде арпаның жиі кездесетін қоздырғыштары болып табылады, олар тіршілік циклы барысында жапырақтардың фузариозды шірігі, тамыр шірігі сияқты ауруларды тудыруы мүмкін [222-224]. Бактериялардың агродақылдарға оң әсерінің бірі-өсімдіктердің жүйелік төзімділігін индукциялауды қамтитын тікелей және жанама механизмдер арқылы өсімдіктерді фитопатогендерден қорғау қабілеті, сонымен қатар элиситорлық белсенділік, микробқа қарсы қасиеттері бар гидролитикалық ферменттер мен екіншілік метаболиттерді өндіру, гормондардың синтезі және қоректік заттарды тұтынуға әсері болып табылады [225].

Жұмыстың келесі кезеңінде жасалған препараттың фитопатогеннің арпаның өсуіне әсері бағаланды.

Тәжірибе келесі нұсқаларды қамтыды:

T1-өңделмеген тұқымдар;

T2-өңделмеген тұқымдар+*Fusarium oxysporum*;

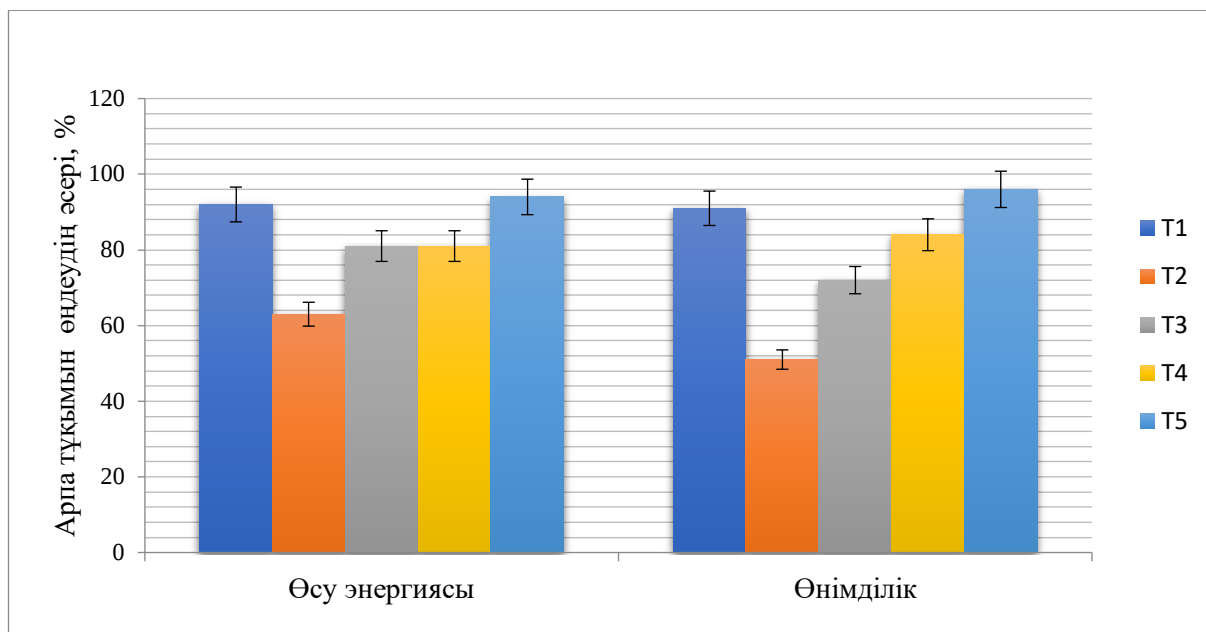
T3-бактериялық суспензиядағы тұқымдарды қаптау+*Fusarium oxysporum*;

T4-тұқымдарды полимер қоспасына қаптау+*Fusarium oxysporum*;

T5-бір мезгілде бактериялық суспензия және полимер қоспасында тұқымдарды қаптау+*Fusarium oxysporum*;

Фитопатогенді өңдеу топыраққа *F. oxysporum* фитопатогенді саңырауқұлағының суспензиясын 10^8 спора/мл титрінде 2 мл мөлшерінде 100 г топыраққа енгізу арқылы жүзеге асырылды.

Біркелкі көшеттер мен егіннің ерте дамуы ауылшаруашылық дақылдарының өнімділігін қалыптастырудың маңызды аспектісі болып табылады. Тұқымдарды қаптау – тұқымның сапасын жақсартатын және тұқым материалының ішкі ресурстарын белсендіретін тиімді әдіс [213].



Сурет 27 – Арпа тұқымын себу алдындағы өңдеудің әртүрлі нұсқаларының өсу энергиясы мен өнімділігіне әсері

Зерттеу нәтижелері бойынша, тұқымдарды инокуляциялау алдындағы өңдеу олардың өсу энергиясын және өнімділігін арттырды. Ең үлкен әсер бактериялық суспензияны полимер қоспасымен бірге қолданғанда байқалды, мұнда өсу энергиясы мен дақылдың өнімділігі сәйкесінше 95% және 97% жетті (27-сурет).

Тұқым себу алдындағы өңдеу арпа өсімдіктеріне айқын түрде өсуді ынталандырушы әсер етті, морфометриялық көрсеткіштердің жоғарылауына алып келді (17-кесте). Өңдеу нұсқасына байланысты арпаның жауаптық реакциясы әр түрлі болды. Тамыр ұзындығы ең маңызды морфометриялық көрсеткіштердің бірі болып табылады, өйткені тамырлар топырақ микрофлорасымен тығыз байланыста бола отырып, минералды қосылыстар мен суды сіңіреді. Тамырлардың ең үлкен ұзаруы T5 нұсқасында бактериялық суспензия мен полимер қоспасын қолданған кезде байқалды (1,6 есе), содан кейін тамырлардың 1,5 есе ұзаруы T3 нұсқасында анықталды. Сонымен қатар, сабақтың ұзындығы тұқым себу алдындағы өңдеудің өсімдіктердің жауаптық реакциясын бағалау маңызды көрсеткіш ретінде қарастырылады. Өңделген нұсқаларда сабақтардың ұзындығының 20-53%-ға өсуі байқалды. Бұл көрсеткіш T3 және T5 нұсқаларында анықталды. Өңделген өсімдіктердің сабақтарының массасы өңделмеген нұсқамен салыстырғанда 1,5-1,8 есе, ал тамыр массасы 1,1-1,6 есе жоғары екендігі көрсетілген (17-кесте).

Кесте 17 – Арпаның өсу параметрлеріне тұқым себу алдындағы өңдеудің әртүрлі нұсқаларының әсері

Өңдеу нұсқасы	Сабақтардың массасы, г	Тамырлардың массасы, г	Сабақтардың ұзындығы, см	Тамырлардың ұзындығы, см
T1	1.2 ± 0.03	0.9 ± 0.04	22.0 ± 0.9	11.5 ± 0.5
T2	0.6 ± 0.02	0.8 ± 0.03	15.0 ± 0.7	8.5 ± 0.3
T3	1.1 ± 0.04	0.9 ± 0.04	22.5 ± 0.9	12.5 ± 0.2
T4	0.9 ± 0.03	20.8 ± 0.8	20.8 ± 0.8	11.0 ± 0.5
T5	1.0 ± 0.03	1.2 ± 0.03	23.8 ± 0.9	13.6 ± 0.5

Арпаның өсу параметрлерінің жақсаруы бірнеше себептерге байланысты болуы мүмкін. Өсімдіктерге оң әсер ету механизмдерінің бірі- композицияны құрайтын штамдардың жасушалардың бөлінуі мен ұзаруын, олардың өсуі мен дифференциациясын, тамырлы тіндердің дамуын қамтамасыз ететін ИСК фитогормонын синтездеу қабілеті болып табылады [225; 226]. Көптеген зерттеулер ИСК өндіретін бактериялар өсімдіктердің қалыпты жағдайда және биотикалық стресс кезінде өсуін айтарлықтай арттыратынын көрсетті. Бактериялардың жоғары секрециясына байланысты бүйір және қосымша тамырлардың бетінің ауданы мен ұзындығының ұлғаюы ИСК-ның микро және макронутриенттерді тұтыну мен сіңіруді жақсартуда, өсімдіктердің өсуін жеделдетуде және төзімділігін қалыптастыруда маңызды рөл атқаратынын білдіреді. Фитопатогендермен әсер ету жағдайында өсімдіктердің морфометриялық параметрлерін жақсартудың тағы бір механизмі штамдардың биобақылау қасиеттері және биополимерлердің қорғаныс рөлі болып табылады.

Өсімдіктегі фотосинтетикалық пигменттер олардың физиологиялық жағдайының негізгі көрсеткіші болып табылады. Фотосинтетикалық белсенділіктің негізгі сипаттамаларының бірі – хлорофилл пигменттерінің құрамы. Хлорофиллдердің қалыпты мөлшері ауылшаруашылық дақылдарының жоғары өнімділігінің дәлелі болуы мүмкін [226; 227]. *F. oxysporum* фитопатогені тудырған биотикалық стресс жағдайында арпа жапырақтарындағы жалпы хлорофилл мөлшері қалыпты жағдайда өскен өсімдіктердегі көрсеткіштен 2,7 есе төмен болды және 1.03 ± 0.04 мг/г құрады (16-кесте). Сонымен қатар, фитопатогендік жүктеме жағдайында хлорофилл *a/b* қатынасының төмендеуі байқалды, бұл жарық жинайтын антенналардың пигмент-ақуыз кешендеріндегі және екі фотосистеманың реакция орталықтарындағы өзгерістерді көрсетеді. Тұқымдарды қаптау жапырақтардағы хлорофилл *a* құрамының мөлшерін 1.4–2.1 есе, хлорофилл *b* құрамын – 2-2.4 есе, сондай-ақ Хл (*a + b*) жиынтық құрамының 1.6-2.2 есе артуымен сипатталды. Максималды әсерге T5 нұсқасында бактериялық суспензия мен полимер қоспасын қолдану арқылы қол жеткізілді. Пигменттердің құрамындағы анықталған айырмашылықтар бактериялардың хлорофиллдердің биосинтезі және деградация процестеріне әсер ететін

бірқатар қосылыстар түзуіне, сондай-ақ стресс жағдайында өсімдіктер үшін қолайлы өсу жағдайларын жасауға байланысты болуы мүмкін.

Кесте 18 – Арпа тұқымын себу алдындағы өңдеудің әртүрлі нұсқаларының пролин мен хлорофилл құрамына әсері

Өңдеу нұсқалары	Пролин, мкмоль/г	Хлорофилл <i>a</i> , мг/г	Хлорофилл <i>b</i> , мг/г	Хлорофилл (<i>a+b</i>), мг/г	Хлорофилл <i>a</i> /Хлорофилл <i>b</i>
T1	0.9 ± 0.01	15.67 ± 0.01	10.51 ± 0.02	26.18 ± 0.03	1.48
T2	1.7 ± 0.04	11.83 ± 0.01	4.56 ± 0.04	16.39 ± 0.02	2.59
T3	0.96 ± 0.01	13.52 ± 0.05	7.64 ± 0.03	21.16 ± 0.01	1.77
T4	1.22 ± 0.02	12.59 ± 0.03	8.67 ± 0.05	21.26 ± 0.04	1.45
T5	0.7 ± 0.03	14.54 ± 0.02	9.81 ± 0.01	24.35 ± 0.04	1.48

Стресс факторлары ОБФ түзілуі мен оларды бейтараптандыру арасындағы тепе-теңдіктің бұзылуына әкелетіні белгілі. ОБФ-ның шамадан тыс синтезі өсімдіктердің жасушалық-молекулалық компоненттерімен өздігінен және спецификалық емес өзара әрекеттесуді бастайды, бұл жасуша құрылымдарының, липидтердің, ақуыздардың, көмірсулардың, нуклеин қышқылдарының бұзылуына әкеледі [228-230]. Бактериялардың әсерінен өсімдіктердің төзімділігінің маңызды механизмдеріне осы микроорганизмдердің өсімдіктерді антиоксидантты қорғаудың табиғи жүйелерін модуляциялау арқылы оттегінің белсенді формаларын залалсыздандыруға қатысуы – ферментативті емес (пролин, аскорбин қышқылы, глутатион, цистеин, флавоноидтар, каротиноидтар және токоферол) және ферментативті (супероксид дисмутаза, пероксидаза, каталаза, аскорбатпероксидаза, гваяколпероксидаза, глутатион редуктаза), функционалды әрекеттесулер жатады.

Пролин – өсімдіктердің бейімделуінің бірінші кезеңін қамтамасыз ететін биотикалық стресстің бірнеше түрлеріне жауап ретінде қызмет атқаратын қосылыс болып табылады. Пролин көптеген функцияларды орындайды, соның ішінде цитозолдың қышқылдығын реттеу, бос радикалдарды ұстау арқылы липидтердің асқын тотығуын азайту және жасушаішілік компоненттер мен құрылымдарды (белоктар мен мембраналар) тұрақтандыру. Фитопатогендермен зақымданған өсімдіктердегі пролин концентрациясы 1,7 мкмоль/г шикі массаны құрады, бұл қолайлы жағдайда өскен өсімдіктердегі көрсеткіштен 1,8 есе жоғары. Биологиялық полимерлермен өңделген өсімдіктерде пролин мөлшері біршама төмен болды. Пролиннің төмендеуі бактериялық суспензия мен полимер қоспасындағы тұқымдарды бір мезгілде қаптау нұсқасында байқалды (16-кесте). Сонымен қатар, басқа да зерттеулерде бактериялармен өңделген жабайы және мәдени өсімдіктердің құрамындағы пролин деңгейінің төмендеуі анықталған.

Жүргізілген зерттеулерде фитопатогенмен зақымдау жағдайында өңделмеген өсімдіктерді өсіру кезінде стрессіз жағдайда өскен өсімдіктермен

салыстырғанда антиоксидантты ферменттер белсенділігінің жоғарылауы байқалды (20-кесте).

Кесте 20 – Арпа тұқымын себу алдындағы өндеудің әртүрлі нұсқаларының антиоксидантты ферменттердің белсенділігіне әсері

Нұсқа	Каталаза, мкмоль мин ⁻¹ мг белок ⁻¹	Аскорбатпероксидаза, мкмоль мин ⁻¹ мг белок ⁻¹	Гваяколпероксидаза, мкмоль мин ⁻¹ мг белок ⁻¹
T1	0.12 ± 0.005	9.6 ± 0.3	4.8 ± 0.2
T2	0.23 ± 0.004	12.47 ± 0.2	7.14 ± 0.3
T3	0.34 ± 0.007	12.34 ± 0.5	6.7 ± 0.3
T4	0.35 ± 0.007	10.03 ± 0.5	6.9 ± 0.3
T5	0.29 ± 0.006	30.37 ± 0.9	19.2 ± 0.7

Нәтижелер өсімдіктегі стресс факторларының әсеріне жауап ретінде қорғаныс жүйесінің белсендірілгенін көрсетеді. Тұқым себу алдындағы өндеу (T3-T5 нұсқалары) стресстік жағдайларда каталаза белсенділігінің 1.3–1.5 есе артуына әкелді. Сонымен қатар, кешенді препаратпен емдеу (T5 нұсқасы) аскорбат пероксидазасының белсенділігінің 2,4 есе, гваякол пероксидазасының 2,7 есе артуына әкелді (20-кесте). Осыған дейін жүргізілген зерттеу жұмыстарында да бактериялармен инокуляцияланған тұзды стресс жағдайындағы өсімдіктердің антиоксидантты жүйе ферменттерінің белсенділігі стресстік жағдайдағы бақылау нұсқаларымен салыстырғанда жоғары болған [231;232;233].

ҚОРЫТЫНДЫ

Қазақстанның он бір дәрілік өсімдігінің эндофитті микроорганизмдерінің сандық құрамы мен таксономиялық құрылымын зерттеу бойынша жұмыстар жүргізілді. Скрининг нәтижесінде биотехнологиялық қасиеттері бар эндофитті штамдар таңдалды. Зерттелген эндофит штамдарының, сондай-ақ олардың метаболиттерінің құрамы негізінде дақылдардың өсуін жақсарту үшін оларды қолданудың тиімді әдістері жасалды.

Эндофитті микроорганизмдерді биотехнологиялық пайдалану мүмкіндігі эксперименталды түрде негізделген және оларды қолданудың тиімді әдістері жасалған.

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 колонизациялау 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 цикорий өсімдіктеріне тән.

2. Скрининг нәтижесінде 386 бактериялық және 160 микромицеттік изолаттар арасынан құнды биотехнологиялық қасиеттер кешеніне ие, соның ішінде ИСКҚ 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 flavescent* D5, *Bacillus aerophilus* A2, *Serratia proteamaculans* B5, *Peribacillus simplex* B9, *Pseudomonas putida* D7, *Lysinibacillus* sp. S1.

3. *Ps. flavescent* 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 байқалды: каталаза 1,4–7,4 есе, аскорбат пероксидаза 1,3–3,1 есе, гваяколпероксидаза 1,2–2,4 есе. Бактериялық штамдармен емдеу Na иондарының жоғары деңгейін ұстап тұруға және тұзды стресс жағдайында Ca иондарының деңгейін төмендетуге 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 қоректік орта ұсынылды. ПГА үлгілеріне ИҚ-спектроскопиялық және термогравиметриялық талдау жүргізілді, сондай-ақ олардың фунгицидтік белсенділігі зерттелді. ПГА-ты биобақылау агенті ретінде *P. expansum* жемістерін 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 жоғалуы бақылау жемістеріне қарағанда 2 есе төмен 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 Хла құрамының 1.4–2.1 есе, Хлв – 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.

ПАЙДАЛАНЫЛҒАН ДЕРЕККӨЗДЕРДІҢ ТІЗІМІ

- 1 Максимов И.В., Веселова С.В., Нужная Т.В., Сарварова Е.Р., Хайруллин Р.М. Стимулирующие рост растений бактерии в инокуляциях устойчивости растений к стрессовым факторам // Физиология растений. – 2015. – Т. 62, № 6. – С. 763–775.
- 2 Список пестицидов (ядохимикатов), разрешенных к применению на территории Республики Казахстан на 2022-2031 годы: утв. 31 мая 2022 года, приказ №87.
- 3 Мустафина В.В., Душкина Ю.Н., Аргынбаева Е.М., Гор Н.В. Особо опасные пестициды в Казахстане: текущая ситуация и рекомендации по минимизации негативного воздействия // Химическая безопасность. – 2020. – №4(1). – С. 236-247. <https://doi.org/10.25514/CHS.2020.1.17017>.
- 4 Hossain M.M., Sultana F. Application and Mechanisms of Plant Growth Promoting Fungi (PGPF) for Phytostimulation // In: Organic Agriculture. London: In tech Open – 2020. – P.1-31.
- 5 Белимов А.А. Взаимодействия ассоциативных бактерий с растениями: роль биотических и абиотических факторов: монография. // Saarbrücken: Palmarium Academic Publishing. – 2012. – 225 с.
- 6 Frac M., Hannula S.E., Bełka M., Jędryczka M. Fungal Biodiversity and Their Role in Soil Health // Frontiers in Microbiology. – 2018. – Vol. 9. – e707. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00707>.
- 7 Терехова В. А. Микромитеты в экологической оценке водных и наземных экосистем. -М.: Наука, – 2007.-215 с.
- 8 Chen J., Nan J., Xu D., Mo L., Zheng Y., Chao L., Bao Y. Response differences between soil fungal and bacterial communities under open cast coal mining disturbance conditions // Catena. – 2020. – Vol. 194. – e104779. <https://doi.org/10.1016/j.catena.2020.104779>.
9. Аралбай Н. К., Кудабаева Г. М., Иманбаева А. А. и др. // Каталог редких и исчезающих видов растений Мангистауской области (Красная Книга). – 2006. – С. 32.
10. Байтенов М. С. Флора Казахстана в 2-х т. – Т. 2. Родовой комплекс флоры. // Ылым – 2001. – С 52.
11. Sarsenbayev K. Medicinally Important Plants of Kazakhstan // Vegetation of Central Asia and Environs. – 2018. – Vol. 263-289
12. Adekenov S. M. et al. The Kazakhstan medicinal flora survey in leading families // Bulletin of the Karaganda University. – 2020 – Vol. 39-51
13. Абдулина С. А. Список сосудистых растений Казахстана Под редакцией Р.В. Камелина. Алматы. – 1998, 187 с.
14. Bouchra, S., Thierry, A., Zeinab, S., Akram, H., Othmane, M. The Apiaceae: Ethnomedicinal family as source for industrial uses. // Industrial Crops & Products. – 109. – Vol. 661–671.
15. Redman R. S., Kim Y. O., Woodward C. J. D. A, Greer C., Espino L., Doty S. L., et al. Increased Fitness of Rice Plants to Abiotic Stress Via Habitat

Adapted Symbiosis: // A Strategy for Mitigating Impacts of Climate Change. – 2011. – Vol. 1–10.

16. Soltani, S.A., Gholamreza, H.S.-S., Mohammad, S., Bernd, L., & Sybille, I.L. Sulfur-containing compounds from the roots of *Ferula latisecta* and their cytotoxic. // *Fitoterapia*. – 2018. – Vol. 108–112.

17. Egeubayeva R.A. Efiromaslichnye rasteniia yuho-vostoka Kazakhstana i puti ikh ratsionalnoho ispolzovaniia. // Extended abstract of Doctor's thesis. – 2002. – Vol. 502. – P. 23.

18. Tozyo T., Yoshimura Y., Sakurai K., Uchida N., Takeda Y., Nakai H. & Ishii H. Novel Antitumor Sesquiterpenoids in *Achillea millefolium*. // *Chemical Pharmaceutical Bulletin*. – 1994. – Vol 42(5).

19. He F., Nugroho A. E., Wong C. P., Hirasawa Y., Shiota O., Morita H., & Aisa H. A. Rupestines F–M. New Guaipyridine Sesquiterpene Alkaloids from *Artemisia rupestris*. // *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. – 2012. – Vol 60(2) – P 213–218.

20. Гарипова С.Р. Перспективы использования эндофитных бактерий в биоремедиации почв агроэкосистем от пестицидов и других токсикантов // *Успехи современной биологии*. – 2014. – Том 1. – С. 35-47.

21. Gustavo S., Gabriel M.-H., Ma. del Carmen O., Bernard R. G. Plant growth-promoting bacterial endophytes. // *Microbiological Research*. – 2016. – Vol. 183. – P. 92-99.

22. Ali S., Duan J., Charles T. C., Glick B. R. A bioinformatics approach to the determination of genes involved in endophytic behavior in *Burkholderia* spp. *J Theor Biol*. – 2014. – Vol. 343. – P. 193-8.

23. Mandyam K. G., Roe J., Jumpponen A. *Arabidopsis thaliana* model system reveals a continuum of responses to root endophyte colonization. // *Fungal Biol*. – 2013. – Vol. 117(4). – P. 250-60.

24. Murphy B. R., Doohan F. M., Hodgkinson, T. R. Yield increase induced by the fungal root endophyte *Piriformospora indica* in barley grown at low temperature is nutrient limited. // *Symbiosis*. – 2014. – Vol. 62(1). – P. 29–39.

25. Архипова Т.Н., Веселов С.Ю., Мелентьев А.И., Мартыненко Е.В., Кудоярова Г.Р. Сравнение действия штаммов бактерий, различающихся по способности синтезировать цитокинины, на рост и содержание цитокининов в растениях пшеницы // *Физиология растений*. – 2006. Т. 53. № 4. – С. 567-574.

26. Баймиев Ан. Х., Иванова Е.С., Гуменко Р.С., Чубукова О.В., Баймиев А.Х. Анализ симбиотических генов клубеньковых бактерий бобовых растений Южного Урала // *Генетика*. – 2015. – Т. 51. № 12. – С. 1359-1367.

27. Бетехтина А.А. Эндомикориза травянистых растений: распространенность и экологическое значение. // *Растениеводство*. – 2006. – С. 24.

28. Белимов А. А. Использование ассоциативных бактерий для инокуляции ячменя в условиях загрязнения почвы свинцом и кадмием // *Микробиология*. – 2004. – Т. 45.

29. Минеев В.Г. Практикум по агрохимии. // МГУ. – 2001. – С. 689.

30. Минина Т.С. Новые эндофитные штаммы *Bacillus subtilis* как основа биофунгицидов // Вестник Казанского государственного аграрного университета. – 2009. – №2(12). – С. 55-59.
31. Каменский, Ф.М. О симбиотическом соединении мицелия грибов с корнями высших растений // Тр. СПб. Об-ва естествоисп. – 1886. – Т. 17. – С. 34-36.
32. Квеситадзе Г.И. Метаболизм антропогенных токсикантов в высших растениях / Г.И. Квеситадзе, Г.А. Хатисашвили, З.Г. Евстигнеева. – М.: Наука. – 2005. – С. 199.
33. Королук М. А. Метод определения активности каталазы. // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16-18.
34. Курамшина З.М. Влияние антагонистического штамма *Bacillus subtilis* 26Д на численность микроорганизмов почвы, прилегающей к семенам пшеницы // Почвоведение. – 2014. № 9. – С. 1102-1106.
35. Khan A.L., Hussain J., Al-Harrasi A., Al-Rawahi A., Lee I.J. Endophytic fungi: resource for gibberellins and crop abiotic stress resistance. // Crit Rev Biotechnol. – 2015. – Vol. 35(1). – P. 62-74.
36. Khan A.L., Gilani S.A., Waqas M., et al. Endophytes from medicinal plants and their potential for producing indole acetic acid, improving seed germination and mitigating oxidative stress. // Univ Sci B. – 2017. – 18(2):125-137.
37. Khare E., Mishra J., Arora N.K. Multifaceted Interactions Between Endophytes and Plant: Developments and Prospects. // Front Microbiol. – 2018. – Vol. 9:2732.
38. Günter B., Stéphane C., Birgit M., Friederike T., Angela S. Metabolic potential of endophytic bacteria. // Current Opinion in Biotechnology. – 2014 – Volume 27. – Pages 30-37.
39. Ma. del Carmen O., Gustavo S. Plant-microbial endophytes interactions: Scrutinizing their beneficial mechanisms from genomic explorations // Current Plant Biology. – 2021. – Volume 25. – P. 44.
40. Hallmann J., Quadt-Hallmann A., Mahaffee W.F., Kloepper J.W. Bacterial endophytes in agricultural crops // Can. J. Microbiol. – (1997), –Vol. 43 pp. 895-914.
41. Afzal I., Shinwari Z.K., Sikandar S., Shahzad S. Plant beneficial endophytic bacteria: mechanisms, diversity, host range and genetic determinants // Microbiol. Res., – 2019. – Vol 221. pp. 36-49.
42. Omomowo O.I., Babalola O.O. Bacterial and fungal endophytes: tiny giants with immense beneficial potential for plant growth and sustainable agricultural productivity // Microorganisms. – 2019. – Vol. 7 (11). – P. 481
43. Macías-Rodríguez L., Contreras-Cornejo H.A., Adame-Garnica S.G., Del-Val E., Larsen J. The interactions of *Trichoderma* at multiple trophic levels: inter-kingdom communication //Microbiol. Res. – 2020. –Vol. 45. –P. 126-552
44. Vu T., Sikora R., Hauschild R. *Fusarium oxysporum* endophytes induced systemic resistance against *Radopholus similis* on banana // Nematology. 2006 – Vol.8 (6), –P 847-852

45. Chanclud E., Morel J.B. Plant hormones: a fungal point of view // *Mol Plant Pathol.* – 2016. – Vol. 17(8). – P.1289-97. <https://doi.org/10.1111%2Fmpp.12393>.
46. Цавкелова Е.А., Климова С.Ю., Чердынцева Т.А., Нетрусов Л.И. Микроорганизмы - продуценты стимуляторов роста растений и их практическое применение // *Прикладная биохимия и микробиология.* – 2006. – Т. 42 (2). – С. 133-143.
47. Mariana U.B., Hernández-Mendoza J., Armando G.C., Veronica A., Larios- Serrato V. Independent Tryptophan pathway in *Trichoderma asperellum* and T koningiopsis: New insights with bioinformatic and molecular analysis // *bioRxiv.* – 2020. – Vol. 6. – P. 1-16. <https://doi.org/10.1101/2020.07.31.230920>.
48. Jahn L., Hofmann U., Ludwig-Müller J. Indole-3-Acetic Acid Is Synthesized by the Endophyte *Cyanodermella asteris* via a Tryptophan-Dependent and Independent Way and Mediates the Interaction with a Non-Host Plant // *Int. J. Mol. Sci.* – 2021. – Vol. 22. – P. 2651. <https://doi.org/10.3390/ijms22052651>.
49. Fonseca S., Radhakrishnan D., Prasad K., Chini A. Fungal Production and Manipulation of Plant Hormones // *Curr Med Chem.* – 2018. - Vol. 25(2). – P. 253- 267. <https://doi.org/10.2174/0929867324666170314150827>.
50. Spoel S.H., Dong X. Making sense of hormone crosstalk during plant immune responses // *Cell Host Microbe.* – 2008. - Vol. 3(6). – P. 348- 351. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2008.05.009>.
51. Ghorbanpour M., Omidvari M., Abbaszadeh-Dahaji P., Omidvar R., Kariman K. Mechanisms underlying the protective effects of beneficial fungi against plant diseases // *Biological Control.* – 2018. - Vol. 117. – P. 147- 157. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2017.11.006>.
52. Newitt J.T, Prudence S.M.M., Hutchings M.I., Worsley S.F. Biocontrol of Cereal Crop Diseases Using Streptomyces // *Pathogens.* – 2019. - Vol. 8(2). – P. 78. <https://doi.org/10.3390/pathogens8020078>.
53. Jiang P, Li J, Han F et al (2011) Antibiofilm activity of an exopolysaccharide from marine bacterium *Vibrio* sp. QY101. *PLoS ONE* 6:e18514. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0018514>
54. Silambarasan S, Logeswari P, Cornejo P, Kannan VR Evaluation of the production of exopolysaccharide by plant growth promoting yeast *Rhodotorula* sp. strain CAH2 under abiotic stress conditions. // *Int J Biol Macromol* – 2009. –Vol. 121. – P. 55–62
54. Gao X., Liu L.T., Liu B. Dryland cyanobacterial exopolysaccharides show protection against acid deposition damage. // *Environ Sci Pollut Res.* – 2014. – Vol. 26. – P. 24300– 24304. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-05798-4>
55. Демиденко А. В. Технология биосинтеза полигидроксиспиртканоев на глицерине и реализация опытного производства: дис. канд. биол. наук. Красноярск, – 2018. – 142 с.
56. Martin K., Stanislav O. Biotechnological production of polyhydroxyalkanoates from glycerol: A review // *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology.* – 2022. – Vol. 42. – P. 102333.

57. Fabrício C., Sérgio K., Carolina B., José G., Jonas C. Polyhydroxyalkanoate production from crude glycerol by newly isolated *Pandoraea* sp. // *Journal of King Saud University - Science*. – 2017. – Vol. 29(2). – P. 166-173.
58. Mathiyazhagan N., Sabariswaran K., Suresh K., Keerthana G., Muthusamy R., Gajendiran K. Screening of polyhydroxybutyrate producing indigenous bacteria from polluted lake soil // *Heliyon*. – 2020. – Vol. 6(10). – P. e05381.
59. Chanaporn T., Antika B., Waraporn A., Akihiko K., Takamitsu A., Kumar S., Pilanee V. Enhanced polyhydroxybutyrate (PHB) production by newly isolated rare actinomycetes *Rhodococcus* sp. strain BSRT1-1 using response surface methodology // *Scientific Reports*. – 2021. – Vol.11. – P. 1896.
60. Yasser S. Mostafa, Sulaiman A. Alrumman, Kholod A. Otaif, Saad A. Alamri, Mohamed S. Mostafa, Taher Sahlabji. Production and Characterization of Bioplastic by Polyhydroxybutyrate Accumulating *Erythrobacter aquimaris* Isolated from Mangrove Rhizosphere // *Molecules*. – 2020. – Vol. 25(1). – P. 179.
61. Marianna V., Mario B., Davide D., Silvia L., Alfredo M., Giovanni V., Mauro M. Effect of pH on the production of bacterial polyhydroxyalkanoates by mixed cultures enriched under periodic feeding // *Process Biochemistry*. – 2010. – Vol. 45. – P. 714-723.
62. Tanja N., Federico C., Niall B., Kevin E. O'Connor. Recent Advances in Bioplastics: Application and Biodegradation // *Polymers*. – 2020. – Vol. 12(4). – P. 920-924.
63. Chroma L., Mackova M., Kucerova P., Der Wiesche C., Burkhard J., Macek T. Enzymes in plant metabolism of PCBs and PAHs // *Acta Biotechnol.* – 2002. V. 22. P. 35–41.
64. Cameron M.D., Timofeevski S., Aust S.D. Enzymology of *Phanerochaete chrysosporium* with respect to the degradation of recalcitrant compounds and xenobiotics // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* – 2000. – V. 54. – P. 751–758.
65. Safinowski M., Griebler C., Meckenstock R.U. Anaerobic cometabolic transformation of polycyclic and heterocyclic aromatic hydrocarbons: evidence from laboratory and field studies // *Environ. Sci. Technol.* – 2006. – V. 40. – P. 4165–4173.
66. Smukler S.M., Jackson L.E., Murphree L., Yokota R., Koike S.T., Smith R.F. Transition to largescale organic vegetable production in the Salinas Valley, California // *Ecosyst. Environ.* – 2008. – V. 126. – P. 168–188.
67. Tanamool V, Imai T, Danvirutai P, et al. Biopolymer generation from sweet sorghum juice: screening, isolation, identification, and fermentative polyhydroxyalkanoate production by *Bacillus aryabhattai*. // *Turk J Biol.* – 2013. – P. 259-260.
68. Cesare A., Maria L., Mariangela M., Alberto V. Application of bioplastic moving bed biofilm carriers for the removal of synthetic pollutants from wastewater. // *Bioresource Technology*. – 2012. – P. 180–183.

69. Kalayu G. Phosphate Solubilizing Microorganisms: Promising Approach as Biofertilizers // *Int J Agron.* – 2019. – Vol. 2019. – P. 1- 7. <https://doi.org/10.1155/2019/4917256> .
70. Jones D.L, Oburger E. Solubilization of Phosphorus by Soil Microorganisms// In: *Phosphorus in Action. Soil Biology.* – 2018. – P. 169- 198. https://doi.org/10.1007/978-3-642-15271-9_7 .
71. Sharma S.B., Sayyed R.Z., Trivedi M.H., Gobi T.A. Phosphate solubilizing microbes: sustainable approach for managing phosphorus deficiency in agricultural soils // *Springerplus.* – 2013. – Vol. 2. – P. 587. <https://doi.org/10.1186/2193-1801-2-587> .
72. Alori E.T., Glick B.R., Babalola O.O. Microbial phosphorus solubilization and its potential for use in sustainable agriculture // *Front Microbiol.* – 2017. – Vol. 8.– P. 971. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00971> .
73. Kuo C.Y., Fu S.F., Chou F.C., Chen R.Y., Chou JY. Phosphate-solubilizing characteristics of yeasts // *Mycosphere.* – 2018. – Vol. 9(6). – P. 1117–1131. <https://doi.org/10.5943/mycosphere/9/6/4>.
74. Chandra P., Enespa Soil–Microbes–Plants: Interactions and Ecological Diversity. In: Varma A., Tripathi S., Prasad R. (eds) *Plant Microbe Interface.* // Springer. – 2019.
75. Gałazka A., Bigos J., Siebielec S. Plant growth promotion by bacteria of the genus *Azospirillum* and their application in agriculture. // *Polish Journal of Agronomy.* – 2015. – Vol. 23. – P. 48-62
76. Furtak K., Gajda A.M. Activity and Variety of Soil Microorganisms Depending on the Diversity of the Soil Tillage System. // *Sustainability of Agroecosystems.* London: Intech Open. – 2018. – Vol. 79. – P. 1009 doi:10.5772/intechopen.72966
77. Acosta-Motos J. R. Plant responses to salt stress: adaptive mechanisms // *Agronomy.* – 2017. – Vol. 7(1):18; – doi:10.3390/agronomy7010018
78. Armada E. Native plant growth promoting bacteria *Bacillus thuringiensis* and mixed or individual mycorrhizal species improved drought tolerance and oxidative metabolism in *Lavandula dentata* plants // *J. Plant Physiol.* – 2016. – Vol. 21(192). – P.1-12.
79. Silveira J.A. Proline accumulation and glutamine synthetase activity and increased by salt-induced proecolysis in cashew leaves // *J. Plant Physiol.* – 2003. – Vol. 160. – P. 115-123.
80. Singleton V.L. Colorimetry of total phenolics with phosphomolyb-
dicphoungstic acid reagent // *Am. J. Enol. Vitic.* – 1965. – Vol. 16. – P. 144-158.
81. Kolomih K. Mechanisms underlying the protective effects of beneficial fungi against plant diseases // *Biological Control.* – 2018. – Vol. 117. – P. 147- 157. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2017.11.006> .
82. Newitt J.T, Prudence S.M.M., Hutchings M.I., Worsley S.F. Biocontrol of Cereal Crop Diseases Using Streptomyces // *Pathogens.* – 2019. – Vol. 8(2). – P. 97. <https://doi.org/10.3390/pathogens8020078> .

83. Roca-Couso R., Flores-Félix J.D., Rivas R. Mechanisms of Action of Microbial Biocontrol Agents against *Botrytis cinerea* // *J Fungi*. – 2021. - Vol. 7(12). – P. 1045. <https://doi.org/10.3390%2Fjof7121045> .
84. Wang X., Gong X., Li P., Lai D., Zhou L. Structural Diversity and Biological Activities of Cyclic Depsipeptides from Fungi // *Molecules*. – 2018. - Vol. 23(1). – P.169. <https://doi.org/10.3390/molecules23010169> .
85. Веселова М.А., Плюта В.А., Хмель И.А. Летучие вещества бактерий: структура, биосинтез, биологическая активность // *Микробиология*. – 2019. - Т. 88, № 3. – С. 272–287.
86. Hummadi E.H., Cetin Y., Demirbek M., Kardar N.M., Khan S., Coates C.J., Eastwood D.C., Dudley E., Maffei T., Loveridge J., Butt T.M. Antimicrobial Volatiles of the Insect Pathogen *Metarhizium brunneum* // *J Fungi (Basel)*. – 2022. - Vol. 8(4). – P. 326. <https://doi.org/10.3390/jof8040326> .
87. Usmanova A., Brazhnikova Y., Omirbekova A., Kistaubayeva A., Savitskaya I., Ignatova L. Biopolymers as Seed-Coating Agent to Enhance Microbially Induced Tolerance of Barley to Phytopathogens. // *Polymers*. – 2024. – Vol. 16. – P. 376. <https://doi.org/10.3390/polym16030376>
88. Stahmann K.P. Three biotechnical processes using *Ashbya gossypii*, *Candida famata*, or *Bacillus subtilis* compete with chemical riboflavin production. // *Appl Microbiol Biot*. – 2000. – Vol. 53 (5). – P. 509-516.
89. Stahl P.D. Efficacy of native vesiculararbuscular mycorrhizal fungi after severe soil disturbance // *New Phytologist*. – 1988. – Vol. 110. – P. 347-354.
90. Stahl, P.D. Mycorrhizal fungi associated with *Bouteloua* and *Agropyron* in Wyoming sagebrush-grasslands // *Mycologia*. – 1982. – Vol. 74. – P. 877-885.
91. Stavropoulou A. About the action of metabolites of plant growth-promoting rhizobacteria *Bacillus subtilis* on plant salt tolerance // *Arch Phytopathol Plant Protect*. – 2011. – Vol. 44. – P. 1867-1882.
92. Stein T. *Bacillus subtilis* Antibiotics: structures, syntheses and specific functions // *Mol. Microbiol*. – 2005. – Vol. 56 (4). – P. 845–857.
93. Ștefănescu I.A. Evaluation of the solubilization ability of two strains of *Bacillus megaterium* for heavy metals from residual phosphogypsum // *Romanian Biotechnological Letters*. – 2011. – Vol. 16 (5). – P. 6513-6522.
94. Strobel, G. Natural products from endophytic microorganisms // *J. Nat. Prod*. – 2004. – Vol. 67. – P. 257-268.
95. Sturz, A.V. Bacterial endophytes: potential role in developing sustainable systems of crop production / A.V. Sturz, B.R. Christie, J. Nowak // *Crit Rev Plant Sci*. – 2000. – Vol. 19 (1). – P. 1-30.
96. Sturz A.V. The role of endophytic bacteria during seed piece decay and potato tuberization // *Plant Soil*. – 1995. – Vol. 175. – P. 257-263.
97. Stutz, J.C. Successive pot cultures reveal high species richness of arbuscular endomycorrhizal fungi in arid ecosystems // *Canadian Journal of Botany*. – 1996. – Vol. 74. – P.1883-1889.

98. Sun, H. Isolation, characterization, and antimicrobial activity of endophytic bacteria from *Polygonum cuspidatum* // African Journal of Microbiology Research. – 2013. – Vol. 7. – P. 1496-1504.
99. Sun, L. Isolation and characterization of a co-producer of fengycins and surfactins, endophytic *Bacillus amyloliquefaciens* ES-2, from *Scutellaria baicalensis* Georgi // World Journal of Microbiology and Biotechnology. – 2006. – Vol. 22 (12). – P. 1259-1266.
100. Sziderics A.H. Bacterial endophytes contribute to abiotic stress adaptation in pepper plants *Capsicum annuum* L. // Can J Microbiol. – 2007. – Vol. 53. – P. 1195-1202.
101. Sytar, O. Plants used for biomonitoring and phytoremediation of trace elements in soil and water. // Plant Metal Interaction Emerging Remediation Techniques. – Elsevier. – 2016. – P. 361-384.
102. Taghavi, S. Genome survey and characterization of endophytic bacteria exhibiting a beneficial effect on growth and development of poplar trees / S.Taghavi, C. Garafola, S.Monchy, L. Newman, A.Hoffman, N.Weyens, T. Barac, J. Vangronsveld, D.van Der Lelie // Appl Environ Microbiol. – 2009. – Vol. 75. – P.748-757.
103. Tak H.I. Advances in the application of plant growth-promoting rhizobacteria in phytoremediation of heavy metals. // Rev. Environ. Cont. Toxicol. – 2013. – Vol. 223. – P. 33-52.
104. Заядан Б.К., Маторин Д.Н., Баймаханова Г.Б., Болатхан К., Ораз Г.Д., Саданов А.К. Консорциумы микроорганизмов, перспективных при получении биоудобрения для рисовых культур // Микробиология. – 2014. – Т. 83, № 4. – С. 467–474.
105. Пахолкова А.В., Слаквенко М.А., Приходько Н.А. Экологически чистый биопрепарат «Олжа» для повышения плодородия почвы // Вестник КАСУ. – 2006. - № 3. – С.168-176.
106. Саданов А.К., Смирнова И.Э., Айткельдиева С.А. Повышение урожайности агрокультур и укрепление кормопроизводства приаральского региона на основе отечественных биопрепаратов // Микробиология және вирусология. – 2014. - №1(4). – С. 93-103.
108. Ulrich, K. Diversity of endophytic bacterial communities in poplar grown under field conditions // FEMS Microbiol. Ecol. – 2008. – Vol.63. – P. 169-180.
109. Huang W.Y., Cai Y.Z., Hyde K.D., Corke H., Sun M. Biodiversity of endophytic fungi associated with 29 traditional Chinese medicinal plants // Fungal Divers.–2008.-Vol.33.–P.61-75.
110. Huang W.Y., Cai Y.Z., Hyde K.D., Corke H., Sun M. Biodiversity of endophytic fungi associated with 29 traditional Chinese medicinal plants // Fungal Divers.–2008. -Vol.33. –P.61-75.
111. Barnett H.L., Hunter B.B. Illustrated Genera of Imperfect Fungi. // Phytopathological Society. – 1998.–240p.
112. Мирчинк Г.Т. Почвенная микология. -М.: МГУ. – 1988. – 224с.

113. Glickmann E., Dessaux Y. A critical examination of the specificity of the Salkowski reagent for indolic compounds produced by phytopathogenic bacteria // *Appl Environ Microbiol.* – 1995. – Vol. 61(2). – P. 793-6. <https://doi.org/10.1128%2Faem.61.2.793-796.1995>.
114. Morales A., Alvear M., Valenzuela E., Castillo CE, Borie F. Screening, evaluation and selection of phosphate-solubilising fungi as potential biofertiliser. // *J Soil Sci Plant Nutr* – 2011. –Vol 11(4). – P 89-103. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-95162011000400007>.
115. Khunnamwong P., Lertwattanasakul N., Jindamorakot S., Suwannarach N., Matsui K., Limtong S. Evaluation of antagonistic activity and mechanisms of endophytic yeasts against pathogenic fungi causing economic crop diseases // *Folia Microbiol.*– 2020.–Vol. 65(3).– P.573-590.
116. Watanabe T. Pictorial atlas of soil and seed fungi: morphologies of culturedfungiandkeyto species. - 2010. – Vol. 13. –P 426.
117. Gordon S.A.; Weber R.P. Colorimetric Estimation of Indoleacetic Acid. *Plant Physiol.* – 1951. – 26. – 192–195.
118. Vegas E.Z.S., Nieves B., Araque M., Velasco E., Ruiz J., Vila J. Outbreak of infection with *Acinetobacter* strain RUH 1139 in an intensive care unit // *Infection Control and Hospital Epidemiology.* - 2006. - Vol. 27. - P. 397-404.
119. Kumar S., Tamura K. and Nei M. MEGA3: integrated software for molecular evolutionary genetics analysis and sequence alignment. // *Briefings in bioinformatics.* – 2004. – Vol. 5. – P 150-163.
120. Jurado M.M.; Suárez-Estrella F.; Toribio A.J.; Martínez-Gallardo M.R.; Estrella-González M.J.; López-González J.A., López M.J. Biopriming of cucumber seeds using actinobacterial formulas as a novel protection strategy against *Botrytis cinerea*. // *Front. Sustain. Food Syst.* //2023. – Vol.7. – P. 1158722.
121. Chin J.M.; Lim Y.Y.; Ting A.S.Y. Biopolymers for biopriming of Brassica rapeseeds: A study on coating efficacy, bioagent viability and seed germination. // *J. Saudi Soc. Agric. Sci.* – 2021. – Vol. 20. – P 198.
122. Ren X.X.; Chen, C.; Ye, Z.H.; Su, X.Y.; Xiao, J.J.; Liao, M.; Cao, H.Q. Development and Application of Seed Coating Agent for the Control of Major Soil-Borne Diseases Infecting Wheat. // *Agronomy.* – 2019. – Vol. 9. – P. 413.
123. Singh R.S.; Kaur, N.; Kennedy, J.F. Pullulanproductionfromagro-industrialwasteanditsapplicationsinfoodindustry: A review. // *Carbohydr. Polym.* – 2019. – Vol. 217. – P. 46.
124. Mahmoud Y.A.; El-Naggar M.E.; Abdel-Megeed A., El-Newehy M. Recent Advancements in Microbial Polysaccharides: Synthesis and Applications. // *Polymers* – 2021. – Vol. 13. 4136.
125. Bradford M.M. A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. // *Anal. Biochem.* – 1976. – Vol. 72. – P. 248–254
126. Dhungana S.A., Itoh K. Effects of Co-Inoculation of Indole-3-Acetic Acid-Producing and Degrading Bacterial Endophytes on Plant Growth. // *Horticulturae* – 2019. – Vol. 5. – P. 17.

127. Hahn S.K., Chang Y.K., Kim B.S., Chang H.N. Optimization of microbial poly(3-hydroxybutyrate) recovery using dispersions of sodium hypochloride solution and chloroform. *Biotechnol. // Bioeng.* – 1994. – Vol. 44. – P. 256–2.
128. Shah S., Kumar A. Production and characterization of polyhydroxyalkanoates from industrial waste using soil bacterial isolates. *// Braz. J. Microbiol.* – 2021. – Vol. 52. P. 715–726.
129. Rebocho A.T., Pereira J.R., Neves L.A., Alves V.D., Sevrin C., Grandfils C., Reis M.A.M. Preparation and Characterization of Films Based on a Natural P(3HB)/mcl-PHA Blend Obtained through the Co-culture of *Cupriavidus Necator* and *Pseudomonas Citronellolis* in Apple Pulp Waste. *// Bioengineering* – 2020, – Vol. 7. P. 34.
130. Zhang Z., Li J., Ma L., Yang X., Fei B., Leung P.H.M., Tao X. Mechanistic Study of Synergistic Antimicrobial Effects between Poly (3-hydroxybutyrate) Oligomer and Polyethylene Glycol. *// Polymers* – 2020. – 12. – P. 2735.
131. Balouiri M., Sadiki M., Ibensouda S.K. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity. *// J. Pharm. Anal.* – 2016. – 6. – P. 71–79.
132. Madbouly A.K., Abo Elyousr K.A.M., Ismail I.M. Biocontrol of *Monilinia fructigena*, causal agent of brown rot of apple fruit, by using endophytic yeasts. *// Biol. Control* – 2020. – Vol. 144. – P. 1049–9644.
133. Safari Z.S., Ding P., Juju Nakasha J., Yusoff S.F. Combining Chitosan and Vanillin to Retain Postharvest Quality of Tomato Fruit during Ambient Temperature Storage. *// Coatings.* – 2020. – Vol. 10. – P. 1222.
134. Zheng F., Chen L., Zhang P.F., Zhou J.Q., Lu X.F., Tian W. Carbohydrate polymers exhibit great potential as effective elicitors in organic agriculture: A review. *// Carbohydr. Polym.* – 2020. – Vol. 230. – P. 115637.
135. Dutta B., Bandopadhyay R. Biotechnological Potentials of Halophilic Microorganisms and Their Impact on Mankind. *// J. Basic Appl. Sci.* – 2022. – Vol.11. – P. 75.
136. Goksungur Y., Uzunogullari P., Dagbagli S. Optimization of pullulan production from hydrolysed potato starch waste by response surface methodology. *// Carbohydr. Polym.* – 2011. – Vol. 83. – P. 1330.
137. Oliveira V.C. Study of the Molecular Weight of Pullulan Produced by *Aureobasidium pullulans* from Industrial Waste. *// Mater. Res.* – 2023. – Vol. 26. – P. e20230060.
138. Korbecka-Glinka G., Piekarska K., Wi'sniewska-Wrona M. The Use of Carbohydrate Biopolymers in Plant Protection against Pathogenic Fungi. *// Polymers* – 2022. – Vol. 14. – P. 2854.
139. Lopez-Moya F., Suarez-Fernandez M., Lopez-Llorca L.V. Molecular mechanisms of chitosan interactions with fungi and plants. *// Int. J. Mol. Sci.* – 2019. – Vol. 20. – P. 332.

140. Chin J.M., Lim Y.Y., Ting A.S.Y. Biopolymers for biopriming of Brassica rapeseeds: A study on coating efficacy, bioagent viability and seed germination. // J. Saudi Soc. Agric. Sci. – 2021. – Vol. 20. – P. 198.
141. Harrison J.G., Griffin E.A. The diversity and distribution of endophytes across biomes, plant phylogeny and host tissues: how far have we come and where do we go from here? // Environ Microbiol. – 2020. – Vol. 22(6). – P. 2107-2123. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.14968>
142. Wearn J.A., Sutton B.C., Morley N.J., Gange A.C. Species and organ specificity of fungal endophytes in herbaceous grassland plants // J. Ecol. – 2012. – Vol. 100. – P. 1085–1092.
143. Schulz B., Boyle C. The endophytic continuum // MycolRes. – 2005. – Vol. 109. – P. 661-686. <https://doi.org/10.1017/S095375620500273X>
144. Jin H., Yan Z., Liu Q., Yang X., Chen J., Qin B. Diversity and dynamics of fungal endophytes in leaves, stems and roots of *Stellerachamaejasme* L. in north western China // Antonie Leeuwenhoek. – 2013. – Vol. 104. – P. 949 – 963. <https://doi.org/10.1007/s10482-013-0014-2>
145. Visagie C.M., Houbaken J., Frisvad J.C., Hong S.-B., Klaassen C.H.W., et. al. Identification and nomenclature of the genus *Penicillium* // Studies in Mycology. – 2014. – Vol. 78. – P. 343–371. <http://doi.org/10.1016/j.simyco.2014.09.001>.
146. Christensen M., Frisvad J.C., Tuthill D.E. *Penicillium* species diversity in soil and some taxonomic and ecological notes // In: Integration of modern taxonomic methods for *Penicillium* and *Aspergillus* classification. – Amsterdam: Harwood Academic Publishers. – 2000. – P. 303–314
147. Максимов И.В., Веселова С.В., Нужная Т.В., Сарварова Е.Р., Хайруллин Р.М. Стимулирующие рост растений бактерии в ринокуляциялауляции устойчивости растений к стрессовым факторам // Физиология растений. – 2015. – Т. 62, № 6. – С. 763–775.
148. Hossain M.M., Sultana F. Application and Mechanisms of Plant Growth Promoting Fungi (PGPF) for Phytostimulation // In: Organic Agriculture. – London: Intech Open. – 2020. – P. 1-31
149. Ласточкина О.В. Адаптация и устойчивость растений пшеницы к засухе, опосредованная природными ринокуляциялауляторами роста *Bacillus* spp.: механизмы реализации и практическая значимость (обзор) // Сельскохозяйственная биология. – 2021. – Т. 56. № 5. – С. 843-867.
150. Kalayu G. Phosphate Solubilizing Microorganisms: Promising Approach as Biofertilizers // Int J Agron. – 2019. – Vol. 2019. – P. 1-7.
151. Gamalero E., Glick B.R. Recent Advances in Bacterial Amelioration of Plant Drought and Salt Stress. Biology – 2022. – Vol. 11. – P. 437.
152. Kumar A., Singh S., Gaurav A.K., Srivastava S., Verma J.P. Plant Growth-Promoting Bacteria: Biological Tools for the Mitigation of Salinity Stress in Plants. // Front. Microbiol. – 2020. – 11. – 1216.
153. Behera S., Priyadarshane M., Vandana D.S. Polyhydroxyalkanoates, the bioplastics of microbialorigin: Properties.

Biochemical synthesis and their applications. // Chemosphere. 2022. – Vol. 294. – P. 133723

154. Tan D., Wang Y., Tong Y., Chen G.-Q. Grand Challenges for Industrializing Polyhydroxyalkanoates (PHAs). // Trends Biotechnol. – 2021. – Vol. 39. – P. 953–963

155. Pekmezovic M., Kalagasidis Krusic M., Malagurski I., Milovanovic J., Stępień K., Guzik M., Charifou R., Babu R., O'Connor K., Nikodinovic-Runic J. Polyhydroxyalkanoate. Antifungal Polyene Formulations with Monomeric Hydroxyalkanoic Acids for Improved Antifungal Efficiency. // Antibiotics (Basel) – 2021. – Vol. 18. – P. 737.

156. Climate change fans spread of pests and threatens plants and crops, new FAO study [Электронный ресурс]
<https://www.fao.org/news/story/en/item/1402920/icode/21.06.2022>).

157. Baron N.C., Rigobelo E.C. Endophytic fungi: a tool for plant growth promotion and sustainable agriculture // Mycology. – 2021. – Vol. 13(1). – P. 39–55. doi: 10.1080/21501203.2021.1945699

158. Lamichhane J.R., You M.P., Laudinot V., Barbetti M.J., Aubertot J.N. Revisiting sustainability of fungicide seed treatments for field crops. // Plant Dis. – 2020. – Vol. 104. – P. 610–623.

159. Mancini V., Romanazzi G. Seed treatments to control seedborne fungal pathogens of vegetable crops. // Pest Manag. Sci. – 2014. – Vol. 70. – P. 860–868.

160. Gossen B.D., Peng G., Wolf T.M., McDonald M.R. Improving spray retention to enhance the efficacy of foliar-applied disease and pest-management products in field and row crops. // Can. J. Plant Pathol. – 2008. – Vol. 30. – P. 505–516.

161. Panahirad S., Dadpour M., Peighambaroust S.H., Soltanzadeh M., Gullon B., Alirezalu K., Lorenzo J.M. Applications of carboxymethyl cellulose- and pectin-based active edible coatings in preservation of fruits and vegetables: A review. // Trends Food Sci. Technol. – 2021. – Vol. 110. – P. 663–673.

162. Food and Agriculture Organization soils portal. Available online: [https://www.fao.org/soils-portal/data-hub/soil-maps-and-databases/global-map-of-salt-affected-soils/en/\(24.10.2022\)](https://www.fao.org/soils-portal/data-hub/soil-maps-and-databases/global-map-of-salt-affected-soils/en/(24.10.2022)).

163. Oren A. Life at high salt concentrations, intracellular KCl concentrations, and acid isoproteomes. // Front Microbiol – 2013. – Vol. 5. – P. 315.

164. Mohammed F., Roswanira A., Fahrul H. Halophiles: Biology, adaptation, and their role in decontamination of hypersaline environments. // World Journal of Microbiology and Biotechnology. – 2016. – Vol. 32(8). – P. 135.

165. Zhou N., Zhao S., Tian C.Y. Effect of halotolerant rhizobacteria isolated from halophytes on the growth of sugarbeet (*Beta vulgaris* L.) under salt stress. // FEMS Microbiology Letters – 2017. – Vol. 11. – P. 364.

166. Sharma S., Kulkarni J., Jha B. Halotolerant Rhizobacteria Promote Growth and Enhance Salinity Tolerance in Peanut. // Frontiers in Microbiology – 2016, – Vol. 7. – 368.

167. Reang L., Bhatt S., Tomar R.S. Plant growth promoting characteristics of halophilic and halotolerant bacteria isolated from coastal regions of Saurashtra Gujarat. // SciRep – 2022. – Vol. 12. – 4699.
168. Дерендовская А.Н., Жосан С. Хлорофильные показатели и их связь с продуктивностью растений озимого ячменя // Аграрная наука. – 2008. – Т. 1. – 3-7.
169. Прядкина Г.А., Шадчина Т.М. Прогнозирование зерновой продуктивности озимой пшеницы по хлорофильному фотосинтетическому потенциалу листьев // Физиология и биохимия культ. растений. – 2010. – Т. 42, № 1. – 50-60.
170. Лыскова И.В., Лисицын Е.М., Лыскова Т.В. Реакция пигментного комплекса листьев клевера лугового на погодные условия и элементы минерального питания // Аграрная наука Евро-Северо-Востока. – 2020. – Т. 21 (4). – С. 387-396
171. Sharkey T.D. Emerging research in plant photosynthesis // Emerg Top Life Sci. – 2020. – Vol. 4(2). – P. 137-150. <https://doi.org/10.1042/etls20200035>.
172. Egamberdieva D.; Davranov, K.; Wirth, S.; Hashem, A.; Abd_Allah, E. Impact of soil salinity on the plant-growth – promoting and biological control abilities of root associated bacteria. // Saudi J BiolSci – 2017. – Vol. 24(7). P. 1601-1608.
173. Prittesh P., Avnika P., Kinjal P., Jinal H., Sakthivel K., Amaresan N. Amelioration effect of salt-tolerant plant growth-promoting bacteria on growth and physiological properties of rice (*Oryza sativa*) under salt-stressed conditions. // Archives Of Microbiology – 2020. – Vol. 202. – P. 2419-2428.
174. Ignatova L., Usmanova A., Brazhnikova Y., Omirbekova A., Egamberdieva D., Mukasheva T., Kistaubayeva A., Savitskaya I., Karpenyuk T., Goncharova A. Plant Probiotic Endophytic *Pseudomonas flavescens* D5 Strain for Protection of Barley Plants from Salt Stress. // Sustainability – 2022. – Vol. 14. – P. 15881. <https://doi.org/10.3390/su142315881>
175. Zengrong H., Long Zh., Dandan Ch., Mingxiang L., Zhaopu L., Hongbo Sh., Xiaohua L. Salt Stress Encourages Proline Accumulation by Regulating Proline Biosynthesis and Degradation in Jerusalem Artichoke Plantlets. // PLoS One. – 2013. – Vol. 29. – P. e62085
176. Al-Tawee K., Iwaki T., Yabuta Y. A bacterial trans gene for catalase protect translation of D1 protein during exposure of salt-stressed tobacco leave to strong light. // Plant Physiol – 2007. – Vol. 145(1). – P. 258e265.
177. Khor S., Rahmad Z., Sreeramanan S. Ascorbate Peroxidase Activity of *Aranda Broga Blue Orchid* Protocorm-like Bodies (PLBs) In Response to PVS2 Cryopreservation Method. // Trop Life Sci Res – 2016. – P. 1. – P. 139-143.
178. Zamin Sh. S., Xiangying W., Muhammad U., Zainul A., Faisal Z., Faisal Z. Scrutinizing the Application of Saline Endophyte to Enhance Salt Tolerance in Rice and Maize Plants Front. // Plant Sci. – 2022. – Vol. 12. – P. 770084.

179. Selvakumar G., Shagol C.C., Kim K., Han S., Sa T. Spore associated bacteria regulates maize root K^+/Na^+ ion homeostasis to promote salinity tolerance during arbuscular mycorrhizal symbiosis. // *BMC Plant Biol.* – 2018. – Vol. 5;18(1), – P. 109.
180. Ma Y., Dias M.C., Freitas H. Drought and Salinity Stress Responses and Microbe-Induced Tolerance in Plants. // *Front Plant Sci.* – 2020. – Vol. 11. – P. 591911.
181. Selvakumar G., Shagol C.C., Kim K., Han S., Sa T. Spore Associated Bacteria Regulates Maize Root K^+/Na^+ Ion Homeostasis to Promote Salinity Tolerance during Arbuscular Mycorrhizal Symbiosis. // *BMC Plant Biol.* – 2018. – Vol. 18. – P. 109.
182. Ma Y., Dias M.C., Freitas H. Drought and Salinity Stress Responses and Microbe-Induced Tolerance in Plants. // *Front. Plant Sci.* – 2020. – Vol. 11. – P. 591911.
183. Kapadia C., Sayyed R.Z., Enshasy H.A.E., Vaidya H., Sharma D., Patel N., Malek R.A., Syed A., Elgorban A.M., Ahmad K. et al. Halotolerant Microbial Consortia for Sustainable Mitigation of Salinity Stress, Growth Promotion, and Mineral Uptake in Tomato Plants and Soil Nutrient Enrichment. // *Sustainability* – 2021. – Vol. 13. – P. 8369
184. Alam S.M. Nutrient Uptake by Plants under Stress Conditions. In *Handbook of Plant and Crop Stress*; Pessarakli M., Ed., Marcel Dekker, Inc.: // New York, NY, USA. – 1999. – P. 285–313
185. Egamberdieva D., Alaylar B., Kistaubayeva A., Wirth S.; Bellingrath-Kimura S.D. Biochar for Improving Soil Biological Properties and Mitigating Salt Stress in Plants on Salt-affected Soils. // *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* – 2022. – Vol. 53. – P. 140–152.
186. Quaglia M., Ederli L., Pasqualini S., Zizzerini A. Biological control agents and chemical inducers of resistance for postharvest control of *Penicillium expansum* Link. on apple fruit. // *Postharvest Biol. Technol.* – 2011. – Vol. 59. – P. 307–315.
187. Romero J., Albertos I., Díez-Méndez A., Poveda J. Control of postharvest diseases in berries through edible coatings and bacterial probiotics. // *Sci. Hortic.* – 2022. – Vol. 304. – P. 1–16.
188. Quaglia M., Ederli L., Pasqualini S., Zizzerini A. Biological control agents and chemical inducers of resistance for postharvest control of *Penicillium expansum* Link. // *Postharvest Biol. Technol.* – 2011. – Vol. 59. – P. 307–315.
189. Romero J., Albertos I., Díez-Méndez A., Poveda J. Control of postharvest diseases in berries through edible coatings and bacterial probiotics. // *Sci. Hortic.* – 2022. – Vol. 304. – P. 1–16.
190. Romero J., Albertos I., Díez-Méndez A., Poveda J. Control of postharvest diseases in berries through edible coatings and bacterial probiotics. // *Sci. Hortic.* – 2022. – Vol. 304. – P. 1–16.

191. Spadaro D., Gullino M.L. State of the art and future prospects of the biological control of postharvest fruit diseases. // *Int. J. Food Microbiol.* – 2004. – Vol. 91. – P. 185–194.
192. Quaglia M., Ederli L., Pasqualini S., Zazzerini A. Biological control agents and chemical inducers of resistance for postharvest control of *Penicillium expansum* Link. // *Postharvest Biol. Technol.* – 2011. – Vol. 59. – P. 307–315.
193. McAdam B., BrennanFournet M., McDonald P., Mojicevic M. Production of Polyhydroxybutyrate (PHB) and Factors Impacting Its Chemical and Mechanical Characteristics. // *Polymers* – 2020. – Vol. 12. – P. 2908.
194. Tan D., Wang Y., Tong Y., Chen G.-Q. Grand Challenges for Industrializing Polyhydroxyalkanoates (PHAs). // *Trends Biotechnol.* – 2021. – Vol. 39, 953–963.
195. Ignatova L., Brazhnikova Y., Omirbekova A., Usmanova A. Polyhydroxyalkanoates (PHAs) from Endophytic Bacterial Strains as Potential Biocontrol Agents against Postharvest Diseases of Apples. // *Polymers* – 2023. – Vol. 15. – P. 2184. <https://doi.org/10.3390/polym15092184>
196. Dutta B., Bandopadhyay R. Biotechnological Potentials of Halophilic Microorganisms and Their Impact on Mankind. // *Beni-Suef Univ. J. Basic Appl. Sci.* – Vol. 2022. – Vol. 11. – P. 75.
197. Getachew A., Woldeesenbet F. Production of biodegradable plastic by polyhydroxybutyrate (PHB) accumulating bacteria using low cost agricultural waste material. // *BMC Res. Notes* – 2016. – Vol. 9. – P. 509
198. Tan D., Wang Y., Tong Y., Chen G.-Q. Grand Challenges for Industrializing Polyhydroxyalkanoates (PHAs). // *Trends Biotechnol.* – Vol. 2021. – Vol. 39. – P. 953–963.
199. Dutt Tripathi A., Paul V., Agarwal A., Sharma R., Hashempour-Baltork F., Rashidi L., Khosravi Darani K. Production of polyhydroxyalkanoates using dairy processing waste. // *Bioresour. Technol.* – 2021. – Vol. 326. – P.124735.
200. Loan T.T., Trang D.T.Q., Huy P.Q., Ninh P.X., Van Thuoc D. A fermentation process for the production of poly(3-hydroxybutyrate) using waste cooking oil or waste fish oil as in expensive carbon substrate. // *Biotechnol. Rep.* – Vol. 2022. – Vol. 33. – P. e00700.
201. Verdini F., Tabasso S., Mariatti F., Bosco F., Mollea C., Calcio Gaudino E., Cirio A., Cravotto G. From Agri-Food Wastes to Polyhydroxyalkanoates through a Sustainable Process. // *Fermentation* – 2022. – Vol. 8. – P. 556.
202. Rysbek A., Ramankulov Y., Kurmanbayev A., Richert A., Abeldenov S. Comparative Characterization and Identification of Poly-3-hydroxybutyrate Producing Bacteria with Subsequent Optimization of Polymer Yield. // *Polymers* – 2022. – Vol. 14. – P. 335.
203. Rysbek A., Ramankulov Y., Kurmanbayev A., Richert A., Abeldenov S. Comparative Characterization and Identification of Poly-3-hydroxybutyrate Producing Bacteria with Subsequent Optimization of Polymer Yield. // *Polymers* 2022, 14, 335.

204. Javers J., Karunanithy C. Polyhydroxyalkanoate Production by *Pseudomonas putida* KT217 on a Condensed Corn Solubles Based Medium Fed with Glycerol Water or Sunflower Soapstock. // *Adv. Microbiol.* – 2012. – Vol. 2. – P. 241–251
205. Bustamante-Torres M., Arcentales-Vera B., Estrella-Nuñez J., Yáñez-Vega H., Bucio E. Antimicrobial Activity of Composites-Based on Biopolymers. // *Macromol* – 2022. – Vol. 2. – P. 258–283.
206. Giourieva V.S., Papi R.M., Pantazaki A.A. Polyhydroxyalkanoates Applications in Antimicrobial Agents Delivery and Wound Healing. In *Biotechnological Applications of Polyhydroxyalkanoates*; Kalia, V.C., Ed.; Springer: Singapore, – 2019; – P. 49–76.
207. Cheng Z., Gao J., Liu Q., Gu Q. The effect of alkyl chain length of (R)-3-Hydroxybutyric alkylester on antibacterial activity and its antibacterial mechanism. // *J. Biomater. Appl.* – 2022. – Vol. 37. – P. 275–286.
208. Ma L., Zhang Z., Li J., Yang X., Fei B., Leung P.H.M., Tao X.M. A new antimicrobial agent: Poly (3-hydroxybutyric acid) Oligomer. // *Macromol. Biosci.* – 2019. – Vol. 19. – P. e1800432.
209. Quaglia M., Ederli L., Pasqualini S., Zazzerini A. Biological control agents and chemical inducers of resistance for postharvest control of *Penicillium expansum*. // *Postharvest Biol. Technol.* – 2011. – Vol. 59. – P. 307–315.
210. Spadaro D., Gullino M.L. State of the art and future prospects of the biological control of postharvest fruit diseases. // *Int. J. Food Microbiol.* – 2004. – Vol. 91. – P. 185–194.
211. Zhang X., Zong Y., Li Z., Yang R., Li Z., Bi Y., Prusky D. Postharvest *Pichia guilliermondii* treatment promotes wound healing of apple fruits. // *Postharvest Biol. Technol.* – 2020. – Vol. 167. – P. 111228.
212. Муродова С.С., Давранов К.Д. Комплексные микробные препараты. Применение в сельскохозяйственной практике // *Biotechnologia Acta.* – 2014. – Т. 7, № 6. – С. 92-101
213. Pirzada T., Farias B.V., Mathew R., Guenther R.H., Byrd M.V., Sit T.L., Pal L., Opperman C.H., Khan S.A. Recent Advances in Biodegradable Matrices for Active Ingredient Release in Crop Protection: Towards Attaining Sustainability in Agriculture. *Curr. Opin.* // *Colloid Interface Sci.* – 2020. – Vol. 48. – P. 121.
214. Paravar A., Piri R., Balouchi H., Ma Y. Microbial seed coating: An attractive tool for sustainable agriculture. // *Biotechnol. Rep.* – 2023. – Vol. 37. – P. e00781.
215. Chin J.M., Lim Y.Y., Ting A.S.Y. Biopolymers for biopriming of Brassica rapeseeds: A study on coating efficacy, bioagent viability and seed germination. // *J. Saudi Soc. Agric. Sci.* – 2021. – Vol. 20. – P. 198.
216. Korbecka-Glinka G., Piekarska K., Wiśniewska-Wrona M. The Use of Carbohydrate Biopolymers in Plant Protection against Pathogenic Fungi. // *Polymers* – Vol. 2022. – Vol. 14. – P. 2854.

217. Lopez-Moya F., Suarez-Fernandez M., Lopez-Llorca L.V. Molecular mechanisms of chitosan in interactions with fungi and plants. // *Int. J. Mol. Sci.* – 2019. – Vol. 20. – P. 332.
218. Korbecka-Glinka G., Piekarska K., Wiśniewska-Wrona M. The Use of Carbohydrate Biopolymers in Plant Protection against Pathogenic Fungi. // *Polymers* – 2022. – Vol. 14. – P. 2854.
219. Chin J.M., Lim Y.Y., Ting A.S.Y. Biopolymers for biopriming of Brassicarape seeds: A study on coating efficacy, bioagent viability and seed germination. // *J. Saudi Soc. Agric. Sci.* – 2021. – Vol. 20. – P. 198.
220. Ren X.X., Chen C., Ye Z.H., Su X.Y., Xiao J.J., Liao M., Cao H.Q. Development and Application of Seed Coating Agent for the Control of Major Soil-Borne Diseases Infecting Wheat. // *Agronomy* – 2019. – Vol. 9. – P. 413.
221. Nor Azillah Fatimah., Othman Sarala, Selambakkannu., Noriaki Seko. Biodegradable dual-layer polyhydroxyalkanoate (pha)/polycaprolactone (pcl) mulch film for agriculture: preparation and characterization. // *Energy nexus*. – 2022. – Vol. 59. – P. 8:100137-100137. doi:10.1016/j.nexus.
222. Yu J., Pedroso I.R. Mycotoxins in Cereal-Based Products and Their Impacts on the Health of Humans, Livestock Animals and Pets. // *Toxins* – 2023. – Vol. 15. – P. 480.
223. Karlsson I., Persson P., Friberg H. Fusarium Head Blight From a Microbiome Perspective. // *Front. Microbiol.* – 2021. – Vol. 12. – P. 628373.
224. Newitt J.T.; Prudence, S.M.M.; Hutchings, M.I.; Worsley, S.F. Biocontrol of Cereal Crop Diseases Using Streptomyces. // *Pathogens* – 2019. – Vol. 8. – P. 78.
225. Gouda S., Kerry R.G., Das G., Paramithiotis S., Shin H.S. Revitalization of plant growth promoting rhizobacteria for sustainable development in agriculture. // *Microbiol. Res.* – 2018. – Vol. 206. – P. 131.
226. Afzal I., Shinwari Z.K., Sikandar S., Shahzad S. Plant Beneficial Endophytic Bacteria: Mechanisms, Diversity, Host Range and Genetic Determinants. // *Microbiol. Res.* – 2019. – Vol. 221. – P. 36.
227. Дерендовская А.Н., Жосан С. Хлорофильные показатели и их связь с продуктивностью растений озимого ячменя // *Аграрная наука*. – 2008 – Vol. 1. – С. 3-7.
228. Zandi P., Schnug E. Reactive Oxygen Species, Antioxidant Responses and Implications from a Microbial Modulation Perspective. // *Biology* – 2022. – Vol. 11. – P. 155.
229. Sahu P.K., Jayalakshmi K., Tilgam J., Gupta A., Nagaraju Y., Kumar A., Hamid S., Singh H.V., Minkina T., Rajput V.D. et al. ROS generated from biotic stress: Effects on plants and alleviation by endophytic microbes. // *Front. PlantSci.* – 2022. – Vol. 13. – P. 1042936.
230. Liang X., Zhang L., Natarajan S.K., Becker D.F. Proline mechanisms of stress survival. *Antioxid. // Redox Signal.* – 2013. – Vol. 19. – P. 998.

231. Piri R., Moradi, A., Balouchi H., Salehi A. Improvement of cumin (*Cuminumcuminum*) seed performance under drought stress by seed coating and biopriming. // *Sci. Hortic.* – 2019. – Vol. 257. – P. 21.

232. Bhattacharyya C., Banerjee S., Acharya U. Evaluation of plant growth promotion properties and induction of antioxidative defense mechanism by tea rhizobacteria of Darjeeling. // *Sci. Rep.* – 2020. – Vol. 10. – P. 15536.

233. Neshat M., Abbasi A., Hosseinzadeh A., Sarikhani M.R.; Dadashi Chavan D., Rasoulnia A. Plant growth promoting bacteria (PGPR) induce antioxidant tolerance against salinity stress through biochemical and physiological mechanisms. // *Physiol. Mol. Biol. Plants.* – 2022. – Vol. 28. – P. 347.

234. Jain C., Rodriguez-R L.M., Phillippy A.M., Konstantinidis K.T., Aluru S. High Throughput ANI Analysis of 90K Prokaryotic Genomes Reveals Clear Species Boundaries. // *Nat. Commun.* – 2018. – Vol. 9. – P. 5114.