

НАЦИОНАЛЬНАЯ АКАДЕМИЯ НАУК КЫРГЫЗСКОЙ РЕСПУБЛИКИ
БИОЛОГО-ПОЧВЕННЫЙ ИНСТИТУТ
МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ
КЫРГЫЗСКОЙ РЕСПУБЛИКИ
ОШСКИЙ ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

Межведомственный диссертационный совет Д.03.09.393

На правах рукописи
УДК 502.2:574:579.841.1 (043.3)

КОНУРБАЕВА МАХАБАТ УЛАРБЕКОВНА

**ЭКОЛОГИЯ И БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА БАКТЕРИЙ
ГРУППЫ *PSEUDOMONAS***

03.02.08 – экология

03.02.03 – микробиология

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Бишкек – 2011

Работа выполнена в лаборатории гельминтологии и экологии микроорганизмов Биолого-почвенного института Национальной академии наук Кыргызской Республики

Научный руководитель: доктор биологических наук, профессор
Доолоткельдиева Тинатин Доолоткельдиевна

**Официальные
оппоненты:** доктор биологических наук, профессор
Мукашева Тогжан Джангельдиевна

кандидат биологических наук, доцент
Калдыбаев Бакыт Кадырбекович

Ведущая организация: Государственное агентство охраны окружающей среды и лесного хозяйства при Правительстве Кыргызской Республики

Кыргызская Государственная медицинская академия
им. И.К. Ахунбаева

Защита диссертации состоится « 31 » мая 2011 г. в 14.00 часов на заседании Межведомственного диссертационного совета Д.03.09.393 по защите диссертаций на соискание ученой степени доктора (кандидата) наук при Биолого-почвенном институте Национальной академии наук Кыргызской Республики (соучредитель: Ошский технологический университет Министерства образования и науки Кыргызской Республики) по адресу: 720071, г. Бишкек, проспект Чуй, 265

С диссертацией можно ознакомиться в Центральной научной библиотеке НАН Кыргызской Республики по адресу: 720071, г. Бишкек, проспект Чуй, 265а

Автореферат разослан « 27 » апреля 2011 г.

Ученый секретарь
межведомственного
диссертационного совета
кандидат биологических наук,
старший научный сотрудник

С. Л. Приходько

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы диссертации. Аэробные бактерии рода *Pseudomonas* – важная в научном и практическом отношении гетерогенная группа микроорганизмов, широко населяющих биосферу и принимающих активное участие в процессах минерализации органических соединений, очистке окружающей среды от загрязнения.

В последние годы внимание ученых всего мира привлекает особенность метаболизма и катаболических реакций, осуществляемых этой группой бактерий, высокая скорость их роста на простых по составу питательных средах. Особенности генетической организации, в частности наличие плазмид, широкие возможности для генно-инженерного манипулирования позволяют рассматривать бактерии рода *Pseudomonas* как перспективный объект для работ в области биотехнологии (В.В. Смирнов, Е.А. Киприанова, 1990).

Среди микроорганизмов этого рода имеются продуценты витаминов и коферментов, органических кислот и аминокислот, полисахаридов и поверхностно-активных веществ, антибиотиков и многих других биологически активных соединений.

В связи с биологизацией и экологизацией сельскохозяйственного производства, направление по созданию биопрепаратов по защите растений с полифункциональными свойствами становится все более актуальным. Одними из потенциальных объектов агробиотехнологии являются ризосферные бактерии, широко используемые для разработки биологических средств защиты растений от фитопатогенов, а также биопрепаратов, стимулирующих рост и повышающих продуктивность растений. Среди ризосферных бактерий занимают особое место бактерии рода *Pseudomonas*. О перспективах практического применения можно судить по списку уже разработанных на их основе биопрепаратов: *BlightBan A506*, *BioSave*, *Blue-Circle*, *Intersept*, *Victus*, Планриз, Агат-25, Псевдобактерин-2, проявляющих высокую антагонистическую активность по отношению к фитопатогенным грибам и бактериям, а также способность к стимуляции роста сельскохозяйственных культур (Боронин, 1998; Государственный каталог пестицидов и агрохимикатов России, 2005).

Бактерии рода – *Pseudomonas* представляют огромный потенциал в биоремедиации - один из эффективных методов очистки окружающей среды от техногенных загрязнений. Они обладают большим катаболическим потенциалом в отношении ароматических углеводов. Псевдомонады способны полностью утилизировать или частично трансформировать такие соединения, как нафталин, фенантрен, флуорен и др. (Барышникова, 2002).

Несмотря на интенсивность проводимых по *Pseudomonas* исследований в мировой науке в условиях Кыргызстана биология, экология, распространение и

биотехнологический потенциал этой группы бактерий остаются не изученными. В связи с вышеизложенными, несомненно, актуальными остаются вопросы изучения экологии, распространения этой группы бактерий в биотопах Кыргызстана и выяснение их роли в почвенной биодинамике, в ризосфере растений и водной экосистеме, а также выявления их полезных для биотехнологии свойств.

Связь темы диссертации с научными программами. Работа является одним из разделов научно-исследовательского проекта (НИР) по изучению микробиологического разнообразия экосистем Кыргызстана и биотехнологического потенциала полезных видов микроорганизмов (МОиН КР № 0000742, 0003948).

Цель и задачи исследования. Целью настоящей работы являлось изучение экологии, распространение и биологические свойства бактерий рода *Pseudomonas* и изыскание среди них наиболее высокоактивных культур, обладающих ростостимулирующей активностью семян и всходов сельскохозяйственных культур и антибиотическим действием в отношении возбудителей их грибных болезней, а также углеводородокисляющей способностью для биоремедиации природной среды от нефтезагрязнений.

Исходя из этого, перед нами были поставлены следующие задачи:

1. Поиск и выделение штаммов рода *Pseudomonas* из разных биотопов Кыргызстана, выявление их экологических особенностей и распространения.
2. Изучение морфологических, физиологических и биохимических свойств выделенных штаммов и их идентификация.
3. Определение биологических свойств выделенных штаммов в лабораторных и модельных условиях.
4. Оптимизация состава питательных сред и технических условий для длительного поддержания отобранных штаммов *Pseudomonas* в лабораторной и рабочей коллекции.

Научная новизна полученных результатов. Впервые в условиях Кыргызстана были проведены исследования по экологии и распространению бактерий рода *Pseudomonas* в различных биотопах республики. Выявлены эколого-физиологические особенности этой группы бактерий, позволяющие им адаптироваться к разным биотопам окружающей среды.

Практическая значимость полученных результатов. Создана лабораторная коллекция местных штаммов бактерий *Pseudomonas*, обладающих ростостимулирующим, антибиотическим и углеводородокисляющим свойствами. Полученные данные в ходе экспериментального исследования могут быть использованы в области биотехнологии сельскохозяйственной и окружающей среды. Из лабораторной коллекции 7 изолята *Pseudomonas* рекомендованы для создания биофунгицидов, биостимуляторов,

которые могут быть применены в сельском хозяйстве для защиты растений от болезней и повышения их продуктивности; 2 изолята *Pseudomonas* из лабораторной коллекции рекомендованы для создания биопрепаратов, используемых в биоремедиации окружающей среды от нефтезагрязнений (Пат.№1204 Кыргызской Республики). Угледородоокисляющий штамм *Pseudomonas fluorescens*, используемый для очистки окружающей среды от нефтепродуктов. /Т.Д.Доолоткельдиева, М.У. Конурбаева. -20080061.1; Заявка 12.05.2008; Оpubл.30.12.2009, Бюл.№12

Основные положения диссертации, выносимые на защиту:

- экология, распространение и биология бактерий рода *Pseudomonas* по разным биотопам Кыргызстана;
- фенотипические особенности бактерий *Pseudomonas*, выделенных из биотопов Кыргызстана;
- целесообразность изыскания новых местных штаммов *Pseudomonas* для сельскохозяйственной биотехнологии, в частности для защиты растений от болезней и биостимуляции их роста;
- целесообразность изыскания новых местных штаммов *Pseudomonas* для биоремедиации окружающей среды от загрязнений, в частности от нефтепродуктов.
- оптимизация технологических условий для длительного поддержания отобранных штаммов *Pseudomonas* в лабораторной и рабочей коллекции.

Личный вклад соискателя. Все основные экспериментальные исследования и полученные результаты работы выполнены автором при участии научного руководителя.

Апробации результатов диссертации. Основные результаты исследований доложены на Международной научно-практической конференции: «Экологическая безопасность горной страны и новые информационные технологии в образовании» (Бишкек,2002); международная научная конференция «Современные проблемы геохимической экологии и сохранения биоразнообразия» (Бишкек,2003); на II международной конференции «Современные проблемы геоэкологии и сохранение биоразнообразия» (Бишкек,2007); на научном семинаре «Современное состояние изученности и сохранение биоразнообразия Кыргызстана» (Бишкек, 2008).

Публикации. По результатам исследования опубликованы 14 научных статей, получен 1 патент.

Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на 169 страницах компьютерного текста, состоит из введения, 7 глав, заключения, выводов, списка использованной литературы, содержит 22 таблицы и 55 рисунков и приложения.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

I ГЛАВА. ИСТОРИЯ ИЗУЧЕНИЯ БАКТЕРИЙ РОДА *PSEUDOMONAS* И ЕГО БИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВАХ. Приводятся сведения об истории и развитии учения о бактерии рода *Pseudomonas*, первых шагах практического использования микроорганизма. Приводятся данные об изучении биологических свойств и применения псевдомонад в области сельского хозяйства и в биоремедиации окружающей среды от нефтезагрязнений.

II ГЛАВА. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ. Для изучения экологии, распространения и биологии бактерий группы *Pseudomonas* в условиях Кыргызстана были исследованы следующие природные биотопы.

1. Ризосферная микрофлора. Ризосферная микрофлора изучалась методом Теппера (1987). Образцы отбирали в агробиоценозах Чуйской долины. Для выявления встречаемости бактерий группы *Pseudomonas* в зоне корня растений была изучена ризосферная микрофлора следующих сельскохозяйственных растений: **а)** пшеница, **б)** ячмень **в)** картофель, **г)** люцерна (учебное хозяйство, питомник Кыргызского аграрного университета).

2. Поверхностная вода, реки Аламедин, Ала-Арча, в черте города. Водные образцы отбирались из 14 участков рек, в пределах города, по сезонным циклам: зима, весна, лето, осень. Пробы воды заливали в стерильные бутылки от 200 до 500 мл. Забор поверхностных проб проводили с глубины 5 см, посев делали из проб воды без предельных разведений. Отбор проб воды проводили согласно методам Санитарно-эпидемиологического надзора (1977).

3. Почвенные образцы из различных регионов Кыргызстана. Были анализированы 75 почвенных образцов. Микробиологический анализ почвенных образцов проводили согласно методам Д.Г.Звягинцева (1997). Анализировались следующие типы почв: горные черноземы, горно-темно-каштановые, светло-бурые сероземы, солончаки, светло-каштановые сероземы. Сбор производили в летний период, в регионах: Чуйский почвенный округ: Жайыльский район, с.Саргау, с. Селекционное, Аламединский р\н, с.Кой-таш. Иссыккульская почвенная подпровинция: Тонский р\н, с.Кок-Мойнок, Джети-Огузский р\н, с.Светлая Поляна, С.Чон-Кызыл-Суу, Ак-Суйский р\н, еловый пояс, Семеновское ущелье.

Внутренне Тянь-Шаньская почвенная подпровинция: пер. Тоо-Ашуу, пер. Ала-Бель, Кочкорский р\н пер. Кувакы, перевал Долон, Ат-Башинский р\н, альпийский пояс, с. Кара-Суу, с.Первомайское.

В течение 2002-2007 гг. из различных природных биоценозов Кыргызстана проводился целенаправленный поиск штаммов бактерии рода *Pseudomonas*. Всего было выделено 267 штамма, из них у 27 штаммов были изучены морфолого-культуральные и физиолого-биохимические свойства.

Идентификацию сапротрофных флуоресцирующих псевдомонад проводили с использованием диагностического ключа Киприановой с соавторами (В.В. Смирнов, Е.А. Киприанова, 1990) трансформированного в систему «ФАПТЖ-ДЛМ».

Для увеличения продуцирования биологически активных веществ проводили оптимизацию состава питательной среды. Были испытаны 6 жидких питательных сред.

При выделении фитопатогенных грибов использован метод влажной камеры. Для выделения чистых культур грибов использовали среду Чапека, картофельный агар, рН-5,5. Определение возбудителей болезней проводили методом микроскопирования (*90), изучали макро- и микроморфологическое строение гриба, использовали определители Н.М. Пидопличко (Н.М. Пидопличко, 1977).

Антагонистические свойства штаммов изучали посевом культур методом штрихов и агаровых блочков на среде МПА, Чапека. Активность определялась по зонам угнетения роста тест-объектов, в мм (Н.С. Егоров, 1986).

Для изучения влияния исследуемых штаммов на рост, развитие и формирование генеративных органов определяли морфофизиологические характеристики проростков пшеницы и огурцов в условиях модельных опытов с использованием штаммов рода *Pseudomonas* в концентрации 10^5 . Контролем служили семена, замоченные в воде.

Для выявления углеводородокисляющей способности штаммов бактерий *Pseudomonas* был проведен скрининг 22 изолятов. Были выявлены две активные культуры *Pseudomonas fluorescens* ISS-4 и *Pseudomonas putida* 5mn-2, у которых была изучена способность культур трансформировать бензин в качестве единственного источника углерода в лабораторных и модельных опытах.

Культивирование и сравнение нефтеразлагающей активности штаммов проводили в жидкой питательной среде. Культивирование бактерий *Pseudomonas* проводили в колбах Эрленмейера, содержащих 100 мл жидкой питательной среды с добавлением разных концентраций бензина на круговой качалке (180 об/мин) при 28°C в течение 5 суток. Инокулирование колб с нефтепродуктом производили суспензией микроорганизмов 10^6 клеток/мл (5 мл на 100 мл среды).

При выявлении адаптационной способности штамма *Pseudomonas fluorescens* ISS-4 к высоким концентрациям бензина исследовали на твердой

питательной среде с добавлением бензина в следующих концентрациях: 12,5 мл; 25 мл; 50 мл на 100 мл плотной среды. Углеводородокисляющую способность штамма выражали характером роста колоний и численностью колониеобразующих единиц (КОЕ).

Модельные полупроизводственные опыты проводили в течение трех месяцев на следующих типах почв: луговой серозем и темно-каштановых. Концентрация бензина в почве составляла 500 мг/кг почвы. Внесение живых клеток штамма *Pseudomonas fluorescens* ISS-4 в нефтезагрязненную почву производили три раза в начале каждого месяца, в количестве 10^9 кл/мл.

В качестве показателей изучали:

- 1) дыхательную активность почвенных образцов (Ид, количество CO_2), проводили ацидометрическим методом (Е.В. Аринушкина, 1961);
- 2) весовой метод содержания углеводорода в почвенных образцах (А.И. Богомолов, 1984);
- 3) влияние интродуцента на аборигенную микрофлору;
- 4) популяционную динамику штамма *Pseudomonas fluorescens* ISS-4.

Количественный контроль роста микроорганизмов осуществляли методом предельных разведений с высевом на чашки Петри с МПА (мясо-пептонный агар) и последующим подсчетом колоний.

Полученные результаты обрабатывали статистически (Б.М. Доспехов, 1979).

III ГЛАВА. ЭКОЛОГИЯ И РАСПРОСТРАНЕНИЕ БАКТЕРИЙ РОДА *PSEUDOMONAS* В РАЗЛИЧНЫХ БИОТОПАХ КЫРГЫЗСТАНА

Распространение бактерий рода Pseudomonas в ризосфере сельскохозяйственных растений. Для выявления встречаемости бактерий *Pseudomonas* в зоне корня была изучена ризосферная микрофлора следующих сельскохозяйственных растений: зерновые - пшеница, ячмень; кормовые - люцерна; овощные - картофель.

Бактерии группы *Pseudomonas* функционируют в определенном соотношении в ризосфере исследованных сельскохозяйственных культур. Численность бактерий рода *Pseudomonas* зависит главным образом от вегетативной фазы растений.

В фазе всхода, независимо от вида исследованных сельскохозяйственных культур, основной доминирующей группой в ризосферной микрофлоре были бактерии рода *Pseudomonas*. По мере созревания растения численность псевдомонад падает, происходит сукцессионные изменения в составе ризосферной микрофлоры, смена другими видами микроорганизмов.

Также можно предположить, что плотность заселения бактерии *Pseudomonas* ризосферы сельхозкультур зависит от предшествующей культуры растений и самой возделываемой культуры. Так в ризосфере люцерны нами

было выявлено наибольшее количество псевдомонад, что составило 56 % от общей численности микроорганизмов. По видовому составу в ризосфере исследованных сельскохозяйственных культур функционировали 4 вида бактерий *Pseudomonas*: *Ps. aureofaciens*, *Ps. aurantiaca*, *Ps. fluorescens*, *Ps. putida*. Как известно, все эти виды являются типичными представителями ризосферной микрофлоры, которые питаются за счет корневых выделений растений.

Распространение бактерий *Pseudomonas* в различных типах почв Кыргызстана. В работе были проанализированы почвенные образцы из 15 различных регионов Кыргызстана. В результате исследований была выявлена частота встречаемости и распространенности бактерий рода *Pseudomonas* в различных типах почв Чуйской почвенной, Иссыккульской почвенной и Внутренне-Тяньшанской почвенной подпровинций. В целом из таких почв было выделено 108 изолятов бактерий рода *Pseudomonas*, из них 8 изолятов было отобрано для дальнейших исследований.

По биоразнообразию и видовому составу почвенная микрофлора представлена богаче по сравнению с другими природными биотопами. Почвы горно-черноземные и темно-каштановые богаты бактериями рода *Pseudomonas*. В этих почвах псевдомонады были обнаружены в максимальном количестве.

Так, в темно-каштановых почвах альпийского пояса нами было выделено два штамма – *Pseudomonas fluorescens* и *Pseudomonas putida*. Тогда как из горно-черноземных почв нам удалось выделить в чистую культуру 4 вида штамма бактерий *Pseudomonas*: *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas stutzeri*, *Pseudomonas aurantiaca*.

В сероземно-луговых почвах выявили один вид – *Pseudomonas fluorescens*.

Среди описанных видов, *Pseudomonas stutzeri* отмечен как редко встречающийся вид, он предпочитает только горно-черноземные почвы. *Pseudomonas stutzeri* очень чувствителен к наличию гумуса в почве, именно гумус является для него источником питания и энергии.

Среди описанных видов *Pseudomonas fluorescens* отмечен как часто встречающийся и доминирующий вид.

Эта бактерия обнаружена во всех типах почв Кыргызстана в значительном количестве. Таким образом, как показали результаты наших исследований, распространение и встречаемость бактерий рода *Pseudomonas* в количественном отношении и по видовому составу варьирует в зависимости от типа почв.

Экология *Pseudomonas* в поверхностных водах, рек: Ала-Арча и Аламедин (в черте г. Бишкек). Были исследованы участки рек Ала-Арча и Аламедин в зоне антропогенного воздействия, т.е. в черте города Бишкек.

Оценка качества воды проводили по некоторым гидрохимическим и бактериологическим критериям: рН, проводимость, температура воды, общая численность бактериофлоры. Учитывали видовое разнообразие бактерий, в основном уделяли внимание на бактерии из рода *Pseudomonas* как активный деструктор органических углеводородных загрязнений.

В результате проведенных исследований выделено 72 изолята бактерий рода *Pseudomonas*. Для дальнейших исследований были отобраны 12 штаммов.

Во всех исследованных участках нами отмечены некоторые сезонные изменения состава бактерий. Количество кокков и бациллярных форм в отдельных пробах воды сильно варьирует. Так, в пробах, отобранных в летний период, наблюдалось преобладание бациллярных форм микроорганизмов: *Bacillus mycoides*, *Bacillus cereus*, *Bacillus mesentericus*, *Bacillus sp.* В зимний период микрофлоры рек была представлена больше кокковыми формами: *Staphylococcus*, *Micrococcus*, *Rhodococcus*, *Arthrobacter*. Более подробно охарактеризованы экология и биология бактерий рода *Pseudomonas*, выделенные из водной микрофлоры. Идентифицированы три вида этих бактерий: *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas putida*. В водной микрофлоре бактерии рода *Pseudomonas* являются типичными обитателями этой среды. В реках Аламедин и Ала-Арча они распространены и встречаются в довольно широких пределах. Так, для вида *Pseudomonas fluorescens* в зимний период численность наибольшая, по сравнению с другими видами *Pseudomonas*. Вид *Pseudomonas putida*, больше встречается в осенний период. Вид *Pseudomonas aeruginosa* обнаружен нами в весенний период.

IV ГЛАВА. ФЕНОТИПИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПРИРОДНЫХ ИЗОЛЯТОВ БАКТЕРИЙ РОДА *PSEUDOMONAS*. Для идентификации бактерий до видовой принадлежности у 27 штаммов изучены морфолого-культуральные и физиолого-биохимические свойства. Идентификацию проводили с использованием диагностического ключа Киприановой с соавторами (1990). **Общие культуральные и морфологические особенности бактерий.** Клетки *Pseudomonas* обычно прямые, иногда слегка изогнутые, палочковидной формы. Размеры клеток колеблются от 0,5 до 1 мкм в диаметре, до 1,5 – 4,0 мкм в длину. При росте на плотных средах образуют крупные колонии с ровными краями, часто слизистые, но среди них встречаются и сухие, морщинистые. Поверхность слизистых колоний выпуклая, блестящая, край колоний ровный. Цвет колоний желтый, оранжевый, белый. Клетки многих видов подвижны.

На основании изучения дифференцирующих, физиолого-биохимических признаков, выделенные из различных биотопов природных изолятов была установлена таксономическая принадлежность.

В таблице 4.1 показано, что исследуемые псевдомонады достаточно четко дифференцируются по ряду физиологических и биохимических свойств, их главной отличительной особенностью является синтезирование 4 видов пигмента, способность к денитрификации, а также наличие ферментов с протеолитической, амилолитической и лецитиназной активностью.

Таблица 4.1. - Фено-хемотаксономические свойства штаммов *Pseudomonas*

Вид бактерии	Признаки							
	Ф	А	П	Т	Ж	Д	Л	М
Сапротрофные								
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	+	+	+	+	+	+		
<i>Pseudomonas aurantiaca</i>	+	+	+	-	+	+		
<i>Pseudomonas putida</i>	+	+	-	-	-	-		
<i>Pseudomonas fluorescens</i>								
Биовар I (биотип А)	+	+	-	-	+	-	+	-
биовар III (биотип С)	+	+	-	-	+	+	-	В
биовара V (биотип G)	+	+	-	-	+	-	-	-

Обозначения: Ф-продукция флуоресцирующего пигмента на среде КингВ; А-наличие аргининдегидролазы; П- образование дополнительного пигмента на среде КингА; Т-способность к росту при температуре 41-42С; Ж – способность к разжижению желатина; Л-синтез левансахаразы; Д-способность к денитрификации; М-утилизация масляной кислоты; в – признак варьрует.

V ГЛАВА. ИЗУЧЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ВЫДЕЛЕННЫХ ШТАММОВ. Фиторегуляторная способность штаммов бактерий рода *Pseudomonas*. Бактерии рода *Pseudomonas* являются продуцентами ряда биологически активных соединений, в том числе фитогормонов, стимулирующих рост и развитие растений. В наших исследованиях выявлены штаммы *Pseudomonas* с ростостимулирующим эффектом на всхожесть семян и развитие всходов сельскохозяйственных растений: пшеницы и огурца.

Для выявления фиторегуляторной активности в опыте использованы 21 коллекционных штаммов *Pseudomonas*. Как показывают данные таблицы 5.1, 5.2 фиторегуляторная активность каждого штамма варьирует: по длине стебля, по мощности корневой системы, по всхожести, энергии прорастания и по биомассе. В таблице 5.1 указаны обработанные и контрольные варианты семян пшеницы.

Таблица 5.1. - Фиторегуляторный эффект штаммов *Pseudomonas* на семена пшеницы

№	Название штаммов	Всхожесть, %	Длина стеблей, мм	Длина корней, мм	Общая биомасса, г	Источник выделения
<i>Pseudomonas fluorescens</i>						
1.	A-A-1	100	6,5±0,8	27±0,35	1,4	Речная микрофлора
2.	Ч-7	90	8±0,06	24±0,1	0,9	Почва
3.	G – 2	100	12±0,05	32±0,63	1,4	Ризосфера пшеницы
4.	A-A-2	80	16,5±0,14	34,5±0,6	1,6	Речная микрофлора
5.	7 – ISS	85	11±0,18	27±0,5	1,7	Почва
6.	NR – 4	90	15±0,04	29±0,4	1,8	Почва
7.	ISS – 4	85	16±0,3	23±0,35	1,8	Почва
8.	A-A-3	80	16,5±0,4	34,5±0,9	1,6	Речная микрофлора
9.	Kd – 5	100	16±0,16	31,5±0,2	1,9	Почва
10.	A-A-4	100	7±0,24	26±0,4	1,6	Речная микрофлора
11.	A-A-5	70	7±0,45	27±0,68	0,8	Речная микрофлора
12.	A-A-6	100	10±0,5	30±0,75	1,4	Речная микрофлора
13.	16 – ISS	85	16±0,18	23±0,9	1,7	Почва
14.	NR – 2	70	10,5±0,22	21±0,67	1,3	Почва
<i>Pseudomonas putida</i>						
15.	№ 4	90	13±0,48	30±0,25	1,3	Речная микрофлора
16.	A-1	100	18±0,24	27±0,58	2,5	Речная микрофлора
17.	№14	100	8±0,98	31±0,56	1,7	Почва
18.	A– 3	85	17,5±0,6	24±0,04	1,8	Речная микрофлора
<i>Pseudomonas aurantiaca</i>						
19.	L – 1	70	11,8±0,78	16,4±0,6	1,2	Ризосфера люцерны
20.	G – 3	80	8,7±1,2	16,2±0,7	1,3	Ризосфера пшеницы
21.	L-6	100	11,3±0,56	23±0,6	1,6	Ризосфера люцерны
22.	L-8	100	16±0,25	30±0,44	2	Ризосфера люцерны
23.	Контроль	65	15±0,80	21±0,28	0,8	-

Как показали опыты, штаммы *Pseudomonas fluorescens* Kd–5; *Pseudomonas putida* A–2 проявили высокую биологическую активность в отношении обеих сельскохозяйственных культур.

Оба штамма проявили фиторегуляторный эффект на семена и всходы пшеницы и огурца, в частности на рост стеблей и корневой системы. Эти же штаммы стимулировали 100 % всхожесть семян, по сравнению с контрольным вариантом. В таблице 5.2 указаны обработанные и контрольные варианты семян огурца.

Таблица 5.2 - Фиторегуляторный эффект штаммов *Pseudomonas* на семена огурца

№	Название штаммов	Всхожесть, %	Длина стеблей, мм	Длина корней, мм	Общая биомасс а, г	Источник выделения
<i>Pseudomonas fluorescens</i>						
1.	A-A-1	100	50±0,28	40±0,56	1,4	Речная микрофлора
2.	Ч-7	100	23±0,37	10±0,77	0,8	Почва
3.	G – 2	40	20±0,66	35±0,26	0,5	Ризосфера пшеницы
4.	A-A-2	100	41±0,48	18±0,57	1,2	Речная микрофлора
5.	7 – ISS	85	17±0,38	27±0,63	0,9	Почва
6.	NR – 4	90	16±0,29	21±0,87	0,7	Почва
7.	ISS – 4	85	18±0,56	24±0,45	1,1	Почва
8.	A – A -3	90	30±0,8	23±0,5	0,8	Речная микрофлора
9.	Kd – 5	100	42,5±0,9	58±0,6	1,5	Почва
10.	A-A-4	80	47,5±0,13	50±0,54	1,2	Речная микрофлора
11.	A-A-5	100	30±0,24	70±0,28	0,9	Речная микрофлора
12.	A – A -6	60	28±0,53	21±0,78	0,7	Речная микрофлора
13.	16 – ISS	85	28±0,18	17±0,45	0,8	Почва
14.	NR – 2	90	28±0,3	24±0,55	0,9	Почва
<i>Pseudomonas putida</i>						
15.	№ 4	70	13±0,15	30±0,34	0,7	Речная микрофлора
16.	A-2	100	32±0,27	43±0,82	2,0	Речная микрофлора
17.	№14	100	40±0,5	48±0,76	1,4	Почва
18.	A-3	85	40±0,33	20±0,54	1,2	Речная микрофлора
<i>Pseudomonas aurantiaca</i>						
19.	L – 1	100	45±0,25	35,8±0,3	1,2	Ризосфера люцерны
20.	G – 3	100	44±0,14	43±0,24	1,4	Ризосфера пшеницы
21.	L-6	100	33±0,54	48±0,22	1,1	Ризосфера люцерны
22.	L - 8	35	30±0,66	27±0,48	0,6	Ризосфера люцерны
23.	Контроль	65	30±0,85	23±0,95	0,75	-

Биофунгицидная активность выделенных изолятов *Pseudomonas*. В ходе исследования из различных пораженных болезнью сельскохозяйственных растений выделено 4 культур фитопатогенных грибов, которые использовали в качестве тест-объектов.

Пшеница яровая (*Triticum aestivum*) сорта “Икарда” (опытное поле с. Селекционное, летний период). Заболевание растения проявлялось в форме увядания; пораженные растения быстро увядают, на срезе стебля заметно потемнение сосудов, наблюдается побурение и отмирание листьев, пустоколосость и щуплость зерна. Макроконидии веретеновидно-серповидные, эллиптически изогнутые, с 3-5 перегородками. Из стеблей и листьев пшеницы выделен грибок, идентифицированный как *Fusarium oxysporum*.

Огурцы (*Cucumis sativus*). Сбор проводился в осенний период, на крестьянских полях ж/м Ак-Орго. Заболевание растения проявлялось в форме

полуувядании стеблей, недоразвитие плодов, корневая шейка бурая или черного цвета, на пораженных тканях беловатый паутинистый налет. Из корневой шейки выделен грибок, идентифицированный как *Pythium de Baryanum*.

Кукуруза (*Zea mays*). Образцы отбирались в летний период, с. Селекционное. Стебли растения с черными пятнами на влагалищах листьев, на початках черный, тонко распыленный порошащий налет. Споры крупные, одноклеточные, шаровидно-приплюснутые, черного цвета, 15 мкм в диаметре. Грибок идентифицировали как *Nigrospora oryzae*.

Картофель (*Solanum tuberosum*). Сбор проводился в летний период, на приусадебном участке с. Кой-Таш. Клубни картофеля покрыты темно-бурыми пятнами, по краям долек листьев также темно-бурые пятна. Конидиеносцы одиночные, извилистые, с перегородками, оливково-коричневые. Грибок идентифицировали как *Alternaria solani*.

Антагонистические свойства бактерий рода *Pseudomonas*. В течение 2002 – 2007 гг в лабораторных условиях проводились исследования по отбору наиболее активных штаммов с антагонистическими свойствами. Штаммы были испытаны по отношению к 4 фитопатогенным грибам.

Таким образом, в лабораторных условиях была определена биологическая активность коллекционных, лабораторных штаммов бактерий *Pseudomonas* по отношению к каждому фитопатогену. Проведенными исследованиями установили, что активность одних и тех же штаммов к фитопатогенам варьировала. Так, на рост и развитие микромицетов *Fusarium oxysporum* и *Pythium de Baryanum* подавляли 5 штаммов. Грибок *Nigrospora oryzae* оказался самым устойчивым к псевдомонадам. Развитие гриба *Nigrospora oryzae* из числа исследуемых штаммов подавляли только штаммы *Pseudomonas fluorescens* 7 – ISS и A-A-1. Рост и развитие гриба *Alternaria solani*, подавляли три штамма, в частности *Pseudomonas fluorescens* штаммы 7 – ISS, NR – 4, *Pseudomonas aurantiaca* L-6.

В таблице 5.3 указана активность бактерий *Pseudomonas* в отношении тест-микромицетов.

Таблица 5.3 - Антагонистическая активность штаммов псевдомонад в отношении тест-микроспор (зона подавления роста, мм)

№	Название штаммов	<i>Fusarium oxysporum</i>	<i>Pythium de Baryanum</i>	<i>Nigrospora oryzae</i>	<i>Alternaria solani</i>
<i>Pseudomonas fluorescens</i>					
1.	A – A -1	-	-	2±0,6	-
2.	Ч-7	-	-	-	-
3.	G – 2	3±1	1±0,6	-	-
4.	A – A – 2	3±0,8	-	-	-
5.	7 – ISS	7±0,3	4±0,4	2±0,1	5±0,2
6.	NR – 4	9±0,4	3±0,5	-	3±0,2
7.	1 – ISS	-	-	-	-
8.	A – A -3	4мм	-	-	-
9.	Kd – 5	12±0,6	7±0,4	-	-
10.	A – A -4	-	-	-	-
11.	A – A – 5	2±0,3	-	-	-
12.	A – A -6	4±0,5	-	-	-
13.	16 – ISS	-	-	-	-
14.	NR – 2	-	-	-	-
<i>Pseudomonas putida</i>					
15.	№ 4	-	-	-	-
16.	A – 2	-	-	-	-
17.	№14	5±0,5	3±0,3	-	-
18.	A – 3	3±0,2	2±0,4	-	-
<i>Pseudomonas aurantiaca</i>					
19.	L – 1	-	-	-	-
20.	G – 3	4±0,2	1±0,1	-	-
21.	L-6	10±0,2	8±0,3	-	4±0,3

Наиболее широким спектром антибиотического действия обладает штамм *Pseudomonas fluorescens* (7 – ISS), который замедляет рост и развитие всех испытуемых тест – объектов. Из исследованных штаммов ярко выраженным широким спектром антибиотического действия обладают штаммы *Pseudomonas fluorescens* 7 – ISS, Kd – 5.

VI ГЛАВА. БИОДЕГРАДАЦИЯ НЕФТЕПРОДУКТОВ ШТАММАМИ PSEUDOMONAS (на примере бензина). В данной главе освящена работа по определению биодеструктивной активности штаммов *Pseudomonas* в отношении нефтепродуктов, на примере бензина и отбор наиболее способных к утилизации загрязнения нефтепродуктами природной среды.

Биоиспытание в жидкой среде. В лабораторных условиях исследовали нефтеокисляющий потенциал бактерий рода *Pseudomonas* на примере бензина в жидких средах. Бензин представляет собой сложное соединение легколетучих ациклических углеводородов, в большей части которого, содержится очень опасная ядовитая соль, $PbCl_4$. В бензиновой части нефти доказано присутствие замещенных соединений бензола, содержащих 10 атомов углерода. Данные таблицы 6.1 отражают дозу бензина, добавленной к жидкой среде для выращивания штаммов *Pseudomonas*.

Таблица 6.1 - Концентрации бензина

ПДК	0,05 мл/л
В 2 раза >	0,1 мл/л
В 4 раза >	0,2 мл/л
В 6 раз >	0,3мл/л
В 50 раз >	2,5 мл/л
В 100 раз >	5,0 мл/л
Контроль	-

Лучшие результаты по биодеструктивной активности нефтепродуктов показали два штамма: **1. *Pseudomonas fluorescens ISS-4*** нами был отнесен к 3 биовару, как активный денитрификатор, рост колоний обильный, с желто-зеленой флюоресценцией был выделен из темно-каштановых почв Иссык-Кульской области (0,05 мл/л).

2. *Pseudomonas putida A-2*, эта бактерия, синтезирует темно-окрашенные пигменты группы меланинов. Был выделен вблизи автозаправочной станции, из речной воды (река Аламедин) с маслянистыми накоплениями бензина (0,05 мл/л).

Результаты исследований показали, что из двух испытанных штаммов, культура *Pseudomonas fluorescens* обладает высокой утилизирующей активностью, используя намного превышающие ПДК дозы бензина, как источник питания в концентрации 25 мл/л среды; об этом свидетельствовали активное деление клеток, накопления биомассы во всех промежутках фазы развития. Тогда как штамм *Pseudomonas putida* проявил низкую активность в концентрации бензина в жидкой среде – 0,3 мл/л, по сравнению с *Pseudomonas fluorescens*.

Изучение нефтеокисляющей способности псевдомонад на плотной среде. Как нами отмечено выше, два штамма проявили более активную нефтеокисляющую способность в жидкой среде, при изучении их активности на плотной среде был отобран только один штамм *Pseudomonas fluorescens ISS-4*, который оказался более устойчивым к высоким дозам бензина. Как показывают данные рисунка 6.1, самая высокая численность бактерий наблюдается в контрольном варианте.

Данные колониеобразующих единиц (КОЕ) бактерий *Pseudomonas* на средах, содержащие различные концентрации бензина, резко отличаются. Так, на среде, содержащей концентрацию бензина 12,5 мл/л (ПДК в 250 раз выше), отмечается значительное увеличение клеток 194 тыс. клеток, чем при дозе ПДК (0,05мл/л – 152 тыс. клеток). При дозе равной 7,5 мл/л (114 тыс.кл) отмечалось ингибирование роста клеток, численность меньше в 2 раза по сравнению с контролем. В концентрации 25 мл/л (в 500 раз выше ПДК), количество клеток возрастает по сравнению с количеством клеток на среде с ПДК (0,05 мл/л) (рис.6.1).

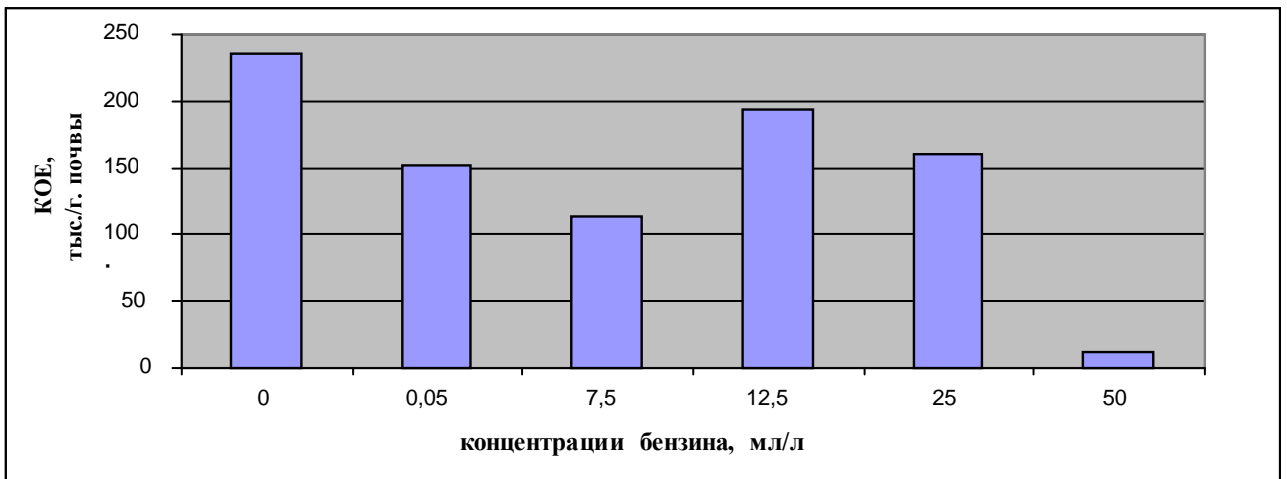


Рис.6.1. Численность КОЕ *Pseudomonas fluorescens* штамма ISS-4, в разных концентрациях бензина

В концентрации 50 мл/л (в 1000 раз выше ПДК), количество клеток резко сократилось, но даже при такой высокой дозе абсолютного ингибирования не произошло. Штамм *Pseudomonas fluorescens* ISS-4 проявил более выраженные адаптационные способности и устойчивости к нефтепродукту.

Деструкция в почве (модельные опыты). Современная биотехнология предусматривает процесс микробной интродукции - внесение в природные среды (почву, грунты, водоемы, филлосферу растений) микроорганизмов с той или иной полезной функцией. Наиболее широко в настоящее время данный подход применяется для очистки природных объектов от нефтяных загрязнений, пестицидов и некоторых других поллютантов.

В течение одного месяца каждые 10 дней изучали интенсивность дыхания почв. На рисунке 6.2 представлена динамика интенсивности дыхания в лугово-сероземном типе почвы.

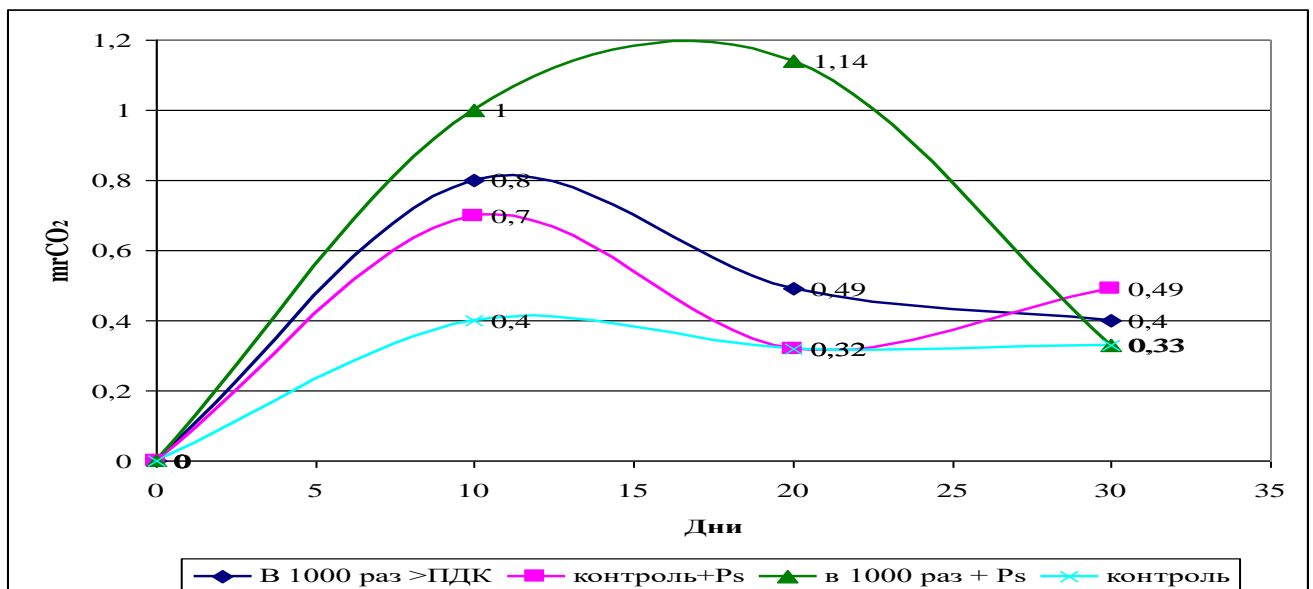


Рис.6.2. Динамика интенсивности дыхания почвы, загрязненной нефтью (луговой серозем)

На протяжении всего опыта интенсивность дыхания (I_d) контрольной незагрязненной почвы оставалась крайне низкой и практически постоянной. Внесение бензина в обоих типах почв вызывало резкое увеличение I_d с достижением максимума $C-CO_2$ / (г почвы) на 20 сутки опыта. Затем I_d снижалась до более или менее постоянного уровня $0,33 \text{ мкг } C-CO_2 / (\text{г почвы})$, существенно превышающего I_d контроля (почва без бензина) на протяжении всего срока наблюдения. Наибольшая скорость окисления бензина отмечена в темно-каштановом типе почвы, наименьшая – в сероземно-луговом типе. На рисунке 6.3 представлена динамика интенсивности дыхания в темно-каштановом типе почвы.

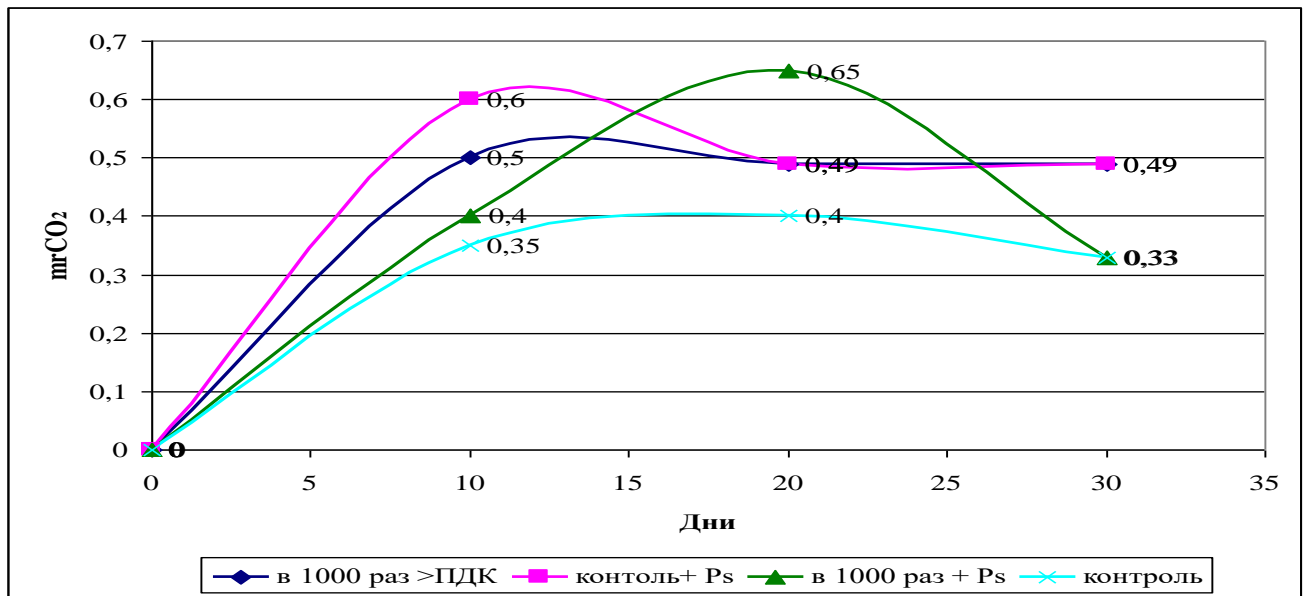


Рис.6. 3. Динамика интенсивности дыхания почвы, загрязненной нефтью (темно-каштановый тип)

В лугово-сероземном типе почвы начальное загрязнение – 500 мг/кг почвы. За три месяца количество бензина сократилось в 9 раз, оно составляло $57,0 \text{ мг/кг}$ почвы, степень очистки составила $88,6 \%$ (табл.6.2).

Таблица 6.2. - Динамика очистки биопрепаратом загрязненных почвенных образцов лугово-сероземного типа почв (модельные образцы)

Почва (объект), сутки	Содержание бензина, %	Степень очистки, %	Содержание бензина, мг/кг почвы.
0	100	0	500
10	52,4	47,6	262,0
30	12,7	87,3	64,3
90	11,4	88,6	57,0

По сравнению с темно-каштановым типом почвы окисление в лугово-сероземном типе почвы происходила медленнее.

В темно-каштановом типе почвы начальное загрязнение составляло 500 мг/кг почвы. После трех обработок, в начале каждого месяца в

концентрации живых клеток псевдомонад 10^9 , количество бензина в почвенных образцах составляло 37,0 мг/кг, и степень очистки составила за один сезон 92,6 %. (табл.6.3).

Таблица 6.3. - Динамика очистки биопрепаратом загрязненных почвенных образцов темно-каштанового типа почв (модельные образцы).

Почва (объект), сутки	Содержание бензина, %	Степень очистки, %	Содержание бензина, мг/кг почвы.
0	100	0	500
10	30,4	69,6	150,4
30	8,6	91,4	43,2
90	7,4	92,6	37,0

Из двух исследованных почв наиболее благоприятные условия для развития интродуцента обнаружены в темно-каштановом типе почв. Менее активное размножение внесенных живых клеток псевдомонад и окисление бензина в луговом сероземном типе почвы связано, видимо, с неблагоприятными условиями аэрации, вызванными её слабой структурированностью и тяжелым механическим составом.

Динамика изменения аборигенной микрофлоры указана на рисунке 6.4.

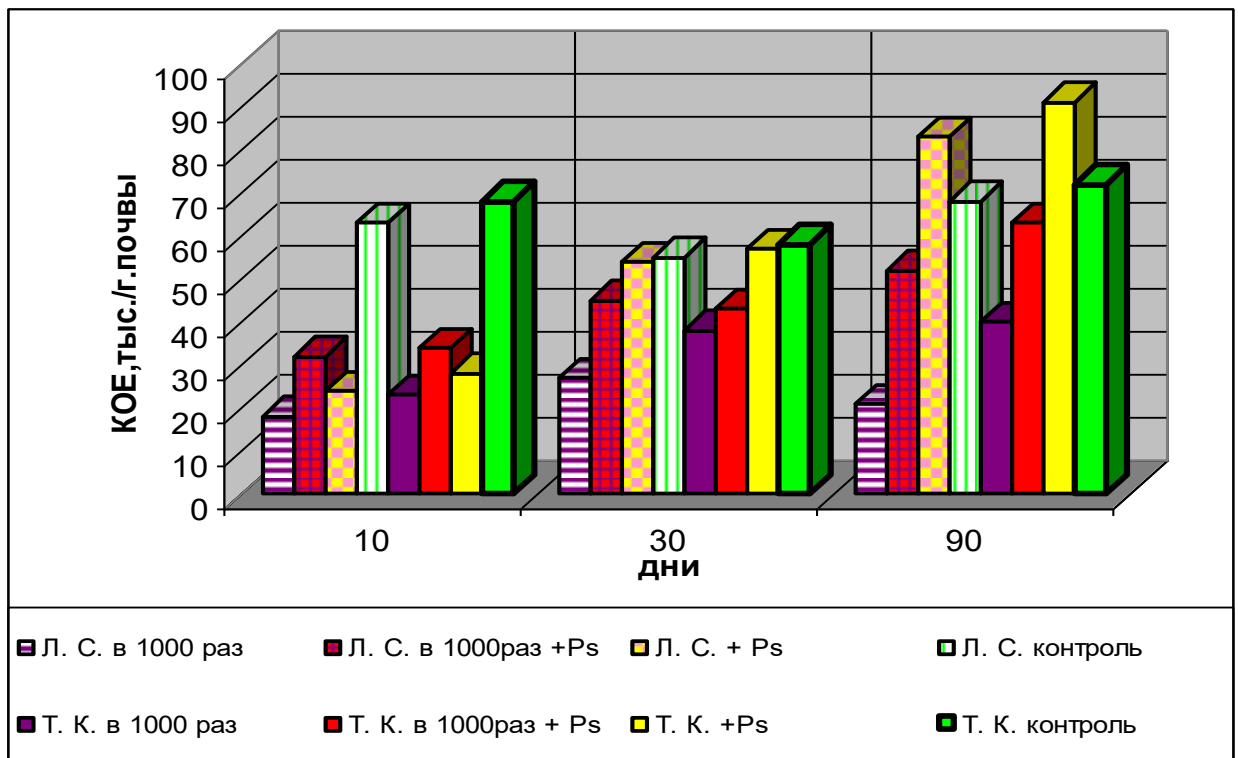


Рис. 6.4. Влияние интродуцента (бактерии *Pseudomonas*) на аборигенную микрофлору почв

С помощью интродукции углеводородокисляющих микроорганизмов можно существенно интенсифицировать процесс разложения бензина. В

незагрязненной почве интродуцент быстро элиминируется, что является благоприятным свойством, так как исключает вероятность побочного эффекта интродукции – микробного загрязнения окружающей среды.

VII ГЛАВА. ТЕХНОЛОГИЯ ПОЛУЧЕНИЯ ОПЫТНЫХ ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ БАКТЕРИЙ РОДА *PSEUDOMONAS*.

Подбор оптимальной питательной среды.

В связи с высокой биохимической активностью *Pseudomonas* состав среды пригодных для их культивирования очень разнообразен. Для поддержания стабильности свойств штаммов, а также накопления наибольшей биомассы образование пигмента в среде нами было выбрано 6 жидких, питательных сред для лабораторного культивирования.

Для наработки опытной партии биопрепарата на основе штаммов *Pseudomonas* были использованы культуры штаммов с ярко выраженными свойствами. Так были выбраны следующие штаммы:

- 1). *Pseudomonas fluorescens* ISS-4 – способный окислять высокие дозы углеводорода - углеводородокисляющий штамм.
- 2). *Pseudomonas fluorescens* Kd-5 - с ростстимулирующими и антагонистическими свойствами.
- 3). *Pseudomonas putida* A – 2 - с рост стимулирующими свойствами.

Ферментацию питательной среды проводили в течение 72 часов. Наблюдение за ростом и развитием культур в каждой отдельной питательной среде вели каждые 6 часов. После окончания опыта культуральную жидкость каждой колбы (по 100 мл среды) экстрагировали и взвешивали биомассу каждого штамма.

Наиболее благоприятной жидкой питательной средой для культивирования и проявления биологической активности штаммов среди испытанных вариантов оказалась среда №2, где содержатся экстракты дрожжевых клеток.

ВЫВОДЫ:

1. Установлено широкое распространение бактерий рода *Pseudomonas* в природных биотопах Кыргызстана. Самым распространенным и доминирующим среди них отмечен вид – *Pseudomonas fluorescens*.
2. Богатое биоразнообразие бактерий рода *Pseudomonas* обнаружено в горно-черноземовидных и темно-каштановых типах почв.
3. Бактерии рода *Pseudomonas* предпочитают сапробные зоны водных биотопов (поверхностные воды рек Аламедин и Ала-Арча).
4. Выявлены штаммы *Pseudomonas fluorescens* Kd-5, *Pseudomonas putida* A-2, *Pseudomonas aurantiaca* L-8, обладающие высоким ростстимулирующим эффектом на семена и всходы пшеницы и огурца.
5. Установлена биофунгицидная активность изучаемых штаммов, по отношению к различным фитопатогенам сельхозкультур. Наиболее широким спектром антибиотического действия обладал штамм *Pseudomonas fluorescens* 7 – ISS.

6. Выявлена углеводородокисляющая способность *Pseudomonas*, среди них; *Pseudomonas putida* A-2, обладает наиболее высокой активностью в концентрации бензина в жидкой среде – 0,3 мл/л, а для *Pseudomonas fluorescens* ISS-4, в концентрации 25 мл/л. В модельных, полупроизводственных опытах в темно-каштановом и лугово-сероземном типах почв, был установлен процесс деструкции бензина, в течение 90 суток, культурой *Pseudomonas fluorescens* ISS-4.
7. Подобран состав питательных сред для глубинного культивирования штаммов рода *Pseudomonas*, обеспечивающий максимальный выход биомассы клеток для использования их в биотехнологических целях.

Практические предложения по использованию результатов диссертационной работы

Полученные результаты исследования будут использованы в сельскохозяйственной биотехнологии и биотехнологии окружающей среды. Из лабораторной коллекции некоторые культуры *Pseudomonas* могут быть использованы для создания биофунгицидов, биостимуляторов, которые найдут применение в сельском хозяйстве для защиты растений от болезней и для повышения их продуктивности.

Штамм *Pseudomonas fluorescens* ISS-4 из лабораторной коллекции рекомендован для создания биопрепарата, используемый в биоремедиации окружающей среды от нефтезагрязнений. Отобранный нами штамм *Pseudomonas fluorescens* ISS-4 предлагается как основа для создания экологически безопасного биопрепарата в целях очистки окружающей среды от нефтезагрязнений. Доказана высокая эффективность биопрепарата, степень очистки почвы в течение 3 месяцев от бензина составляет 92,6 % при его применении (Пат.№1204 КР). Материалы исследований используются работниками Государственного агентства охраны окружающей среды и лесного хозяйства при проведении природоохранных мероприятий, очистке почвы от нефтезагрязнений.

СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ ПО МАТЕРИАЛАМ ДИССЕРТАЦИИ

1. Доолоткельдиева Т.Д., Конурбаева М.У. Поиск новых штаммов *Pseudomonas* в ризосфере сельскохозяйственных культур горных агробиоценозов. //Вестник инст-та экологии и природопользования при КГПУ им. И.Арабаева, материалы Международной научно-практической конференции «Современные проблемы геоэкологии и защита биоразнообразия» - Бишкек, 2002, С.24-29
2. Доолоткельдиева Т.Д., Омургазиева Ч.М., Конурбаева М.У., Тотубаева Н.Э. К изучению микробиологического разнообразия почв Внутреннего ТяньШаня. //Вестник материалы Международной конференции «Современные проблемы геохимической экологии и сохранения биоразнообразия» - Бишкек, 2003, №3 С.109-113

3. Омургазиева Ч.М., Конурбаева М.У., Тотубаева Н.Э. Динамика численности и видового состава почвенных микроорганизмов Ат-башинской долины. /сб. науч.трудов, материалы межд.-научно-практической конф., посв.70-летию КАУ им. Скрябина К.И «Аграрная наука и образование – Году Кыргызской государственности» – Бишкек, 2003, №2 С.249-253
4. Конурбаева М.У., Доолоткельдиева Т.Д. Фенотипическая характеристика природных изолятов бактерий рода *Pseudomonas* /сб. науч. трудов «Исследование живой природы Кыргызстана» БПИ НАН КР, научное приложение журнала «Известия НАН КР» - Бишкек, 2004, №5, С.24-29
5. Доолоткельдиева Т.Д., Конурбаева М.У. Бишкек шаарын аралап аккан табигый суулардын микробиологиялык жана экологиялык абалы //Журнал естественных наук, КТУ «Манас» - Бишкек, 2005, №6, С.1-15
6. Доолоткельдиева Т.Д., Конурбаева М.У. Изучение способности штаммов *Pseudomonas* в биодegradации нефтепродуктов (на примере бензина) /сборник материалов II Международной конференции БПИ НАНКР, МОиН КР «Современные проблемы геоэкологии и сохранение биоразнообразия» -Бишкек, 2007, С.53-57
7. Доолоткельдиева Т.Д., Конурбаева М.У., Тедеш М., Жим Вайт. Исследование эндофитов в растительности Кыргызстана и Узбекистана: стратегии получения биологически активных продуктов из эндофитов //Ратгерский университет, Нью-Брансвик, Нью-Жерси, США, 2005, С.68-73
8. Доолоткельдиева Т.Д., Бобушева С.Т., Конурбаева М.У., Тотубаева Н.Э. Молекулярное биоразнообразие алкан деградирующих бактерий в загрязненных нефтепродуктами экосистемах //Тез. Межд. экологич. симпозиума КТУ «Манас», -Бишкек, 2009, С.92
9. Доолоткельдиева Т.Д., Конурбаева М.У. Антагонистические свойства бактерий рода *Pseudomonas* //Журнал естественных наук, КТУ «Манас», -Бишкек, 2008, №9, С.9-15
10. Доолоткельдиева Т.Д., Конурбаева М.У. Изучение способности штаммов *Pseudomonas* в биодegradации нефтепродуктов (на примере бензина) //Журнал естественных наук, КТУ «Манас» - Бишкек, 2008, №9, С.17-29
11. Доолоткельдиева Т.Д., Конурбаева М.У. Антагонистические свойства штаммов *Pseudomonas* на фитопатогенные грибы //Современные средства, методы и технологии защиты растений: Материалы международ. научно-практич.конференции.-Новосибирск.–2008, С.189-193
12. Конурбаева М.У. Фиторегуляторная способность штаммов бактерий рода *Pseudomonas* //Известия вузов - Бишкек, 2008, №9, С.33-39
13. Конурбаева М.У. Углекислородфиксирующая способность культур *Pseudomonas fluorescens* в почве (модельные опыты) //Наука и новые технологии - Бишкек, 2009, №5, С.113-117
14. Конурбаева М.У. Технология получения опытных препаратов на основе бактерий рода *Pseudomonas* (подбор оптимальной жидкой питательной среды) //Известия вузов - Бишкек, 2011, №1, С.39-41
15. Пат.№1204 Кырг.Респ. Углекислородфиксирующий штамм *Pseudomonas fluorescens*, используемый для очистки окружающей среды от нефтепродуктов

/Т.Д.Доолоткельдиева, М.У. Конурбаева. -20080061.1; Заявка 12.05.2008; Оpubл.30.12.2009, Бюл.№12

Конурбаева Махабат Уларбекованын 03.02.08 – экология жана 03.02.03 – микробиология адистиктери боюнча «*Pseudomonas* уурусундагы бактериянын экологиясы жана биологиялык касиеттери» темасында биология илимдеринин кандидаты илимий даражасына изденүү диссертациясынын

РЕЗЮМЕСИ

Негизги сөздөр: Экология, *Pseudomonas* уурусундагы бактериянын ар кандай биотоптордо таралышы, өнүмдөрүнүн, жаш көчөттөрүнүн өсүүсүн тездетүүчү биостимулятору, штаммдардын биофунгициддик касиети, көмүр-суутекти кычкылдандыруучу касиети.

Изилдөөнүн объектиси: Айыл-чарба өсүмдүктөрүнүн ризосферасы, топурак үлгүлөрү, суу үлгүлөрү, микроорганизмдердин штаммдары, бензин өлчөмдөрү.

Изилдөөнүн максаты: Өнүмдөрүнүн, жаш көчөттөрүнүн өсүүсүн тездетүүчү, антибиотик касиети жана көмүр-суутекти кычкылдандыруучу касиети бар өтө активдүү *Pseudomonas* культураларын издөө.

Изилдөөнүн ыкмасы: микробиологиялык, экологиялык, биохимиялык жана биотехнологиялык.

Алынган натыйжалар жана жанылыктар: Биринчи жолу ар түрдүү биотоптордо *Pseudomonas* уурусундагы бактериянын таралышына жана экологиясына изилдөө жүргүзүлдү (ризосфера микрофлорасында, ар түрдүү типтеги топурактарында, агын сууларда).

Айыл-чарба өсүмдүктөрүнүн уругун жана өнүмдөрүнүн өсүшүн тездетүүчү касиети бар жана агробиотехнологияда маанилүү объект болгон фитопатогендерге карата биофунгициддик касиетке ээ, жогорку активдүү *Pseudomonas* уурусундагы бактериялардын культуралары табылды. Моделдик экспериментте *Pseudomonas* бактериясынын нефтепродуктулары менен өз ара аракеттениши изилденди. Эксперимент жүзүндө тандалып алынган штаммдардын жогорку концентрациядагы нефтипродуктуну (бензинди) кычкылдандыра алышы далилденди (Кыргыз Республикалык патенти №1204).

Пайдалануусу: Лабораторияда *Pseudomonas* уурусундагы бактериялардын өсүүнү жөнгө салуучу касиети бар, антибиотикалык касиети жана көмүр-суутекти кычкылдандыруучу касиетке ээ штаммдардан коллекция түзүлдү. ISS-4 штаммы, *Pseudomonas fluorescens* айлана-чөйрөнү нефти менен булгануудан тазалоодо биопрепарат өндүрүүгө сунуш кылынды. Изилдөөнүн материалдары Мамлекеттик айлана-чөйрөнү коргоо жана токой чарбачылыгынын кызматкерлери тарабынан айлана-чөйрөнү коргоодо иш-чараларды өткөрүүдө, топуракты нефти менен булгануудан сактоодо пайдаланылат.

Колдонуу тармагы: Микробиология, экология, айлана-чөйрөнү коргоо, өсүмдүктөрдү коргоо.

РЕЗЮМЕ

диссертации Конурбаевой Махабат Уларбековны на тему: «Экология и биологические свойства бактерий группы *Pseudomonas*» на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальностям: 03.02.08 – экология и 03.02.03 – микробиология

Ключевые слова: Экология, распространенность *Pseudomonas* в различных биотопах, биостимуляторы семян пшеницы и огурца, биофунгицидная активность штаммов, углеводородокисляющая способность штамма.

Объект исследования: ризосфера сельскохозяйственных культур, почвенные образцы, водные образцы, штаммы микроорганизмов, дозы бензина.

Цель исследований: Изыскание высокоактивных культур *Pseudomonas*, обладающих ростстимулирующей активностью семян и всходов сельскохозяйственных культур и антибиотическим действием в отношении возбудителей их грибных болезней, а также углеводородокисляющей способностью для биоремедиации природной среды от нефтезагрязнений.

Метод исследования: Микробиологический, экологический, биохимический и биотехнологический.

Полученные результаты и их новизна: Впервые были проведены исследования по экологии и распространения бактерий рода *Pseudomonas* в различных биотопах (ризосфера сельскохозяйственных культур, типы почв, вода рек).

Получены высокоактивные культуры *Pseudomonas*, обладающие ростстимулирующими свойствами в отношении семян и всходов сельхозкультур и биофунгицидными свойствами в отношении их фитопатогенов, как важный объект агробιοтехнологии. В модельных экспериментах изучено взаимодействие нефтепродукта с бактерией *Pseudomonas*. Экспериментально доказана способность штамма окислять высокие концентрации нефтепродукта (бензина).

Степень использования: Создана лабораторная коллекция штаммов бактерий *Pseudomonas*, обладающих ростстимулирующим, антибиотическим и углеводородокисляющим свойством. Штамм ISS-4, *Pseudomonas fluorescens* рекомендован для получения биопрепарата для очистки природной среды от нефтепродуктов (Патент №1204 Кыргызской Республики). Материалы исследований используются работниками Государственного агентства охраны окружающей среды и лесного хозяйства при проведении природоохранных мероприятий, очистке почвы от нефтезагрязнений.

Область применения: Микробиология, экология, охрана природы, защита растений.

RESUME

Konurbaeva Makhabat Ularbecovna «Ecology and biological properties of bacteria of group *Pseudomonas*» on competition of a scientific degree of Cand.Biol.Sci. on specialities: 03.02.08 – ecology and 03.02.03 - microbiology

Key words: Ecology, prevalence *Pseudomonas* in various biotop, biostimulators of seeds of wheat and a cucumber, biofungicide activity strains, oil degradation ability.

Object of research: rhizospera of agricultural crops, soil samples, water samples, microorganism strains, seeds of wheat and a cucumber, a doze of gasoline.

Purpose of research: research of high-activity *Pseudomonas* cultures biostimulation effect on growth and development of seeds and shoots of agricultural crops and antibiotic action of their fungal pathogens, and also oil degradation ability for bioremediation an environment from petropollution.

Research method: Microbiological, ecological, biochemical and biotechnological.

Findings and novelty: Research are first carried out on ecology and distributions of bacteria of *Pseudomonas* in various biotops (rhizospera, types soils, water of the rivers).

The high-activity cultures *Pseudomonas* possessing growth stimulation properties concerning seeds and shoots agriculture plants and biofungicide properties concerning them as the important object agrobiotechnology have been received. In modelling experiments interaction of mineral oil with bacterium *Pseudomonas*, it is experimental ability *штамма* is proved to oxidize high concentration of mineral oil (gasoline).

Efficiency: the laboratory collection strains bacteria *Pseudomonas* possessing biostimulations, biofungicide and degradation of mineral oil created by property. Strains ISS-4, *Pseudomonas fluorescens* (Patent №1204 Kyrgyzstan Republic) is recommended for reception of a biological product for clearing an environment of mineral oil. Materials of researches will be used by workers of the State agency of preservation of the environment and a forestry at carrying out of nature protection actions, weeding from petropollution.

Field of application: Microbiology, ecology, environment protection, protection of plants.