

ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫ БІЛІМ ЖӘНЕ ҒЫЛЫМ МИНИСТРЛІГІ

Қ.И. Сәтбаев атындағы Қазақ ұлттық техникалық зерттеу университеті

Химиялық және биологиялық технологиялар институты

«Биотехнология» кафедрасы

Әбубәкір Балайым Ерболқызы

Ауыл шаруашылығында өсімдіктерді қорғау үшін биофунгицидтік препараттың
тауарлық формасын әзірлеу

ДИПЛОМДЫҚ ЖҰМЫС

5B070100 – «Биотехнология» мамандығы

Алматы 2019

ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫ БІЛІМ ЖӘНЕ ҒЫЛЫМ МИНИСТРЛІГІ

Қ.И. Сәтбаев атындағы Қазақ ұлттық техникалық зерттеу университеті

Химиялық және биологиялық технологиялар институты

«Биотехнология» кафедрасы



ҚОРҒАУҒА ЖІБЕРІЛДІ

«Биотехнология» кафедра

менгерушісі, PhD, профессор

Түйебахова З.К.

«06» мамыр 2019 ж.

ДИПЛОМДЫҚ ЖҰМЫС

Тақырыбы: «Ауыл шаруашылығында өсімдіктерді қорғау үшін биофунгицидтік препараттың тауарлық формасын әзірлеу»

5B070100 – «Биотехнология» мамандығы бойынша

Орындаған

Әбубәкір Б.Е.

Ғылыми жетекші

жар. ғыл. магистрі,

Ботбаев Д.М.

«06» мамыр 2019 ж.

Алматы 2019

ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫ БІЛІМ ЖӘНЕ ҒЫЛЫМ МИНИСТРЛІГІ

Қ.И. Сәтбаев атындағы Қазақ ұлттық техникалық зерттеу университеті

Химиялық және биологиялық технологиялар институты

«Биотехнология» кафедрасы

5В070100 – «Биотехнология»



«Биотехнология» кафедра
меңгерушісі, PhD, профессор
Түйебахова З.К.

«06» мамыр 2019 ж.

**Дипломдық жұмыс орындауға
ТАПСЫРМА**

Білім алушы Әбубәкір Балайым Ерболқызы

Тақырыбы: Ауыл шаруашылығында өсімдіктерді қорғау үшін биофунгицидтік препараттың тауарлық формасын әзірлеу

Университет Ректорының 2018 жылғы «16» қазан №1163 – бұйрығымен бекітілген

Аяқталған жұмысты тапсыру мерзімі 2019 жылғы «06» мамыр

Дипломдық жұмыстың бастапқы берілістері: Диплом алды өнеркәсіптік практикадан алынған материалдар

Дипломдық жобадан қарастырылатын мәселелер тізімі:

- а) Зертханалық жағдайда микробалдырдан биофунгицидтік препарат алу;
- б) Биофунгицидтік препараттың тауарлық формасын таңдау және әзірлеу.

Ұсынылатын негізгі әдебиет: 34 атау

Дипломдық жұмысты дайындау
КЕСТЕСІ

Бөлімдер атауы, қарастырылатын мәселелер тізімі	Ғылыми жетекші мен кеңесшілерге көрсету мерзімдері	Ескерту
Әдебиетке шолу	Қаңтар	
Материалдар мен әдістер	Ақпан	
Зерттеу нәтижелері	Наурыз	

Дипломдық жұмыс бөлімдерінің кеңесшілері мен
норма бақылаушының аяқталған жұмысқа қойған
қолтаңбалары

Бөлімдер атауы	Кеңесшілер, аты, әкесінің аты, тегі (ғылыми дәрежесі, атағы)	Қол қойылған күні	Қолы
Әдебиетке шолу	Д.М. Ботбаев Жар.ғыл.магистрі	6.05.19.	
Материалдар мен әдістер	Д.М. Ботбаев Жар.ғыл.магистрі	6.05.19	
Зерттеу нәтижелері	Д.М. Ботбаев Жар.ғыл.магистрі	6.05.19.	
Норма бақылау	А.Ж. Абильдаева Ғылым магистрі	06.05.2019гг.	

Ғылыми жетекші  Ботбаев Д.М.

Тапсырманы орындауға алған білім алушы  Әбубәкір Б.Е.

Күні « 06 » мамыр 2019 ж.

АНДАТПА

«Ауыл шаруашылығында өсімдіктерді қорғау үшін биофунгицидтік препараттың тауарлық формасын әзірлеу» атты дипломдық жұмыс қағаз түрінде 30 беттен тұрады. Жұмыс кіріспеден, 3 бөлімнен, қорытындыдан, 3 суреттен, 4 кестеден және 34 ғылыми мақалалар мен оқу құралдары көрсетілген тізімінен тұрады.

Мақсаты. Микробалдырлар көмегімен биопрепарат әзірлеу жолдарын және биофунгицидтік препараттың тауарлық формасын анықтау.

Бұл жұмыста ауыл шаруашылығында кездесетін өсімдік ауруларына шолу жасалды. Химиялық препараттар мен биологиялық препараттар салыстырылды. Тауарлық формалардың артықшылықтары мен кемшіліктері айқындалды.

Нәтижесінде биофунгицидтік фермент бөлініп алынды және оның оптималды тауарлық формасы таңдалынды.

Түйін сөздер: тауарлық форма, биофунгицидтік препараттар, микробалдырлар, *Chlamydomonas reinhardtii*, фермент

АННОТАЦИЯ

Дипломная работа «Разработка товарной формы биофунгицидного препарата для защиты растений в сельском хозяйстве» на бумажном носителе состоит из 30 страниц. Работа состоит из введения, 3 раздела, заключения, 3 рисунка, 4 таблицы и 34 списка научных статей и учебных пособий.

Цель. Определение способов разработки биопрепарата с помощью микроводорослей и товарной формы биофунгицидного препарата.

В этой работе был проведен обзор болезней растений, встречающихся в сельском хозяйстве. Были сопоставлены химические препараты и биологические препараты. Определены преимущества и недостатки товарных форм.

В результате выделен биофунгицидный фермент и выбрана его оптимальная товарная форма.

Ключевые слова: товарная форма, биофунгицидный препарат, микроводоросли, *Chlamydomonas reinhardtii*, фермент

ANNOTATION

Diploma thesis «Development of the commodity form biofungicide product for plant protection in agriculture» on paper consists of 30 pages. The work consists of an introduction, 3 sections, conclusion, 4 figures, 2 tables and 3 drawing, 34 list of scientific articles and textbooks.

Purpose. Definition of ways of development of a biological product using microalgae and the commodity form biofungicides of the drug.

In this work, a review of plant diseases occurring in agriculture was carried out. Chemical and biological preparations were compared. Advantages and disadvantages of commodity forms are defined.

As a result, the biofungicidal enzyme was isolated and its optimal marketable form was chosen.

Keywords: commodity form, biofungicides drugs, the microalga, *Chlamydomonas reinhardtii*, the enzyme

МАЗМҰНЫ

Кіріспе	9
1 Әдебиетке шолу	10
1.1 Өсімдіктерді саңырауқұлақ ауруларынан қорғау шаралары	10
1.2 Ауыл шаруашылығында кездесетін саңырауқұлақ аурулары	11
1.3 Нарықтағы биопрепараттардың кең таралған тауарлық формаларын қарастыру	12
1.4 Биофунгицидтік препараттардың тауарлық формаларының артықшылықтары мен кемшіліктері	13
1.5 Микробалдырларға жалпы сипаттама беру	15
2 Материалдар мен әдістер	16
2.1 Биофунгицидтік препараттарды өңдеу үшін микробалдырлардың перспективалы штаммдарын анықтау	16
2.2 Трансформация жүргізу	16
2.3 Штамдардың биомассасын жинақтау үшін өсіру параметрлері	17
2.4 Биофунгицидтік ферментті алуды сипаттау	17
2.5 Қолданылған материалдар мен құрал-жабдықтар	18
3 Зерттеу нәтижелері	23
3.1 Хитиназдық және глюканазалық белсенділікке штаммдардың детерциясы	23
3.2 <i>Chlamydomonas reinhardtii</i> қажетті концентрацияға дейін жеткізілген биомассасы	23
3.3 Биофунгицидтерді экстракциялау нәтижелері	24
3.4 Тауарлық форманың оптималды түрін таңдау	25
Қорытынды	27
Қолданылған әдебиеттер тізімі	28

КІРІСПЕ

Өзектілігі: Өсімдік ауруларынан қорғауда химиялық препараттар көп қолданылады. Дегенмен олардың зияны өте көп. Биологиялық препараттар оларға қарағанда әлдеқайда тиімдірек және зияны аз. Сол себептен қазіргі кезде ауыл шаруашылығындағы өсімдіктерді қорғауда биофунгицидтік препараттар қолданысқа ие.

Биофунгицидтік препараттардың әртүрлі тауарлық формалары бар. Келесі препаративтік формалар көп қолданылады: суланатын ұнтақтар, эмульсиялар концентраты, пасталар, гранулалар, дусттар(кұрғақ дәрілеу және дәрі себуге арналған ұнтақтар), еритін ұнтақтар, сұйық және ұнтақ түріндегі техникалық өнімдер, сулы ерітінділер, концентріленген суспензиялар – коллоидты ерітінділер, шашкалар және өртеуге арналған таблеткалар. Фунгицидтік препаратты алу үшін молекулалық (пластомдық инженерия), биохимиялық (перспективалы трансформанттардың ферментативті белсенділігінің детекциясы) және биотехнологиялық (препараттарды өсіру және өңдеу жағдайларын оңтайландыру) әдістер мен тәсілдер қолданылады.

Зерттеу мақсаты: Ауыл шаруашылығындағы өсімдіктерді қорғау үшін биофунгицидтік препараттың тауарлық формаларын талдау және анықтау.

Зерттеу мақсатына сәйкес келесі міндеттер қойылды:

- 1 Зертханалық жағдайда микробалдырдан биофунгицидтік препарат алу;
- 2 Биофунгицидтік препараттың тауарлық формасының оптималды түрін таңдау және оны әзірлеу жолдарын анықтау.

1 Әдебиетке шолу

1.1 Өсімдіктерді саңырауқұлақ ауруларынан қорғау шаралары

Қазіргі уақытта өсімдік қоймаларындағы өсімдіктердің 25 %-ға жуығы жарамсыз болып жатады. Оған себеп өсімдік аурулары болып саналады. Соның ішінде ақ және сұр шірінділер, фитофтор, парша, тат, церкоспороз, пероноспороз және т.б. түрлері.

Бұл құбылыстардың орын алуына басты себеп ауыл шаруашылығы өндірушілерінің өсімдіктерді биоқорғау жүргізбеуі және өсіру алдында арнайы өңдеулерден өткізбеуі. Топырақ жылдан жылға фитопатогенді саңырауқұлақтардың спораларын жинайды және өсімдіктердің өсуіне кері әсерін тигізеді [1].

Қоймалардағы өсімдіктерді сақтап қалудың басты әдістеріне: төмендетілген температуралар: 0 +3 °С, контейнерлерді сөндірілген әкпен өңдеу, күкіртпен дезинфекциялау, химиялық препараттармен контейнерлерді фумигациялау. Осындай бір реттік өңдеулер жоғарыда аталып өткен проблемаларды шешу үшін жеткіліксіз. Сонымен қатар химиялық өңдеу адам денсаулығына қауіп тудырады [2].

Камераларды өңдеу үшін сұр дойбыны пайдалану жолы бар. Алайда, бұл әдіс өз әрекетінің перманенттілігін қамтамасыз етпейді, соның салдарынан бірнеше рет өңдеуді қажет етеді: айына 2-4 рет өңдеу, 8 айда 36 рет өңделеді. Сол себептен бұл әдіс қымбатқа түседі және оның құрамында химиялық заттар көп кездеседі.

Химиялық препараттар көп қолданыста болғанымен, олардың келтіретін зияны көп. Улы түрлері де кездеседі және оларды тозаңдату үшін арнайы киімдер кию керек. Астыққа теріс әсерін тигізіп, улы заттың бөлігі түсіп кетуі мүмкін. Бұл проблеманы шешу үшін биологиялық негіздегі препараттарды қолдануға болады. Олар таңдаулы спектрда өсімдіктерге және сіздің денсаулығыңызға зиянын тигізбей әсер етеді. Құрамында улы заттар болмайды [2-3].

Биофунгицидтер – химиялық фунгицидтер қасиетіне ие, бірақ биологиялық материалдар негізінде пайда болған препараттар. Олар өсімдіктердің саңырауқұлақ туғызатын ауруларына қарсы қолданылады. Жұмыс істеу механизмі өсімдік клеткасындағы саңырауқұлақ мицелийін жою арқылы жүреді [1].

Бір маусымның ішінде өсімдіктерді бірнеше рет өңдеп, сапасы өте жақсы астық береді. Биофунгицидтердің артықшылығы болып олардың экологиялық қауіпсіздігі саналады. Көп түрлерінде күту мерзімі болмайды. Бұл термин олардың қолданылуына тұқым жетілу мерзімінде рұқсат етіледі. Кемшілігіне уақыт шектеулігін айтуға болады(ауада қасиеттерін тез жоғалтады). Сондықтан маусым кезінде оларды нәтиже болу үшін бірнеше рет қолдану керек [4-5].

Өсімдіктер ауруларымен күресу үшін қолданылатын фунгицидтер белгілі бір қасиеттерге ие болуы және кейбір талаптарды қанағаттандыруы тиіс:

1 Фунгицидтер ауру қоздырғыштарына қарсы, оларды ең аз концентрацияда өлтіре отырып, тиімді және сонымен бірге қорғалатын өсімдіктер үшін қауіпсіз болуы тиіс. Препараттар өсімдіктердің бетін біркелкі жабуы қажет.

2 Препарат жеткілікті және қарапайым болуы керек; фунгицид құны арзан болуы керек. Фунгицид арзанырақ болса, өсімдіктерді химиялық өңдеу экономикалық тиімді, соғұрлым ауыл шаруашылығы өнімдерінің өзіндік құны төмен.

3 Препараттың кешенді қасиеттері бар болғаны дұрыс, әртүрлі саңырауқұлақ және бактериялық ауруларға қарсы, сондай-ақ кейбір зиянкестерге қарсы әрекет етеді және өсімдіктер үшін мүлдем зиянсыз болар еді.

4 Фунгицид сақтау, тасымалдау және қолдану кезінде ыңғайлы және қауіпсіз болуы керек, яғни препараттар жанбайтын, жарылғыш болмауы керек, қатты итергіш иісі бар улы булану бөлінуі керек [6-7].

1.2 Ауыл шаруашылығында кездесетін саңырауқұлақ аурулары

Саңырауқұлақ аурулары – ең көп таралған және әртүрлі. Олардың үлесіне өсімдіктердің барлық ауруларының 80 %-дан астамы кіреді. Өсімдіктер тіндеріне саңырауқұлақтар ауыз, жасымық арқылы, эпидермис жасушалары, күн күюінен пайда болған жаралар, морозобоин арқылы өтеді. Инфекция тұқымдармен, пиязбен, түйнектермен, тамырлармен, қалемшелермен таралады. Топырақта, өсімдік қалдықтарында, ыдыста, аспапта сақталуы мүмкін, желмен, жаңбыр тамшысымен, жануарлармен және адаммен тасымалданады [8]. Аурулардың кең таралған түрлерін атап өтсек:

Картоптың фитофторозы - картоптың ең таралған және өте қауіпті ауруларының бірі. Барлық аумақта кең таралған, бірақ ең үлкен зиян Орман даласының оңтүстік-батыс бөлігінде, Карпат тау бөктерінде және тау бөктерінде болады [9]. Жекелеген жылдары оңтүстік облыстарда, әсіресе суармалы жерлерде де айтарлықтай зиян келтіреді. Соңғы жиырма жылда Украинада картоптың фитофторозбен жаппай зақымдануы (аурудың эпифитотиялық дамуы) жыл сайын дерлік байқалды. Жаппай картоп ботпасы үлкен алаңдарда – 20-50 %, ал түйнектер – 8-23 % зақымданады. Егіннің шығыны 30-50 %-ға дейін жетеді [10].

Ұн шығы – өсімдіктің жер үсті бөлігін зақымдайтын өте таралған саңырауқұлақ ауруы. Алдымен жапырақтарда, жас бір жылдық қашулардың ұшында, сирек гүл шоғырында ақ өрік пайда болады, ол уақыт өте келе киіз сияқты болады. Зақымданған өсімдіктер қатты тежеліп, олардың өсуі мен жемісінің пайда болуы баяулайды, бұл ақыр соңында өлімге әкелуі мүмкін. Споралары желмен жақсы таралады [11].

Тат жапырақтардың жоғарғы жағында ұсақ сарғыш-қызғылт немесе қызыл қоңыр түрінде көрінеді. Зақымдалған жапырақтар мен тіпті бүкіл қашулар уақыт өте кебеді, ерте жапырақ басталады, зақымдану орындарындағы сабақтар сынуы мүмкін. Ауру өсімдіктер әлсіз, олардың төзімділігі төмендейді [12].

Аскохитоз жапырақтар мен сабақтарда қызыл дақтардың пайда болуынан басталады. Уақыт өте келе дақ өседі, шеттерінде сарғыш жиек көрінеді. Лупаның астында саңырауқұлақтың қара спораларын қарастыруға болады [13].

Өсімдіктердің тоты - майда сарғыш-қызғылт немесе қызыл-қоңыр түрінде жапырақтардың жоғарғы жағында көрінетін саңырауқұлақ ауруы. Бірте-бірте мөлшерде өседі. Зақымдалған жапырақтар мен тіпті бүкіл қашулар уақыт өте кебеді, ерте жапырақ басталады, зақымдану орындарындағы сабақтар сынуы мүмкін. Ауру өсімдіктер әлсіз, олардың төзімділігі төмендейді [14-15].

1.3 Нарықтағы биопрепараттардың кең таралған тауарлық формаларын қарастыру

Қазіргі уақытта әлемде ауыл шаруашылығы дақылдарын әртүрлі патогендерден қорғау үшін көптеген түрлі препараттар қолданылады. Препараттардың әрқайсысы белгілі бір нысанда шығарылады, бірінші кезекте бұл препараттың ең жоғары тиімділігіне қол жеткізу үшін қажет.

Фунгицидтің формасы - бұл фунгицидтің әсер етуші затының тиімді, экономикалық және қауіпсіз қолданылуын қамтамасыз ететін физикалық жағдайы [16].

Препараттардың формаларының екі түрі бар, бірінші түрі – өндіруші кәсіпорында алынатын тауарлық қалпы. Екінші түрі - жұмысшы, ол қолданар алдында тікелей дайындалады.

Фунгицидтердің тауарлық немесе зауыттық нысандары үш топқа бөлінеді:

- жұмысшылармен сәйкес келетін тауар нысандары (бірінші топ);
- жұмыс ерітінділерін дайындайтын тауарлық нысандар (екінші топ);
- жұмыс нысандары оларды қолдану процесінде алынатын тауарлық нысандар (үшінші топ).

Тауар нысандарының бірінші тобына олардан жұмыс ерітінділерін әзірлемей қолданылатын препараттар жатады, оларды пайдалану дайындау нысанында жүзеге асырылады, оларға: дусттар, ұнтақтар, түйіршіктелген және микрогранулирленген, микрокапсулирленген, брикеттер және басқалар жатады [17].

Препараттардың екінші тобы ең кең қолданылатын препараттық формалармен ұсынылған. Бұл топ қолданар алдында жұмыс ерітінділерін дайындау қажет фунгицидтердің тауарлық нысандарын қамтиды. Бұл суланатын ұнтақтар, суда еритін ұнтақтар, эмульсия концентраты, суспензия концентраты, минералды-майлы суспензиялар, ағынды пасталар және басқалар.

Үшінші топ фунгицидтердің түрлерін қамтиды, олардың ішінде жұмыс құрамдары оларды қолдану барысында алынады. Бұл дойбы, майлы суспензия, майлы ерітінділер, майлы концентрат, таблеткалар және сұйытылған газ [18].

Бұдан әрі сөз ең кең қолданылатын препараттық нысандар туралы болады, оларға: эмульсия концентраты, суспензия концентраты, суланатын ұнтақ, суда еритін концентрат, суда еритін ұнтақ, су ерітіндісі және сулы-диспергирленетін түйіршіктер жатады [19]. Осы препараттық формалардың әрқайсысы жеке қасиеттерге ие.

Эмульсия концентраты – фунгицидтердің ең кең таралған препараттық нысаны болып табылады. Бұл сұйық паста тәрізді препараттар, оларды сумен араластыру кезінде тұрақты және ұзақ сақталатын бірыңғай жұмыс ерітіндісін фракцияға – эмульсияға қабаттандырмай құрайды, олар өз кезегінде өсімдіктерді бүрку үшін пайдаланылады.

Суспензия концентраты – құрамында бірнеше концентрацияланған суспензиялар бар. Минералды май қосылған кезде препараттардың белсенділігі артады. Бұл тауарлық нысан бүрку үшін де қолданылады [20].

Суда еритін ұнтақ – суда ерітуге арналған пфунгицидтің қалпы.

Фунгицидтер сату және қолдану көлемі бойынша үшінші орынды алады. Осы көрсеткіштер бойынша басты болып Батыс Еуропа елдері – 43 % және Қиыр Шығыс – 23 %. Солтүстік Америка тек 8 % сатып алады, бірақ АҚШ инсектицидтер мен гербицидтердің ең ірі тұтынушысы. Еуропадағы химиялық қорғаныс құралдарының ең ірі тұтынушысы Франция болып табылады, ол 1987 жылы – 1,49 млрд , 1990 жылы – 1,6 млрд жұмсаған, оның 32 %-ы фунгицидтер [21].

1.4 Биофунгицидтік препараттардың тауарлық формаларының артықшылықтары мен кемшіліктері

Келесі тауарлық формалар көп қолданылады: суланатын ұнтақтар, эмульсиялар концентраты, пасталар, гранулалар, дусттар(құрғақ дәрілеу және дәрі себуге арналған ұнтақтар), еритін ұнтақтар, сұйық және ұнтақ түріндегі техникалық өнімдер, сулы ерітінділер, концентріленген суспензиялар – коллоидты ерітінділер, шашкалар және өртеуге арналған таблеткалар [22].

Суланатын ұнтақ – бұл құрғақ, ұсақ ұнтақталған препаративті формалар, дустарға өте ұқсас. Кең таралған препарат формасы болып табылады. Сумен араластыру кезінде жұмыс сұйықтығы болып табылатын суспензияны құрайды және бүрку үшін пайдаланылады. Инертті ингредиенттер с. ұ. суда ерімейді.

Артықшылықтары: оларды тасымалдау, сақтау, пайдалану оңай; сұйық пестицидтермен салыстырғанда өсімдіктердің зақымдану ықтималдығы төмен; өлшеу және араластыру оңай; басқа нысандармен салыстырғанда тері мен көзді аз тітіркендіреді.

Кемшіліктері: жұмыс қоспаларын дайындау кезінде жұмысшылардың ингаляциялық улану қаупі бар; резервуарда бүріккіштің мұқият және тұрақты

механикалық араласуын талап етеді. Егер араластыру механизмі жұмыс істеуді тоқтатса, олар түбіне тез шөгеді; оларды қатты немесе сілтілі суда араластыру қиын; саптамаларды және елеуіштерді жиі бітейді [22].

Еритін ұнтақтар – суда жоғары дисперсті қатты еритін белсенді заттар қосылған әсер етуші заттар. Суланатын ұнтақтарға қарағанда, еритін толтырғыштар жоқ. Жұмыс ерітінділерін тікелей резервуарда бүріккішті механикалық араластырмай сумен араластыру жолымен дайындауға болады. Еритін ұнтақтар сыртқы түрі бойынша суланатын ұнтақтарға ұқсас. Еритін ұнтақтардың суланатын ұнтақтардың барлық артықшылықтарына ие және ингаляциялық зақымдану қаупінен, жұмысшылардың улануынан басқа, олардың бір де бір жетіспеушілігі жоқ [23].

Эмульгияланатын концентраттар – құрамында 20-80 % белсенді зат, бір немесе одан көп еріткіштер мен эмульгаторлар бар препараттық нысан. Сумен араластыру кезінде олар тұрақты эмульсияларды құрайды. Эмульгацияланатын концентраттарды гидравликалық жер үсті және ауа бүріккіштерінің көмегімен қолдануға болады.

Э. к. артықшылықтары: тасымалдау, сақтау, қолдану салыстырмалы түрде қарапайым; тұрақты механикалық араластыруды талап етпейді, өйткені э. к. түбіне шөгілмейді және жұмыс кезінде ерімейді; елек пен саптамаларды бітемейді.

Кемшіліктері: жоғары концентрацияға байланысты реттеу кезінде шығын нормасын оңай арттыруға немесе азайтуға болады; өсімдіктердің зақымдануын тудыруы мүмкін; еріткіштер резеңке және пластикалық шлангтарды, сорғы тығыздамаларын, боялған жабдықтарды бүлдіруі мүмкін; өрт қауіпті, сондықтан оларды қыздырғыштар мен ашық оттан белгілі бір қашықтықта пайдалануға және сақтауға рұқсат етіледі [24-25].

Түйіршіктелген препараттар – түйіршіктер түрінде дайындалатын фунгицидтер. Түйіршіктелген препаративті формалар сыртқы түрі бойынша шаңға ұқсайды, бірақ олардың бөлшектері өлшемі бойынша үлкен (диаметрі 0,5-1, 5 мм, кейде 3 мм-ге дейін) және олар ауыр. Түйіршіктердегі әсер етуші заттың құрамы 1-15 % шегінде ауытқиды. Жоғары сапалы түйіршіктелген препараттарды дайындау үшін сұйық әсер етуші заттың қажетті мөлшерін бөлшектер жабыспастан ұстап тұруға қабілетті бейтарап жоғары сорбциялық кеуекті толтырғыштар қолданылады. Белсенді зат немесе түйіршіктерді сыртынан жабады, немесе оларға сіңеді.

Артықшылықтары: препараттар пайдалануға дайын және оларды дайындауға қосымша шығындарды талап етпейді; олармен жұмыс істеушілер үшін болмашы тәуекел; қолдануға арналған қарапайым жабдық қажет.

Кемшіліктері: жапырақтарға немесе басқа да тегіс емес бетке жабыспайды, әсер ету үшін белгілі бір ылғалдылықты қажет етеді [26].

Пасталар – май тәрізді препараттар, құрамында суланатын ұнтақтар, сондай-ақ су, кейде бояғыштар бар. Дәндік және сүйекті жеміс дақылдарының жараларын майлау үшін, сондай-ақ суспензияларды дайындау үшін пайдаланылады.

Суланатын ұнтақтар - сумен тұрақты суспензия түзетін Ұнтақ тәрізді шаң тәріздес препараттар. Бұл препараттық форма ең әмбебап [27].

Эмульсиялардың концентраттары - сумен араластыру кезінде эмульсияларды түзетін сұйық немесе паста тәрізді препараттар. Қосалқы заттар ретінде бір жағдайда май (немесе сумен араласпайтын басқа да еріткіштер) және тұрақтандырғыштар, екіншісінде — сумен жақсы араласатын еріткіштер мен ПБЗ (эмульгаторлар) болады. Әдетте әсер етуші зат 20-дан 65 % - ға дейін бар [28].

1.5 Микробалдырларға жалпы сипаттама беру

Балдырлар әдетте бірнеше микрометрден он метрге дейінгі мөлшерде эукариоттық ағзаларды білдіреді. Микробалдырлар, сондай-ақ, макрофиттер деп аталатын бір жасушалы және колониалды организмдердің жиналмалы тобы болып табылады, олар тез өсіп, фотосинтезге қабілетті. Микробалдырлар экстремалды (үңгірлерде, придонды тұнбаның күкіртті сутегімен бай қабаттарында, минералды көздерде, гипергалинді су қоймаларында) жағдайларды қоса, барлық континенттер мен тұщы да, тұзды да су қоймаларында тіршілік етеді. Өртүрлі экожүйелердің құрамында бола отырып, микробалдырлар басқа тірі организмдермен байланыстардың кең спектрімен байланысты [29].

Микробалдырлар әлемдік биомассаның 70 % -дан астамы үшін тағамдық тізбектердің негізі болып табылады. Көміртегі көзі ретінде олар CO_2 көмірқышқыл газын, сондай-ақ еритін карбонатты тұздарды пайдаланады. Микробалдырлар атмосфераны оттегімен қанықтырады. Олар ғаламшар өсімдіктерінің жалпы фотосинтетикалық өніміне шамамен 50 % енгізеді. Микробалдырлардың биоөртүрлілігі үлкен, олар жеке өмір сүруі немесе тізбектер мен топтар (жіп тәрізді және отарлық түрлер) құруы мүмкін 30 мыңнан астам түрлердің әр текті ортақтығын білдіреді [30]. Микробалдырлар физиологиялық және биохимиялық қасиеттерге ие және қоректік заттардың құнды көзі болып табылады. Көптеген түрлері каротиноидтар, антиоксиданттар, май қышқылдары, ферменттер, полимерлер, пептидтер, уыттар шығарады.

Микробалдырлар жер үсті өсімдіктерінен ондаған есе жылдам өседі, кейбір түрлер тіпті тәулігіне бірнеше рет өз массасын көбейте алады. Қолайлы өсіру жағдайында кейбір микробалдырлар апта сайын жаңа өнім шығарады.

2 Материалдар мен әдістер

2.1 Биофунгицидтік препараттарды өңдеу үшін микробалдырлардың перспективалы штаммдарын анықтау

Перспективалы штаммдарды анықтау үшін олардың ферментативті (хитиназды, глюканазалы) және антифунгалды белсенділігінің детекциясы бойынша эксперименттер жүргізіледі. «Тамаша», «Гала» сорттарындағы түйнектер, өскіндер, жапырақтар, картоптың пробиркалы өсімдіктері пайдаланылады. Сондай-ақ, «Республикалық микроорганизмдер коллекциясында» сатып алынған *F. solani*, *F. culmorum* (0167, 2171 штамдары) фитопатогенді саңырауқұлақтар қолданылады [31].

Сынама алуға және өңдеуді орындауға алдын ала дайындау ыдысты, сынама іріктегіштерді, іріктеп алынған сынамаларды сақтау орындарын дайындауды, сондай-ақ зертханаға жеткізілген сынамаларды өңдеу және оларды зерттеу үшін жұмыс орнын дайындауды қамтамасыз етуі тиіс.

Әдетте шыны ыдыс пайдаланылады. Ыдыс химиялық таза болуы керек. Саңырауқұлақпен жұмыс істегеннен кейін, ол ұнтақпен жуылады, содан кейін ол құбыр суымен мұқият жуылады. Ауыстырып отырғызуға арналған ыдыс 1,5 атм қысым кезінде автоклавта стерильденеді. 60 мин ішінде, споралық микрофлораны жою үшін – 2 атм-да 90 мин [32].

Хламидомонада Рейнгардт (лат. *Chlamydomonas reinhardtii*) – бұл жылжымалы бір жасушалы жасыл балдырлар, хламидомонада тегінің өкілі. Бұл балдырлар топырақта және тұщы суда кең таралған. *Chlamydomonas* әдеттегі (мутантты) штамдары жасушаны энергиямен қамтамасыз ету үшін фотосинтезді пайдалана отырып, құрамында органикалық емес тұздары бар қарапайым культуралды ортада өсе алады. Сондай-ақ, көміртегі ацетаты көзі ретінде пайдаланып, толық қараңғыда өсе алады. *C.reinhardtii* жабайы типті c137 (mt+) Штамм Amherst, Massachusetts, 1945 жылы алынған үлгіден тұрады.

C. reinhardtii мутанттары көп белгілі, олар әртүрлі биологиялық процестерді — жгутиктің қозғалғыштығын, фотосинтезді немесе ақуыздың биосинтезін зерттеу үшін қолайлы объектілер болып табылады. Гаплоидты нормада *Chlamydomonas* вегетативтік жасушалары мутациялар әсерлері келесі айқындылардың қажеті жоқ көрінеді. 2007 жылы *C.reinhardtii* геномының нуклеотидтерінің толық тізбегі жарияланды [33-34].

2.2 Трансформация жүргізу

2-ші класты қышқыл хитиназаның синтетикалық гендері және β -1,3 - картоп глюканазасы - *St-gluB* және *St-chtA2* пайдаланылады. Реципиент ретінде *Chlamydomonas reinhardtii* TN72 микробалдырлардың *psbH* бойынша "нокаутты" түрі қолданылады. *St - gluB* және *St-chtA2* генінің *pSRSap1* плазмид векторының екі түрін қолдана отырып, *Chlamydomonas* TN72

микробалдырының екі ұқсас клондарының жасушаларының трансформациясы с. *Esoptomou* ұсынған хаттамаға сәйкес сызба бойынша жүргізіледі. Трансгендердің экспрессиясы деңгейі бойынша GOI-дің интеграциясы расталған *Chlamydomonas TN72* алынған трансформанттарының скринингі Western blot әдісін пайдалана отырып жүргізіледі [31].

2.3 Штамдардың биомассасын жинақтау үшін өсіру параметрлері

F. solani, *F. culmorum*, *Ph. Infestans*-ке қатысты ең көп антифунгалды белсенділікті көрсеткен микробалдырлар штамдары анықталады.

Перспективалы штаммдар өсірудің келесі шарттарын сақтаған кезде өсіріледі:

- ТАР қоректік ортасы;
- қуаты 30-50 люкс тұрақты жарықтандыру;
- температура 21-23 °C;
- стерильді ауамен үрлеу 1 л/мин.

Егудің оңтайлы тәсілі 25±2 °C температурада 3 апта бойы биологиялық тербелмедегі көлемі 500 мл дейінгі стерильді пластикалық пакеттерде және тербелме айналу жылдамдығы 120 айн/мин кезінде 2500 лк/сағ үздіксіз фото кезеңде микробалдыр штаммдарының кезеңдік суспензиялық дақылдарын өсіру болып табылады. Пассаж кезінде енгізілетін инокулят көлемі қоректік орта көлемінің 10 % құрайды. 3 апталық өсімнен кейін биомассаны және одан әрі биофунгицидтік препараттарды өндіру үшін культуралды сүзгіні алуға дайын.

Жасушалар культуральды сұйықтықтан центрифугалау әдісімен (2K15, Sigma қондырғысы арқылы) бөлінеді. *Chlamydomonas reinhardtii* жасушаларының суспензиялары центрифугада 9000 айналым кезінде, 4 °C температурада 10 минут центрифугалайды. Дақылдық сүзгіні алдын ала сүзіп, 20 °C температурада қатырады [30].

2.4 Биофунгицидтік ферментті алуды сипаттау

Центрифугаланған жалпы хл биомассасының қатты бөлігі, яғни клеткалар массасы алынды.

Биофунгицидтік препараттарды алу үшін белсенді компоненттерді лиофилизирленген, нативті және ылғалды биомассадан, сондай-ақ нативті супернатанттан (культуральды сұйықтықтан) төрт түрлі әдістермен экстракция жүргізіледі [26].

Экстракция 1. Ірі Сығынды дайындау және еритін протеиндердің фракциясын бөлу.

C. Reinhardtii дақылы 750 нм кезінде 2-3 оптикалық тығыздыққа дейін өсіріледі, одан әрі 10 минут ішінде 8000 g-да центрифугалау жолымен биомассаны жинау жүргізіледі. Клеткалар 20 mM Na-Pi буферде (NaH_2PO_4 , pH

6.9 дейін NaOH арқылы жеткізіледі) 100 еселенген көлемнің концентрациясына дейін ресуспендияланады. Жекелеген жағдайларда жасушалық сығындыға протеаз ингибиторы қосылады. Бұдан әрі клеткалар сұйық азотта салқындатудың үш циклымен бұзылады, кейін 37 °C дейін қызады және 10 секунд ішінде вертексте сілкілейді. Бұзылған жасушалардың суспензиясын 21000 g кезінде 5 минут ішінде (немесе көлемі 2 мл аспайтын жағдайда 20 минут ішінде 3000 g) центрифугалайды және супернатант (қатты сығындыға сәйкес келетін) келесі жұмыстар үшін алынады. Жасушалық қалдықтарды және ерімейтін протеиндердің фракцияларын неғұрлым толық жою үшін дөрекі сығынды 1 сағат ішінде 100 000 g центрифугалауға ұшырайды [27-28].

Экстракция 2. Аммоний сульфатымен преципитация

Еритін протеиндер фракцияларының үлгілері мұзда аммоний сульфатын қалаған концентрацияға жеткенге дейін баяу енгізумен араластырылады. Араластыру 30 минут бойы жалғасады. Бұдан әрі ерітінді 30 минут бойы 3000 g-да центрифугаға салынады. Тұнба 20 mM Na-Pi буфердің аз көлемінде ресуспендияланады және одан әрі зерттеу үшін пайдаланылады. Супернатант жоғарыда сипатталған әдіске ұқсас аммоний сульфатының градиенттік концентрациясымен кезең-кезеңмен өңделеді.

Экстракция 3. Трис-буферлік ақуыздар экстракциясы

Ақуыздарды экстракциялау кезінде РН ортасының белгілі мәндерімен әртүрлі буферлік қоспалар, органикалық еріткіштер, сондай-ақ ақуыздар мен липидтер арасындағы және ақуыз молекулалары арасындағы гидрофобтық өзара әрекеттесуді бұзатын неионды детергенттер кеңінен қолданылады. Бұл әдісте 0,1 M тұз қышқылының ерітіндісі бар 0,2 M трис-буфер қолданылады [29].

2.5 Қолданылған материалдар мен құрал-жабдықтар

Зерттеу жұмысында қолданылған *Chlamydomonas reinhardtii* дақылы М.А.Айтхожин атындағы Молекулярлық биология және биохимия институтында сақталған, Ефремова Ю.М. микробалдырларының жеке топтамасынан алынған. Бұл жерде культурасы агарлы қатты ортада және сұйық ортада да сақталған.

Агарды ортадағы культура әр ай сайын жаңа ортаға тасымалдануы жүзеге асырылды. Ол үшін Петри табақшасында өсіп тұрған колониялар арасынан бір колония тандалып алынады. Содан кейін ол колонияны мөлшері 150 мл және ішінде 50 мл ТАР қоректік оратсы бар Эрленмейер колбасына ауыстырылады. Бастапқы дақыл ретінде өсуі үшін 21 °C температурада және жарықтандыру қарқындылығы $40 \text{ мкмоль} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$ болатын үздіксіз флуоресцентті жарықта минутына 120 айналым режимінде өсірілді.

Бастапқыда топтамалық культура белсенділігін жаңғырту үшін қайта отырғызу кезінде ТАР қоректік ортасы қолданылған еді. Ал дақылын

Chlamydomonas reinhardtii штаммын өсіру үшін HSM қоректік ортасы қолданылды. Құрамы төмендегі 1-кестеде көрсетілген.

1 Кесте – 1 л дайындауға арналған HSM қоректік ортасының құрамы

H ₂ O	925 мл
Бейерниктың 4х тұздары: - 16 г NH ₄ Cl; - 2 г CaCl ₂ ; - 4 г MgSO ₄ . (1 л дистилденген суда ерітілген)	25 мл
Микроэлементтер ерітіндісі: - 11.4 г H ₃ BO ₄ ; - 22 г ZnSO ₄ · 7H ₂ O; - 5.06 г MnCl ₂ · 4H ₂ O; - 4.99 г FeSO ₄ · 7H ₂ O; - 1.61 г CoCl ₂ · 6H ₂ O; - 1.57 г CuSO ₄ · 4H ₂ O; - 1.1 г (NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ · 4H ₂ O.	1 мл
2х PO ₄ : - 14.34 г K ₂ PO ₄ ; - 7.26 г KH ₂ PO ₄ . (1 л дистилденген суда ерітілген)	50 мл
Конц. КОН	pH 6.9 келтірілгенше

2 Кесте – 1 л дайындауға арналған ТАР қоректік ортасының құрамы

Дистилденген H ₂ O	975 мл
Tris	2.42 г
Бейерник 4х тұздары	25 мл
1М (K)PO ₄ pH=7	1 мл
Микроэлементтер ерітіндісі	1 мл
Сірке қышқылы	1 мл pH=7-ге дейін

Электр қондырғыларымен жұмыс істеу кезіндегі қауіпсіздік 12.1.019 ГОСТ бойынша және жабдыққа қойылатын нұсқаулықтардың талаптарына сәйкес қамтамасыз етіледі. Электр құралдарын пайдалану кезінде айнымалы ток жиілігі 50 +/- 1 Гц. Желі кернеуі 220 +/- 10 В.

Бұл жұмыста қолданылған реактивтер бірінші кестеде көрсетілген. Бұл реактивтер қоректік орта дайындауда, ашыту процесінде, экстракцияда және фермент алуда қолданылады.

3 Кесте – Материалдар (реактивтер)

№	Атауы	Өндіруші фирма
1	Бакто-триптон	Life Science
2	Ашытқы экстракты	Gilbco by Life Technologies
3	Натрий хлор	AppliChem
4	Агар	
5	Ампициллин	Sigma
6	Глицерол	Sigma
7	CaCl ₂	
8	Агароза (Molecular Biology Grade)	Thermo Scientific
9	Плазмидті ДНҚ-ны бөліп алуға арналған PureLink Quick Plasmid Miniprep Kit	Thermo Scientific
10	Рестриктаза SphI (10U/μl)	Thermo Scientific
11	Рестриктаза SapI (10U/μl)	Thermo Scientific
12	Маркер ДНК GeneRuler Ladder Mix	Thermo Scientific
13	Жинақ dNTP 100мМ	Thermo Scientific
14	Phusion DNA polymerase	Thermo Scientific
15	T4 DNA ligase	Thermo Scientific
16	NH ₄ Cl	AppliChem
17	MgSO ₄ ·7H ₂ O	AppliChem
18	Trizma Base	Sigma
19	K ₂ HPO ₄	AppliChem
20	KH ₂ PO ₄	AppliChem
21	KOH	AppliChem
22	Na ₂ ЭДТА	Sigma
23	(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄	Sigma
24	Na ₂ SeO ₃	Sigma
25	Glass beads 425-600 μl	Sigma
26	GeneJETPCR Purification Kit	Thermo Scientific
27	QIAfilter Plasmid Midi Kit	Thermo Scientific
28	Трис	Sigma
29	Глицин	Sigma
30	SDS	Sigma
31	NaH ₂ PO ₄	AppliChem
32	NaOH	AppliChem
33	Аммоний сульфаты	AppliChem
35	Ламинарин	Sigma
36	Чапек ортасы	Sigma
37	CH ₃ COONa x 3H ₂ O ₂	Ресей
38	Дистильденген су	

Барлық эксперименттерде жабдықтар маңызды рөлді атқарады. Олардың көмегімен көптеген қолмен жасауға келмейтін нәтижелерді уақытында және дәл нәтижемен алуға болады. Басты жабдықтар ретінде термостат, центрифуга, автоклав және ламинарлы шкафты атауға болады.

2 Кесте – Жабдықтар

№	Атауы	Өндіруші фирма	Сипаттама
1	Термоциклер-амплификатор T 100 Bio-rad	Bio-rad, АҚШ	Температура диапазоны 4-100°C, сыйымдылығы 0,2 мл пробиркалар (96 дана) үшін
2	ПТР-бокс BS UVC/T-AR	SIA «Biosan», Латвия	Стерильді жағдайда жұмыс жасау үшін
3	Термостат TDB-120	SIA «Biosan», Латвия	25-120°C
4	Вортекс BS V-1 plus	SIA «Biosan», Латвия	750-3000 айн/мин
5	Спектрофотометр Ultrospec 7000 PC	GE Healthcare, Ұлыбритания	Толқындардың ұзындық диапазоны 190-1100 нм
6	Центрифуга Sigma 3K30	Sigma, Германия	Рефрижераторлық, макс. жылдамдық 22000 айн/мин
7	Центрифуга Sigma 2K15	Sigma, Германия	Макс. жылдамдық 12000 айн/мин
8	pH-метр Five Easy pH FE20-Kit	Mettler Toledo, Швейцария	pH өлшеу 0-ден 14-ке дейін, температура 0-100°C
9	Электрондық таразы Pioneer PA 413C	OHAUS, АҚШ	Өлшеу шектеулігі 0,001-410 г
10	Аналитикалық таразы ACJ 220-4M	Kern & Sohn GmbH, Германия	Өлшеу шектеулігі 0,01-220 г
11	Аквадистиллятор АДЭа-10-СЗМО	Ресей	Дистильденген су алу үшін
12	Ультра су алу жүйесі Elga PURELAB FLEX	ELGA LabWater, Ұлыбритания	Ультра суды 2 л/мин-ға дейін алу
13	Құрғақ ауа электр термостаты TC-1/80 СПУ	ОАО «Смоленское СКТБ СПУ», Ресей	Жұмыс температурасының диапазоны 25-60°C
14	Құрғақ ауа электр термостаты TCO-1/80 СПУ	ОАО «Смоленское СКТБ СПУ», Ресей	Жұмыс температурасының диапазоны 5-60°C
15	Автоматты пипетка мөлшерлеуіштері Research	Eppendorf, Германия	Сұйықтық сынамаларының көлемі 0,02-ден 5 мл (+/- 1,0%)
16	Биологиялық қауіпсіздік боксы AC2-4G8	Airstream, Сингапур	Стерильді жағдайда жұмыс жүргізу үшін
17	Ламинарлы шкаф AVC2D1	Airstream, Сингапур	Стерильді жағдайда жұмыс жүргізу үшін

№	Атауы	Өндіруші фирма	Сипаттама
18	Үстелдік Автоклав DGM-200	DGM Pharma-Apparate Handel AG, Ресей	Қоректік орталарды стерилизациялау температурасы 50-126°C, қысым 0,142 мПа
19	Льдогенератор RF0244A	MANITOWOC ICE INC.-MANITOWOC WI, Italy	Қабыршақты мұз алу 82,5538 кг/тәулік
20	Мұздату камерасы Nord DM 155-3-010	АО «Норд», Украина	Биоматериалды төмен температурада сақтау -18°C
21	Тұрмыстық тоңазытқыш	Indesit, Ресей	Мұздатқыш(-18-20 °C), тоңазытқыш (+4-6 °C)

3 Зерттеу нәтижелері

3.1 Хитиназдық және глюканазалық белсенділікке штаммдардың детерциясы

Жүргізілген трансформация нәтижесінде *St-gluB* және *St-chtA2* қондырмасы бар 8 трансформант алынды, трансформанттардың ферментативті және антифунгалды белсенділігіне өлшеу жүргізілді.

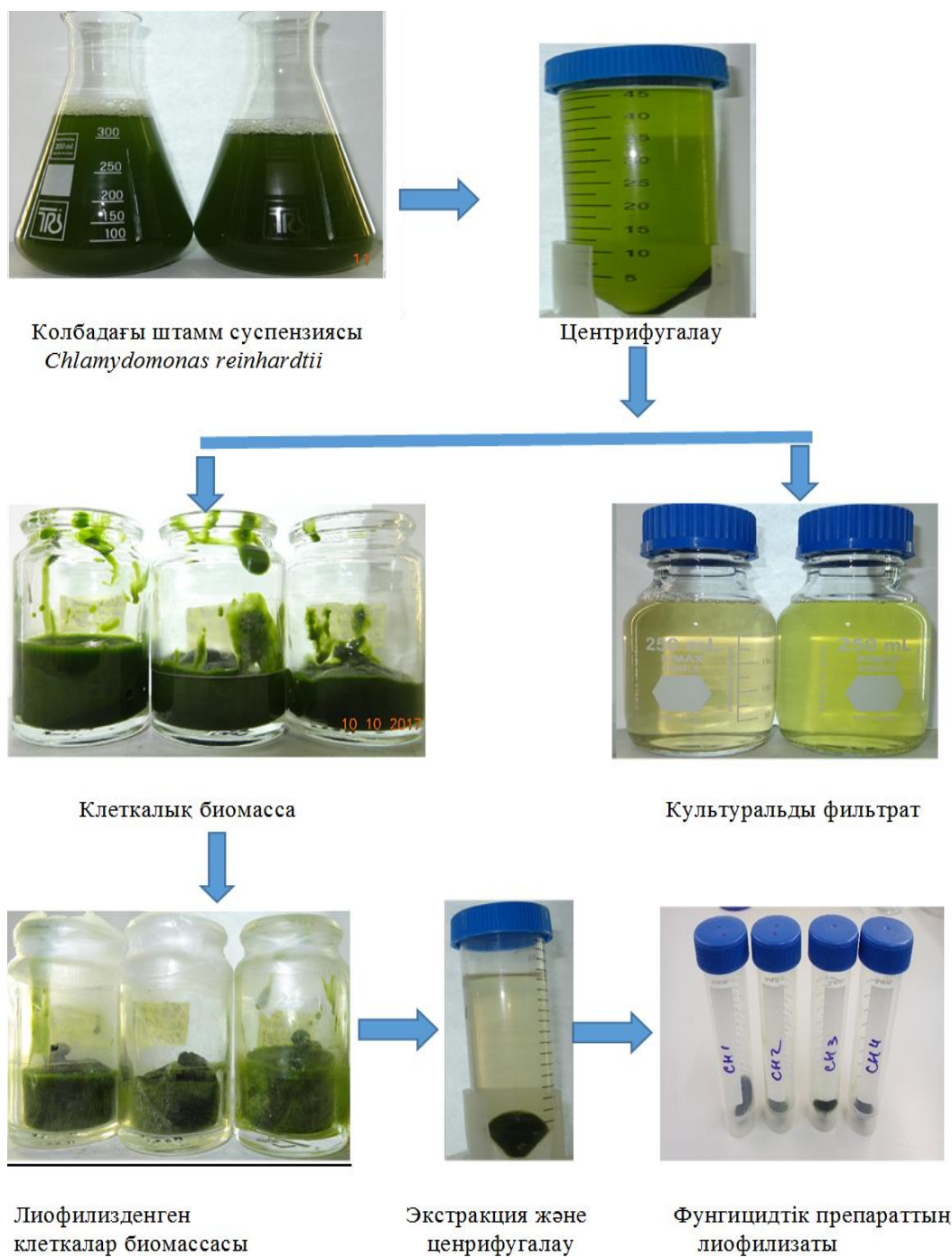
Хитиназдық белсенділіктің деңгейін анықтау флуориметрлік әдіспен (Sigma Aldrich, Chitinase Assay Kit, Fluorimetric, CN CS1030) хитиназдық белсенділікті сезімтал және ерекше анықтау үшін үш түрлі субстратты пайдалана отырып, хитиназалық белсенділікті анықтау үшін жиынтық өндірушісімен ұсынылған хаттама бойынша жүргізіледі: 4-метилумбеллиферил N,N'-β-D-хитобиозид – экзохитиназдық (хитобиозидаздық) детекциясына арналған субстрат. 4-Метилумбеллиферил N-ацетил-β-D-глюкозаминид – экзохитиназды (β-N-Глюкозаминидазды) белсенділіктің детекциясына арналған субстрат; 4-метилумбеллиферил-β - D-N,N', N'' – триацилхитотриоз-бес биологиялық қайталаудағы эндохитиназды белсенділіктің детекциясына арналған субстрат. Үлгілердің флуорометриясын 360 нм қозғағанда және 450 нм кезінде эмиссияда жүргізген.

Глюканазаның ферментативті белсенділігінің деңгейін анықтау экзо-глюканазды препараттарды талдау үшін қабылданған әдістермен жүргізіледі: пробиркаларда ферментативті реакция жүргізу және β-глюканның субстратын ашыту кезінде босатылатын редуцирлеуші қанттарды колориметрлік детектеу. Детекторлау колориметриялық әдістерді пайдалана отырып жүргізіледі. Глюканның ыдырау реакциясын рН 4,7 (ацетатты буфер) және 50°C температурада жүргізеді. Ашыту өнімдерін индикациялау үшін ДНС бар фотоколориметриялық әдістер қолданылады.

Рекомбинантты глюканазаның белсенділігін детерминирлеу препараттың оптикалық тығыздығының өзгеруін және халықаралық бірліктерде белсенділікті білдірмей, редуцирлеуші қанттардың пайда болуы есебінен бақылаумен тікелей салыстырумен жүргізіледі. Бақылау ретінде *Trichoderma reesei* мәдениетінен алынған β-глюканаза стандартты препараты қолданылады.

3.2 *Chlamydomonas reinhardtii* қажетті концентрацияға дейін жеткізілген биомассасы

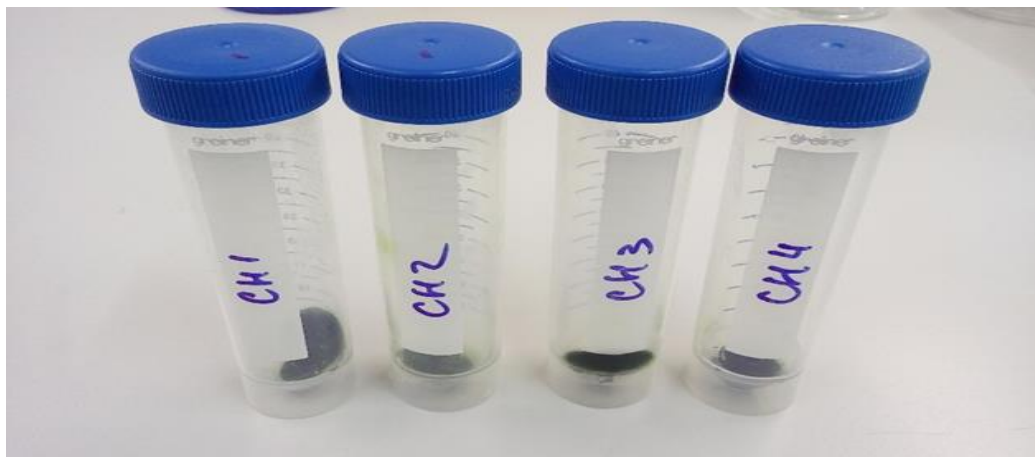
Тәжірибе нәтижесінде *Chlamydomonas reinhardtii* қажетті концентрацияға дейін жеткізілген биомассасы алынды. Ол үшін модифицирленген дайын штамм қолданылды. Яғни, *Chlamydomonas reinhardtii* ДНҚ-сына хитиназа гені енгізілген. Сызбанұсқада көрсетілгендей бірінші дақылдау арқылы штамның суспензиясын аламыз. Оны центрифугалау нәтижесінде клеткалық биомасса және культуральды фильтрат бөлінеді.



1 Сурет - *Chlamydomonas reinhardtii* қажетті концентрацияға дейін жеткізілген биомассасы

3.3 Биофунгицидтерді экстракциялау нәтижелері

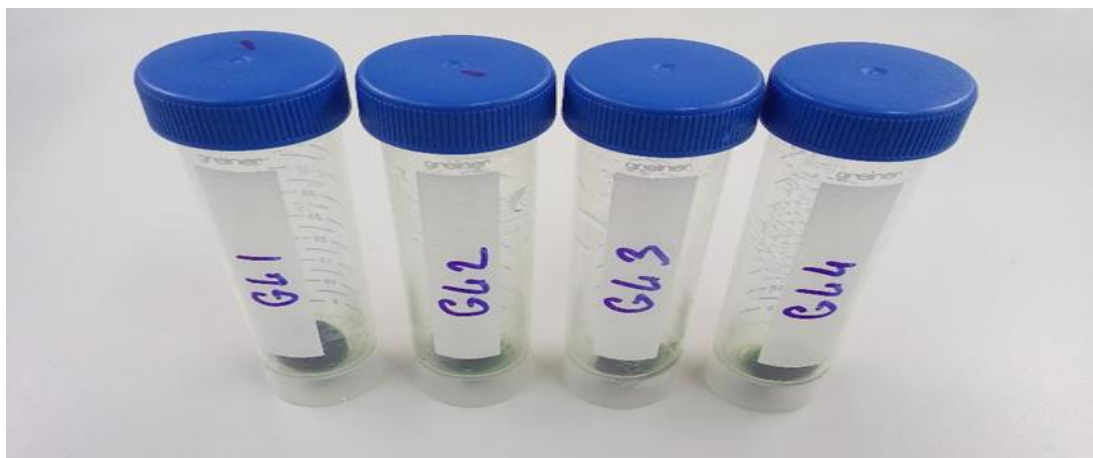
St-chtA2 ендімесін көтеретін *Chlamydomonas reinhardtii* TN 72 клондарын өсіру кезінде алынған лиофилизирленген биомасса 2 және 3-суретте көрсетілген.



2 Сурет – Трансформаторлардың лиофилденген биомассасы (*Chlamydomonas reinhardtii* TN 72 – CH1, CH2, CH3, CH4)

St-gluB ендімесін көтеретін *Chlamydomonas reinhardtii* TN 72 трансформацияланған клондарын қарқынды өсіру кезінде алынған лиофилизирленген биомасса 2-суретте көрсетілген.

Бұл биомасса жоғарыда сипатталған әдістерді қолдану арқылы белсенді компоненттерді экстракциялау үшін қолданылды - дөрекі сығынды дайындау және аммоний сульфатымен преципитациялау.



3 Сурет – Трансформаторлардың лиофилденген биомассасы (*Chlamydomonas reinhardtii* TN 72 – GL1, GL2, GL3, GL4)

3.4 Тауарлық форманың оптималды түрін таңдау

Препараттың тауарлық (рецептуралық) нысанын әзірлеу оны жасаудың маңызды кезеңдерінің бірі болып табылады. Тауарлық нысан үш негізгі шартты қанағаттандыруы тиіс: өндіріс сәтінен бастап қолданғанға дейін әрекет ететін бастаудың биологиялық белсенділігін сақтау; өңделетін объектілердің биоагентпен тығыз және біртекті жабындарын жасауды қамтамасыз ету,

сондай-ақ, егер мүмкін болса, дала жағдайында биологиялық белсенділікті сақтау және күшейту. Тауарлық форманың компоненттері және олардың саны препараттың құнын айтарлықтай ұлғайтпауы тиіс. Бұл міндеттерді препаратқа әр түрлі ингредиенттерді енгізу арқылы да, белгілі бір технологиялық тәсілдерді қолдана отырып та шешуге болады.

Паста түріндегі препарат алу үшін биомассаны сепарирлеп, центрифугалап және мөлшері 500, 100, және 60 мкм електен өткізу қажет. Ең жақсы нәтиже 100 мкм болатын електен сүзу болды. Осы екі әдіс қысқа уақыт ішінде жеткілікті қалың, жайылған пастаны алуға мүмкіндік береді. Зертханалық жағдайларда биомассаның аз мөлшері үшін осы әдісті қолданған дұрыс.

Препараттың биологиялық белсенділігін сақтауға әсерін бағалау үшін ұзақ уақыт бойы әртүрлі температураларда оның төмендеу динамикасын анықтау қажет. Зерттелетін үлгілерді инактивациялау процесін қарқындату үшін нәтижелерді тез алу мақсатында әдетте сақтау температурасының жоғарылауын пайдаланады, өйткені Вант-Гоффың белгілі ережесі бойынша температураның 10°C-қа көтерілуі химиялық реакциялардың 2-4 есе үдеуін тудырады. Бұл ретте биомассаның бақылау үлгілері белсенділігінің айтарлықтай төмендеуі қалаған уақыт кезеңінде болатын температураны таңдау қажет. Бұл жағдайда - бірнеше күннен 1-2 аптаға дейін, өйткені мұндай мерзім әдетте биомассаның жаңа партиясын өңдеу және талдау үшін тиімді.

Пастаны сақтаудың оптималды түрін анықтау үшін 20 °C, 30 °C, 35 °C және 45 °C-та сақтау керек. Сынамалар әрбір 5 күн сайын тексеріледі. 20°C кезінде сақталған үлгілердің толық инактивациясы 1 айдан кейін, 30 °C кезінде - 1-2 аптадан кейін, 35 °C кезінде – бірнеше күннен кейін, ал 45 °C кезінде – 5 тәуліктен кем болған. Осылайша, препараттың сақталуын бағалау үшін жедел сақтаудың оңтайлы температурасы 30 °C болып табылады.

ҚОРЫТЫНДЫ

1 Микробалдырдан биофунгицидтік препарат алынды. Ол үшін оңтайлы штамм түрі таңдалып алынды. Штамның өсуіне қажетті жағдайлар атап өтілді. Соларды сақтаудың нәтижесінде препарат алуға мүмкіндік туды. Препарат алу кезіндегі әдістер мен құрал-жабдықтар 1,2 кестелерде көрсетілген. Басты әдіс ретінде экстракция әдісінің 4 түрі қарастырылды.

2 Биофунгицидтік препараттардың кең таралған тауарлық формаларына шолу жасалды. Келесі препаративтік формалар көп қолданылады: суланатын ұнтақтар, эмульсиялар концентраты, пасталар, гранулалар, дусттар(құрғақ дәрілеу және дәрі себуге арналған ұнтақтар), еритін ұнтақтар, сұйық және ұнтақ түріндегі техникалық өнімдер, сулы ерітінділер, концентріленген суспензиялар – коллоидты ерітінділер, шашкалар және өртеуге арналған таблеткалар. Әр тауарлық форманың артықшылықтары мен кемшіліктері бар. Тауарлық формалардың ішінде тиімдісі сұйық күйдегі формалар болып табылады. Сол себептен паста формасындағы препараттың әзірленуі қарастырылды.

ПАЙДАЛАНЫЛҒАН ӘДЕБИЕТТЕР ТІЗІМІ

- 1 Титова Ю. А. Методология получения мультиконверсионных биопрепаратов для защиты растений / Ю. А. Титова // Сб. науч. тр. III Всероссийского съезда по защите растений «Фитосанитарная оптимизация агроэкосистем». СПб: ГНУ ВИЗР. 2013. Т. 2. С. 396–400.
- 2 Павлюшин ВА. Научное обеспечение защиты растений и продовольственная безопасность России // Защита и карантин растений. 2010. № 2. С. 11–15.
- 3 Штерншис М.В., Андреева И.В., Томилова О.Г. Биологическая защита растений : учеб. 2-е изд., испр. и доп. СПб. : Лань, 2018. 332 с.
- 4 Штерншис М.В., Джалилов Ф.С., Андреева И.В., Томилова О.Г. Биопрепараты в защите растений : учеб. пособие. 2-е изд., перераб. и доп. Новосибирск : НГАУ, 2003. 140 с.
- 5 Алексеев А. А. Маркетинговые принципы оптимизации глубины продукции / А. А. Алексеев // Маркетинг и маркетинговые исследования в России. – 2011. - №6. – С. 4-12.
- 6 Сагитов А.О. Почвозащитная система земледелия и проблемы защиты растений // Развитие идей почвозащитного земледелия в новых социально-экономических условиях: сб. докл. межд. научно-практ. конф., Астана-Шортанды, Т 1.2003. – С. 250-262.
- 7 Колесова, Д. А. Диагностика инфицирования сельскохозяйственных растений фитопатогенами - необходимое условие оптимизации применения современных фунгицидов / Д.А. Колесова, П.Г. Чмырь, Л.В. Коломбет // Агрохимия. - 2004. - № 11. - С. 87-93.
- 8 Логинов О.И., Васильева Н.С., Силшцев Н.Н. Получение сухой препаративной формы биопрепарата сельскохозяйственного назначения «Елена» У// Башкирский химический журнал. 2007. Т. 12. N 2. С. 45–47.
- 9 Шуклина Т.Г. Эффективность новых фунгицидов в борьбе с фитофторозом картофеля в зависимости от сортовой устойчивости: автореф. канд. ... дис. М.: 2003. 18 с.
- 11 Zeiruk V.N., Kuz'michev A.A., Glez V.M., Derevyagina M.K., Vasil'eva S.V., Abashkin O.V. Phytosanitary state and actions against the main diseases and pests during vegetation and storage of potatoes. Moscow: VNIKKh Rossel'khozakademii, 2014, 22 p. (In Russian).
- 12 Сираева З.Ю., Захарова Н.Г., Ильинская О.Н., Гарусов А.В. Токсикологическая оценка нового протравителя семян зерновых культур биофунгицида бацизулин // Токсикол. вестн. - 2006. - № 1. - С. 30-35.
- 13 Новикова И.И. Полифункциональные биопрепараты для защиты растений от болезней / И.И. Новикова // Защита и карантин растений. — 2005. — № 2. — С. 22—24.
- 14 Сатубалдин К.К., Менликиев М.Я., Сангинас Л.А., Никитин С.Б. Интеграл – высокоэффективный биологический препарат комплексного

действия //ЗАО научно производственная система «Элита-комплекс». - 2002. — С.3–4.

15 Чернова Н.И., Коробкова Т.П., Киселева С.В. Микроводоросль спироулина как объект биотехнологии // Биология. — М.: Изд. дом «Первое сентября», 2006. — № 13. — С.12-14.

16 Microalgal Production for Biomass and High-Value Products / ed. by Stephen P. Slocombe, John R. Benemann. — [Boca Raton]: CRC Press, 2016. —364 p.: il. — ISBN: 978-1-4822-1970-8.

17 Apt, K.E., and Behrens, P.W. (1999). Commercial developments in microalgal biotechnology. *Journal of Phycology*, 35, 215-226

18 Becker, E.W. (1994). *Microalgae: biotechnology and microbiology*. Cambridge University Press.

19 Prakash, J.W., Antonisamy, M., Jeeva, J.W.S. 2011. Antimicrobial activity of certain fresh water microalgae from Thamirabarani River, Tamil Nadu, South India. *Asian Pacific. J.Trop. Biomed.*, 170-173.

20 Mayer, A.M.S., Hamann, M.J. 2005. Marine Pharmacology. In : Marine compounds with anithelmintic, antibacterial, anticoagulant, antidiabetic, antifungal, antiinflammatory antimalarial, antiplatelet, antiprotozoal antituberculosis and antiviral activities, affecting the cardiovascular, immune and nervous systems and other miscellaneous mechanisms of action. *Comp Biochem.Phys.*, 140C: 265-286.

21 Gul, W., Hamann, M.J. 2005. Indole alkaloid marine natural products: An established source of cancer drug leads with considerable promise for the control of parasitic, neurological and other diseases. *Life Sci.*, 78: 442-453.

22 Mandal, B., P. L. G. Vlek and L. N. Mandal. 1999. Beneficial effect of blue green algae and Azolla excluding supplying nitrogen, on wetland rice fields: A review. *Biol. Fertil. Soils* 28: 329-342

23 Shaaban, M. M. (2001). Green microalgae water extract as foliar feeding to wheat plants. *Pakistan Journal of Biological Sciences* 4(6): 628-632

24 Abd El Moniem, E. A. and Abd-Allah A. S. E. (2008). Effect of green algae cells extract as foliar spray on vegetative growth, yield and berries quality of superior grapevines. *J. Amer. Eur. Agric. And Environ. Sci.*, 4 (4), 427-433.

25 Павлюшин В.А., Новикова Н.Н., Бойкова И.В. и др «Новые препараты для комплексной защиты растений от болезней разной этиологии», Доклады Российской Академии сельскохозяйственных наук, 2004, №6, стр. 17-21

26 Leslie J. F., Summerell B. A. *The Fusarium Laboratory Manual*. — Oxford, 2006. — P. 250—254. — ISBN 0-8138-1919-9.

27 Жуков А. М., Гниненко Ю. И., Жуков П. Д. Опасные малоизученные болезни хвойных пород в лесах России: изд. 2-е, испр. и доп.. — Пушкино: ВНИИЛМ, 2013. — 128 с. — ISBN 978-5-94219-187-0.

28 Партоев К., Наимов А. С., Меликов К. Фитофтороз картофеля в условиях Республики Таджикистан // Защита картофеля. — 2015. — № 2. — С. 29-31

29 Couso, I., Vila, M., Vigar, J., Cordero, B.F., Vargas, M.A., Rodriguez, H. & Leon, R. (2012). Synthesis of carotenoids and regulation of the carotenoid

biosynthesis pathway in response to high light stress in the unicellular microalga *Chlamydomonas reinhardtii*. *European Journal of Phycology* 47(3): 223-232

30 Hiramatsu, T., Nakamura, S., Misumi, O. & Kuroiwa, T. (2006). Morphological changes in mitochondrial and chloroplast nucleoids and mitochondria during the *Chlamydomonas reinhardtii* (Chlorophyceae) cell cycle. *Journal of Phycology* 42: 1048-1058.

31 Moharikar, S., D'Souza, J.S., Kulkarni, A.B. & Rao, B.J. (2006). Apoptotic-like cell death pathway is induced in unicellular chlorophyte *Chlamydomonas reinhardtii* (Chlorophyceae) cells following UV irradiation: detection and functional analyses. *Journal of Phycology* 42: 423-433.

32 Chalifour, A., Arts, M.T., Kainz, M.J. & Juneau, P. (2014). Combined effect of temperature and bleaching herbicide on photosynthesis, pigment and fatty acid composition of *Chlamydomonas reinhardtii*. *European Journal of Phycology* 49(4): 508-515.

33 Asamizu, E., Nakamura, Y., Miura, K., Fukuzawa, H., Fujiwara, S., Hirono, M., Iwamoto, K., Matsuda, Y., Minagawa, J., Shimogawara, K., Takahashi, Y. & Tabata, S. (2004). Establishment of publicly available cDNA material and information resource of *Chlamydomonas reinhardtii* (Chlorophyta) to facilitate gene function analysis. *Phycologia* 43: 722-726.

34 Aoyama, H., Kuroiwa, T. & Nakamura, S. (2013). Chronological transition of mitochondrial morphology in *Chlamydomonas reinhardtii* (Chlorophyceae) poststationary phase growth. *Journal of Phycology* 49(2): 340-348.

Краткий отчет



Университет:	Satbayev University
Название:	Ауыл шаруашылығында өсімдіктерді қорғау үшін биофунгицидтік препараттың тауарлық формасын әзірлеу
Автор:	Әбубәкір Балайым Ерболқызы
Координатор:	Даурен Ботбаев
Дата отчета:	2019-05-06 05:23:00
Коэффициент подобия № 1: ?	7,5%
Коэффициент подобия № 2: ?	2,2%
Длина фразы для коэффициента подобия № 2: ?	25
Количество слов:	5 177
Число знаков:	41 176
Адреса пропущенные при проверке:	
Количество завершенных проверок: ?	21



К вашему сведению, некоторые слова в этом документе содержат буквы из других алфавитов. Возможно - это попытка скрыть позаимствованный текст. Документ был проверен путем замещения этих букв латинским эквивалентом. Пожалуйста, уделите особое внимание этим частям отчета. Они выделены соответственно.
Количество выделенных слов 5