

УДК 631.461(477.63)

К. В. Лаврентьєва, Н. В. Черевач, Ю. В. Железняк, А. І. Вінніков
Дніпропетровський національний університет

ВИДІЛЕННЯ ТА ВИВЧЕННЯ ВЛАСТИВОСТЕЙ ГРУНТОВИХ ШТАМІВ ФОСФАТМОБІЛІЗУЮЧИХ БАКТЕРІЙ, ДОСЛІДЖЕННЯ ЇХ ВПЛИВУ НА РОЗВИТОК РОСЛИН ЯЧМЕНЮ

Проведено виділення та вивчення властивостей ґрунтових штамів фосфатмобілізуючих бактерій. З метою підвищення фосфатмобілізуючої активності здійснено мутагенез шляхом УФ-опромінення батьківського штаму *Cellulomonas* sp.3 та отримано більш активні його варіанти. Досліджено вплив цих варіантів на розвиток рослин при постановці мікрорегетаційних дослідів на ячмені.

Isolation and studing characteristics of soil phosphate-solubilizing bacteria strains were released. In order to increase phosphate-solubilizing activity the mutagenesis of initial strain *Cellulomonas* sp.3 was released by means of UV-irradiation. The effect of these variants on the barley growth promotion was investigated in the microcosms.

Основним завданням землеробства є отримання високоякісної екологічно чистої продукції рослинництва. Одним із найбільш ефективних засобів його вирішення є застосування біодобрив. З екологічної точки зору біодобрива мають безперечну перевагу над хімічними препаратами, оскільки останні призводять до забруднення агробіоценозів, негативно впливають на здоров'я людей і тварин, є факторами штучного добору стійких популяцій фітопатогенів тощо. З економічної точки зору бактеріальні добрива більш перспективні, оскільки відносно прості у виробництві в порівнянні з мінеральними і можуть вироблятися в умовах невеликих біолабораторій та малотонажних підприємств, що неможливо при виробництві мінеральних добрив. Крім того, висока активність мікроорганізмів, які входять до складу біопрепаратів, призводить до значного підвищення вмісту вільних мікро- та макро- елементів у ґрунті, що в свою чергу дозволяє зменшити кількість внесення мінеральних добрив. При цьому витрати бактеріальних препаратів є мінімальними. Бактеріальні добрива значно підвищують врожайність сільськогосподарських культур і покращують якість продукції.

Проблема фосфорного живлення рослин завжди гостро стояла в сільськогосподарському виробництві. Фосфор інтенсивно й міцно зв'язується в ґрунті і таким чином стає недоступним рослинам, а рудні запаси цього елементу обмежені [5]. Виходячи з цього, розробка агроприйомів, сприяючих мобілізації важкорозчинних фосфатів, особливо актуальна. Тому створення бактеріальних добрив на основі фосфатмобілізуючих мікроорганізмів є перспективним напрямком біотехнологічного виробництва.

Мета роботи полягала у виділенні та вивченні властивостей фосфатмобілізуючих бактерій для створення біопрепарату, який би поліпшував фосфорне живлення рослин та прискорював їх розвиток.

Для виділення із зразків ґрунту мікроорганізмів, що мінералізують органічні фосфати, використовували агаризоване середовище Менкінної з гліцерофосфатом кальцію [7]. Штами фосфатмобілізуючих бактерій відбирали за наявності утворення зон розчинення гліцерофосфату кальцію і досліджували морфологічні, культуральні та фізіолого-біохімічні властивості. Ідентифікацію здійснювали відповідно

до 9 видання Визначника бактерій Берджи та скороченого варіанту 8 видання цього Визначника [2].

Щоб оцінити здатність виділених культур переводити нерозчинні сполуки фосфору в розчинений стан, використовували колориметричний метод Фіске–Субароу [8]. Концентрацію фосфат-іонів у культуральній рідині штамів визначали через три доби при глибинному культивуванні на шутелі (200 об/хв). Для підвищення фосфат-мобілізуючої активності культур проводили селекцію з використанням УФ-опромінення [4]. Для подальших дослідів відбирали варіанти, що виростили за умов експозиції, при якій виживання клітин після опромінення складало від 0,1 до 1%. З метою дослідження впливу найактивніших штамів фосфатмобілізуючих бактерій на розвиток рослин проводили мікровегетатійні досліди на ячмені в двох варіантах: обробляли насіння бактеріями та вносили в ґрунт суспензії бактерій в концентраціях 1%, 5%, 10%, 20%, 30% [1]. Досліди здійснювали в трьох повторностях. Результати враховували через 5 діб і обробляли статистично [3].

У результаті проведеної роботи виділено 9 штамів фосфатмобілізуючих бактерій, три з яких віднесено до групи G_r^+ коків родів *Staphylococcus* та *Micrococcus*, а шість – до групи G_r^+ неспороутворюючих паличок неправильної форми родів *Pimelobacter*, *Propionibacterium* та *Cellulomonas*.

При культивуванні в рідкому середовищі з гліцерофосфатом виділені штами накопичували від 11,8 до 100,76 мкг/мл PO_4^{3-} (табл.1).

Таблиця 1

Накопичення фосфат-іонів виділеними штамами фосфатмобілізуючих бактерій на рідкому середовищі з гліцерофосфатом

Штами	Середня концентрація PO_4^{3-} в культуральній рідині, C_{cp} , мкг/мл
<i>Pimelobacter sp.</i>	55,666 ± 3,884
<i>Cellulomonas sp.1</i>	93,083 ± 2,898
<i>Cellulomonas sp.2</i>	40,166 ± 2,759
<i>Cellulomonas sp.3</i>	100,766 ± 4,443
<i>Propionibacterium sp.1</i>	38,066 ± 4,08
<i>Propionibacterium sp.2</i>	62,766 ± 4,972
<i>Staphylococcus sp.1</i>	15,433 ± 3,286
<i>Staphylococcus sp.2</i>	14,65 ± 2,673
<i>Micrococcus sp.</i>	11,81 ± 1,713

Найменшу активність проявляли кокові форми. Для цих культур концентрація фосфат-іонів не перевищувала 15,5 мкг/мл. Найбільш активними були два штами бактерій р. *Cellulomonas*: *Cellulomonas sp.3*, *Cellulomonas sp.1* та один штам роду *Propionibacterium* – *Propionibacterium sp.2*.

Порівняння отриманих нами результатів з даними інших авторів показало, що фосфатмобілізуюча активність виділених штамів значно перевищує активність G_r^- фосфатмобілізуючих бактерій р. *Enterobacter* та р. *Erwinia* [9]. Що стосується бактерій р. *Bacillus*, які використовуються для виготовлення біопрепаратів [7], то здатність до мобілізації органічних фосфатів нашими штамами була дещо нижчою. Тому наступним етапом стало проведення селекційної роботи.

Для підвищення фосфатмобілізуючої активності найбільш активний штам *Cellulomonas sp.3* опромінювали ультрафіолетом, поступово збільшуючи експозицію. Після підрахунку кількості клітин, що вижили при різних експозиціях, і прийнявши загальну кількість клітин в контролі за 100%, побудували графік залежності виживання клітин у відсотках від експозиції опромінення (рис.1).

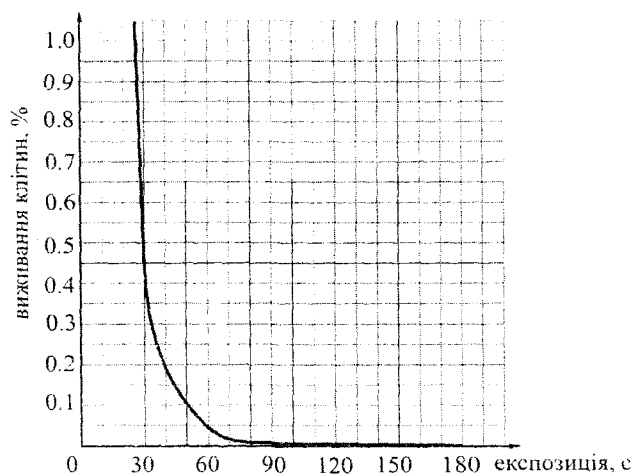


Рис. 1. Графік залежності виживання клітин у відсотках від експозиції опромінення

З графіку видно, що виживання клітин від 0,1 до 1% було зареєстровано при експозиції 30 с. Для подальших дослідів було відібрано 9 колоній з найбільшими зонами розчинення гліцерофосфату кальцію, що виростили при цій експозиції. Дослідження здатності переводити фосфор із нерозчинного стану в розчинний при культивуванні у рідкому поживному середовищі показало, що середні концентрації фосфат-іонів у культуральних рідинах опромінених штамів перевищували концентрації в культуральній рідині батьківського штаму (рис. 2).

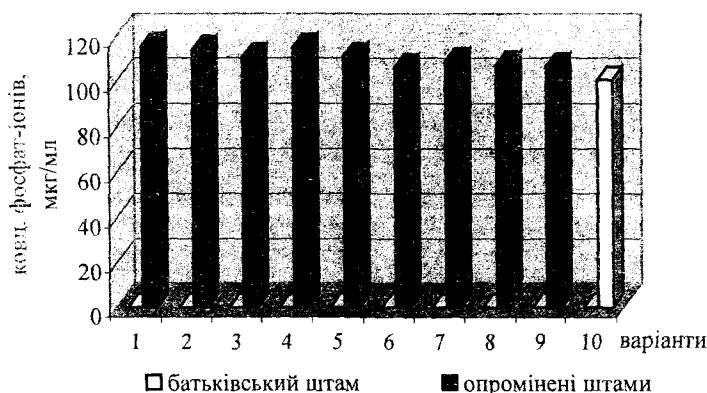
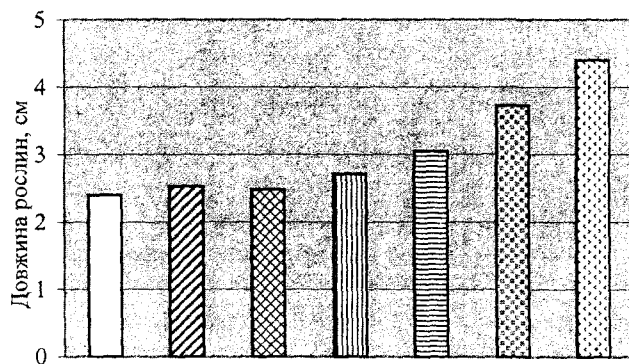


Рис. 2. Порівняльна діаграма накопичення фосфат-іонів у культуральній рідині батьківського штаму *Cellulomonas* sp.3 та опромінених його варіантів

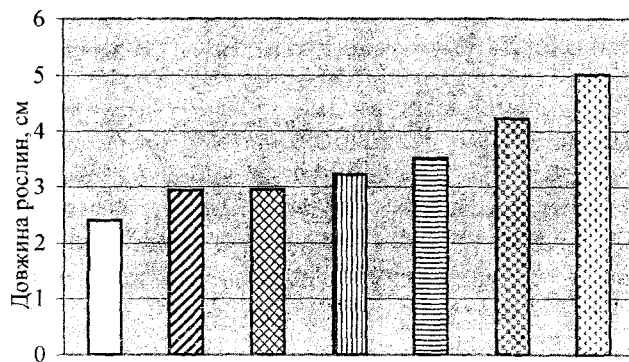
Виходячи з цього можна зробити висновок, що фосфатазна активність після опромінення підвищилась в середньому на 10%, а у варіантів 1 та 4 – на 15%.

Мікровегетатійні досліді на ячмені показали, що всі відібрані штами – *Cellulomonas* sp.3, *Cellulomonas* sp.1 і опромінений *Cellulomonas* sp.3 var.1 – значно стимулювали ріст рослин ячменю як при бактеризації насіння, так і при внесенні в ґрунт суспензій штамів, у порівнянні з контролем (рис. 3).

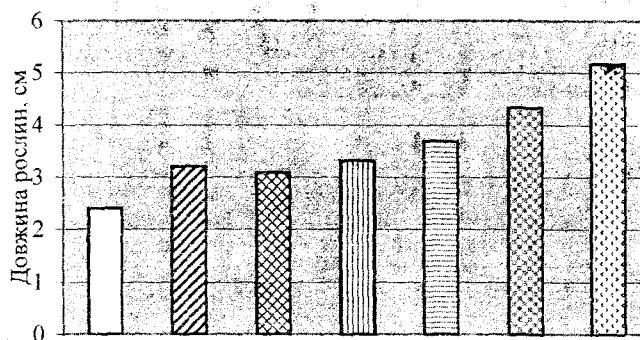
Той факт, що приріст зеленої біомаси ячменю був більшим при внесенні в ґрунт суспензій штамів фосфатомобілізуючих бактерій, ніж при бактеризації насіння, можна пояснити короткочасністю обробки насіння при бактеризації.



Cellulomonas sp.1



Cellulomonas sp.3



- внесення в ґрунт 30% суспензії штаму
- ▨ внесення в ґрунт 20% суспензії штаму
- ▩ внесення в ґрунт 10% суспензії штаму
- ▤ внесення в ґрунт 5% суспензії штаму
- ▥ внесення в ґрунт 1% суспензії штаму
- ▧ бактеризація насіння
- контроль

Cellulomonas sp.3 var.1

Рис. 3. Вплив фосфатмобілізуючих бактерій на формування проростків ячменю

Таким чином, отримані результати свідчать про перспективність використання виділених штамів фосфатмобілізуючих бактерій в сільському господарстві для створення біодобрив та препаратів комплексної дії.

Бібліографічні посилання

1. Андреюк Е. И. Биоторфяное удобрение – новый комплексный бактериальный препарат / Е. И. Андреюк, А. Ф. Антипчук, В. Н. Рангелова, Е. В. Танщоренко // Микробиологический журнал. – 1999. – Т. 61, № 2. – С. 45–52.
2. Краткий определитель бактерий Берги. – М.: Мир, 1980.
3. Лакин Г. Ф. Биометрия. – М.: Высшая школа, 1980.
4. Миллер Д. Эксперименты в молекулярной генетике. – М.: Мир, 1976. – С. 112–115.
5. Муромцев Г. С. Роль почвенных микроорганизмов в фосфорном питании растений / Г. С. Муромцев, Г. Н. Маршунова, В. Ф. Павлова, Н. В. Зольникова // Успехи микробиологии. – 1985. – Т. 20. – С. 174–198.
6. Определитель бактерий Берджи. – М.: Мир, 1997. – Т. 2.
7. Рой А. А. Новые штаммы бацилл, минерализующие органические соединения фосфора / А. А. Рой, Л. В. Булавенко, И. К. Курдиш // Микробиологический журнал. – 2001. – Т. 63, № 4. – С. 9–14.
8. Унифицированные методы анализа вод / Под ред. Ю. Ю. Лурье. – М.: Химия, 1971.
9. Zhao X. The solubilization of four insoluble phosphates by some microorganisms / X. Zhao, Q. Lin, B. Li // Wei Sheng Wu Xue Bao. – 2002. – Vol. 42. – Issue 2. – P. 56–60.

Надійшла до редколегії 24.01.05

УДК: 636.5.082:631.57

Е. А. Лосева, Л. М. Степченко

Днепропетровский государственный аграрный университет

КОРРЕКЦИЯ ОБМЕНА ВЕЩЕСТВ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ БАВ ДЛЯ КУР-НЕСУШЕК

Викладено результати досліджень по використанню гідрогумата в годівлі курей-несучок кросу «Ломанн Браун» у другій фазі яйценосності. Встановлено вплив оптимальних доз гідрогумату на рівень показників обміну білків, а також продуктивні якості курей-несучок.

This paper presents the results of investigations from the application of hydrohumate as an additive to poor-quality rations for laying hens of Lohmann Broun cross in their 2nd phase of egg laying. Effect of optimal doses hydrohumate on the level of protein metabolism and productive qualities of laying hens was established.

Введение

Центральное положение в обмене веществ животных занимают белки. Это обусловлено, в первую очередь, их структурой и функциями, в т. ч. Каталитическими [4]. С обменом белков тесно связана яичная и мясная продуктивность птицы вследствие высокого их накопления в яйцах и мышцах. В свою очередь уровень яйценоскости является интегральным показателем всех гомеостатических свойств организма кур.

© Лосева Е. А., Степченко Л. М., 2005

Вісник Дніпропетровського університету. Біологія, екологія.
Visnik Dnipropetrovsk'skogo universitetu. Seriâ Biologiâ, ekologiâ
Visnyk of Dnipropetrovsk University. Biology, ecology.
Visn. Dnipropetr. Univ. Ser. Biol. Ekol.
2005. 13(1).

ISSN 2310-0842 print ISSN 2312-301X online
www.ecology.dp.ua