

ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ РЫБОВОДСТВА

УДК: 639.311:631.8:579.68

МИКРОБНЫЕ ПРЕПАРАТЫ КАК СРЕДСТВО ИНТЕНСИФИКАЦИИ ПРУДОВОГО РЫБОВОДСТВА

Г.П. ВОРОНОВА¹, О.М. ТАВРЫКИНА¹, З.М. АЛЕЩЕНКОВА²,
Г.В. САФРОНОВА², О.Н. МАРЦУЛЬ¹, С.И. РАКАЧ¹.

1. РУП «Институт рыбного хозяйства», г. Минск, Беларусь, belniirh@tut.by

2. Институт микробиологии НАН Беларуси, г. Минск, Беларусь, microbio@mbio.bas-net.by

MICROBAL PREPARATION AS A MEANS OF INTENSIFYING POND FISH CULTURE

G. VORONOVA¹, O. TAVRYKINA¹, Z. ALESCHENKOVA²,
G. SAFRONOVA², O. MARTSUL¹, S. RAKACH¹.

1. RUE "Fish Industry Institute", Minsk, Belarus, belniirh@tut.by

*2. Institute of Microbiology of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus,
microbio@mbio.bas-net.by*

Аннотация. В модельных опытах выявлен наиболее эффективно действующий комплексный микробный консорциум, разработанный на основе трех наиболее активных штаммов азотфиксирующих и фосфатмобилизирующих бактерий из *p. Pseudomonas*, выделенных из воды и грунтов рыбоводных прудов. Определены разовые нормы его внесения в рыбоводные пруды.

Ключевые слова: модельные опыты, микробные консорциумы, азотфиксирующие и фосфатмобилизирующие штаммы бактерий, рыбоводные пруды.

Summary. The most effective complex microbial consortium, developed on the basis of the 3 most active strains of nitrogen-fixing and phosphate-mobilizing bacteria from *p. Pseudomonas*, isolated from the water and soil of fish ponds was found in model experiments. Single norms of microbial consortium for introducing it into fish ponds were determined.

Keywords: model experiments, microbial consortium, nitrogen fixing and phosphate-mobilizing strains of bacteria, fish ponds.

Введение. Удобрение является одним из основных средств интенсификации прудового рыбоводства, направленное на регулирование

биологической продуктивности прудов [1]. В тоже время, минеральные удобрения используются в прудах не эффективно: 60-68% фосфора, вносимого с удобрениями, поглощается дном, а 72% азота фиксируется прудовой водой и теряется во время облова, и только 20% от вносимого в пруды фосфора и азота усваивается в рыбной продукции [2,3].

В условиях высокой стоимости минеральных удобрений актуальным является разработка новых средств повышения продуктивности прудов с учетом их экономической и экологической целесообразности [4]. Перспективным является использование экологически безопасных бактериальных препаратов, созданных на основе природных штаммов азотфиксирующих и фосформобилизирующих бактерий.

Целью работы было выявить наиболее эффективно действующий комплексный микробный консорциум и нормы его внесения в пруды.

Материалы и методы исследований. В экспериментальных условиях изучали активность четырех комплексных консорциумов, сформированных на основе наиболее активных фосформобилизирующих и азотфиксирующих штаммов из рода *Pseudomonas* и *Shingobium*, выделенных из воды и грунтов рыбоводных прудов. Биологическую активность консорциумов и нормы их внесения обрабатывали в микрокосмах (грунт-вода) при концентрации препаратов от 0,05 до 0,2 мкл/л. Опыты проводили на отстоянной водопроводной воде, обогащенной водорослями и минеральными формами азота и фосфора (до 0,5-0,8 мгN/л и 0,05-0,08 мгP/л), и на прудовой воде. Контролем служили опыты с удобрением минеральными соединениями азота и фосфора, и без них.

Объем рабочей емкости сосудов составлял 5 л, продолжительность опытов 19-25 суток. Температура воды в опытах не превышала $20 \pm 1^\circ\text{C}$. Всего было поставлено 9 опытов (20 вариантов), каждый вариант был в двукратной повторности. Содержание в воде минеральных форм азота (нитратный, аммонийный), общего и минерального фосфора, кислорода, pH определяли раз в 5 суток по общепринятым в гидрохимии методикам [1]. Изучали биологическую активность консорциумов:

– №1, состоящего из трех штаммов: *Shingobium xenophagum* БИМ В-1101Д (азотфиксирующий штамм) + *Pseudomonas sp.* БИМ-1102Д (фосформобилизирующий штамм) + *Pseudomonas sp.* БИМ В-1103Д (фосформобилизирующий штамм), с общим титром жизнеспособных клеток - $2,5 \cdot 10^9$ КОЕ/мл;

– №2, состоящего из 2-х штаммов: азотфиксирующего *Pseudomonas sp.* БИМ-1104Д + фосформобилизирующего штамма *Pseudomonas sp.* БИМ-1103Д, с общим титром жизнеспособных клеток - $2,3 \cdot 10^9$ КОЕ/мл;

– №3, состоящего из 2-х штаммов: азотфиксирующего *Shingobium xenophagum* БИМ В-1101Д + фосформобилизующего штамма *Pseudomonas sp.* БИМ-1103Д, с общим титром жизнеспособных клеток - $1,7 \cdot 10^9$ КОЕ/мл;

– №4, представляющего собой модификацию консорциума №2, усиленного фосформобилизующим штаммом *Pseudomonas sp.* БИМ В-485Д, выделенным из грунтов водоема, с общим титром жизнеспособных клеток $1,5 \cdot 10^9$ КОЕ/мл.

Обсуждение результатов исследований. Проведенные исследования показали, что среди изученных микробных консорциумов наиболее интенсивно процессы азотфиксации протекали при использовании микробного препарата №2 (таблица 1, опыт 2, вариант 5-7). Его применение в микрокосмах совместно с ограниченным количеством азотно-фосфорных удобрений (70% нормы) приводило к увеличению минерального азота по отношению к контролю с удобрениями на 13-25%, а по отношению к контролю, где удобрения не использовали, на 54-58%. При этом наиболее эффективно процессы азотфиксации проходили при применении микробного препарата в концентрации 0,05 мкл/л (табл. 1, вариант 7).

Таблица 1. – Содержание минеральных форм азота и фосфора в воде модельных опытов при применении комплексных микробных консорциумов (средние данные за 25 суток), 2017 г.

Опыт	Вариант	Препарат	Концентрация препарата, мкл/л	Общий азот, мг N/л	%к контролю1	% к контролю2	Общий фосфор, мг P/л	%к контролю1	% к контролю2	Минеральный фосфор, мгP/л	%к контролю1	% к контролю2
1	1	1	0,2	1,25	125	171	0,32	84	200	0,09	69	150
	2		0,1	0,97	97	132	0,35	92	219	0,10	77	167
	3		0,05	1,06	106	145	0,36	95	205	0,04	30	67
	4*		0,2	0,82	82	112	0,11	29	69	0,03	23	50
2	5	2	0,2	1,15	115	158	0,33	87	206	0,04	31	66
	6		0,1	1,13	113	154	0,34	89	212	0,10	77	166
	7		0,05	1,25	125	171	0,34	89	212	0,12	92	200
	8*		0,2	1,00	100	137	0,11	29	69	0,05	38	83
3	9	3	0,2	1,09	109	149	0,26	68	162	0,07	54	117
	10		0,1	0,92	92	126	0,36	95	225	0,09	69	150
	11		0,05	1,05	105	144	0,34	89	212	0,12	92	200
	12*		0,2	0,75	75	102	0,11	29	69	0,04	67	66
4 K1	13	-		1,00	100	-	0,38	100	-	0,13	100	-
5 K2	14	-		0,73		100	0,16	-	100	0,06	-	100

Примечание: K1- контроль с NP, K2 -контроль без NP, варианты 1,2,3,5,6,7,9,10,11 с применением азотно-фосфорных удобрений (70% нормы), варианты 4,8,12,14 - без удобрений.

Применение бактериального консорциума №2 без использования минеральных удобрений увеличивало концентрацию азота в воде по сравнению с контролем без удобрений на 37% (табл. 1, вариант 8). Наиболее интенсивно процессы азотфиксации проходили в первые 6 суток. Снижение процессов азотфиксации наблюдалось на 7-14 сутки, что, по-видимому, связано с расходом в водной среде фосфатов, необходимых для жизнедеятельности азотфиксирующих бактерий.

В то же время анализ фосфатмобилизующей активности изученных консорциумов по отношению к контролю, где применяли азотно-фосфорные удобрения, показал снижение общего фосфора в среднем на 5-16%, а минерального на 8-70% (табл. 1). При этом наименьшее падение концентрации фосфатов в опытной воде (на 8%) по отношению к контролю с удобрениями наблюдалось при использовании бактериальных консорциумов №2 и №3, в концентрации 0,05 мкл/л, содержащих один и тот же фосфатмобилизующий штамм бактерий *Pseudomonas sp.* БИМ В-1103Д, (табл. 1, опыт 2,3; варианты 7,11). В этом случае разница в содержании фосфатов в воде опытов и контроле находилось в пределах точности метода определения фосфатов (5-10%). Анализ динамики общего и минерального фосфора в течение опыта на примере применения комплексного микробного консорциума №2 показал, что наибольшее содержание общего и минерального фосфора в воде отмечалось в первые 6 суток опыта. Отмеченное снижение фосфатов в водной среде в последующий период опыта, возможно, было вызвано как слабой обеспеченностью воды органическим веществом, так и значительной конкуренцией за фосфаты между фосфатмобилизующими и азотфиксирующими штаммами бактерий входящих в консорциумы. В связи с чем нами дополнительно были проведены исследования с микробным консорциумом №2, обогащенным 0,03% полифунгуром, полученным путем аэробного ферментирования подстилочного куриного помета, с общим титром жизнеспособных клеток $1,1 \cdot 10^9$ КОЕ/мл и с трехкомпонентным микробным консорциумом №4, представляющим модификацию консорциума №2, дополнительно усиленного фосформобилизующим штаммом *Pseudomonas sp.* БИМ В-485Д, выделенным из грунтов водоема, с общим титром жизнеспособных клеток $1,5 \cdot 10^9$ КОЕ/мл. Исследования показали, что наибольшим фосформобилизующим эффектом обладал консорциум №4. Применение его в микрокосмах в концентрации 0,05-0,1 мкл/л увеличивало в среднем содержание фосфатов в воде по сравнению с контролем, где

использовали минеральные удобрения в среднем в 1,3-2,0 раза (с 0,025 до 0,032-0,050 мгР/л) (табл. 2). При этом максимальное увеличение фосфатов наблюдалось при использовании препарата в концентрации 0,1 мкл/л на 9 сутки опыта (до 0,15 мг Р/л) (рис.1). Фосформобилизующая активность обогащенного полифунктуром консорциума №2 была несколько ниже. Применение его в микрокосмах увеличивало содержание фосфатов в воде в среднем в 1,1-1,3 раза. При этом наибольшая концентрация фосфатов (до 0,051-0,055 мг Р/л) наблюдалась на 5 сутки опыта (рис. 1). Последующее снижение фосфатов в опыте до 0,018-0,009 мг Р/л, по-видимому, было вызвано не только потреблением биогенов гидробионтами, но и слабой обеспеченностью микробного препарата органическим веществом полифунктура (рис. 1).

Таблица 2. – Содержание минеральных форм фосфора и азота при применении комплексных микробных консорциумов в прудовой воде модельных опытов (средние данные за 19 суток), 2017 г.

Опыт	Вариант	Препарат	Концентрация препарата (С), мкл/л	Общий азот, мгN/л	% к К1	% к К2	Общий фосфор, мгР/л	% к К1	% к К2	Минеральный фосфор, мгР/л	% к К1	% к К2
1	1	2*	0,05	1,33	75	82	0,302	106	343	0,027	108	142
	2		0,1	1,68	94	103	0,275	96	312	0,033	132	174
2	3	4	0,05	1,76	99	108	0,318	112	361	0,032	128	168
	4		0,1	1,83	103	112	0,304	107	345	0,050	200	263
3 К1	5	-	-	1,78	100	-	0,285	100	-	0,025	100	-
4 К2	6	-	-	1,63	-	100	0,088	-	100	0,019	-	100

Примечание: К1- контроль с NP, К2 -контроль без NP, * комплексный консорциум №2, обогащенный 0,03% полифунктуром.

Изучение азотфиксации консорциумом №2 и №4 показало, что, несмотря на то, что общий уровень минерального азота в опытной воде при применении бактериального препарата №4 был значительно выше, чем в предыдущих опытах, азотфиксирующая активность их была ниже, что, по-видимому, связано с более высокой обеспеченностью прудовой воды минеральными формами

азота (табл.2). Последнее позволяет говорить о возможности саморегуляции процессов фиксации атмосферного азота микробными консорциумами в зависимости от уровня концентрации минерального азота в водной среде. С увеличением содержания минерального азота в воде свыше 1,0 мг/л интенсивность фиксации азота снижалась.

Применение комплексных микробных консорциумов в концентрации от 0,05 до 0,2 мкл/л не оказывало отрицательного влияния на основные элементы газового режима в модельных опытах. Содержание растворенного в воде кислорода в опытах было на уровне 5,9-7,8 мг/л, рН в пределах 7,8-8,6 ед., в среднем за период исследований составив 6,4-7,4 мг O₂/л и 8,0-8,4 ед., соответственно.

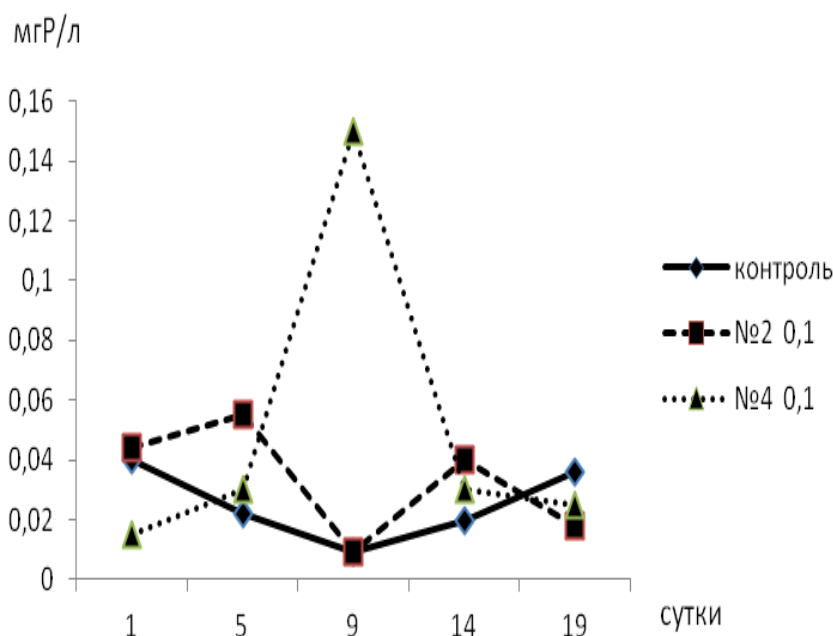


Рисунок 1. – Динамика фосфатов в опытной воде при использовании препарата №2, обогащенного полифунгуром и трехкомпонентного препарата №4

Заключение

Выявлен наиболее эффективно действующий азотфиксирующий и фосфатмобилизующий микробный консорциум, состоящий из 3 штаммов бактерий из *p. Pseudomonas*. Применение его в концентрации 0,05-0,1 мкл/л способствовало увеличению в воде фосфатов в среднем на 28%, общего азота на 3%. Отмечена возможность саморегуляции процессов фиксации атмосферного азота микробным консорциумом в зависимости от концентрации минерального азота в водной среде. Определены разовые нормы внесения микробного консорциума в рыбоводные пруды, которые составили от 0,5 до 1,0 л/га.

Список использованных источников

1. Винберг, Г. Г. Удобрение прудов / Г. Г. Винберг, В. П. Ляхнович. – М. : Пищевая пром-сть, 1965. – 271 с.
2. Фельдман, М. Б. Разработка і обґрунтування раціонального методу внесення у ставі мінеральних добрив / М. Б. Фельдман, В. С. Присяний, А. В. Суховіі // Наук. пр. / Укр. наук.-дослід. ін-т риб. госп-ва. – Київ, 1962. – Вип. 14. – С. 59–70.
3. Астапович, И. Т. Роль грунта при минеральном удобрении рыбоводных прудов / И. Т. Астапович, Л. А. Марцинкевич // Вопросы рыбного хозяйства Белоруссии : [сб. ст.] / Белорус. науч.-исслед. ин-т рыб. хоз-ва. – Минск, 1970. – Т. 7. – С. 128–134.
4. Базаева, А. В. Рыбопродуктивность прудов при использовании фосформобилизирующего бактериального удобрения полимиксобактерина / А. В. Базаева, Н. И. Вовк // Аквакультура Центральной и Восточной Европы: настоящее и будущее : II съезд НАСЕЕ (Сети Центров по аквакультуре в Центр. и Вост. Европе) и семинар о роли аквакультуры в развитии села, Кишинев, 17–19 окт. 2011 г. / Акад. наук Молдовы, М-во сел. хоз-ва и пищевой пром-сти Молдовы. – Кишинев, 2011. – С. 25–28.
5. Алекин, О. А. Руководство по химическому анализу вод суши / О. А. Алекин, А. Д. Семенов, Б. А. Скопинцев ; Гл. упр. гидрометеорол. службы при Совете Министров СССР, Гидрохим. ин-т. – 3-е изд. – Л. : Гидрометеоиздат, 1973. – 265 с.