

**ВЛИЯНИЕ ИНТРОДУЦИРОВАННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ
НА ФОСФАТМОБИЛИЗУЮЩЕЕ И АЗОТФИКСИРУЮЩЕЕ
СООБЩЕСТВО ПРУДОВОЙ ВОДЫ**

Г.В. САФРОНОВА, З.М. АЛЕЩЕНКОВА, И.Н. АНАНЬЕВА,
Г.П. ВОРОНОВА*

*Институт микробиологии НАН Беларуси,
220141, Республика Беларусь, г. Минск, ул. акад. Купревича, 2,
e-mail: hsafronava@mail.ru*

**РУП «Институт рыбного хозяйства»,
220024, Республика Беларусь, г. Минск, ул. Стебенева, 22,
e-mail: belniirh@tut.by*

**INFLUENCE OF INTRODUCED MICROORGANISMS
ON PHOSPHATE-MOBILIZING AND NITROGEN -FIXING
POND WATER COMMUNITY**

H. SAFRONAVA, Z. ALESHCHENKOVA, I. ANANEVA,
G. VORONOVA*

*Institute of Microbiology, National Academy of Sciences, Belarus
2220141, Republic of Belarus, Minsk, Kuprevich str. 2,
e-mail: hsafronava@mail.ru*

*Republican Daughter Unitary Enterprise «Fish Industry Institute»
220024, Republic of Belarus, Minsk, Stebeneva str. 22,
e-mail: belniirh@tut.by*

Реферат. Интродукция наиболее эффективных фосфатмобилизующих (*Pseudomonas lini* БИМ В-485Д, изоляты 1Т, FM 1.3) и азотфиксирующих (*Rhizobium rhizogenes* БИМ В-486Д, изоляты 8АТ, 11АТ) бактерий приводит к увеличению численности фосфатсольбилизирующих и азотфиксирующих микроорганизмов в прудовой воде. Данные микроорганизмы перспективны для использования в качестве компонентов при создании микробного удобрения для рыбоводных прудов, которое позволит снизить дозы вносимых NP-удобрений, обеспечит рыбоводные пруды «биологическим» фосфором и азотом, что позволит повысить их продуктивность экологически безопасным способом.

Ключевые слова: фосфатсольбилизирующие и азотфиксирующие микроорганизмы, прудовая вода, фосфор, азот.

Abstract. The introduction of the most effective phosphate-mobilizing (*Pseudomonas lini* BIM B-485D, isolates 1T, FM 1.3) and nitrogen-fixing (*Rhizobium rhizogenes* BIM B-486D, isolates 8AT, 11AT) bacteria increases the number of phosphate-solubilizing and nitrogen-fixing microorganisms in the pond water. These microorganisms are promising for use as components of microbial fertilizers for fish ponds to reduce the dose of applied NP-fertilizers to provide fish ponds with “biological” phosphorus and nitrogen and consequently increase pond productivity in environmentally friendly manner.

Key words: phosphate-mobilizing and nitrogen –fixing microorganisms, pond water, phosphorus, nitrogen.

Введение. Производство прудовой рыбы в республике базируется на применении интенсивных технологий. Одним из основных средств интенсификации рыбоводства является использование удобрений как органического, так и минерального происхождения. Воздействуя на среду обитания рыб, удобрения создают условия, способствующие увеличению естественной кормовой базы и повышению рыбопродуктивности прудов. Однако избыточное применение как минеральных, так и органических удобрений имеет негативные последствия: зарастание прудов высшей водной растительностью, накопление в гидробионтах кадмия, нарушение экологического равновесия прудовой экосистемы, снижение содержания кислорода в воде и др.

Перспективным направлением в стимулировании развития естественной кормовой базы прудов является использование бактериальных удобрений, созданных на основе высокоэффективных природных штаммов азотфиксирующих и фосфатмобилизующих бактерий. Микробные удобрения являются альтернативой традиционным широко используемым органо-минеральным удобрениям. Обладая пролонгированным действием, они эффективно размножаются и утилизируются в экосистеме пруда, не создавая угрозы биогенного загрязнения, способствуют повышению содержания в прудовой воде биогенных элементов азота и фосфора, получению дополнительной экологически чистой рыбопродукции.

Цель работы – определить влияние интродукции фосфатмобилизующих и азотфиксирующих бактерий на плотность популяций фосфатмобилизующих и азотфиксирующих микроорганизмов прудовой воды.

Материалы и методы. *Объекты исследований:* фосфатмобилизующие бактерии (ФМБ) *P. lini* BIM B-485Д (коллекционный штамм) и выделенные из эпилимниона рыбоводных прудов изоляты 1Т, FM 1.3; азотфиксирующие бактерии (АФ-бактерии) *R. rhizogenes* BIM B-486Д (коллекционный штамм) и выделенные из эпилимниона рыбоводных прудов бактериальные изоляты 4АТ, 8АТ, 11АТ; фосфатмобилизующие и азотфиксирующие микроорганизмы прудовой воды.

Исследования проводили в модельных опытах в микрокосмах (грунт-прудовая вода). Активные азотфиксирующие и фосфатмобилизующие

бактериальные штаммы и выделенные изоляты вносили в концентрации 0,05; 0,1 и 0,2 мкл/л. Опыты проводили в микрокосмах рабочей емкостью 5 л, при температуре воды ($19,0 \pm 2,7$)°С. Продолжительность опытов составляла 20 суток. Изучаемые бактерии вносили в микрокосмы один (в 1-ый день опыта) или два раза (в 1-ый и 11-ый дни опыта). Минеральные NP-удобрения в виде растворов азотнокислого аммония (NH_4NO_3) и однозамещенного фосфорнокислого натрия ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) вносили в микрокосмы 70% от нормы (1,4 мг N/л и 0,35 мг P/л) в первый и одиннадцатый день опыта. В качестве контроля использовали прудовую воду с внесением NP-удобрений (70%), которое добавляли в те же сроки, как и бактериальные суспензии.

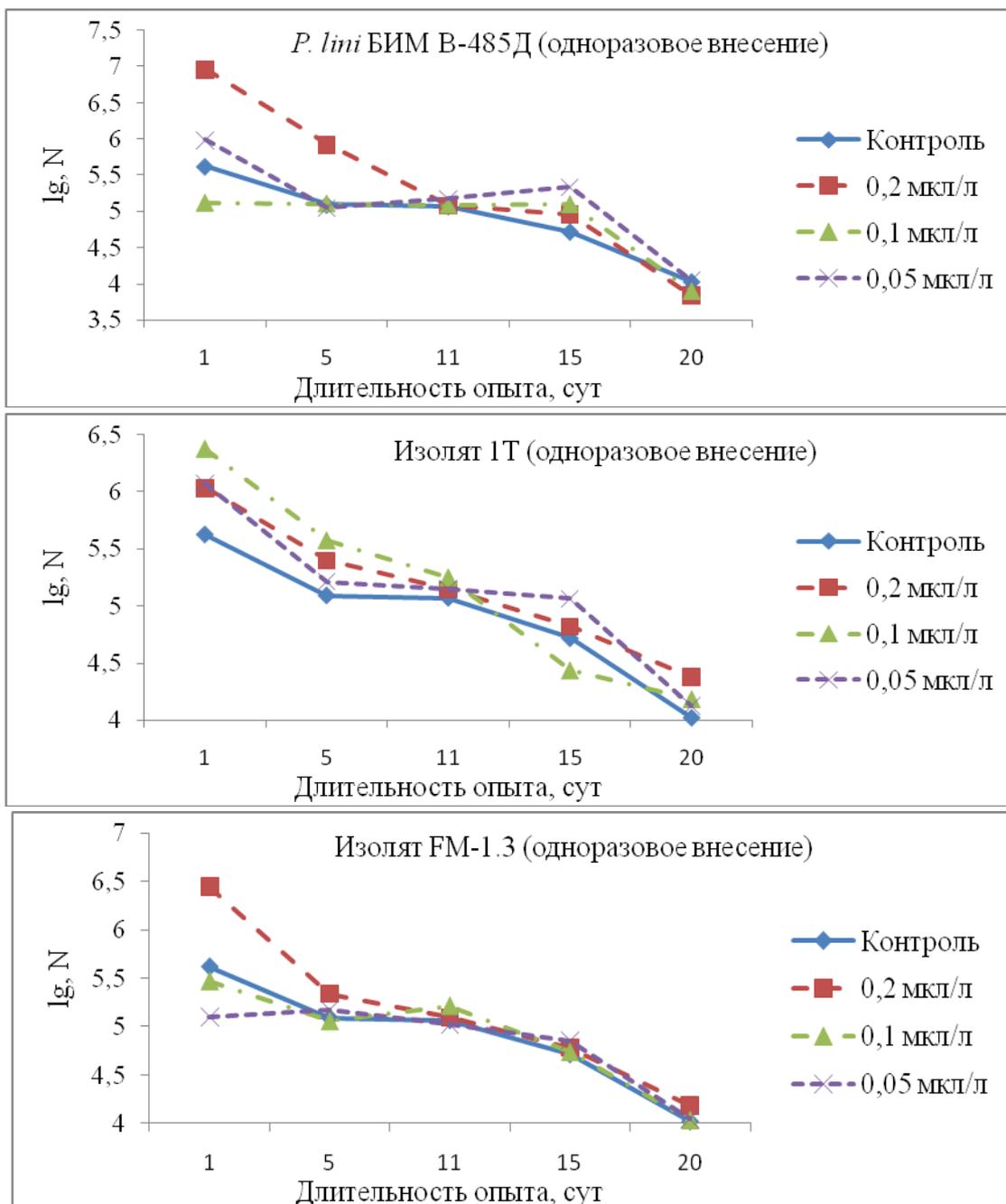
Плотность популяций «аборигенных» азотфиксирующих и фосфатмобилизирующих микроорганизмов в воде экспериментальных и производственных рыбоводных прудов определяли методом Коха [1]. Численность олигонитрофильных, в т.ч. и азотфиксирующих микроорганизмов определяли на безазотной среде Эшби [2], фосфатмобилизирующих – на глюкозо-аспарагиновой среде (среда Муромцева) [3]. Расчет количества микроорганизмов проводили на 1 мл прудовой воды.

Статистическую обработку экспериментальных данных осуществляли с помощью программы Microsoft Excel 2010 согласно общепринятым для биологических исследований методикам [4].

Результаты исследований и их обсуждение. Микробоценоз воды рыбоводных прудов формируется под влиянием микроорганизмов, попадающих из водоисточников, почвы, коммунально-бытовых и промышленных стоков, комбикормов и привносимых с гидробионтами. Из литературных данных известно, что применение фосформобилизирующего бактериального удобрения Полимиксобактерин, созданного в Украине на основе активно солубилизирующего фосфаты штамма *Paenibacillus polymyxa* КВ, увеличивает общую численность фосфатмобилизирующих бактерий в воде и донных отложениях рыбоводных прудов. Увеличение численности фосфатмобилизаторов способствует процессу мобилизации труднорастворимых фосфатов, что повышает концентрацию водорастворимого минерального фосфора необходимого биогенного элемента для полноценного развития гидробионтов [5] и рыбопродуктивность выростных прудов возрастает на 1,2 ц/га (с 16,3 до 17,5 ц/га), нагульных – на 0,5 ц/га (с 6,0 до 6,5 ц/га) [6].

Данные динамики численности фосфатмобилизирующих и азотфиксирующих микроорганизмов в воде при одноразовом внесении бактериальных штаммов и изолятов в начале эксперимента и их двухразовом внесении приведены на рисунках 1–4.

Показано, что, как одноразовое, так и двухразовое внесение суспензии исследуемых бактерий во всех изучаемых концентрациях повышает в сравнении с контролем численность микроорганизмов исследуемых эколого-трофических групп на протяжении всего эксперимента. Однако тенденция изменения численности микроорганизмов этих групп различна. Количество фосфатмобилизующих микроорганизмов в прудовой воде опытных и контрольного вариантов при одноразовом внесении всех изучаемых бактерий-фосфатмобилизаторов с 1-ых по 20-е сутки плавно снижается (рис.1).

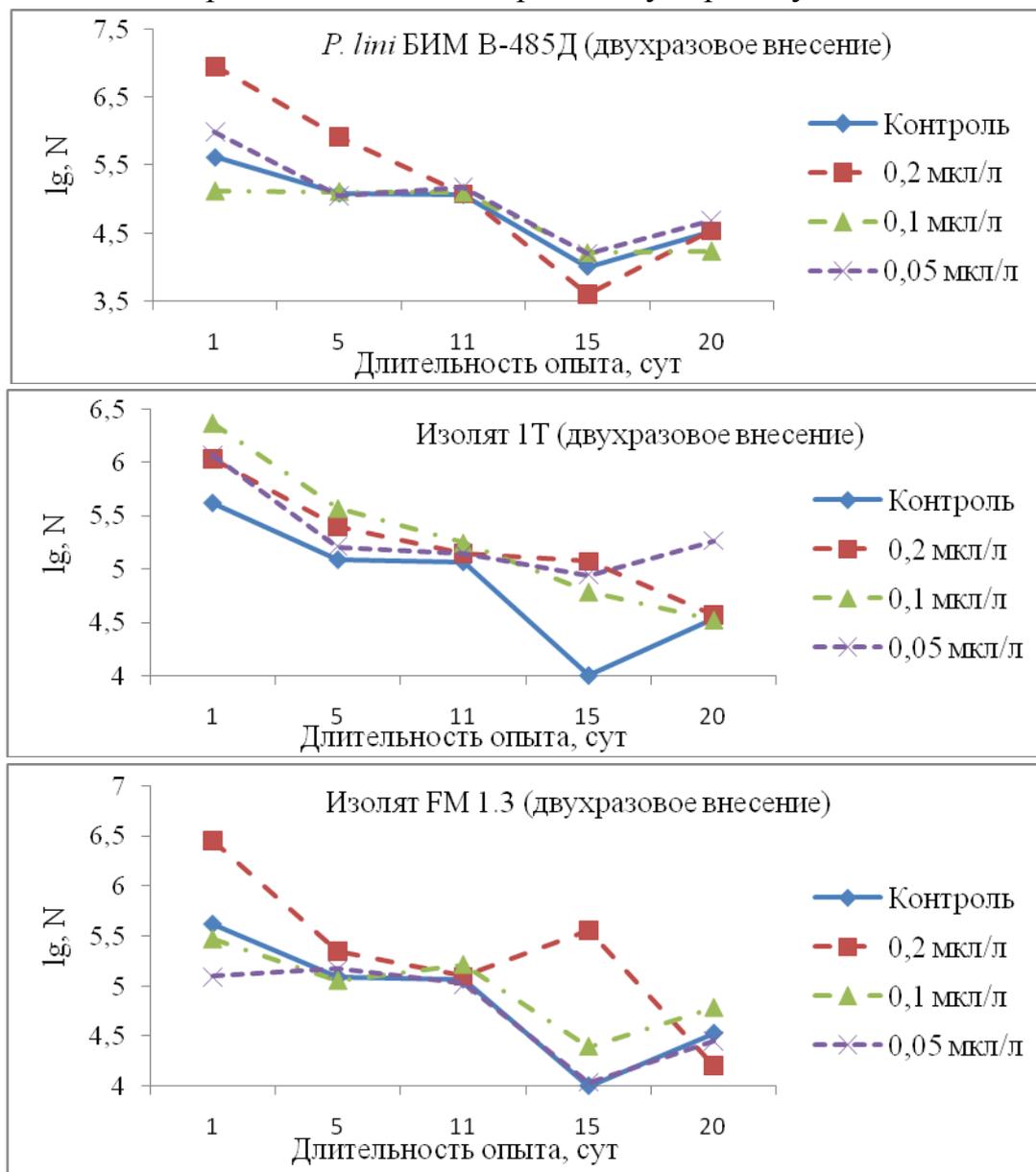


N – количество жизнеспособных бактериальных клеток

Рисунок 1. – Динамика численности фосфатмобилизующих микроорганизмов в воде модельных опытов при одноразовом внесении ФМБ

Вместе с тем, на 15-е сутки их число при внесении штамма *P. lini* БИМ В-485Д превышает значения контрольного варианта в среднем в 2,8 раза, изолята 1Т – на 33%, изолята FM 1.3 – на 21%. На 20-е сутки у штамма *P. lini* БИМ В-485Д оно было незначительно ниже контроля, у изолятов 1Т и FM 1.3 – на 67 и 18% выше контроля. При двухразовом внесении *P. lini* БИМ В-485Д и FM 1.3 отмечено снижение фосфатмобилизирующих бактерий в течение 15 суток, а затем их постепенное увеличение (рис. 2).

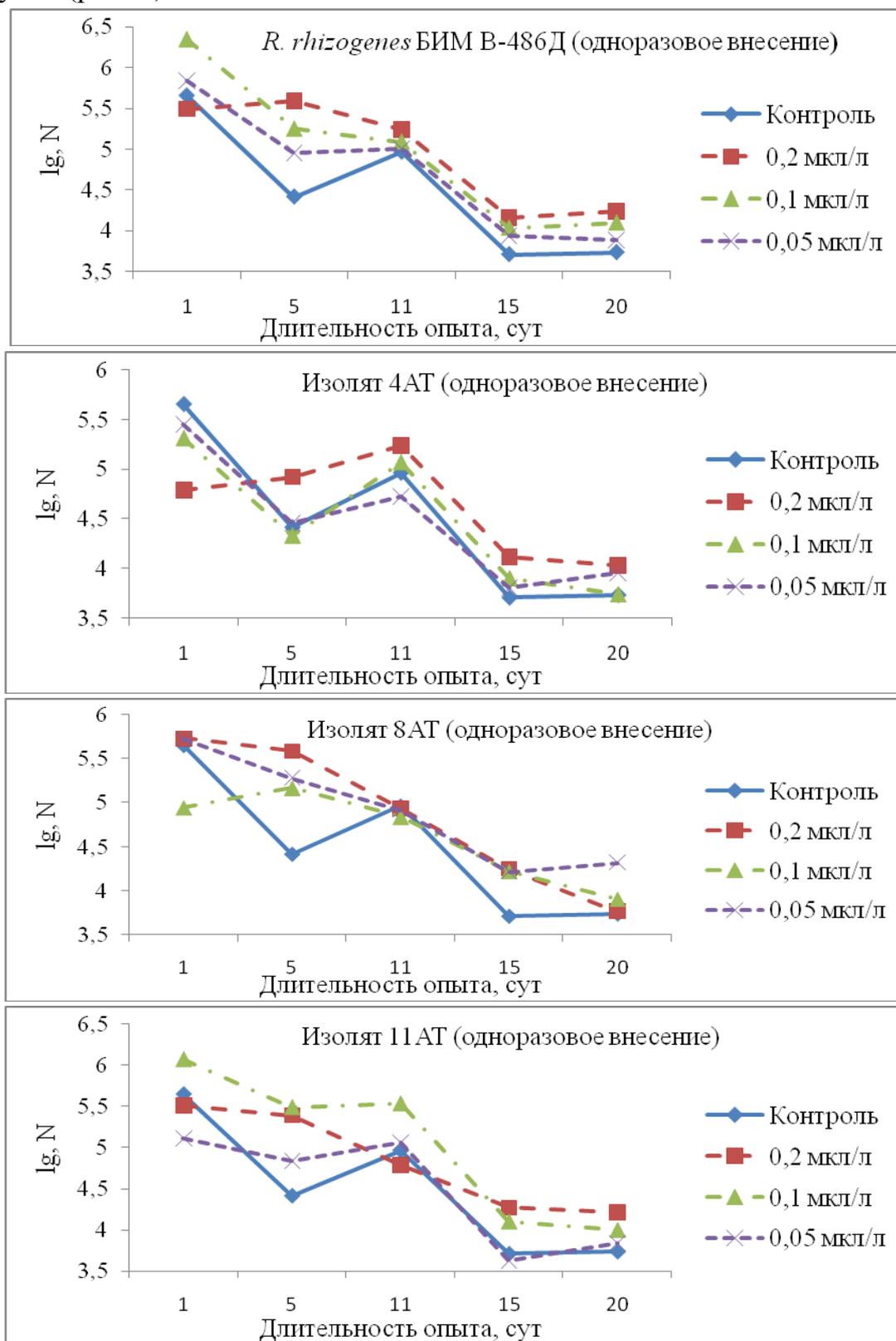
Аналогичная тенденция прослеживается и в контроле. Максимально возрастает плотность популяции фосфатмобилизирующих бактерий в воде при двухразовом внесении изолята 1Т на 15-е сутки (в среднем в 8,0 раз), на 20-е сутки ее значения приближаются к контрольному варианту.



N – количество жизнеспособных бактериальных клеток

Рисунок 2. – Динамика численности фосфатмобилизирующих микроорганизмов в воде модельных опытов при двухразовом внесении ФМБ

При однократной интродукции азотфиксирующих штаммов и изолятов в воду количественный всплеск азотфиксирующих микроорганизмов выявлен на 11-е сутки (рис. 3).

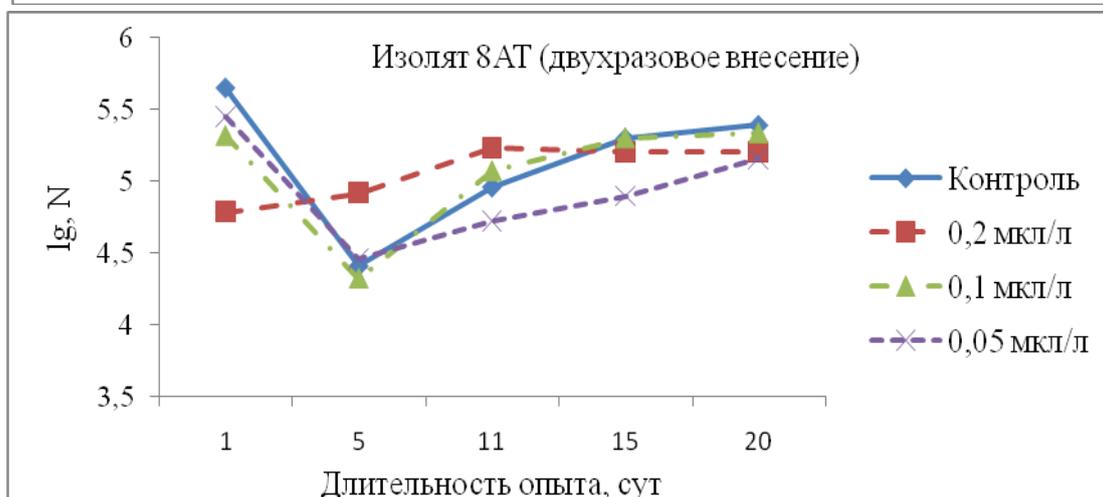
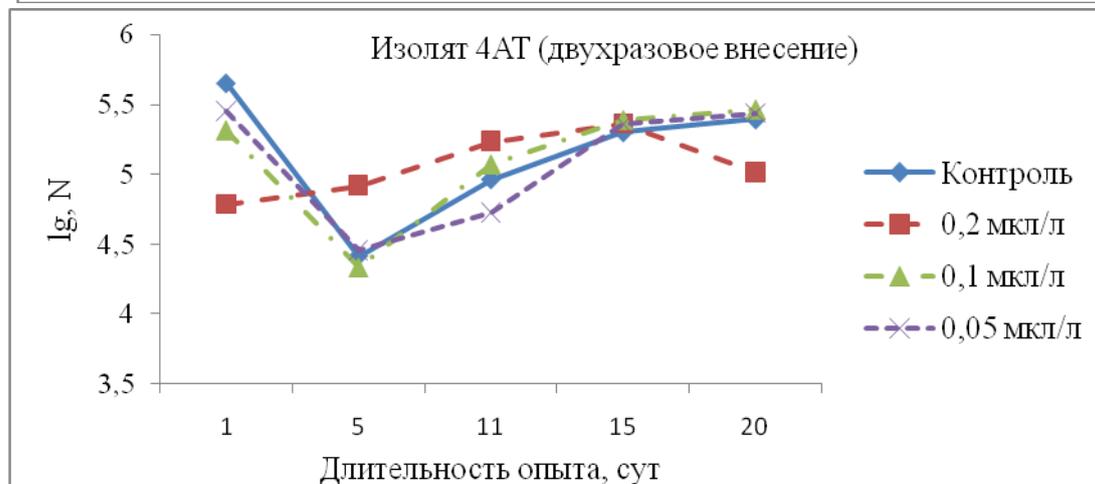
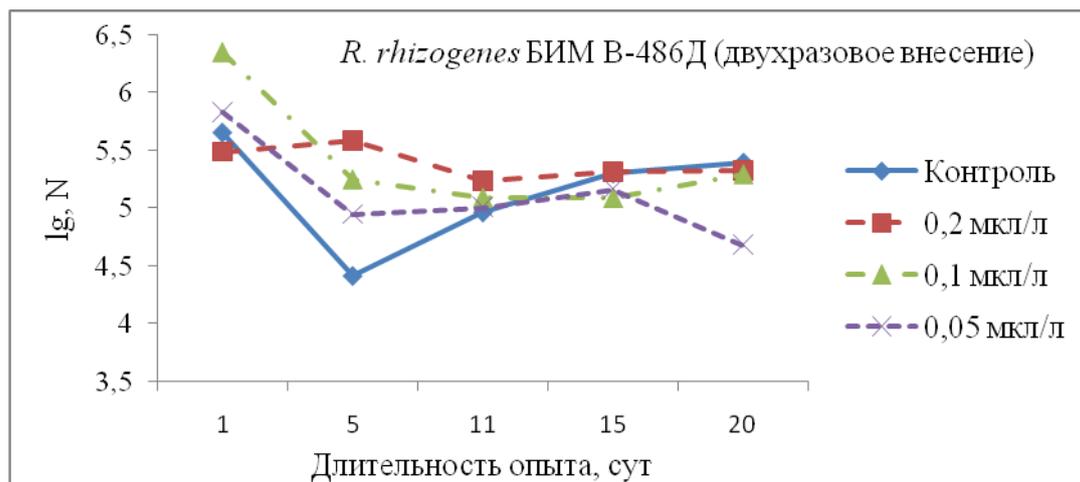


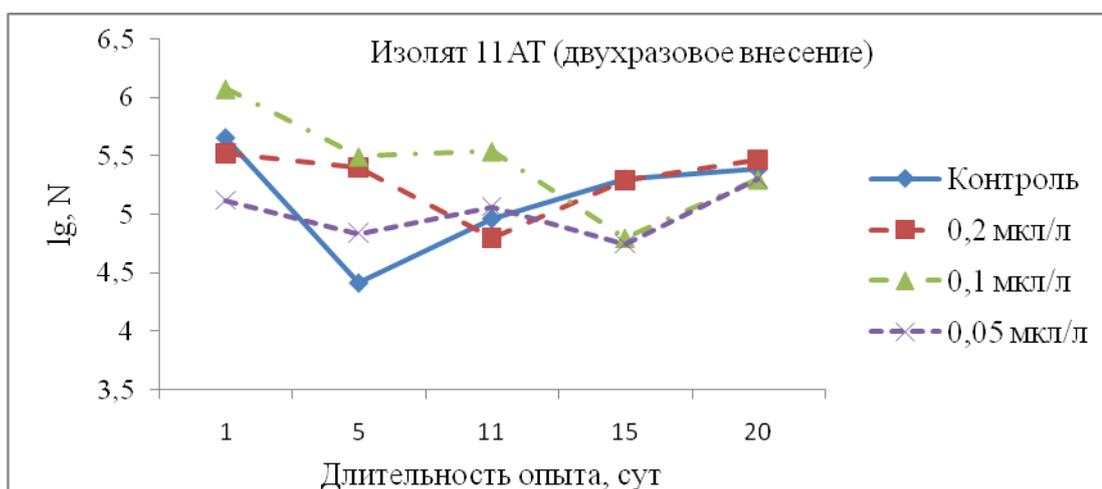
N – количество жизнеспособных клеток

Рисунок 3. – Динамика численности азотфиксирующих микроорганизмов в воде модельных опытов при однократном внесении АФ-бактерий

Далее по мере проведения эксперимента их численность снижается, однако, ее значения превышают контроль. Так, на 15-е сутки опыта при внесении изолята 4АТ их число в сравнении с контролем возросло в среднем на 79%, изолята 8АТ – в 3,3 раза, изолята 11АТ – в 2,3 раза, *R. rhizogenes* БИМ В-486Д – в 2,2 раза, на 20-е сутки – на 56, 114, 105 и 147% соответственно.

После второго внесения азотфиксирующих бактерий их количество в воде возрастает на 15-е суткам и сохраняется на высоком уровне до конца эксперимента (рис.4).





N – количество жизнеспособных клеток

Рисунок 4. – Динамика численности азотфиксирующих микроорганизмов в воде модельных опытов при двухразовом внесении АФ-бактерий

По результатам проведенных исследований в модельных опытах можно сделать вывод, что максимальное превышение численности фосфатмобилизующих и азотфиксирующих микроорганизмов по сравнению с контролем при однократном внесении штаммов и изолятов выявлено на 5-е сутки после внесения. Плотность популяции фосфатсолубилизирующих микроорганизмов в воде при внесении изолята 1Т в концентрации 0,1 мкл/л возросла в 3,0 раза, изолята FM 1.3 и *P. lini* БИМ В-485Д (0,05 мкл/л) – в 1,2 и 8,8 раза соответственно. Количество азотфиксирующих бактерий в опытных вариантах максимально превышало значения контрольного варианта при внесении изолята 8АТ и *R. rhizogenes* БИМ В-486Д (0,2 мкл/мл) – в 9,4 и 15,0 раз соответственно, изолята 11АТ (0,1 мкл/л) – в 11,9 раза. К 20-м суткам их число в опыте и контроле сравнивалось. Двухразовое внесение исследуемых бактерий в воду способствовало сохранению высокой численности фосфатмобилизаторов и азотфиксаторов в воде до конца эксперимента.

Заключение

Полученные данные позволяют сделать вывод о пригодности всех исследованных фосфатмобилизующих *P. lini* БИМ В-485Д, 1Т, FM 1.3 и азотфиксирующих *R. rhizogenes* БИМ В-486Д, 4АТ, 8АТ, 11АТ бактерий для интродукции в водоемы, т.к. их однократное и двухразовое внесение приводит к увеличению численности фосфатмобилизующих и азотфиксирующих микроорганизмов в прудовой воде. По результатам экспериментов наиболее эффективными из коллекционных штаммов были *P. lini* БИМ В-485Д (фосфатмобилизатор) и *R. rhizogenes* БИМ В-486Д (азотфиксатор), а из выделенных из эпилимниона рыбоводных прудов – фосфатсолубилизирующие

изоляты 1Г и FM 1.3 и азотфиксирующие изоляты 8АТ и 11АТ. Данные микроорганизмы перспективны для использования в качестве компонентов при создании нового микробного удобрения для повышения продуктивности рыбоводных прудов. Внесенное в пруды микробное удобрение азотфиксирующе-фосфатмобилизующего действия обеспечит их «биологическим» фосфором и азотом, позволит снизить дозы применяемых азотно-фосфорных удобрений и, как следствие, будет способствовать уменьшению экологического риска.

Список использованных источников

1. Методы микроэкологического исследования наземных, водных и воздушных экосистем : учеб. пособие / С. В. Прудникова [и др.]. – Красноярск : СФУ, 2007. – 152 с.
2. Методы почвенной микробиологии и биохимии : учеб. пособие / под ред. Д. Г. Звягинцева. – М. : Изд-во Моск. ун-та, 1980. – 224 с.
3. Некоторые новые методы количественного учета почвенных микроорганизмов и изучения их свойств : метод. рекомендации / Всесоюз. науч.-исслед. ин-т с.-х. микробиологии. – Л. : [б. и.], 1987. – 53 с.
4. Теория вероятностей и математическая статистика. Математические модели : учеб. пособие / В. Д. Мятлев [и др.]. – М. : Академия, 2009. – 315 с.
5. Влияние фосформобилизирующих бактериальных препаратов на содержание фосфора в воде рыбоводных прудов / А. В. Базаева [и др.] // Вопросы рыбного хозяйства Беларуси : сб. науч. тр. / Ин-т рыб. хоз-ва, Науч.-практ. центр Нац. акад. наук Беларуси по животноводству, Белорус. гос. ун-т. – Минск, 2008. – Вып. 24. – С. 370–372.