

gosudarstvennogo agrarnogo universiteta (Nauchnyy gurnal KubGU) [Polythematic network electronic journal of the Kuban state agrarian University (Scientific journal of KubSAU)]. - 2013. - № 07(91). - P. 1195-1204. [in Russian]

4. Oborin A.A. Neftezagryaznennye biotsenozy: monografiya [Contaminated communities: monograph] / A.A. Oborin, V.T. Khmurchik, S.A. Ilarionov, M.Y. Markarova; Perm. state University; Perm. gos. tehn. Univ. of Perm, 2008. - 511 P. [in Russian]

DOI: 10.18454/IRJ.2016.54.207

Гарбуз С.А.¹, Кoryтова В.Е.²

¹ORCID: 0000-0003-0154-5523, бакалавр, магистрант,

²ORCID: 0000-0002-1154-5335, бакалавр, магистрант,

Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет
информационных технологий, механики и оптики.

ПОДБОР ОПТИМАЛЬНОЙ ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЫ ДЛЯ ГОМОГЕННОГО, ПЕРИОДИЧЕСКОГО КУЛЬТИВИРОВАНИЯ AZOTOBACTER CHROOCOCCUM

Аннотация

В данной работе изучена литература и отобраны наиболее подходящие среды для культивирования *Azotobacter chroococcum*. Проведены эксперименты, необходимые для подбора оптимальной питательной среды для культивирования бактерий *Azotobacter chroococcum*. Проведена сравнительная оценка питательных сред, рекомендованных для культивирования. Применение данных микроорганизмов в качестве биоудобрения может увеличить продуктивность сельского хозяйства за счет увеличения выхода сельскохозяйственных культур.

Ключевые слова: *Azotobacter chroococcum*, культивирования, оптимальная питательная среда, подбор среды.

Garbuz S.A.¹, Korytova V.E.²

¹ORCID: 0000-0003-0154-5523, bachelor's degree,

²ORCID: 0000-0002-1154-5335 bachelor's degree,

Saint Petersburg National Research University of Information Technologies, Mechanics and Optics

SELECTION OF THE OPTIMAL CULTURE MEDIUM FOR HOMOGENEOUS, PERIODIC CULTIVATION OF AZOTOBACTER CHROOCOCCUM

Abstract

In this paper we studied the literature and selected the most suitable environment for the cultivation *Azotobacter chroococcum*. The experiments required for the selection of optimal culture medium for culturing bacteria *Azotobacter chroococcum*. A comparative evaluation of nutrient media recommended for cultivation. The use of microorganisms as biofertilizers can increase agricultural productivity by increasing the yield of crops.

Keywords: *Azotobacter chroococcum*, cultivation, optimal nutrient medium, the selection medium.

1. Введение

В сельском хозяйстве остро стоит вопрос продуктивности сельскохозяйственных культур, существует множество разнообразных удобрений для увеличения плодородия почвы или для повышения ее выработки. Большинство этих удобрений просто вносят в почву необходимые для растений элементы питания или усиливают отдачу этих элементов от почвы. Тем самым либо изменяя качественный и количественный состав почвы, так как внесенные элемент не полностью потребляются растениями и накапливаются. Либо, во втором случае, они полностью исчерпывают почвенные ресурсы за один-два сезона, что приводит к повышению количества неплодородных и непродуктивных земель.

Особое место в числе удобрений занимают биологические удобрения, то есть удобрения на основе почвенных бактерий. Одним из представителей биоудобрений являются препараты на основе бактерий вида *Azotobacter chroococcum*, этот вид способен переводить молекулярный азот, содержащийся в атмосфере в растворимую, доступную для растений форму.

Бактерии рода *Azotobacter* практически не вступают в антагонистические отношения с другими обитателями почвы, тем самым не нарушая почвенную биоту и, одновременно с этим, фиксация происходит лишь небольшого количества азота, что не приводит к накоплению азота в почве (Прохоров, 1969).

Согласно проводимым исследованиям, продуктивность выращивания сельскохозяйственных культур повышается на 15-20%. Все это делает биоудобрения на основе бактерий *Azotobacter* необходимыми в современном мире.

Бактерии азотфиксаторы – играют одну из основных ролей в круговороте азота в природе. Процесс, осуществляемый ими очень важен для растений.

2. Методы

Для производства биоудобрения для азотфиксации нами были приобретены три штамма *Azotobacter chroococcum*.

Наиболее важной и первостепенной задачей являлось подбор питательной среды и условий культивирования для получения титра бактерий не менее 10⁸ КОЕ/мл. Для решения этой задачи мы использовали несколько сред и разные условия культивирования.

Подбор сред осуществлялся с помощью литературных данных и интернет источников (Петенко, 2013; Муталиева, Астафьева, 2012). Некоторые среды нами дополнялись и компоновались. Были также испробованы среды, предложенные для культивирования *Azotobacter chroococcum* поставщиком бактерий. В общей сложности мы испробовали 5 сред, выбирая оптимальную для получения необходимого титра. Готовился сначала концентрат среды на каждый ферментер отдельно, после чего добавлялась очищенная через фильтр вода до объема 7 литров. Потом

ферментер вместе с питательной средой отправлялся на стерилизацию с целью уничтожения посторонней микрофлоры, внесенной в ферментер во время приготовления среды.

Важнейшей задачей для получения азотобактериального удобрения является получение необходимого титра бактерий. Для титрования использовался метод Коха.

Титрацию проводили в двух повторностях, разливая на чашки Петри -5, -7 и дважды -6 степень разведения по 0,1 мл, равномерно распределяя с помощью шпателя, каждый раз используя новый.

Чашки Петри убирали в термостат и отслеживали их рост каждые 24 часа, оптимальное время для подсчета колоний *Azotobacter chroococcum* около 72-96 часов, так как именно через такое время бактерии прорастают и выделяют пигмент темно-коричневого цвета, становятся легко заметны на белой питательной среде и их легко подсчитать.

3. Результаты

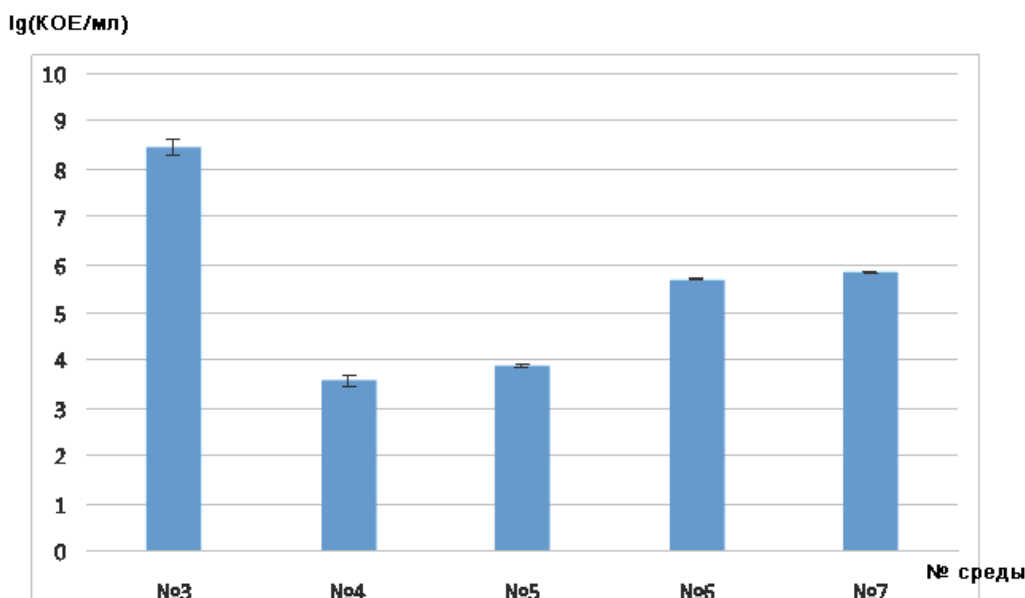


Рис. 1 – Зависимость количества колониеобразующих единиц на миллилитр среды от среды

На диаграмме 1 представлены различия в титрах КОЕ/мл в каждой из представленных сред через 120 часов культивирования при 150 оборотах в минуту мешалки, количестве подаваемого воздуха 5 литров воздуха на 7 литров среды, температура 28 градусов по Цельсию.

Было проведено сравнение сред №3 и №4. Среда №4 отличается повышенным содержанием K_2HPO_4 в 45 раз, данная среда была найдена в интернете в качестве запатентованной для культивирования *Azotobacter chroococcum*. Согласно описанию патента повышение концентрации K_2HPO_4 от 20 до 100 раз по сравнению со средой №3 дает повышенную скорость роста и достаточно высокие титры.

Согласно данным диаграммы 1 повышенное содержание K_2HPO_4 ингибирует рост *Azotobacter chroococcum* штамм №1. Количество КОЕ в 1 миллилитре практически не изменилось с момента посева культуры по сравнению со средой №3.

Было проведено сравнение сред №3 и №5. Среда №5 отличается повышенным содержанием K_2HPO_4 в 10 раз, данная среда была нами выбрана в связи с неудачным опытом со средой №4, в которой содержание K_2HPO_4 рекомендовалось увеличить в 20-100 раз. Согласно описанию патента повышение концентрации K_2HPO_4 от 20 до 100 раз по сравнению со средой №3 дает повышенную скорость роста и достаточно высокие титры. Опыт проводился на 6 ферментерах, по 3 ферментера на каждую среду. В таблице представлены усредненные результаты титрации, что позволяет сделать вывод об их достоверности.

Если сравнить среду №5 со средой №4, то снижение концентрации K_2HPO_4 оказывает заметное положительное влияние на рост *Azotobacter chroococcum* штамм №1.

Мы проводили сравнение среды №3 и среды №6. Среда №6 отличается тем, что в ней в качестве источника углерода используется меласса. Данная среда была выбрана в связи с рекомендациями в источниках литературы и сравнительной дешевизной. Опыт проводился на 6 ферментерах, по 3 ферментера на каждую среду. В таблице представлены усредненные результаты титрации, что позволяет сделать вывод об их достоверности.

Из диаграммы 1 можно увидеть, что среда №6 подходит для культивирования *Azotobacter chroococcum*. Дает не маленькие титры, по сравнению со средой №4 и №5, но более низкие по сравнению со средой №3. Ее использование также не удовлетворяет нашим требованиям к конечным титрам. Кроме того в производственных условиях возможно попадание в ферментер посторонней культуры, что приведет к ее развитию и порче препарата, так как мелассу в качестве источника углерода могут использовать многие микроорганизмы.

Было проведено сравнение сред №3 и №7. Среда №7 отличается тем, что в ней в качестве источника углерода используется сахароза. Данная среда была выбрана в связи с рекомендациями в источниках литературы и в качестве

альтернативы использования маннита. Опыт проводился на 6 ферментерах, по 3 ферментера на каждую среду. В таблице представлены усредненные результаты титрации, что позволяет сделать вывод об их достоверности.

На диаграмме можно увидеть, что среда №7 также подходит для культивирования *Azotobacter chroococcum*. Азотобактер хорошо усваивает такой источник углерода как сахарозу, но использование маннита дает более высокие титры КОЕ.

Выводы

Можно резюмировать, что использование маннита в качестве источника углерода для выращивания *Azotobacter chroococcum* при глубинном периодическом культивировании является оптимальным, поскольку для большинства посторонних микроорганизмов он не может служить источником углерода, а азотобактером усваивается даже лучше, чем сахароза или меласса.

Увеличение количества K_2HPO_4 вопреки литературным данным не дает увеличения титров и скорости роста, а даже наоборот снижает, возможно, данная особенность культивирования применима не ко всем штаммам и не подходит для культивирования выбранного нами.

В результате проведенных опытов нами была подобрана оптимальная питательная среда, что дает возможность для производства бактериального удобрения, которое, согласно литературным данным, может повысить эффективность сельского хозяйства на 15-20% в отношении выращивания растительных культур.

Список литературы/ References

1. Аристовская Т.В. Геохимическая деятельность микроорганизмов как фактор почвенного плодородия в условиях разных экосистем / Т.В. Аристовская // - Успехи микробиологии, 1985. - вып. 20. - С. 154- 174.
2. Петенко А.И., Кощаев А.Г., Жолобова И.С., Сазонова Н.С. Биотехнология кормов и кормовых добавок. – Краснодар, 2011. – 454 с.
3. Азотобактер // Большая советская энциклопедия: в 30 т. / гл. ред. А. М. Прохоров. – М.: Советская энциклопедия, 1969–1978.

Список литературы на английском языке / References in English

1. Aristovskaya T.V. Geokhimicheskaya deyatel'nost' mikroorganizmov kak faktor pochvennogo plodorod'ia v usloviyakh raznykh ekosistem [The geochemical activity of microorganisms as a factor in soil fertility under different ecosystems] // Uspehi mikrobiologii [The success of microbiology]. – 1985 – P. 154-174 [in Russian]
2. Petenko A.I. Biotehnologiya kormov i kormovih dobavok [Biotechnology feed and feed additives]. – Krasnodar, 2011. P.454. [in Russian]
3. Prohorov A.M. Bolshaya sovetskaya enciklopediya [Great Soviet Encyclopedia] – 1969-1978. – P.104. [in Russian]

DOI: 10.18454/IRJ.2016.54.106

Гордеева И.В.

Кандидат биологических наук,

Уральский государственный экономический университет

ВЛИЯНИЕ НИЗКИХ КОНЦЕНТРАЦИЙ РАСТВОРА NaCl НА ПРОРАСТАНИЕ СЕМЯН HORDEUM VULGARE L.

Аннотация

В статье представлены результаты исследования влияния растворов NaCl концентраций 0,01 М, 0,02 М и 0,03 М на всхожесть семян и развитие проростков ячменя обыкновенного *Hordeum vulgare*, одной из самых солеустойчивых злаковых культур. Показано, что низкие концентрации раствора хлорида натрия (особенно 0,02 М) способны оказывать стимулирующее воздействие на прорастание семян, а также массу проростков, длину корешков и надземной части проростков на протяжении первых пяти суток проращивания. В то же время более высокие концентрации данной соли (начиная с 0,03 М) начинают ингибировать все процессы, связанные с прорастанием семян.

Ключевые слова: ячмень обыкновенный, прорастание семян, развитие проростков, хлорид натрия, соленость.

Gordeeva I.V.

PhD in Biology,

Ural State University of Economics

EFFECT OF NaCl SOLUTION OF LOW CONCENTRATIONS ON SEED GERMINATION OF HORDEUM VULGARE L.

Abstract

The article presents the results of research work devoted to study the effect of NaCl solutions of 0,01 M, 0,02 M and 0,03 M concentrations on the seed germination and seedling development of barley *Hordeum vulgare* that is known as one of the most salt tolerant crop. It is shown that low concentrations of sodium chloride solution (especially 0,02 M) can have a stimulating effect on the seed germination and seedling weight, length of the main root and aboveground part of seedlings during the first five days of germination. At the same time the higher salt concentrations (from 0,03 M) begin to inhibit all processes correlated with the seed germination.

Keywords: barley, seed germination, seedling development, sodium chloride, salinity.

Засоленность почвы представляет сложную экологическую проблему и относится к числу факторов, лимитирующих производство многих ценных сельскохозяйственных растений, включая злаки, так как оказывает значительное негативное влияние на всхожесть, рост и продуктивность значительного количества зерновых