



Биолог. журн. Армении, 3 (67), 2015

## ПОЛУЧЕНИЕ ГРАНУЛИРОВАННОГО НИТРАГИНА НА ОСНОВЕ ПЕМЗЫ И ЕГО ЭФФЕКТИВНОСТЬ

И.Б. БАГДАСАРЯН

НПЦ “Армбиотехнология” НАН РА,  
armbiotech@gmail.com

Разработан способ получения гранулированного нитрагина клубеньковых бактерий гороха на основе пемзы.

Исследования в условиях вегетационных и полевых опытов показали, что полученные препараты нитрагина стимулируют рост растений и в среднем на 30% повышают их урожайность.

*Гранулированный нитрагин – клубеньковые бактерии – пемза – симбиоз*

Մշակվել է պեմզայի հիմքով ոլորի պալարաբակտերիաների գրանուլացված նիտրագինի ստացման եղանակ:

Հետազոտությունները վեգետացիոն և դաշտային փորձերի պայմաններում ցույց են տվել, որ ստացված նիտրագինի պատրաստուկները խթանում են բույսի աճը և միջինը 30%-ով բարձրացնում են նրանց բերքատվությունը:

*Հատիկավորված նիտրագին – պալարաբակտերիաներ – պեմզա – սիմբիոզ*

A method for producing granulated nitragin of nodule bacteria of pea based on pumice has been developed.

Studies of vegetation and field experiments showed that obtained nitragin preparations stimulated plants growth and 30% increased their yield.

*Granulated nitragin – nodule bacteria – pumice – symbiosis*

В последние годы проводятся исследования с целью повышения эффективности симбиоза азотфиксирующих микроорганизмов. Известен ряд способов получения бактериальных препаратов симбиотических азотфиксирующих микроорганизмов: сухой, торфяной, органо-минеральный и др. Однако указанные бактериальные препараты имеют ряд недостатков. При инокуляции семян бобовых культур этими препаратами не учтены влияние высокой температуры верхнего слоя почвы на бактериальную культуру, неравномерность перемешивания компонентов в объеме слоя, высокая конечная влажность продукта, ведущая к значительной гибели бактериальных клеток, что приводит к получению некачественного конечного продукта [4, 7, 9].

Учитывая сказанное, целью настоящих исследований являлась разработка способа получения нового эффективного гранулированного нитрагина клубеньковых бактерий на основе пемзы.

**Материал и методика.** В качестве носителя для получения гранулированного препарата на основании физико-механических свойств (пористость – 76,4%, водопоглощаемость – 66,0%) и химического состава была отобрана пемза. Пемза содержит вещества,

оказывающие существенное влияние на симбиотическую фиксацию азота, а также необходимые для роста растений – калий, магний, натрий, железо, кальций, марганец [3, 6].

Предварительно изучена микрофлора пемзы, заранее измельченной до размера частиц 3-3,5 мм.

С целью изучения микрофлоры нестерильной пемзы проводили рассев суспензии пемзы на различных питательных средах (Чапек, МПА, сусло-агар, МПБ+сусло агар, крахмал аммиачный, Эшби).

В результате проведенных исследований в нестерильной пемзе выявлено наличие разных видов грибов, актиномицетов, споровых и неспоровых микроорганизмов.

Чтобы исключить наличие посторонней микрофлоры, пемзу стерилизовали (в автоклаве 2 ати, 30 мин), с предварительным выдерживанием ее при температуре 37<sup>0</sup>С в течение 2-3 сут. Эта процедура повторялась до полного исчезновения посторонней микрофлоры. После стерилизации гранулированную стерильную пемзу инокулировали суспензией выделенных нами штаммов: *Rhizobium leguminosarum* (горох) штаммы 123, 144.

Титр клеток клубеньковых бактерий определяли чашечным методом Коха на бобовом агаре [5].

Эффективность и вирулентность гранулированного препарата изучалась в вегетационных опытах на растениях гороха, выращенных на стерильном песке в сосудах, обогащенных питательной средой Прянишникова. Препарат вносили в песок совместно с семенами растений.

Вирулентность определяли по интенсивности образования клубеньков на корнях растений, эффективность – по способности клубеньковых бактерий повышать урожайность бобовых культур. Выживаемость клеток клубеньковых бактерий в гранулах определяли методом последовательных разведений.

Исследования эффективности и вирулентности этого препарата проводились в период развития растений: 5-6- листьев, бутонизация и цветение, в течение 3-х лет, в трехкратной повторности.

**Результаты и обсуждение.** Через сутки после смешивания клубеньковых бактерий гороха (шт.123) с пемзой определяли титр клеток клубеньковых бактерий готового препарата.

Исследования выживаемости клеток клубеньковых бактерий в гранулах пемзы определяли в течение 4, 9, 34, 60 и 130 дней (табл.1).

**Таблица 1.** Выживаемость клеток клубеньковых бактерий гороха в разные сроки хранения

<i>Rh.leguminosarum</i> (горох) Штамм 123	Сроки хранения				
	через сутки	9 дней	34 дня	60 дней	130 дней
	Количество клеток на одну гранулу				
	5·10 <sup>6</sup>	5,67·10 <sup>6</sup>	7,3·10 <sup>5</sup>	2,7·10 <sup>5</sup>	8·10 <sup>4</sup>

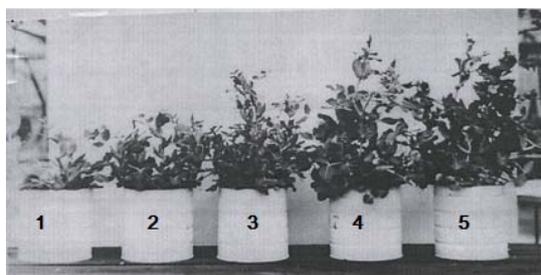
Сравнительные данные показали, что выживаемость клеток клубеньковых бактерий гороха с увеличением срока хранения снижается. Но, как показывают в дальнейшем результаты вегетационных и полевых опытов, клубеньковые бактерии, хранившиеся в пемзе, сохраняют свою вирулентность и азотфиксирующую активность.

В результате проведенных исследований вегетационных опытов (табл.2) выявлено, что обработка гранулированным нитрагином значительно повышает вирулентность бактерий и стимулирует рост растений, по сравнению с контролем без пемзы и с вариантом инокулированной чистой культурой.

**Таблица 2.** Эффективность и вирулентность гранулированного нитрагина с клубеньковыми бактериями гороха в зависимости от сроков хранения

Варианты опыта	Фазы развития растений								
	5-6 листьев			Бутонизация			Цветение		
	надземная часть	корни	клубеньки	надземная часть	корни	клубеньки	надземная часть	корни	клубеньки
<i>Rh. leguminosarum</i> (горох) Штамм 123									
Контроль-семена гороха без инокуляции	24	21	-	41.700	31.200	-	96	40	-
Контроль-неинокулированные семена со стерильной пемзой	27	24.5	-	54	44	-	126	46	-
Чистая культура – семена, инокулированные клуб. бакт. гороха	26.700	26	0,900	80	70	1.100	100	53	4.0
Семена + гранулы пемзы, инок. клубеньковыми бактериями гороха (4-х днев. хранения)	41.400	29.200	1.100	80	65	4.900	147	71	5.600
Семена + гранулы пемзы, инокул. клуб. бакт. гороха шт. 123 (34-х дневного хранения)	42.200	30.100	1.700	101	75	5.200	152	90	6.100
	вес в граммах								

Кроме того, надо заметить, что растения, инокулированные клубеньковыми бактериями гороха с гранулированной пемзой, имели крупные клубеньки и пышную зеленую массу (рис. 1-5)



**Рис.1.** Динамика роста растений гороха, инокулированных клубеньковыми бактериями с гранулированной пемзой

1. Контроль-семена без инокуляции,
2. Контроль-неинокулированные семена со стерильной пемзой,
3. Чистая культура,
4. 4-днев. хранения,
5. 34-днев. хранения.



Рис.2. Контроль-семена гороха без инокуляции



Рис.3. Чистая культура-семена, инокулированные клуб.бакт.гороха шт.123



Рис.4. Семена + гранулы пемзы инокулированные клуб.бакт.гороха шт.123 (4-днев.хранения)

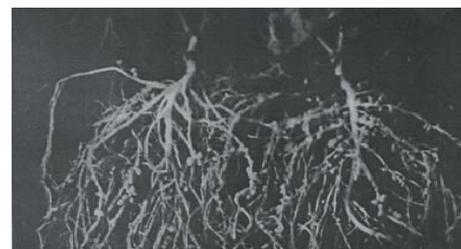


Рис.5. Семена + гранулы пемзы, инокулированные клуб. бакт.гороха шт.123(34-днев.хранения)

Вероятнее всего, это обусловлено тем, что сама пемза тоже способствует росту растений, благодаря своему химическому составу и поддержанию влаги.

Аналогичная закономерность результатов обнаружена со штаммом 144 клубеньковых бактерий гороха (табл. 3).

**Таблица 3.** Эффективность и вирулентность гранулированного нитрагина со штаммом 144 клубеньковых бактерий гороха (вегетационный опыт)

Варианты опыта	Фазы развития растений гороха					
	Бутонизация			Цветение		
	надземная часть	корни	увеличение надземной части, %	надземная часть	корни	увеличение надземной части, %
Контроль-семена без инокуляции	11,400	9	100	16	33,100	100
Контроль-неинокулированные семена со стерильной пемзой	12,500	10	109	16,800	34,300	106
Чистая культура семян, инокулированные шт. 144	14,300	14,700	125	19,500	36,500	121
Семена + гранулы пемзы, инокулированные шт. 144 (7-суточное хранение)	16,200	14,400	142	20,700	38,100	129
Семена + гранулы пемзы, инокулированные шт. 144 (60 - суточное хранение)	16,300	18,600	142	21	37,900	131
	вес в граммах					

С целью практического применения гранулированного нитрагина на основе пемзы со шт. 123 клубеньковых бактерий гороха проведены также исследования в полевых условиях в период цветения растений гороха (табл.4)..

Полученные результаты свидетельствуют о том, что в полевых условиях гранулированный нитрагин также значительно стимулирует рост растений по сравнению с вариантами чистой культуры и торфа.

**Таблица 4.** Эффективность и вирулентность гранулированного нитрагина со штаммом 123 клубеньковых бактерий гороха в полевом опыте

Варианты опыта	Надземная часть		Корни		Клубеньки	
	свежие	сухие	свежие	сухие	свежие	сухие
<i>Rh. leguminosarum</i> (горох) Штамм 123						
Контроль- семена без инокуляции	194	29.200	12	1.920	1.750	0.310
Контроль- неинокулированные семена со стерильной пемзой	231	37	16.500	2.600	1.850	0.340
Чистая культура – семена, инокулированные шт. 123 клубеньковых бактерий гороха	185	28	13	2.200	1.800	0.320
Семена + гранулы пемзы, инокулированные шт. 123 (4-х дневного хранения)	312	48	21	3.150	4.150	0.690
Торф – инокул. шт. 123 клуб. бактерий гороха	147	25	11,5	2.05	0.480	0.140
	вес в граммах					

Таким образом, на основании проведенных исследований получен высокоэффективный препарат нитрагина на основе пемзы с клубеньковыми бактериями гороха- штаммы 123 и 144. Предлагаемый препарат защищает клубеньковые бактерии от влияния некоторых внешних факторов, обеспечивает вирулентность и длительное хранение клубеньковых бактерий.

Эти препараты в полевых и вегетационных опытах увеличивают урожайность бобовых растений в среднем на 30%, что свидетельствует о перспективности применения его в практике сельского хозяйства.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Аветисова Г.Е., Саргсян А.О., Чахалян А.Х., Мелконян Л.О., Чил-Акопян Л.А., Геворкян Р.Г. “Азоцеовит – 1”- новое эффективное комплексное биоудобрение. Международная конференция, Цахкадзор, РА, 28 сентября – 02 октября с. 201, 2008.
2. Матавов П.Я., Миропольская И.М. Способ обработки почвы. Авторское свидетельство СССР. № 865158, кл.3 А 01, 1981.
3. Мишустин Е.Н., Шильникова В.К. Биологическая фиксация атмосферного азота. М., 1968.
4. Позднякова А.И., Хотянович А.В., Борисович В.А., Амстердамская Н.Ю., Зайцев А.В., Чиканова В.М. Способ получения инокулянта для семян бобовых культур. Авторское свидетельство СССР. № 922104, А 01Р 11/08, 1982.
5. “Руководство к практическим занятиям по микробиологии, под редакцией проф. Н.С.Егорова, М., с.137, 1983.
6. Сагателян К. Сборник по строительным материалам (в 4-х томах), 1987.
7. Тутова Э.Г., Куц П.С., Кабалдин Г.С., Богданов В.М., Войтович Г.И. Способ получения торфяного бактериального препарата. Авторское свидетельство СССР. № 477150, кл. С05Р 11/08, 1975.
8. Франсис Г. Субстрат для выращивания культур на основе металлургических шлаков. Франция. Заявка № 2480275, С 05 О 3/04, 1981.
9. Черемухин И.К., Чекакина Е.В., Корнгауз Е.А., Кудрин В.Л., Комарова В.Н., Хотянович А.В., Позднякова А.И., Амстердамская Н.Ю., Войтович Г.И. Способ получения торфяного бактериального удобрения. Авторское свидетельство СССР. № 592807, кл. С05Р 11/08, 1978.

Поступила 16.04.2013