

**ВЗАЄМОДІЯ МІКРООРГАНІЗМІВ З ГЛИНИСТИМИ
МІНЕРАЛАМИ ЯК ОСНОВА СТВОРЕННЯ
ГРАНУЛЬОВАНИХ БАКТЕРІАЛЬНИХ ПРЕПАРАТІВ
КОМПЛЕКСНОЇ ДІЇ ДЛЯ РОСЛИННИЦТВА**

Курдиш І.К., Гордієнко А.С.

Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН
України,
вул. Академіка Заболотного, 154, м. Київ, 03143, Україна

Наведені результати аналізу закономірностей взаємодії бактерій з глинистими мінералами. Обговорюються механізми сти мулювання ними фізіологічної активності азотфіксувальних і фос фатмобілізувальних бактерій, на основі яких створені гранульова ні мікробні препарати комплексної дії на рослини. Ці препарати сприяють розвитку рослин і значно підвищують їх урожайність.

Ключові слова: азотфіксувальні, фосфатмобілізувальні бак терії, глинисті мінерали, гранульовані препарати.

Взаємодія мікроорганізмів з твердими, зокрема високо дисперсними, матеріалами дуже поширена в природі. Згідно з даними літератури [1], близько 99 % ґрунтових мікроорганізмів функціонують, будучи закріпленими на твердих часточках. Подібна ситуація спостерігається також у водних екосистемах. Це явище ми постійно маємо змогу спостерігати і в лабораторній практиці. Наприклад, ріст мікроорганізмів на поверхні часточок сірки, целюлози та інших твердих субстратів, на стінках колб. Однак дослідники не завжди враховують фактор взаємодії мікроорганізмів з твердою поверхнею і його вплив на результат процесу.

Встановлено, що така взаємодія зумовлена фізико-хімічними чинниками [2,3], здатними впливати на фізіологічну активність мікробних популяцій. Розглядаючи в цілому процес контактної взаємодії бактерій з твердими матеріалами, що не споживаються клітинами, можна було б сподіватися, що він супроводжується блокуванням певної частини клітинної поверхні для транспорту субстратів у клітину чи метаболітів з неї і зниженням метаболічної активності мікробних популяцій. Однак, як з'ясувалося, цей процес часто приводить до підвищення фізіологічної активності мікроорганізмів. Наприклад, метанотрофні бактерії *Methylomonas*

rubra 15 Ш, іммобілізовані на поверхні гірських порід вугільних шахт, окислюють удвічі більші об'єми метану, ніж клітини, що культивуються у вигляді суспензії [4].

Метою нашої роботи є аналіз впливу глинистих мінералів на функціонування деяких видів азотфіксувальних та фосфатмобілізувальних бактерій та оцінка ефективності впливу створених на їх основі гранульованих бактеріальних препаратів на розвиток і врожайність рослин.

Матеріали і методи. Об'єктами досліджень були: штам азотфіксувальних бактерій *Agrobacterium radiobacter* 10, наданий В.П. Патиною, *Azotobacter vinelandii* 56, *Bradyrhizobium japonicum* 634 б, отримані з Української колекції мікроорганізмів, а також штам фосфатмобілізувальних бактерій *Bacillus subtilis* ІМВ В-7023, виділений в Інституті мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України у відділі мікробіологічних процесів на твердих поверхнях.

Умови дослідження цих бактерій описані раніше [2, 5-8].

Результати та їх обговорення. Помітний вплив на фізіологічну активність різних фізіолого-трофічних груп мікроорганізмів спричиняють високодисперсні матеріали (ВДМ). Під впливом палигорськіту, монтморилоніту чи каолініту значно активізується розвиток *Agrobacterium radiobacter* 10. Найбільш активний вплив спричиняє палигорськіт [5].

Нами встановлено, що цей тип глинистого мінералу помітно стимулює накопичення клітин бактерій роду *Azotobacter*. При цьому істотно зростають азотфіксувальна активність мікробної популяції, синтез вітамінів групи В [6]. В той же час ростова активність бульбочкових бактерій *Bradyrhizobium japonicum* 634 б помітніше зростає за присутності монтморилоніту. У живильному середовищі, що містило 2 % цього мінералу, чисельність бактерій порівняно з контрольним показником зростала на 44,1 %, тоді як при внесенні палигорськіту – на 38,9 % [7].

Значний стимулювальний вплив спричиняють глинисті мінерали на ростову активність фосфатмобілізувальних бактерій та їхню здатність мобілізувати фосфати з органічних і важкорозчинних неорганічних сполук [8].

Як показали результати наших досліджень, одним з факторів, що спричиняють зміну фізіологічної активності мікроорганізмів, може бути підвищення масопереносу кисню в рідке середовище,

яке містить ці матеріали [9]. Так, при внесенні в рідину до 4% порошкоподібного палигорськіту масоперенос кисню в ній зростав на 15,5 %. Більш помітним було підвищення показників при внесенні 1% цього мінералу, подрібненого до колоїдного стану. В даному випадку інтенсивність масопереносу кисню зростала на 16,9 %. Підвищення концентрації палигорськіту колоїдної дисперсності призводило до збільшення в'язкості рідини та зниження масопереносу кисню. Найвищі показники цього процесу спостерігались при внесенні у середовище високодисперсного диоксиду кремнію. Коли його вміст становив 0,2 %, масоперенос кисню зростав більше ніж на 20 %, що, ймовірно, зумовлено виникненням у рідкому середовищі, яке містить ВДМ, мікротурбулентних зон.

На прикладі бульбочкових бактерій *Bradyrhizobium japonicum* 634б нами було показано, що взаємодія бактеріальних популяцій з природними і синтетичними високодисперсними матеріалами підвищує рухливість клітин. Однак їх цілеспрямований рух – хемотаксис знижується, що, ймовірно, спричиняється сорбцією часточок цих матеріалів на рецепторах поверхні клітин [10]. Можливість сорбції високодисперсних матеріалів на поверхні бактерій показана нами з використанням методів мікроелектрофорезу і електронної мікроскопії [10,11].

З огляду на отримані результати постає питання: оскільки ґрунти містять значну кількість колоїдних матеріалів, то як може впливати високодисперсна фракція ґрунту на функціонування мікроорганізмів і чи не буде їхня взаємодія знижувати хемотаксис інтродукованих в кореневу зону бактеріальних клітин до корневих ексудатів? Це питання потребує дослідження.

Нами показано, що при контактній взаємодії бактерій з високодисперсними матеріалами клітини певною мірою покриваються шаром дисперсних часточок і не зазнають істотних змін при тривалому зберіганні, а також набувають стійкості до підвищених температур. Так, після прогрівання суспензії *Bradyrhizobium japonicum* 634 б при 45 °С протягом 15 хвилин життєздатними залишалось лише 32,4-40,6 % клітин [12]. При внесенні до суспензії цих бактерій 1 г/л монтморилоніту їхня життєздатність значно підвищувалась, кількість життєздатних клітин при цьому складала 68 %, а при внесенні 10 г/л цього мінералу – 82,7 %. Подібні результати були отримані при

дослідженні інших видів азотфіксувальних бактерій [5].

Можна допустити, що в процесі контактної взаємодії часточки глинистих мінералів до певної міри стабілізують поверхневі структури бактеріальних клітин. Однак більш тонкі механізми захисного впливу цих матеріалів по відношенню до бактерій потребують подальших досліджень.

Зважаючи на природне походження глинистих мінералів, їхні пластифікаційні властивості, стимулювальний вплив на фізіологічну активність бактерій, здатність захищати мікроорганізми від негативної дії факторів навколишнього середовища, нами створені гранульовані препарати азотфіксувальних бактерій, зокрема ризогран – на основі *Bradyrhizobium japonicum* 634 б та азогран – на основі бактерій роду *Azotobacter*. Встановлено, що гранульовані препарати характеризуються високою стабільністю при тривалому зберіганні (табл. 1). Так, після зберігання ризограну протягом одного місяця при кімнатній температурі чисельність життєздатних бактерій зменшилась лише на 6,7 %, а при 4 °С взагалі залишилась на вихідному рівні. Після 6 місяців зберігання ризограну при кімнатній температурі вміст життєздатних клітин *Bradyrhizobium japonicum* 634 б у препараті становив 66,6 % їхньої чисельності до зберігання, а при температурі 4 °С – 71,1 %.

Таблиця 1. Вплив умов зберігання на життєздатність клітин *Bradyrhizobium japonicum* 634 б у гранульованому препараті

Термін зберігання, місяці	Чисельність клітин в 1 грамі препарату після зберігання при температурі	
	кімнатній	4 °С
0	$4,5 \pm 0,2 \cdot 10^8$	$4,5 \pm 0,2 \cdot 10^8$
1	$4,3 \pm 0,3 \cdot 10^8$	$4,5 \pm 0,2 \cdot 10^8$
3	$3,9 \pm 0,3 \cdot 10^8$	$4,2 \pm 0,2 \cdot 10^8$
6	$3,0 \pm 0,4 \cdot 10^8$	$3,2 \pm 0,3 \cdot 10^8$

На основі виділеного нами високоактивного штаму фосфат-мобілізувальних бактерій *Bacillus subtilis* ІМВ В-7023 (який, до того ж, характеризується високою антагоністичною активністю проти фітопатогенних мікроорганізмів [13]) та азотфіксувальних бактерій, створені гранульовані бактеріальні препарати комплексної дії на рослини. Ці препарати характеризуються високим ви-

ходом життєздатних клітин. Вони покращують азотне і фосфорне живлення рослин, біоагенти препаратів синтезують біологічно активні речовини, які стимулюють ріст рослин, захищають їх від впливу фітопатогенних мікроорганізмів. Таким чином, створені препарати виконують функції стимуляторів росту рослин і біопестицидів. Вони добре зберігаються і зручні у користуванні.

Кілька років у теплицях у штучних субстратах та в польових умовах ми досліджували ефективність впливу гранульованих бактеріальних препаратів на розвиток та врожайність різних видів культурних рослин. Результати цих досліджень показали, що препарати комплексної дії, створені на основі азотфіксувальних та фосфатмобілізувальних мікроорганізмів, краще стимулюють розвиток та підвищують врожайність рослин, ніж препарати, створені на основі окремих культур цих бактерій. Наприклад, в умовах вегетаційного експерименту було встановлено [14], що бактеризація насіння сої препаратом комплексної дії ефективніше впливає на формування бобово-ризобіального симбіозу у рослин сої, ніж монокультура бульбочкових бактерій (табл.2).

Таблиця 2. Вплив деяких штамів бактерій родів *Azotobacter* і *Bacillus* на формування симбіотичних взаємовідносин рослин сої з *Bradyrhizobium japonicum* 634 б

Спосіб обробки насіння	Кількість бульбочок на корені	Маса бульбочок, г	Нітрогеназна активність, мкмоль C ₂ H ₄ на рослину за годину
<i>B. japonicum</i> + H ₂ O	31 ± 3	0,46 ± 0,03	26,4 ± 1,8
+ <i>A. vinelandii</i> 56*	32 ± 3	0,51 ± 0,04	21,5 ± 3,2
+ <i>A. vinelandii</i> 56**	35 ± 3	0,57 ± 0,05	32,5 ± 2,2
+ <i>B. subtilis</i> 5*	44 ± 3	0,65 ± 0,05	27,9 ± 4,0
+ <i>B. subtilis</i> 5**	53 ± 5	0,55 ± 0,03	35,7 ± 2,2

* співвідношення бактерій – 1:1;

** співвідношення бактерій – 1:0,1.

Подібні результати отримані і у дослідях з іншими видами рослин. Дослідно-промислові випробування ефективності гранульованих препаратів комплексної дії в тепличних господарствах на культурах огірків і томатів та в польових умовах на картоплі (спіль-

но з Інститутом агроєкології УААН), цукрових буряках (спільно з Інститутом цукрових буряків УААН) і на інших культурах засвідчили, що застосування гранульованих препаратів комплексної дії суттєво покращує розвиток рослин і підвищує врожайність овочевих культур на 18-37 %.

1. Kuhn E., van Loosdrecht M., Gigen W. Microbial degradation of nitriltriacetate (NTA) during river water/ground water infiltration: Laboratory column studies // Water Res. – 1987. – Vol. 21. – P. 1237-1248.

2. Курдиш И.К. Гранулированные микробные препараты для растениеводства: наука и практика. – К.: РИВЦ, 2001. – 142 с.

3. Курдиш И.К. Закономерности взаимодействия микроорганизмов с твердыми материалами // Микробиол. журн. – 2001. – Т. 63, № 6. – С. 71-87.

4. Курдиш И.К., Кигель Н.Ф., Егоров О.В. Физиологическая активность метанотрофных бактерий при их взаимодействии с горными породами // Микробиол. журн. – 1991. – Т. 53, № 1. – С. 92-98.

5. Курдиш И.К., Титова Л.В. Применение высокодисперсных материалов в технологии культивирования и получения гранулированных препаратов *Agrobacterium radiobacter* // Прикл. биохим. и микробиол. – 2001. – Т. 37, № 3. – С. 369-373.

6. Титова Л.В., Антипчук А.Ф., Курдиш И.К. и др. Влияние высокодисперсных материалов на физиологическую активность бактерий рода *Azotobacter* // Микробиол. журн. – 1994. – Т. 56, № 3. – С. 60-65.

7. Курдиш И.К., Дробитько А.В., Шевченко Т.В., Марьюшкин В.Ф. Взаимодействие *Bradyrhizobium japonicum* с глинистыми минералами // Микробиол. журн. – 2000. – Т. 62, № 2. – С. 45-50.

8. Курдиш И.К., Рой А.О., Булавенко Л.В. та інші. Фосфатмобілізуючі бактерії як компоненти гранульованих бактеріальних препаратів комплексної дії // С.-г. мікробиол. – Чернігів: ЦНТЕІ, 2005. – Вип.1-2. – С. 68-76.

9. Курдиш И.К., Кигель Н.Ф. Влияние высокодисперсных материалов на физиологическую активность метанотрофных бактерий // Микробиол. журн. – 1997. – Т. 59, № 2. – С. 29-36.

10. Чуйко Н.В., Гордиенко А.С., Курдиш И.К. Хемотаксисные свойства и рост *Bradyrhizobium japonicum* в присутствии

высокодисперсного диоксида кремния // Микробиология. – 2006. – Т. 75, № 1. – С. 57-61.

11. Gordienko A.S., Zbanatskaya I.V., Kurdish I.K. Change in electrosurface properties of *Methylomonas rubra* cells at contact interaction with particles of silicon dioxide // Can. J. Microbiol. – 1993. – Vol. 39, № 9. – P. 901-905.

12. Курдиш И.К., Антонюк Т.С. Влияние глинистых минералов на жизнеспособность некоторых бактерий при повышенных температурах // Микробиол. журн. – 1999. – Т. 61, № 3. – С. 3-8.

13. Рой А.А., Залоило О.В., Чернова Л.С., Курдиш И.К. Антагонистическая активность фосфатмобилизирующих бацилл к фитопатогенным грибам и бактериям // Агроекол. журн. – 2005. – № 1. – С. 50-55.

14. Мельникова Н.Н., Булавенко Л.В., Курдиш И.К., и др. Формирование бобово-ризобиального симбиоза у растений сои при интродукции штаммов родов *Azotobacter* и *Bacillus* // Прикл. биохим. и микробиол. – 2002. – Т. 38, № 4. – С. 427-432.

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ МИКРООРГАНИЗМОВ С ГЛИНИСТЫМИ МИНЕРАЛАМИ КАК ОСНОВА СОЗДАНИЯ ГРАНУЛИРОВАННЫХ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ПРЕПАРАТОВ КОМПЛЕКСНОГО ДЕЙСТВИЯ ДЛЯ РАСТЕНИЕВОДСТВА

Курдиш И.К., Гордиенко А.С.

Институт микробиологии и вирусологии им. Д.К. Заболотного НАНУ,
г. Киев

Приведены результаты анализа закономерностей взаимодействия бактерий с глинистыми минералами. Обсуждаются механизмы стимуляции ими физиологической активности азотфиксирующих и фосфатмобилизирующих бактерий, на основе которых созданы гранулированные микробные препараты комплексного действия на растения. Эти препараты существенно улучшают развитие растений и повышают их урожайность.

Ключевые слова: азотфиксирующие, фосфатмобилизирующие бактерии, глинистые минералы, гранулированные препараты.

INTERACTION OF MICROORGANISMS WITH CLAY MINERALS AS CREATIVE BASIS OF GRANULATED BACTERIAL PREPARATIONS OF COMPLEX ACTION FOR PLANT-GROWING

Kurdish I.K., Gordienko A.S.

Zabolotny Institute of Microbiology and Virology, NAS of Ukraine,
Kyiv

Regularities of bacteria interaction with clay minerals are analysed in the article. There are discussed the mechanisms of stimulation of physiological activity of nitrogen-fixing and phosphate-mobilizing bacteria, on the basis of which the granulated microbial preparation of complex action on plants have been created. These preparations improve plant development and increase their productivity essentially.

Key word: nitrogen-fixing, phosphate-mobilizing bacteria, clay minerals, granulated preparation.