



UNIVERSUM: ХИМИЯ И БИОЛОГИЯ

Научный журнал
Издается ежемесячно с ноября 2013 года
Является печатной версией сетевого журнала
Universum: химия и биология

Выпуск: 11(101)

Ноябрь 2022

Часть 1

Москва
2022

ИММОБИЛИЗАЦИЯ ФОСФАТСОЛЮБИЛИЗИРУЮЩИХ МИКРООРГАНИЗМОВ В ГРАНУЛЫ ФОСФОРНЫХ МИНЕРАЛЬНЫХ УДОБРЕНИЙ

Йулдошев Шокир Уринович

PhD по хим. наукам, ст. науч. сотр.,
Институт химии растительных веществ АН РУз,
Республика Узбекистан, г. Ташкент
E-mail: www.yuy.2014@mail.ru

Джуманиязова Гулнара Исмаиловна

д-р хим. наук, проф. кафедры биотехнологии,
Ташкентский государственный технический университет,
Республика Узбекистан, г. Ташкент
E-mail: gulnara2559@mail.ru

Закиряева Саида Икромовна

PhD по биол. наукам, ст. науч. сотр.,
Институт микробиологии АН РУз,
Республика Узбекистан, г. Ташкент

Элмуратов Бурхон Жураевич

д-р хим. наук, проф.,
Институт химии растительных веществ АН РУз,
Республика Узбекистан, г. Ташкент
E-mail: b_elmuradov@mail.ru

IMMOBILIZATION OF PHOSPHATE-SOLUBILIZING MICROORGANISMS IN GRANULES OF PHOSPHORUS MINERAL FERTILIZERS

Shokir Yuldoshev

PhD in Chemical Sciences, Senior Scientist,
Institute of the Chemistry of Plant Substances,
Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan,
Republic of Uzbekistan, Tashkent

Gulnara Jumaniyazova

Doctor of Chemistry, Professor
Departments of Biotechnology,
Tashkent State Technical University,
Republic of Uzbekistan, Tashkent

Saida Zakiryaeva

PhD in Biological Sciences, Senior Scientist
Institute of Microbiology, Academy
of Sciences of the Republic of Uzbekistan,
Republic of Uzbekistan, Tashkent

Burkhon Elmuradov

Doctor of Chemistry, Professor
Institute of Chemistry of Plant Substances
of the Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan,
Republic of Uzbekistan, Tashkent

АННОТАЦИЯ

Исследованы адсорбирующие способности минеральных удобрений. Установлено: «Аммофос» – 94,6%, «Супрефос-NS» – 88,5%, PS-Agro – 87,5% и фосфогипс – 60,0%. Жизнеспособность титра клеток фосфатсольбилизирующего штамма *Bacillus subtilis* BS-26 на минеральных удобрениях в течение 3 месяцев хранения: «Аммофос» – $8,60 \pm 0,32$ lg КОЕ/г; PS-Agro и «Супрефос-NS» – $5,20 \pm 0,15$ – $5,40 \pm 0,17$ lg КОЕ/г соответственно и фосфогипс – $2,20 \pm 0,12$ lg КОЕ/г при исходном титре $11,4 \pm 0,46$ lg КОЕ/мл.

ABSTRACT

The adsorbing capacity of mineral fertilizers has been studied. Ammophos – 94.6%, Suprefos-NS – 88.5%, PS-Agro – 87.5%, and phosphogypsum – 60.0% were established. Viability – cell titer of the phosphate-solubilizing strain *Bacillus subtilis* BS-26 on mineral fertilizers during 3 months of storage: Ammophos - 8.60 ± 0.32 lg CFU/g; PS-Agro and Suprefos-NS – 5.20 ± 0.15 – 5.40 ± 0.17 lg CFU/g, respectively, and phosphogypsum – 2.20 ± 0.12 lg CFU/g, with an initial titer of 11.4 ± 0.46 lg CFU/ml.

Ключевые слова: адсорбция, иммобилизация, фосфатсольбилизирующие микроорганизмы, *Bacillus subtilis* BS-26, жизнеспособность, титр клеток.

Keywords: adsorption, immobilization, phosphate-solubilizing microorganisms, *Bacillus subtilis* BS-26, viability, cell titer.

Введение

Фосфор, являясь основным облигатным биофильным элементом, входит в состав протоплазмы и клеточных ядер, является неотъемлемой частью нуклеиновых кислот и многих ферментов, регулирующих биохимические процессы растительных и животных организмов [5; 6]. В земной коре фосфора больше, чем хлора и серы (P – 0,093%; Cl – 0,017%; S – 0,047%), и его водная и воздушная миграция ничтожна по сравнению с хлоридами и сульфатами. Дефицит фосфора, т.е. усвояемость, для растений обуславливается низкой физиологической доступностью его нерастворимых соединений, которая достигает иногда громадных величин – 500 мг, иногда 1800 мг P_2O_5 на 1 кг почвы [4; 6].

В щелочных карбонатных почвах фосфор переходит в нерастворимый трехкальциевый фосфат, а затем – апатит. Источниками кальция для образования $Ca_3(PO_4)_2$ и карбонат-апатита в почвах, кроме осадков кальцита, арагонита, люблинита, являются обменный кальций, растворы бикарбоната кальция, всегда представленные в почвенных водах, гипс, доломит [4; 8].

Однако многие микроорганизмы могут переводить нерастворимые соединения фосфорной кислоты в растворимое состояние. К ним относятся представители бактерий, актиномицетов, грибов и других групп микроорганизмов (роды *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Micrococcus*, *Mycobacterium*, *Penicillium*, *Aspergillus* и т.д.). Растворение фосфатов в почве происходит в результате образования различных кислот, ферментов и углекислого газа [7].

Цель работы: изучение возможности иммобилизации фосфатмобилизующей бактерии штамма *Bacillus subtilis* BS-26 в гранулы минеральных фосфорных удобрений с целью повышения их усвояемости.

Объекты исследования

Объектами исследований являлись: культура фосфатсольбилизирующего штамма бактерии *Bacillus subtilis* BS-26, выращенная до стационарной фазы, и фосфорные минеральные удобрения «Аммофос», PS-Agro, «Супрефос-NS» и фосфогипс в качестве носителя.

Методы исследования

Адсорбирующую способность минеральных удобрений изучали по методу Диановой и Ворошиловой [1]. В агрономическую пробирку вносили 5 г наполнителя и 1 мл культуры исследуемого штамма. Такое же количество клеток вносили в другую пробирку, не содержащую наполнитель. Затем в обе пробирки вносили по 9 мл стерильной водопроводной воды. После минутного встряхивания и 10-минутного отстаивания из верхнего слоя жидкости обеих пробирок производили посев на питательную среду РПА для учета адсорбированных клеток и вычисляли процент адсорбции.

Иммобилизацию клеток фосфатсольбилизирующего штамма *Bacillus subtilis* BS-26 осуществляли методом адсорбционной иммобилизации. Выращенную до стационарной фазы бактериальную суспензию бактерий (в количестве 3 мл) опрыскивали минеральными удобрениями «Аммофос», PS-Agro, «Супрефос-NS» и фосфогипсом (30 г) в соотношении 1:10, предварительно определив титр внесенных клеток. Высушивали при комнатной температуре в течение 2 дней. После высушивания готовый сухой препарат в закрытом виде хранили при комнатной температуре [2]. Определение жизнеспособности клеток (КОЕ) фосфатсольбилизирующего штамма *Bacillus subtilis* BS-26 на БМФУ-«Аммофос», БМФУ-PS-Agro, БМФУ-«Супрефос-NS» и фосфогипсе провели по методу Коха [3].

Результаты исследований и обсуждение

При исследовании численности различных физиологических групп микроорганизмов на минеральных удобрениях «Аммофос», PS-Agro, «Супрефос-NS» и фосфогипсе до и после стерилизации нами были рассмотрены следующие показатели: общее количество аммонификаторов, растущих на среде МПА, количество микромицетов и актиномицетов на среде Чапека, количество олигонитрофилов на среде Эшби, фосфатсольбилизирующих на среде Пиковской с трикальцийфосфатом. Результаты опыта показали, что во всех изученных видах минеральных удобрений

и фосфогипсе не было обнаружено посторонней микрофлоры.

Изучение адсорбирующей способности минеральных удобрений «Аммофос», PS-Agro, «Супрефос-NS» и фосфогипса показали, что клетки фосфатсольюбилизирующей бактерии адсорбируются на различных носителях в различной степени. Процент адсорбции неодинаков и колеблется от 60 до 94,6%. Самой

высокой адсорбирующей способностью среди изученных носителей обладали минеральные удобрения «Аммофос»: процент адсорбции составлял 94,6%, минеральное удобрение «Супрефос-NS» – 88,5%, минеральное удобрение PS-Agro – 87,5%, самую меньшую адсорбирующую способность показал фосфогипс – 60,0% (рис. 1).

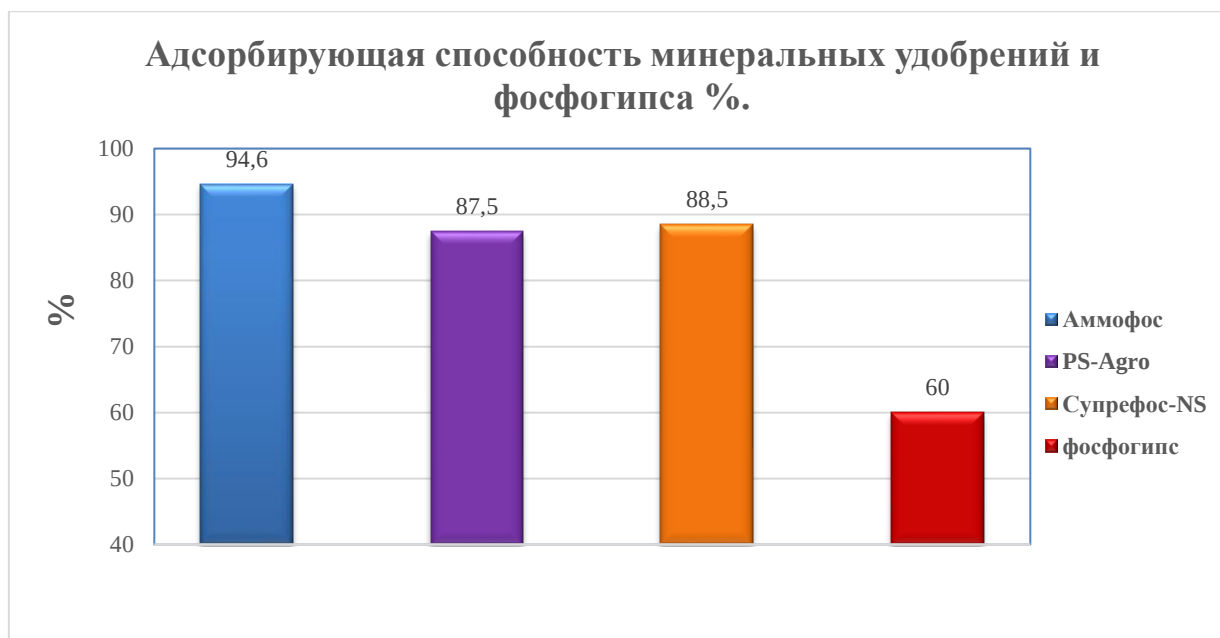


Рисунок 1. Адсорбирующая способность минеральных удобрений и фосфогипса

На основании проведенных предварительных экспериментов для иммобилизации клеток фосфатсольюбилизирующего штамма можно использовать минеральные удобрения в качестве носителей.

Иммобилизованные клетки характеризуются большей операционной гибкостью по сравнению со свободными формами. В следующей серии опытов нами изучена иммобилизация клеток фосфатсольюбилизирующей бактерии на минеральных удобрениях «Аммофос», PS-Agro, «Супрефос-NS» и фосфогипсе. Для иммобилизации клеток бактерий использовали физический метод адсорбционной иммобилизации. Способ дешев, прост, универсален и не оказывает стрессовых воздействий на клетки. После иммобилизации клеток бактерий вид минеральных удобрений и фосфогипса не меняется, рассыпчатость не изменяется, гранулы минеральных удобрений не прилипают друг к другу.

Одной из важных задач при исследовании иммобилизованных клеток является их жизнеспособность и сохранность на носителях. Результаты опытов ис-

следования жизнеспособности клеток фосфатсольюбилизирующего штамма на минеральных удобрениях «Аммофос», PS-Agro, «Супрефос-NS» и фосфогипсе в течение 3 месяцев хранения показали, что клетки фосфатсольюбилизирующего штамма хорошо иммобилизовались и сохранялись на минеральном удобрении «Аммофос», титр клеток сразу после высушивания составлял $8,85 \pm 0,38 \lg \text{ КОЕ/г}$, и на протяжении 3 месяцев хранения не наблюдалось снижений титра клеток, который составлял $8,60 \pm 0,32 \lg \text{ КОЕ/г}$. На минеральных удобрениях PS-Agro и «Супрефос-NS» титр клеток был на 3 порядка меньше и составлял $5,20 \pm 0,15$ – $5,40 \pm 0,17 \lg \text{ КОЕ/г}$ по сравнению с минеральным удобрением «Аммофос», на протяжении 3 месяцев хранения на этих минеральных удобрениях также не наблюдалось снижение титра клеток ($5,2$ – $5,1 \pm 0,15 \lg \text{ КОЕ/г}$). Видимо, это связано с тем, что минеральное удобрение «Аммофос» содержит в большом количестве фосфор (45,3%) по сравнению с другими минеральными удобрениями PS-Agro (38,4%) и «Супрефос-NS» (25,2%), для сохранности фосфатсольюбилизирующего штамма.

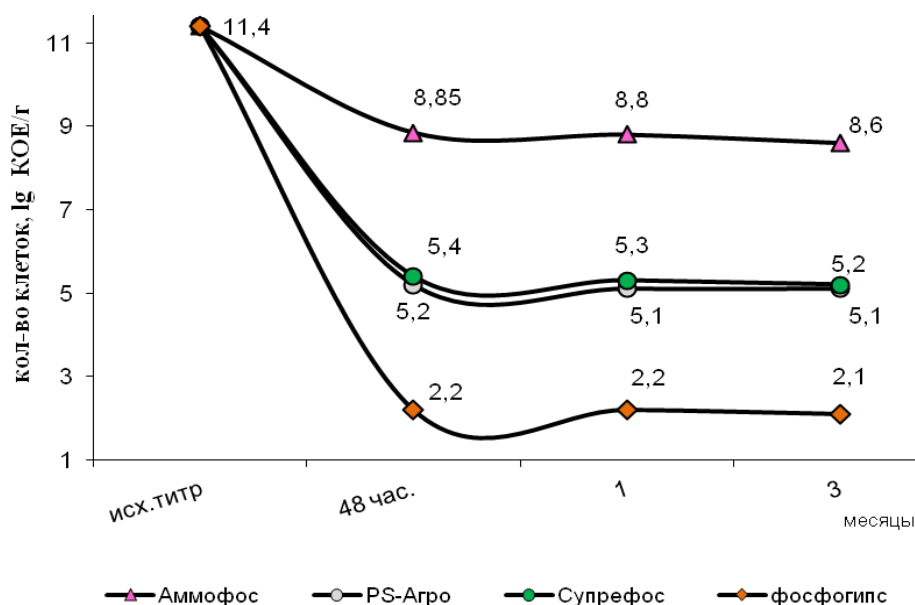


Рисунок 2. Жизнеспособность и сохранность фосфатсольбилизирующих бактерий на минеральных удобрениях и фосфогипсе

Самый меньший титр клеток был на фосфогипсе – $2,20 \pm 0,12$ lg КОЕ/г при исходном титре $11,4 \pm 0,46$ lg КОЕ/мл. Клетки штамма хорошо сохранялись на минеральных удобрениях на протяжении 3 месяцев хранения, снижение титра клеток не наблюдалось, титр клеток составлял от 8,6 до 5,1 lg КОЕ/г (рис. 2).

Полученные нами данные выявили, что изученные минеральные удобрения, кроме фосфогипса, способны предохранять фосфатсольбилизирующие бактерии от гибели и могут быть положены в основу последующих разработок эффективных новых форм биоминеральных удобрений.

Выводы

Проведенные исследования показали, что в гранулы фосфорных удобрений можно иммобилизовать живые клетки фосфатсольбилизирующего штамма *Bacillus subtilis* BS-26. Клетки фосфатсольбилизирующего штамма хорошо иммобилизовались и сохраняли жизнеспособность на минеральных удобрениях, при этом наилучшие результаты получены при иммобилизации штамма на гранулы «Аммофоса».

Список литературы:

1. Дианова Е.В., Ворошилова А.А. Поглощение бактерий почвой и влияние его на микробиологическую деятельность // Научно-агрономический журнал. – 1925. – № 9. – С. 520–542.
2. Курдиш И.К. Гранулированные микробные препараты для растениеводства. Наука и практика. – Киев, 2001. – 142 с.
3. Методы микрoэкологического исследования наземных, водных и воздушных экосистем : учебн. пособие для студентов высших учебных заведений, обучающихся по направлению «Биология» / С.В. Прудникова [и др.]. – Красноярск : СФУ, 2007. – 152 с.
4. Сайдяшева Г.В. Эффективность последствий органических и нетрадиционных удобрений при возделывании яровой пшеницы в Среднем Поволжье: Автореф. дис. ... канд. с.-х. наук. – Ульяновск, 2011. – 19 с.
5. Чеботарь В.К., Завалин А.А., Ариткин А.Г. Применение биомодифицированных минеральных удобрений : монография. – М. : ВНИИА; Ульяновск : УлГУ, 2014. – 142 с.
6. Alori E.T., Glick B.R., Babalola O.O. Microbial phosphorus solubilization and its potential for use in sustainable agriculture // Front. Microbiol. – 2017. – № 8. – P. 971.
7. Effect of organic acids production and bacterial community on the possible mechanism of phosphorus solubilization during composting with enriched phosphate solubilizing bacteria inoculation / Y. Wei, Y. Zhao, M. Shi, Z. Cao [et al.] // Biores. Technol. – 2018. – № 247. – P. 190–199.
8. Soil Microbial Resources for Improving Fertilizers Efficiency in an Integrated Plant Nutrient Management System / Bargaz Adnane, Lyamlouli Karim, Chtouki Mohamed, Zeroual Youssef [et al.] // J. Frontiers in Microbiology. – 2018. – Vol. 9. – P. 1606.