

Чайковская Л.А., Баранская М.И.

Южная исследовательская станция Института сельскохозяйственной микробиологии УААН, пгт. Гвардейское, ул. К. Маркса, 107, АР Крым, 97513, Украина, тел.: +38 (0652) 32 34 76

ВЛИЯНИЕ АГРОСТИМУЛИНА, БИОЛАНА И ЭМИСТИМА С НА РОСТ И ФОСФАТАЗНУЮ АКТИВНОСТЬ *ENTEROBACTER NIMIPRESSURALIS* 32-3

Исследовано влияние регуляторов роста растений (агrostимулин, эмистим С, биолан) на бактерию Enterobacter nimipressuralis 32-3: рост, продуктивность биомассы, активность продуцирования щелочной фосфатазы. Показано, что наибольший прирост биомассы бактерий получен при добавлении в питательные среды биолана и эмистима С (до 26% и 30%, соответственно). Отмечено положительное действие обоих стимуляторов роста на основные показатели роста и активность щелочной фосфатазы, продуцируемой E. nimipressuralis 32-3.

К л ю ч е в ы е с л о в а: регуляторы роста растений, Enterobacter nimipressuralis 32-3, биомасса, фосфатаза.

Создание и разработка биопрепаратов для сельского хозяйства, в частности позволяющих оптимизировать питание растений, является одной из задач современной биотехнологии [1]. Исследования в этом направлении проводятся учеными ИМВ НАН Украины, ИСХМ УААН, а также Южного филиала ИСХМ, в которых созданы эффективные препараты на основе азотфиксирующих и фосфатмобилизующих бактерий.

Как известно, при производстве биопрепаратов важно увеличить выход биомассы и активизировать ферментативную активность микроорганизмов, что достигается посредством оптимизации условий их культивирования и состава питательной среды. Одним из факторов, позволяющих решить эту задачу, является использование биологически активных веществ. Так, выявлено положительное влияние природных регуляторов роста на культуру фосфатмобилизующей бактерии *Bacillus megaterim* 5: отмечено возрастание активности фосфатазы и накопления биомассы [2], а также устойчивость к стрессовым факторам [3].

Цель работы заключалась в исследовании влияния регуляторов роста растений (агrostимулин, эмистим С, биолан) на рост биомассы и продуцирование щелочной фосфатазы штаммом *E. nimipressuralis* 32-3, который является основой биопрепарата фосфоэнтерин [4].



Материалы и методы

Объектом исследований был штамм *E. nimipressuralis* 32-3, способный к мобилизации труднорастворимых органических и неорганических соединений фосфора, выделенный нами из чернозема южного [5].

В опытах использованы регуляторы роста растений нового поколения: агро-стимулин (комплекс регуляторов роста природного происхождения и синтетических аналогов фитогормонов), эмистим С (продукт биотехнологического выращивания грибов-эпифитов из корневой системы лекарственных растений), биолан (усовершенствованный аналог эмистима С), любезно предоставленные директором МНТЦ «Агробиотех» С.П. Пономаренко [6]. Изучалось влияние данных фиторегуляторов на рост и фосфатазную активность штамма *E. nimipressuralis* 32-3. В опытах использована концентрация исследуемых регуляторов роста в диапазоне от 10^{-1} до 10^{-10} г/л.

E. nimipressuralis 32-3 культивировали на двух видах питательных сред: глюкозо-аспарагиновой (глюкоза — 10 г, аспарагин — 1 г, K_2SO_4 — 0,2 г, $MgSO_4$ — 0,2 г, вода — до 1л) и технологической (используемой для приготовления опытных партий биопрепарата фосфоэнтерин) в течение 24 часов при 30 °С в периодических условиях на качалке (230 об/мин). Количественные характеристики роста культуры (удельная скорость роста, число поколений) и рост клеток определены по методикам [7–9]. Активность щелочной фосфатазы определена на биохимическом анализаторе “Собас Mira Plus” (Швейцария) оптимизированным стандартным методом с использованием п-нитрофенил-фосфата по рекомендациям Ассоциации клинической биохимии; единицей измерения ферментативной активности в системе СИ является Е/л [10].

Удельную скорость роста (μ) вычисляли по формуле:

$$\mu = 2,3 \frac{(\lg x_2 - \lg x_1)}{t_2 - t_1} \quad [8],$$

где:

x_1 и x_2 — количество клеток в промежуток времени t_1 и t_2

2,3 — коэффициент перевода в десятичный логарифм

Число поколений вычисляли по формуле:

$$K = \frac{q}{t} \quad [7],$$

где:

t — промежуток времени;

q — продолжительность каждой генерации

Результаты и их обсуждение

Результаты экспериментов свидетельствуют о том, что при культивировании *E. nimipressuralis* 32-3 на глюкозо-аспарагиновой среде наибольший прирост биомассы — 21% и 17% получено при добавлении биолана ($1 \cdot 10^{-10}$ г/л) и эмистима С ($1 \cdot 10^{-10}$ г/л), соответственно (рис.1). Эта же тенденция отмечена и при использовании технологической среды: биолан ($1 \cdot 10^{-9}$ г/л) способствовал увеличению био-

массы на 26%, эместим С — на 31% ($1 \cdot 10^{-10}$ г/л). Добавка агростимулина в питательные среды незначительно повлияла на прирост биомассы *E. nimipressuralis* 32-3: 11% ($1 \cdot 10^{-10}$ г/л) на технологической и 7% ($1 \cdot 10^{-10}$ г/л) — на глюкозо-аспарагиновой средах.

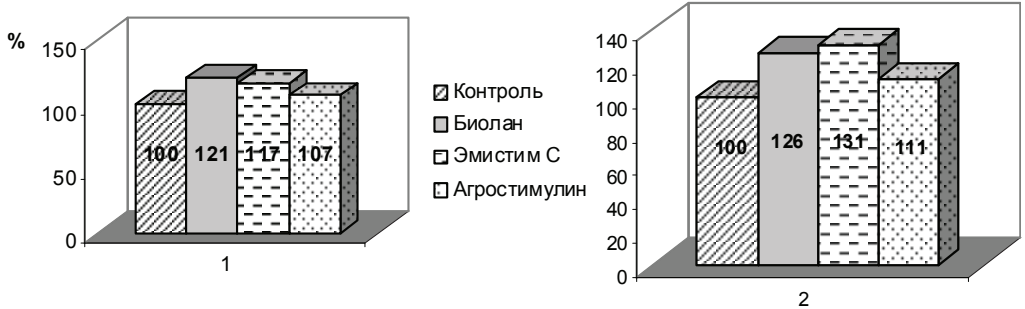


Рис.1. Влияние биолана, эместима С и агростимулина на рост биомассы *E. nimipressuralis* 32-3: 1 — глюкозо-аспарагиновая среда; 2 — технологическая среда

Fig.1. The influence of biolan, emistim C and agrostimulin of growth on productivity of biomass *E. nimipressuralis* 32-3: 1 — glucose-asparagin medium; 2 — technological medium

Показано различное влияние исследованных регуляторов роста на активность щелочной фосфатазы, продуцируемой *E. nimipressuralis* 32-3: при добавке в питательную среду агростимулина она была на уровне контроля (рис. 2). Внесение биолана и эместима С (в концентрации $1 \cdot 10^{-10}$ г/л) способствовало возрастанию активности щелочной фосфатазы до 4–5 Е/л, в тоже время в контроле она составляла 1 Е/л.

Для вычисления удельной скорости роста и числа генераций проведены учеты численности клеток в 10-часовой и 12-часовой культуре бактерий, что соответствовало экспоненциальной фазе роста.

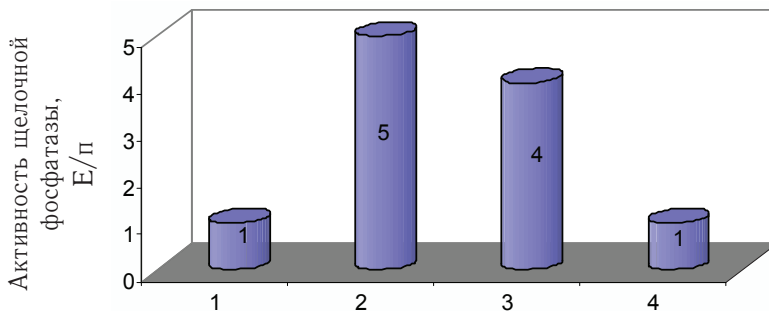


Рис. 2. Влияние регуляторов роста на активность щелочной фосфатазы, продуцируемой бактерией *E. nimipressuralis* 32-3:

1 — контроль, 2 — эместим С, 3 — биолан, 4 — агростимулин

Fig. 2. The influence of the growth regulators on the activity of alkaline phosphatase produced by bacteria *E. nimipressuralis* 32-3:

1 — control; 2 — emistim C; 3 — biolan; 4 — agrostimulin

Исследования показали, что в контроле (без стимуляторов) удельная скорость роста достигала 0,13 делений/час, а число генераций — 0,42. При добавлении в питательную среду биолана ($1 \cdot 10^{-10}$ г/л) удельная скорость роста возрастала в среднем до 0,19 делений/час, а число генераций — до 0,62, что соответствовало повышению этих показателей в 1,5 раза. Влияние эместима С на обсуждаемые показатели было незначительно. Так, наибольшие значения получены при добавлении эместима С ($1 \cdot 10^{-8}$ и $1 \cdot 10^{-8}$ г/л): удельная скорость роста и число генераций возрастали в 1,2 раза по сравнению с контролем и составляли 0,15 делений/час и 0,49 соответственно.

Таким образом, установлено положительное действие изученных регуляторов роста растений на продуктивность биомассы *E. nimipressuralis* 32-3, а также выявлено положительное влияние биолана и эместима С на возрастание удельной скорости, числа генераций и активность щелочной фосфатазы, продуцируемой *E. nimipressuralis* 32-3. Полученные результаты свидетельствуют о перспективности применения этих регуляторов роста растений при производстве бактериального удобрения фосфоэнтерин.

ЛИТЕРАТУРА

1. Підгорський В.С. Мікробні біотехнології: наукові перспективи та умови реалізації // Мікробіологічний журнал. — 2006. — 68, № 2. — С. 3–11.
2. Іутинський О.В., Пономаренко С.П. Вплив нових регуляторів росту рослин на *Bacillus megaterium* 5 — основу фосфобактерину // Наукові записки Тернопільського державного педагогічного університету ім. Володимира Гнатюка. Серія: Біологія. — 2003. — С. 41–45.
3. Іутинський О.В., Піндрус А.А. Резистентність фосфатмобілізівної бактерії *Bacillus megaterium* 5 до стресових факторів. Зб.: Фосфор і калій у землеробстві. Проблеми мікробіологічної мобілізації. — Чернігів — Харків. — 2004. — С. 48–55.
4. Декл. патент № 12537, Україна. Удобрювальний біопрепарат „фосфоентерин” на основі штаму фосфатмобілізуючих бактерій *Enterobacter nimipressuralis* 32-3 / Чайковська Л.О., Мельничук Т.М., Татарин Л.М., Пархоменко Т.Ю., Грітчина Л.Ю., Каменева І.О. Заявл. 01.08.2005. Опубл. 15.02.2006. Бюл. № 2. — 5 с.
5. Декл. патент № 3203, Україна. Штам фосфатмобілізуючих бактерій / Л.О. Чайковська, Т.М. Мельничук. Заявл. 07.06.2004, Опубл. 15.10.2004, Бюл. № 10. — 4 с.
6. *Технологии* применения регуляторов роста растений в земледелии. Методическое пособие. Под ред. Л.А. Анишина, С.П. Пономаренка, В.О. Жилкина, З.М. Грицаенко. — 2006. — Киев. — С. 4–7.
7. *Мікробіологія*. Підручник / За ред. М.Г. Сергійчук, В.К. Позур, А.Т. Вінніков та ін. — Видавничо-поліграфічний центр “Київський університет.” — 2005. — С. 148–154.
8. *Промышленная микробиология* / Под ред. проф. Н.С. Егорова. — М.: Высшая школа. — 1979. — С. 127–128.
9. Пименова М.Н., Гречушкина Н.Н., Азова Л.Г. Руководство к практическим занятиям по микробиологии (малый практикум). — М.: Изд. МГУ. — 1971. — С. 143–144.
10. Rosalki S.B., Foo A.Y., Burlina A. et al. Multicenter evaluation of iso-ALP test kit for measurement of bone alkaline phosphatase activity in serum and plasma // J. Clin. Chem. — 1993. — 39. — P. 648–652.



Л.О. Чайковська, М.І. Баранська

Південна дослідна станція Інституту сільськогосподарської мікробіології УААН, смт. Гвардійське, вул. К. Маркса, 107, АР Крим, 97513, Україна, тел.: +38 (0652) 32 34 76

**ВПЛИВ АГРОСТИМУЛІНУ, ЕМІСТИМУ С, БІОЛАНУ НА РІСТ
І ФОСФАТАЗНУ АКТИВНІСТЬ
ENTEROBACTER NIMIPRESSURALIS 32-3**

Реферат

Досліджено вплив регуляторів росту рослин (агrostимулін, емістим С, біолан) на *Enterobacter nimipressuralis* 32-3: ріст, продуктивність біомаси, активність продукування лужної фосфатази. Виявлено, що найбільший приріст біомаси бактерій спостерігався при додаванні в поживні середовища біолану та емістиму С (до 26% і 30%, відповідно). Відмічено також позитивну дію обох стимуляторів на основні показники росту та активність лужної фосфатази, яку продукує *E. nimipressuralis* 32-3.

К л ю ч о в і с л о в а: регулятори росту рослин, бактерія *E. nimipressuralis* 32-3, біомаса, фосфатаза.

L.O. Chaykovska, M.I. Baranska

Southern Branch of Institute of Agricultural Microbiology of NASU,
urban vil. Gvardejskie, K. Marx str., 107, AR Crimea, 97513, Ukraine
tel.: +38 (0652) 32 34 76

**INFLUENCE OF AGROSTIMULIN, EMISTIM C, BIOLAN
ON GROWTH AND ACTIVITY OF PHOSPHATASE
ENTEROBACTER NIMIPRESSURALIS 32-3**

Summary

The influence of plants growth regulators (agrostimulin, emistim C, biolan) on bacterium *E. nimipressuralis* 32-3 (growth, biomass productivity, alkaline phosphatase activity) has been investigated. It has been revealed that addition of biolan and emistim C increases bacterium biomass (26% and 30% relatively). The positive influence of both growth regulators on basic growth exponent and activity indices of alkaline phosphatase has been recorded.

К e y w o r d s: growth regulators of plants, bacterium *E. nimipressuralis* 32-3, biomass, phosphatase.

