

**МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ**  
**БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ**  
**БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ**  
**Кафедра микробиологии**

**ШКЕЛЬ**

Анна Владимировна

**ВЫДЕЛЕНИЕ И ОТБОР АЗОТФИКСИРУЮЩИХ  
И ФОСФАТМОБИЛИЗУЮЩИХ БАКТЕРИЙ С ЦЕЛЬЮ СОЗДАНИЯ  
ИНОКУЛЯНТА ДЛЯ РЫБОВОДНЫХ ПРУДОВ**

Аннотация

к дипломной работе

Научный руководитель:  
ведущий научный сотрудник,  
кандидат биологических наук  
Сафронова Г.В.

Минск, 2019

## АННОТАЦИЯ

*Объекты исследования:* выделенные из прудовой воды азотфиксирующие бактерии *Pseudomonas* sp. 10А и фосфатмобилизующие бактерии *Pseudomonas* sp. 7Ф.

*Цель:* получить на основе выделенных из прудовой воды и отобранных азотфиксирующих и фосфатмобилизующих бактериальных штаммов эффективный инокулянт для рыбоводных прудов.

Актуальность выбранной темы заключается в том, что инокулянты на основе азотфиксирующих и фосфатмобилизующих микроорганизмов имеют важное практическое значение в прудовом рыбоводстве: они увеличивают содержание водорастворимых форм азота и фосфора в прудовой воде, что позволит обеспечить повышение продуктивности прудового рыбоводства недорогим экологически безопасным способом.

В результате выполненных исследований из водных микробных ценозов рыбоводных прудов выделены и отобраны азотфиксирующий бактериальный штамм *Pseudomonas* sp. 10А (по обильному росту на среде Эшби и наличию *nifH*-гена) и фосфатмобилизующий бактериальный штамм *Pseudomonas* sp. 7Ф (по наличию зоны «галло»).

Инокулянт для рыбоводных прудов создан смешиванием в соотношении 1:1 культуральных жидкостей штаммов *Pseudomonas* sp. 10А и *Pseudomonas* sp. 7Ф, полученных методом глубинного культивирования на шейкере-инкубаторе в 2 л колбах Эрленмейера с коэффициентом заполнения 0,4: среда культивирования – модифицированная среда Мейнелла, объем инокулята – 1 об.%, скорость вращения – (180±10) об./мин, температура (28±2) °С, время культивирования – 48 часов. Общий титр жизнеспособных клеток псевдомонад в бинарном инокулянте более  $1 \times 10^9$  КОЕ/мл. Полученный бинарный инокулянт сохранял титр жизнеспособных клеток биоагентов на уровне экологически значимой величины в течение 3 мес. хранения (+4 °С). Интродукция созданного бинарного инокулянта повышала по сравнению с контролем в воде модельных опытов содержание суммарного азота на 0,05 мг N/л и общего фосфора – на 22 мг P/л.

**МІНІСТЭРСТВА АДУКАЦЫІ РЭСПУБЛІКІ БЕЛАРУСЬ**  
**БЕЛАРУСКІ ДЗЯРЖАЎНЫ ЎНІВЕРСІТЭТ**  
**БІЯЛАГІЧНЫ ФАКУЛЬТЭТ**  
**Кафедра мікрабіялогіі**

**ШКЕЛЬ**  
Ганна Уладзіміраўна

**ВЫЛУЧЭННЕ І АДБОР АЗОТФІКСУЮЧЫХ І**  
**ФАСФАТМАБЛІЗУЮЧЫХ БАКТЭРЫЙ З МЭТАЙ СТВАРЭННЯ**  
**ІНАКУЛЯНТА ДЛЯ РЫБАВОДНЫХ САЖАЛАК**

Анатацыя да дыпломнай працы

Навуковы кіраўнік:  
вядучы навуковы супрацоўнік,  
кандыдат біялагічных навук  
Сафронава Г.В.

Мінск, 2019

## АНАТАЦЫЯ

*Аб'екты даследавання:* выдзеленыя з вады сажалак азотфіксуючыя бактэрыі *Pseudomonas* sp. 10А і фасфатмабілізучыя бактэрыі *Pseudomonas* sp. 7Ф.

*Мэта:* атрымаць на аснове выдзеленых з вады сажалак і адабраных азотфіксуючых і фасфатмабілізуючых бактэрыяльных штамаў эфектыўны інакулянт для рыбавытворчасці.

Актуальнасць абранай тэмы заключаецца ў тым, што інакулянты на аснове азотфіксуючых і фасфатмабілізуючых мікраарганізмаў маюць вялікае практычнае значэнне ў сажалкавым рыбаходстве: яны павялічваюць утрыманне водарастваральных формаў азоту і фосфару ў вадзе, што дасць магчымасць павысіць прадуктыўнасць сажалкавага рыбаходства недарагім экалагічна бяспечным спосабам.

Пры правядзенні даследаванняў вывучаны склад і структура мікробных цэнозаў 2-х рыбаходных сажалак. Выдзелены з вады рыбаходных сажалак і адабраны для стварэння інакулянта азотфіксуючы бактэрыяльны штам *Pseudomonas* sp. 10А, які змяшчае *nifH*-ген, і фасфатмабілізуючы бактэрыяльны штам *Pseudomonas* sp. 7Ф, які ўтварае зоны растварэння фасфатаў кальцыя дыяметраў 8,2 мм.

Інакулянт для рыбаходных сажалак створаны змешваннем у суадносінах 1:1 культуральных вадкасцяў штамаў *Pseudomonas* sp. 10А і *Pseudomonas* sp. 7Ф, атрыманых метадам глыбіннага культывавання на шэйкеры-інкубатары ў 2 л колбах Эрленмейера з каэфіцыентам запаўнення 0,4: асяроддзе – мадыфікаванае асяроддзе Мейнелла, аб'ём інакулянта – 1 аб.%, хуткасць вярчэння –  $(180 \pm 10)$  аб./хв, тэмпература –  $(28 \pm 2)$  °С, час культывавання – 48 гадзін. Атрыманы бінарны інакулянт захоўваў цітр жыццяздольных клетак біяагентаў на ўзроўні экалагічна значнай велічыні на працягу 3 мес захоўвання (+ 4 °С). Інтрадукцыя створанага бінарнага інакулянта павялічвала ў параўнанні з кантролем у вадзе мадэльных эксперыментаў утрыманне сумарнага азоту на 0,05 мг N /л і агульнага фосфару – на 22 мг P /л.

**THE MINISTRY OF EDUCATION, BELARUS REPUBLIC**  
**BELORUSIAN STATE UNIVERSITY**  
**BIOLOGICAL FACULTY**  
**Department of Microbiology**

**SHKEL HANNA**

**ISOLATION AND SELECTION OF NITROGEN-FIXING  
AND PHOSPHATE-MOBILIZING BACTERIA TO CREATE INOCULUM  
FOR FISH PONDS**

Abstract of the thesis work

Scientific supervisor:  
leading researcher,  
Ph. D. in Biol.  
Safronava G.V.

Minsk, 2019

## ABSTRACT

*Objects of study:* fish pond isolates: nitrogen-fixing strain *Pseudomonas* sp. 10A and phosphate-mobilizing strain *Pseudomonas* sp. 7F.

*Aim of study:* to derive efficient fish pond inoculums consisting of nitrogen-fixing and phosphate-mobilizing bacterial strains isolated from pond water and subjected to further selection.

The relevance of the chosen topic lies in the fact that the inoculants based on nitrogen-fixing and phosphate-mobilizing microorganisms are of great practical importance in pond fish farming they increase the content of water-soluble forms of nitrogen and phosphorates in pond water, which will increase the productivity of pond fish farming in an inexpensive environmentally safe way.

As a result of the research the composition and structure of microbial communities of 2 fish ponds were studied. Nitrogen-fixing bacterial strain *Pseudomonas* sp. 10A containing *nifH*-gene and phosphate-mobilizing bacterial strain *Pseudomonas* sp. 7F producing calcium phosphate dissolution zones 8.2 mm in diameter were isolated from fish pond water and selected to further serve as inoculums components.

Fish pond inoculums results from mixing in 1:1 proportion cultural liquids of strains *Pseudomonas* sp. 10A and *Pseudomonas* sp. 7F produced by submerged fermentation in the shaker-incubator in 2-l Erlenmeyer flasks with filling factor 0.4: the modified Meynell medium with seeding volume 1% (v/v), at temperature (28±2) °C and rotation rate (180±10) rpm.

Overall titer of viable pseudomonades cells in binary inoculums exceeded the value  $1 \times 10^9$  CFU/ml.

The derived binary inoculums mixture maintained the titer of bioactive cells at the ecologically significant level during 3 months of storage at +4 °C. Introduction of binary inoculums into the water in the course of model experiments raised the content of total nitrogen by 0.05 mg N/l and total phosphorus by 22 mg P/l in comparison with the control.