



УКРАЇНА

(19) UA (11) 39715 (13) U  
(51) МПК (2009)  
C12N 1/20МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІОПИС  
ДО ПАТЕНТУ  
НА КОРИСНУ МОДЕЛЬвидається під  
відповідальність  
власника  
патенту

## (54) ПОЖИВНЕ СЕРЕДОВИЩЕ ДЛЯ КУЛЬТИВУВАННЯ БАКТЕРІЙ РОДУ AZOTOBACTER

(21) u200811621

(22) 29.09.2008

(24) 10.03.2009

(46) 10.03.2009, Бюл.№ 5, 2009 р.

(72) КОЗАР СЕРГІЙ ФЕДОРОВИЧ, UA, ЖЕРЕБОР  
ТЕТЯНА АНАТОЛІВНА, UA, УСМАНОВА ТЕТЯНА  
ОСКАРІВНА, UA(73) ІНСТИТУТ СІЛЬСЬКОГОСПОДАРСЬКОЇ МІК-  
РОБІОЛОГІЇ УКРАЇНСЬКОЇ АКАДЕМІЇ АГРАРНИХ  
НАУК, UA(57) Поживне середовище для культивування бак-  
терій роду Azotobacter на основі горохового відва-  
ру, яке відрізняється тим, що додатково міститьлектин картоплі, при наступному співвідношенні  
компонентів:

гороховий відвар	0,1л
цукор	40,0г/л
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	1,0г/л
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> × 2H <sub>2</sub> O	0,5г/л
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0,5г/л
MgSO <sub>4</sub> × 7H <sub>2</sub> O	0,3г/л
CaCO <sub>3</sub>	1,0г/л
вода до	1л
лектин картоплі	0,001-0,005г/л.

Корисна модель відноситься до галузі сільсь-  
когосподарської мікробіології і може бути викорис-  
тана для культивування мікроорганізмів.

Відомі синтетичні поживні середовища для  
культивування бактерій роду Azotobacter [1,2].

В практиці широко використовується  
синтетичне поживне середовище Ешбі для  
культивування азотобактера такого складу (г/л):  
маніт (глюкоза, або сахароза) - 20; K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> - 0,2;  
KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> - 0,2; MgSO<sub>4</sub> × 7H<sub>2</sub>O - 0,2; NaCl - 0,2; K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>  
- 0,1; CaCO<sub>3</sub> - 5,0; вода до 1л, pH 6,8 - 7,0 [1, 2, 3,  
4]. Недоліком даного середовища є недостатньо  
висока ростова активність вирощуваних у ньому  
мікроорганізмів.

В основу корисної моделі поставлено завдан-  
ня створити поживне середовище, використання  
якого підвищить ростову активність бактерій роду  
Azotobacter.

Поставлене завдання вирішується тим, що як  
поживну основу середовища для культивування  
бактерій роду Azotobacter застосовано напівсинте-  
тичне поживне середовище на основі горохового  
відвару наступного складу (г/л): гороховий відвар -  
0,1л; цукор - 40,0; (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> - 1,0; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> × 2H<sub>2</sub>O -  
0,5; K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> - 0,5; MgSO<sub>4</sub> × 7H<sub>2</sub>O - 0,3; CaCO<sub>3</sub> - 1,0;  
вода до 1л [5], яке додатково містить 0,001 - 0,005  
лектину картоплі.

Поживне середовище готується таким чином:

I етап. Приготування горохового відвару.

Насіння гороху в кількості 100г заливають 1л  
води і кип'ятять протягом 40 хвилин. Відвар фільт-

рують через марлю або ватно-марлевий фільтр та  
доводять об'єм водою до 1л;

II етап. Приготування поживного середовища з  
гороховим відваром.

Гороховий відвар, цукор, амоній сірчаноокислий  
(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, калій фосфорнокислий однозамінний  
(KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>), калій фосфорнокислий двозамінний  
(K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> × H<sub>2</sub>O), магній сірчаноокислий (MgSO<sub>4</sub> ×  
7H<sub>2</sub>O), кальцій вуглекислий (CaCO<sub>3</sub>) розчиняють у  
воді, об'єм розчину доводять до 1л, визначають і  
встановлюють pH 7,0-7,2 та розливають в колби.  
Середовище в колбах стерилізують автоклавуван-  
ням при тиску 1атм. протягом 20 хвилин;

III етап. Додавання лектину картоплі.

В охолоджене стерильне поживне середовище  
на основі горохового відвару вносять 0,001 -  
0,005г/л лектину картоплі.

Використання напівсинтетичного поживного  
середовища на основі горохового відвару з лекти-  
ном картоплі для культивування бактерій роду  
Azotobacter сприяє збільшенню титру й константи  
швидкості поділу мікроорганізмів та зменшенню  
тривалості генерації бактерій.

Нижченаведені приклади пояснюють суть ви-  
находу.

Приклад 1.

Бактерії роду Azotobacter культивували при  
температурі 27 ± 2°С у рідкому напівсинтетичному  
середовищі на основі горохового відвару та в син-  
тетичному середовищі Ешбі протягом 72 годин на  
підвісних мікробіологічних качалках. При вивченні  
впливу лектину картоплі (придбаного в науково-

(13) U  
(11) 39715  
(19) UA

виробничому кооперативі "Лектинотест", м. Львів) на досліджувані мікроорганізми, у поживне середовище вносили його в діапазоні концентрацій 0,0002-0,02г/л (табл. 1).

Встановлено, що найвища ростова активність мікроорганізмів спостерігається в напівсинтетич-

ному поживному середовищі на основі горохового відвару за використання лектину картоплі в концентрації 0,002г/л, при цьому титр мікроорганізмів збільшується на 166-228% порівняно з прототипом.

Таблиця 1

Вплив лектину картоплі на ростову активність бактерій роду *Azotobacter*

Штам	Середовище Ешбі	Середовище на основі горохового відвару з лектином картоплі, г/л			
		0	0,0002	0,002	0,02
<i>A. vinelandii</i> M-X, млрд. кл./мл	4,12 ± 0,83	7,23 ± 1,38	8,84 ± 1,48	10,94 ± 1,48	5,59 ± 0,60
<i>A. chroococcum</i> M-70, млрд. кл./мл	3,08 ± 0,20	6,16 ± 0,96	8,07 ± 1,24	10,11 ± 1,60	4,14 ± 0,38
<i>A. vinelandii</i> і <i>A. Chroococcum</i> M-70/2, млрд. кл./мл	5,30 ± 0,64	8,64 ± 1,34	9,28 ± 2,0	14,37 ± 2,67	6,54 ± 0,9
<i>A. vinelandii</i> B-6017УКМ, млрд. кл./мл	3,89 ± 0,35	6,42 ± 0,95	7,37 ± 1,0	10,47 ± 1,29	5,43 ± 0,66
<i>A. chroococcum</i> B-6003 УКМ, млрд. кл./мл	4,10 ± 0,12	6,79 ± 0,74	8,35 ± 1,40	12,49 ± 2,50	4,63 ± 0,27

Приклад 2.

З метою визначення оптимальної концентрації лектину картоплі в поживному середовищі на основі горохового відвару для підвищення ростової активності бактерій роду *Azotobacter* було викори-

стано його наступні концентрації: 0,001; 0,002; 0,003; 0,004; 0,005 г/л. З даних, наведених у табл. 2, видно, що всі використані концентрації лектину стимулюють ростову активність мікроорганізмів.

Таблиця 2

Ріст бактерій роду *Azotobacter* у середовищі на основі горохового відвару з лектином картоплі

Штам	Вміст лектину картоплі в поживному середовищі, г/л					
	0	0,001	0,002	0,003	0,004	0,005
<i>A. vinelandii</i> M- X, млрд. кл./мл	8,0 ± 1,03	11,67 ± 2,19	12,67 ± 1,76	11,67 ± 1,76	11,33 ± 1,77	10,67 ± 0,88
<i>A. chroococcum</i> M-70, млрд. кл./мл	7,33 ± 0,88	10,0 ± 1,53	11,33 ± 2,40	12,0 ± 1,15	9,67 ± 1,40	10,33 ± 2,03
<i>A. vinelandii</i> і <i>A. chroococcum</i> M-70/2, млрд. кл./мл	10,67 ± 1,20	16,33 ± 1,20	17,67 ± 1,76	17,90 ± 0,88	17,0 ± 1,73	17,33 ± 1,76
<i>A. vinelandii</i> B-6017УКМ, млрд. кл./мл	7,33 ± 0,67	10,33 ± 0,88	11,67 ± 2,03	11,0 ± 1,57	9,67 ± 1,20	9,33 ± 1,0
<i>A. chroococcum</i> B-6003 УКМ, млрд. кл./мл	7,67 ± 0,88	12,67 ± 1,76	13,0 ± 1,53	12,33 ± 1,45	12,0 ± 1,53	11,33 ± 1,20

Приклад 3.

Визначено залежність константи швидкості поділу ( $\nu$ ) і тривалості генерації (g) бактерій роду *Azotobacter* від вмісту в напівсинтетичному поживному середовищі на основі горохового відвару лектину картоплі.

Вивчення впливу лектину картоплі на ростову активність мікроорганізмів показало, що в експо-

тенційній фазі росту бактерій, константа швидкості поділу мікроорганізмів у поживному середовищі з 0,001г/л лектину картоплі збільшилась на 8 - 20%, тривалість генерації мікроорганізмів у результаті культивування зменшилась на 6,9 - 18,1%.

Таблиця 3

Залежність константи швидкості поділу ( $\nu$ ) і тривалості генерації ( $g$ ) бактерій роду *Azotobacter* від вмісту в поживному середовищі лектину картоплі

Штам	$\nu$ , год. <sup>-1</sup>		$g$ , год.	
	Середовище без лектину картоплі	Середовище з лектином картоплі	Середовище без лектину картоплі	Середовище з лектином картоплі
<i>A. vinelandii</i> M-X	0,150 ± 0,008	0,162 ± 0,002	6,62 ± 0,09	6,16 ± 0,08
<i>A. chroococcum</i> M-70	0,142 ± 0,003	0,154 ± 0,001	7,07 ± 0,16	6,51 ± 0,04
<i>A. vinelandii</i> і <i>A. chroococcum</i> M-70/2	0,224 ± 0,008	0,243 ± 0,003	4,64 ± 0,07	4,30 ± 0,10
<i>A. vinelandii</i> B-6017УКМ	0,160 ± 0,002	0,175 ± 0,003	6,27 ± 0,08	5,71 ± 0,09
<i>A. chroococcum</i> B-6003 УКМ	0,145 ± 0,001	0,176 ± 0,003	6,92 ± 0,07	5,67 ± 0,10

## Література

1. Біологічний азот / [В.П. Патики, С.Я. Коць, В.В. Волкогон та ін.]; за ред. В.П. Патики. - К.: Світ, 2003. - 424 с. - Авт. зазначено на звороті тит. арк. - ISBN 966-7683-35-4.
2. Сэги И. Методы почвенной микробиологии / И. Сэги; [пер. с венг. И.Ф. Куренного]. - М.: Колос, 1983. - 296с.
3. Теппер Е.З. Практикум по микробиологии / Е.З. Теппер, В.К. Шильникова, Г.И. Переверзева - М.: Колос, 1993. - 175 с.: ил. - ISBN 5-10-002834-3.

4. Векірчик К.М. Практикум з мікробіології: [навч. посібник] / К.М. Векірчик-К.: Либідь, 2001. - 144с.

5. Хотянович А.В. Методы культивирования азотфиксирующих бактерий, способы получения и применения препаратов на их основе: методические рекомендации / А.В. Хотянович. - ВНИИСХМ. - Ленинград, 1991.-54с.