



СОЮЗ СОВЕТСКИХ
СОЦИАЛИСТИЧЕСКИХ
РЕСПУБЛИК

ДЛЯ СЛУЖЕБНОГО ПОЛЬЗОВАНИЯ ЭКЗ. № 000126

(19) SU (11) 1266027 A1

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ КОМИТЕТ СССР
ПО ДЕЛАМ ИЗОБРЕТЕНИЙ И ОТКРЫТИЙ

(5D) 4 A 01 N 63/00, C 05 F 11/08//
C 12 N 1/20, C 12 R 1:065

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К АВТОРСКОМУ СВИДЕТЕЛЬСТВУ

(21) 3782960/30-15

(22) 15.08.84

(71) Ордена Трудового Красного Зна-
мени институт микробиологии и виру-
сологии им. Д.К. Заболотного

(72) А.Ф. Антипчук, Р.М. Канцелярук,
Е.В. Танцуренко, Н.Н. Скочинская
и В.Н. Рангелова

(53) 576.8.078(088.8)

(56) Рубенчик Л.И. Азотобактер и его
применение в сельском хозяйстве,
Киев, 1960, с.328.

(54) ШТАММ АЗОТОВАКТЕР CHROOCOCUM
ВНИИСМ-20, ПРЕДНАЗНАЧЕННЫЙ ДЛЯ ИЗГО-
ТОВЛЕНИЯ АЗОТОВАКТЕРИНА ПОД ОВОЩНЫЕ
КУЛЬТУРЫ

(57) Штамм Azotobacter chroococum
ВНИИСМ-20, предназначенный для из-
готовления азотобактерина под овощ-
ные культуры.



(19) SU (11) 1266027 A1

Изобретение относится к микробиологической промышленности и сельскому хозяйству.

Цель изобретения - получение штамма, способствующего повышению урожайности овощных культур при одновременном улучшении качества их плодов за счет увеличения содержания в них витамина С и повышения сахаристости.

Указанным требованиям соответствует штамм *Azotobacter chroocosum* ВНИИСМ-20 (В-2662). Штамм депонирован в коллекции культур ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии под номером 20 и в Центральном музее промышленных микроорганизмов института "ВНИИгенетика" под номером В-2662.

Штамм выделен из черноземной почвы Херсонской области, идентифицирован по "Краткому определителю бактерий Берджи",

Морфолого-культуральные признаки.

Azotobacter chroocosum В-2662 - культура неспоронная, аэробная, грамтрицательная, подвижная. Клетки имеют вид толстых крупных палочек с закругленными концами, часто соединенные попарно. Имеют длину 4,4 мкм и объем 22,21 мкм³. На твердой безазотистой среде Эшби (дистиллированная вода 1 л, маннит 20 г, K₂HPO₄ 0,2 г, MoO₄ 0,2 г, AsCl 0,2 г, K₂O₄ 0,1 г, мел 5,0 г, агар 1,5 г/ образует слизистые, выпуклые, гладкие колонии, окрашенные в коричневый цвет. При выращивании на качалках на жидкой безазотистой среде Эшби при 220-240 об/мин и температуре 28-30°C скорость размножения составляет 1,8 поколений в 1 сут, что на 28% выше, чем у штамма - прототипа.

Физиолого-биохимические свойства.

Культура быстрорастущая. Не растет на белковых средах. Не разжижает желатины. Слабо пептонизирует молоко. Восстанавливает нитраты до нитритов. Активно продуцирует ростовые вещества, витамины группы В, сдерживает рост и развитие фитопатогенных грибов. Азотфиксирующая активность штамма В-2662 увеличивалась с возрастом, ее оптимум наблюдался на 5-6 сутки. Количество фиксированного азота 8,4 мг на 1 г усвоенного сахара или 57 мг на 1 г сухой биомассы клеток.

Признаки штамма устойчивы. Пересевается один раз в 6 мес. и хранится на твердой среде Эшби при 5-7°C.

Штамм *Az. chroocosum* В-2662 не патогенен и предназначен для изготовления бактериального удобрения азотбактерином под овощные культуры.

Предлагаемый штамм В-2662 обладает большей скоростью размножения. При использовании его в качестве основы изготовления азотбактерина промышленным способом можно получить биомассу 0,8-1 млрд клеток в 1 мл культуральной среды. Предлагаемый штамм обладает высокой способностью фиксации атмосферного азота: из расчета на 1 г потребленного сахара он фиксирует на 55% больше азота, из расчета на 1 г сухой биомассы - на 42% больше (см. табл. 1, интенсивно продуцирует ауксины, витамин В₆ и вещества, сдерживающие рост фитопатогенных грибов. Это свойство важно также из-за того, что при промышленном использовании его в качестве основы азотбактерина улучшается снабжение растений биологически активными веществами, в результате чего увеличивается их урожайность и качество плодов. В 1982 г. в теплицах совхоза "Киевская овощная фабрика" в результате обработки рассады огурцов сорта ТСХА-1 азотбактерином, изготовленным на штамме В-2662 на площади 500 м², была получена средняя прибавка урожая по 1,5 кг с 1 м² по сравнению с контролем без бактериализации. Экономический эффект 15 тыс. рублей с 1 га. В 1983 г. в результате бактериализации рассады томатов и огурцов азотбактерином тем же штаммом была получена на площади 5220 м² общая прибавка урожая овощей 8314 кг. Экономический эффект 15,3 тыс. рублей с 1 га.

В теплицах совхоза "Львовская овощная фабрика" в 1982 г. при бактериализации рассады огурцов сорта "Московский тепличный" азотбактерином, изготовленным на основе штамма В-2662, получена прибавка урожая от 3,8 до 7,7 кг с 1 м². Экономический эффект 21-25 тыс. руб. с 1 га.

Таким образом, предлагаемый штамм В-2662 существенно повышает урожай и качество плодов овощных культур.

В табл. 1 приведена сравнительная характеристика штамма *Azotobacter chroocosum* В-2662 и штамма-прототипа *Azotobacter chroocosum* штамм КХ.

Скорость размножения учитывалась по приросту численности клеток азото-

бактера сравниваемых штаммов при выращивании на жидкой среде на качалках. На основании полученных данных рассчитывали время генерации и количество поколений в сутки.

Активность азотфиксации определялась по методу Кьельдаля, образование ауксинов – по методу биотестов на отрезках коллиоптелей пшеницы и листовых черешков фасоли, образование витамина В₆ – по методу Е.Н.Одиной.

Способность сдерживать или подавлять рост и развитие фитопатогенных грибов определялась методом блоков и цилиндров, помещаемых на газоны тест-культур, выращенных на сусло-агаре. Стерильные блоки фильтровальной бумаги диаметром 0,5 см пропитывали, а стерильные стеклянные цилиндры объемом 0,2 мл заполняли трёхсуточными культурами сравниваемых штаммов азотобактера. В качестве тест-культур использовали фитопатогенные грибы *Fusarium culmorum*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium sambucinum*, *Fusarium gibbosum*, *Fusarium avenaceum*.

Содержание сахаров в плодах и листьях бактеризованных растений определяли по методу Бертрана, содержание аскорбиновой кислоты в плодах и листьях бактеризованных растений по методу И.Мурри.

П р и м е р. Жидкий азотобактерин для обработки овощных культур получают выращиванием штамма *Azotobacter chroococcum* ВНИИСМ-20 на жидкой без-

азотистой среде Эмби следующего состава, г:

Маннит	20
K ₂ HPO ₄	0,2
MoO ₄ · 7H ₂ O	0,2
NaCl	0,2
K ₂ O ₄	0,1
	5

Вода дистиллированная 1 л

Рассаду томатов и огурцов обрабатывают жидким азотобактерином на основе штамма *Azotobacter chroococcum* ВНИИСМ-20 методом полива горшочков перед высадкой в субстрат (грунт, минеральная вата, щебень и др.) или обмакиванием корней при никировке. Расход культуры 5 мл на одно растение. Титр культуры 0,8 – 1 млрд клеток в 1 мл культуральной среды.

Обработку семян томатов и огурцов проводят методом замачивания их перед высадкой в грунт в культуре с указанным титром микроорганизмов в течение 10–12 ч при 20°C.

Опыты проведены в теплице при соблюдении требований агротехники возделывания овощных культур (1981 г). Действие штамма проверяли на сортах томатов "Украинец" (см.табл.2) и "Украинский тепличный" (см.табл.3) и сортах огурцов "ТСХА-1" (см.табл.4) и "Эстафета" (см.табл.5). В качестве контроля использовали *Azotobacter chroococcum* штамм К. Опыты проводили в четырехкратной повторности.

Т а б л и ц а 1

Показатели	Штамм	
	В-2662	К(прототип)
Скорость размножения (количество поколений) сут	1,8	1,4
Азотфиксация, мгN на 1 г потребленного сахара	8,4	5,4
Азотфиксация, мгN на 1 г сухой биомассы	57,0	40,2
Образование ауксинов мкг/л среды	2,9	Следы
Образование витамина В ₆ мкг/г сухой биомассы	4,8	3,7
Способность сдерживать или подавлять грибы	3 вида	2 вида

Продолжение табл. 1

Показатели	Штамм	
	В-2662	К(прототип)
Содержание сахаров в плодах томатов четырех сортов, бактеризованных азотобактерином (средние данные), % на глюкозу	4,2	3,6
Содержание аскорбиновой кислоты в плодах томатов, бактеризованных азотобактерином, выращенным в закрытом грунте, мг в 100 г мякоти	12,1	10,8
Содержание сахаров в листьях капусты, бактеризованной азотобактерином, % на глюкозу	5,4	4,8
Содержание аскорбиновой кислоты в листьях капусты, бактеризованной азотобактерином	40,0	18,4
Прибавка урожая капусты, бактеризованной азотобактерином, % к контролю без бактеризации	96,2	82,7

Т а б л и ц а 2

Штамм, использованный для бактеризации	Урожай, кг с 1 м ²			
	1	2	3	4
К	18,4	17,4	16,9	17,1
10	20,7	20,1	19,6	21,4

 $K_2HPO_4 = \pm 0,3 \text{ кг}; P\% = 1,58; HCP_{0,5} = 1,34 \text{ кг/м}^2$

Т а б л и ц а 3

Штамм, использованный для бактеризации	Урожай, кг с 1 м ²			
	1	2	3	4
К	13,4	12,9	14,0	13,6
10	16,0	15,8	16,1	15,2

 $K_2HPO_4 = \pm 0,2 \text{ кг}; P\% = 1,36; HCP_{0,5} = 0,9 \text{ кг/м}^2$

Т а б л и ц а 4

Штамм, использованный для бактеризации	Урожай, кг с 1 м ²			
	1	2	3	4
К	29,7	28,4	30,1	29,8
10	34,8	35,0	33,5	35,2

 $K_2HPO_4 = \pm 0,5 \text{ кг}; P\% = 1,56; HCP_{0,5} = 2,3 \text{ кг/м}^2$

Т а б л и ц а 5

Штамм, использованный для бактеризации	Урожай, кг с 1 м ²			
	1	2	3	4
К	23,3	22,2	23,5	23,6
10	25,5	26,2	25,4	25,8
$K_2HPO_4 = \pm 0,3$ кг; $P\% = 1,23$; $НСР_{0,5} = 1,3$ кг/м ²				

Редактор Г. Бельская · Составитель Л. Чибисова
Техред Л. Сердюкова · Корректор В. Бутяга

Заказ 976/ДСП · Тираж 410 · Подписное

ВНИИПИ Государственного комитета СССР

по делам изобретений и открытий

113035, Москва, Ж-35, Раушская наб., д. 4/5

Производственно-полиграфическое предприятие, г. Ужгород, ул. Проектная, 4

2 2154