

Азотфиксирующие микроорганизмы как факторы интенсификации кормовой базы рыбовосадочного материала

Татьяна Савчиц¹, Зинаида Алещенкова¹, Галина Сафронова¹, Сергей Пантелей²,
Галина Воронова²

Институт микробиологии НАН Беларуси¹, Институт рыбного хозяйства²

Основной задачей индустриального производства рыбной продукции является обеспечение максимально быстрого достижения объектами аквакультуры товарной массы на ограниченной площади. Условия интенсивного выращивания являются постоянно действующими факторами стресса, которые приводят к снижению темпа роста рыбы и высокой подверженности различным заболеваниям. Перспективным направлением в рыбоводстве является использование экологически безопасных микробных препаратов, созданных на основе природных штаммов азотфиксирующих бактерий, применение которых приводит к накоплению биологического азота в водоемах, что является необходимым условием высокоэффективного производства.

Микробные препараты, азотфиксирующие бактерии, кормовая база, рыбопродуктивность, интродукция

Введение

Обеспечение объектов культивирования рыбоводных прудов естественной кормовой базой, особенно на самых ранних стадиях их развития, остается одной из актуальных проблем рыбоводства. В связи с этим большое значение уделяется направленному развитию естественной кормовой базы. Оно предусматривает проведение комплекса мероприятий, основными среди которых является использование минеральных и органических удобрений. Однако их применение сопряжено с ухудшением экологической ситуации в водоеме. Альтернативой традиционным удобрениям могут быть удобрения нового поколения - микробные препараты. Бактерии, составляющие их основу, эффективно размножаются в экосистеме пруда не создавая угрозы биогенного загрязнения и создавая эффект пролонгированного действия, обеспечивая выживание рыбы на высоком уровне.

Обзор литературы

В последнее время для повышения уровня развития естественной кормовой базы в прудах рыбных хозяйств все меньше применяются минеральные удобрения, а предпочтение отдается традиционным или нетрадиционным органическим удобрениям, культивированию и интродукции в пруды ценных беспозвоночных (Кузьмин, 2007).

Важнейшим фактором интенсификации товарного рыбоводства является поликультура рыб. Выращивание рыб в поликультуре позволяет более полно и эффективно использовать кормовые ресурсы водоемов и за счет этого резко повышать их рыбопродуктивность.

Для биологически правильного подхода к подбору видового состава поликультуры, определения оптимальных плотностей посадки рыб необходимы четкие сведения о продукционных возможностях водоемов, качественном составе и количественном развитии кормовых организмов (Гидрохимический режим..., 2005).

Эффективность биологического продуцирования водоемов во многом определяется характером и степенью утилизации первичной продукции организмами

гетеротрофами. Среди них важнейшую роль играют зоопланктонные сообщества, составляющие основу кормовой базы для рыб. От интенсивности развития зоопланктона зависит рыбопродуктивность прудов, так как большинство культивируемых видов рыб являются потребителями зоопланктона. Особенно велико значение зоопланктона в питании молоди (Богатова, 1985).

Зоопланктон в рыбоводных прудах, особенно выростных, является незаменимым источником естественных кормов в питании молоди выращиваемых рыб. Предложен ряд методов стимулирования развития зоопланктона. Одним из традиционных, широко применяемых в рыбхозах, является косвенный метод, заключающийся во внесении в пруд минеральных удобрений, стимулирующих развитие планктонных водорослей – пищи для зоопланктона с фильтрационным способом питания (Антипчук, 1972).

В водной микробиологии особый интерес представляют данные по изучению общей численности микроорганизмов в прудах - как основной категории водоемов, используемых для рыбохозяйственных целей (Антипчук, 2005). Особенно важна роль бактериопланктона при выращивании рыбы по интенсивной технологии - как индикатора качества воды с целью исключения возможных заморных ситуаций и ухудшения качества товарной продукции.

Биологический смысл биоудобрений прудов заключается в том, чтобы улучшать питательную среду для фито- и зоопланктона. Бактерии обеспечивают фиксацию атмосферного азота и перевод соединений из труднорастворимых в легкорастворимые и доступные формы. Оценка механизмов бактериальной деятельности при интенсификации прудового рыбоводства позволяет установить оптимальные условия для обеспечения бактериальным звеном функционирования экосистемы в условиях рыбохозяйственного использования водоемов (Мухачев, 1977). Для стимулирования развития в прудах естественной кормовой базы большой эффект дает внесение микробных препаратов, что в свою очередь благоприятно сказывается на условиях содержания и питания рыбы. Внесение биоудобрений в рыбоводные пруды является одним из главных средств повышения их рыбопродуктивности.

Цель исследования – применение азотфиксирующих микроорганизмов в пресноводной аквакультуре с целью интенсификации кормовой базы рыбопосадочного материала.

Объекты и методы исследования

Объектам исследований являлся азотфиксирующий штамм *Sphingobium xenophagum* 11АТ, выделенный из эпилимниона прудов г. Вилейки.

Выделение олигонитрофильных микроорганизмов (в том числе способных к фиксации азота атмосферы) из водной среды проводили на твердых питательных средах Эшби и Берка.

Отбор бактерий осуществлялся в модельных условиях и основывался на их физиолого-биохимических свойствах: показатели содержания минеральных форм азота в воде, содержание O_2 , рН, деструкция планктона. Деструктивную активность азотфиксирующего штамма *Sphingobium xenophagum* 11АТ оценивали скляночным методом по БПК1 и БПК5 (Винберг, 1960). Содержание в воде минеральных форм азота (нитратный, аммонийный), кислорода, рН воды определяли по общепринятым в гидрохимии методикам (Алекин, 1973).

Результаты и обсуждение

Альтернативой традиционным минеральным и органическим удобрениям в рыбоводстве могут быть экологически безопасные удобрения, созданные на основе природных штаммов бактерий. Применение бактериальных препаратов в прудах как биологического удобрения возможно при условии развития бактерий, составляющих их основу в водной среде и способствующих оптимизации гидрохимического режима, повышению содержания биогенных элементов за счет мобилизации труднодоступных минеральных и органических соединений, необходимых для полноценного развития естественной кормовой базы. Эффективность процесса интродукции зависит от способности используемых бактерий развиваться в водной среде и сохранять азотфиксирующую активность для поддержания экологического баланса водоема.

Изучение влияния интродукции азотфиксирующего штамма *Sphingobium xenophagum* 11АТ в прудовую воду показало, что внесение способствует развитию численности олигонитрофильной группы бактерий.

Микроорганизмы этой эколого-трофической группы способны обогащать водоемы «биологическим» азотом и, соответственно, плотность их популяций очень важна для оптимизации гидрохимического режима, повышения содержания биогенных элементов и органических соединений, необходимых для полноценного развития экологически безопасной естественной кормовой базы прудов.

Суспензии исследуемого бактериального штамма *Sphingobium xenophagum* 11АТ вносили 1 раз (в 1-е сутки) и 2 раза (в 1-е и 11-е сутки) в концентрациях 0,05, 0,1 и 0,2 мкл/л. В качестве контроля использовали прудовую воду с внесением NP-удобрений (70%), которое

добавляли в те же сроки, как и бактериальные суспензии (рис. 1, 2).

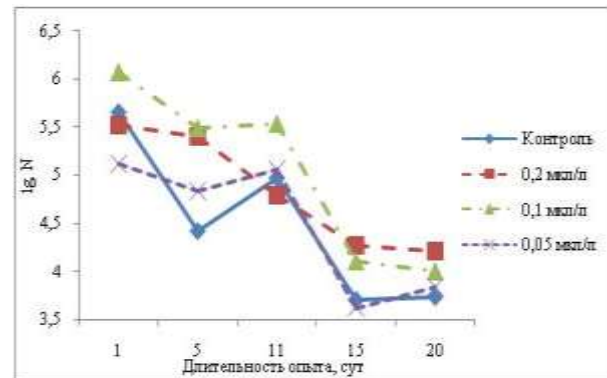


Рис. 1. Динамика численности азотфиксирующих микроорганизмов в воде модельных опытов при однократном внесении (на 1-е сутки) азотфиксирующего бактериального штамма *Sphingobium xenophagum* 11АТ (N – количество жизнеспособных клеток).

Так, на 11-е сутки опыта при внесении азотфиксирующего штамма *Sphingobium xenophagum* 11АТ (0,1 мкл/л) численность азотфиксирующих микроорганизмов в сравнении с контролем возросла в среднем в 2,3 раза.

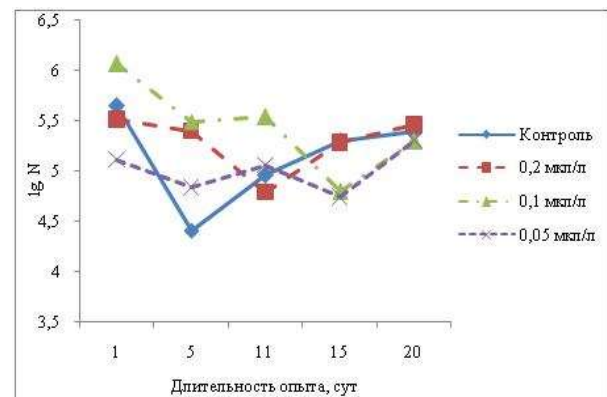


Рис. 2. Динамика численности азотфиксирующих микроорганизмов в воде модельных опытов при двухкратном внесении (на 1-е и 11-е сутки) азотфиксирующего бактериального штамма *Sphingobium xenophagum* 11АТ (N – количество жизнеспособных клеток).

После второго внесения штамма *Sphingobium xenophagum* 11АТ количество азотфиксирующих бактерий в воде возрастает на 15-е суткам и сохраняется на высоком уровне до конца эксперимента.

Количество азотфиксирующих бактерий в опытных вариантах максимально превышало значения контрольного варианта при внесении бактериального штамма *Sphingobium xenophagum* (0,1 мкл/л) – в 11,9 раза. К 20-м суткам их число в опыте и контроле сравнилось. Двукратное внесение исследуемых бактерий в воду способствовало сохранению высокой численности азотфиксаторов в воде до конца эксперимента.

Рост содержания минерального азота в воде отмечался на 11 сутки при внесении азотфиксирующего штамма *Sphingobium xenophagum* 11АТ, в concentra-

ции 0,1 и 0,2 мкл/л (рис. 3). Содержание минерального азота в воде увеличилось на 4–27% к контролю.

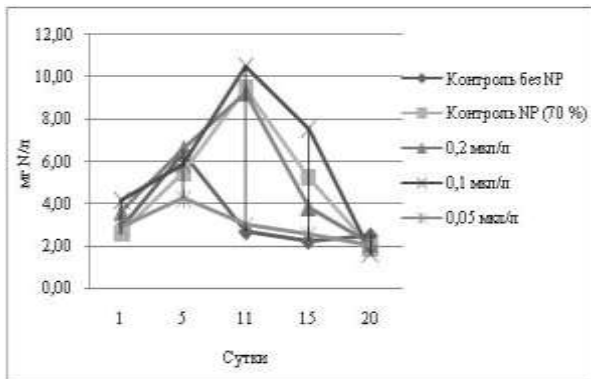


Рис. 3. Динамика содержания минерального азота ($\text{NH}_4^{++}\text{NO}_3^-$) в воде модельных опытов при внесении азотфиксирующего бактериального штамма *Sphingobium xenophagum* 11AT

Повторное внесение азотфиксирующего бактериального штамма не приводило к увеличению содержания суммарного минерального азота ($\text{NH}_4^{++}\text{NO}_3^-$) в воде модельных опытов.

Содержание окислительно-восстановительного потенциала воды (рН) в среднем за период наблюдений составляло 7,47–7,71 ед.

К основной деятельности водной микрофлоры относится деструкция и минерализация органического вещества. В некоторых водоемах бактериальный метаболизм может составлять до 70–90% общей деструкции планктона. Процесс разложения органического вещества сопряжен с потреблением в воде кислорода, что легло в основу метода оценки содержания в воде и распада легкоокисляемого органического вещества по биохимическому потреблению кислорода за одни (БПК₁) и пять (БПК₅) суток. Для карповых в поликультуре рыбоводных прудов технологическая норма БПК₁ установлена в пределах от 1,0 до 6,0 мг $\text{O}_2/\text{м}^3$, для БПК₅ – от 4,0 до 15,0 мг $\text{O}_2/\text{м}^3$.

Оценка деструктивной активности азотфиксирующего штамма *Sphingobium xenophagum* 11AT показала, что при использовании высоких доз бактериальных суспензий от 0,05 до 1,5 мл/л показатели биологического потребления кислорода (БПК₁) в течение суток находились в пределах технологической нормы для карповых прудов в поликультуре и не оказывали отрицательного влияния на кислородный режим (таблица 1).

Таблица 1. Деструкция легкоокисляемого органического вещества при использовании азотфиксирующего штамма *Sphingobium xenophagum* 11AT

Вариант	БПК ₁ , мг $\text{O}_2/\text{л}$	%	БПК ₅ , мг $\text{O}_2/\text{л}$	%
<i>Sphingobium xenophagum</i> 11AT	3,17	792	0*	0
	2,80	700	0*	0
	2,69	672	0*	0
	2,05	512	7,6	180
	1,60	400	5,7	134
	1,44	360	5,3	126
контроль	0,40	100	4,2	100

Примечание * - полное потребление кислорода в склянке

На основании полученных экспериментальных данных было отмечено, что внесение азотфиксирующего штамма *Sphingobium xenophagum* 11AT в концентрациях от 0,5 до 1,5 мл/л приводило к полному потреблению кислорода, что свидетельствует о высокой активности штамма. При экспозиции опыта 5 суток (БПК₅) было установлено, что позитивный результат имеет использование штамма *Sphingobium xenophagum* 11AT в концентрациях от 0,05 до 0,2 мл/л.

Выводы

В модельных опытах изучена биологическая эффективность азотфиксирующего штамма *Sphingobium xenophagum* 11AT: изменение окислительно-восстановительного потенциала воды, содержания минерального азота, способность к деструкции, влияние на рост и развитие водной микрофлоры.

По результатам проведенных исследований было установлено, что интродукция азотфиксирующего штамма *Sphingobium xenophagum* 11AT в водную среду заметно стимулирует развитие азотфиксирующих микроорганизмов, что способствует обогащению её азотом, доступным для фито-и гидробионтов.

Литература

- АЛЕКИН, О.А. Руководство по химическому анализу вод суши / О.А. Алевкин [и др.] - Л.: Гидрометеиздат, 1973.-С. 262.
- АНТИПЧУК А.Ф. Сезонная динамика численности микроорганизмов в солоноватоводных прудах юга Украины // Рыбное хозяйство. - Киев, 1972. - № 15. - С. 43-46.
- АНТИПЧУК А.Ф., Киреева И.Ю. Водна мікробіологія. - Киев: Кондор, 2005. - 255 с.
- БОГАТОВА И.Б. Теоретические основы и новые методы создания естественной кормовой базы для рыбоводства // Дисс. докт. биол. наук. - М., 1985. - 77 с.
- ВИНБЕРГ, Г.Г. Первичная продукция водоемов // Г.Г. Винберг. - Минск, 1960. - 328 с.
- Гидрохимический режим и естественная кормовая база прудов при пастбищном выращивании посадочного материала прудовых рыб / Г. П. Воронова, Г. Г. Адамчик, Л. А. Кушко [и др.] // Вопросы рыбного хозяйства Беларуси. - Минск. - 2005. - Вып.21. - С.141-148.
- КУЗЬМИН И. А. Повышение продуктивности выростных прудов путем комплексного воздействия на их экосистему: автореф. дисс. на соискание канд. биол. наук : спец. 03.00.10. - «ихтиология» / И. А. Кузьмин. - М., 2007. - 22 с.
- МУХАЧЕВ И.С., БУРДИЯН Б.Г., КУГАЕВСКАЯ Л.В. Опыт товарного рыбоводства в озерах Тюменской и соседних областей. М.: ЦНИИЭИРХ, 1977.-100 с.

Tatsiana Savchitz, Zinaida Aleschenkova, Halina Safronova, Sergey Panteley, Galina Voronova

Nitrogen-fixing microorganisms as the factors augmenting nutrition stock of fish farms

Summary

Decline in piscine productivity is largely determined by diminution of natural feed resources. A promising strategy to intensify reproduction of phyto- and zooplankton is introduction of microbial populations into pond biota. Its efficiency depends on ability of introduced bacteria to develop in aquatic medium and to preserve nitrogen-fixing activity for maintenance of pond ecobalance.

Farm fish industry in Belarus is based on application of intensive technologies envisaging supply of organic and mineral fertilizers. However, such technologies result in the following shortcomings: nitrogen of mineral fertilizers binds with bottom compounds and turns into organic form not digestible by hydrobionts, whereas organic fertilizers disturb ecological equilibrium of aqueous medium.

Application of eco-friendly bacterial preparations promotes enhanced ratio of water-soluble biogenic elements and raises fish productivity.

Nitrogen-fixing strain *Sphingobium xenophagum* 11AT isolated from pond epilimnion was used in model experiments. It favored development of indigenous oligonitrophilic microflora which caused stimulating effect on phytoplankton population, accelerated growth rate and increased weight of fish younglings.

Inoculation of strain *Sphingobium xenophagum* 11AT into fish pond increased population of nitrogen-fixing organisms, enriched water with biological nitrogen and reduced fertilizer application costs.

Microbial preparations, nitrogen fixing bacteria, fodder base, fish productivity, introduction

Поступила в феврале, 2018 г., представленного к печати в апреле, 2018 г..

Татьяна Савчиц младший научный сотрудник, Институт микробиологии Национальной Академии Наук, ул.Купревича,2, 220141, Минск, Беларусь. Тел. (+37517)2659967, e-mail: tat.yanyshkasav@tut.by.

Зинаида Алешенкова д.б.н., главный научный сотрудник, Институт микробиологии Национальной Академии Наук, ул.Купревича,2, 220141, Минск, Беларусь. Тел. (+37517)2659967, e-mail:aleschenkova@mbio.bas-net.by

Сергей Пантелей к.б.н., зав. лабораторией прудового и индустриального рыбоводства, Институт рыбного хозяйства, ул. Стебенева, 220024, Минск, Беларусь. Тел. (+37517) 398 79 46, e-mail: slown2@tut.by.

Галина Воронова к.б.н., ведущий н.с. лаб. прудового и индустриального рыбоводства, Институт рыбного хозяйства, ул. Стебенева, 220024, Минск, Беларусь. Тел. (+37517) 398 79 46, e-mail: gidrobiolog-fishpond@tut.by.