



Казахский национальный университет им. аль-Фараби
Факультет биологии и биотехнологии
Кафедра биотехнологии

ВОЗМОЖНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ АЗОТФИКСИРУЮЩИХ МИКРООРГАНИЗМОВ ДЛЯ ПОВЫШЕНИЯ УРОЖАЙНОСТИ

Сарсекеева Ф.К.

Алматы 2020

Азот – элемент, играющий главнейшую роль в жизни на нашей планете.



В молекулярной форме занимает 78% объема земной атмосферы.



В различных объектах биосферы содержится более 151 млрд. т азота, в том числе в органических соединениях почвенного покрова – 150 млрд. т, в биомассе растений – 1.1 млрд. т, в биомассе животных – 61 млн.т.



Необходим всем живым организмам для синтеза азотсодержащих строительных блоков (аминокислот), из которых образуются белки и нуклеиновые кислоты. Поэтому его часто называют «органогеном».

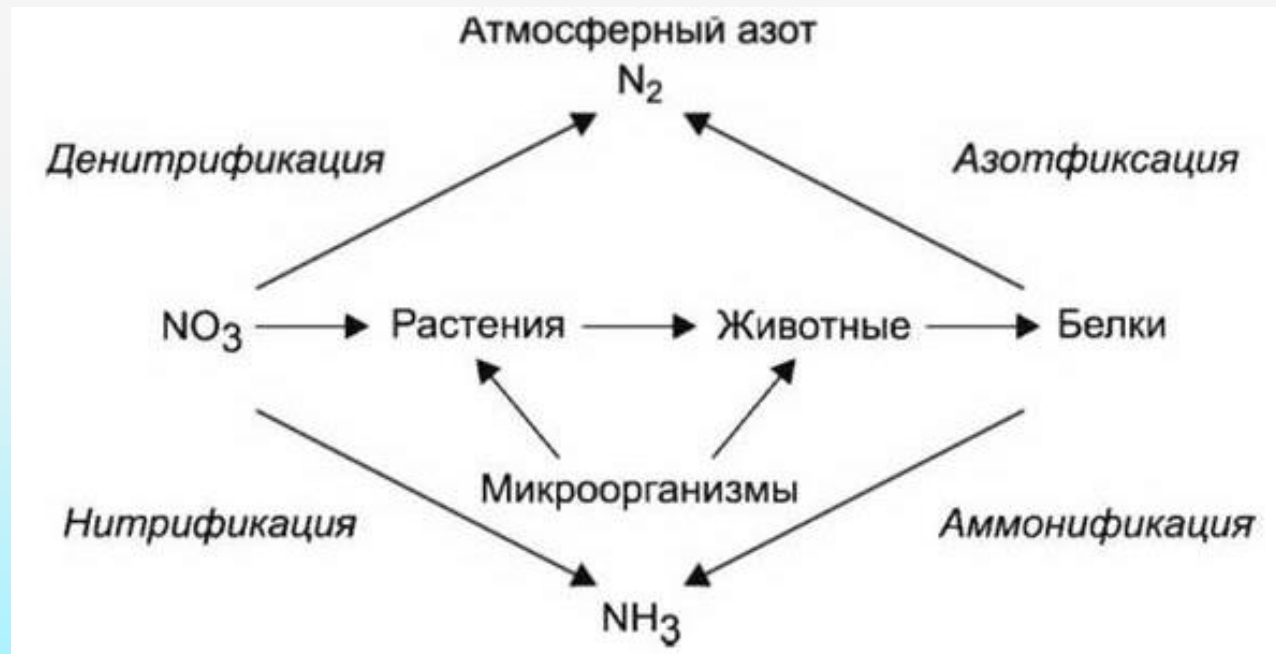


Азот в почву поступает с атмосферными осадками, остатками животных и растений, минеральными и органическими удобрениями.



Важным источником пополнения азотного фонда почвы является **азотфиксация** свободноживущими микроорганизмами и клубеньковыми бактериями.

Азотфиксация связана с активностью ферментного комплекса **нитрогеназы**. При этом происходит восстановление азота до аммиака, затем образуются азотсодержащие органические молекулы. Это восстановительный процесс, в присутствии молекулярного кислорода нитрогеназа инактивируется.




Аммиак (образовавшийся в процессе фиксации N₂) + кетокислоты = синтез АК


2-оксоглутарат + NH₃ = глутаминовая кислота + E (АТФ) → глутамин → синтез аспарагина

ЩУК + NH₃ = аспарагиновая кислота,
Пируват + NH₃ — α-аланин и т. д.


АК идут на синтез белков, других азотсодержащих органических соединений


Род/вид	Растения-хозяева	Русские названия
<i>Rhizobium meliloti</i>	Medicago, Melilotus, Trigonella	Люцерна, донник
<i>Rhizobium loti</i>	Lotus	Ледвенец
<i>Bradyrhizobium japonicum</i> , Br. spp.	Glycine, Vigna, Arachis	Соя, вигна, арахис
<i>Azorhizobium caulinodans</i>	Sesbania	Сесбания
<i>Sinorhizobium fredii</i>	Glycine	Соя
<i>Klebsiella rubacearum</i>	Trema orientalis	Тропический кустарник
<i>Frankia</i> spp.	Alnus, Hippophae. Shepherdia	Ольха, облепиха, шефердия

- 
- Фиксация молекулярного азота (N_2) – это биологический восстановительный процесс. Первым его продуктом является аммиак, который затем включается в азотистые соединения, доступные для использования другими организмами.
 - Азотфиксация играет большую роль в круговороте азота в природе, в обогащении почвы и водоемов связанным азотом.
 - Единственными организмами, способными осуществлять этот процесс, являются бактерии, которые называются **азотфиксирующими**, или **дiazотрофами**, так как они могут использовать как N_2 , так и связанные формы азота.
 - Азотфиксация обнаружена у представителей разных групп бактерий, включая аэробные, анаэробные и фототрофные бактерии.

- 
- Азотфиксирующие бактерии подразделяют на три группы: симбиотические, свободноживущие и ассоциативные.
 - **Симбиотические азотфиксаторы** усваивают молекулярный азот, только находясь в симбиозе с растением.
 - Особо важное значение имеет симбиоз между клубеньковыми бактериями рода *Rhizobium* и бобовыми растениями.
 - К симбиотическим азотфиксаторам относятся также бактерии рода *Bradyrhizobium* (симбиоз с люпином, соей, вигной, машем, арахисом и т. д.), бактерии рода *Azorhizobium* (симбиоз с бобовыми растениями).
 - Бактерии родов *Rhizobium*, *Bradyrhizobium* и *Azorhizobium* входят в α -подгруппу протеобактерий и формируют корневые и стеблевые (*Azorhizobium*) клубеньки у бобовых растений.


- Актиномицеты рода *Frankia* также обитают в качестве эндосимбионтов в клубеньках, которые образуются на корнях небобовых растений, как древесных и кустарниковых, так и травянистых, среди которых ольха, облепиха, стланик, казуарина, восковница, лох, шефердия, куропаточья трава и др.
- Некоторые симбиотические азотфиксаторы, относящиеся к роду *Klebsiella*, образуют клубеньки на листьях кустарников *Pavetta* и *Psychotria*.
- Цианобактерии *Anabaena azollae* образуют симбиотическую ассоциацию с водным папоротником *Azolla* (цианобактерии находятся в листовых полостях папоротника), внося большой вклад в азотфиксацию на рисовых плантациях, где этот папоротник растет на поверхности покрывающей почву воды.


- 
- К **свободноживущим азотфиксаторам** относятся
 - некоторые виды бактерий рода *Clostridium* (*C. pasteurianum*, *C. butyricum*, *C. acetobutyricum*, *C. felsineum*, *C. pectovororum* и др.),
 - бактерии родов *Azotobacter*, *Azomonas*, *Beijerinckia*, *Derxia*,
 - большинство аноксигенных фототрофных бактерий,
 - многие цианобактерии,
 - факультативные анаэробы (*Klebsiella pneumoniae*, *Bacillus polymyxa*),
 - хемолитоавтотрофные бактерии (*Xanthobacter autotrophicus*, *Alcaligenes latus*),
 - метилотрофные (бактерии родов *Methylomonas*, *Methylobacterium* и *Methylococcus*),
 - сульфатредуцирующие (бактерии родов *Desulfotomaculum* и *Desulfovibrio*) и метаногенные бактерии.

- 
- **Ассоциативные азотфиксаторы** – бактерии, обитающие в ризоплане (на поверхности корней), ризосфере (в почве, окружающей корни) и филлосфере (на листьях, стеблях) растений, т. е. живущие в ассоциации с высшими растениями.
 - К активным азотфиксаторам, развивающимся в ризосфере и ризоплане различных растений, относятся бактерии азоспириллы (*Azospirillum lipoferum*, *A. brasilense*, *A. amazonense*, *A. halopraeferans* и др.), *Klebsiella planticola*, *Herbaspirillum seropedicae*, представители рода *Pseudomonas* и др.
 - Бактерии, обитающие в филлосфере, называются **эпифитными**, среди которых имеются азотфиксаторы, например *Pantoea agglomerans*.

Биохимия азотфиксации

- Для фиксации молекулярного азота необходимы восстановительная сила и энергия.
- Энергия затрачивается на преодоление высокого активационного барьера для разрыва первой из трех чрезвычайно устойчивых при нормальной температуре связей в молекуле $N \equiv N$. В условиях промышленного синтеза NH_3 из H_2 и N_2 (реакция Харбера-Боша) этот барьер преодолевается под действием высокой температуры и высокого давления в присутствии металлсодержащих катализаторов. Затраты АТФ и восстановителя при биологической фиксации азота настолько велики, что скорость роста бактерий и экономический коэффициент с использованием N_2 в качестве источника азота значительно ниже, чем в присутствии NH_3 .

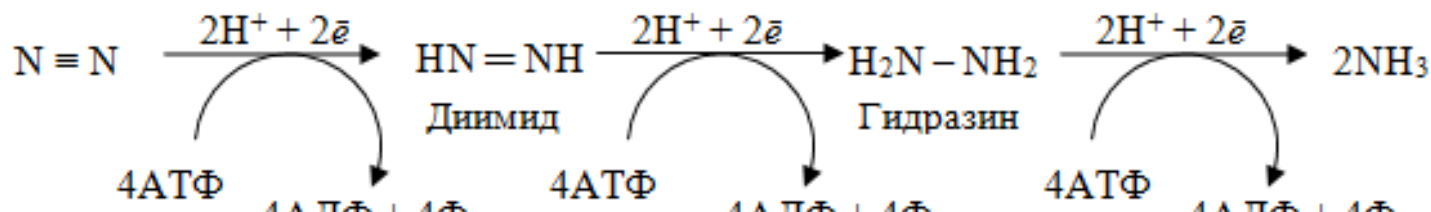
- 
- Восстановитель и молекулы АТФ синтезируются в процессе брожения, дыхания или фотосинтеза.
 - Восстановителем в нитрогеназной реакции служит восстановленный ферредоксин (в условиях дефицита железа он заменяется флаводоксином).
 - Восстановление ферредоксина может происходить различными путями.
 - У оксигенных фототрофных цианобактерий ферредоксин восстанавливается фотосистемой I на свету и пируват:ферредоксин-оксидоредуктазой в темноте.


- 
- У анаэробных хемотрофов он восстанавливается ферредоксин-зависимыми оксидоредуктазами, такими как пируват: ферредоксин-оксидоредуктаза, гидрогеназа и формиатдегидрогеназа.
 - У аэробных хемотрофов и аноксигенных фототрофов восстановление ферредоксина происходит при участии НАДФН и ферредоксин: НАДФ⁺-оксидоредуктаз.
 - У аэробных хемолитоавтотрофов ферредоксин восстанавливается путем энергозависимого обратного переноса на него электронов от НАДФН.


- Восстановление одной молекулы N_2 до двух молекул NH_3 описывается следующим





- Данный процесс осуществляется в три последовательные стадии. Вначале N_2 превращается в диимид ($NN = NH$), затем в гидразин ($H_2N - NH_2$) и, наконец, в NH_3 :





- 
- Фермент нитрогеназа высокочувствителен к молекулярному кислороду – он инактивируется на воздухе и в аэробных условиях его синтез прекращается.
 - Таким образом, фиксация азота представляет собой строго анаэробный процесс.
 - Поэтому чувствительность нитрогеназы к O_2 не затрудняет осуществление азотфиксации у строгих анаэробов, но является лимитирующим фактором в случае аэробов и факультативных анаэробов. Тем не менее эти бактерии способны осуществлять азотфиксацию при низком содержании молекулярного кислорода в среде благодаря наличию у них специальных защитных механизмов.

- 
- У некоторых аэробных почвенных бактерий, таких как бактерии рода *Azotobacter*, защитный в отношении нитрогеназы эффект оказывает потребление ими с высокой скоростью молекулярного кислорода из среды, т.е. действует так называемая **дыхательная защита**, которая обеспечивается высокоактивной и разветвленной дыхательной цепью.
 - При фиксации азота у этих бактерий действуют те ветви этой цепи, которые имеют только один участок сопряжения с фосфорилированием, но при этом эффективно восстанавливают O_2 до воды.


- 
- У азотфиксирующих бактерий рода *Azotobacter* при высокой концентрации кислорода индуцируется синтез терминальной цитохром- α -оксидазы, которая обладает низким сродством к O_2 , но высокой скоростью его потребления.
 - Благодаря высокой скорости переноса в этой цепи электронов на кислород происходит его быстрое удаление из среды, предотвращающее инактивацию нитрогеназы. В других условиях (в среде присутствует связанный азот) эти бактерии используют альтернативную ветвь дыхательной цепи, три участка сопряжения с фосфорилированием.




■ У факультативных фототрофов защиту нитрогеназы при низкой концентрации O_2 обеспечивает особый белок. Предполагают, что он связывается с нитрогеназой, и это вызывает изменение ее конформации, сопровождаемое потерей активности, но вместе с тем приобретением устойчивости к кислороду, – эффект, названный **конформационной защитой**. Это связывание носит обратимый характер, и при исчерпании молекулярного кислорода нитрогеназа возвращается в активное состояние.





- У некоторых бактерий защиту нитрогеназы от молекулярного кислорода обеспечивает **морфологическая адаптация**. Типичным примером ее является образование у нитчатых цианобактерий специализированных клеток **гетероцист**, основная функция которых состоит в фиксации молекулярного азота. Гетероцисты образуются при недостатке в среде связанного азота. Зрелые гетероцисты крупнее вегетативных клеток, поверх клеточной стенки вегетативной клетки они окружены тремя дополнительными утолщенными покровами: внутренний пластинчатый гликолипидный слой, гомогенный промежуточный полисахаридный слой и наружный волокнистый полисахаридный слой.





- Другой механизм морфологической адаптации, препятствующий доступу молекулярного кислорода к клеткам, – это продукция большого количества слизи (например, у бактерий рода *Azotobacter*). У симбиотических азотфиксирующих бактерий морфологическая адаптация реализуется путем образования корневых или стеблевых клубеньков у растений. В этих образованиях находятся азотфиксирующие бактерии в виде бактериоидов (разветвленных, булабовидных клеток). Для защиты нитрогеназы от молекулярного кислорода в клубеньках синтезируется пигмент **леггемоглобин**, который обладает высоким сродством к кислороду. Благодаря связыванию избытка кислорода леггемоглобином бактериоиды снабжаются им в количестве, достаточном для роста клеток и получения энергии, не препятствуя при этом фиксации азота.

- 
- Рассмотрим на примере клубеньковых бактерий.
 - Видовое название клубеньковых бактерий обычно соответствует латинскому названию того растения, из клубеньков которого выделены бактерии. Например, *Rhizobium trifolii* – растение-хозяин клевер, *Rhizobium phaseoli* – растение-хозяин фасоль, *Rhizobium leguminosarum* – растение-хозяин горох, кормовые бобы, вика, чина и т. д.
 - Клубеньковые бактерии – это грамотрицательные подвижные палочки. Они относятся к микроаэрофильным микроорганизмам, способным развиваться при низком парциальном давлении кислорода в среде. Оптимальная для роста клубеньковых бактерий температура 24–26 °С.

- 
- В основе специфичности такого симбиоза лежит способность бобовых растений синтезировать лектины – гликопротеины, обладающие свойством обратимо и избирательно связывать углеводы и углеводные детерминанты биополимеров без образования ковалентной связи и изменения их структуры. Лектины находятся на наружной поверхности корневых волосков. Видоспецифичные же углеводы входят в состав наружной мембраны клеточной стенки клубеньковых бактерий. Взаимодействие поверхностных лектинов корневого волоска с углеводами мембраны бактерий рода *Rhizobium* определяет процесс дальнейшего инфицирования корневого волоска, т.е. будет ли инфицировано растение данными клубеньковыми бактериями или нет.

- 
- Симбиоз устанавливается при прорастании семян бобовых растений. При их развитии корни выделяют органические питательные вещества, которые стимулируют размножение ризосферных микроорганизмов, в том числе и клубеньковых бактерий. Из почвы клубеньковые бактерии проникают через корневые волоски в корень. Процесс инфицирования начинается с адгезии клеток бактерий на поверхности корневых волосков. В клетках корневых волосков бобовых синтезируются особые вещества – хемоаттрактанты для бактерий. К таким соединениям, в частности, относятся флавоноиды и изофлавоноиды.

- 
- В процессе распознавания принимают также участие уже упоминаемые лектины, способствующие прикреплению бактерий к корневым волоскам. Флавоноиды и изофлавоноиды индуцируют экспрессию бактериальных *nod*-генов, которые отвечают за синтез Nod-факторов (белков-нодулинов), обеспечивающих межвидовое взаимодействие.
 - В корневой волосок проникает сразу несколько клеток клубеньковых бактерий. Проникновение сопровождается инвагинацией мембраны корневого волоска, образуется трубка, выстланная целлюлозой, вырабатываемой клетками хозяина. В этой трубке, называемой инфекционной нитью, находятся интенсивно размножающиеся бактерии.

- 
- Для обогащения почвы клубеньковыми бактериями в промышленных масштабах производятся препараты нитрагин, ризоторфин, сапронин, ризофос и СояРиз, которые используются для предпосевной обработки семян бобовых. Эти удобрения содержат естественные почвенные бактерии и позволяют увеличить накопление биомассы высшими растениями. Перспективность такой технологии состоит в том, что она позволяет частично заменить минеральные удобрения, и таким образом снизить уровень загрязнения, вызванный их интенсивным использованием.

Проблема биологической фиксации азота как одна из важных и интересных проблем современной биологии имеет значение в двух аспектах

азотфиксация составляет один из резервов повышения почвенного плодородия

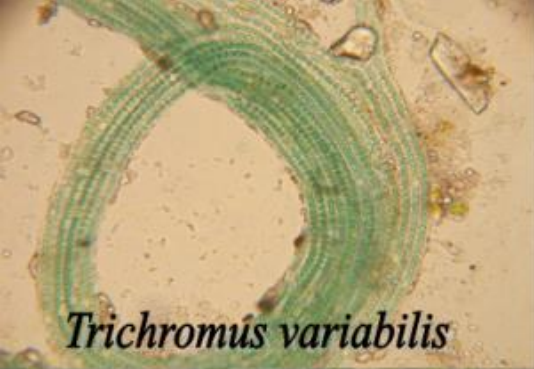
расшифровка механизма азотфиксации откроет возможность искусственного воспроизведения процесса

Исследования чистых культур цианобактерий позволило:

расширить список азотфиксаторов

выяснить основные условия азотфиксации, интенсивность этого процесса и его связь с другими физиологическими функциями

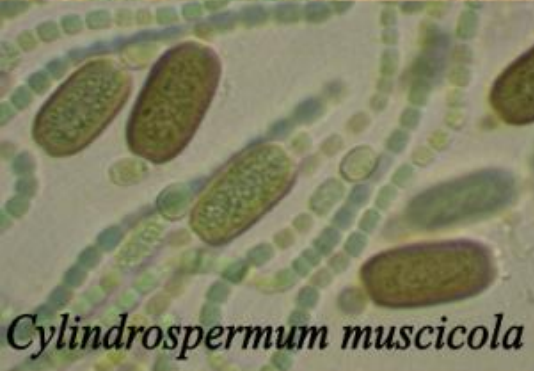
Азотфиксирующая активность выявлена более чем у 250 штаммов, принадлежащих к разным группам фототрофных эубактерий. Примерно половину из них составляют цианобактерии.



Trichromis variabilis



Nostoc punctiforme



Cylandrospermum muscicola



Tolypothrix tenuis



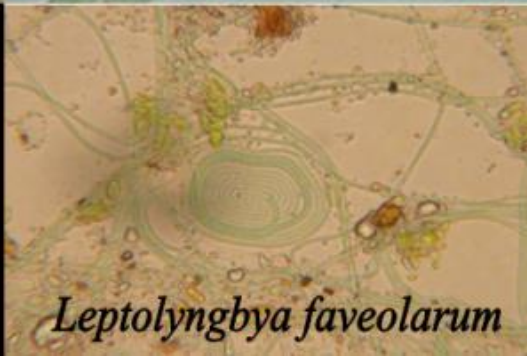
Phormidium autumnale



Phormidium boryanum



Microcoleus vaginatus



Leptolyngbya faveolarum

**Азотфиксирующие
цианобактерии** –
уникальные микроорганизмы,
так как они наряду с
микроводорослями являются
первичными продуцентами
органического вещества.



Цианобактерии, фиксируя
атмосферный азот, играют
большую роль в повышении
плодородия почвы

Увеличение азота в почве наблюдается в основном за счет деятельности гетероцистных форм цианобактерий, развивающихся на поверхности почвы. Цианобактерии секретируют до 40% продуктов азотфиксации и до 30% от фиксированного углерода.

Количество видов азотфиксирующих цианобактерий превышает число видов всех известных несимбиотических гетеротрофных азотфиксаторов.

Потенциальными азотфиксаторами считаются все цианобактерии, содержащие гетероцисты, преобладают представители родов *Nostoc*, *Anabaena*, *Calothrix*, *Cylindrospermum*.



Nostoc muscorum



Anabaena planctonica



Calothrix marchia



*Cylindrospermum
stagnales*

Большинство видов распространено во всех почвенно-климатических зонах – от тундры до пустыни.

Характерны для большинства целинных почв:



Scytonema hofmanii

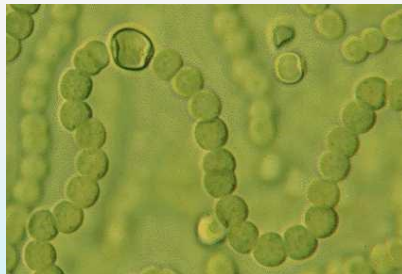


N. commune



Tolypothrix tenuis

Характерны для достаточно увлажненных целинных почв:



Nostoc paludosum

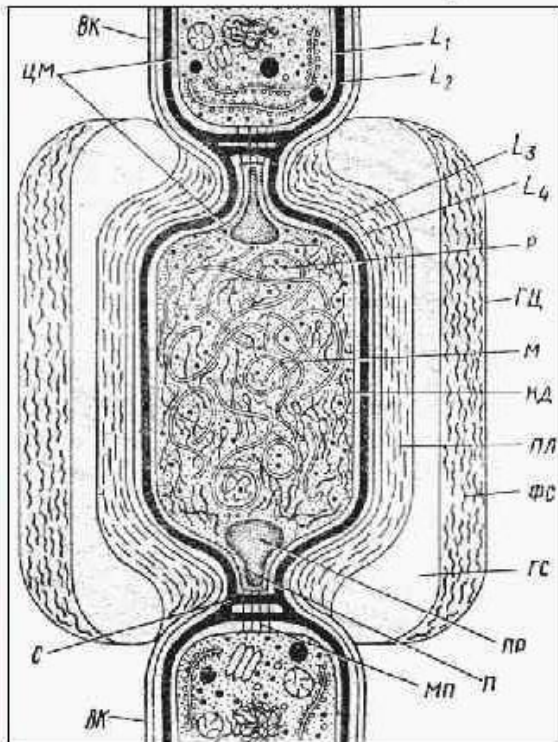


Calothrix elenkinii

К окультуренным почвам приурочены виды *Cylindrospermum* и некоторые виды *Anabaena* и *Nostoc*.

Гетероцисты – особые клетки, которые образуются только в активно растущих культурах. Они крупнее вегетативных клеток, имеют толстую оболочку с одной-двумя или реже тремя порами, с помощью которых гетероцисты соединяются с соседней вегетативной клеткой.

Схема строения гетероцисты



цм - цитоплазматическая мембрана;
 L₁ - L₄ - слои клеточной стенки;
 пл - пластинчатый слой стенки гетероцисты;
 гс - гомогенный слой;
 фс - фибриллярный слой;
 мп - микроплазмодесмы;
 п - пора гетероцисты;
 с - септа гетероцисты;
 пр - пробка, замыкающая канал поры гетероцисты;
 м - мембраны гетероцисты;
 нд - рассеянные нити ДНК;
 р - рибосомы;
 ВК - вегетативная клетка;
 ГЦ - гетероциста.

Гетероцисты клетки с желтоватым оттенком, так как фикоцианин у них отсутствует или находится в небольшом количестве (менее 20 % содержания в вегетативных клетках), хлорофилла также меньше, чем в вегетативных клетках.

Стареющие гетероцисты лишены клеточного содержимого, могут вызывать фрагментацию нитей и постепенно разрушаться.

Сформированные гетероцисты не способны расти и делиться.

Для ряда видов отмечено угнетение образования гетероцист в присутствии связанного азота, особенно аммония.



Anabaena cylindrical

выращивание на безазотистой среде

максимальная частота гетероцист – в 6-суточной культуре (6,0%)

Наличие солей аммония как источника азота приводило к быстрому **сокращению** числа гетероцист в культуре.

с возрастом количество гетероцист уменьшалось до 1,83%

Формирование гетероцист из вегетативных клеток сопровождается глубокими ультраструктурными и функциональными перестройками.

Зрелые гетероцисты окружены тремя дополнительными слоями, внешними по отношению к клеточной стенке, что затрудняет проницаемость в них

ВОДЫ

ИОНОВ

нейтральных веществ гидрофильной природы

растворенных газов

Перегородка, отделяющая гетероцисту от вегетативной клетки, пронизана множеством мелких каналов (микроплазмодесм), соединяющих цитоплазмы обеих клеток и обеспечивающих обмен клеточными метаболитами.

В цитоплазме гетероцист в зонах контакта с вегетативными клетками, располагаются светопреломляющие полярные гранулы цианофусина.

Значительную реорганизацию претерпевает в гетероцистах система фотосинтетических мембран:

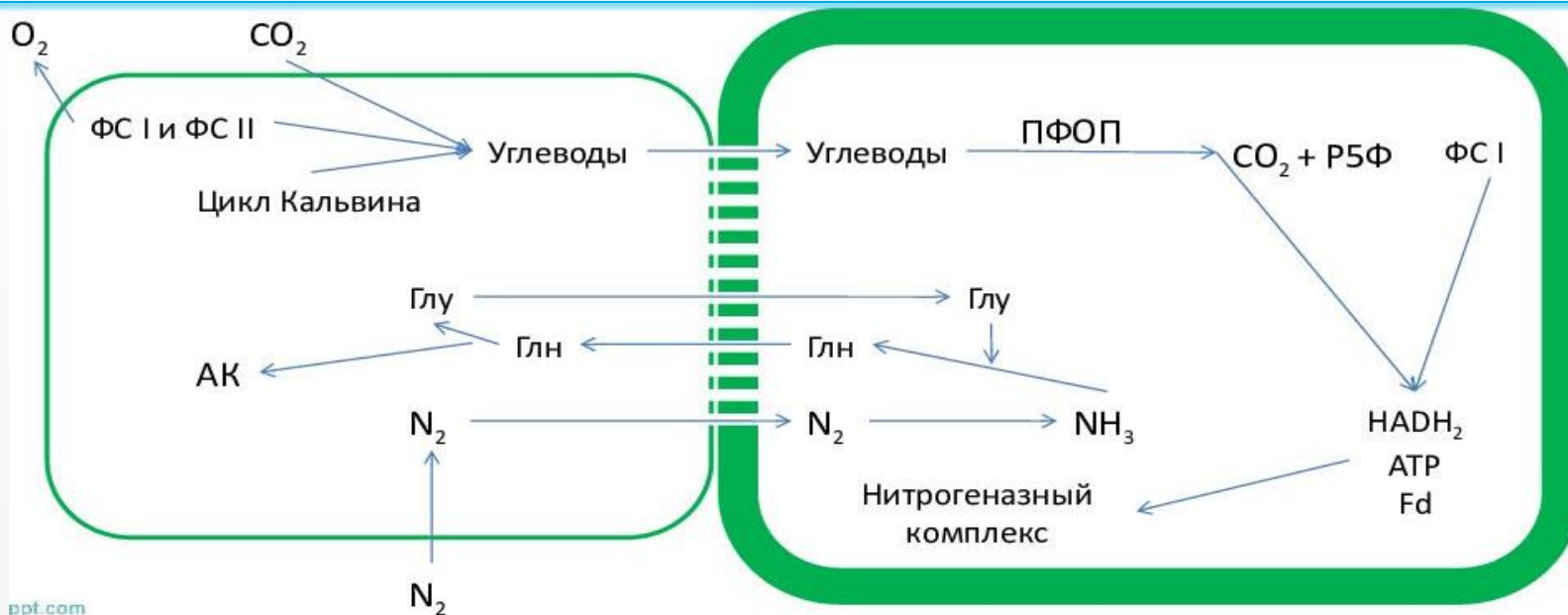
они укорачиваются

теряют расположение, характерное для вегетативных клеток

отмечается скопление тилакоидов вблизи полюсов гетероцисты

Морфологические изменения тилакоидов сочетаются с важными перестройками фотосинтетического аппарата на функциональном уровне.

В гетероцистах не работает фотосистема II, внутриклеточный кислород в них не образуется.



продукты фотосинтеза (дисахариды)

поступают из вегетативной клетки в гетероцисты

восстановление NH₃ до глутаминовой кислоты, которая затем транспортируется в вегетативные клетки

осуществляется процесс восстановления N₂ до NH₃ с помощью ферредоксина, стимулирующий активность нитрогеназы

В процессе формирования гетероцист, наблюдается **исчезновение** различных цитоплазматических включений, характерных для вегетативных клеток:

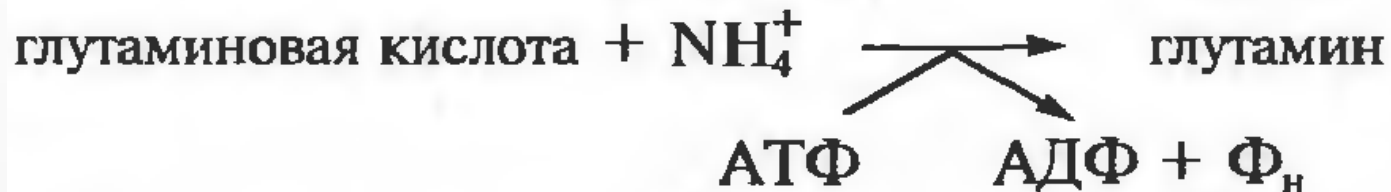
Гликогеновых гранул

Полифосфатных гранул

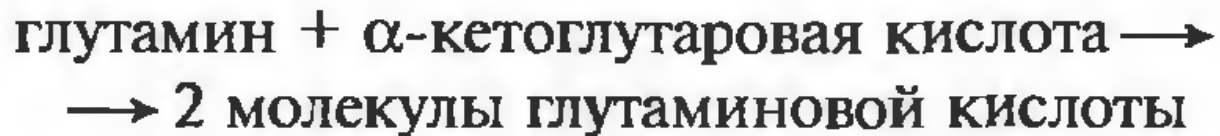
В то же время в гетероцистах **сохраняется** в полном объеме генетическая информация, и в процессе их жизнедеятельности отмечаются активные процессы синтеза РНК и белка.

На генетическую полноценность гетероцист, указывают и неоднократно наблюдавшиеся факты их прорастания и деления.

Нитрогеназная система катализирует восстановление азота до аммония, который включается в молекулу глутаминовой кислоты в реакции, катализируемой глутаминсинтетазой:



В таком виде фиксированный азот транспортируется из гетероцист в вегетативные клетки, где с помощью глутаматсинтазы осуществляется перенос амидной группы на молекулу α -кетоглутарата:



Одна из молекул глутамата возвращается в гетероцисту для очередного акцептирования NH_4^+ , другая поступает в метаболизм вегетативной клетки.

Зрелые гетероцисты отличаются от вегетативных клеток

активной
нитрогеназой

низким уровнем глутамин-
кетоглутаратамидотрансферазы

высоким уровнем
глутаминсинтетазы

Глутаминсинтетаза

Ключевой фермент
азотного метаболизма
цианобактерий

Активность зависит
от наличия АТФ или
АДФ

Проявляет
значительную
специфичность к
ионам Mn^{2+} и Mg^{2+}

У цианобактерий глутаминсинтетаза и нитрогеназа тесно взаимодействуют. Глутаминсинтетаза участвует прямо или косвенно в регуляции образования нитрогеназы.

Биохимические особенности гетероцист

не фиксируют CO_2

не выделяют кислород

имеют очень низкую активность ферментов цикла Кальвина

интенсивность дыхания выше, чем у вегетативных клеток

Гетероцисты имеют полный набор компонентов электронного транспорта.



Источник электронов — органические субстраты, синтезируемые в вегетативных клетках.



В гетероцистах нитрогеназа защищена от кислорода внешней среды. Важную роль в этом играет наличие у них


полисахаридного слоя



гликолипидного слоя



В состав входят **четыре** уникальных гликолипида, обнаруживаемых только в гетероцистах.



Дыхание, которое в гетероцистах значительно выше, чем в вегетативных клетках, также определяет устойчивость нитрогеназной активности цианобактерий к кислороду внешней среды.

Взаимосвязь фотосинтеза и азотфиксация

В тилакоидах находится

фотосинтетический
аппарат

дыхательная цепь

В процессах дыхания и фотосинтеза используется ряд общих переносчиков электронов.

Дыхательная цепь может рассматриваться как часть фотосинтетической цепи переноса электронов.

Вероятно, окисление НАДФН₂ в темновых условиях катализирует фотосинтетический фермент ферредоксин-НАДФ⁺-оксидоредуктаза.

Как дыхание, так и фотосинтез могут поставлять энергию для процесса азотфиксации.



Цианобактерии, являясь фотоавтотрофными микроорганизмами, в основном фиксируют азот на свету.

Для процесса азотфиксации имеют значение

интенсивность освещения

продолжительность
освещения

Наиболее высокая активность нитрогеназы проявляется при небольшой интенсивности света (при освещении – от 4000 до 8000 лк).

Существуют и теневыносливые формы цианобактерий, массовое разрастание которых наблюдается под покровом высших растений в почвах умеренной зоны.



*Cyndrospermum
licheniforme*



*Nostoc
commune*

Цианобактерии широко распространены в различных экосистемах и занимают доминирующее положение в природных азотфиксирующих ценозах.

Основными местообитаниями их являются:

почвы на всех этапах их формирования

рисовые поля как своеобразный искусственный водоем

пресные водоемы



Наряду с этим цианобактерии-азотфиксаторы встречаются в морях, на скальных породах и в виде симбионтов с растениями.

Интенсивность развития цианобактерий в почве свидетельствует о их роли в накоплении азота.

Накопление цианобактериями азота зависит от

типа почвы

растительности

климатических
условий

антропогенного
фактора

Роль азотфиксирующих цианобактерий различна в разных типах почв

Наибольшее их разнообразие обнаружено в почвах умеренного климата, в условиях достаточного увлажнения и длинного летнего дня.

Многие виды цианобактерий развиваются в почвах умеренной зоны и вызывают ее «цветение».

Также цианобактерии могут развиваться на поверхности почвы в виде пленки и корочки.

Вклад цианобактерий в накоплении азота на целинных дерново-подзолистых почвах составляет не более 3-4 кг азота/га.



При рекультивации нарушенных эрозией почв цианобактерии являются первопоселенцами и участвуют в обогащении почв азотом и органическим веществом, подготавливают условия для развития растительных сообществ.

Положительный эффект инокуляции объясняется

азотфиксирующей активностью цианобактерий

продуцированием ими биологически активных веществ

стимулирующим влиянием на гетеротрофные азотфиксаторы

Связи цианобактерий с другими организмами достаточно разнообразны:

они являются фикобионтами в лишайниках

живут в воздушных камерах мхов

живут в листьях водных папоротников и т. д.

Потенциальные возможности симбиотических азотфиксаторов значительно выше, чем свободноживущих.

Азотфиксирующие цианобактерии могут

решить проблемы структуризации плодородия почв

увеличить урожайность сельскохозяйственных растений

В условиях интенсификации сельскохозяйственного производства

В условиях резкого повышения антропогенного воздействия на окружающую среду

возрастает роль биологических факторов повышения плодородия почв и их рекультивация

Микроводоросли успешно используются для повышения плодородия почв (для пополнения запасов органических веществ)

что способствует повышению урожайности сельскохозяйственных культур.

Для этого применяют

зеленые (*Ch. vulgaris*, *Scenedesmus obliquus*, *Sc. acutus*, *Sc. quadricauda*, *Sc. spinosa*)

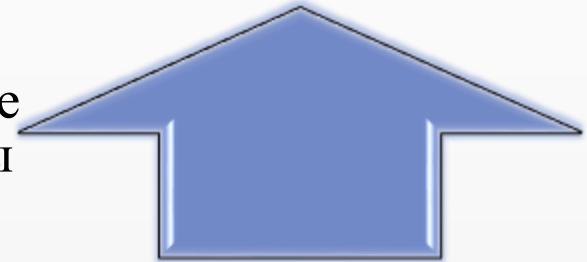
синезеленые микроводоросли (семейство *Nostocaceae*)



Накопление пестицидов в окружающей среде –
сильный фактор риска для благополучия
человечества.



Нужны альтернативные, экологически безопасные
средства повышения плодородия почвы и защиты
растений от инфекций и вредителей.



Большой интерес представляют биопрепараты на основе бактерий – азотфиксаторов и микробов – антагонистов. В мировой практике применяются биопрепараты на основе цианобактерий:

В США применяется биопрепарат Майкроп, использование которого повышает урожай кукурузы;

При применении препарата Плантере сойл инокулант (свободноживущие азотфиксаторы и цианобактерии) сбор пшеницы увеличивается на 0,05- 0,51 т/га.



Создание искусственных микробных ассоциаций, обладающих экологической поливалентностью

одно из перспективных направлений в разработке эффективных биопрепаратов.

Интерес к изучению *микробных ассоциаций* обусловлен тем, что одновидовые системы, как и монокультуры неустойчивы по своей природе, поскольку в условиях стрессов уязвимы для возбудителей болезней и других факторов, оказывающих влияние на их функционирование в агроценозах.

При разработке новых препаратов необходимо уделять внимание

селекции или подбору штаммов микроорганизмов,

усовершенствованию технологий их изготовления, применения и хранения.

Применение цианобактерий в агробиотехнологии успешно реализуется на рисовых полях, обогащение почвы азотом для эффективного роста растений, площади листьев и урожайности сельскохозяйственных растений.



Вопросы альгологизации почв впервые были затронуты в работах Дэ, обратившего внимание на стабильность урожаев риса в Индии при монокультуре без внесения удобрений.

Другие аспекты влияния цианобактерий на агроэкологическое благополучие почв:

защита поверхностного слоя почвы от ветровой эрозии;

удерживание влаги в почве, улучшающее водный режим почв в засушливое время;

восстановление нарушенных почв.

Основные преимущества цианобактерий:

Способность усваивать молекулярный азот и углекислый газ, что удешевляет производство в накоплении биомассы.

Их введение в агробиоценоз не представляет экологической опасности.

Отличаются адаптационными свойствами в микробиоценозе и в экстремальных условиях.

Положительное действие цианобактерий на плодородие почвы и на растение.

Могут легко входить во взаимоотношение с различной микрофлорой.

Использование консорциумов для ремедиации почвы после загрязнения (нефть, поллютанты и др.).

Способы использования

Биоудобрение

Проводят нитрагинизацию семян:

Сухое удобрение



Вода

Перемешивание

Обработка семян смесью

Непродолжительная просушка в естественных условиях

Высев семян в грунт

Перед посевом семена опудривают;

Повышает урожайность на 15-25%

Разбавление водой

Процеживание через двойной слой марли

Обработка семян суспензией

Высев в день обработки или на следующий

1 г = не менее 2.5 млрд. жизнеспособных клеток

Получение сухого биопрепарата на основе цианобактерий



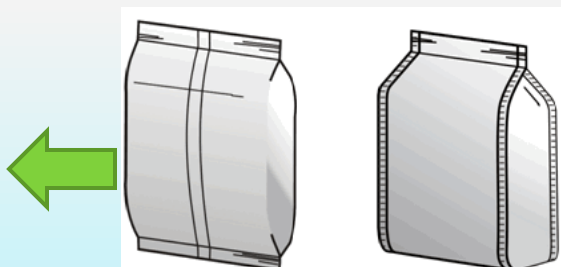
получение биомассы



Высушивание



Стандартизация



Фасовка в полиэтиленовые пакеты по 0.4-2 кг

Ферментация (массовое культивирование азотфиксирующих цианобактерий, среда безазотистая, рН 7-8) до стационарной фазы,

Хранение при 15°C не более 3 месяцев.

Способы получения и использования

Семена зерновых опудривают сухим биопрепаратом (100 млрд. клеток на 1 гектарную порцию семян).

Корневую систему рассады смачивают водной суспензией цианобактерий. (**300 млрд. клеток разводят в 15 л. воды**).

При обработке семян также возможно перемешивание с увлажненным препаратом, и затем их подсушивание.

- Биопрепараты улучшают питание растений (за счет фиксации атмосферного азота, более эффективного использования питательных элементов удобрений и почвы), стимулируют рост растений, подавляют развитие фитопатогенной микрофлоры.

- Применение биопрепаратов повышает продуктивность растений, улучшает их качество за счет повышения содержания белка, крахмала, витаминов и других соединений, позволяет получить более раннюю продукцию, улучшает ее сохранность.

