

УДК 576.8:631.45:615.9

Т.Г. Омелянець, Т.М. Головач

Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України,
вул. Академіка Заболотного, 154, Київ, Д03680 МСП, Україна

ТОКСИКОЛОГІЧНА ОЦІНКА БІОПРЕПАРАТІВ НА ОСНОВІ АЗОТФІКСУЮЧИХ БАКТЕРІЙ

*Проведено порівняльний аналіз результатів токсикологічної оцінки мікробних препаратів на основі різних видів асоціативних мікроорганізмів родів *Azotobacter*, *Agrobacterium*, *Azospirillum* і патогенних властивостей штамів-продуцентів. Обґрунтовується можливість удосконалення методичних основ токсикологічної оцінки і гігієнічного регламентування асоціативних азотфіксуючих мікроорганізмів-продуцентів і препаратів на їх основі в об'єктах виробничого і навколишнього середовища.*

Ключові слова: азотфіксуючі мікроорганізми, мікробні препарати, токсикологічна оцінка, гігієнічне регламентування.

Численні наукові дослідження і практичний світовий досвід свідчать про перспективність застосування в сільському господарстві біопрепаратів, основу яких складають азотфіксуючі мікроорганізми. Ці мікроорганізми мають здатність фіксувати атмосферний азот і переводити його в сполуки, які засвоюються рослинами. Частина у врожаю біологічного азоту, що фіксується мікроорганізмами-азотфіксаторами (як симбіотичними, так і асоціативними), складає

© Т.Г. Омелянець, Т.М. Головач, 2009

60–90 % [1, 2, 12, 13]. Біодобрива є альтернативою азотним мінеральним добривам, вони безпечніші для людини порівняно з мінеральними добривами [8, 9, 10, 11].

На основі асоціативних азотфіксуючих мікроорганізмів створено ряд вітчизняних мікробних препаратів, які пропонуються для використання в рослинництві як біологічні добрива. Серед асоціативних азотфіксуючих мікроорганізмів – основного діючого інгредієнту біопрепаратів – найбільшого поширення набули ґрунтові мікроорганізми родів *Azotobacter*, *Agrobacterium* і *Azospirillum*. На основі цих мікроорганізмів розроблені біопрепарати – азотобактерин, азотран, агробактерин, діазофіт, діазобактерин.

Відповідно до існуючих вимог, до державної реєстрації будь-якого нового хімічного чи біологічного препарату необхідно проводити токсиколого-гігієнічне вивчення препарату і обґрунтування гігієнічних регламентів його безпечного виробництва і використання (ГДК в повітрі робочої зони і в об'єктах навколишнього середовища). Для цього обов'язково досліджуються патогенні властивості для теплокровних організмів штамів мікроорганізмів, які входять до складу біологічного препарату як діючий інгредієнт, і токсичність товарної форми препарату. Ці дослідження проводять в гострих і субхронічних експериментах, і вимагають значних коштів [3-7].

У той же час накопичено значний фактичний матеріал з оцінки патогенних властивостей різних штамів азотфіксуючих мікроорганізмів родів *Azotobacter*, *Agrobacterium* і *Azospirillum*, який свідчить про нешкідливість їх і препаратів на їх основі для теплокровних організмів [8, 9, 10, 11, 12]. У зв'язку з цим виникає необхідність у проведенні порівняльного аналізу патогенних властивостей штамів різних видів цих мікроорганізмів із метою удосконалення методичних основ токсикологічної оцінки і гігієнічного регламентування азотфіксуючих мікроорганізмів-продуцентів і препаратів на їх основі в об'єктах виробничого і навколишнього середовищ і зниження вартості цих досліджень.

Матеріали і методи. Проведено аналіз результатів вивчення патогенних властивостей 15 штамів азотфіксуючих бактерій – діючого чинника біопрепаратів для забезпечення рослин азотом. Серед вивчених бактерій 8 штамів роду *Agrobacterium* (види: *Agrobacterium tumefaciens* – 6 штамів, *Agrobacterium radiobacter* – 2 штамми), 4 штамми роду *Azotobacter* (види: *Azotobacter vinelandii* – 1 штам, *Azotobacter chroococcum* - 3 штамми), 3 штамми виду *Azospirillum brasilense*, а також результатів токсикологічного вивчення біопрепаратів на основі таких штамів – агробактерину (продуцент – *Agrobacterium tumefaciens* 10), діазофіту (ризоагрина) (продуцент – *Agrobacterium radiobacter* 204), азотрану (продуцент – *Azotobacter vinelandii* 7), азотобактерину (продуцент – *Azotobacter chroococcum* 3064), діазобактерину – (продуцент – *Azospirillum brasilense* 18-2, 410). Штами азотфіксуючих мікроорганізмів одержані нами в різні роки для токсиколого-гігієнічного вивчення від різних наукових установ України і Росії: *Agrobacterium tumefaciens* – від Всеросійського науково-дослідного інституту сільськогосподарської мікробіології (м. Санкт-Петербург), *Agrobacterium radiobacter* – від Південної філії Інституту сільськогосподарської мікробіології (Крим), *Azotobacter chroococcum* – від Інституту біотехнології (м. Москва) і Інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного, *Azotobacter vinelandii* – від Інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного, *Azospirillum brasilense* - від Інституту сільськогосподарської мікробіології (м. Чернігів).

Результати та їх обговорення. При порівняльній оцінці патогенних властивостей штамів мікроорганізмів враховували вірулентність, токсигенність, інфекційність, можливість дисемінації мікроорганізмів у внутрішні органи, патоморфологічні зміни внутрішніх органів, алергенні властивості і дія на нормальну мікрофлору організму при різних шляхах надходження мікроорганізмів в організм (пероральний, внутрішньоочеревинний, інтраназальний, інгаляційний).

Результати визначення вірулентності штамів роду *Agrobacterium* наведено в табл. 1.

Як свідчать наведені дані всі досліджені штамми агробактерій відносяться до невірулентних: ЛД₅₀ цих культур при внутрішньоочеревинному введенні мишам і щурам, як правило, більше 10⁸, при пероральному – >10¹⁰, при інтраназальному – > 10⁹ КУО/тварину.

Вірулентність мікроорганізмів роду *Agrobacterium* для теплокровних організмів (білих мишей, щурів)

Назва виду бактерій	Номер штаму	Значення ЛД ₅₀ при різних шляхах надходження в організм лабораторних тварин (КУО/тв.)					
		внутрішньоочеревинно		перорально		інтраназально	
		миші	Щури	миші	щури	миші	щури
<i>A. tumefaciens</i>	10	>7,0×10 ⁹	>1,0×10 ¹¹	>9,0×10 ¹⁰	>1,0×10 ¹¹	>1,0×10 ⁹	>3,0×10 ¹⁰
<i>A. tumefaciens</i>	11	>7,9×10 ⁸	>1,2×10 ¹¹	>1,0×10 ¹⁰	>1,2×10 ¹¹	>9,9×10 ⁹	>3,6×10 ¹⁰
<i>A. tumefaciens</i>	13	>2,0×10 ⁹	>1,5×10 ¹¹	>9,0×10 ¹⁰	>1,1×10 ¹¹	>7,0×10 ⁹	>2,1×10 ¹⁰
<i>A. tumefaciens</i>	24	>2,8×10 ⁹	>9,5×10 ¹⁰	>5,0×10 ¹⁰	>1,9×10 ¹¹	>1,2×10 ⁹	>3,8×10 ¹⁰
<i>A. tumefaciens</i>	30	>1,7×10 ⁹	>4,7×10 ¹⁰	>9,0×10 ¹⁰	>1,6×10 ¹¹	>1,1×10 ⁹	>2,1×10 ¹⁰
<i>A. tumefaciens</i>	37	>1,7×10 ⁹	>1,2×10 ¹¹	>1,0×10 ¹¹	>1,2×10 ¹¹	>1,3×10 ⁹	>1,8×10 ¹⁰
<i>A. radiobacter</i>	204	>8,0×10 ⁹	>1,0×10 ¹⁰	> 3,1×10 ¹¹	> 6,0×10 ¹⁰	> 3×10 ⁹	> 6×10 ⁹
<i>A. radiobacter</i>	170	>2,0×10 ⁹	>5,0×10 ¹⁰	>1,0×10 ¹¹	>1,0×10 ¹¹	>1,0×10 ⁹	>5,0×10 ⁹

Мікроорганізми роду *Azotobacter* також не вірулентні (табл. 2). Так, ЛД₅₀ цих культур при внутрішньоочеревинному і пероральному введенні мишам і щурам > 10⁹ КУО/тварину, при надходженні через верхні дихальні шляхи – для мишей > 10⁸, для щурів > 10⁹ КУО/тварину.

Вірулентність мікроорганізмів роду *Azotobacter* та *Azospirillum* для теплокровних організмів (білих мишей, щурів)

Назва виду бактерій	Номер штаму	Значення ЛД ₅₀ при різних шляхах надходження в організм лабораторних тварин (КУО/тв.)					
		внутрішньоочеревинно		перорально		інтраназально	
		миші	Щури	миші	щури	миші	щури
<i>Azotobacter chroococcum</i>	3064	>1,0×10 ⁹	>1,0×10 ⁹	>1,5×10 ⁹	>3,9×10 ⁹	>1,0×10 ⁸	>1,0×10 ⁹
	9г	>5,0×10 ⁹	н.д.	>5,0×10 ⁹	н.д.	н.д.	н.д.
	20	>5,0×10 ⁹	н.д.	>2,5×10 ¹⁰	н.д.	н.д.	н.д.
	10	>3,0×10 ⁹	н.д.	>5,0×10 ⁹	н.д.	н.д.	н.д.
<i>A. vinelandii</i>	7	> 5×10 ⁹	> 6×10 ⁹	>1,5×10 ¹⁰	>3×10 ¹⁰	>3×10 ⁸	>1,2×10 ⁹
<i>Azospirillum brasilense</i>	18-2	>1×10 ⁸	>1×10 ⁹	>1×10 ¹⁰	>1×10 ¹⁰	>1×10 ⁸	>1×10 ⁸
	410	>1×10 ⁸	>1×10 ⁹	>1×10 ¹⁰	>1×10 ¹⁰	>1×10 ⁸	>1×10 ⁸
	102	>5×10 ⁹	н.д.	>5×10 ⁹	н.д.	н.д.	н.д.

Примітка: н.д. – не досліджувалось.

Серед азоспірил на сьогоднішній день тільки один вид цих мікроорганізмів, а саме *Azospirillum brasilense*, використовується для виготовлення мікробних препаратів – біодобрив. Дані, наведені в табл. 2, свідчать, що ці штами не вірулентні для теплокровних тварин. ЛД₅₀ штамів 18-2 і 410 при внутрішньоочеревинному введенні в організм для білих щурів >1×10⁹ КУО/тв. і для мишей >1×10⁸ КУО/тв., при інтраназальному введенні – >1×10⁸ КУО/тв. і при пероральному введенні – >1×10¹⁰ КУО/тв. для щурів і мишей. Штам *Azospirillum brasilense* 102 також не вірулентний для білих мишей як при внутрішньоочеревинному введенні, так і при введенні в шлунок (ЛД₅₀ >5×10⁹ КУО/тварину).

За своїм фізіологічним станом і поведінкою, температурою, масою тіла всі дослідні тварини, яким вводили азотфіксуючі мікроорганізми, не відрізнялись від контрольних тварин. При бактеріологічному дослідженні методом відбитків внутрішніх органів, відібраних при розтині забитих тварин, в жодному випадку не було виявлено досліджуваних бактерій. Це свідчить про те, що агробактерії, азобактерії та азоспірили не проникають всередину клітин внутрішніх органів і не розмножуються в них, вони не викликають інфекційного процесу у тварин. Дослідні тварини суттєво не відрізнялись від контрольних за морфологічним складом периферійної крові. Імунологічні показники (активність інтралейкоцитарного лізоциму, фагоцитарна активність і фагоцитарний індекс) дослідних тварин також не відрізнялись від аналогічних показників контрольних тварин, штами не мають алергенної дії. Асоціативні азотфіксуючі мікроорганізми не викликають запалення слизової оболонки (кон'юнктиви) ока кролів при внесенні 0,1 мл мікробної суспензії (10⁸ КУО/мл) в кон'юнктивальний мішок ока.

Змін із боку рогівки та райдужної оболонки ока не виявлено. Патоморфологічних змін внутрішніх органів дослідних тварин порівняно з контрольними також не було виявлено.

Вивчення токсигенності досліджених культур усіх трьох родів свідчить, що ці мікроорганізми не токсигенні (табл. 3). ЛД₅₀ фільтратів 3–10-добових культур при внутрішньоочеревинному введенні білим мишам складає 1,4–2,3 мл/тварину, при пероральному введенні для всіх досліджених штамів – більше 1,0 мл/тв.

Таблиця 3

Токсигенність штамів азотфіксуючих бактерій для білих мишей

Родова назва бактерій	Видова назва бактерій	Номер штаму	Тривалість Вирощування культури (доба)	Значення ЛД ₅₀ фільтрату культуральної рідини бактерій при різних шляхах надходження в організм лабораторних мишей (мл/тв.)	
				внутрішньоочеревинно	перорально
<i>Agrobacterium</i>	<i>tumefaciens</i>	10	3	2,0	>1,0
	<i>tumefaciens</i>	11	3	2,0	>1,0
	<i>tumefaciens</i>	13	3	1,4	>1,0
	<i>tumefaciens</i>	24	3	2,0	>1,0
	<i>tumefaciens</i>	30	3	1,9	>1,0
	<i>tumefaciens</i>	37	3	1,4	>1,0
	<i>radiobacter</i>	204	3	2,3	2,6
<i>Azotobacter</i>	<i>chroococcum</i>	3064	4, 10	> 2,0	> 2,0
	<i>chroococcum</i>	9т	3	> 1,0	> 1,0
	<i>chroococcum</i>	20	7	> 1,0	> 1,0
	<i>chroococcum</i>	10	10	> 1,0	> 1,0
	<i>vinelandii</i>	7	3	> 1,0	> 1,0
<i>Azospirillum</i>	<i>brasilense</i>	18-2	10	> 0,5	> 1,0
	<i>brasilense</i>	410	10	> 0,5	> 1,0

Товарні форми мікробних препаратів, діючу основу яких складають асоціативні азотфіксуючі мікроорганізми, крім цих мікроорганізмів, містять залишки поживного субстрату, наповнювачі (торф, вермикуліт, глинистий мінерал, тощо). У деяких випадках мікробний препарат може бути збагачений мінеральними речовинами, мікроелементами. Титр будь-якого препарату на основі асоціативних бактерій-азотфіксаторів за основним діючим інгредієнтом – не менше 10⁹ КУО/г.

Результати дослідження токсичності товарних форм мікробних препаратів у гострих експериментах свідчить про їх нетоксичність (табл. 4). У більшості випадків не вдається визначити ЛД₅₀ препаратів при введенні в організм у максимальних фізіологічно допустимих об'ємах.

Таблиця 4

Токсичність товарних форм мікробних препаратів

Назва препарату і діючого чинника	ЛД ₅₀ (ЛК ₅₀) при різних шляхах надходження в організм			
	перорально (КУО/тв.)		через верхні дихальні шляхи (КУО/м ³)	
	миші	щури	миші	щури
агробактерин, <i>Agrobacterium tumefaciens</i> 10	>2×10 ⁹	>2×10 ⁹	>9,3×10 ⁹	>9,3×10 ⁹
діазофіт (ризоагрин), <i>Agrobacterium radiobacter</i> 204	>10 ¹⁰	>6×10 ¹⁰	>1,1×10 ¹²	>1,9×10 ¹¹
азобактерин, <i>Azotobacter chroococcum</i> 3064	>5,2×10 ⁹	>5,2×10 ⁹	>2,4×10 ¹¹	>2,08×10 ¹⁰
азогран, <i>Azotobacter vinelandii</i> 7	>2,4×10 ⁷	>1,2×10 ⁸	>1,1×10 ⁶	>2×10 ⁷
діазобактерин, <i>Azospirillum brasilense</i> 18-2, 410	>5×10 ⁸	>2,5×10 ⁹	н.д.	>3,2×10 ⁹

Примітка: н.д. – не досліджувалось.

При встановленні ГДК мікробних препаратів у різних об'єктах розрахунки проводяться за основним діючим чинником – виробничим штамом мікроорганізмів, і величина подається в мікробних клітинах (КУО) на одиницю виміру об'єкта середовища, для якого пропонується норматив. Ця величина встановлюється виходячи із лімітуючого порогу патогенної дії в субхронічному експерименті (алергенного, дисбіотичного) [3].

Препарати на основі асоціативних азотфіксуючих мікроорганізмів у більшості випадків не впливають на стан нормальної мікрофлори організму (аутомікрофлори) лабораторних тварин, не викликають дисбактеріотичної дії. Деякі препарати (діазофіт, діазобактерин) у високим концентраціях у повітрі можуть спричиняти слабку алергенну дію.

Аналіз матеріалів з обґрунтування ГДК мікробних препаратів на основі азотфіксуючих мікроорганізмів у повітрі робочої зони і в атмосферному повітрі свідчить, що для них ця величина мала б бути на рівні 10^6 – 10^8 КУО/м³. Наприклад ГДК препарату діазофіту (ризогрину) в повітрі робочої зони мала б бути $5,2 \times 10^8$ КУО/м³ з приміткою “алерген”, агробактерину – $2,7 \times 10^8$ КУО/м³. Але враховуючи, що величина ГДК мікробного препарату за продуцентом не може бути більша, ніж прийнята для непатогенних сапрофітних мікроорганізмів, максимальна величина ГДК азотфіксуючих мікроорганізмів, як і всіх інших мікроорганізмів-продуцентів, в повітрі робочої зони обмежується величиною 5×10^4 КУО/м³, в атмосферному повітрі – 5×10^3 КУО/м³ [3]. Ці препарати віднесено до IV класу небезпеки.

Проведені дослідження з оцінки впливу мікробних препаратів на основі азотфіксуючих мікроорганізмів на процеси мікробного самоочищення ґрунту і води відкритих водойм свідчать, що такі препарати не погіршують процеси самоочищення цих об'єктів навколишнього природного середовища. В зв'язку з цим відпадає необхідність нормування цих препаратів в ґрунті і воді.

Що ж до нормування мікробних препаратів у повітрі робочої зони і атмосферному повітрі, то, беручи до уваги непатогенність (авірулентність, нетоксигенність, неінфективність, неімуногенність) штамів ґрунтових азотфіксуючих мікроорганізмів, нетоксичність препаратів на їх основі, нездатність до кумуляції, вважаємо доцільним зменшити обсяг проведення токсиколого-гігієнічних досліджень таких препаратів, обмеживши їх дослідями з визначення патогенної дії мікроорганізмів-продуцентів в гострих експериментах і гострої токсичності біопрепаратів, не вдаючись до субхронічної затравки лабораторних тварин. Враховуючи нешкідливість вказаних препаратів можливе обґрунтування гігієнічних нормативів допустимої кількості їх в об'єктах виробничого середовища на основі одержаних даних гострих експериментів, що, в свою чергу, призводить до зниження вартості таких досліджень.

Таким чином обґрунтована можливість проведення за скороченою схемою токсикологічних досліджень і гігієнічного регламентування асоціативних азотфіксуючих мікроорганізмів-продуцентів і препаратів на їх основі в об'єктах виробничого і навколишнього середовищ. Застосування таких препаратів зменшує хімічне навантаження на ґрунт та рослини, сприяє збереженню навколишнього середовища, забезпечує людину екологічно безпечною продукцією, що актуально сьогодні.

Т.Г. Омелянец, Т.М. Головач

Институт микробиологии и вирусологии им. Д.К. Заболотного НАН Украины, Киев

ТОКСИКОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА БИОПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ АЗОТФИКСИРУЮЩИХ БАКТЕРИЙ

Резюме

Проведен сравнительный анализ результатов токсикологического исследования микробных препаратов на основе штаммов разных видов азотфиксирующих асоциативных микроорганизмов родов *Azotobacter*, *Agrobacterium*, *Azospirillum* и патогенных свойств штаммов-продуцентов. Обосновывается возможность упрощения методической схемы токсикологической оценки и гигиенического регламентирования микроорганизмов-продуцентов и препаратов на их основе в объектах производственной и окружающей среды.

Ключевые слова: азотфиксирующие микроорганизмы, микробные препараты, токсикологическая оценка, гигиеническое регламентирование.

TOXICOLOGICAL EVALUATION OF BIOPREPARATIONS ON THE BASIS OF NITROGEN-FIXING BACTERIA

S u m m a r y

A comparative analysis of results of toxicological research of microbiological preparations on the basis of different species of nitrogen-fixing microorganisms of *Azotobacter*, *Agrobacterium*, *Azospirillum* genera and pathogenic properties of strains-producers has been carried out. A possibility to improve methodical principles of toxicological estimation and hygienic regulation of associative nitrogen-fixing microorganisms-producers and preparations on their basis in the industrial objects and environment is substantiated.

The paper is presented in Ukrainian.

K e y w o r d s: nitrogen-fixing microorganisms, microbiological preparations, toxicological estimation, hygienic regulation.

T h e a u t h o r ' s a d d r e s s: *T. G. Omelyanets*, Zabolotny Institute of Microbiology and Virology, National Academy of Sciences of Ukraine; 154 Zabolotny St., Kyiv, MSP, D03680, Ukraine.

1. *Волкогон В.В.* Азотфиксирующие микроорганизмы корневой зоны и семян злаковых трав // Бюл. Института сільськогосподарської мікробіології. – 1999. – С. 6–11.
2. *Курдиш И.К.* Гранулированные микробные препараты для растениеводства: Наука и практика. – Киев: КВЦ, 2001. – 142 с.
3. *Медико-біологічні дослідження виробничих штамів мікроорганізмів і токсиколого-гігієнічна оцінка микробних препаратів, визначення їх безпеки та обґрунтування гігієнічних нормативів і регламентів: Методичні вказівки (МВ 1.1.5. – 112-2004).* – Київ: МОЗ, 2004. – 22 с.
4. *Омельянец Т.Г.* Гігієнічні аспекти регламентування препаратів мікробного синтезу у виробничому та навколишньому середовищах // Гігієнічна наука та практика на рубежі століть: Матеріали XIV з'їзду гігієністів України (19-21 травня 2004 р., м. Дніпропетровськ). – Київ, 2004. – Т. I. – С. 105–108.
5. *Омельянец Т.Г.* Еколого-гігієнічні аспекти регламентування та державної реєстрації біопрепаратів на основі мікроорганізмів // X з'їзд товариства мікробіологів України (Одеса, 15-17 вересня 2004р.): Тез. доп. – Одеса: Астропринт, 2004. – С. 193.
6. *Омельянец Т.Г.* Методичні особливості гігієнічного регламентування в повітрі продуктів мікробної біотехнології // Міжнародна наукова конференція «Мікробні біотехнології» (Одеса, 11–15 вересня 2006 р.): Тез. доп. – Одеса: Астропринт, 2006. – С. 219.
7. *Омельянец Т.Г., Васильєва В.Л.* Сучасні наукові підходи до реєстрації біопрепаратів // Сучасні наукові підходи до реєстрації пестицидів: Мат. наук.-практ. семінарів. Проект по удосконаленню практики використання пестицидів. – Київ, 1998. – С. 28–30.
8. *Омельянец Т.Г., Гуляня Т.Е., Филатова И.Н.* Токсикологическая оценка биоудобрений на основе *Agrobacterium radiobacter* // Микробиол. журн. – 1992. – 54, № 1. – С. 22–26.
9. *Омельянец Т.Г., Филатова И.Н., Гуляня Т.Е.* Токсикологическая оценка микробных регуляторов роста растений и удобрений // Актуальные вопросы профилактической медицины: Тез. докл. – Рига, 1991, С. 21–23.
10. *Омельянец Т.Г., Митько В.С., Филатова И.Н.* Оценка патогенных свойств производственных штаммов микроорганизмов, предлагаемых для стимуляции роста сельскохозяйственных культур // Гигиена населенных мест: Сб. научн. стат. УНГЦ. – К., 1998. – Вып. 33. – С. 24–30.
11. *Омельянец Т.Г., Шерстобова О.В.* Оцінка небезпеки біопрепаратів на основі асоціативних азотфіксуючих мікроорганізмів // Агроєкологічний журнал. – 2003. – № 4. – С. 57–61.
12. *Патика В.П., Тихонович І.А., Філін'єв І.Д.* та ін. Мікроорганізми і альтернативне землеробство. – Київ: Урожай, 1993. – 168 с.
13. *Шерстобова Е.В., Дудинова И.А., Крамаренко С.Н., Шерстобоев Н.К.* Биопрепараты азотфиксирующих бактерий: Проблемы и перспективы применения // Микробиол. журн. – 1997. – 9, № 4. – С. 109–116.

Отримано 5.09.2008