

ЗАГАЛЬНА МІКРОБІОЛОГІЯ : ВПРОВАДЖЕННЯ В УЧБОВИЙ ПРОЦЕС ЛАБОРАТОРНИХ МЕТОДІВ ВИЯВЛЕННЯ ТА ІЗОЛЯЦІЇ НІТРОГЕНФИКСУЮЧИХ БАКТЕРІЙ

Масалітіна Н.Ю., Близнюк О.М., Чернявська С.М.

*Національний технічний університет
«Харківський політехнічний інститут»,
м. Харків,*

Накопичення в атмосфері нітроген оксидів, зокрема N_2O , потужного парникового газу, є нагальною проблемою сьогодення. З мікробіологічної точки зору інтенсивність утворення та споживання нітроген оксидів визначається співвідношенням анаеробних та аеробних мікрозон в ґрунтах. Денітрифікація протікає в ґрунтах навіть умовах високої аерації та за відсутності перезволоження. Здатність до зв'язування N_2 властива певним прокаріотам. Для виявлення азотобактера 100 г ґрунту зволожували водою до пастоподібного стану, мікробіологічною петлею розкладали рядами на середовище Ешбі наступного складу (г/л): K_2HPO_4 – 0,2; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ – 0,2; $NaCl$ – 0,2; KH_2PO_4 – 0,1; $CaCO_3$ – 5,0; сахароза – 20,0; агар – 20,0; вода. Чашки Петрі розміщували в термостат у вологій камері. Через 4–6 діб підраховували кількість грудочок, що обросли слизовими колоніями азотобактера, обов'язково проводять мікроскопічний контроль, розраховуємо процент обростання. Для виявлення на коренях злаків бактерій роду *Azospirillum* та отримання культури азоспірил кусочки ~7 мм роздавлювали пінцетом та занурювали в напіврідке середовище складу (г/л): яблучно-кислий Na або Ca – 0,5; KH_2PO_4 – 0,4; K_2HPO_4 – 0,1; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ – 0,2; $NaCl$ – 0,1; $CaCl_2$ – 0,02; $FeCl_3$ – 0,01; $NaMoO_4 \cdot 2H_2O$ – 0,002; дріжджовий екстракт – 5 мл; агар – 1,75; бромтимоловий синій – 5 мл (0,5% C_2H_5OH); pH 6,8. Інкубацію проводили протягом тижня при 305 К. Під поверхнею середовища азоспірили утворюють білі колонії $d = 2-4$ мм. Колонії пересівали в напіврідке середовище такого ж складу з 15 мл дріжджового екстракту на 1 л. Нітрогеназну активність перевіряли ацетиленовим методом.

Для виявлення в ґрунтах анаеробних нітроген фіксуєуючих бактерій роду *Clostridium* використовували методом накопичувальної культури в рідкому середовищі Віноградського складу (г/л): глюкоза - 20; KH_2PO_4 - 0,1; $MnSO_4$, $NaCl$, $FeS O_4$ – сліди; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ – 0,5; $CaCO_3$ – 20,0. Середовище засівали грудочками ґрунту, та пастеризували 10 хв при $T=353$ К для звільнення від супутніх аеробних бактерій. Через 2 доби середовище мутніє, бульбашки свідчать про розвиток анаеробних спорових бактерій, що викликають маслянокисле зброджування. Оскільки гранульоза в клітинах *Clostridium pasteurianum* забарвлюється розчином Люголя, під мікроскопом – спори не забарвлені, клітини клостридій забарвлені.

Результати проведених досліджень дозволили впровадити ці методи в учбовий процес дисципліни «Загальна мікробіологія і вірусологія».

Література:

1. Зенова Г.М. Практикум по биологии почв: Учеб. пособие / Зенова Г.М., А.Л. Степанов, А.А. Лихачева, Н. А. Манучарова – М. : Издательство МГУ, 2002.– 120 с.