

ХАРАКТЕРИСТИКА ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ БАКТЕРИЙ *RHODOCOCCUS ERYTHROPOLIS* И *AZOTOBACTER CHROOCOCCUM*

*Е.И. Журик, 3 курс, И.С. Лихтар, стажер мл.н.с.
Научный руководитель – О.Н. Жук, к.б.н., доцент
Полесский государственный университет*

Введение. В почве микроорганизмы образуют сложное сообщество – биоценоз, в котором различные их группы находятся в определенных взаимоотношениях. Они чутко реагируют на изменение внешних условий (агротехника, применение химических или органических удобрений), и особенно на соседствующие с ними другие микроорганизмы. Регулируя условия жизнедеятельности микроорганизмов, можно существенно влиять на плодородие почвы [1, с. 43]. Каждая разновидность эффективных микроорганизмов (фотосинтезирующие бактерии, молочнокислые бактерии, дрожжи, актиномицеты, грибы) имеют собственную важную функцию, но при этом, с одной стороны, поддерживают или блокируют действие других микроорганизмов, с другой используют вещества, произведенные этими микроорганизмами.

Целью настоящей работы явилось исследование физиологических свойств штаммов свободноживущих бактерий *Rhodococcus erythropolis* и *Azotobacter chroococcum* для возможности их совместного использования в качестве биопрепарата для регуляции роста растений. Для достижения поставленной цели необходимо было решить следующие задачи: изучить рост и развитие данных бактерий на питательных средах разного состава; подобрать оптимальные условия для накопления их биомассы: исследовать их ферментативную активность по отношению к белковым и углеводным субстратам.

Материалы и методы. *Azotobacter chroococcum* был выделен методом предельных разведений из биопрепарата «Органик-Баланс», в рецептуру которого входит 5 микроорганизмов (*Azotobacter chroococcum*, *Bacillus subtilis*, *Enterococcus faecium*, *Lactobacillus delbrueckii*, *Paenibacillus polymyxa*). Идентификация штамма была осуществлена на основании изучения его культурально-морфологических и физиолого-биохимических характеристик в соответствии с описанием, данным в определителе бактерий Берджи [2, с. 74].

Rhodococcus erythropolis был получен в лаборатории ПолесГУ методом «почвенных комочков». Идентификация штамма была осуществлена на основании исследований биохимических, морфологических и физиологических показателей, а также определения последовательности генов 16S рРНК [3, с. 15].

Для определения культурально-биохимических и морфологических свойств *Azotobacter chroococcum* и *Rhodococcus erythropolis* использовали дифференциально-диагностические питательные среды: Берка, Федорова, Эшби, солевую питательную среду МТ-1, и элективные среды – картофельно-глюкозный агар (КГА), картофельно-сахарозную среду (КСС), мясопептонный агар (МПА) и мясопептонный бульон (МПБ). Препараты микроорганизмов окрашивали по Грамму, определяли ферментативную активность по их способности лизировать желатин в тонком слое агарового геля (протеолитическую), и целлюлолитическую по лизису карбоксиметилцеллюлозы. В качестве растворителя при приготовлении смеси использовали 0,067 М фосфатный буфер pH 7,2. Концентрация желатина и целлюлозы в смеси – 10 г/л, агар-агара – 10 г/л. Площадь наносимого образца бактерии на пластины – 0,3 мм². Пластины с нанесенными пробами инкубировали при температуре 24°C в течение 20 ч. Зоны лизиса визуализировали обработкой белок-агаровых пластин 1 н хлорной кислотой (в случае желатина) и визуалью по объему разжижения (в случае целлюлозы) [4, с. 132].

Результаты исследований. Оба микроорганизма показали характерный для них рост на *дифференциально-диагностических* питательных средах и быстрое накопление биомассы при культивировании на *элективных* натуральных питательных средах, при этом наилучшие показатели продемонстрированы на КГА и КСС.

При окраске по Грамму бактерий *Azotobacter chroococcum* – граммотрицательные кокки или палочки и цисты. В молодой культуре клетки имеют форму крупных, коротких палочек с закругленными концами. С возрастом клетки азотобактера принимают округлую форму, становятся крупными кокками. Кокки соединены по две или четыре клетки и покрыты общей толстой слизистой капсулой, но встречаются и одиночные. *Rhodococcus erythropolis* – грамм-вариабельные кокки или палочки в молодой культуре, образуют более сложные морфологические структуры завершающие жизненный цикл. Кокки переходят в короткие палочки по бокам которых располагаются гифы.

Что касается ферментативной активности, то было выявлено наличие протеолитической активности и у *Azotobacter chroococcum* и *Rhodococcus erythropolis*. Так, у *Azotobacter chroococcum* через 20 часов инкубирования площадь лизиса составила $34,2 \pm 3,0 \text{ мм}^2$, а у *Rhodococcus erythropolis* — $28,6 \pm 2,8 \text{ мм}^2$.

Способности разрушать карбоксиметицеллюлозу в наших экспериментах не было выявлено ни у *Azotobacter chroococcum* ни у *Rhodococcus erythropolis*. Этот факт требуют дальнейших исследований на других углеводных субстратах.

Заключение и вывод. Таким образом, *Azotobacter chroococcum* и *Rhodococcus erythropolis* имеют очень похожие культуральные и морфологические признаки, схожим образом проявляют функциональную активность, в том числе и ферментативную. Ранее показано [5, с. 79], что бактерии *Rhodococcus erythropolis* **обладают высокой амидазной активностью** – их **экзоферменты** ассоциированы с метаболизмом нитрилов, они активно используют амиды и нитрилы в качестве ростового субстрата. Энзиматические свойства данных бактерий вызывают особый интерес в связи с активным их использованием в качестве биологических препаратов, направленных на улучшение питания растений и ремедиацию почвы. Введение *Rhodococcus erythropolis* в препараты такого рода позволит повысить их эффективность.

Список использованных источников

1. Андреюк, Е. И. Исследование микробных сообществ почвы на разных уровнях их организации. / Е. И. Андреюк, Г. А. Путинская, А. Ф. Антипчук. – М.: Микробиологический журнал, 1998. – 115 с.
2. Хоулт, Дж. Определитель бактерий Берджи. / В 2 ч. Ч. 1. Род *Azotobacter* / Дж. Хоулт. – М.: Мир, 1997. – 426 с.
3. Жук, О. Н. Функциональная оценка выделенных из природы свободноживущих почвенных бактерий *Rhodococcus erythropolis*. / О. Н. Жук, Я. С. Камельчук, Д. А. Грушевская, И. С. Лихтар, К. А. Риженок // Сборник материалов IV Международной научно-практической конференции «Биотехнология: достижения и перспективы развития». – Пинск: ПолесГУ, 2019. – 10-14 с.
4. Никандров, В. Н. Методы исследования протеолиза. / В. Н. Никандров, Н. С. Пыжова // Современные проблемы биохимии. Методы исследований. - Минск: Вышэйшая школа, 2013. - 132–157 с.
5. Демаков, В. А. Почвенные актинобактерии рода *Rhodococcus*, обладающие высокой амидазной активностью. / В.А. Демакова, Ю.А. Павлова, А.Ю. Максимова, М.В. Кузнецова // Микробиологический журнал «Биология». – Пермь: Вестник Пермского университета, 2009. – 79-83 с.