

Ишакаева Махаббат Каленовна

студентка

ФГБОУ ВО «Астраханский государственный университет»

г. Астрахань, Астраханская область

ЦЕЛЛЮЛОЗОРАЗРУШАЮЩАЯ МИКРОФЛОРА И МЕТОДЫ ЕЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Аннотация: в статье представлены современные методы исследования целлюлозоразрушающей микрофлоры. Автором детально рассмотрены метод отбора проб почвы, метод выделения целлюлозоразрушающих микроорганизмов и метод микроскопирования.

Ключевые слова: метод, целлюлозоразрушающие микроорганизмы, целлюлоза, отбор, образец, препарат.

Метод отбора проб почвы. Так как микроорганизмы в почве распространены неравномерно – макро- и микроочагами, необходимо анализировать большое количество почвенных образцов. Вариационно-статистические методы позволяют определить в каждом конкретном случае необходимую повторность. Чем большее площадь исследуемой территории, тем больше проб надо отбирать [3].

Если необходимо охарактеризовать микрофлору участка площадью в 1 га, рекомендуется в нем выбрать несколько стометровок, например, пять, на каждой из них берут по пять образцов. Каждый образец составляют из трех смешанных проб. С площади, превышающей 100 м^2 ($100\text{--}200\text{ м}^2$), рекомендуют брать пять образцов (минимум десять точек) по принципу конверта (четыре в точках по углам и одну – ближе к центру прямоугольника). Если делянка площадью меньше 100 м^2 , то берут три образца по диагонали. Каждый образец составляют из трех проб и анализируют отдельно. Для получения наиболее полного представления о составе микрофлоры почвы берут несколько проб с площади 25 м^2 . Из различных мест по диагонали участка берут пробы в 4–5 точках на глубине 10–30 см по 100–200 г и составляют средний образец [2].

Смешанный или средний почвенный образец получают смешиванием отдельных проб, количество которых зависит от микрорельефа (ровный, волнистый, склон), степени гетерогенности почвы и ее однородности в ботаническом отношении. Отобранные пробы тщательно смешивают в стерильном мешке, из которого берут средний образец весом примерно 1 кг и помещают его в стерильный пергаментный пакет. Т.В. Аристовская (1984) рекомендует вес средней пробы примерно 500–600 г. Для придания среднему образцу большей однородности, соблюдая все условия асептики, тщательно перемешивают почву, вынимают корни растений, различные включения. Этот образец затем просеивают через металлическое сито с диаметром отверстий около 2 мм [1].

Метод выделения целлюлозоразрушающих микроорганизмов. Микроорганизмы, окисляющие целлюлозу, в частности цитофаги, можно выявить по методу Омелянского В.Л. (1922). Для этого в колбу Эrlenmeyera на 100–150 мл наливают 30 мл питательной среды, содержащей в водопроводной воде 0,1% NH_4CL и 0,05% K_2HPO_4 . Для приготовления питательной среды берут колбу Эrlenmeyera и добавляют в нее 100 мл водопроводной воды. На электронных весах взвешивают $NH_4CL=10$ г и $K_2HPO_4=5$ г. Затем добавляют NH_4CL , K_2HPO_4 в колбу и перемешивают. После этого берут 3 колбы и разливают в них питательную среду по ≈ 33 мл. Из бумаги вырезают фильтры по 10 см. Колбы со средами стерилизуют в автоклаве. На 3 сутки, в 3 пробирки добавляют по 1/3 чайной ложки испытуемой почвы, погружают в колбу со средой складчатый фильтр конусом вверх (высота фильтра не должна превышать $\frac{3}{4}$ высоты колбы) и оставляют в помещении при 28–30°C (комнатная температура) для культивирования [2]. Метод приготовления фиксированного препарата. Для приготовления фиксированного препарата, берут 3 предметных стекла, обработанных спиртом, высушивают их. Затем на предметные стекла бактериологической петлей, которую обработали над пламенем спиртовки, наносят колонии бактерий, развивающихся на фильтрах. После этого на мазки на 1 минуту добавляют метил-фиолетовый, держа стекло в наклонном положении (излишки красителя промакивают

фильтровальной бумагой). После того как препарат высох, проводят над пламенем спиртовки для фиксирования [5].

Метод микроскопирования. На предметный столик микроскопа помещают предметное стекло с фиксированным препаратом. На окрашенный препарат применяется иммерсионная система объектив x100 с нанесением на предметное стекло иммерсионного масла [3].

Список литературы

1. Абидуева Е.Ю. Разнообразие микробного сообщества / Е.Ю. Абидуева, С.М. Базаров, Б.Б. Батоболотова, С.П. Бурюхаев. – 2015. – №4. – С. 188–192.
2. Ганжара Н.Ф. Почвоведение. Учебные пособия для студентов высших учебных заведений – М.: Агроконсалт, 2001. – 392 с.
3. Звягинцев Д.Г. Почва и микроорганизмы. / Д. Г. Звягинцев. – М., 1986. – 256 с.
4. Практикум по микробиологии / А.И. Нетрусов [и др.]; под редакцией А.И. Нетруса – М.: Академия, 2005. – С. 45.
5. Тепппер Е.З. Практикум по микробиологии / Е.З. Тепппер, В.К. Шильникова, Г.И. Переверзева. – 2004.