

УДК 631.46

**МИКРОСКОПИЯ АЗОТФИКСИРУЮЩИХ БАКТЕРИЙ**

*Ильченко Д., Ильченко Н., Ильченко В.,  
обучающиеся группы Био 36  
Научный руководитель – Васильева Ю.Б., педагог ДО,  
кандидат ветеринарных наук, доцент  
АНО ДТ «Кванториум», г. Ульяновск  
ФГБОУ ВО Ульяновский ГАУ*

**Ключевые слова:** микроскопия, азотфиксирующие бактерии, циста, окраска мазков.

*В работе представлены результаты экспериментальной работы – проведение микроскопии азотфиксирующих бактерий.*

Любое исследование сапрофитной микрофлоры почв имеет научную новизну, так как уникальность почвенных условий бесконечна.

Цель исследования – микроскопическое исследование азотфиксирующих бактерий.

Из источников информации мы узнали, что *Azotobacter* – это род обычно подвижных, овальных или сферических бактерий, которые образуют толстостенные цисты и могут продуцировать большие количества капсульной слизи. Это аэробные свободноживущие почвенные микробы, которые играют важную роль в азотном цикле в природе, связывая атмосферный азот, который недоступен для растений, и высвобождение его в форме ионов аммония в почву (азотфиксация). Помимо того, что этот микроб модельный организм для изучения диазотрофов, он используется людьми для производства биоудобрений, пищевых добавок и некоторых биополимеров. Первый представитель рода *Azotobacter chroococcum* был открыт и описан в 1901 году голландским микробиологом и ботаником Мартинусом Бейеринком. Клетки рода *Azotobacter* относительно велики для бактерий (2–4 мкм). Обычно они овальные, но могут иметь различную форму от стержней до сфер. В микроскопических препаратах клетки могут быть рассредоточены или образовывать нерегулярные кластеры или иногда цепочки различной длины. В свежих культурах клетки подвижны благодаря многочисленным жгутикам. Позже клетки теряют подвижность, становятся почти сферическими и продуцируют толстый слой слизи, образуя клеточную капсулу. При увеличении в клетках видны

включения, некоторые из которых окрашены. В начале 1900-х годов цветные включения рассматривались как «репродуктивные зерна», или гонидии - разновидность эмбриональных клеток. Однако позже было установлено, что цветные зерна состоят из волютина, тогда как бесцветные включения представляют собой капли жира, которые действуют как запасы энергии [2].

Методику микроскопического исследования азотфиксирующих бактерий мы нашли в следующих источниках информации: «Почвенная микробиология», «Охотники за микробами», «Микробиология-ский анализ почв» [1, 3, 4].

Мы подготовили реактивы и оборудование для окрашивания и микроскопии бактерий. Нам понадобились тушь, раствор фуксина по Цилю, бактериологическая петля, иммерсионное масло, предметные и покровные стёкла, спиртовки, спирт, световые и стереоскопические микроскопы, промывалки, дистиллированная вода, пипетки, химические стаканы, спиртовые салфетки, карандаш по стеклу.

Ход работы:

1) Протерли предметные стекла спиртовой салфеткой для удаления загрязнений и жирового слоя;

2) В чашках Петри, засеянных 6-7 дней назад, выбрали несколько колоний («обрастаний») с разной окраской;

3) В лабораторном журнале схематично отобразили чашку Петри с трафаретом внутри

4) Отбрали пробу для микроскопического исследования с помощью бактериологической петли;

5) Отобранный образец колоний перенесли на предметное стекло: размазали по центральной части предметного стекла биомассу с поверхности бактериологической петли на площади  $1 \text{ см}^2$ ;

6) На схеме в лабораторном журнале отобразили место, в котором взяли исследуемый образец. Образцу присвоили номер и зафиксировали цвет колонии;

7) С помощью пипетки Пастера на предметное стекло в центр площади, покрытой образцом, нанесли каплю фуксина Циля;

8) В тоже место, что и фуксин Циля, с помощью пипетки Пастера, нанесли каплю туши;

9) Бактериологической петлёй перемешали красители и биомассу, находящиеся на стекле, до равномерного тонкого слоя грязно-розового цвета;

10) Получившийся препарат подписали и высушили на воздухе в течении 30 минут. Для ускорения процесса мы помещали препараты на радиатор центрального отопления.

11) На препарат нанесли каплю воды (такая подготовка препарата называется водной иммерсией) и изучили полученный препарат с помощью светового микроскопа при увеличении  $\times 100$  и  $\times 400$ .

Мы провели окраску мазков, микроскопию, фотофиксацию. Изучили полученные микропрепараты. Зафиксировали результаты в лабораторном журнале (рис. 1).



Рисунок 1 – Микроскопия мазков ( $\times 100$ ).

Клетки бактерий рода *Azotobacter* под микроскопом были относительно крупные овальной формы. Иногда встречались *Azotobacter* с необычными формами клеток – от палочковидной до сферической. На микроскопических препаратах клетки располагались одиночно, парами, скоплениями. Нами были зафиксированы покоящиеся формы – цисты (оболочка чёрного цвета вокруг клеток).

#### *Библиографический список:*

1. Охотники за микробами. Кейс Сберкампуса, 2020.
2. Для тех, кого само слово «нитраты» пугает Яндекс Дзен (yandex.ru).
3. *Azotobacter* – microbewiki (kenyon.edu)
4. Крам, Эми. «Азотобактер». ПОЧВЕННАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ BIOL / CSES 4684. Архивировано из оригинала 27.09.2011. -Википедия site:wikichi.ru

## **SEARCH FOR PROMISING LOCATIONS FOR THE INDICATION OF NITROGEN-FIXING BACTERIA MICROSCOPY OF NITROGEN-FIXING BACTERIA**

*Ilchenko D., Ilchenko N., Ilchenko V.*

**Key words:** *microscopy, nitrogen-fixing bacteria, cyst, smear staining.*

*The paper presents the results of experimental work-conducting microscopy of nitrogen-fixing bacteria.*