

НЕКОТОРЫЕ ПИТАТЕЛЬНЫЕ СРЕДЫ ДЛЯ ВЫДЕЛЕНИЯ И КУЛЬТИВИРОВАНИЯ БАКТЕРИЙ ВИДА *BEIJERINCKIA* *FLUMINENSIS*

Ковалёв А.А., студент 1 курса факультета ветеринарной медицины
и биотехнологии

Научный руководитель – Майоров П.С., кандидат биологических
наук, доцент
ФГБОУ ВО Ульяновский ГАУ

Ключевые слова: *Beijerinckia fluminensis*, питательные среды, азотофиксирующие бактерии

В данной работе рассмотрены жидкие и плотные питательные среды, применяемые в России и за рубежом для выделения и культивирования *Beijerinckia fluminensis*, приведены их составы и сравнены характеристики.

Введение. *Beijerinckia fluminensis* вид грамотрицательных бактерий, относящийся к семейству *Beijerinckiaceae*. Размеры клеток составляют примерно 1,0*2,0 мкм, длина же варьируется от приобретения палочковидной до кокковидной формы. В зрелой культуре наблюдаются в основном укороченные палочковидные формы. Клетки молодой культуры подвижны благодаря перитрихияльным жгутикам. В зрелой культуре подвижность практически не наблюдается. Дают положительный результат при тестировании на каталазу. В связи с обладанием бактериями данного вида характерным свойством фиксации атмосферного азота некоторые штаммы *B. fluminensis* – например, штамм Bf 2806 – нашли своё применение в составе микробиологических добавок для органических удобрений и в качестве самостоятельных биодобавок-улучшителей почвы. Однако данное свойство так же обуславливает неудобство применения классических питательных сред, применяемых при бактериологических исследованиях, и, соответственно, требует

использования особых, в том числе N2-свободных, сред при выделении из объектов окружающей среды изолятов *B. fluminensis* [1, 2, 3, 4, 5].

Цель работы: сбор и систематизация данных о реально применяемых для выделения изолятов бактерий вида *Beijerinckia fluminensis* жидких и плотных питательных средах.

Результаты исследований. По итогу изучения различного рода научных публикаций, а также методических и учебно-методических пособий, методических указаний, патентов было получено, что на данный момент существует некоторое различие в применяемых в России и за рубежом безазотных плотных и жидких питательных субстратах.

Отечественные микробиологи для проведения исследований, связанных с бактериями вида *Beijerinckia fluminensis* чаще применяют жидкую и агаризованную среду Барка, жидкую и агаризованную среду Федорова-Калининской. Кроме того, отмечается применение безазотной среды Виноградского [1, 6, 7].

Таблица 1. Применяемые в России питательные среды и их состав

Название среды	Состав среды, г/л	Агар-агара для получения агаризованной среды, г/л
Среда Барка	MgSO ₄ 0,20, K ₂ HPO ₄ 0,80, KH ₂ PO ₄ 0,20, CaSO ₄ 0,13, FeCl ₃ 0,00145, Na ₂ MoO ₄ 0,000253, сахара 20,00	15
Среда Федорова - Калининской	Глюкоза 10,0, K ₂ HPO ₄ 1,74, KH ₂ PO ₄ 0,91, MgSO ₄ *7H ₂ O 0,3, CaCl ₂ *6H ₂ O 0,1, NaCl 0,5, FeCl ₃ *6H ₂ O 0,01, дрожжевой экстракт 0,015, H ₃ BO ₃ 0,005, Na ₂ MoO ₄ *2H ₂ O 0,005, MnSO ₄ *4H ₂ O 0,003, KI 0,0005, NaBr 0,0005, ZnSO ₄ *7H ₂ O 0,0002, Al ₂ (SO ₄) ₃ *18H ₂ O 0,0003	17
Среда Виноградского	KH ₂ PO ₄ 50,00, MgSO ₄ *7H ₂ O 25,00, NaCl 25,00, FeSO ₄ *7H ₂ O 1,00, NaMoO ₄ *2H ₂ O 1,00, MnSO ₄ *4H ₂ O 1,00	-

Стоит отметить, что представленные среды применяются чаще всего, однако совсем не являются единственно применяемыми среди отечественных исследователей, что подтверждается наличием

в свободной продаже у российских организаций и других готовых вред для выделения и культивирования *B. fluminensis* и других бактерий рода *Beijerinckia*.

В зарубежных же работах можно выделить такие среды, как TSB (триптон-соевый бульон), TSA (триптон-соевый агар), *Beijerinckia* Medium Modified, Nitrogen-Free Agar [8, 9].

Таблица 2. Применяемые за рубежом питательные среды и их состав

Название среды	Состав среды, г/л
TSB	Панкреатический гидролизат казеина 17,0, энзиматический гидролизат соевого шрота 3,0, NaCl 5,0, K ₂ HPO ₄ 2,5, глюкоза 2,5
TSA	Панкреатический гидролизат казеина 17,0, энзиматический гидролизат соевого шрота 3,0, NaCl 5,0, K ₂ HPO ₄ 2,5, глюкоза 2,5, агар бактериологический 15,0
Nitrogen-Free Agar	Агар бактериологический 15,0, CaCO ₃ 1,0, K ₂ HPO ₄ 1,0, MgSO ₄ *7H ₂ O 0,2, NaCl 0,2, FeSO ₄ *7H ₂ O 0,1, Na ₂ MoO ₄ *2H ₂ O 0,005, глюкоза 10,0
<i>Beijerinckia</i> Medium Modified	Агар бактериологический 15,0, глюкоза 10,0, K ₂ HPO ₄ 0,8, KH ₂ PO ₄ 0,2, MgSO ₄ *7H ₂ O 0,1, FeSO ₄ *7H ₂ O 0,02, MnSO ₄ *H ₂ O 0,0013, ZnSO ₄ *7H ₂ O 0,005, CuSO ₄ *5H ₂ O 0,004, NaMoO ₄ *2H ₂ O 0,005

Необходимо заметить, что TSB, TSA и Nitrogen-Free Agar являются довольно универсальными средами и позволяют выделять и культивировать представителей различных бактериальных родов и семейств, тогда как *Beijerinckia* Medium Modified предназначена и подходит для выделения и культивирования лишь *B. fluminensis* и ещё трёх близкородственных видов бактерий, что позволяет условно отнести её к селективным питательным средам [9].

Не смотря на различия в составах сред выделение бактерий с использованием каких-либо из обозначенных в данной статье питательных субстратов может проводиться любым из описанных в методической литературе способом. Будь то почвенная суспензия, диффузия почвенных комочков или почвенная паста [10, 11].

Выводы. В ходе анализа и систематизации данных можно сделать вывод о том, что существуют различия в «наборах» жидких и плотных питательных сред, применяемых при микробиологических исследованиях, связанных с выделением из объектов окружающей

среды бактерий вида *B. fluminensis*, российскими и зарубежными учёными. Причем иностранными исследователями применяется более специфичная среда (*Beijerinckia Medium Modified*), аналога которой в большинстве российских работ не наблюдается. Вероятно, это может быть связано с тем, что на Западе всё ещё продолжается поиск наиболее пригодного для применения в сельском хозяйстве штамма *B. fluminensis*, тогда как в России такой штамм уже выделен, депонирован и широко применяется в запатентованных средствах и составах для оздоровления почвы и растений.

Библиографический список:

1. Микробиологическое измерение концентрации *Beijerinckia flum inensis* Bf 2806 ВКПМ В-12258 в воздухе рабочей зоны. – Официальное. – Москва : Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2017. – 8 с.
2. Kennedy C. *Beijerinckia* / C. Kennedy // *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria* / - -. – USA : John Wiley & Sons, Inc., 2015. – -. – С. 1-15.
3. Васильев, Д.А. Методы общей бактериологии : учебно-методическое пособие / Д.А. Васильев, С.Н. Золотухин, Н.М. Никишина. – Ульяновск : Академия ветеринарных наук Поволжское региональное отделение Кафедра микробиологии, вирусологии, эпизоотологии и ВСЭ Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии Научно-методический центр пищевых инфекций, 1998. – 150 с.
4. Васильев, Д.А. Методы общей бактериологии : учебно-методическое пособие / Д.А. Васильев. – Ульяновск : Кафедра микробиологии, вирусологии, эпизоотологии и ВСЭ Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии, 2021. – 129 с.
5. Патент № 2625967 С Российская Федерация, МПК C05F 11/08, C12N 1/20, A01N 63/00. Штамм бактерий *Beijerinckia fluminensis* Bf 2806, его применение в качестве удобрения и агента биологического контроля в профилактике и/или лечении заболеваний растений и способ стимуляции роста и защиты растений от болезней : № 2015138550 : заявл. 10.09.2015 : опубл. 20.07.2017 / С. А. Пластинин, А. В. Здорнов,

В. А. Никульшин ; заявитель ООО "Промышленные Инновации". – EDN VWSZMQ.

6. textarchive.ru : сайт. – URL: <https://textarchive.ru/c-1139900-p3.html> (дата обращения: 22.02.2025)

7. Разработка метода получения витаминов группы В с помощью азотфиксирующих бактерий: *Azotobacter chroococcum* и *Beijerinckia fluminensis* // Электронный ресурс. URL: <https://profil.mos.ru/ntek/proekty/razrabotka-metoda-polucheniya-vitaminov-gruppy-b-s-pomoshchyu-azotfiksiruyushchikh-bakterij-azotobacter-chroococcum-i-beijerinckia-fluminensis.html> (дата обращения: 22.02.2025)

8. Identification of *Beijerinckia fluminensis* strains CIP 106281T and UQM 1685T as *Rhizobium radiobacter* strains, and proposal of *Beijerinckia doebereineriae* sp. nov. to accommodate *Beijerinckia fluminensis* LMG 2819 / M. Oggerin, D.R. Araha, V. Rubio, I. Marin // International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. – 2009. – № 59. – С. 2323–2328.

9. Atlas, R.M. Handbook of microbiological media / R.M. Atlas. – Washington, D.C. : ASM Press, 2010. – 2040 с. – ISBN 978-1-4398-0406-3.

10. Пульчеровская, Л.П. Сельскохозяйственная микробиология. Лабораторный практикум : учебное пособие / Л.П. Пульчеровская, С.Н. Золотухин, Д.А. Васильев. – Ульяновск : Министерство сельского хозяйства Российской Федерации ФГБОУ ВПО «Ульяновская ГСХА м. П.А. Столыпина», 2015. – 69 с.

11. Пульчеровская, Л.П. Сельскохозяйственная микробиология : учебное пособие / Л.П. Пульчеровская, Д.А. Васильев, С.Н. Золотухин. – Часть I. – Ульяновск : Министерство сельского хозяйства Российской Федерации ФГБОУ ВО «Ульяновская ГСХА м. П.А. Столыпина», 2016. – 161 с.

12. Майоров П.С., Ляшенко Е.А., Феоктистова Н.А. Изучение целлюлозолитической активности коллекции "полевых" культур бактерий // Вестник ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. 2024. - №3(67). – С. 133-137

SOME NUTRIENT MEDIA FOR ISOLATION AND CULTIVATION OF BEIJERINCKIA FLUMINENSIS BACTERIA

Kovalev A.A.

**Scientific supervisor – P.S. Maiorov,
Ulyanovsk SAU**

Keywords: *Beijerinckia fluminensis, nutrient media, nitrogen-fixing bacteria*

In this paper, liquid and dense nutrient media used in Russia and abroad for the isolation and cultivation of Beijerinckia fluminensis are considered, their compositions are given and their characteristics are compared.