

УДК 636.087.8+579.62

СКРИНИНГ СПОРООБРАЗУЮЩИХ БАКТЕРИЙ, ПЕРСПЕКТИВНЫХ ДЛЯ СОЗДАНИЯ ПРОБИОТИЧЕСКОЙ КОРМОВОЙ ДОБАВКИ НА ОСНОВЕ КРАХМАЛСОДЕРЖАЩЕГО СЫРЬЯ

И. А. ПРОСКУРНИНА¹, Н. В. СВЕРЧКОВА¹,
Т. В. РОМАНОВСКАЯ¹, К. В. КАНТОР¹,
Э. И. КОЛОМИЕЦ¹, А. Н. МИХАЛЮК²

¹Институт микробиологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь,
microbio@mbio.bas-net.by

²Гродненский государственный аграрный университет,
Гродно, Беларусь,
alex-vet@mail.ru

Проведен скрининг коллекционных культур рода *Bacillus* и спорообразующих бактерий, выделенных из природных источников, по способности продуцировать внеклеточные амилазы, целлюлазы, β -глюканазы, ксиланазы и проявлять антагонистические свойства в отношении условно-патогенных бактерий. Отобраны наиболее активные культуры, характеризующиеся антагонистической, ферментативной активностями и способностью к росту на концентрированных крахмалсодержащих питательных средах. Показана перспективность их использования в качестве основы кормовой добавки. По результатам оценки физиолого-биохимических свойств и молекулярно-генетических исследований отобранные изоляты идентифицированы как *Bacillus velezensis*.

Введение. В связи с введением запрета на использование кормовых антибиотиков, вызывающих развитие устойчивости патогенных микроорганизмов и нарушение симбионтных микробных систем в желудочно-кишечном тракте, возрастает роль экологически безопасных пробиотических кормовых добавок, которые обеспечивают нормализацию состава кишечной микрофлоры, сокращение заболеваемости, повышение иммунитета животных. Применение пробиотических кормовых добавок позволяет повысить продуктивность животных на 5–25 %, эффективность лечения желудочно-кишечных заболеваний – на 30–40 %. Особенно актуально использование пробиотиков в рационах

молодняка животных и птицы, так как несформированность кишечной микрофлоры и иммунитета приводит к гибели до 40 % поголовья. Применение добавок с первого дня жизни обеспечивает повышение сохранности стада до 98–100 % [1, 2].

В последние годы большое внимание уделяется созданию пробиотиков на основе спорообразующих бактерий рода *Bacillus*, относящихся к самоэлиминирующимся антагонистам [3–5]. Перспективность их использования обусловлена высокой биологической активностью, устойчивостью к литическим и пищеварительным ферментам, способностью длительно сохранять жизнеспособность в желудочно-кишечном тракте, а также технологичностью в производстве. Бациллы проявляют антагонизм в отношении патогенных штаммов, резистентных к химическим антибиотикам, активизируют неспецифическую резистентность животных. Некоторые представители рода *Bacillus* образуют субстанции, нейтрализующие бактериальные токсины [1, 6]. Высокая антагонистическая активность штаммов спорообразующих бактерий в сочетании со способностью синтезировать широкий спектр гидролитических ферментов, разлагающих крахмал, пектины, целлюлозу, жиры, белки, обеспечивают эффективность пробиотических кормовых добавок, разработанных на основе бацилл. Экзогенные ферменты улучшают использование трудноперевариваемых компонентов корма и, наряду с антимикробным эффектом бацилл, способствуют поддержанию микробного гомеостаза кишечника [7, 8].

Наиболее приемлемой препаративной формой пробиотиков является сухая. К числу преимуществ сухой формы можно отнести длительность хранения, компактность, удобство транспортировки и применения. Одним из подходов в разработке сухих препаратов является выращивание культур микроорганизмов в питательных средах с высокой концентрацией сухих веществ, что позволяет исключить энергоемкие процессы концентрирования перед сушкой биопрепарата. Проведенные ранее [9] исследования показали, что при культивировании бактерий-антагонистов рода *Bacillus* на средах с соевой, ржаной и кукурузной мукой достигаются высокие показатели их роста и антимикробной активности.

Цель исследования – выделение и скрининг штаммов спорообразующих бактерий, утилизирующих крахмалсодержащие субстраты и обладающих ферментативной и антагонистической активностью.

Объекты и методы исследования. Объектами исследований служили изоляты спорообразующих бактерий, выделенные из образцов почв и растительных остатков, и штаммы-антагонисты рода *Bacillus* из коллекции лаборатории средств биологического контроля Института микробиологии НАН Беларуси.

В качестве тест-объектов использовали условно-патогенные бактерии *Escherichia coli* A-39, *Staphylococcus aureus* B-107, *Salmonella dublin*.

Выделение спорообразующих бактерий осуществляли методом накопительных культур. Для получения изолированных колоний суспензии прогревали при 80 °C в течение 10 мин и высевали методом предельных разведений на минимальную питательную агаризованную среду следующего состава (г/л): картофельный крахмал – 10,0; $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ – 4,75; KH_2PO_4 – 9,6; $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,18; натрия цитрат – 1,29; вода дистиллированная – до 1 л; pH 6,8–7,2.

Оценку ферментативной активности изолятов проводили чашечным методом на агаризованных средах с различными специфическими субстратами (картофельный крахмал, натриевая соль карбоксиметилцеллюлозы – NaКМЦ, ксилан березы, β -глюкан ячменя). По окончании инкубирования (72 ч при 30 °C) содержимое чашек прокрашивали специфическими красителями (растворы Люголя и 0,1 % конго красного). Об активности продуцируемых культурами ферментов судили по диаметру прозрачных зон гидролиза соответствующих субстратов вокруг колоний и оценивали как слабую (1–4 мм), среднюю (5–12 мм), высокую (13 мм и более) [10].

Активность α -амилазы определяли по способности катализировать гидролиз крахмала до декстринов различной молекулярной массы [11]. За единицу активности принимали такое количество фермента, которое в течение 1 ч при 30 °C и pH 6,0 катализует гидролиз 1 г растворимого крахмала, что составляет 30 % от введенного в реакцию.

Отбор бактерий-антагонистов проводили методами точечного тестирования и лунок [12]. Антагонистическую активность изолятов оценивали по относительным зонам лизиса тест-объектов вокруг колоний изолятов либо лунок с культурой.

Идентификацию наиболее активных бактериальных изолятов осуществляли по схеме, приведенной в руководствах [13–15]. Таксономическое положение выделенных бактерий устанавливали по Берги [13]. Морфологические, культуральные и физиолого-биохимические признаки микроорганизмов исследовали по общепринятым методам [14, 15].

Анализ нуклеотидных последовательностей гена 16S рПНК отобранных изолятов выполнен в лаборатории «Центр аналитических и генно-инженерных исследований» Института микробиологии НАН Беларуси.

Глубинное культивирование исследуемых бактерий проводили в колбах Эрленмейера на шейкере-инкубаторе (180–250 об/мин) в диапазоне температур 30–34 °С в среде Мейнелла с 2%-ной мелассой и в среде Лурия-Бертани (LB) с 4%-ным картофельным крахмалом в качестве углеродсодержащего субстрата в течение 48–72 ч. Для засева питательных сред использовали односуточный вегетативный посевной материал ($0,8\text{--}1,2 \times 10^9$ КОЕ/мл) в количестве 10 об.%.

Выделенные культуры хранили на агаризованных средах – мясо-пептонной среде или LB с 1%-ным крахмалом.

Исследование токсичности и безвредности отобранных штаммов бактерий в условиях *in vivo* проводили на беспородных белых крысах массой 186–222 г, распределенных на 7 групп (6 опытных и 1 контрольную) по 10 особей в каждой. Культуры микроорганизмов вводили животным внутрибрюшинно и орально в дозе 3 мл. Для определения токсикогенности культуры бактерий вводили крысам в области стопы задней правой лапки в дозе 0,1 мл, для определения аллергенности – внутрикожно в дозе 0,04 мл течение 3 сут. В качестве контроля использовали стерильную питательную среду. За животными вели наблюдение в течение 14 сут.

Полученные результаты подвергали статистической обработке с помощью программы Microsoft Excel. При статистиче-

ской обработке результатов экспериментов проводили определение средних арифметических и их доверительных интервалов для уровня вероятности 95 % [16].

Результаты и обсуждение. Из образцов, отобранных на территории животноводческой фермы и птичника, выделены 50 изолятов спорообразующих бактерий, растущих на минимальной агаризованной среде с 1%-ным растворимым крахмалом в качестве единственного источника углерода. Данную выборку анализировали на проявление амилалитической, целлюлазной, β -глюканазной, ксиланазной (рис. 1) и антагонистической активности.

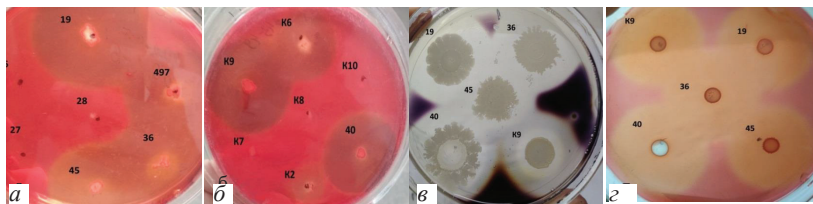


Рис. 1. Зоны гидролиза Na-КМЦ (а), β -глюкана (б), крахмала (в), ксилана (г) отобранными бактериями

В соответствии с полученными результатами из 50 испытанных изолятов около 30 % проявляли избирательную антагонистическую активность к тест-объектам (*E. coli* 39A, *S. aureus* В 107), 50 % обладали амилалитической активностью, 66 % – целлюлазной, 67 % – β -глюканазной, 68 % – ксиланазной (рис. 2). При этом только 10 % изолятов (K9, 19, 36, 40, 45) соответствовали всем требуемым критериям отбора: способностью продуцировать комплекс амилаз, целлюлаз и антимикробных метаболитов.

Результаты оценки ферментативной и антагонистической активности отобранных изолятов, а также коллекционных штаммов приведены в табл. 1. Интенсивность синтеза ферментов и антимикробных метаболитов на плотных средах тестировали по величине отношения D/d , где D – диаметр зоны гидролиза, d – диаметр бактериальной колонии. Все исследуемые изоляты и штаммы гидролизovali широкий спектр углеводов субстратов. При этом наиболее высокий уровень ксиланазной активности

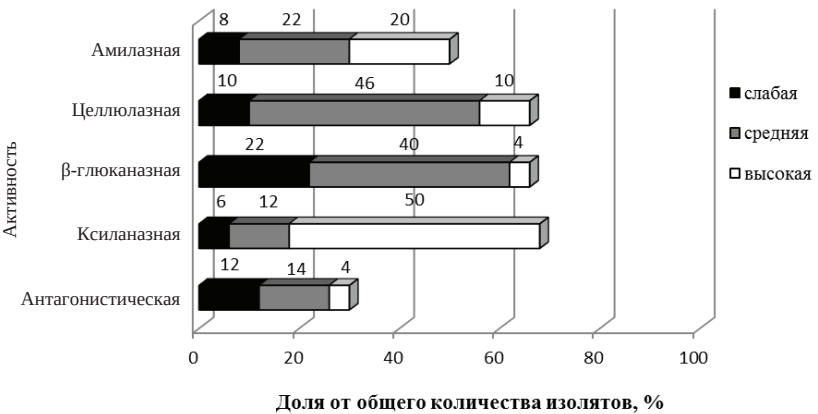


Рис. 2. Ферментативная и антагонистическая активность изолятов

Таблица 1. Ферментативная и антагонистическая активность отобранных изолятов и коллекционных штаммов

Изолят, штамм	Ферментативная активность				Антагонистическая активность в отношении тест-объектов	
	Амилоли- тическая	КМЦ- азная	β-глюка- назная	Ксила- назная	<i>E. coli</i> 39A	<i>S. aureus</i> B107
Изоляты						
К9	3,3	3,2	3,0	7,8	2,4	1,6
19	2,5	2,7	3,2	9,0	–	2,8
36	2,2	2,1	2,5	7,2	2,1	2,8
40	1,9	5,0	4,2	9,2	2,2	1,5
45	1,7	3,0	3,3	6,6	–	2,0
Коллекционные штаммы						
<i>B. amyloliquefaciens</i> БИМ В-497 Д	3,2	2,9	3,0	7,8	3,2	2,4
<i>B. velezensis</i> БИМ В-439 Д	2,3	3,2	2,8	7,2	2,0	1,6
<i>B. subtilis</i> БИМ В-454 Д	2,1	2,9	2,7	6,8	1,7	1,4
<i>B. subtilis</i> 266с	2,2	3,7	2,9	5,8	1,8	–

Примечание. Ферментативную и антагонистическую активность оценивали по величине отношения диаметра зоны гидролиза / лизиса (*D*) к диаметру колонии (*d*).

наблюдался у изолятов 19 и 40 (9,0 и 9,2), амилалитической – у К9 (3,3), КМЦ-азной и β -глюканазной – у 40 (5,0 и 4,2 соответственно).

Оцениваемые методом точечного тестирования антагонистические свойства были наиболее выражены у штамма *B. amyloliquefaciens* БИМ В-497 Д в отношении *E. coli* (3,2), у изолятов 19 и 36 – в отношении *S. aureus* (2,8).

Дальнейшее исследование антагонистической активности отобранных изолятов проводили методом лунок (табл. 2). Жидкие трехсуточные бактериальные культуры получали глубинным выращиванием в питательной среде Мейнелла.

Т а б л и ц а 2. Антагонистическая активность отобранных бактериальных культур (метод лунок)

Изолят	Диаметр зон ингибирования роста патогенов, мм		
	<i>E. coli</i> 39A	<i>S. aureus</i> B107	<i>S. dublin</i>
К9	23,0 $\pm$ 0,3 ¹	32,0 $\pm$ 0,6 ²	24,0 $\pm$ 0,9 ¹
19	19,0 $\pm$ 0,4 ¹	22,0 $\pm$ 0,2 ¹	23,0 $\pm$ 0,7 ¹
36	19,0 $\pm$ 0,4 ¹	20,0 $\pm$ 0,5 ¹	18,0 $\pm$ 0,5 ¹
40	27,0 $\pm$ 0,5 ¹	31,0 $\pm$ 0,6 ²	24,0 $\pm$ 0,4 ¹
45	20,0 $\pm$ 0,3 ¹	20,0 $\pm$ 0,5 ¹	18,0 $\pm$ 0,2 ¹
<i>B. amyloliquefaciens</i> БИМ В-497 Д	26,0 $\pm$ 0,9 ¹	35,0 $\pm$ 0,6 ²	25,0 $\pm$ 0,5 ¹

П р и м е ч а н и е. Обозначения: 1 – диаметр зон нарастания антагониста на патоген; 2 – диаметр зон лизиса тест-объекта.

Установлено, что наиболее высокую антагонистическую активность проявляли изоляты К9, 19, 40 и коллекционный штамм *B. amyloliquefaciens* БИМ В-497 Д.

Полученные результаты подтверждены исследованиями антимикробной активности изолятов К9, 19, 40 в отношении тест-объектов, выделенных от животных с клиническими признаками колибактериоза и мастита (рис. 3). Установлена способность отобранных культур подавлять рост патогенных микроорганизмов с эффективностью 50–70 %.

Таким образом, с использованием различных тест-объектов и методов оценки антимикробной активности получены данные, подтверждающие перспективность использования исследуемых

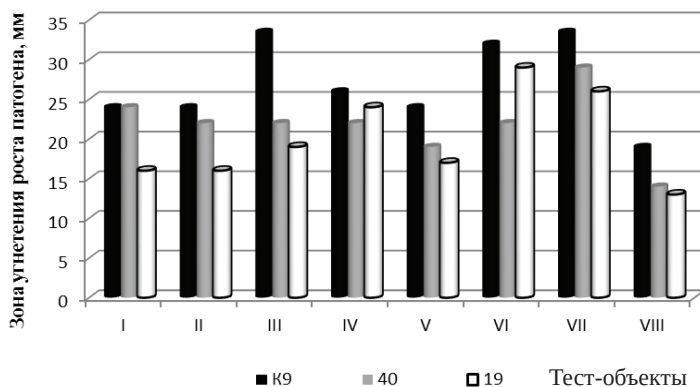


Рис. 3. Антагонистическая активность отобранных штаммов в отношении патогенов, выделенных из клинического материала. Тест-объекты: I, VIII – палочкообразные энтеробактерии, II–VII – коккообразные формы

бактерий в качестве антагонистов микроорганизмов, вызывающих заболевания сельскохозяйственных животных и птицы.

При оценке биосовместимости исследуемых культур методом лунок установлено отсутствие перекрестного антагонизма, что свидетельствует о возможности их совместного использования.

Способность отобранных культур расти в жидкой среде LB с картофельным крахмалом (4 %) оценивали по титру КОЕ и спор, α -амилазной активности и степени гидролиза крахмала. Показано, что исследуемые бактерии хорошо развиваются на крахмалсодержащем субстрате: отмечено активное спорообразование культур на 72 ч роста (80–100 %). Наибольшая α -амилазная активность установлена в КЖ изолята K9 и штамма *B. amyloliquefaciens* БИМ В-497 Д (0,45 и 0,38 ед/мл соответственно).

С целью идентификации перспективных изолятов изучены их морфологические и физиолого-биохимические свойства. Установлено, что выделенные культуры представляют собой подвижные грамположительные палочки бациллярной формы размером $0,6\text{--}0,8 \times 2,0\text{--}3,0$ мкм. Споры эллипсоидные, расположены центрально или терминально. Спорангиум не расширен. Клетки лежат одиночно либо попарно, реже по 4–5 в коротких цепочках. Все исследуемые бактерии-антагонисты относятся

к группе аэробов или факультативных анаэробов, проявляют окислительный или бродильный тип метаболизма, восстанавливают нитраты, способны расти в пределах pH 4,0–9,5 (с оптимумом при pH 6,5–7,5) и температуры 20–45 °C (с оптимумом 30–37 °C), в средах с содержанием NaCl до 10 % (изолят 19 до 8 %). Исследуемые штаммы каталазо-положительны и оксидазо-отрицательны, утилизируют широкий спектр сахаров с образованием кислоты: D-глюкозу, D-маннозу, мальтозу, галактозу, D-фруктозу, сорбит, лактозу, D-ксилозу, не потребляют D-арабинозу и L-ксилозу, гидролизуют казеин и желатину.

Сравнительный анализ секвенированных нуклеотидных последовательностей гена 16S рРНК штаммов K9, 19, 40 и референтных нуклеотидных последовательностей из базы данных GenBank выявил их высокое сходство с нуклеотидными последовательностями гена 16S рРНК представителей рода *Bacillus*, вида *Bacillus* sp. (96–98 %).

На основании данных типирования с использованием диагностических видоспецифических праймеров 171F1 (5'-tctcgtagaccgcaa-3') и 353r1 (5'-gatccagcctgttttttgc-3') (при сравнении с референтным штаммом, депонированным в базе NCBI под номером CP032144), сделано заключение о наиболее вероятной принадлежности штаммов K9, 40, 19 к видам *B. velezensis* либо *B. amyloliquefaciens* (рис. 4).

Для уточнения таксономического статуса изолятов была исследована их способность гидролизовать Tween 20 и Tween 80 (отрицательный результат), указавшая на сходство исследуемых культур с видом *Bacillus velezensis* по фенотипическим признакам [17].

Таким образом, в соответствии с установленными физиолого-биохими-

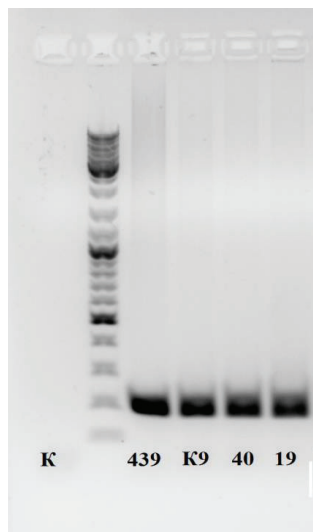


Рис. 4. Электрофореграмма продуктов ПЦР штаммов K9, 40, 19 (439 – *Bacillus velezensis* БИМ В-439 Д, референтный)

мическими свойствами и генетическими особенностями выделенные изоляты идентифицированы как *Bacillus velezensis* K9, *B. velezensis* 40 и *B. velezensis* 19.

Согласно результатам токсикологических испытаний, спорообразующие бактерии *B. velezensis* K9, *B. velezensis* 40 и *B. velezensis* 19 являются непатогенными и безвредными для лабораторных животных, не обладают токсичностью, аллергенностью и токсигенными свойствами и могут использоваться в микробиологической промышленности.

Отобранные штаммы бактерий депонированы в Белорусской коллекции непатогенных микроорганизмов.

Заключение. Из почвы выделены 50 изолятов спорообразующих бактерий, растущих на минимальной агаризованной среде с крахмалом. Отобраны изоляты K9, 40 и 19, продуцирующие комплекс амилаз, целлюлаз, β -глюканаз, ксиланаз и антимикробных метаболитов. Изучены физиолого-биохимические свойства и генетические особенности культур, в соответствии с которыми они отнесены к виду *Bacillus velezensis*. Установлено, что исследуемые штаммы непатогенны и безвредны для лабораторных животных, нетоксичны, неаллергенны и нетоксигенны.

Среди коллекционных культур по продукции комплекса ферментов и антимикробных метаболитов отобран штамм *B. amyloliquefaciens* БИМ В-497 Д.

Наибольшая α -амилазная активность установлена у бактерий *B. velezensis* K9 и *B. amyloliquefaciens* БИМ В-497 Д, что свидетельствует о перспективности их использования для получения кормовой добавки на основе крахмалсодержащего сырья.

Литература

1. Соколенко, Г. Г. Пробиотики в рациональном кормлении животных / Г. Г. Соколенко, Б. П. Лазарев, С. В. Миньченко // Технологии пищ. и перерабаты. пром-сти АПК – продукты здорового пит. – 2015. – № 1. – С. 72–78.
2. Кушнир, И. М. Изучение влияния спорообразующих микроорганизмов на нормофлору кишечника кур – важный этап конструирования пробиотического препарата // Науч. вестн. ЛНУВМБТ им. С. З. Гжицкого. – 2015. – № 2. – С. 108–112.
3. Механизмы влияния пробиотических препаратов кормового назначения на кишечное микробное сообщество и стратегия повышения их эффек-

тивности / Н. А. Ушакова [и др.] // Изв. РАН. Сер. биологич. – 2015. – № 5. – С. 1–9.

4. Пышманцева, Н. А. Научное обоснование практического применения отечественных пробиотиков в птицеводстве и животноводстве: дис. ... д-ра с.-х. наук : 06.02.08 / Н. А. Пышманцева. – Краснодар, 2012. – 350 с.

5. Лев, И. О. Антимикробные свойства низкомолекулярных пептидов, биосурфактантов и метаболитов из некоторых видов энтерококков и бацилл / И. О. Лев, И. А. Дунайцев, В. Д. Похиленко // Актуальные вопросы развития современного общества : материалы Междунар. науч.-практ. конф., Пермь, 15 мая 2016 г. / ФБУН Гос. научн. центр прикл. микр. и биотехн. ; редкол.: Т. М. Сигитов [и др.]. – Пермь, 2016. – 106 с.

6. Грязнева, Т. Н. Биологически активные вещества, продуцируемые бактериями рода *Bacillus* / Т. Н. Грязнева // Лечащий врач. – 2013. – № 4. – С. 54–63.

7. Berkold, Y. Effect of probiotic preparations on the basis of *Bacillus subtilis* on physiological growth indices of chicken broilers / Y. Berkold, A. B. Ivanova // Siber. Herald of Agricult. Sci. – 2006. – № 6. – Р. 45–48.

8. Ушакова, Н. А. Поколение пробиотических препаратов кормового назначения / Н. А. Ушакова [и др.] // Фундаментал. исслед. – 2012. – № 1. – С. 184–192.

9. Влияние компонентов питательной среды на антимикробную и энтомощидную активность бактерий рода *Bacillus* / И. Н. Ананьева [и др.] // Современное состояние и перспективы развития микробиологии и биотехнологии : материалы VI Междунар. конф., Минск, 2–6 июня 2008 г. – Минск, 2008. – Т. 1. – С. 331–333.

10. ОФС.1.7.2.0012.15. Производственные пробиотические штаммы и штаммы для контроля пробиотиков : введ. 29.10.2015. – М., 2016. – 49 с.

11. Ферментные препараты для пищевой промышленности: методы определения амилалитической активности : ГОСТ Р 54330-2011. – Введ. 15.06.2001. – М. : Стандартинформ, 2012. – 13 с.

12. Сэги, Й. Методы почвенной микробиологии / Й. Сэги. – М. : Колос, 1983. – 253 с.

13. Bergey's manual of systematic bacteriology / S. T. Williams [et al.] // Baltimore : Williams and Wilkins, 1989. – Vol. 4. – 2545 p.

14. Методы общей бактериологии : в 3 т. / ред.: Ф. Герхард. – М. : Мир, 1984. – Т. 3. – 264 с.

15. Егоров, Н. С. Руководство к практическим занятиям по микробиологии / Н. С. Егоров. – М. : МГУ, 1983. – 128 с.

16. Козлов, А. Ю. Статистический анализ данных в MS Excel : учеб. пособие / Ю. А. Козлов, В. С. Мхитарян, В. Ф. Шишов. – М. : ИНФРА-М, 2012. – 320 с.

17. *Bacillus velezensis* sp. nov., a surfactant-producing bacterium isolated from the river Vélez in Málaga, southern Spain / C. Ruiz-García [et al.] // Int. J. Syst. Evol. Microbiol. – 2005. – Vol. 55. – P. 191–195.

SCREENING OF SPORULATING BACTERIA AS POTENTIAL INGREDIENTS OF PROBIOTIC FEED ADDITIVE PROMOTING CONVERSION OF STARCH SUBSTRATES

I. A. PROSKURNINA¹, N. V. SVERCHKOVA¹, T. V. ROMANOVSKAYA¹,
K. V. KANTOR¹, E. I. KALAMIYETS¹, A. N. MICHALYUK²

¹*Institute of Microbiology, National Academy of Sciences, Minsk, Belarus,
microbio@mbio.bas-net.by*

²*Grodno State Agrarian University, Grodno, Belarus,
alex-vet@mail.ru*

Collection cultures of genus *Bacillus* and sporulating bacteria isolated from natural sources were screened for the ability to produce complexes of extracellular amylases, cellulases, β -glucanases, xylanases and to display antagonistic properties toward opportunistic bacteria. The most active strains distinguished by dual antagonistic and enzymatic activities and the capacity to grow on concentrated starchy nutrient media were selected. Their prospects were demonstrated as vital constituents of probiotic feed additive. Based on physiological-biochemical tests and molecular-genetic investigations the isolates were identified as *Bacillus velezensis*.

Поступила в редакцию 29.04.2019

УДК 579.64+639.311:631.86

ВЫДЕЛЕНИЕ И ОТБОР АЗОТФИКСИРУЮЩИХ И ФОСФАТСОЛЮБИЛИЗИРУЮЩИХ БАКТЕРИЙ – ОСНОВЫ МИКРОБНОГО УДОБРЕНИЯ ДЛЯ РЫБОВОДНЫХ ПРУДОВ

Г. В. САФРОНОВА¹, З. М. АЛЕЩЕНКОВА¹,
Г. П. ВОРОНОВА², О. Н. МАРЦУЛЬ²

¹*Институт микробиологии НАН Беларуси,
Минск, Беларусь,
microbio@mbio.bas-net.by*

²*Институт рыбного хозяйства, Минск, Беларусь,
gidrobiolog-fishpond@mail.ru*

Приведены экспериментальные данные по выделению из эпилимниона рыбных прудов изолятов олигонитрофильных и фосфатмобилизирующих бактерий. По наличию *nifH*-гена, азотфиксирующей и фосфатмобилизирующей способности, деструктивной активности (БПК₁ и БПК₅) из выделенных