

**ВЕТЕРИНАРНАЯ МЕДИЦИНА  
И МОРФОЛОГИЯ ЖИВОТНЫХ**

УДК 579.8 (571.54)

**С. М. Алексеева, В. Ц. Цыдыпов**

ФГБОУ ВПО «Бурятская ГСХА им. В. Р. Филиппова», Улан-Удэ  
E-mail: Sayana 1976712@rambler.ru

**ДИНАМИКА ИЗМЕНЧИВОСТИ БИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ МИКРОБОВ  
ПРИ КУЛЬТИВИРОВАНИИ ИХ В ПОЧВЕ**

**Ключевые слова:** микробы, изменчивость, почва, температура, экология.

*Представлены результаты изучения действия различных экологических факторов на изменчивость биологических свойств у микробов.*

**S. Alekseeva, V. Tsydypov**

FSBEI HPT «Buryat State Academy of Agriculture named after V. Philippov», Ulan-Ude

**VARIABILITY DYNAMICS OF MICROBES' BIOLOGICAL PROPERTIES  
AT THEIR CULTIVATION IN GROUND**

**Key words:** microbes, variability, soil, temperature, ecology.

*The effect of various ecological factors on the variability of microbe's biological properties was studied.*

**Введение.** Жизнь микроорганизмов тесно связана с окружающей средой. С одной стороны, их деятельность значительно изменяет окружающую среду в результате использования ее питательных веществ; с другой стороны, интенсивность обменных процессов в клетке во многом зависит от условий окружающей среды.

Экологические факторы весьма многообразны и изменчивы, и поэтому микроорганизмы постоянно адаптируются к ним

и регулируют свою жизнедеятельность в соответствии с их изменениями. Многие повреждения, возникающие в клетке и со временем способные привести к ее гибели, могут быть ликвидированы в определенных условиях, и тогда способность к росту и размножению восстанавливается. Экологические факторы имеют разную природу и специфику действия.

Среди объектов внешней среды почва занимает особое место [4]. Сведения

по экологии патогенных бактерий во внешней среде немногочисленны [1]. Известно, что возбудители многих инфекций – сальмонеллез, кишечная палочка, микобактерии – регулярно выделяются из почвы, сохраняют жизнеспособность в широком диапазоне различных абиотических факторов среды [6]. По данным В. Н. Кисленко [2], обнаружение патогенных бактерий (сальмонелл, стафилококков, листерий, бацилл и др.) в почве и воде проявляют определенную закономерность: при понижении температуры ниже 20°C и при наличии достаточной влажности жизнеспособность бактерий увеличивается многократно. Например, при искусственном заражении проб почв псевдотуберкулезным микробом возбудитель высевался из стерильной почвы в течение 360 дней (срок наблюдения), а из нестерильной – 189 дней при 18-20°C [3]. Также обнаружено, что увеличение толщины клеточной стенки у бактерий зависит от продолжительности их пребывания в почве [5, 7].

#### **Условия и методы исследования.**

Нами изучалась жизнеспособность микробных изолятов в течение 6 месяцев в нестерильных и стерильных условиях. Так как интенсивность обменных процессов и разнообразных биологических процессов находится в тесной зависимости от температурных условий, опыты проводились в трех вариантах: при комнатной температуре, в термостате, а также в полевых условиях.

Для изучения микроорганизмов во внешней среде производили обсеменение опытных участков. Пробы почв брали ежемесячно. Готовили разведения от  $10^2$  до  $10^6$ . Из каждого предыдущего разведения стерильной пипеткой брали по 1 мл суспензии культур и переносили в следующую пробирку. Затем из последних разведений вносили по 1 мл разведенной суспензии в стерильные чашки Петри. Выросшие колонии подсчитывали и умножали на степень разведения, что составляло количество микробов, содержащихся в 1 г почвы. Если получали сходные колонии исследуемых культур, их отвивали и изучали свойства.

Для бактериологического исследования были отобраны образцы каштановой среднесуглинистой почвы. Содержание гумуса составило 2,45-2,95 %; pH = 6,4-6,6; содержание подвижных форм  $P_2O_5$  (по Мачигину) составило 5,27 и  $K_2O$  – 10,04 мг экв/100 г почвы; обменные основания  $Ca^{2+}$  - 22,0 и  $Mg^{2+}$  - 5,5 мг экв/100 г почвы.

В опытах использовались следующие микроорганизмы: сибиреязвенный вакцинный штамм 55, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus megaterium*, *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*.

**Результаты исследований. Динамика ферментативной активности микробов при t 20°C.** При культивировании *St. aureus* подавлялось сбраживание сахарозы, реакция Фогес-Проскауэра и ферментация орнитина, цитрат натрия в последние месяцы. Показатель биохимического отличия от исходной культуры составил 50 %.

За 6 месяцев роста кишечной палочки в ферментативной активности закреплялась приобретенная реакция Фогес-Проскауэра и способность сбраживать сахарозу, маннит и сорбит, а способность разлагать цитрат натрия терялась. Биохимическая активность отличалась от исходных показателей на 60% признаков.

У *S. typhimurium* в последние 2 месяца культивирования наблюдалось приобретение сбраживания сахарозы, маннита и сорбита, реакции Фогес-Проскауэра, и показатель различия составил 50 %.

Изменчивость в биохимическом варианте у *Bac. megaterium* наблюдалась в ферментации сахарозы, реакции Фогес-Проскауэра, в приобретении способности сбраживать маннит и инозит. В ферментации сорбита и орнитина изменения совершались циклично. Реакция на цитрат натрия оказалась отрицательной к концу культивирования. Показатель различия от контрольных данных составил 40 %.

У *L. monocytogenes* изменения касались, в основном, сбраживания углеводов: сахарозы, инозита, сорбита, орнитина и на цитрат натрия. Показатель био-

химических отличий составил 60 %.

При росте сибиреязвенного вакцинного штамма-55 изменения касались ферментации сахарозы, инозита, реакции на цитрат натрия.

В течение 6 месяцев культивирования при температуре 20°C вариабельность биохимического портрета наблюдалась у 5 (50%) из 10 (100 %) изучаемых признаков.

**Динамика ферментативной активности микробов при t 37°C.** При росте микробной культуры *St. aureus* изменения наблюдались по отношению к реакции Фогес-Проскауэра (потеря положительной реакции через 3–4 месяца), маннита (восстановление сбраживания через 3–4 месяца), цитрата натрия (потеря реакции через 4 месяца). Показатель отличия составил 50 %.

У *E. coli* изменения касались следующих углеводов: сахарозы (восстановление ферментации в последние месяцы), маннита, глюкозы, сорбита и орнитина (потеря восстановленного свойства через 5–6 месяцев). Реакция Фогес-Проскауэра оказалась положительной по сравнению с контролем, а реакция на цитрат натрия, наоборот, была отрицательной. Образование сероводорода только к концу культивирования было сомнительным. Показатель изменчивости признаков биохимической активности от исходной культуры составил 70 %.

У *S. typhimurium* изменения отмечались в сбраживании сахарозы, маннита, сорбита, орнитина, реакциях Фогес-Проскауэра и цитрата натрия. Образование сероводорода проявилось через 1–2 месяца культивирования. В биохимической активности изменения касались двух свойств из десяти.

Изменчивость *Vac. megaterium* наблюдалась в ферментации сбраживания сахарозы, восстановлении маннита и орнитина. Появление отрицательной реакции Фогес-Проскауэра и цитрата натрия к концу культивирования. Признаки биохимических характеристик отличался от исходных в половине случаев.

У *L. monocytogenes* изменения касались сбраживания сахарозы, маннита,

инозита, сорбита и орнитина. В течение 6 месяцев культивирования биохимическая вариабельность наблюдалась у 20 % признаков.

Изменчивость признаков биохимической активности у вакцинного штамма-55, прежде всего, проявлялась в сбраживании углеводов и реакции Фогес-Проскауэра, также в приобретении способности образования сероводорода.

**Динамика ферментативной активности микробов, культивированных в полевых условиях.** По биохимическим признакам у стафилококков изменения касались ферментации сахарозы, инозита, сорбита и орнитина. Показатель биохимической вариабельности составил 20 %.

У *E. coli* отмечалось приобретение положительной реакции Фогес-Проскауэра, способности сбраживать маннит и потеря способности ферментации инозита и орнитина. Вариабельность биохимического портрета наблюдалась у 30% изучаемых признаков.

*S. typhimurium* по изменчивости биохимического отличия от исходного профиля отмечался у 30 % от контроля.

У *Vac. megaterium* изменения произошли в ферментации маннита, инозита и в потере сбраживания орнитина, в расщеплении реакции Фогес-Проскауэра. Показатель биохимического отличия составил 40 % от контроля.

Листерии изменялись в приобретении сбраживания маннита и инозита, в потере ферментации орнитина. Показатель биохимического отличия составил 30 % от контроля.

У сибиреязвенного вакцинного штамма-55 через месяц культивирования проявилась ферментация сахарозы. Показатель биохимического отличия к концу культивирования составил 40 % (табл. 1).

Далее было изучено действие дезинфицирующих веществ в концентрациях, обычно применяемых при обеззараживании различных поверхностей. Было отмечено, что при экспозиции 2 часа губительное действие оказывали более высокие концентрации, чем при экспозиции 24 часа (табл.2).

**Таблица 1** – Уровень показателей варибельности биохимических свойств микробов при культивировании их в почве и при разных температурных режимах, %

Наименование культуры	20°C	37°C	Полевой участок
<i>St. aureus</i>	50	50	20
<i>E. coli</i>	60	70	30
<i>S. typhimurium</i>	50	20	30
<i>B. megaterium</i>	40	50	40
<i>L. monocytogenes</i>	60	20	30
Сиб. вак. шт. 55	50	60	40

**Таблица 2** – Действие химических веществ на рост микроорганизмов

Наименование культуры	Концентрация, %		
	HCl	NaOH	Формальдегид
<i>S. typhimurium</i>	0,125* - 0,06**	0,125* - 0,125**	0,06* - 0,125**
<i>B. megaterium</i>	2* - 0,5**	2* - 0,5**	2* - 0,125**
<i>E. coli</i>	0,25* - 0,25**	0,25* - 0,25**	0,125* - 0,015**
Вак.шт.55	0,5* - 0,06**	0,125* - 0,125**	0,25* - 0,25**
<i>L. monocytogenes</i>	0,03* - 0,03**	0,5* - 0,06**	0,015* - 0,125**
<i>St. aureus</i>	0,03* - 0,03**	0,03* - 0,125**	0,015* - 0,015**

Примечание: \* - экспозиция 2 часа, \*\* - экспозиция 24 часа. В таблице представлены последние концентрации дезинфицирующих веществ, при которых рост не отмечен.

**Заключение.** Таким образом, ферментативная активность изменялась в зависимости от разных температурных режимов. Так, высокое отличие в биохимической варибельности отмечено, в основном, у микроорганизмов, культивируемых при температурах 20°C и 37°C, чем у микробных культур, выращенных на опытных полевых участках. Это связано с утратой биохимических процессов в стерильной почве, которая негативно отражалась на росте и размножении микробов, а в полевых условиях микроорганизмы находились в естественной природной среде. Очевидно, этот факт указывает на экологическую пластичность микробов, связанную с выработкой ферментов адаптивности.

Использованные в опыте дезинфицирующие препараты оказались эффективными в санации от вышеуказанных патогенных микробов на модельных участках и могут быть рекомендованы в целях санации пастбищных угодий.

#### Библиографический список

1. Кисленко В. Н. Экология патогенных микроорганизмов: учеб. пособие / В. Н. Кисленко. – Новосибирск, 2000. – 228 с.
2. Кисленко В. Н. Экологическая валент-

ность патогенных микроорганизмов и ее эпизоотологическое значение: монография / В.Н. Кисленко. – Новосибирск, 2001. – 288 с.

3. Колесов С. Г. Направленная изменчивость микробов сибирской язвы с целью получения вакцины / С. Г. Колесов // Тр. гос. науч.-контр. ин-та вет. препаратов, 1953, Т.4. – С.193-208.

4. Соколов К. И. Стабильность биологических свойств лиофильно высушенных бактерий / К. И. Соколов, Т. Е. Попова // Ветеринария. – 2000. – № 10. – С. 25-28.

5. Соркин Ю. И. К вопросу о токсичности почв Иркутской области по отношению к микробу сибирской язвы / Ю. И. Соркин, Д.П. Иванова, П. И. Найманов // Бюл. научн.-техн. информации Сибирского НИИ эксперим. ветеринарии Сиб. отд. ВАСХНИИЛ. – Новосибирск, 1976. – Вып.3. – С. 32-36.

6. Соркин Ю. И. Экология сибиреязвенного микроба в естественных биоценозах почв различных природных зон СССР / Ю.И. Соркин, А. В. Родзиковский // Экология возбудителей сапронозов. – М., 1988. – С. 65-79.

7. Merriououi N. Effects of la temperature, du pH et du rayonnement solaire sur la survie de differentes bacteries d'interet sanitaire dans une eau usee epuree par lagunage / N.Merriououi, B.Baleux // Rev. sei. eau. – 1992. – № 4. – P. 573-591.