

УДК 579.2

ИДЕНТИФИКАЦИЯ БАКТЕРИЙ *D. DESULFURICANS* ПО КУЛЬТУРАЛЬНЫМ СВОЙСТВАМ

*Гараджаев Т.Б., студент факультета ветеринарной
медицины и биотехнологии
Научный руководитель – Майоров П.С., ассистент
ФГБОУ ВО Ульяновский ГАУ*

Ключевые слова: микроорганизмы, сульфатредуцирующие бактерии, биологические свойства.

Сульфатредуцирующие бактерии, в частности *Desulfovibrio desulfuricans*, являются достаточно распространённой физиологической группой, характеризующейся способностью к образованию сероводорода из сульфата. Наиболее значимыми процессами жизнедеятельности рода *Desulfovibrio* являются: биоминерализация, круговорот серы в природе и биокоррозия металлов.

Активный рост сульфатредуцирующих бактерий приводит к резкому увеличению скорости коррозии (примерно в 24 раза) [1-5], а наличие застойных зон к добавочному усилению активности сульфатредуцирующих бактерий, то есть увеличению скорости локальной коррозии. Выделение и идентификация данных бактерий является сложным процессом [6-10], обусловленным биологическими свойствами данного рода.

Материалы и методы. Объектами исследования являлись образцы технологической воды, образцы ила, образцы глубинной воды пресных водоёмов.

Для выделения и дальнейшей идентификации были использованы следующие питательные среды: Среда Старки (рН – 7,6), среда Постгейта «В» (рН – 7,2), комбинация сред Иверсона и Постгейта (г/л), модифицированные среды для выделения (СРБ № 32, СРБ № 33, СРБ № 36)

Для работы с выделенными культурами были использованы классические методики.

Результаты собственных исследований. Для получения чистой культуры были проведены многократные пересевы с жидкой накопительной среды Постгейта «В» на твёрдые питательные среды, в том числе авторские СРБ № 32, СРБ № 33, СРБ № 36. В состав среды № 32 в качестве источника энергии введен пируват, в составе среды №

33 источник получения энергии лактат был заменен на малат. В обе среды сульфат, как обычный источник энергии добавлен не был. В составе среды № 36 в качестве дополнительного источника энергии введена глюкоза, задерживающая почернение среды до 48 ч, вместо обычных 24 ч. На всех предложенных средах рост сульфатредуцирующих бактерий наблюдался уже через 72 ч вместо 96 ч. на обычных питательных средах. Первоначально образцы технологической жидкости (воды, закачиваемой в пласт для поднятия нефти к поверхности скважины), высевали на жидкую среду Постгейта «В», являющуюся наиболее благоприятной для развития бактерий данного вида.

В пенициллиновый флакон с жидкой средой Постгейта «В» вносят 0,1-1 мл воды, находящейся в нефтяном пласте. Флакон наполняется средой так, чтобы после заражения под пробкой не оставалось пузырьков воздуха. Количество сульфатредуцирующих бактерий содержащихся, после инкубации в питательной среде, определяли в виде наиболее вероятного числа по таблицам Мак-Креди.

О росте бактерий можно судить по почернению придонного осадка среды и положительной реакции на сероводород. Для получения активной накопительной культуры делали 3-4 пересева на жидкую среду Постгейта «В» 4-5 суточным посевным материалом. Посевы инкубировали при 30 °С в течении недели и наблюдали за появлением признаков роста бактерий по почернению придонного осадка.

Проверку чистоты культуры проводили на глюкозо-пептонной среде (рН 7,0-7,6).

Выращивание культур проводили как в аэробных условиях, посев штрихом на поверхность скошенной глюкозо-пептонной среды в пробирках, так и в анаэробных глубинным посевом в пробирки с расплавленной и остуженной до 50 °С глюкозо-пептонной средой под парафиновым слоем. Появления разрывов агара в пробирках с агаром и парафином, а также колоний на поверхности скошенного агара, что могло свидетельствовать о загрязнении культуры, обнаружено не было. Изучение морфологии, физиолого-биохимических свойств и систематического положения выделенных бактерий проводили по стандартным методам. По наличию в мазках из культуры грамтрицательных неспорообразующих вибрионов, почернению придонного осадка, положительной реакции на сероводород, наличию пигмента десульфовиридина, характерного роста на агаризованных питательных средах в строгих анаэробных условиях выделенная культура суль-

фатредуцирующих бактерий была отнесена к *D. desulfuricans subsp. desulfuricans*. Полученные данные приведены в таблице 1.

Таблица 1 – Идентификация выделенных штаммов бактерий *D. desulfuricans*

| Название штамма | Объект выделения | Окраска по Граму | Наличие пигмента десульфурин | Подвижность | Рост на сульфиде | Рост на цитрате | Рост на малате | Рост на ацетате |
|-----------------|------------------------------------|------------------|------------------------------|-------------|------------------|-----------------|----------------|-----------------|
| P ₁ | Вода технологическая | - | + | + | - | + | + | - |
| P ₂ | Вода технологическая | - | + | + | - | + | + | - |
| P ₃ | Вода технологическая | - | + | + | - | + | + | - |
| P ₄ | Вода технологическая | - | + | + | - | + | + | - |
| P ₅ | Пластовая вода | - | + | + | - | + | + | - |
| Z ₁ | Колодезный ил | - | + | + | - | + | + | - |
| Z ₂ | Озерный ил | - | 4- | 4- | - | 4- | 4- | - |
| в. | Образцы глубоководной пресной воды | - | + | + | - | + | + | - |

В ходе работы были получены изолированные колонии сульфатредуцирующих бактерий на плотной среде и тем самым открыта возможность изучать биохимические свойства чистой культуры, способной восстанавливать сульфаты.

Библиографический список:

1. Карамышева Н.Н. Сравнительный анализ действия ингибиторов последнего поколения и бактериофагов на коррозию металлов, вызываемую *Desulfovibrio desulfuricans* / Н.Н. Карамышева, Д.А. Васильев, А.В. Морозов, А.Л. Игнатов, С.К. Львов // Инфекция и иммунитет. – 2014. – Т.4. – С.84
2. Лабинская, А.С. Общая и санитарная микробиология с техникой микробиологического исследования / А.С. Лабинская, Л.П. Блинкова, Л.П. Ещина. // М.: «Медицина», 2004. – 261с.
3. Alvarez, A.H., Moreno-Sanchez, R., Cervantes, C. Chromate efflux by means of

- the ChrA chromate resistance protein from *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Bacteriology* 1999. 181, 7398–7400.
4. Angeliki Marietou, Lesley Griffiths, and Jeff Cole, Preferential Reduction of the Thermodynamically Less Favorable Electron Acceptor, Sulfate, by a Nitrate-Reducing Strain of the Sulfate-Reducing Bacterium *Desulfovibrio Desulfuricans* 27774. *Journal of Bacteriology*. 2008. – Vol. 191, No.3. – pp. 882-889.
 5. Разработка параметров ПЦР для идентификации *Desulfovibrio desulfuricans*/ Д.А. Васильев, А.М. Семёнов, А.В. Мастиленко, Н.Н. Карамышева, С.Н. Золотухин// Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. – 2012. – № 2 (18). – С. 45-49.
 6. Сульдина Е.В. Выделение бактерий и бактериофагов *Yersinia enterocolitica*/ Е.В. Сульдина, Д.А. Васильев, С.Н. Золотухин// Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. – 2017. – № 3 (39). – С. 50.
 7. Сульдина Е.В. Выделение новых штаммов бактерий *Bacillus megaterium* и изучение их биологических свойств/ Е.В. Сульдина, Н.А. Феоктистова, И.И. Богданов //Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. – 2020. – № 3 (51). – С. 60-67.
 8. Родионова А.В. Бактерии *Pseudomonas stutzeri* и их свойства/ А.В. Родионова, Е.В. Сульдина, И.И. Богданов, Н.А. Феоктистова// Аграрная наука и образование на современном этапе развития: опыт, проблемы и пути их решения. Материалы X Международной научно-практической конференции. В 2-х томах. – 2020. – С. 338-341.
 9. Родионова А.В. Выделение *Yersinia enterocolitica* из окружающей среды и пищевых продуктов/ А.В. Родионова, Е.В. Сульдина // Актуальные проблемы аграрной науки: состояние и тенденции развития. Материалы Национальной научно-практической конференции. – 2019. – С. 139-144.
 10. Сульдина Е.В. Биологические свойства бактерий *Pseudomonas syringae*/ Е.В. Сульдина, А.К. Беккалиева, Н.А. Феоктистова, Д.А. Васильев// Актуальные проблемы аграрной науки: состояние и тенденции развития. Материалы Национальной научно-практической конференции.- 2019.- С. 145-148.

IDENTIFICATION OF *D. DESULFURICANS* BACTERIA BY CULTURAL PROPERTIES

Garadzhaev T. B.

Keywords: *microorganisms, sulfate-reducing bacteria, biological properties.*

Sulfate-reducing bacteria, in particular Desulfovibrio desulfuricans, are a fairly common physiological group characterized by the ability to form hydrogen sulfide from sulfate. The most significant processes of the life activity of the genus Desulfovibrio are: biomineralization, the sulfur cycle in nature and the biocorrosion of metals.