

УДК 57: 579.2

## БИОХИМИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ БАКТЕРИЙ ВИДА *KLEBSIELLA OXYTOSA*

*Г.Р. Садртдинова, аспирант кафедры МВЭиВСЭ  
тел. 8(953) 98-14-799, sadrtdinova-guzlik@yandex.ru*  
*С.Н. Золотухин, доктор биологических наук, профессор  
тел. 8(8422) 55-95-47, fvm.zol@yandex.ru*  
*Д.А. Васильев, доктор биологических наук, профессор  
8(8422) 55-95-47, dav\_ul@mail.ru*  
ФГБОУ ВО Ульяновская ГСХА

**Ключевые слова:** свойства, бактерия, мальтоза, желатин, индол, среда.

В статье представлены результаты исследований, связанные с изучением биохимических свойств бактерий *Klebsiella oxytoca* (сахаролитических свойств - среды Гисса с сахарами (мальтоза, лактоза, манноза, ксилоза, сахароза), протеолитических свойств – среды позволяющие определить образование индола и разжижение желатина), для ускоренной идентификации и дифференциации.

**Введение.** После изучения морфологии бактериальных клеток в окрашенных препаратах приступают к культуральному исследованию их ферментативной активности. Наиболее изученными у бактериальных культур являются сахаролитические и протеолитические ферменты [1]. Для обнаружения этих свойств делают посев на дифференциально-диагностические среды, содержащие вещества, в отношении которых бактерии способны проявлять ферментативную активность. Для определения сахаролитических свойств из углеводов обычно используют лактозу, глюкозу, мальтозу, сахарозу, маннит. Результат реакции определяется при помощи добавляемых в питательную среду различных индикаторов, дающих цветные реакции (среды Гисса/«пестрый ряд»/среды с углеводами) [2].

Протеолитические свойства бактерий (расщепление белков) определяются обнаружением конечных продуктов ферментации белков (индола, сероводорода, аммиака) и по способности разжижать желатину (мясопептонный бульон с 10-15% желатин). Процесс разжижения идет сверху, причем различные виды микробов дают характерную для них

форму, потому это свойство также используется в целях идентификации бактерий [3].

Для определения образования индола используют среды коммерческого производства, рекомендованные международным комитетом ISO и АРНА. Определение продукции индола колиформными бактериями – их важный дифференциальный признак. Находящийся в составе сред гидролизат казеина хорошо подходит для продукции индола, так как в нем высокое содержание триптофана. Некоторые микроорганизмы расщепляют аминокислоту триптофан с помощью ферментов с образованием индола по пути гидролиза. Образовавшийся индол можно определить реактивами Ковача или Эрлиха. Индол в сочетании с альдегидом, входящим в состав реактива, дает красное окрашивание спиртового слоя, которое нарастает по мере количественного нарастания в нем окрашенного комплекса [4, 5].

**Цель исследования** заключалась в определении сахаролитических и протеолитических свойств у бактерий *Klebsiella oxytoca*, при помощи набора сред.

**Материалы и методы исследований.** Объектами исследований явились лабораторные штаммы из музейной коллекции кафедры микробиологии, вирусологии, эпизоотологии и ВСЭ Ульяновской ГСХА: *Klebsiella oxytoca* 1, *Klebsiella oxytoca* 2, *Klebsiella oxytoca* 3, *Klebsiella oxytoca* 24, *Klebsiella oxytoca* 25, *Klebsiella oxytoca* 10, *Klebsiella oxytoca* 101.

Для определения сахаролитических свойств использовали среды Гисса с: лактозой, мальтозой, маннитом, сахарозой, ксилозой. Для определения протеолитических свойств использовали среду позволяющую определить разжижение желатина и среду позволяющую зафиксировать образование индола.

Среды Гисса предназначены для дифференциации бактерий по их способности ферментировать те или иные углеводные субстраты. Для исследований нами были использованы сухие коммерческие среды Гисса с лактозой, мальтозой, маннитом, сахарозой, ксилозой. Приготовленную по прописи среду, разливали в стерильные пробирки по 4 мл и автоклавировали в течение 30 минут при 112С°. Исследуемую культуру штаммов засеивали в пробирки со средой уколом петли. Культивировали в течение суток при 37 С°.

Среда, предназначенная для определения протеолитической активности, в своем составе имеет мясопептонный бульон и пищевой желатин. В мясопептонный бульон вносили желатин и оставляли до набухания на 30 минут. Затем полученную смесь прогревали в водяной бане

при 45 С° до полного расплавления желатина. Устанавливали рН-7,2. Полученную среду разливали в стерильные пробирки по 8 мл и автоклавировали в течение 30 минут при 110 С°. Посев суточной культуры исследуемых штаммов проводили уколом в столбик среды. В качестве контроля была пробирка с незасеянной средой. Пробирки культивировали в течение 24-х часов при 35С°. Перед учетом результатов пробирки ставили в холодильник на 2 часа.

Для определения образования индола нами была использована готовая коммерческая среда. Приготовленную по прописи среду, разлили в пробирки по 5 мл и автоклавировали в течение 15 минут при 121 С°. Посев суточной культуры исследуемых штаммов проводили уколом в среду и культивировали при 37С°. В качестве контроля была пробирка с незасеянной средой. Оценку результатов проводили через 24 часа. В качестве тест-реактива нами был выбран реактив Ковача.

**Результаты исследований и их обсуждение.** Результаты проведенных исследований представлены в таблице 1 и на рисунках 1-2.

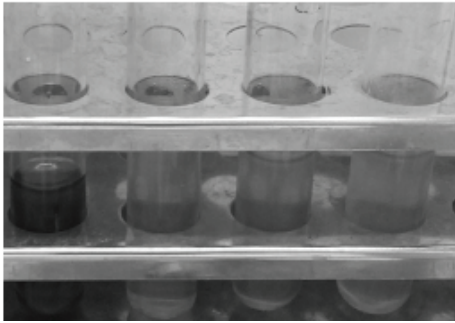
Все исследуемые штаммы бактерий вида *Klebsiella oxytoca* не разжижали желатин (контроль- поверхность среды плотная, без разрывов, пробирки с культурами- аналогично), что служит показателем отсутствия у изучаемых штаммов фермента желатиназы.

Зато ферментировали все углеводы (контроль-без изменений среды, пробирки с культурами- изменение окраски среды, образо-

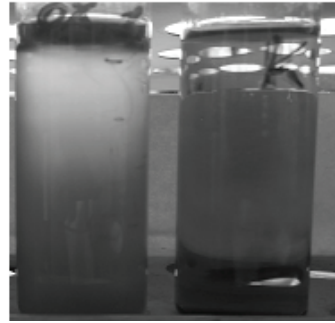
**Таблица 1- Протеолитические и сахаролитические свойства изучаемых штаммов *Klebsiella oxytoca***

Исследуемые штаммы	Свойства						
	протеолитические		сахаролитические				
	желатин	индол	лактоза	мальтоза	маннит	сахароза	ксилоза
K.oxytoca 1	-	+	+	+	+	+	+
K.oxytoca 10	-	+	+	+	+	+	+
K.oxytoca 101	-	+	+	+	+	+	+
K.oxytoca 2	-	+	+	+	+	+	+
K.oxytoca 3	-	+	+	+	+	+	+
K.oxytoca 24	-	+	+	+	+	+	+
K.oxytoca 25	-	+	+	+	+	+	+

Примечание: «+» разжижение/образование/ферментация  
 «-» не разжижает/ не образует/ не ферментирует



**Рисунок 1- Сахаролитические свойства *Klebsiella oxytoca* 24**



**Рисунок 2- Протеолитические свойства *Klebsiella oxytoca* 10 (образование индола)**

вание разрывов и пузырьков в толще среды) и образовывали индол (контроль-без образования на поверхности среды кольца малинового цвета, пробирки с культурами- образование на поверхности среды хорошо просматриваемого кольца малинового цвета).

**Выводы.** Результаты полученных исследований позволяют рассмотреть особенности биохимической активности бактерий *Klebsiella oxytoca* и использовать полученные данные в работах, связанных с идентификацией и дифференциацией бактерий данного вида. Поскольку разные виды бактерий данного рода, в том числе имеющие одинаковую морфологию, могут отличаться по ферментативной активности.

#### *Библиографический список*

1. Бульканова Е.А. Выделение, диагностика и идентификация бактерий рода *Klebsiella*// Материалы Всероссийской научно-практической конференции молодых ученых.- Ульяновск: Ульяновская ГСХА им.П.А.Столыпина, 2004.-С.257-262.
2. Сверкалова Д.Г., Васильева Ю.Б., Мاستиленко А.В., Васильев Д.А. Тест-система индикации и идентификации бактерий вида *Bordetella bronchiseptica*// КАТАЛОГ НАУЧНЫХ РАЗРАБОТОК И ИННОВАЦИОННЫХ ПРОЕКТОВ.Ульяновск: Ульяновская государственная сельскохозяйственная академия им. П.А. Столыпина.2015.-С.48.
3. Калдыркаев, А.И. Биохимические свойства бактерий *Bacillus cereus*/ Биотехнология: реальность и перспективы в сельском хозяйстве. – Саратов, 2013. – С. 82-84

4. Садртдинова Г.Р., Ляшенко Е.А., Васильев Д.А. Изучение культуральных свойств бактерий вида *Klebsiella oxytoca*// Материалы Международной научно-практической конференции «Биотехнология: реальность и перспективы».- Саратов: Саратовский государственный аграрный университет имени Н.И.Вавилова, 2014.- С.193-196.
5. Садртдинова Г.Р., Васильев Д.А. Биохимические тесты для ускоренной внутриродовой детекции бактерий *Klebsiella*// Электронный периодический научный журнал «SCI-ARTICLE.RU».- 2015.-№17- С.11-15.

## **BIOCHEMICAL ACTIVITY OF BACTERIA GENUS KLEBSIELLA OXYTOCA**

*Sadrtdinova G.R., Zolotukhin S.N., Vasiliev D.A.*

**Key words:** properties, bacterium, maltose, gelatin, indole, medium.

The article presents results of studies related study biochemical properties of bacteria *Klebsiella oxytoca* (saccharolytic properties - medium Hiss sugars (maltose, lactose, mannose, xylose, sucrose), proteolytic properties - environment for determining the formation of indole and liquefaction of gelatin), for rapid identification and differentiation.