

УДК 57: 579.2

## СХЕМА ВЫДЕЛЕНИЯ БАКТЕРИЙ РОДА BDELLOVIBRIO

Г.Р. Садртдинова, аспирант кафедры МВЭиВСЭ  
тел. 8(953) 98-14-799, sadrtdinova-guzlik@yandex.ru

Н.Н. Карамышева, кандидат биологических наук  
тел. 8(8422) 55-95-47, natali-kar@inbox.ru

Д.А. Васильев, доктор биологических наук, профессор  
8(8422) 55-95-47, dav\_ul@mail.ru  
ФГБОУ ВО Ульяновская ГСХА

**Ключевые слова:** бактерия, агар, штамм, проба, поллютант.

В статье представлены результаты по выделению бактерий рода *Bdellovibrio* из объектов внешней среды (открытых водоемов), вызывающих гибель грамотрицательных микроорганизмов- бактерий вида *Klebsiella oxytoca* и *Klebsiella pneumoniae*. Проявление антагонистических свойств в отношении бактерий данных видов со стороны именно *Bdellovibrio*, подтверждалось в процессе длительного культивирования и тщательного анализа получаемых результатов.

**Введение.** Бактериальное загрязнение водоемов, приводящее в конечном итоге к заболеваниям людей, животных и растений- в наше время является актуальной проблемой. В России, в частности, многие очистные сооружения не справляются с увеличивающейся нагрузкой, в результате чего происходят опасные выбросы, приводящие к загрязнению окружающей среды. Наиболее традиционно используемым методом для устранения повышенного микробного загрязнения является дезинфекция [1]. Но не всегда и не везде можно применять этот метод; так как многие дезинфектанты, (например, наиболее распространенный для этих целей хлор) сами являются поллютантами, вызывая тем самым вторичное загрязнение окружающей среды. Все это приводит к разрушению естественных взаимоотношений между компонентами микробных сообществ и более глобальным нарушениям механизмов функционирования экосистем, нарушая видовое разнообразие всех уровней живого мира.

Одним из экологически безопасных способов улучшения качества воды может быть использование потенциала бактерий-хищников рода *Bdellovibrio*, которые рассматриваются как биологический фактор, ответственный за поддержание микробного равновесия и регуляции плотно-

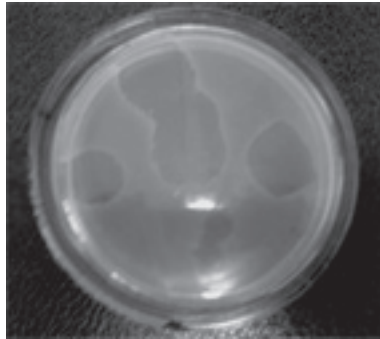
сти микробных популяций в природе. Бактерии рода *Bdellovibrio* - группа паразитических бактерий, проникающих и размножающихся в других бактериях, вызывая при этом их гибель [2]. Одной из особенностей этого рода является способность паразитировать на граммотрицательных бактериях (в том числе на возбудителях опасных эпидемических болезней, например холеры). Бактерии *Bdellovibrio* широко распространены в природе (в воде рек, озер, морей, в почвах разных географических зон), но встречаются в сравнительно небольших количествах. Они являются паразитами многих видов бактерий, но наиболее распространены бделловибрионы, поражающие бактерии семейства *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonadaceae*, *Vibrionaceae*.

Целью наших исследований являлось выделение культур *Bdellovibrio* из проб воды открытых водоемов.

**Материалы и методы.** Исследованию подверглось 10 проб речной воды, взятых из разных мест. Отбор проб воды из различных участков производили в стерильные стеклянные бутылки. В качестве бактерий-хозяев использовали штаммы граммотрицательных бактерий *K.oxytoca* и *K.pneumoniae*, полученные из музея кафедры МВЭиВСЭ Ульяновской ГСХА. Бактерии данного вида также присутствуют в водной среде и являются возбудителями заболеваний рыб. Выделить бактерии рода *Bdellovibrio* можно посевом проб воды (с песком) в чашки Петри на плотные питательные среды двухслойным методом. Присутствие их регистрируется по количеству негативных колоний - зон отсутствия роста на газоне бактерии-хозяина после инкубации при 30°C в течение 24, 48 и 72 часов.

Навески образцов были внесены в физиологический раствор в соотношении 1:4 (на каждые 5 г ила брали 20 г воды). Навеску хорошо перемешали с физиологическим раствором и дали отстояться в течение 10 минут. После того, как полученная взвесь отстоялась, ее центрифугировали для удаления крупных частиц и последовательно фильтровали через мембранные фильтры с диаметром пор до 0,22 мкм. Клетки *Bdellovibrio* настолько мелки, что способны проникать через этот фильтр, тогда как другие бактерии не проходят. Поэтому полученный фильтрат пропускали через фильтр повторно стараясь чтобы на фильтре осталось 1-2 мл раствора. Целью подобных манипуляций является увеличение концентрации бактерий *Bdellovibrio* в фильтрате [3,4].

1 мл профильтрованной суспензии и 0,1 мл культур бактерий-хозяев (*K.oxytoca* №1, *K.oxytoca* №24, *K.oxytoca* № 25, *K.pneumoniae* № 244, *K.pneumoniae* № 45, *K.pneumoniae* № 48, *K.pneumoniae* № 865, *K.pneumoniae* № 9, *K.pneumoniae* № 23, *K.pneumoniae* № 11) вносили в



**Рисунок 1- Колонии бактерий *Bdellovibrio* развивающиеся на культуре бактерий *K.pneumoniae* №865**

пробирку с 2,5 мл предварительно расплавленного 0,8% агара. Пробирку хорошо перемешали вращением в ладонях и разлили по чашкам Петри с 1,0 % агаром ровным газоном. Чашки помещали в термостат и культивировали при  $30^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ . Данный температурный режим оптимален для роста и развития бактерий рода *Bdellovibrio*. Температурный оптимум роста бактерий-хозяев также находится в этом пределе.

**Результаты исследований и их обсуждение.** Учет результатов, при помощи просмотра чашек на наличие негативных колоний на газоне культур, осуществлялся каждый день:

- через 24 часа: присутствие негативных колоний не наблюдается не на одной из чашек, культивирование продолжалось еще в течение суток.

- через 48 часов: отмечается присутствие негативных колоний на 3 из 10 проб, бактерия-хозяин– *K.pneumoniae* №11, *K.pneumoniae* *K.pneumoniae* №865, *K.oxytoca* №24, чашки с пробами и газонами других штаммов бактерий-хозяев инкубировались следующие 24 часа (рисунок 1).

- через 72 часа: присутствие негативных колоний на газонах оставшихся штаммов также не наблюдается не на одной из чашек, размер негативных колоний на газоне с *K.pneumoniae* №11, *K.pneumoniae* *K.pneumoniae* №865, *K.oxytoca* №24- увеличился, полного уничтожения всей культуры не произошло ни в одном из случаев.

**Закключение.** Полученные результаты позволяют заключить, что развитие бактерий *Bdellovibrio* носит избирательный характер и проис-

ходит только на тех штаммах грамотрицательных бактерий, которые в своей структуре содержат ослабленные клетки. В наших исследованиях наиболее чувствительным к бактериям рода *Bdellovibrio* оказались штаммы бактерий *K.pneumoniae* №11, *K.pneumoniae* *K.pneumoniae* №865, *K.oxytoca* №24, поскольку длительное совместное инкубирование бактерии-хозяина и бактерии-паразита привело к достаточно хорошим результатам- площадь бактериального газона уменьшилась.

#### *Библиографический список*

1. Дуда В.И., Сузина Н.Е., Поливцева В.Н., Боронин А. М. Ультрамикробактерии: становление концепции и вклад ультрамикробактерий в биологию // Микробиология. – 2012 . – Т. 81. – С. 415–427.
2. Markelova N. Interaction of *Bdellovibrio bacteriovirus* with *Campylobacter jejuni* and *Helicobacter pylori*. *Mikrobiologija*. 2010;79:779–81.
3. Dwidar M, Monnappa AK, Mitchell RJ. The dual probiotic and antibiotic nature of *Bdellovibrio bacteriovorus*. *BMB Rep*. 2012;45:71–8.
4. Сидоренко Г. И. и др. Изучение *бделловибрио* бактериоворус как одного из биологических факторов самоочищения воды водоемов, Гиг. и сан., № 1, с. 11, 1973; Stolp H. u. P e t -Y o 1 d H. Untersuchungen liber einen obligat parasitischen Mikroorganismus mit lytischer Aktivitat ftir *Pseudomonas*-Bakterien, *Phytopath. Z.*, Bd 45, S. 364, 1962.

## **ALLOCATION SCHEME BCTERIA OF GENUS BDELLOVIBRIO**

*Sadrtdinova G.R., Karamisheva N.N., Vasiliev D.A.*

**Key words:** bacteria, agar, strain, sample, pollutants.

The article presents results on the allocation bacteria genus *Bdellovibrio* environmental objects (open water), causing death gram-negative bacterial species microorganism- *Klebsiella oxytoca* and *Klebsiella pneumoniae*. Manifestation antagonistic properties against bacteria from these species was *Bdellovibrio*, confirmed during prolonged cultivation and thorough analysis results.