

УДК 57: 579.2

ВАРИАЦИЯ ФАЗ ШТАММОВ БАКТЕРИЙ РОДА *KLEBSIELLA*

Г.Р. Садртдинова, ассистент,
тел. 8(953) 98-14-799, sadrdinova-guzlik@yandex.ru,
Д.А. Васильев, доктор биологических наук, профессор,
тел. 8(8422)55-95-47, dav_ul@mail.ru,
С.Н. Золотухин, доктор биологических наук, профессор,
тел. 8(8422)55-95-47, fvm.zol@yandex.ru
ФГБОУ ВО Ульяновская ГСХА

Ключевые слова: бактерии, диссоциация, штамм, питательная среда, популяция.

В статье представлены результаты исследований, связанные с изучением процесса диссоциации у штаммов бактерий *Klebsiella*. Изменение одного из параметра оптимального существования микроорганизма (рН среды), позволило нам зафиксировать процесс перехода бактерий из S-формы в R-форму. При последующих посевах R-форм изучаемых штаммов в оптимальных условиях, процесса перехода в S-формы не наблюдали.

Введение. Вариация фаз или процесс диссоциация представляет собой расщепление однородной популяции бактерий на варианты, различающиеся генетическими, биохимическими, морфологическими свойствами. Процесс диссоциации известен у многих видов бактерий, а также грибов, дрожжей. Частота диссоциативных переходов у бактерий 10^{-2} - 10^{-4} на одно клеточное деление. Такая высокая частота вариации определяет важнейший вклад этого процесса в создание гетерогенности бактериальной популяции. Диссоциация бактерий возникает в результате отклонения от оптимальных значений многих факторов: рН, концентрации солей, температуры, воздействия бактериофагов, антимикробных препаратов [1].

Вариация фаз у бактерий происходит с образованием чаще всего: R-колоний (шероховатые), S- колоний(гладкие), M- колоний (слизистые). Проблема вариации фаз заключается в одновременном изменении ряда признаков: вирулентных, антигенных, чувствительности к бактериофагам. Так, S-вариант у большинства грамотрицательных бактерий (*Salmonella*, *Shigella*, *Esherichia*, *Neisseria*, *Klebsiella*) вирулентен, а R- диссоциант авирулентен. Состав среды и условия культивирования

(рН, температура) бактерий могут маскировать процесс диссоциации. При этом состав среды может усилить процесс диссоциации культуры или же стабилизировать ее [2].

Признаком диссоциации, доступным для наблюдения, является изменение морфологии колоний на плотной питательной среде. Такие изменения, как правило, необратимы [3].

Цель исследования заключалась в изучении особенностей процесса диссоциации у штаммов бактерий рода *Klebsiella*.

Материалы и методы. В исследованиях использовали штаммы бактерий рода *Klebsiella*, полученные из музея кафедры МВЭИВСЭ Ульяновской ГСХА. Всего в работе было использовано 4 штамма изучаемого микроорганизма.

Оптимальными условиями культивирования для бактерий рода *Klebsiella* являются: температура- 37°C, рН 7,2±0,1, время культивирования- 18-24 часа [4, 5]. В условиях эксперимента, нами была произведена попытка искусственной стимуляции процесса диссоциации изучаемых штаммов. Без изменений оставили температуру и время культивирования. Изменению подвергли рН среды. Культивирование штаммов проводили на среде КЛ-1 УГСХА с измененным рН до 7,4±0,1 [6,7,8]. Каждый раз посев на среду осуществляли с бульона. Период проводимых манипуляций- 3 месяца.

Результаты исследований и их обсуждение. Заключение о переходе бактерий из S-формы в R- форму, делали после заключительного посева на мясопептонный агар (МПА). На МПА осуществляли посевы штаммов с хранения и тех же самых штаммов, но предварительно (3 месяца) культивируемых на КЛ-1 УГСХА с измененным до 7,4±0,1 рН.

Результаты проведенных исследований представлены в таблице 1.

На МПА процесс инкубации осуществляли в равных условиях при температуре 37°C, время культивирования- 20 часов (рис.1).

Согласно Hadley P, Wetzel V., основными признаками диссоциированных бактериальных культур являются: выпадение осадка в 0,9% растворе хлорида натрия, агглютинативный рост в бульоне, отсутствие капсул, склонность к образованию коротких палочек, снижение чувствительности к бактериофагу.

Изучаемые штаммы в мясопептонном бульоне росли с образованием поверхностной пленки без помутнения бульона, при окрашивании по Граму- представляли собой короткие грамотрицательные палочки, отличные от клеток нормальной морфологии.

Таблица 1 - Особенности роста штаммов бактерий рода *Klebsiella* в различных условиях (МПА)

Исследуемый штамм	Характеристика колоний (после инкубации в оптимальных условиях)	Характеристика колоний (после инкубации в измененных условиях)	Заключение о вариации фаз
<i>K.pneumoniae 244</i>	Выпуклые слизистые колонии светлого-бежевого цвета, правильной формы, диаметр колоний 2-3 мм.	Плоские шероховатые мажущиеся колонии светлого-бежевого цвета, неправильной формы, диаметр колоний 1-3 мм.	переход в R-форму
<i>K.pneumoniae 81</i>	Выпуклые слизистые колонии светлого-бежевого цвета, правильной формы, диаметр колоний 2-4 мм.	Плоские шероховатые мажущиеся колонии светлого-бежевого цвета, неправильной формы, диаметр колоний 2-3 мм.	переход в R-форму
<i>K.oxytoca 10</i>	Выпуклые слизистые колонии светлого-бежевого цвета, правильной формы, диаметр колоний 1-3 мм.	Плоские шероховатые мажущиеся колонии светлого-бежевого цвета, неправильной формы, диаметр колоний 1-3 мм. Встречаются бежевые колонии правильной выпуклой формы, но мажущей консистенции диаметром меньше 1 мм.	переход в R-форму
<i>K.oxytoca 24</i>	Выпуклые слизистые колонии светлого-бежевого цвета, правильной формы, диаметр колоний 2-3 мм.	Плоские шероховатые мажущиеся колонии светлого-бежевого цвета, неправильной формы, диаметр колоний 2-3 мм. Встречаются бежевые колонии правильной выпуклой формы, но мажущей консистенции диаметром меньше 1 мм.	переход в R-форму

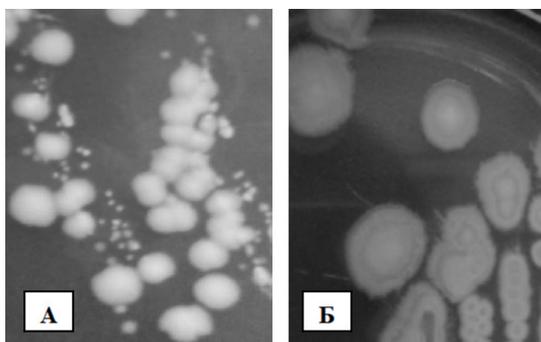


Рисунок 1 - Рост на МПА R-форм штаммов *K. oxytoca* 24 (А), *K. pneumoniae* 81(Б)

Заключение. В ходе исследований, нами был изучен процесс диссоциации у бактерий рода *Klebsiella*. Отметим особенности образованных колоний R-формы у бактерий разного вида. Так, штаммы *K. pneumoniae* 81, *K. pneumoniae* 244 образовывали плоские шероховатые мажущиеся колонии светло-бежевого цвета, неправильной формы, диаметром 2-3 мм и плоские шероховатые мажущиеся колонии светло-бежевого цвета, неправильной формы, диаметром 1-3 мм соответственно. Штамм *K. oxytoca* 10- плоские шероховатые мажущиеся колонии светло-бежевого цвета, неправильной формы, диаметром 1-3 мм и бежевые колонии правильной выпуклой формы, но мажущей консистенции диаметром меньше 1 мм. Штамм *K. oxytoca* 24- плоские шероховатые мажущиеся колонии светло-бежевого цвета, неправильной формы, диаметром 2-3 мм и бежевые колонии правильной выпуклой формы, но мажущей консистенции диаметром меньше 1 мм. Изменение только одного из признаков (рН среды) позволило нам зафиксировать процесс перехода бактерий из S-формы в R-форму. При последующих пересевах R-форм изучаемых штаммов в оптимальных условиях, процесса перехода в S-формы не наблюдали.

Библиографический список

1. Милько Е.С. Гетерогенность популяций бактерий и процесс диссоциации/ Е.С.Милько, Н.С.Егоров//М.: Изд-во МГУ, 1991-142 с.
2. Милько Е.С. Процесс диссоциаций у бактерий/ Е.С.Милько, И.Б.Котова, А.И.Нетрусов// Учебное пособие.М.: МАКС Пресс, 2007.-68с.
3. Николаев Ю.А. Адгезивные и ростовые свойства R- и S- диссоциантов

- Pseudomonas fluorescens*// Микробиология.2000.Т.69.№2.-с.293-294.
4. Садртдинова Г.Р. Агрегация бактерий *Klebsiella oxytoca* и *Klebsiella pneumoniae* под влиянием химического фактора// Инфекция и иммунитет.2015-№.4-С.377-381.
 5. Садртдинова Г.Р. Создание селективной среды для выделения, дифференцирования и идентификации бактерий рода *Klebsiella*/ Г.Р.Садртдинова, С.Н.Золотухин, Д.А.Васильев// Материалы VII Международной научно-практической конференции «Аграрная наука и образование на современном этапе развития: опыт, проблемы и пути их решения» / - Ульяновск: УГСХА, 2016. Т. III. – С.270-275.
 6. Садртдинова Г.Р. Биохимические тесты для ускоренной внутриродовой детекции бактерий *Klebsiella*/ Г.Р.Садртдинова, Д.А.Васильев//Sci-article.2015.№17.с.11-15.
 7. Садртдинова Г.Р. Изучение культуральных свойств бактерий вида *Klebsiella oxytoca*/Г.Р.Садртдинова, Е.А.Ляшенко, Д.А.Васильев// Материалы Международной научно-практической конференции «Биотехнология: реальность и перспективы».- Саратов: Саратовский государственный аграрный университет имени Н.И.Вавилова, 2014.-С.193-196.
 8. Садртдинова Г.Р. Повышение селективных и дифференциально-диагностических свойств плотной агаровой среды, предназначенной для выделения бактерий рода *Klebsiella*// Материалы IV Международной научно-практической конференции молодых ученых «Молодежь и наука XXI века». – Ульяновск: Ульяновская ГСХА им. П.А. Столыпина, 2014,т.1 – С. 122-127.

PHASE VARIATION STRAINS BACTERIA OF THE GENUS KLEBSIELLA

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

Key words: *bacteria, dissociation, strain, culture medium, the population.*

The article presents the results of research related to the study of the dissociation process in Klebsiella bacterial strains. Changing only one of the characteristics (pH) enabled us to capture the transition from the bacteria in the S-form R-form. Subsequent crops of R-forms of the studied strains under optimal conditions, the transition to S-form were observed.