

УДК 619.616.9

## **ВЫБОР ОПТИМАЛЬНОГО МЕТОДА ВЕГЕТАЦИИ СПОР БАКТЕРИИ V.CEREUS**

*С.В. МЕРЧИНА, В.С. РУСАЛЕЕВ, Р.Р. БАДАЕВ, Д.А. ВАСИЛЬЕВ*

П.А. Ивашкевичем и др. (1959) установлено, что биологически полноценные споры бацилл при выращивании их методом микрокультур прорастают почти в 100% случаев в течение 2,5 часов. Не прорастают лишь нежизнеспособные споры, которых в большинстве популяций бывает не менее 5-10%. П.Н. Бургасов и Г.И. Рожков (1984) утверждают, что удлинение срока прорастания спор свыше 2,5 часов является прогностическим признаком наступающей их гибели. Причиной гибели спор, по мнению Н.Налворсон (1959), является переход их в предвегетативное состояние. Это явление сопровождается набуханием клеточных стенок и цитоплазмы, активацией энзиматических процессов и выходом из клеток дипиколината кальция.

Фазы споропрорастания бацилл как в жидкой, так и на плотной питательных средах проходят практически в одинаковые сроки. В процессе прорастания визуально различают набухание споры, выход протопласта из споры и перерастание (удлинение) его в вегетативную клетку. Особенно наглядно это выражено при использовании метода микрокультур (П.А.Ивашкевич и др., 1959; Б.Я.Михайлов и др., 1960).

Исследованиями D.Davies (1960) установлено, что наиболее благоприятной для прорастания спор является температура 39°C (споры прорастали за 2 часа). При температуре выше 39°C и ниже 30°C сроки прорастания спор значительно удлинились. В литературе известен процесс тепловой активации покоящихся спор, изученный N.Roth, D.Uvely, H.Hodge, 1954; A.Fernelius, 1960. Тепловое воздействие при 66-70°C в течение 30 минут стимулирует прорастание спор. Доказано также стимулирующее влияние на прорастание спор некоторых аминокислот, в частности, L-аланина и L-тирозина. Добавление этих аминокислот приводило к значительному ускорению споропрорастания (М.В.Земсков, М.И.Соколов, В.М.Земсков, 1972).

L.Rode, J.Foster (1963) считают, что в основе механизма прорастания спор лежит высвобождение из них протеиназ и ди-

пиколиновой кислоты. Первой ступенью споропрорастания является нарушение клеточных стенок покоящихся спор и присущей им водонепроницаемости. Второй ступенью - проникновение воды, которая приводит к растворению «защитных» солей дипиколиновой кислоты и к активации энзиматических реакций, побуждающих споры к жизни и прорастанию. В результате резкого набухания спор происходит разрыв клеточных стенок в одной точке споры, откуда появляется почка протопласта. Последняя, постепенно удлиняясь, вытягивается в течение 1-1,5 часа в вегетативную клетку до обычных ее размеров (Н. Halworsон, 1959). Образовавшаяся первичная материнская клетка отделяет от себя через 18-20 минут дочернюю особь. Последняя, превращаясь в материнскую, снова отделяет от себя дочернюю; и так идет размножение вплоть до образования бактериальной цепочки. Таким образом, вегетация и размножение клеток в бактериальной цепочке осуществляется только в однополюсном направлении от точки прорастания споры. В результате такого размножения образуются многоклеточные нити бацилл, почти сплошь состоящие из материнских клеток, объединенных между собой общей материнской субстанцией. Однако при дроблении или разрыве таких бациллярных нитей материнская клетка может вегетировать и отделять от себя дочерние клетки в той же последовательности и в двухполюсном направлении. П.Н. Бургасов и Г.И. Рожков (1984) исключают возможность существования фазы логарифмического роста клеток при таком способе размножения.

Для наших исследований мы брали образцы проб пищевых добавок (специй), полученных с Ульяновского мясокомбината, смеси № 5, № 3, № 7. Для роста *V. cereus* использовалась селективная питательная среда "для выделения сибиреязвенного микроба Ставропольского НИИ вакцин и сывороток". По методике N. Roth, D. Lively, H. Hode (1954), A. Fernelius (1960), смесь пищевых добавок № 3, № 5, № 7 помещали в водяную баню на 30 минут при температуре 66-70° С. Затем, применяя методику, предложенную М.В. Земсковым и др. (1972), мы после 30 минутной экспозиции в водяной бане готовили суспензию на стерильном физрастворе с пищевыми добавками 1:20 один ряд пробирок с добавлением L-аланина и L-тирозина ( 0,2 г на 100

мл физраствора) и второй ряд пробирок без добавления аминокислот. Ставили в термостат, температура в котором 39°C для инкубирования на 2,5 часа с последующим посевом на чашки Петри с селективной средой газоном. После этого ставили в термостат при температуре 37 С на 12-16 часов для подращивания и учета результата. По истечении времени проводили оценку результатов, представленных в таблице.

### Анализ прорастания спор бактерий *B.cereus* из пищевых добавок

Название пищевых добавок	Описание роста микроорганизмов	
	без аминокислот (по методике N. Roth, D.Lively, H.Hode)	с аминокислотами (по методу М.В. Земскова и др)
Смесь специй №3	4 колонии, изолированные, белые, выпуклые, края ровные, средние. При добавлении 23% р-ра нашатырного спирта окрасились в розовый цвет, что указывает на бактерии <i>B.cereus</i>	16 колоний, изолированные, края ровные, выпуклая поверхность, средние и мелкие. При добавлении 23% р-ра нашатырного спирта окрасились в розовый цвет, что указывает на бактерии <i>B.cereus</i>
Смесь специй №5	2 колонии с теми же признаками	8 колоний с теми же признаками
Смесь специй №7	8 колоний с теми же признаками	Сплошной рост посередине чашки

По результатам проведенных исследований можно сделать вывод, что по методике, предложенной N. Roth, D. Lively, H. Hodge (1954); A.Ferntlius (1960), прорастание спор бацилл происходит менее активно в четыре раза, чем по методике, предложенной М.В. Земсковым, М.И. Соколовым, В.М. Земсковым с добавлением аминокислот.