

ИССЛЕДОВАНИЕ КУЛЬТУРЫ МИКРООРГАНИЗМА *BACILLUS SUBTILIS* НА ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ ПРИЗНАКИ Юматова М.А. Email: Yumatova660@scientifictext.ru

Юматова Мария Андреевна – студент,
кафедра молекулярной биотехнологии,
Санкт-Петербургский государственный технологический институт
Технический университет, г. Санкт-Петербург

Аннотация: цель работы заключается в исследовании физиолого-биохимических признаков культуры микроорганизма *Bacillus subtilis*. В ходе исследования были изучены: отношение микроорганизма к источнику углерода и молекулярному кислороду, его потребность в факторах роста, а также способность фиксировать молекулярный азот. Рассмотрено влияние повышения температуры и добавление к среде антибиотических веществ на рост культуры. Описаны основные морфологические признаки колонии. На основе определителя бактерий Берджи был сделан вывод о чистоте исследуемой культуры.

Ключевые слова: *Bacillus subtilis*, микроорганизм, культура, штамм.

STUDYING OF PHYSIOLOGICAL AND BIOCHEMICAL CHARACTERISTICS OF *BACILLUS SUBTILIS* BACTERIA Yumatova M.A.

Yumatova Mariya Andreevna – Student,
DEPARTMENT OF MOLECULAR BIOTECHNOLOGY,
ST. PETERSBURG STATE INSTITUTE OF TECHNOLOGY
TECHNICAL UNIVERSITY, ST. PETERSBURG

Abstract: the purpose of the work is to study the physiological and biochemical characteristics of the culture of the microorganism *Bacillus subtilis*. The study examined the ratio of the microorganism to the carbon source and molecular oxygen, its need for growth factors, as well as the ability to fix molecular nitrogen. The effect of temperature increase and the addition of antibiotic substances to the growth of culture to the medium are considered. The main morphological features of the colony are described. On the basis of the determinant of bacteria *Bergi*, the conclusion was drawn to the purity of the studied culture.

Keywords: *Bacillus subtilis*, microorganism, cultivation, strain.

УДК 577.346(04)

Идентификация культуры микроорганизмов подразумевает под собой определение ее систематического положения и имеет огромное значение в диагностике заболеваний инфекционного характера, а также в установлении контаминации объектов внешней среды.

Надежность этой процедуры обуславливается, в первую очередь, чистотой исследуемой культуры, что закладывается еще на этапе посева или культивирования микроорганизмов на питательных средах [1].

Выбранный в качестве объекта исследования *Bacillus subtilis* был выделен методом истощающего штриха без промежуточной стерилизации петли [2]. Выделение микроорганизма проводили на среде СПА.

Исследование биохимических свойств того или иного штамма включает в себя качественное или количественное описание комплекса признаков, присущих рассматриваемой культуре.

1. Определение отношения микроорганизма к источнику углерода.

Произведен высев чистой культуры в пробирки со средами, содержащими в качестве единственного источника углерода глюкозу, сахарозу, лактозу, мальтозу или маннит и содержат в своем составе индикатор pH [2].

2. Изучение потребности микроорганизма в факторах роста.

Произведен посев чистой культуры штрихом на синтетическую среду [2]. Культивирование ведется 7 суток.

3. Изучение способности микроорганизма фиксировать молекулярный азот.

Для этой цели культура высевается на безазотистую среду Эшби, на которой могут расти азотфиксирующие микроорганизмы, а также олигонитрофилы [2].

4. Изучение отношения микроорганизма к молекулярному кислороду.

Исследование велось путем высева чистой культуры бактерий уколом в центр столбика СПА в пробирке.

5. Определение влияния температуры на рост микроорганизма.

Бактерия высевается штрихом на среду СПА и помещается в термостаты с температурами 4°C и 45°C соответственно [2].

6. Изучение чувствительности микроорганизма к антибиотическим веществам.

В работе использовались диски со следующими антибиотиками: доксициклин, бензилпенициллин, цефотаксим, ципрофлоксацин. По наличию зоны отсутствия роста можно сделать вывод о чувствительности данной культуры к тому или иному антибиотику.

Во всех указанных экспериментах продолжительность культивирования исследуемого микроорганизма составляла семь суток.

Физиолого-биохимические признаки исследуемого микроорганизма представлены в таблице 1.

Таблица 1. Физиолого-биохимические признаки культуры *Bacillus subtilis*

Признак	Наличие признака	Пояснения
Использование глюкозы	есть	Рост на дне пробирки, помутнение по всему объему жидкости, сильное закисление среды (желтая окраска).
Использование сахарозы	есть	Рост на дне пробирки в виде осадка, сильное закисление среды (желтая окраска).
Использование лактозы	есть	Рост на дне пробирки в виде осадка, изменения рН среды не наблюдается (фиолетовая окраска)
Использование мальтозы	есть	Рост в виде взвеси по всему объему жидкости и пломбы на поверхности, сильное закисление (желтая окраска)
Использование маннита	есть	Рост в виде взвеси по всему объему жидкости, изменения рН не наблюдается (фиолетовая окраска).
Потребность в факторах роста	нет	Слабый рост на синтетической среде позволяет отнести микроорганизм к прототрофам.
Использование молекулярного азота	нет	Слабый рост на среде Эшби позволяет отнести микроорганизм к олигонитрофилам.
Отношение к молекулярному кислороду	есть	Рост на поверхности среды и в глубине столбика позволяет отнести микроорганизм к факультативным анаэробам.
Рост при температуре 4°C 45°C	есть есть	Рост средней интенсивности при 45°C и слабой – при 4°C позволяет отнести микроорганизм к мезофилам.
Чувствительность к антибиотикам А) Доксициклин Б) Бензилпенициллин В) Цефотаксим Г) Ципрофлоксацин	нет нет есть есть	Расположение антибиотиков по мере увеличения чувствительности микроорганизма к нему: 1. Бензилпенициллин (самый бурный рост, зона подавления роста отсутствует) 2. Доксициклин (интенсивный рост, зона подавления = 2 мм от края диска, микроорганизм слабо чувствителен к нему) 3. Цефотаксим (рост в виде отдельных небольших колоний, зона подавления = 5 мм от края диска, микроорганизм чувствителен к нему) 4. Ципрофлоксацин (слабый рост в виде отдельных маленьких колоний, зона подавления = 1 см от края диска, микроорганизм очень чувствителен к нему).

В процессе выполнения работы было выяснено, что рассматриваемый микроорганизм обладает Gr+ типом клеточной стенки.

Для суточной и двухнедельной культуры были определены следующие морфологические признаки:

— Форма: округлая;

- Размер: диаметр = 6 мкм;
- Цвет: аверс – белый, к краям обесцвечивается; реверс – желтоватый оттенок;
- Прозрачность: почти не прозрачная, но пропускает свет;
- Профиль колонии: выпуклый;
- Край колонии: лопастной, гранулированный;
- Структура колонии: крупнозернистая;
- Консистенция колонии: мягкая, не тянется за петлей.

Микроорганизм обладает способностью к спорообразованию. Тип спорообразования – бациллярный с преимущественно терминально расположенной спорой. Размер спор –5 мкм в диаметре.

Согласно определителю бактерий Берджи описанная выше совокупность признаков характерна для бактерий, относящихся к роду *Bacillus* и виду *Subtilis*, что позволяет сделать вывод о чистоте исследуемой культуры.

Список литературы

1. *Прозоркина Н.В., Рубашкина Л.А.* Основы микробиологии, вирусологии и иммунологии. Ростов-на-Дону: Феникс, 2002. 135 с.
2. *Лисицкая Т.Б.* Методы изучения физиолого-биохимических свойств микроорганизмов. СПб.: СПбГТИ(ТУ), 2013. 20 с.