

*Кунакбаева А.Ф.,*

*Студент*

*4 курс, факультет «Естественно-географический»*

*Россия, г. Уфа*

*Фазлутдинова А.Ф.,*

*кандидат биологических наук, доцент*

*Башкирский государственный педагогический университет им. М. Акмуллы*

*Россия, г. Уфа*

## **ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ АНТИБИОТИКОВ НА РАЗВИТИЕ МИКРООРГАНИЗМОВ**

***Аннотация:** В статье рассматриваются результаты влияния антибиотиков на развитие микроорганизмов. Как одни препараты приостанавливают рост микробов, или оказывают бактериостатическое действие, другие убивают микробные клетки, то есть действуют бактерицидно, третьи могут вызвать не только гибель, но и лизис микробных клеток. Пример воздействия антибиотиков на микроорганизмы в зависимости от дозировок. Исследование устойчивости и чувствительности современных бактерий.*

***Ключевые слова:** бактерии, микроорганизмы, почвы, антибиотики, ампициллин.*

***Annotation:** The article discusses the results of the influence of antibiotics on the development of microorganisms. As some drugs stop the growth of microbes, or have a bacteriostatic effect, others kill microbial cells, that is, they act bactericidal, and others can cause not only death, but also lysis of microbial cells. An example of the effect of antibiotics on microorganisms depending on the dosage. Research of resistance and sensitivity of modern bacteria.*

***Key words:** bacteria, micro-organisms, soil, antibiotics, ampicillin.*

Почвенные бактерии одна из составляющих частей почвы, точнее не самой почвы, а ее плодородного слоя – гумуса. В нескольких граммах гумуса насчитывается более одного миллиарда микроорганизмов. У различных групп есть свои определенные свойства.

Почвенные бактерии существуют уже много тысячелетий. Научившись преобразовывать органику в почву, микроорганизмы и ныне успешно растут и развиваются, приспосабливаясь к часто меняющимся условиям окружающей среды.

В современной микробиологии существует деление почвенных микробов, которое строится на том, какое экологическое значение имеют те или иные микроорганизмы в процессе преобразования неорганических и органических веществ:

Деструкторы – живут в земле и минерализуют (т.е. разлагают) органические соединения, попавшие в верхние слои почвы. Их основная задача – превращать останки животных и растений в неорганические вещества.

Азотфиксирующие или клубеньковые микробы – симбионты растений. Только этот подвид может связывать неорганический атмосферный азот и снабжать им растение. Тем самым азотфиксаторы обогащают минеральный состав растений.

Хемоавтотрофы – собирают имеющуюся неорганику в органические молекулы, используя при этом энергию химических реакций самой бактерии. Это группа автотрофов, они могут обработать накапливающиеся в почве неорганические вещества и тем самым «кормить» ими растения.

В современной микробиологии научились регулировать влияние бактерий на почву. Только при оптимальном сочетании минеральной, органической, микробиологической частей формируется плодородная земля.

Почвенная биота — все то огромное количество бактерий, грибов, водорослей, играющих роли лаборантов, реактивов и катализаторов. Их численность в правильно окультуренной почве может достигать нескольких миллиардов в 1 г субстрата, а общая масса — до 10 т/га. [1].

Особо широкое распространение в растениеводстве антибиотики получили после того, как неблагоприятные последствия использования ядовитых химикатов стали сказываться на жизнь местной флоры и фауны. Попадая, вредные вещества из почвы в ближайшие водоемы, ядохимикаты отравляют рыб и другие виды водной фауны. Все это в конце концов оказывает влияние на человека. Антибиотики, в отличие от вышеназванных веществ, обладают избирательностью действия и, подавляя развитие фитопатогенных бактерий и грибов, практически безвредны для растений и животных.

Первые положительные результаты исследований получены при использовании некоторых актиномицетов и миколитических бактерий в борьбе с болезнями льна, сеянцев сосны, хлопчатника, овощных культур, садовых косточковых пород и др. Показана также возможность практического применения микробов-антагонистов для общего оздоровления почвы. После открытия антибиотиков они стали применяться для борьбы с заболеваниями растений.

Ниже в данной статье представлено исследование, проведенное в 2019. При выполнении данной работы был использован метод биотестирования.

Биотестирование (англ. bioassay) – это процедура установления токсичности среды с помощью тест-объектов, сигнализирующих об опасности независимо от того, какие вещества и в каком сочетании вызывают изменения жизненно важных функций у тест-объектов [2].

Анализ качества окружающей среды с помощью биологических объектов в последние годы считается одним из актуальных научно прикладных направлений.

В данном исследовании применяли метод биотестирования, где в качестве тест-объектов выступали *Bacillus subtilis* и *Escherichia coli*

*Bacillus subtilis* – грамположительная крупная представительница вида аэробных спорообразующих почвенных бактерий. Для бактерий характерна форма прямой палочки, которая имеет прозрачную структуру. Приблизительная толщина *Bacillus subtilis* составляет 0,7 мкм, в длину бацилла может достигать от

двух до восьми мкм. В отдельных случаях после того, как произошло поперечное деление, бактерии продолжают оставаться соединенными в тоненькие нити [3].

*Escherichia coli* - грамотрицательная бактерия, факультативный анаэроб, не образует эндоспор. Клетки палочковидные, со слегка закруглёнными концами, размером 0,4-0,8 x 1-3 мкм, объём клетки составляет около 0,6-0,7 м<sup>3</sup>. Кишечная палочка может жить на разных субстратах. В анаэробных условиях *E. coli* образует в качестве продукта жизнедеятельности лактат, сукцинат, этанол, ацетат и углекислый газ. Часто при этом образуется молекулярный водород, который мешает образованию указанных выше метаболитов, поэтому *E. coli* часто сосуществует с микроорганизмами, потребляющими водород - например, с метаногенами или бактериями, восстанавливающими сульфат [4].

Отбор почвы для эксперимента проводили лишь с верхних слоев, глубиной не более 20 см летом 2019 года. Отобранный образец помещали в заранее подготовленную стеклянную стерильную емкость, закрывали стерильной пробкой, отправляли в микробиологическую лабораторию и анализировали без промедления. Для придания среднему образцу большей гомогенности, соблюдая все условия асептики, тщательно перемешивали образец, убирали различные включения.

Для выделения *Escherichia coli* из жидкого разведения пробы отдельной стерильной пипеткой брали 1 см<sup>3</sup> суспензии и переносили в пробирки со средой Кесслер. Посевы инкубировали при температуре 37 + 0,5 °С в течение 24 ч, затем проводили пересев на чашки Петри со стерильной средой Эндо. Посевы снова инкубировали при температуре 37 + 0,5 °С в течение 24 ч. Из выделенных колоний готовили окрашенные по Граму препараты и микро-скопировали. К питательной среде для предупреждения роста дрожжевых или плесневых грибов добавляли нистатин. Далее проводили идентификацию полученной культуры до вида [5].

Для выделения *Bacillus subtilis* из жидкого разведения пробы отдельной стерильной пипеткой брали 1 см<sup>3</sup> суспензии и переносили в пробирки со средой мясопептонный бульон. Посевы инкубировали при температуре 37 + 0,5 °С в

течение 24 ч, затем проводили пересев на чашки Петри со стерильной средой картофельный агар. Посевы снова инкубировали при температуре  $37 + 0,5$  °С в течение 24 ч. Из выделенных колоний готовили окрашенные по Граму препараты и микроскопировали. К питательной среде для предупреждения роста дрожжевых или плесневых грибов добавляли нистатин. Далее проводили идентификацию полученной культуры до вида [5].

Для получения в конце исследования чистой культуры использовали способ посева по Дригальскому (рис.1).

Для развития изолированные колонии, при нанесении на чашки Петри материал распределяли на 3 чашки Петри с питательной средой таким образом, чтобы клетки бактерий были максимально удалены друг от друга. На чашку №1 петлей наносили каплю исследуемого материала и растирали шпателем по всей поверхности питательного агара. Затем шпатель переносили в чашку №2 и втирали оставшуюся на шпателе биокультуру в поверхность питательной среды. Далее шпатель переносили в чашку №3 и аналогичным способом производили посев. На чашке №1 вырастает максимальное количество колоний, на №3 – минимальное количество при максимальной изолированности колоний.

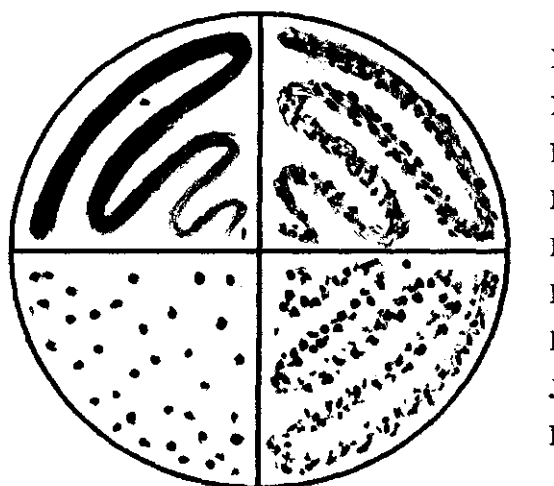


Рисунок 1. Метод Дригальского

Результаты работы представлены в табл. 1

Таблица 1.

Учет результатов по диаметру зоны подавления роста почвенных культур

Антибиотики в диске	Диаметр зон (мм) подавления роста культуры	
	<i>Escherichia coli</i>	<i>Bacillus subtilis</i>
эритромицин	18±0,5	10±0,5
ампициллин	12±3	12±3
флемоксин	15±4	19±4
доксциклин	11±1,5	6±0,5
ванкомицин	12±0,5	18±1,5

Наибольшая зона роста культур отмечалась у бактерий *Escherichia coli* в области воздействия антибиотиков эритромицина, наименьшая зона у данных бактерий была в области воздействия ванкомицина. Кишечная палочка, выделенная из почвенных мест обитания, обладала средней резистентностью к антибиотикам пенициллинового ряда.

Бактерии *Bacillus subtilis* в сравнении *Escherichia coli* с показали наименьшую устойчивость ко всем примененным антибиотикам. Однако, наибольший эффект воздействия на эти бактерии оказали флемоксин и ванкомицин.

С одной стороны, это можно объяснить сходством в морфологической структуре клеточной стенки этих бактерий. С другой стороны, можно отметить, что доксициклин и ванкомицин – достаточно недавно введенные антибиотики, на которые резистентность в среде бактерий еще в процессе выработки и распространения.

#### Использованные источники:

1. Почвенные бактерии, полезные для растений, и их функций: сайт Ирины Олеговны. [Электронный ресурс]. URL:

<https://7dach.ru/IrinaOlegovnaIvanova/ne-stoit-boyatsya-bakteriy-kakie-iz-nih-polezny-dlya-vashego-sada-223987.html> (дата обращения: 05.02.2020).

2. Биологический контроль окружающей среды: биоиндикация и биотестирование: учеб. пособие для студ. высш. учеб. заведений / О.П. Мелехова, Е.И. Егорова, Т.И. Евсеева и др.; под ред. О.П. Мелеховой и Е.И. Егоровой. – М.: Издательский центр «Академия». – 2007. – 288 с

3. Langdon, A. The effects of antibiotics on the microbiome throughout development and alternative approaches for therapeutic modulation/ A. Langdon, N. Crook, G. Dantas //Genome Medicine. – 2016. Vol. 8, 39. – P.208-211

4. Madigan M.T., Martinko J.M. Brock Biology of microorganisms — 11th. — Pearson, 2006. — ISBN 0-13-196893-9.

5. Мусаев, Ф.А. Практикум по микробиологии: учебное пособие) / Ф.А. Мусаев, М.А. Габитов. – Рязань, 2015. – 220 с