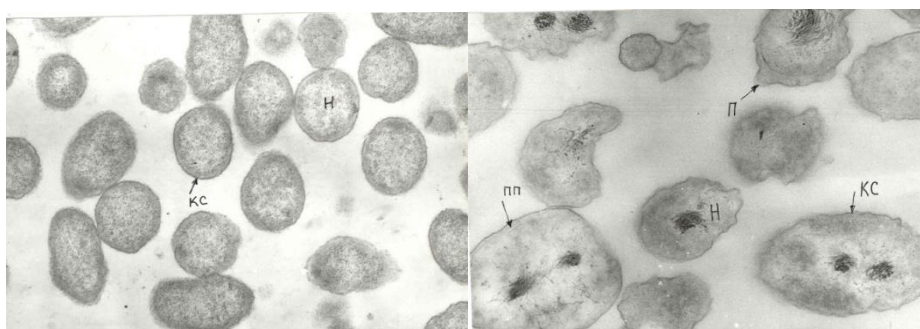
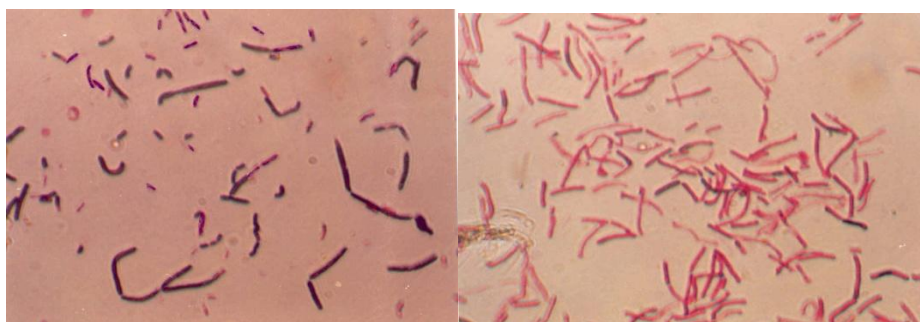
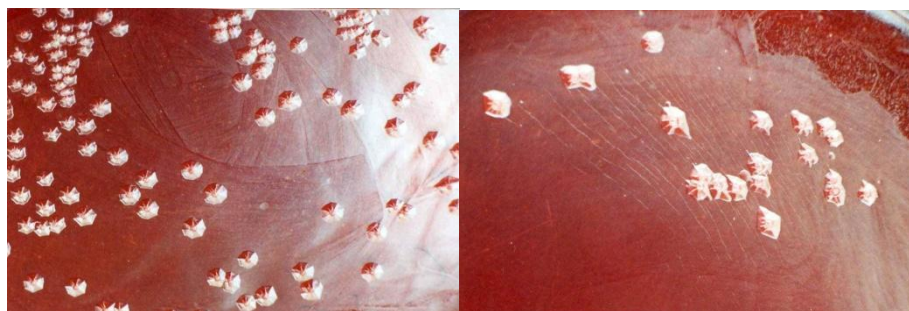


Л.С. Бузолева, М.Л. Сидоренко

АДАПТАЦИЯ ПАТОГЕННЫХ БАКТЕРИЙ К АБИОТИЧЕСКИМ И БИОТИЧЕСКИМ ФАКТОРАМ ПОЧВ



Владивосток

2014

РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ МЕДИЦИНСКИХ НАУК

СИБИРСКОЕ ОТДЕЛЕНИЕ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ ЭПИДЕМИОЛОГИИ И
МИКРОБИОЛОГИИ им. Г.П. Сомова

РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ НАУК
ДАЛЬНЕВОСТОЧНОЕ ОТДЕЛЕНИЕ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ
БИОЛОГО-ПОЧВЕННЫЙ ИНСТИТУТ

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
ВЫСШЕГО ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ
«ДАЛЬНЕВОСТОЧНЫЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ» (ДФУ)
ШКОЛА ЕСТЕСТВЕННЫХ НАУК

Л.С. Бузолева, М.Л. Сидоренко

АДАПТАЦИЯ ПАТОГЕННЫХ БАКТЕРИЙ К АБИОТИЧЕСКИМ И БИОТИЧЕСКИМ ФАКТОРАМ ПОЧВ

Издательство
Морской Государственный Университет им. Адм. Г.И. Невельского
Владивосток
2014

FEDERAL STATE BUDGETARY INSTITUTION
«RESEARCH INSTITUTE OF EPIDEMIOLOGY AND MICROBIOLOGY OF G.P. SOMOV»
SIBERIAN BRANCH OF THE RUSSIAN ACADEMY OF MEDICAL SCIENCES

INSTITUTION OF RUSSIAN ACADEMY OF SCIENCES
INSTITUTE OF BIOLOGY & SOIL SCIENCE
FAR EASTERN BRANCH OF RUSSIAN ACADEMY OF SCIENCES

FEDERAL STATE AUTONOMOUS EDUCATIONAL INSTITUTION HIGHER
EDUCATION
«FAR EASTERN FEDERAL UNIVERSITY»
SCHOOL OF NATURAL SCIENCES

L.S. Buzoleva, M.L. Sidorenko

**ADAPTATION of PATHOGENIC BACTERIA to
ABIOTIC and BIOTIC FACTORS of the SOIL**

Publishing house
Maritime State University n.a. Adm. G.I. Nevelskoy
Vladivostok
2014

УДК 57.022:57.042.2:57.042.5:579.63:579.262:579.017.8:579.61:614.77:631.46

Л.С. Бузолева, М.Л. Сидоренко

Адаптация патогенных бактерий к абиотическим и биотическим факторам почв – Владивосток: Изд-во Морской Государственный университет им. Адм. Г.И. Невельского, 2014. –

ISBN ...

В монографии обсуждаются исторические этапы развития учения о сапрозоонозах. Впервые почва рассматривается как среда обитания для патогенных бактерий и ее влияние на рост и размножение возбудителей сапрозоонозов с точки зрения характеристики разных типов почв, включая оценку свойств органо-минерального комплекса, как структурной единицы почвы. Исследовано влияние летучих метаболитов сапрофитной микрофлоры почв, как одной из составляющих биотических факторов среды, на размножение патогенных бактерий. Показано значение экологической толерантности возбудителей сапрозоонозов, обусловленное морфофункциональной изменчивостью возбудителей инфекционных болезней при их длительном обитании в почве.

Монография является обобщением существующих в настоящее время материалов по характеристике микрoэкологических аспектов сапронозных инфекций и может быть предназначена для такой целевой аудитории как студенты биологических и медицинских специальностей, научные сотрудники, врачи бактериологи, биологи, эпидемиологи.

Рецензенты:

доктор медицинских наук, доцент А.В. Мартынова
кандидат биологических наук, доцент Е.А. Жарикова

Научный редактор

доктор биологических наук, профессор Н.М. Костенков

ISBN

© Бузолева, Сидоренко, 2014
©НИИ ЭМ СО РАМН, 2014
©БПИ ДВО РАН, 2014
© ДВФУ, 2014

UDK 57.022:57.042.2:57.042.5:579.63:579.262:579.017.8:579.61:614.77:631.46

L.S. Buzoleva, M.L. Sidorenko

**Adaptation of pathogenic bacteria to abiotic and biotic factors of soils – Vladivostok:
Publishing house of Maritime State University n.a. G.I. Nevelskoi, 2014. –
ISBN ...**

In the monograph historical stages of development of the doctrine about saprozoosis are discussed. For the first time the soil is considered as habitat for pathogenic bacteria. It's shown the influence of soil on growth and reproduction of saprozoosis agents due to characteristic of different soils types, including an assessment of properties of an organo-mineral complex as structural unit of the soil. Influence of flying metabolites of saprotrophic microflora of soils as one of the biotic factors of environment on reproduction of pathogenic bacteria is investigated. Value of ecological tolerance of saprozoosis agents caused by morphological and functional variability of infectious diseases agents occurring in the soil for a long time is shown. The monograph is generalization of existing at present time materials on characteristic of microecological aspects of saprozoosis infections and can be intended for such target audience as students of biological and medical specialties, research associates, bacteriologists, biologists, epidemiologists.

Reviewers:

Doctor of Medicine, associate professor A.V. Martynova
Ph.D. in Biology, associate professor E.A. Zharikova

Scientific editor

Doctor of Biology, Professor N. M. Kostenkov

ISBN

© L.S. Buzoleva, M.L. Sidorenko, 2014
© SRI EM SB RAMN, 2014
© IBSS DVO RAN, 2014
© FEFU, 2014

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ

ГЛАВА 1. О САПРОЗООНОЗАХ

ГЛАВА 2. ПОЧВА КАК СРЕДА ОБИТАНИЯ ДЛЯ ПАТОГЕННЫХ БАКТЕРИЙ

2.1. Характеристика органо-минерального комплекса – структурной единицы почвы

2.2. Почвенные ценозы – резервуар патогенных бактерий – возбудителей сапрозоонозов

ГЛАВА 3. ВЛИЯНИЕ АБИОТИЧЕСКИХ ФАТОРОВ ПОЧВЕННЫХ ЭКОСИСТЕМ НА РАЗМНОЖЕНИЕ ПАТОГЕННОЙ МИКРОФЛОРЫ

3.1. Размножение патогенных бактерий в автоморфных почвенных экосистемах

3.1.1. Характеристика основных автоморфных почв юга Дальнего Востока

3.1.2. Динамика размножения патогенных бактерий в автоморфных почвах

3.1.3. Физико-химические свойства автоморфных почв, влияющие на существование сапрозоонозов

3.1.4. Зависимость размножения иерсиний и листерий от качественных и количественных характеристик гумуса.

3.1.5. Влияние минеральных удобрений на размножение *Listeria monocytogenes* и *Yersinia pseudotuberculosis*

3.2. Размножение патогенных бактерий в почвах гидроморфного ряда (морского побережья)

3.2.1. Характеристика почв морского побережья юга Дальнего Востока

3.2.2. Влияние абиотических факторов почв морского побережья на размножение *L.monocytogenes* и *Y. pseudotuberculosis*

ГЛАВА 4. БЕНТОНИТОВЫЕ ГЛИНЫ КАК МОДЕЛЬ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ВЛИЯНИЯ ОРГАНО-МИНЕРАЛЬНОГО КОМПЛЕКСА ПОЧВЫ НА РАЗМНОЖЕНИЕ ПАТОГЕННЫХ БАКТЕРИЙ

4.1. Характеристика бентонитовых глин как минерального и органического компонента почвы

4.2. Питательная среда на основе бентонитовых глин для культивирования патогенных бактерий

4.2.1. Поиск оптимальных физико-химических условий для культивирования бактерий

4.2.2. Влияние химического состава минерального компонента бифазной среды на размножение энтеробактерий

4.2.3. Изучение влияния органического компонента бентонитовой среды на процессы

размножения энтеробактерий

4.2.4. Активный фактор бентонитовых сред и его влияние на биокаталитические процессы бактерий

ГЛАВА 5. ИЗМЕНЧИВОСТЬ ПОПУЛЯЦИЙ *LISTERIA MONOCYTOGENES* И *YERSINIA PSEUDOTUBERCULOSIS* ПРИ ОБИТАНИИ В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ПОЧВЕННЫХ ЭКОСИСТЕМАХ

5.1. Биотические связи в почвенных сообществах

5.2. Влияние температурного фактора на существование патогенных бактерий в проточных почвенных колонках

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

ЛИТЕРАТУРА

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время накоплено большое количество фактов, свидетельствующих о принципиальной возможности сапрофитного существования патогенных микроорганизмов в объектах окружающей среды (Ганнушкин, 1952; Терских, 1958; Беляков, 1964; Головачева, 1978; Сомов, 1974, 1978, 1985; Литвин, 1976, 1986а, 1986б; Weiss J., Seeliger H., 1975; DeFlaun M. F., Paul J. H., 1989; Froun A., 1989). Особенный интерес в этом плане вызывают возбудители инфекционных болезней, которые длительно выживают в почве, воде, растительных субстратах и для которых утвердился термин сапрозоонозы (Сомов, Литвин, 1988).

К таким микроорганизмам относят *Listeria monocytogenes*, *Yersinia pseudotuberculosis*, *Leptospira interrogans*, *E. enterocolitica*, *Legionella pneumophila*, одной из сред обитания которых являются почвы. Возможность существования патогенных бактерий в различных почвах доказана и подробно изучена многими исследователями (Красильников, 1958б; Крисс, 1959; Аристовская, 1965, 1980; Мишустин, 1975; Звягинцев, 1978; Мишустин и др., 1979; Тен Хак Мун, 1983; Smyk et al., 1986). Но, факторы, влияющие на рост и размножение таких бактерий в различных типах почв с постоянно меняющимися параметрами среды, только сейчас становятся объектом исследования.

В большинстве случаев почва для модельных экспериментов в такого рода исследованиях использовалась абстрактно, без учета ее особенностей. В работах не указывался тип почвы и ее характеристики, что, безусловно, является серьезным упущением.

Известно, что, в такой сложной биокосной системе как почва процессы размножения бактерий не могут зависеть от действия только одного фактора. Патогенные микроорганизмы, попадая в почву, становятся полноправными членами сложных почвенных экосистем, вступая в различные взаимодействия с другими компонентами почвенной биоты (Литвин, 1991; Литвин, 1992). Динамика численности микроорганизмов представляет собой процесс,

обусловленный с одной стороны, микробными взаимоотношениями, имеющими место в почве (регулирующие факторы), с другой стороны свойствами самой почвы и влиянием таких динамичных факторов, как температура, влажность, наличие питательных веществ. Суммарное действие динамичных и регулирующих факторов определяет происходящие в почве изменения численности микроорганизмов. Но, тем не менее, изучение влияния отдельных факторов на размножение бактерий в почве является немаловажным, так как способствует раскрытию механизмов этого явления. Исследования в данном направлении позволят выявить закономерности распространения возбудителей сапрозоонозных инфекций в почвах различного вещественного состава, обладающих разными физико-химическими свойствами.

ГЛАВА 1. О САПРОЗООНОЗАХ

Еще древние греки признавали значение окружающей среды как резервуара возбудителей инфекционных болезней. Первые систематические описания эпидемий ряда заразных болезней, а также попытки объяснить их возникновение существованием особого заразного начала и дать оценку роли внешней среды в распространении эпидемических заболеваний, можно найти в сочинениях Гиппократов, относящихся к периоду расцвета Древней Греции (460-372 г.г. до н.э.). Ученый и его сторонники считали, что причиной появления заразных заболеваний являются миазмы, которые зарождаются и находятся в воздухе, воде, почве, попадают в организм человека и вызывают болезнь (Виноградов - Волжинский, 1973). Его взгляды разделяли ряд ученых Римской империи (Фукидид, Лукреций и др.). В эпоху Возрождения эта гипотеза получила развитие в трудах известного в то время английского врача Томаса Сайденгема (Беляков, Яфаев, 1989).

Эпоха средневековья, несмотря на интенсивное распространение в ряде стран эпидемических заразных болезней, не внесла нового в понимание сущности эпидемий. Более того, засилие религиозных предрассудков мешало рациональному осмыслению даже тех немногих знаний, которые дошли в средние века из древнего мира.

К XIV веку на основе общественного опыта борьбы с эпидемиями начинают складываться некоторые теоретические представления о закономерностях распространения эпидемий. Сторонники новой гипотезы предполагали, что живой контагий находится и размножается в теле больного и передается от человека к человеку. Наиболее ярким представителем этого течения был итальянский врач, воспитанник Падуанского университета Джироламо Фракасторо (1546г.) (Поздеев, 2002). С этого времени в медицинском мире разворачивается многовековая дискуссия между сторонниками миазматической теории и учения о контагии.

В середине XIX века накопленный врачебный опыт и эпидемиологические сопоставления позволили выделить три группы эпидемий: миазматические (без передачи заразного начала от больных здоровым), контагиозные (развивающиеся на основе передачи заразного начала от больных здоровым) и миазматически-контагиозные (занимающие промежуточное положение) (Беляков, Яфаев, 1989). В это время большое значение имела теория выдающегося немецкого ученого Петтенкофера, создавшего стройное учение о влиянии почвы на возникновение и развитие эпидемий, в котором он указывал, что при повышении уровня почвенных вод общее число тифозных заболеваний уменьшается, а при понижении оно, наоборот, увеличивается (Башенин, 1936).

И все-таки в дискуссии между «миазматиками» и «контагионистами» в конце XIX века победило представление последних, и оно оставалось долгие годы неоспоримым. В.Д.Беляков, Р.Х. Яфаев (1989) отмечали, что «бактериологические открытия на первых порах привели к однозначному пониманию механизма распространения инфекционных заболеваний через контакт. Тем самым в теории эпидемиологии был сделан шаг назад. Формула «универсального контакта» поддерживалась тем обстоятельством, что «при развитии эпидемий инфекционных болезней почти всегда можно обнаружить встречи с больными здоровых людей перед их заболеванием».

В нашей стране, в ее советский период, укоренилось представление, полностью отрицающее возможность размножения и длительного существования возбудителей инфекций в окружающей среде, поскольку организм хозяина считался единственно возможной средой их обитания. Так, в 1937 году А.А. Филипченко дал определение паразитам как «организмам, средой обитания которых является другой живой организм». Подтверждая эту точку зрения, Ш.Д. Машковский (1946) полагал, что взаимоотношения между организмом и средой всегда регулируются организмом хозяина. В.С. Киктенко (1954) вообще отводил объектам окружающей среды роль «кладбища» для

патогенных бактерий. Но наиболее последовательным в этом смысле следует считать одного из основателей эпидемиологии академика АМН СССР Л.В. Громашевского (1965), который возвел это представление в ранг первого закона эпидемиологии, утверждающего, что источником возбудителей инфекции является только зараженный человеческий или животный организм. Что касается существования патогенных бактерий в объектах окружающей среды, он писал: «Паразитарная природа возбудителей инфекций определяет их отношение к различным элементам внешней среды. Ни один из них не может быть первоисточником и постоянным естественным носителем заразного начала. Все наши знания в этой области дают основания считать внешнюю среду для патогенных микроорганизмов - чужой средой, в которой паразиты не могут найти благоприятных условий для своего существования» (Громашевский, 1965). Автор этих строк при обосновании выдвинутых им положений весьма категорично заявлял, что «они подтверждаются во всех случаях и не знают исключений».

Ученики и многочисленные последователи Л.В. Громашевского стояли на этих позициях, утверждая, что организм хозяина - единственно возможное место естественного обитания любых патогенных микроорганизмов (Елкин, 1960). Н.Р. Дядичев (1965) полагал, что экология любого паразита может быть полностью раскрыта через экологию его хозяина, и, следовательно, отвергал существование «самостоятельной экологии» у паразитов. В книге В.В. Скворцова с соавт. (1966) показано, что «Внешняя среда, ее элементы... не являются... местом естественного пребывания и размножения патогенных микроорганизмов. Элементы внешней среды осуществляют лишь передачу заразного агента от источника к здоровому организму».

Критикуя подобные взгляды, Г.П. Сомов и В.Ю.Литвин (1988) отмечали: «Можно только удивляться, как «антибиологично» развивалась медицинская микробиология, как она оторвалась от общей микробиологии: ведь трудно представить, чтобы патогенные микроорганизмы, будучи частью

микробного сообщества Земли, не были подвластны общебиологическим закономерностям».

Хотя положения ортодоксальной теории Л.В. Громашевского завоевали прочные позиции в «советской эпидемиологии», нельзя не заметить, что к этому времени уже появились факты, противоречащие ей. Так, еще в 1933 году А. Готштейн и И. Добрейцер (1933) говорили о том, что факультативные паразиты «могут жить и размножаться как в неживом внешнем мире, так и в живом организме». В.А. Башенин (1936) признавал отсутствие резкой грани между паразитами и сапрофитами. В серии своих работ Е.Н. Павловский (1945) также допускал временное отсутствие связи жизненного цикла паразита с хозяином и в соответствии с этим предлагал различать две категории паразитизма — постоянный и временный. Аналогичные взгляды высказывали В.А. Догель (1947) и В.Д. Тимаков (1973). И.В. Давыдовский (1956) призывал видеть в патогенности и непатогенности, в паразитизме и сапрофитизме «условные, а не видовые понятия, т.е. состояния, переходящие одно в другое в определенных условиях внешней среды».

Против канонизированной в «советской эпидемиологии» позиции в 1958 году выступил известный микробиолог В.И. Терских (1958), который выдвинул учение о новом классе инфекционных болезней - сапронозах, характерной особенностью которых является то, что «основным источником их возбудителей являются не животные, как при зоонозах, и не человек, как при антропонозах, а субстрат внешней среды». Причем это было убедительно аргументировано известными в то время фактами по экологии ряда бактерий и грибов. Этому обобщению предшествовали более чем 30-летние фундаментальные исследования по проблемам лептоспирозов, благодаря которым В.И. Терских обосновал новые теоретические положения о реализации возбудителями лептоспирозов инфекционного и эпидемического процессов. В частности, еще в 1928 году среди установленных эпидемиологических закономерностей водной лихорадки он указывал на возможность заражения людей из почвы. И этот

«фон», как отмечает В.Г. Чернуха (1988) в его научных трудах, усиливался, как бы исподволь подготавливая эпидемиологов к смене узкого представления о резервуарах (источниках) инфекции. Но в результате резкой критики со стороны Л.В. Громашевского и его последователей концепция В.И. Терских была полностью исключена из эпидемиологии, и о ней не упоминалось, ни в руководствах по эпидемиологии, ни в периодической печати в течение 20 лет.

В последние десятилетия 20-го века представление о сапронозах начало возвращаться и завоевывать признание в результате развернувшихся экологических исследований, выполненных на модели возбудителей псевдотуберкулеза, иерсиниоза (Сомов, 1979; Сомов, 1985; Литвин, 1991), сибирской язвы (Соркин и др., 1966), листериоза (Токаревич, 1979; Гершун, 1988), легионеллеза (Прозоровский и др., 1984), мелиоидоза (Беляков и др., 1987; Ларионов, 1988), лептоспироза (Литвин, Голубев, 1986; Зайцев, Чернуха, 1988).

На современном этапе активно ведутся исследования, направленные на доказательство возможности размножения и существования внеорганизменных популяций патогенных бактерий в различных объектах окружающей среды, основными из которых являются почва и вода. Экологические исследования последних лет (Беляков В.Д., Прозоровский С.В., Сомов Г.П., Литвин В.Ю., Гершун В.И., Бузолева Л.С., и др.) дали возможность получить много новых фактов, обобщение которых позволило признать окружающую среду в качестве резервуара возбудителей ряда инфекций и способствовало возврату в эпидемиологию представления о сапронозах. Значительный вклад в развитие этого направления был внесен в результате комплексного изучения в 1960 - 1970 г.г. дальневосточной скарлатиноподобной лихорадки (ДСЛ) в НИИ эпидемиологии и микробиологии СО РАМН, которое позволило заметить некоторые особенности возбудителя, не укладывающиеся в обычные эпидемиологические представления (Сомов, 1997). При этом возбудитель был выделен при выращивании посевов не в термостате при 37°C, как это принято в микробиологической практике, а в холодильнике при 6-8°C, и для

культивирования использовали не питательный бульон, а фосфатно-буферный раствор (рН 7,2-7,4). Результаты этих исследований, а также проведенный В.А.Знаменским героический опыт самозаражения культурой псевдотуберкулезного микроба, выделенной от больного ДСЛ, с воспроизведением типичной клинической картины этой инфекции, позволили сделать вывод о псевдотуберкулезной этиологии «новой» болезни (Знаменский, Вишняков, 1967). Г.П. Сомов (1997), обобщая накопленный материал по этой проблеме, делает вывод, что ДСЛ является новым, неизвестным для мировой медицины, клинико-эпидемическим проявлением псевдотуберкулезной инфекции. Эколого-эпидемиологическое изучение дальневосточной скарлатиноподобной лихорадки и ее возбудителя позволило академику РАМН Г.П. Сомову сделать обобщение в отношении других факультативных паразитов и создать на этой основе концепцию о психрофильности патогенных бактерий (Сомов, 1997).

Эпидемические вспышки нового проявления псевдотуберкулеза на Дальнем Востоке, а затем и в других регионах страны, а также в Японии, Южной Корее и Китае привлекли внимание к этой инфекции. Исследования в СССР возглавил Г.П. Сомов в институте эпидемиологии и микробиологии СО РАМН, который в комплексе с рядом научных и практических учреждений Дальнего Востока, по специально разработанной программе, в течение более 30 лет осуществлял комплексное (клиническое, бактериологическое, эпидемиологическое, иммунологическое, биохимическое, генетическое, патоморфологическое) изучение этого нового клинико-эпидемического проявления псевдотуберкулезной инфекции у человека. Результаты этой работы получили признание у медицинской общественности страны и ознаменовались присуждением ведущим сотрудникам института (Сомов Г.П., Беседнова Н.Н., Дзадзиева М.Ф., Варвашевич Т.Н., Тимченко Н.Ф., Шубин Ф.Н., Серов Г.Д.) и работающими вместе с ними в комплексе сотрудниками других учреждений

(Королюк А.М., Борисова М.А., Ющенко Г.В.) Государственной премии СССР за 1989 год.

Проведенные на Дальнем Востоке исследования по изучению псевдотуберкулеза явились приоритетными для мировой медицины и внесли определенный вклад в теорию медицины и практику здравоохранения. Выявленные при изучении возбудителя болезни особенности (способность его размножаться при низкой температуре в бедных трофических условиях) позволили предположить, что эти же свойства могут играть важную роль и во время обитания возбудителя в окружающей среде. На этом основании была выдвинута гипотеза об эпидемиологическом и патогенетическом значении психрофильности ряда патогенных бактерий, которая позднее была обоснована фактами.

Полученные в результате многолетних исследований данные легли в основу создания учения о сапронозах (сапрозоонозах), что является несомненной заслугой академика РАМН Г.П. Сомова.

Представление о возможности существования патогенных бактерий в окружающей среде находит подтверждение с эволюционных позиций (Грант, 1991). На основании многочисленных ископаемых находок, было высказано предположение, что патогенные бактерии произошли от первичных примитивных бактерий, которые появились на Земле в Докембрийскую эру около 600 миллионов лет до нашей эры. Встретившись с первыми теплокровными животными (птицами) в Мезозойскую эру около 100 - 130 миллионов лет назад, первичные бактерии в результате мутаций и отбора начали осваивать эту новую нишу, что и привело к появлению у них способности вызывать инфекционный процесс у теплокровных животных. При этом одни виды бактерий эволюционировали в этом направлении очень далеко и полностью ушли из окружающей среды, превратившись в облигатных паразитов животных и человека. Другие, приобретя способность вызывать инфекционный процесс в теплокровном организме, не утратили своих первоначальных свойств,

что определило их способность к сапрофитному и паразитическому существованию. Третьи так и остались апатогенными сапрофитами, адаптируясь все больше к обитанию в окружающей среде. Следовательно, между возбудителями инфекций, не нуждающимися в окружающей среде, и сапрофитами, не нуждающимися в теплокровном организме, лежит большая группа переходных форм, относящихся к факультативным паразитам, разные виды которых в большей или меньшей степени связаны как с организмом теплокровных, так и с объектами окружающей среды. Блестяще демонстрирует эти переходы рисунок, предложенный Г.П. Сомовым в одной из его статей еще в 1997 г. (рис. 1.1) (Сомов, 1997).

Так, если опираться на определение В.И. Терских, который считал возбудителей сапронозов свободноживущими в природе видами, сочленами естественных биоценозов, не нуждающимися в теплокровном организме, но способных вызывать инфекционный процесс, то им можно отвести место в 1-й колонке рисунка. В этой связи одни авторы называют такие бактериальные виды просто патогенными сапрофитами или просто сапрофитами медицинского значения (Беляков, Ряпис, 1988), случайными паразитами (Литвин, 1991). Предположительно к ним можно отнести легионелл, вибрионы Эль-Тор, возбудители столбняка, газовой гангрены, ботулизма. Ряд исследователей (Беляков, Ряпис, 1988; Литвин и др., 1998) считают, что в основе способности таких видов бактерий вызывать заражение животных и человека лежат присущие им факторы и свойства – адгезины, инвазины, вторичные метаболиты, ферменты, токсины, которые сформировались у них в процессе эволюции для существования в объектах окружающей среды, для проникновения в клетки и ткани представителей почвенной и водной флоры и фауны, для деградации органического вещества.

Эти универсальные факторы благодаря комплиментарности детерминант могут действовать на совпадающие в химическом плане точки приложения (мишени) как в объектах окружающей среды, так и в органах теплокровных.

Следовательно, адаптивные факторы, сформировавшиеся у сапрофитных бактерий в процессе эволюции для обитания в окружающей среде могут быть факторами их патогенности, которые и обеспечивают возникновение инфекционного процесса у теплокровного организма.

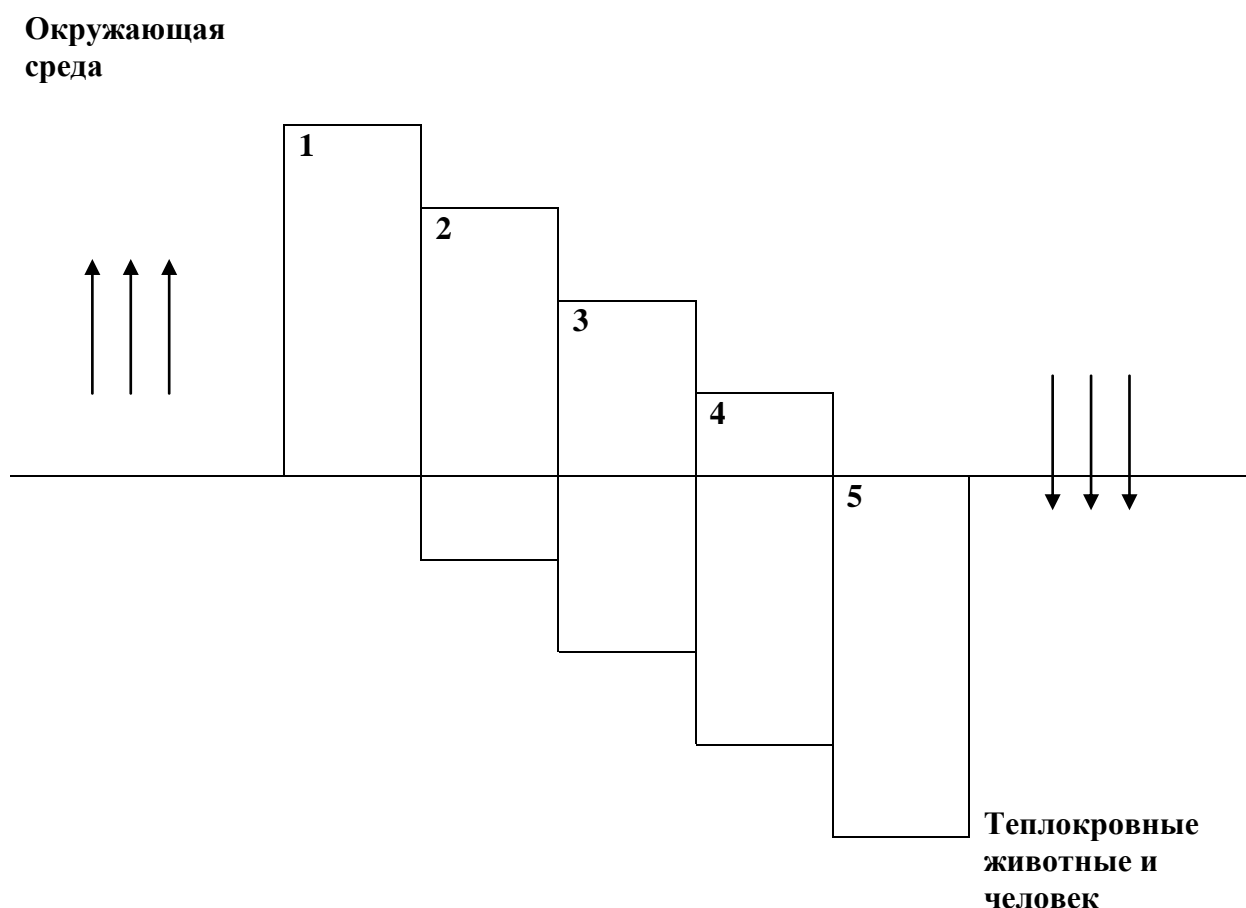


Рис.1.1. Эволюционно-экологические взаимоотношения бактерий с окружающей средой и теплокровным организмом (Сомов, 1997).

- 1 - патогенные сапрофиты – возбудители сапронозов;
- 2 - 4 – факультативные паразиты – возбудители сапрозоонозов;
- 5- облигатные паразиты – возбудители антропонозов и зоонозов.

Наряду с этой группой сапронозов (истинные сапронозы, облигатные сапронозы) существует и другая группа сапронозов, возбудители которых обладают двойственной природой и способны в зависимости от среды обитания вести как сапрофитный, так и паразитический образ жизни (рис.1.1 колонки 2-4). По определению Г.П. Сомова «жизненная программа таких факультативных

паразитов состоит в непрерывном переходе из окружающей среды, где они ведут сапрофитный образ жизни, в организм теплокровных, в котором они проявляют свои паразитические свойства и снова реверсируют к сапрофитизму при возврате в окружающую среду» (Сомов, Бузолева, 2004). Поэтому такую группу факультативных паразитов следует отделить от истинных сапронозов и принять для них термин сапрозоонозы, предложенный группой экспертов ФАО/ВОЗ по зоонозам еще в 1968 г. (Комитет экспертов .., 1969). В этом термине удачно сочетается представление о сапрофитной и паразитической природе таких видов бактерий. Подобных возбудителей называют полусапрофитами, полупаразитами (Тимаков, 1973), сапропаразитическими возбудителями (Беляков, Ряпис, 1988) или просто факультативными паразитами.

Полученные в последние годы материалы по изучению экологии иерсиний, лептоспир, листерий, сибиреязвенного и мелиоидозного микроба позволяют предположительно отнести указанные виды микроорганизмов к возбудителям сапрозоонозов. Характерными чертами возбудителей сапрозоонозов являются (Сомов, Бузолева, 2004):

- *полиадаптивность*, т.е. способность вести как сапрофитный, так и паразитический образ жизни;
- *полигостальность* – способность инфицировать большое количество видов животных (млекопитающих, птиц, земноводных, членистоногих, рыб, морских беспозвоночных животных, простейших и др.);
- широкая *метаболическая пластичность* (гетеротрофия, автотрофия, миксотрофия), обеспечивающая трофические потребности возбудителей сапрозоонозов в таких разных экологических условиях как объекты окружающей среды и внутренняя среда теплокровного организма;
- *термоадаптивность* – способность размножаться и существовать в диапазоне температур от 0⁰С до 42⁰С;
- в эпидемическом плане сапрозоонозы характеризуются тем, что заражение человека их возбудителями происходит после употребления в пищу и

для питья без термической обработки пищевых продуктов и воды, в которой произошло накопление возбудителя или реже при непосредственном контакте теплокровного организма с их источником в природе;

- эпидемический процесс при сапрозоонозах представляет собой не цепочечное (эстафетное) заражение здорового организма от больного, а веерообразное, когда из одного резервуара в окружающей среде происходит заражение людей или животных и отсутствует контагиозность.

Можно сказать, что все приведенные в характеристике сапрозоонозов черты с таким же успехом могут быть отнесены к возбудителям истинных сапронозов. Видимо поэтому имеющиеся фактические материалы о размножении и длительном существовании отдельных видов патогенных бактерий, относящихся к возбудителям сапронозов и сапрозоонозов, в объектах окружающей среды, не убеждают оппонентов. Несмотря на полученные данные и сложившиеся при их анализе обобщения, дискуссия по этому вопросу все еще продолжается. На наш взгляд, следуя учению Г.П. Сомова (Сомов, 2001; Сомов, 2004), группу сапрозоонозов выделять необходимо, несмотря на то, что пока еще не достаточно фактов, неоспоримо доказывающих эту необходимость.

Так, на сегодняшний день возникает вопрос – возможно ли определить, для возбудителей какой группы инфекций окружающая среда является обязательной, а для какой нет? Следует допустить, что существуют две группы сапронозов: возбудители одной из которых (истинные сапронозы) не связаны с теплокровным организмом, а возбудители другой (сапрозоонозы) более или менее связаны с ним. Для возбудителей сапронозов окружающая среда (почвенные, водные ценозы) – это нормальное существование, а для сапрозоонозов – среда, к которой они вынуждены адаптироваться, изменяясь (Сомова и др., 2009) вплоть до крайней формы изменчивости – некультивируемого или покоящегося состояния, и переживать эти условия до возвращения пролиферативной функции. Подобные микроорганизмы обладают генетико-биохимическими механизмами, обеспечивающими им адаптацию к

абиотическим факторам окружающей среды (температура, влажность, pH, токсические вещества, качество и количество питательных веществ) и, взаимодействуя со многими представителями почвенной и водной флоры и фауны (бактерии, простейшие, ракообразные, рептилии, черви, личинки насекомых, клещи и др.), формируют с помощью клонально-селекционного механизма жизнеспособные клоны, обладающие достаточной вирулентностью, чтобы вызвать инфекционный процесс у человека и животных (Сомов, Бузолева, 2004).

Следовательно, истинные возбудители сапронозов, свободно живущие в почве и воде, действительно живут и размножаются как автохтонные микроорганизмы и сочлены почвенных и водных микробных сообществ. Для сапрозоонозов в большей степени благоприятной средой является теплокровный организм, так как в большинстве модельных экспериментов (почва, вода, растения) они, хотя и длительно существуют в этих средах, но, в конце концов, переходят в состояние покоя, позволяющее им пережить неблагоприятные условия сколь угодно долго (Бузолева, 2000). По отношению к почве или воде это аллохтонные, т.е. привнесенные микроорганизмы. Попадая из объектов окружающей среды в теплокровный организм, возбудители сапрозоонозов, при смене сред обитания и температуры среды, способны в большей степени проявлять свои патогенные свойства (Сомов, Бузолева, 2004).

В настоящее время, в основном изучены абиотические факторы среды (Сомов, Бузолева, 2004) и практически не исследован характер взаимоотношений патогенных бактерий в сообществах микроорганизмов почвенной и водной биот. Дальнейшее развитие вопроса может идти в нескольких направлениях.

Открытие покоящегося состояния у ряда патогенных бактерий (иерсинии, листерии, сальмонеллы и т.д.) (Бухарин и др., 2005), в которое они переходят при неблагоприятных условиях существования, позволяет понять, почему они длительно сохраняются в объектах внешней среды. В связи с этим необходимо

выяснить механизмы, запускающие деление покоящихся клеток патогенных бактерий в почвенных и водных биотах, что позволит получить еще одно доказательство возможности их существования в объектах окружающей среды, а также, определить пути заражения теплокровного организма. В настоящее время проводятся исследования, касающиеся изучения влияния газообразных метаболитов почвенных бактерий на размножение возбудителей сапрозоонозов (Бузолева, Сидоренко, 2005). Доказательство возможности возвращения к пролиферации и стимуляции процессов размножения внеорганизменных популяций патогенных бактерий через межметаболитные взаимодействия в микробных сообществах почв и водоемов раскрывает недостающее звено в цепи циркуляции патогенных бактерий, к которым относятся возбудители сапрозоонозов.

Кроме того, в настоящее время еще нет полных данных и об особенностях структуры генетического аппарата возбудителей сапронозов и сапрозоонозов, поскольку длительная адаптация последних к организму теплокровных и окружающей среде не могла не отложить отпечаток на генетический аппарат бактериальной клетки и на формирование генетико-биохимических механизмов, которые и определяют возможность закономерного существования бактерий в разных условиях обитания.

ГЛАВА 2. ПОЧВА КАК СРЕДА ОБИТАНИЯ ДЛЯ ПАТОГЕННЫХ БАКТЕРИЙ

2. 1. Характеристика органо-минерального комплекса – структурной единицы почвы

Почва – обязательный компонент любого биогеоценоза – среда обитания множества микроорганизмов – растительных и животных. По современным представлениям почва является открытой, саморегулирующейся системой, которая имеет свою структуру и состоит из твердой, жидкой, газовой фаз и биоты (или живая фаза). Как составная часть биогеоценоза почва обменивается с его основными компонентами потоками энергии и вещества (Бабьева, Зенова, 1989).

Современное почвоведение рассматривает почву как биокостную субстанцию, которая образует на поверхности Земли самостоятельную оболочку – педосферу, играющую огромную роль в жизни наземных биогеоценозов и биосферы Земли в целом. Прежде всего, почва выступает как физическая среда обитания микроорганизмов. Она представляет собой многофазную органоинеральную систему, состоящую из неоднородных по размерам и свойствам частиц: от мельчайших глинистых (менее 0,001 мм) до микроагрегатов диаметром 2 мм. Совокупности микроагрегатов образуют макроагрегаты и крупницы, а в природной ненарушенной почве крупницы объединяются в агрегат большого размера – педосферу (Агрочвоведение, 1994).

Почвы содержат огромное количество и разнообразие микроорганизмов (Звягинцев, 1987). Существование почвы без микробов невозможно. Разные типы почв, как среды обитания микроорганизмов различаются между собой, меняются во времени и в пространстве. Наличие развитой твердой фазы в виде минеральной и органической части делает почву средой, резко отличной от природных вод, где часто не хватает минеральных элементов, необходимых для

развития микроорганизмов, в первую очередь фосфора. Хотя минеральные вещества и могут выступать в качестве лимитирующего фактора для развития растений и микроорганизмов, такого дефицита этих веществ, как в природных водах, в почвах почти никогда не бывает (Звягинцев, 1987). Почва представляет собой не единую среду обитания, а является системой множества микро- и мезосред обитания с совершенно различными условиями. По микробному разнообразию это самая богатая среда обитания по сравнению с другими естественными средами такими, как природные воды, геологические отложения, силос, рубец жвачных животных, кишечник, молочные продукты (Звягинцев, 1987).

Клетки микробов имеют микроскопические размеры, и средой их обитания является микросреда. Сотни и тысячи таких микросред сосредоточены в каждой граммe почвы (Андреюк, Валагурова, 1992). Таким образом, почва – это комплекс одновременно существующих, но совершенно различных микросред. Если учесть, что передвижение микроорганизмов в почве затруднено, то оказывается, что почвенные микроорганизмы находятся в среде с очень изменчивыми условиями и неравномерным режимом.

Развитие микроорганизмов на поверхности агрегатов возможно в следующих микроразонах: в объеме почвенного раствора, в пленочной воде, в капиллярах. Они могут развиваться в микроскоплениях органического вещества (разлагающийся корешок или беспозвоночное животное). Внутри агрегатов микробы могут находиться в более мелких капиллярах и в пленках с другим составом почвенного раствора и газовой среды, чем на поверхности агрегатов. Они могут находиться на поверхности пространств с заземленным почвенным воздухом, в непроточных капиллярах, а также быть запертыми в органо-минеральном геле (Звягинцев, 1987).

Д.Г. Звягинцевым (1987) показано, что жизнедеятельность микроорганизмов в почвах протекает в соответствии с определенными принципами: множественного лимитирования, дублирования и обратимости

микробиологических процессов. Так, в почве почти всегда наблюдается лимитирование по нескольким или множеству факторов. Наряду с микрizonaми с достаточным запасом питательных веществ в почве всегда имеются микрizonaы с недостатком одного или нескольких элементов, органического вещества. Поэтому внесение в почву недостающих веществ вызывает ответную реакцию микроорганизмов, выражающуюся в активизации их развития.

Почва – не только физическая среда обитания микроорганизмов. Она является также источником элементов питания, стимулятором и ингибитором биохимических процессов. Разлагающиеся скопления органического вещества (лесная подстилка, степной войлок, мертвые корни растений и другие растительные и животные остатки) близки к условиям питательных лабораторных сред. Здесь развитие микроорганизмов идет по другим законам, чем на поверхности почвенных частиц, связь с минеральной частью почвы гораздо меньше. Значительно сложнее выглядит почвенная микро- и мезозональность при наличии в почве живых растений и животных. Особенно большое значение имеет ризоплана и частично ризосфера, где микроорганизмы развиваются за счет корневых выделений и корневого опада. Роль узкой группы микроорганизмов, образующих определенный антибиотик или токсин, может непропорционально возрастать, если образуемое физиологически активное вещество имеет важное экологическое значение (Андреюк, Валагурова, 1992; Заварзин, 2002).

Микробиоценоз почвы является одним из самых сложных биологических сообществ. Вопрос о механизме регуляции жизнедеятельности микроорганизмов в ней до сих пор остается одной из центральных проблем в почвенной микробиологии (Богоев, Гилиманов, 1982). Почва является многофакторной системой с множеством разнообразных видов и связей между ними, что обуславливает большую сложность изучения всех компонентов микробной экосистемы. По мере усиления почвообразовательного процесса происходит обогащение микробного сообщества разнообразными видами, что

находится в полном соответствии с указанием Н.С. Абросова с соавторами (1982) о том, что в бедных биотопах конкуренция приводит к вытеснению одного из конкурентов, в тоже время как в более богатых биотопах конкурирующие виды сосуществуют.

Почва является гетерогенной средой с высокой динамичностью физико-химических процессов, содержащей множество веществ - продуктов распада и синтеза. Это обуславливает сосуществование микроорганизмов с различным спектром питания, а преобладание микроорганизмов гетеротрофного питания является характерной чертой микробоценоза почвы (Работнова, Позмогова, 1993). В зависимости от характера и скорости поступления питательных компонентов в почве доминируют те или иные виды, вызывая определенные физиолого-биохимические процессы (Тен Хак Мун, Кондратьева, и др., 1981). Почвенная микрофлора динамична, составляющие ее смешанные популяции микроорганизмов постоянно изменяются в зависимости от экологических факторов и объединяются по типам жизнедеятельности в группы. Между отдельными представителями микрофлоры, а также группами микроорганизмов возникают сложные экологические взаимоотношения.

Безусловно, в такой сложной биокосной системе как почва, процессы размножения бактерий не могут зависеть от наличия только одного фактора. Динамика численности микроорганизмов представляет собой процесс, обусловленный с одной стороны, микробными взаимоотношениями, имеющими место в почве (регулирующие факторы), с другой стороны свойствами самой почвы и влиянием таких модифицирующих факторов, как температура, влажность, наличие питательных веществ. Совокупное действие модифицирующих и регулирующих факторов определяет сложность происходящих в почве изменений численности микроорганизмов. Но, тем не менее, изучение влияния отдельных факторов на размножение бактерий в почве является немаловажным, так как способствует познанию механизмов этого явления.

В этой связи вызывают несомненный интерес некоторые специфические соединения, присутствующие в почве, которые активизируют процессы размножения микроорганизмов. Значительная роль при этом, наряду с другими факторами, отводится органо-минеральным компонентам почвы, так называемым глино-гумусовым мицеллам, которые, как подтвердили исследования последних лет, обладают способностью катализировать как биохимические процессы в почве, так и метаболические реакции почвенных микроорганизмов (Зенова и др., 1983; Литвин, 1976; Польшников, 1982; Поманская, 1963). С целью изучения влияния глино-гумусовых комплексов на процессы размножения патогенных бактерий, мы сочли необходимым охарактеризовать их структуры и свойства более подробно.

В современной литературе большинство авторов выделяют такие глино-гумусовые комплексы в особый класс соединений – аржиллиты (Зенова и др., 1983; Литвин, 1976). Глина и гумус в этих образованиях вступают в тесное взаимодействие и представляют собой довольно крупные мицеллы. Поверхность каждой такой сложной частицы имеет многочисленные отрицательно заряженные участки, которые притягивают положительно заряженные ионы - кальция, магния, калия и таким образом удерживают их на поверхности мицеллы (рис. 2.1) (Митько, 1990). Следует подчеркнуть, что до настоящего времени вопрос о характере связи гумусовых веществ с глинистыми минералами в мицеллах остается неясным.

Некоторые авторы допускают возможность образования таких комплексов с участием обменных катионов: кальция, магния, алюминия (Айзенман и др, 1984; Звягинцев, 1979; Соболева, 1961).

При этом они считают возможным проникновение гумусовых веществ в межплоскостное пространство кристаллической решетки глинистых минералов. Однако, Л.Н. Александрова (1980) отвергает это предположение, основываясь на том, что гуминовые кислоты имеют сферическую форму молекул, диаметр

которых превышает межплоскостные расстояния кристаллической решетки глинистых минералов.

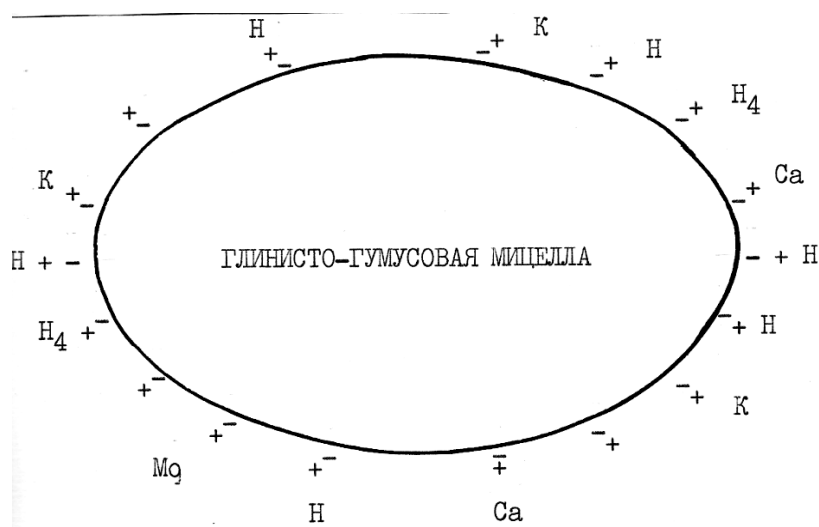


Рис. 2.1. Схематическое изображение глинисто-гумусового комплекса.

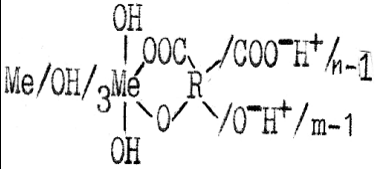
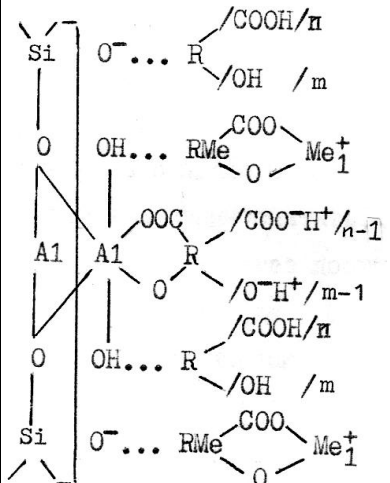
По мнению автора, образование прочных глино-гумусовых комплексов в почве происходит при участии полутороокисей, которые являются своеобразными мостиками между гумусовыми веществами и кристаллической решеткой глинистых минералов (табл. 2.1).

И.Д. Комиссаров (1971) показал наличие тесного взаимодействия органической и минеральной составляющей аргиллитов, установив алюмосиликатный характер минеральных включений гуминовых кислот. По данным автора в золе гуминовых кислот преобладали кремний (42%), алюминий (17,5 %) и в меньшем количестве содержались железо, кальций, магний (до 12 %).

Наличие глино-гумусовых комплексов в любых почвах составляет до 50 % от общего содержания гумуса. Эта сложная система органо-минеральных коллоидов довольно устойчива и является относительно стабильной (Кононова, 1970; Орлов и др., 1969; Переверзев, 1987).

Таблица 2.1.

Основные компоненты органо-минеральных коллоидов в почвах (по Л.Н.Александровой, 1980)

Типы органо-минеральных производных	Главнейшие представители	Вероятные формы связи	Схема строения	Устойчивость	Формы нахождения в почве
Гетерополярные соли	свободные гуматы и фульваты	ионная	$R \begin{cases} /COO^-Me_1^+/n \\ /O^-Me_1^+/m \end{cases} ,$ $Me_1-Ca^{2+}, Mg^{2+}, Na^+, K^+, NH_4^+$	легко меняют состав катионов за счет обменных реакций	ассоциаты и микроагрегаты в порах, пленки на поверхности коллоидных и более грубых частиц почвы
Сорбционные комплексы	алюмо-и железогумусовые комплексы	Хемосорбционная		разрушаются при кислой реакции /рН 3/	Свободные коллоидные частицы, микроагрегаты в порах, пленки на поверхности грубых частиц почвы
	Глиногумусовые комплексы групп монтмориллонита гидрослюда, каолинита и др. алюмосиликатов	Хемосорбционная(-) адгезионная (...)		разрушаются при длительном воздействии растворов с кислой и щелочной реакцией	то же

Так, согласно гипотезе М.И. Дергачевой и И.М. Гаджиева (1989), которые обозначают глино-гумусовые комплексы как минерально-органические матрицы, последние постоянно воспроизводят гумусовые вещества по мере разрушения их микроорганизмами или деструкции в процессе биогеохимических реакций. По мнению указанных авторов минерально-органические матрицы являются уникальными образованиями и не имеют себе аналогов в природе. Другая точка зрения сводится к тому, что подобные комплексы построены по аналогии с такими амфотерными органическими соединениями, какими являются аминокислоты. Основанием к этому заключению является наличие большого набора активных центров (кислотных и основных) на поверхности мицеллы (Мдивнишвили, Уридия, 1980).

Известны оригинальные взгляды Е.П. Троицкого (1949), который сравнивал глино-гумусовые комплексы, включающие в свой состав органическую и неорганическую части, с ферментной частицей, выступающей в роли катализаторов биохимических процессов в почве.

Необходимо подчеркнуть, что активными свойствами может обладать не только вся мицелла в целом, но и каждая из частей органо-минерального комплекса.

Существуют многочисленные данные по использованию гумусовых кислот в качестве стимуляторов роста растений (Комиссаров и др., 1971; Комиссаров, Логинов, 1971; Кононова, 1963). Также отмечена корреляционная связь между составом и свойствами микроорганизмов в естественной среде обитания (Орлов, 1974).

Тем не менее, однозначной оценки влияния гумусовых веществ на процессы размножения микробов в почве в настоящее время не существует. Большинство авторов склонны считать, что гумусовые вещества используются бактериями в качестве доступного источника питания, что и активизирует их размножение (Кононова, 1963; Орлов, 1974; Flaig, 1971). Наряду с этим существует мнение, что увеличению биомассы микробов способствует участие

гумусовых веществ в оптимизации биохимических процессов в почве, так как они оказывают значительное влияние на состав и подвижность катионов среды (Cailler, Veser, 1988), ее окислительно-восстановительный потенциал (Орлов, 1974), что улучшает условия минерального питания микроорганизмов (Cailler, Veser, 1988; Grosovsky, 1982).

Не менее важное значение для существования микробов в почве имеют глинистые минералы, входящие в состав глино-гумусовых комплексов. Они нейтрализуют избыток карбоксильных групп в органических соединениях, освобождающихся в процессе образования гумуса в почве, предотвращая тем самым накопление кислого гумуса, который не используется микроорганизмами. Поэтому для качества гумуса и быстроты его переработки микробами решающее значение имеет наличие глинистых минералов (Шлегель, 1987).

Следует отметить, что глинистые минералы, или, как их принято называть, алюмосиликаты, составляют основную минеральную часть почв, принимая активное участие в структурообразовании последних (Вернадский, 1934). Кроме того, они также являются естественными катализаторами биохимических процессов (Виноградский, 1952; Добровольский, 1988; Криволицкий, Покаржевский, 1986).

Так, присутствие алюмосиликатов в почве способствует быстрому разложению растительных остатков (Navakova, Habetin, 1984) путем усиления ферментативных процессов (Garsia, Feller, 1981; Graham-Weiss, 1987).

В силу своих разносторонних свойств адсорбционные (обменные, каталитические) силикатные минералы сравнительно легко вступают во взаимодействие с различными микроорганизмами (Кононова и др, 1964; Siqueira, Cartro, 1982) и способны влиять на динамику размножения бактерий (Navarre, Durand, 1981; Navakova, Habetin, 1984). Л.И. Глоба (1983), J. Novakova (1968) отмечают каталитическое действие большинства алюмосиликатов (бентонита, каолинита, полыгорскита) на процессы размножения микробов,

подчеркивая, тем не менее, различия в эффективности действия каждого из них (Добровольский, 1988; Marchman, Marshall, 1981; Stotzky, Rem, 1966).

Наиболее активными в этом плане являются минералы монтмориллонитовой группы, которые, как отмечают большинство исследователей, широко распространены в почве (Орлов, 1974; Cormick, Wolf, 1979; Graham-Weiss, 1987; Marchman, Marshall, 1981a) по сравнению с другими алюмосиликатами.

Различия между минералами обусловлены индивидуальными особенностями их кристаллических структур, что существенно влияет, прежде всего, на величину площади поверхности частиц и катионообменную способность алюмосиликатов (Комаров, 1977; Stotzky, Rem, 1967). Так, каолинит, польгорскит, галуазит $[Al_2O_3 \times 2SiO_2 \times 2H_2O]$ близки по составу и не обладают изменяющимся по объему межслоевым пространством в кристаллической решетке минерала. Это обеспечивает им невысокую поверхностную активность и катионообменную емкость по сравнению, например, с монтмориллонитом (Глоба и др., 1983; Куковский, 1966; Эйриш и др., 1980). Последний в силу своих исключительных свойств способен образовывать довольно прочные соединения с гумусовыми кислотами.

Так, Д.В. Хан (1950) экспериментально доказал, что монтмориллониты (бентонит, аскангель) обладают большей поглотительной способностью в отношении гумусовых кислот по сравнению с другими минералами и образуют с ними довольно устойчивые органо-минеральные соединения. Кроме того, монтмориллониты активно адсорбируют на своей поверхности аминокислоты (Звягинцев, Великанов, 1968), пептиды (Воронков и др., 1978), а также целые микробные клетки (Звягинцев, 1973; Buscke, 1986; Glaus et al., 1958).

Находясь в состоянии иммобилизации на глинистых частицах, бактерии обильно снабжаются, помимо микроэлементов, органическими веществами, которые образуются в результате гетерогенного катализа на поверхности минералов. Подобное взаимодействие микроорганизмов с монтмориллонитом

позволяет последнему положительно влиять на рост и динамику размножения культур (Hider et al., 1970).

2.2. Почвенные ценозы – резервуар патогенных бактерий – возбудителей сапрозоонозов

Тип и состояние почвы играют огромную роль в выживаемости патогенных микробов. Почвы резко различаются между собой по запасу органического вещества и элементов минерального питания, реакции среды, гранулометрическому составу, микробным ассоциациям и т. д. Все это в большей или меньшей степени сказывается на судьбе патогенной микрофлоры, попадающей в почву.

Знание характера и механизмов взаимодействий микроорганизмов позволит указать пути прогнозирования и управления их численностью в микробных ценозах почв, а также создать условия, способствующие самоочищению почвы от патогенной микрофлоры.

Вопрос о существовании патогенных микробов в окружающей среде представляет большой интерес, как для теории, так и для практики медицинской микробиологии и эпидемиологии. Выдвинутая в 1958 году В.И. Терских концепция сапронозов как болезней, резервуаром возбудителей которых является окружающая среда, в последние годы получила фактическое подтверждение. К настоящему времени накоплено уже достаточное количество данных, свидетельствующих о длительном обитании в окружающей среде довольно широкого круга возбудителей инфекционных болезней: *Leptospira interrogans*, *Yersinia pseudotuberculosis*, *E. enterocolitica*, *Listeria monocytogenes*, *Legionella pneumophila* (Гершун, 1980; Гершун, 1971; Головачева, 1966; Головачева, 1978; Зайцев, 1979; Тартаковский, Прозоровский, 1988; Хан, 1950; Bozigevich et al., 1960; Rowbotham, 1980). Это демонстрирует их чрезвычайно высокую экологическую пластичность, обеспечивающую сохранение популяций

при обитании в столь различных условиях как организм теплокровных животных и объекты окружающей среды.

Важнейшим объектом окружающей среды, выполняющим резервуарную функцию для ряда патогенных бактерий, является почва вследствие наличия в ней большого разнообразия органических и минеральных веществ в сочетании с благоприятным влиянием абиотических факторов (температура, pH, влажность). По словам Э. Пианки (1981) – «почва - это место, где происходит реальное взаимодействие неорганического и органического мира. В почве живут многие организмы, которые играют главную роль в измельчении крупных органических остатков, благодаря чему создается большая поверхность для деятельности бактерий».

В незагрязненных почвах содержатся лишь единичные виды микроорганизмов, способных вызывать заболевания у людей и животных. То же самое можно сказать и в отношении возбудителей болезней у растений. Однако, в реальной обстановке в почву регулярно поступают разного рода отбросы и органические удобрения, содержащие представителей патогенной микрофлоры, например, навоз, фекалии, которые часто бывают заражены болезнетворными микроорганизмами. Известную опасность представляют навоз, компосты, торфофекальные удобрения, хозяйственные отбросы, сточная жидкость. При их использовании должны соблюдаться определенные санитарно-гигиенические нормативы (Мишустин, Перцовская и др., 1979).

При применении в сельском хозяйстве сточных вод существует опасность контаминации их возбудителями ряда заболеваний (Мишустин, Перцовская, 1954; Мишустин, Перцовская и др., 1979). Загрязненный патогенной микрофлорой почвенный покров может способствовать распространению болезней в случае употребления в пищу людьми или животными в сыром виде сельскохозяйственной продукции, создавая пылевую инфекцию, повышая роль мушиного фактора. В детских учреждениях опасность заражения существует и от не опосредованного контакта детей с почвой во время игр.

Определенную роль играет инфицированная почва в животноводстве. В настоящее время можно считать доказанным, что загрязненные пастбища и стойловые помещения создают опасные очаги возбудителей болезней. Борьба с такими заболеваниями, как листериоз, иерсиниоз, бруцеллез, сибирская язва и другими не может успешно протекать при игнорировании почвы как эпизоотического фактора (Беляков, Литвин и др., 1994). Загрязнение почвы как источника заболеваний очевидно. Их возбудители попадают в почву с запахируемыми в нее растительными остатками, при внесении компостов (Мишустин, Перцовская, 1954).

Таким образом, почвы населенных пунктов, животноводческого комплекса и прилегающей к ним территории в той или иной степени могут быть загрязнены представителями патогенной микрофлоры. Основная масса патогенных микроорганизмов не находит в почве достаточно удовлетворительных условий для существования и постепенно погибает. К подобным микроорганизмам могут быть отнесены брюшнотифозная и дизентерийная палочки, возбудитель бруцеллеза, холеры. Однако скорость гибели отдельных представителей болезнетворной микрофлоры неодинакова; в этом и проявляются их индивидуальные особенности (Работнова, Позмогова, 1994).

К болезнетворным бактериям, относительно долго выживающим в почвах и обезвреживаемых отбросах, относятся возбудители столбняка, сибирской язвы, газовой гангрены, псевдотуберкулеза, листериоза. Сюда же можно присоединить некоторые фитопатогенные актиномицеты, бактерии и грибы (Мишустин, Перцовская, 1954). Целенаправленные исследования по изучению роли почвы в сапрофитическом существовании патогенных бактерий выполнены для псевдотуберкулезного микроба и, в меньшем объеме, для лептоспир, листерий, сибиреязвенного микроба.

По данным В.И. Гершун (1971, 1980) концентрация листерий в зараженных черноземах возрастала за 4-10 суток в 1200-4000 раз. Длительное обитание и

размножение листерий в почве подтверждено экспериментами R. Botzeler et al (1974), которые считают почву резервуаром листерий в природе. Возбудитель лептоспирозов - *Leptospira interrogans* также длительное время может существовать в почве. В лабораторных экспериментах G. Smith, L. Turner (1961) лептоспиры ряда серогрупп обнаруживались в почве до 152 суток. В естественных условиях природного очага было установлено, что лептоспиры серогруппы *Criptomphosa* существовали в почве свыше 9 месяцев после внесения, сохранив вирулентность (Зайцев, 1979). Возможность длительного существования лептоспир в почве подтверждается работами Е.В. Карасевой с соавторами (1976), М.В. Голубева, В.Ю. Литвина (1983), Н.А. Максименковой, Л.О. Карпачевского (1985), Ю.Г. Чернухи, Ю.Г. Зайцева (1988).

Результаты исследований, проведенных С.В. Зайцевым, Ю.Г. Чернухой (1988), свидетельствуют о том, что длительность сохранения жизнеспособности лептоспир, выделяемых с мочой зараженных лептоспирозом мышей, зависела от исследуемых серогрупп и варьировала от 74 суток у серогруппы *Pomona* до 279 суток у серогруппы *Griptomphosa*. При этом авторы подчеркивают, что выделенные культуры возбудителей лептоспироза не изменяли своих антигенных и патогенных свойств при длительном пребывании в почве.

Эксперименты по выживаемости лептоспир в почве были выполнены рядом исследователей (Чернуха, Зайцев, 1975; Карасева, Чернуха и др., 1976, Голубев, 1983; Голубев, Литвин, 1983а, б) в естественных условиях природного очага инфекции. Они свидетельствуют, что большая часть попадающих в почву лептоспир не выживает, но оставшиеся в живых особи сохраняются и переходят к сапрофитному существованию в почве, и регистрируются как через несколько суток (Голубев, Литвин, 1983б), так и через несколько месяцев (Карасева, Зайцев и др., 1984). Авторы полагают, что именно оставшаяся часть популяции обеспечивала сохранение бактерий в природном очаге – почве.

В.М. Шарапов (1988) особое внимание в своих исследованиях обращает на условия существования в почве патогенных грибов. На основании изучения

большого фактического материала он приходит к выводу, что для большинства видов грибов, вызывающих инфекционные заболевания у человека (гистоплазмоз, криптококкоз, бластомикоз, кандидоз), почва является естественной средой обитания.

Еще в конце прошлого столетия была отмечена зараженность почвы столбнячной палочкой *Clostridium tetani*. Экспериментально было показано, что на жизнеспособность клостридий оказывают влияние химические свойства почв (Рудиченко, Касьяненко и др., 1984), гидротермический режим (Чумаченко, 1969), сезонность (Волкова, 1968).

Установлено, что регистрируемые максимальные сроки высеваемости возбудителя газовой гангрены *Clostridium perfringes* из экспериментально зараженных почв – от шести месяцев (Польников, 1982) до трех лет (срок наблюдения) (Соболева, 1961, 1963). В разные годы исследований была выявлена коррелятивная связь между заболеваемостью людей газовой гангреной и обсемененностью почв клостридиями (Сегаль, Сахновская, 1957; Матвеев, Соловьев и др., 1957; Быченко, 1970; Сергеева, 1971).

Длительность существования возбудителя сибирской язвы в объектах окружающей среды неопределенно велика. Описано выделение вирулентных штаммов сибиреязвенного микроба из почвы скотомогильников 50-летней давности (Шпаченко, Антонюк, 1983). Установлено, что сибиреязвенный микроб в естественных условиях оказался способным вегетировать в почве, и осуществлять многократный биологический цикл: «спора – вегетативная клетка - вегетативная клетка – спора» (Сорокин, Родзиковский, 1986).

Listeria monocytogenes - возбудитель листериоза в экспериментальных лабораторных исследованиях выделялся из почвы в течение 6-12 месяцев (Гершун, 1971, 1980; Головачева, 1978). Опытным путем доказаны высокие темпы размножения листерий в почве: при температуре 18-20⁰С за 6 суток их концентрация возрастала в 1500-3000 раз (Поманская, 1963; Слизко, 1959; Seeliger, 1955).

В литературе также встречается довольно много сведений о сохранении и размножении в почве бактерий сем. Enterobacteriaceae. Наиболее изученными в этом плане являются иерсинии. Г.П. Сомов с сотр. (1985) экспериментально доказали возможность активного размножения псевдотуберкулезного микроба в почве. В.Я. Головачева (1966, 1978), при искусственном заражении почв культурами этого вида микробов, выделяла возбудитель из стерильной почвы в течение 10,5 лет, а из нестерильной - 311 суток (срок наблюдения). По данным В.В. Колесниковой (1986) при 10⁰С псевдотуберкулезный микроб активно размножается как в стерильной, так и в нестерильной почве, при этом его численность через 21-28 суток в первом случае возрастала в 10 раз, а во втором - в 2,5 раза. Микроб сохранялся в этих условиях в почве на протяжении 3-х лет (срок наблюдения).

Описана меньшая устойчивость *Y. enterocolitica* во внешней среде по сравнению с псевдотуберкулезным микробом (Splino et al., 1987). Наряду с этим есть указание Г.И. Ващенко с сотр. (1983) на гораздо большую частоту обнаружения в почве *Y. enterocolitica*, чем *Y. pseudotuberculosis*. Естественное инфицирование кишечными иерсиниями воды рек, почвы неоднократно установлено G.P. Jansen, T.N. Saari (1979), L. Vodnar et al (1980). Несмотря на дискуссионность вопроса о роли почвы в сохранении чумного микроба, известны экспериментальные работы по этому поводу. Так, А.В.Васильев (1970) при искусственном заражении почв этой культурой выделял возбудитель чумы из стерильной и не стерильной почвы в течение 30 суток. Л.А. Тимофеева с соавт. (1963) экспериментально показали выживаемость *Y. pestis* в садовой стерильной почве - 465, а в нестерильной - 360 дней. В опытах, проводимых Э.И. Клец и З.И. Щекуновой (1961) удавалось выделять чумной микроб из стерильной почвы в течение 1700 дней, при этом микроб сохранял свои свойства, в том числе и вирулентность. И.В. Домарадский с соавт. (1968) экспериментально установили возможность размножения чумного микроба в нестерильной почве.

По данным литературы некоторые энтеробактерии сохраняют жизнестойкость в широком диапазоне абиотических факторов внешней среды и регулярно выделяются из почвы. Длительное выживание сальмонелл при искусственном заражении почвы (Максименкова, Корпачевский, 1985; Меньш, 1974; Тарков и др., 1972; Platz, 1980; Tabbjebakhche, Nasari, 1974) описывали М.И. Тарков с соавторами (1972), А.Ф.Меньш (1974), Н. Tabijebekher et A. Nasari (1974), Ф.Н. Исраилов (1984); шигелл - Y.Leonardopulos с соавторами (1980).

На основании рассмотренных данных можно сделать заключение, что патогенные бактерии, относящиеся к факультативным паразитам, могут длительно обитать и размножаться в почвенных экосистемах, которые являются резервуаром возбудителей. И чаще всего именно почва является резервуаром возбудителей листериозной и псевдотуберкулезной инфекций, о чем более подробно будет рассмотрено в нижеследующих главах.

2. 3. Экологическая толерантность возбудителей сапрозоонозов

С течением времени было накоплено большое количество фактов, свидетельствующих о принципиальной возможности сапрофитного существования патогенных микроорганизмов в объектах окружающей среды. Особенный интерес в этом плане вызывают возбудители инфекционных болезней, которые длительно выживают в почве и воде. Для таких инфекций утвердился термин сапрозоонозы. Жизненная программа таких микроорганизмов состоит в непрерывном переходе из окружающей среды в организм теплокровных животных и человека, где они ведут паразитический образ жизни, и возвращении в окружающую среду, где они функционируют как сапрофиты (Сомов, 1974, 1976а, б; Сомов, Литвин, 1988; Сомов, Варвашевич, и др., 1991). Наличие этих двух сред (теплокровный организм и внешняя среда), между которыми происходит регулярный или периодический обмен части

популяции, обеспечивает сохранение в природе сапрозоонозного микроорганизма как биологического вида.

Появляется все больше оснований считать, что эпидемические варианты возбудителей инфекций могут формироваться не только при циркуляции среди людей или теплокровных животных, но и применительно к сапронозам в объектах внешней среды, в частности, в почвах. (Литвин, Пушкарева, 1994).

Есть данные о прямом воздействии абиотических факторов на вирулентность бактерий. Так, большой цикл исследований, выполненных Г.П. Сомовым с сотрудниками (1991), убедительно доказал возрастание ряда факторов патогенности (включая устойчивость к фагоцитозу) у псевдотуберкулезных и других психротрофных бактерий под непосредственным влиянием низких температур.

Г.П. Сомов (1991) выделяет основные моменты, объединяющие разнообразие микроорганизмов, входящих в группу сапронозов:

1. Поскольку это возбудители заболеваний, то естественно, что одной из экологических ниш этих бактерий является теплокровный организм человека и животных.

2. Установлено, что некоторые патогенные бактерии помимо теплокровного организма способны существовать и во внешней среде. При этом возбудители наиболее типичных сапронозов имеют необычно широкий круг самых разнообразных хозяев, между которыми трудно обнаружить какое-либо родство, и которых, подчас, объединяет лишь обитание там, где существует возбудитель инфекции.

Разнообразие сред обитания, освоенных листериями и иерсиниями обширное: теплокровный организм, почва, природные водоемы, гидробионты и рыбы, простейшие, растения. Рассмотрим некоторые из них более подробно.

Теплокровный организм. Огромное число микроорганизмов населяет организм человека и животного, находясь с ними в различных симбиотических отношениях - от взаимовыгодных (мутуализм) до антагонистических

(паразитизм). Из всего разнообразия симбиотических отношений между организмами и их хозяевами паразитизм выделяется более или менее выраженными патогенными свойствами, и потому именно паразитическое существование микроорганизмов - причина инфекционной патологии человека и животных (Сомов, Литвин, 1988).

Псевдотуберкулез - острое инфекционное заболевание, вызываемое бактерией *Yersinia pseudotuberculosis*. Оно характеризуется лихорадкой, общей интоксикацией, экзантемой и преимущественным поражением желудочно-кишечного тракта, печени и суставов (Тимченко, 1972, 1986; Сомов, Варвашевич, 1991).

До 1953 года псевдотуберкулез у людей регистрировался в виде единичных заболеваний, большинство которых заканчивались летально при разных появлениях патологического процесса - септические, тифоидные заболевания, легочный туберкулез, спленомегалия (Тумановский, 1958; Knapp, 1959).

В естественных условиях возбудитель псевдотуберкулеза существует как паразит грызунов (Ющенко, 1990). В настоящее время он зарегистрирован у 29 видов грызунов, обитающих как в дикой природе, так и в условиях городских поселений. В природных биотопах, удаленных от поселений человека, псевдотуберкулезная инфекция зарегистрирована среди обыкновенных полевых мышей (Сомов, Литвин, 1988). В некоторых странах довольно часто псевдотуберкулез регистрируется у зайцев. Кроме грызунов, в очагах псевдотуберкулез регистрируется у кошек, крупного и мелкого рогатого скота, у некоторых диких животных, содержащихся в питомниках и зоопарках (Елкин, 1960).

Специальными эпидемиологическими наблюдениями показано, что псевдотуберкулез относится к неконтагиозным инфекциям и заражение человека от человека не происходит (Рожкова, 1974).

Псевдотуберкулез выделяется из органов и фекалий огромного числа теплокровных (млекопитающих, птиц). Широкая инфицированность им столь

большого количества представителей животного мира позволяет предполагать, что ни один из них не является специфическим биологическим хозяином этого возбудителя. Это свидетельствует лишь о том, что при убиквитарном распространении его в окружающей среде, все виды животных вовлекаются во всеобщий процесс циркуляции микроба в природе, и в зависимости от чувствительности к нему, служат более или менее длительным резервуаром возбудителя в природе (Сомов, Варвашевич, 1991).

Листерииоз - инфекционная болезнь человека и животных, проявляющаяся в виде септицемии и поражения центральной нервной системы.

У человека, наряду с тяжелым клиническим течением, часто заканчивающимся летальным исходом, отмечаются легкие и стертые формы и бактерионосительство. У животных заболевание протекает в виде септицемии с поражением центральной нервной системы и проявляется абортами, метритами, маститами и часто приводит к бесплодию.

Листерииоз широко распространен среди сельскохозяйственных и домашних животных. К настоящему времени известно, что он поражает 12 видов сельскохозяйственных и домашних животных и 91 вид диких (Гершун, 1981). В естественных условиях листериозом болеют крупный и мелкий скот, лошади, кролики, грызуны, куры и голуби.

По данным В.И. Гершуна (1981), листериоз сельскохозяйственных животных зарегистрирован в 27 областях и краях Российской Федерации. По данным В.И. Бакулова с сотрудниками (1991), в СНГ за период с 1956 по 1964 гг. среди всех овцеводческих хозяйств 68,8% животных были поражены листериозом. Считается, что человек заражается листериозом от больных грызунов, свиней, овец, лошадей. Полагают, что возбудитель проникает в организм через поврежденные кожные покровы, слизистые оболочки ротовой полости, носоглотки, конъюнктивы, пищеварительного тракта.

Таким образом, одной из экологических ниш существования возбудителей сапрозоонозных инфекций является организм теплокровных. Иными словами,

диапазон их экологической толерантности включает в себя и условия существования в паразитической фазе. Г.П. Сомов и В.Ю. Литвин (1988) предполагают, что при переходе от свободно живущего существования к паразитическому возбудители типичных сапронозов оказываются способными использовать организм как среду обитания именно в силу своих экологических возможностей и физиологической универсальности, а не благодаря глубокой специализации к паразитическому образу жизни.

Природные водоемы. Важное экологическое значение для псевдотуберкулезного микроба имеет вода, в которой он способен размножаться и длительно существовать. Описаны крупные вспышки Дальневосточной скарлатиноподобной лихорадки (псевдотуберкулез человека), при которых, по эпидемиологическим данным, только вода могла быть источником заражения людей (Лебедев, Шапиро и др., 1964; Сомов, 1976а, 1976б). Псевдотуберкулезный микроб выделяется из воды открытых водоемов и колодцев (Лазарев, Краснов и др., 1969; Федоров, Бунин, 1971; Кузнецов, 1976).

Наиболее обстоятельные исследования в этом направлении проведены В.Г. Кузнецовым (1983). С 1976 по 1981 гг. исследовано 2079 проб воды из различных источников (реки, озера, колодцы, водопроводы, сточные воды); штаммы псевдотуберкулезного микроба выделены из $0,6 \pm 0,2\%$ проб. Из колодезной воды они выделены в $1,04 \pm 0,1\%$. Автор указывает, что наиболее часто псевдотуберкулезный микроб, как и другие виды иерсиний, встречаются в холодных источниках (колодцах, озерах и реках) в холодный период года. Эти водоемы он рассматривает как природную среду обитания иерсиний.

Листерии, также хорошо выживают и размножаются в воде. По данным А.А. Поманской (1962), в прудовой воде листерии выживали 737 суток (срок наблюдения), причем при низких температурах ($2-5^{\circ}\text{C}$). Концентрация листерий в речной и прудовой воде при 5°C возрастала за 1-2 недели в 500-900 раз. В.И. Гершун (1979а, 1981) указывает, что наиболее длительное сохранение и размножение листерий в воде наблюдалось при температуре 4°C . Увеличение

жизнеспособности листерий с понижением температуры от 37 °С до 4 °С отмечено и в других экспериментах (Shahamat et al., 1980). Описано широкое распространение листерий в сточных водах, речной, озерной воде, иле (Dijkstra, 1989) и их преобладание, как по численности, так и по жизнеспособности (Watkins, Sleath, 1981). При обитании в сточных водах наибольшая концентрация листерий наблюдалась в осадке (Geuenich, Muller, 1984).

Растения. Постановка вопроса о патогенных бактериях, общих для человека и растений, имеет не меньше оснований, чем ставшая привычной - о возбудителях (болезнях), общих для человека и животных. Эпидемиологическая и эпизоотическая актуальность его несомненны, учитывая роль овощных культур в заболеваемости иерсиниозом, листериозом и другими инфекциями (Rosset, 1990), и роль кормов в инфицировании скота (Сомов, Литвин, 1988; Литвин, 1991, 1992).

Изучение эпидемиологии инфекций и экологии *Y. pseudotuberculosis* и *Y. enterocolitica* привело к анализу их связей с растениями. Обитая в почве полей, возбудитель псевдотуберкулеза неоднократно регистрировался в овощах и корнеплодах (особенно в ризосфере) с этих полей (Кузнецов, Раковский и др., 1975; Сомов, Литвин, 1988).

По данным В.Г. Кузнецова (1990), регулярно отмечается возрастание инфицированности овощей в процессе хранения, даже при отсутствии грызунов. Опираясь на факты одинаковой инфицированности овощей, как при наличии зараженных грызунов, так и в их отсутствии, автор пришел к принципиально важному выводу, что грызуны сами заражаются, поедая овощи, инфицированные иерсиниями.

Экспериментально доказано активное размножение и многомесячное существование иерсиний на овощах и капустном соке (Рожкова, 1974), выявлен хемотаксис иерсиний к сокам ряда овощей (Беседнов, Венедиктов, 1986). Эксперименты на культурах растительных клеток (Венедиктов, Тимченко и др.,

1986; Венедиктов, 1988) выявили адгезию и инвазию псевдотуберкулезного микроба с последующим внутриклеточным его размножением.

Все исследования косвенно свидетельствуют о пригодности растений как среды обитания иерсиний, кроме того были получены и прямые доказательства этого. На полях орошения, почвы которых были инфицированы иерсиниями, из дикорастущих трав удалось изолировать культуры *Y. enterocolitica* (Гордейко, 1991). Силос, приготовленный из этих трав, оказался инфицирован кишечными иерсиниями, что вызвало высокую зараженность крупного рогатого скота. Рядом авторов была показана способность иерсиний проникать из почвы внутрь растений (Литвин, Пушкарева и др., 1991; Шустрова, Гордейко и др., 1991).

Бактериологическое исследование овощей в овощехранилищах показало, что в течение зимнего хранения происходит нарастание обсемененности овощей и корнеплодов псевдотуберкулезным микробом. При исследовании овощей, только что привезенных с полей, обсемененность их была в пределах 0,6-4,5% проб, а после зимнего хранения достигала 50%, а в некоторых органах в отдельные годы доходила до 100% (Кузнецов, Раковский и др., 1975, 1976). Следовательно, в условиях овощехранилищ, при низкой температуре (7-8⁰С), высокой влажности, отсутствии света на овощах происходит активное размножение и массивное накопление псевдотуберкулезного микроба.

Listeria monocytogenes, роль, которых в патологии человека доказана, широко распространены и в растениях (Гершун, 1980а, 1988; Welshimer, 1981; Weis, Seeliger, 1975). По данным В.И. Гершуна (1980а, 1988) листерии изолированы в 24% проб растений из березовых лесов Казахстана, в 9,5% - из пойменных лугов, в 8,6% - с пахотных земель, причем многие из этих изолятов были патогенными для мышей. При исследовании растительности с полей, лесов и лугов листерии обнаружены в 21-44% проб (Weis, Seeliger, 1975). Экспериментально установлен рост концентрации листерий в нестерильных растительных субстратах (наземные части, корни) и в силосе в течение 30 суток при низких температурах (Гершун, 1988). Благодаря активному размножению,

листерии неопределенно долго (12 лет - срок наблюдений) существовали в растительных субстратах (Гершун, 1981; Dijkstra, 1982).

Есть все основания утверждать, что растения могут быть природным резервуаром патогенных листерий и иерсиний и источником заражения человека (теплокровных животных), подобно тому, как это признано в отношении животных при зоонозных инфекциях (Беляков, Литвин и др., 1994).

Почва. Характерная черта возбудителей сапронозов и сапрозоонозов - возможность автономного существования во внешней среде, что убедительно доказано для многих из них. Закономерное обитание возбудителей сапрозоонозов в почве, разнообразные симбиотические связи с почвенными организмами, наряду с циркуляцией среди наземных животных, делают их полноправными и самостоятельными сочленами естественных экосистем. В литературе можно найти немало сведений о существовании иерсиний и листерий в почвенных микробоценозах (Сахаров, Гудкова, 1950; Головачева, 1978; Знаменский, 1975; Сомов, 1974; Гершун, 1978, 1980б, 1988; Колесникова, 1984; Литвин, Сомов, 1988).

Патогенные микроорганизмы сапрофитической фазы существуют не в абиотической внешней среде, а являются сочленами сложных почвенных экосистем, вступая в различные взаимодействия с другими компонентами почвенной биоты (Литвин, 1991; Литвин, 1992). Возбудители сапронозов, будучи полноправными сочленами почвенных экосистем (как естественных, так и рукотворных) вступают в симбиотические отношения с различными животными (Литвин, Пушкарева, 1994). Для псевдомонод хозяевами могут служить инфузории (Пушкарева, Константинова и др., 1991; Пушкарева, Литвин и др., 1989), для иерсиний - простейшие: инфузории (Литвин, 1991; Пушкарева, Константинова и др., 1990, 1991) и амёбы (Никульшин и др., 1992), а также различные животные планктона, нектона и бентоса - дафнии и циклопы, плоские и кольчатые черви, моллюски, личинки насекомых (мотыль), рыбы и водные растения (Пушкарева, Литвин и др., 1993).

Немаловажную роль в расселении патогенных бактерий в почвенных экосистемах играют такие факторы как **географический** (региональные отличия в частоте распространенности опасных для человека видов и вариантов) и **антропогенный** (соблюдение или несоблюдение санитарных норм). Отдельные виды микроорганизмов с различной частотой и в разных объектах живой и косной природы встречаются практически во всех географических районах мира. Между тем, для каждого региона присущи свои особенности территориального размещения листерий и иерсиний, свои предпочтительные местообитания, пути распространения и доминирование отдельных видов.

Так, листериоз распространен на всех континентах Земного шара. Он представляет собой одну из широко распространенных болезней человека и животных, зарегистрирован в 65 странах мира (Бакулов, Котляров и др., 1994).

О региональном распространении *L. monocytogenes* на территории Российской Федерации данных в литературе мало. До 1994 года (по литературным данным) официальной регистрации листериоза у людей нет, в то же время листериоз животных регистрируют документально с 1956 года. За период 1956 - 1990 годов листериоз животных в СНГ наблюдался у многих видов сельскохозяйственных, домашних и диких животных в различных регионах страны. В России *L. monocytogenes* выделяли в Свердловской области (Кондрашова, Казаков и др., 1984; Бакулов, Котляров и др., 1994), Москве (Бакулов, Котляров и др., 1994; Калишин, 1988), в Сибири и на Дальнем Востоке (Зайцева, Терехова, 2001).

Более широко возбудитель листериоза изучался на территории ближнего и дальнего зарубежья. Так, природная очаговость листериоза выявлена на территории Украины, Грузии, Казахстана, Таджикистана (Бакулов, Котляров и др., 1994). На территории дальнего зарубежья листерий выделяли в Швеции (Eiertz, Danielson-Tham et al., 1993), Германии (Weis, Zeeliger, 1975), Венгрии (Ibragim, Dojan-Kovacs et al., 1992), Дании (Jansen, Fredericsen et al., 1994), Шотландии (Fenlon, Wilson et al., 1989), Испании (Dominques, Fernandez et al.,

1985), Югославии (Buncic, 1991), во Франции (Carbonelle, Cotton, 1978, 1988; Michard, Jardy, 1989), в Англии (McLauchin, Gilbert, 1992; Бакулов, Котляров и др., 1994), а также США (Boyle, Schmidt et al., 1990; Linnan, Mascola et al., 1988; Бакулов, Котляров и др., 1994), Канаде (Davidson, Sprung et al., 1989; Slade, Collins-Thompson et al., 1988; Бакулов, Котляров и др., 1994), Японии (Takai, Orii et al., 1990; Nakama, Maruyama et al., 1992), Мексике и Швейцарии (Бакулов, Котляров и др., 1994).

Псевдотуберкулез человека в настоящее время регистрируется во всех странах Азии, Европы, США, Канаде, Бразилии, Индии, Японии, Алжире, Марокко, Австралии, Новой Зеландии (Сомов, 1974).

В бывшем Советском Союзе *Y. pseudotuberculosis* стал ежегодно регистрироваться с 1959 года во многих краях и областях: на Дальнем Востоке (Приморский, Хабаровский края, Магаданская, Сахалинская, Камчатская, Амурская области); в Сибири (Алтайский край, Кемеровская, Новосибирская области); на Урале (Свердловская область) и в Европейской части России (Московская, Ленинградская, Горьковская, Воронежская, Липецкая, Новгородская области, Ставропольский край). Единичные случаи наблюдались на Украине и в Грузии (Мошковский, 1946; Шарапова, Григорян и др., 1972; Сомов, 1974).

Таким образом, нельзя не признать важную роль внешней среды и, в частности, почвы в циркуляции, длительном сохранении и распространении сапрозоонозных инфекций, яркими представителями, которых являются возбудители псевдотуберкулеза и листериоза.

Listeria monocytogenes - возбудитель листериоза человека и животных. Известно, что классические бактериальные формы листерий, будучи сапрофитами, высокоустойчивы во внешней среде, хорошо переносят низкие, резко изменяющиеся температуры и способны размножаться при 4-6⁰С в различных ее объектах, в том числе и в почвах. Исходя из имеющихся знаний о

различных формах существования листерий, можно полагать, что главной средой их обитания является внеорганизменная (внешняя) среда.

Восприимчивость к листериям животных и человека примерно одинакова. Однако человек в силу более высокой биологической организации инфицируется листериями и переносит клинически выраженные формы инфекции реже животных, так как больше контактирует не с главным (внешняя среда), а с дополнительным (животные) источником возбудителя. Животные же чаще инфицируются массивными дозами классических бактериальных форм, находясь в более тесном контакте с почвой, силосом, навозом, необезвреженной водой (Казаков, 1993).

L. monocytogenes способны длительно, в течение 6-12 месяцев, сохраняться и размножаться в почвах (Сахаров, Гудкова, 1950; Сливко, 1959; Поманская, 1963; Головачева, 1978). П.П. Сахаров и Е.И. Гудкова (1950) справедливо называют листериоз пастбищной или стойловой инфекцией. В подтверждение своей точки зрения они приводят пример, когда в стаде овец у одного фермера в г. Иове была вспышка листериоза, и он перестал использовать пастбища, на которых проводился выпас этих животных. Через 6 месяцев после вспышки заболевания фермер возобновил выпас скота на этих пастбищах, в результате чего инфекция вспыхнула вновь, причем была выделена культура листерий, аналогичная культуре, выделенной при первой вспышке. Совершенно очевидно, что возбудитель листериоза все 6 месяцев находился в почве и при этом не утратил своих патогенных свойств.

Известны высокие темпы размножения листерий в почве: при 18-20⁰С за 6 суток их концентрация возрастала в 1500-3000 раз (Поманская, 1963). По данным В.И. Гершуна (1983), наиболее интенсивное размножение листерий в почве происходит в весенний и осенний периоды, что обусловлено низкими температурами и высокой влажностью почвы. Темпы размножения зависят кроме температуры, от гумусового состава почв, содержания азота, влажности, величины рН (Гершун, 1971, 1980б).

Для выяснения вопроса о возможности размножения листерий в почве Л.А. Поманская (1963) использовала простерилизованный автоклавированием выщелоченный чернозем с рН = 6,8, содержанием фосфора 3,7, калия 3,8 мг на 100 г почвы. В экспериментальных исследованиях она установила факт размножения листерий в данных образцах почвы. Число микробов возрастало в 1530 раз за 6 суток при 18-20⁰С и влажности 32%, и в 3164 раза при 25% влажности.

Большой вклад в изучение жизнеспособности листерий в почвах внес В.И. Гершун (1978, 1979б, 1988). В результате его исследований установлено, что *L. monocytogenes* размножаются в почвах, содержащих растительные остатки. Причем в стерильных образцах почвы отмечено размножение бактерий при различных температурных режимах, а в нестерильной - только при низких температурах. В пробах почвы степных лесов с низким значением кислотности (рН=3,4) листерии погибали. Наиболее интенсивное размножение листерий происходит в почвах богатых гумусом. В пробах почвы, содержащих 15-25% фитомассы, исходная концентрация листерий возрастала в 18-25 раз.

В связи с этим прослеживается четкая взаимосвязь между почвами, характеризующимися определенным количеством гумуса, влажностью, значением рН и регистрацией листериоза. В.И. Гершун (1980б) сообщает, что в Казахстане листериоз широко распространен в лесной и степной зонах, где преобладают черноземы и серые лесные почвы, содержащие большие запасы гумуса. При низких положительных температурах и достаточной влажности происходит накопление листерий в почве, при этом в ней отмечены сезонные колебания количества бактерий. Период максимального размножения приходится на осенний и весенний сезоны. В зимний период имеет место стабилизация их численности. В летний период, характеризующийся высокими температурами и засушливостью, количество листерий в почве снижается.

В почве березовых лесов Кустанайской области Казахстана листерии обнаружены в 35,5% проб, низинных и пойменных лугов - в 25% проб, степных

лугов - в 11,7% , пахотных полей - в 3,3% (Гершун, 1980а). Роль почвы как среды обитания *L. monocytogenes* подтверждена проведенными в Германии исследованиями, в ходе которых из одинакового числа проб из почвы выделено 154 штамма, а из фекалий животных - лишь 16 (Weiss, Zeeliger, 1975).

О широком распространении листерий в почвах сообщают А. Froun (1989), Н.Ж. Welshimer (1981). Длительное обитание и размножение листерий в почве подтверждено и экспериментами R. Botzler et al. (1974), которые, как и В.И. Гершун (1981б), считают почву резервуаром листерий в природе. J. Rocourt, Н. Seeliger (1985) также указывают на резервуарную роль внешней среды и, в частности, почвы для *L. monocytogenes*. По мнению А.В. Казакова (1985), главной средой обитания листерий является внеорганизменная (внешняя) среда, в которой они, будучи сапрофитами, способны выживать при резких колебаниях температуры и влажности.

Yersinia pseudotuberculosis – возбудитель Дальневосточной скарлатиноподобной лихорадки (псевдотуберкулеза человека). В.А. Знаменский (1975), И.Л. Мартиневский (1969), Г.П. Сомов (1974), Н.П. Погорелова (1986), Н.Н. Mollaret (1962), М. Shaegani, J. De Forge et al. (1981) указывают на широкое распространение *Y. pseudotuberculosis* в почвах. Также этот микроб из почвы выделяли В.М. Туманский (1958), В.Г. Кузнецов с сотр.(1976), В.В. Колесникова (1984).

При экспериментальном заражении культурой *Y. pseudotuberculosis* стерильной и нестерильной почвы и содержании опытных образцов в искусственных условиях (стеклянная тара), при температуре наружного воздуха, комнатной температуре и в холодильниках этот микроб в течение длительного времени выделяется из нее (Сомов, Литвин, 1988). Так, Т.И. Якунина с сотрудниками (1970) показала, что псевдотуберкулезный микроб сохраняется в стерильной почве при температуре 4-6⁰С до 238 дней, а при температуре 18-20⁰С в течение 136 дней. В нестерильной почве он сохраняется при температуре 4-6⁰С в течение 128 дней (срок наблюдения). В.Я. Головачева (1978)

представила данные о том, что псевдотуберкулезный микроб в стерильной садовой почве, в условиях холодильника, сохранял жизнеспособность в течение 10 лет и 4 месяцев (срок наблюдения), причем вирулентность, культуральные и биохимические свойства штаммов не изменились.

В.В. Колесниковой (1983) было проведено специальное изучение вопроса о размножении псевдотуберкулезного микроба в почвах Приморского края. Для этого отбирались образцы почвы с полей, на которых постоянно выращивалась капуста, поскольку большинство вспышек в Приморском крае произошло после употребления в пищу именно этого продукта. Пятьсот образцов почвы исследовали при температуре 8⁰С и 22⁰С. В результате выяснилось, что размножение бактерий в почве при температуре 22⁰С происходит менее интенсивно, чем при температуре 8⁰С. Псевдотуберкулезный микроб высевался из нестерильной почвы в течение 189 дней (при температуре 22⁰С), и 360 дней (срок наблюдения, при 8⁰С). Из стерильной почвы он высевался в течение 360 дней (срок наблюдения) при обеих температурах.

И.А. Максименкова и В.Ю. Литвин (1985) провели изучение длительности выживания и динамики численности *Y. pseudotuberculosis* в иловато-болотной суглинистой почве в зависимости от температуры, влажности, реакции среды и комплекса биотических факторов. Результаты исследований показали, что абиотические почвенные факторы оказывают менее сильное влияние на динамику размножения микроба, чем биотические.

Г.П. Сомов и В.Ю. Литвин (1988) утверждают, что в почвах Приморского края, где выращиваются овощные культуры, обитает псевдотуберкулезный микроб. В специально проведенном исследовании подвергли бактериологическому анализу почвы с полей, где выращивались овощи и корнеплоды. *Y. pseudotuberculosis* был выделен из пробы почвы свекловичного, морковного и лукового полей (Кузнецов, 1976).

Таким образом, представленный обзор литературы свидетельствует о том, что возбудители сапрозоонозных инфекций *Listeria monocytogenes* и *Yersinia*

pseudotuberculosis способны не только длительно сохраняться в почвенных экосистемах, но и активно размножаться в них. Но неизвестны абиотические и биотические свойства различных типов почв, оказывающие влияние на размножение этих бактерий. О возможности сохранения и размножения листериозного и псевдотуберклезного микробов в почвах морского побережья литературных данных не обнаружено.

ГЛАВА 3. ВЛИЯНИЕ АБИОТИЧЕСКИХ ФАТОРОВ ПОЧВЕННЫХ ЭКОСИСТЕМ НА РАЗМНОЖЕНИЕ ПАТОГЕННОЙ МИКРОФЛОРЫ

Как в естественных средах обитания при свободно живущем развитии, так и при симбиотическом или паразитическом существовании на микроорганизмы неизбежно воздействуют разные физико-химические факторы и часто в экстремально высоких или низких дозах и концентрациях. Совокупность условий специфических мест обитания формирует экологические ниши, где развивается приспособившееся к этим условиям сообщество макро- и микроорганизмов (Fuchigami, Senshu et al., 1989; Straube, Deming et al., 1990).

Рассмотрим некоторые наиболее важные факторы почвенных экосистем, оказывающие влияние на размножение микроорганизмов:

Температура. Все физико-химические процессы, обеспечивающие функциональную активность клетки, а также состояние ее макромолекул, в большей или меньшей степени зависят от температуры. По отношению к температуре бактерии делят на три группы: психрофилы и психротрофы - относительно быстро размножающиеся при температуре 0°C , термофилы - растущие при температуре выше 45°C , мезофилы - развивающиеся в диапазоне умеренных температур. Мезофилы широко распространены в природе, их можно обнаружить в почве, в воде умеренных и тропических широт. Диапазон температур, в котором возможен рост тех или иных форм мезофильных бактерий, весьма различен. Также как разнообразны значения их кардинальных температур. Психрофилы и термофилы - обитатели низкотемпературных и высокотемпературных мест и регионов нашей планеты (Громов, Павленко, 1989).

Определенный температурный диапазон обуславливает специфические закономерности сезонных колебаний численности различных возбудителей во внешней среде, зараженности животных и эпидемического проявления инфекций. Так, иерсиниозы и листериоз имеют выраженную зимне-весеннюю

или осеннюю сезонность, тогда как легионеллез, клостридиозы и холера - летнюю сезонность. Температурный режим в значительной степени определяет и закономерности географического распространения этих инфекций. В разных ландшафтных зонах, различающихся по гидротермическому режиму почв, наблюдается различная концентрация возбудителей в почве и связанное с этим разное эпидемическое проявление инфекций, что хорошо известно для ряда клостридий (Сомов, Литвин, 1988).

Концентрация ионов водорода. Кислотность среды является важным фактором, определяющим существование в ней прокариот. Концентрация ионов водорода в окружающей среде действует на организм или непосредственно, или косвенно, через влияние на ионное состояние и доступность многих ионов и метаболитов, стабильность макромолекул. При низких значениях pH понижается растворимость углекислоты - источника углерода для автотрофных прокариот, а растворимость таких катионов как Cu^{2+} , Mo^{2+} , Mg^{2+} , Al^{3+} возрастает и достигает токсичных уровней. При высоких значениях pH растворимость многих катионов, необходимых клетке (Fe^{2+} , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Mn^{2+}), резко понижается, и они становятся недоступными для организма (Громов, Павленко, 1989).

Питательные вещества. Рост бактерий в естественных условиях почти всегда лимитирован недостатком пищи. Поступление пищевых субстратов происходит неравномерно во времени и в пространстве. Естественные среды обитания бактерий гетерогенны, и даже в условиях весьма низкого потока органического углерода в отдельных местах может создаваться высокая концентрация органических веществ в результате скоплений экскретов, отмерших организмов и т.д. Бактерии, существование которых в природе зависит от их способности размножаться в местах с низким пищевым потоком углерода - до 0,1 мг/л в день, относятся к олиготрофам (типичные представители - *Caulobacter*, *Hypomicrobium*). Организмы не только способные расти на богатых питательных средах, но и предпочитающие изобилие пищевых

веществ, относят к копиотрофам (типичные представители - *E. coli*, *Aeromonas*, *Pseudomonas*, *Vibrio*) (Громов, Павленко, 1989).

Органическое вещество почвы (кроме торфяных почв) составляет обычно небольшую долю общей массы почвы, но это один из наиболее важных и характерных компонентов. Она представляет собой остатки растительных и организмов и продуктов их превращения, среди которых гумус занимает главное положение (Агрочвоведение, 1994). Усиление развития бактерий в почве Е.Н. Мишустин и М.И. Перцовская (1954) связывают с обогащением почвы органическим веществом.

3.1. Размножение патогенных бактерий в автоморфных почвенных экосистемах

3.1.1. Характеристика основных автоморфных почв юга Дальнего Востока

Бурая лесная и буро-подзолистая почвы относятся к почвам суббореального пояса и формируются, как правило, в автоморфных условиях горных склонов, на которых часть атмосферных осадков стекает по их поверхности, приводя к постоянному «омоложению» (смыву) почвенного профиля за счет денудации и, тем самым, стабилизации почвообразования на одной и той же стадии - буроземной (Колесников, 1956; Пшеничников, 1986). Бурые лесные почвы - это наиболее распространенные почвы на юге Дальнего Востока. Условия почвообразования бурых лесных почв очень разнообразны. Растительный покров этих почв богатый, а присутствие широколиственных пород способствует изменению химического состава опада, который является основным энергетическим материалом для микроорганизмов. На юге Приморья в растительном покрове преобладает пихта цельнолистная или черная, которая образует высокобонитетные чернопихтово-широколиственные леса (Иванов, 1976).

В бурых лесных почвах интенсивно идут процессы выветривания горных пород, что способствует обогащению почвы элементами зольного питания (Иванов, 1976). Поступающий в почву богатый растительный опад легко и быстро подвергается разложению почвенными организмами. Биологический профиль бурых лесных почв южных районов глубокий. На глубине 70-80 см насыщенность микроорганизмами продолжает оставаться достаточно высокой (Щапова, 1994). Слабокислая реакция среды бурых лесных почв, высокая насыщенность основаниями способствуют интенсивному развитию микроорганизмов в них, обеспечивающих высокую степень гумификации растительных остатков (Щапова, 1994). Непременным условием для формирования бурых лесных почв является хороший внутрпочвенный дренаж, когда избыток влаги быстро удаляется из почвы.

Образцы бурых лесных почв были отобраны с глубины 0-10 см (горизонт A_1). Разрез расположен в лесном массиве г. Владивостока (ост. Академическая), на склоне сопки западной экспозиции в верхней четверти вершины. Крутизна склона $26-28^{\circ}$, склон ровный. Растительность представлена широколиственным лесом: граб, дуб, редко клен. Второго яруса практически нет. На камнях мох. Микрорельеф западинный, видны обнажения скал, приствольные бугорки.

Бурая лесная почва имеет следующее строение:

A_0 0-2 см. Рыхлая, слаборазложившаяся подстилка светло-коричневого цвета, однородной окраски. Состоит из опада древесных пород, мелких веточек, стеблей травы, переход в нижележащий горизонт заметный, граница волнистая.

A_1 2-19 см. Серо-бурый однородной окраски, структура слабо выражена и мелкозернистая, легкосуглинистый, рыхлый, фрагментарный, содержит около 50% щебня и камней, много корней. Щебень отмыт, не имеет натечных пленок, слабо выветрелый по всей поверхности камни неокатанные, раскалываются по микротрещинам. Щебень легко вынимается из горизонта, при этом, со стенки разреза осыпается мелкозем. Мелкозем оструктурен в виде комков только вокруг корневых систем, переход ясный, граница перехода ровная, затечная.

АВ 19-32 см. Буровато светло-серый, по окраске неоднородный, содержит до 90 % щебня, единично камни, присутствует дресва. Щебень и камни угловатые, неокатанные. Щебень слабо выветрелый, имеет сверху мелкоземистую, оструктуренную рубашку, которая прилипает неплотно. Под ней находится тонко пылеватая, маломощная, фрагментарная кутана. Мелкозем слабо оструктурен, среднесуглинистый, находится, в основном, на верхней плоскости щебня и в промежутках между щебнем и камнями. Переход в нижележащий горизонт заметный, граница волнистая.

В₁ 32-50 см. Буровато-серый, по окраске однородный. Мелкозема больше, чем в предыдущем горизонте, он плотно прилегает к щебню, слабо оструктурен. Щебня около 80 %, он покрыт мелкоземистыми рубашками и пылеватыми кутанами. По сравнению с горизонтом АВ щебень более мелкий и более выветрелый. Переход в нижележащий горизонт постепенный, граница размытая.

ВС 50-90 см. Буровато-серый, окраска неоднородная. С глубиной количество щебня увеличивается, а размеры его уменьшаются. Он имеет сплошные тонко пылеватые (илистые) кутаны, много дресвы. Ближе к материнской породе щебень укрупняется до скалистых камней.

Буро-подзолистые (бурые отбеленные) почвы выделяются на уровне самостоятельного типа и занимают холмисто-увалистые равнины в пределах Приханкайской равнины, в долине р. Усури и в некоторых межгорных впадинах под широколиственными и остепненными дубовыми лесами, редколесьями и порослевыми древесно-кустарниковыми зарослями (Иванов, 1976). Почвообразующими породами для буро-подзолистых почв являются элювий, элюво-делювий базальтов, гранитов и плотных осадочных пород.

По биогенности буро-подзолистые почвы стоят значительно ниже других почв равнинных территорий, но насыщенность микроорганизмами гумусовых горизонтов целинных почв достаточно высокая. При освоении под пашню небольшой по мощности гумусовый горизонт разбавляется припашкой биологически малоактивного белесого горизонта. В результате чего биогенность

пахотного горизонта значительно снижается. Однако микробный ценоз этих почв отличается разнообразием форм. В составе микробного ценоза ведущее место занимают бактерии (Щапова, 1994).

Образцы буро-подзолистой почвы были отобраны из пахотного горизонта с глубины 0-10 см. Разрез расположен 20° на юго-запад от тригопункта и 500 м от железнодорожного полотна (ст. Совхозная) на вершине пологого увала в верхней трети склона. Склон юго-западной экспозиции, крутизна склона 2-4°.

Буро-подзолистая почва имеет следующее строение:

A_{пах} 0-25 см. Темно-серый, однородный по окраске, тяжелосуглинистый, встречается единичная галька (выветрелая, окатанная, очень мелких размеров), комковато-глыбистый (5-10 см в диаметре), сложение плотное. Горизонт имеет очень мало микропор, единично поры от дождевых червей и корневых волосков. Включения встречаются не часто в виде камней, стекол, металлических деталей. Переход резкий, граница волнистая.

A₂B₁ 25-50 см. Желто-коричневый, однородный по окраске, встречаются размытые ржавые пятна, плотный, среднесуглинистый, плитчатый. Новообразования в виде точечных конкреций (ржавые и сизые пятна). Переход в нижележащий горизонт заметный, граница перехода размытая.

B₁ 50-65 см. Буровато-сизо серый, неоднородный по окраске (пятна со слабым контуром, крупные сизые и мелкие железисто-ржавые), тяжелосуглинистый, плитчато-ореховатый, имеются точечные марганцовистые новообразования. Переход постепенный, граница размытая.

B₂ 65-92 см. Буро сизовато серый, неоднородный по окраске, содержатся сизоватые и ржавые пятна, хорошо выражены сизые вертикальные пятна по трещинам, на гранях структурных отдельностей натечные кварцевые тонкопылеватые кутаны, тяжелосуглинистый, ореховато-комковатый. Переход в постепенный, граница размытая.

BC 92 см и глубже. Серо-коричнево бурый, неоднородный по окраске, встречаются опесчаненные ржавые линзы ярко бурого цвета и сизые линзы

глины, новообразования в виде стяжений железомарганцевых конкреций, галька выветрелая, хорошо режется и ломается ножом.

3.1.2. Динамика размножения патогенных бактерий в автоморфных почвах

В почве существуют самые различные микрзоны, в том числе достаточно благоприятные по своим параметрам для жизни микроорганизмов. Наряду с этим патогенные бактерии, попадая в почву, встречаются с неблагоприятными для них физико-химическими условиями и антагонистическим действием разнообразной почвенной биоты. Большое разнообразие и комбинации компонентов, составляющих почву, отмечаются даже в пределах одной и той же ограниченной местности. Этим, по-видимому, и объясняются значительные расхождения в вопросе о выживаемости патогенных микробов в почве (Скворцов, Киктенко и др., 1966).

Патогенные бактерии, обитающие в объектах окружающей среды, в основном, попадают в условия, лимитирующие их в отношении питательных веществ, как органических, так и минеральных. Поэтому следует комплексно изучить абиотические характеристики различных типов почв с точки зрения их влияния на патогенные бактерии.

На первом этапе работы была изучена динамика размножения *L. monocytogenes* (шт. «А», «П», «К», 10СN, 1А, 4В) и *Y. pseudotuberculosis* (шт. Н-557, 282, 512, 907, Н-2781, Н-3515) в автоморфных почвах наиболее распространенных на юге Дальнего Востока - бурой лесной (лесной массив) и буро-подзолистой (пашня, капустное поле), а также почвогрунте (городские газоны).

В результате исследований было установлено, что сохранение и размножение *L. monocytogenes* и *Y. pseudotuberculosis* в почвах зависит как от типа исследуемых почв, так и от биологических свойств бактерий на уровне

штамма. Так, исследуемые почвы можно расположить по степени положительного влияния на рост и размножение патогенных бактерий: почвогрунт > буро-подзолистая > бурая лесная.

Более активное размножение большинства исследуемых штаммов листерий наблюдали на почвогрунте и буро-подзолистой почве (рис. 3.1). При этом размножение *L. monocytogenes* в почвогрунте достигало значений 4,5 lg, а в буро-подзолистой 4,2 lg. Тогда как в бурой лесной почве уже на 3-и сутки отмечалась гибель бактерий. Исключение составил штамм «К», который активно размножался в бурой лесной почве (5,4 lg) и почвогрунте (4,1 lg), и не размножался буро-подзолистой почве (2 lg).

Штаммы *Y. pseudotuberculosis* хорошо размножались в почвогрунте и буро-подзолистой почве (достигая 5,3 и 5,2 lg соответственно) после адаптации на третьи сутки (рис. 3.1). И практически не размножались в бурой лесной почве, достигая максимальной концентрации 0,2 lg на 7-е сутки. Исключение составил штамм Н-2781 *Y. pseudotuberculosis*, который преимущественно размножался на бурой лесной почве (достигая 4,3 lg), и практически не размножался на почвогрунте и буро-подзолистой почве.

Как видно из данных, представленных на рисунках 3.1 и 3.2, температура культивирования оказывала влияние на интенсивность размножения листерий и иерсиний, но не оказывала влияние на динамику размножения этих бактерий. Как листерии, так и иерсинии размножались менее интенсивно при температуре 4-6⁰С и более интенсивно - при температуре 20-22⁰С.

Таким образом, для размножения как иерсиний, так и листерий наиболее благоприятными оказались почвогрунт городских газонов и буро-подзолистая почва. Отрицательное действие на рост изучаемых патогенных бактерий оказывала бурая лесная почва. Однако размножение *L. monocytogenes* и *Y. pseudotuberculosis* в почвах зависело не только от типа исследуемых почв, но и от биологических свойств бактерий на уровне штамма, а также от температуры культивирования.

3.1.3. Физико-химические свойства автоморфных почв, влияющие на существование сапрозоонозов

В качестве наиболее общих и важных факторов, оказывающих влияние на размножение патогенных бактерий в объектах окружающей среды, выделяют, как правило, температуру, рН, влажность, содержание органических и минеральных веществ и их концентрацию. В связи с этим нельзя не отметить, что по данным литературы не было проведено целенаправленных исследований по изучению влияния этих факторов для определенного типа почв. Приводимые авторами сведения чаще носят случайный, фрагментарный характер.

Поэтому мы попытались изучить влияние абиотических факторов различных почв на размножение *L. monocytogenes* и *Y. pseudotuberculosis*.

В результате проведенных экспериментальных исследований установлено, что кислотность почв, как один из абиотических факторов среды, оказывает влияние на размножение *L. monocytogenes* и *Y. pseudotuberculosis* в исследуемых почвах.

Судя по данным, представленным в таблице 3.1, можно предположить, что кислотность оказывает влияние на размножение исследуемых бактерий. Так, значения рН почвогрунта (6,6) и буро-подзолистой почвы (7,4) наиболее близки к оптимуму, который лежит в пределах рН 6,8-7,3 для иерсиний (Максименкова, Литвин, 1985) и рН 7,0-7,4 для листерий (Гершун, 1988). Кислотность бурой лесной почвы (рН 5,8) наименее пригодна для данных бактерий, поэтому большинство штаммов практически не размножились в указанной почве.

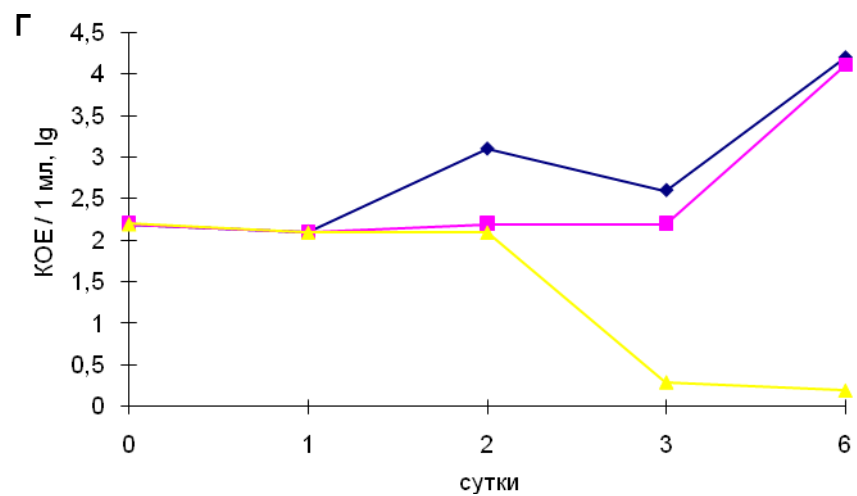
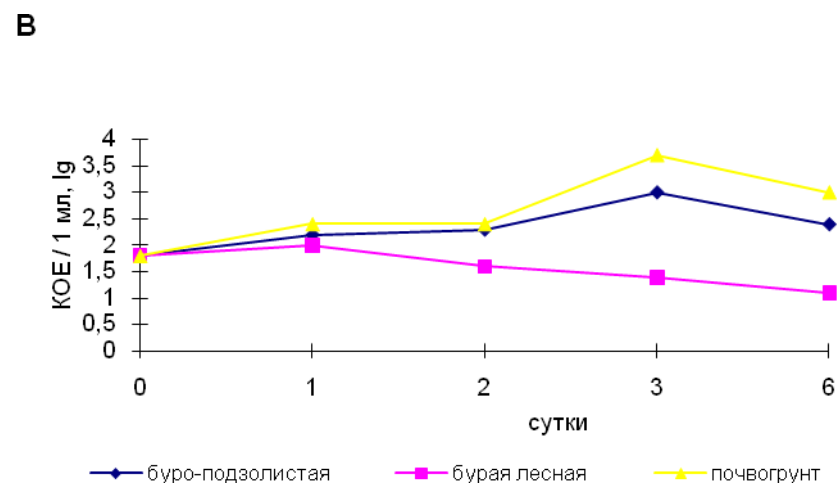
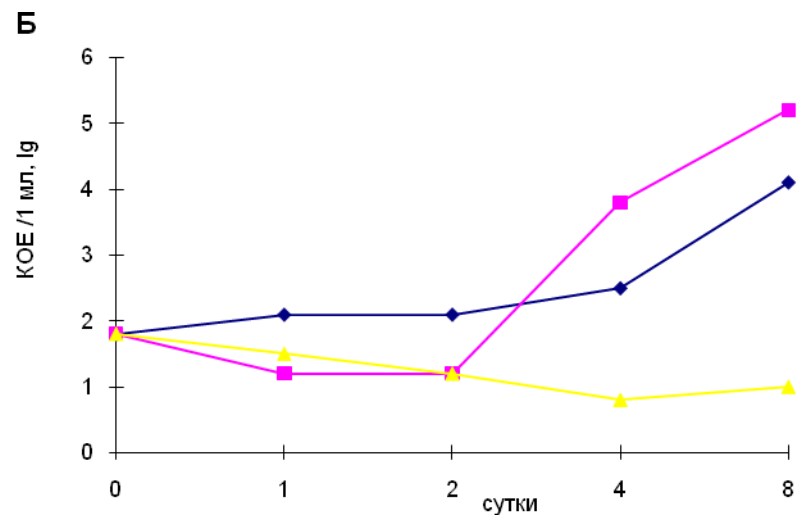
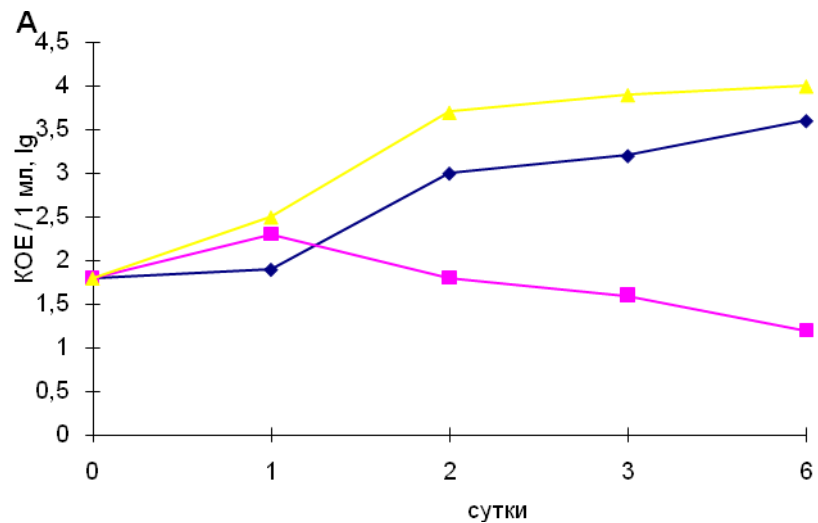
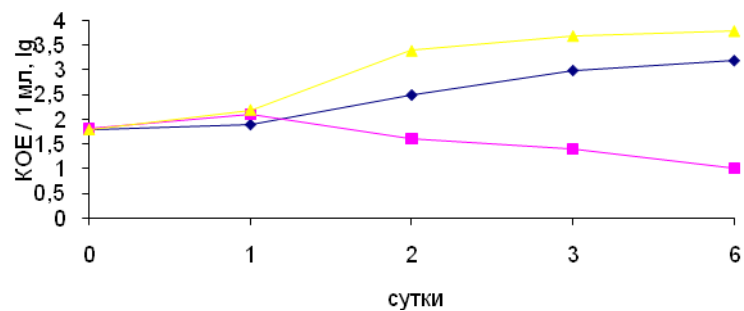
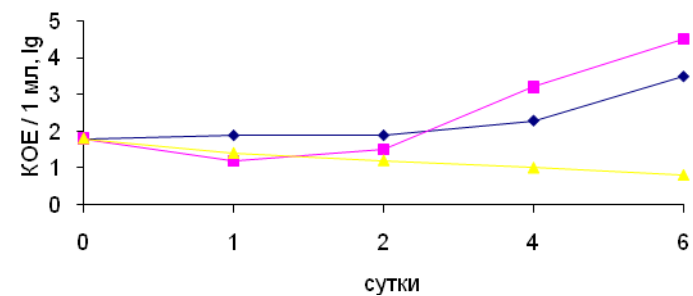
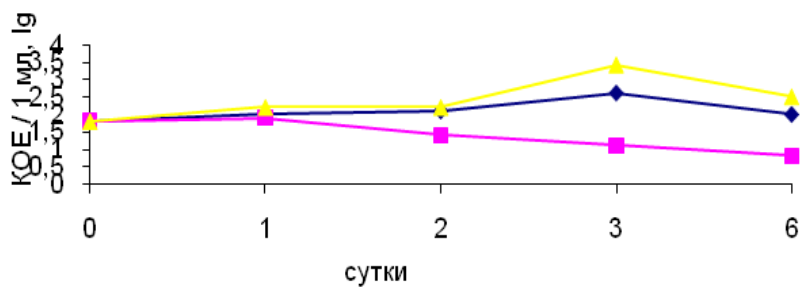
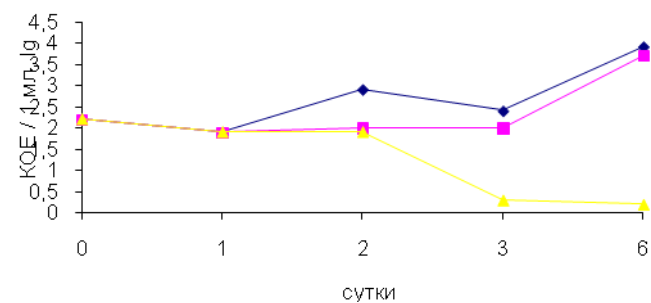


Рис. 3.1. Динамика размножения *L. monocytogenes* шт. 10CN (А), К (Б) и *Y. pseudotuberculosis* шт. Н-2781 (Г), 282 (В) в различных типах почв при температуре 20-22⁰С (n = 5). КОЕ - колониобразующие единицы.

А**Б****В****Г**

◆ буро-подзолистая
 ■ буряялесная
 ▲ почвогрунт

Рис. 3.2. Динамика размножения *L. monocytogenes* шт. 10CN (А), К (Б) и *Y. pseudotuberculosis* шт. 2781 (Г), 282 (В) в различных типах почв при температуре 4-6⁰С (n = 5).

Кроме того, бурая лесная почва имеет более высокие, по сравнению с почвогрунтом и буро-подзолистой почвой, значения обменной и гидролитической кислотности, что определяется степенью насыщенности основаниями, а также наименьшее значение обменных оснований (37,5 мг-экв/100 г почвы). Степень насыщенности основаниями определяет кислотные свойства почв. Известно, что чем больше почва обеднена основаниями, тем резче она проявляет кислотные свойства (Почвоведение, 1975) (табл. 3.1).

Буро-подзолистая почва, где наблюдается размножение большинства штаммов исследуемых бактерий, на протяжении длительного времени используется в сельском хозяйстве и обрабатывается как механически, так и химически. Вероятно, поэтому в почвенном поглощающем комплексе данной почвы обнаруживается больше обменных оснований, особенно ионов кальция и магния.

Установлено, что емкость катионного обмена (ЕКО) буро-подзолистой почвы выше, чем в других исследуемых почвах, что связано с более высокими концентрациями ионов кальция и магния, которые являются жизненно необходимыми для нормального роста и размножения иерсиний и листерий. Так, в частности, И.Л. Работнова и И.Н. Позмогова (1993) указывают на абсолютную необходимость кальция и магния для нормального роста микроорганизмов.

Следовательно, буро-подзолистая почва благоприятна для размножения листерий и иерсиний потому, что имеет оптимальные значения рН, степень насыщенности основаниями и содержит достаточное количество ионов кальция и магния.

Поскольку физико-химические и химические свойства не позволили объяснить размножение патогенных бактерий в почвогрунте, был исследован гумусовый состав почв.

Таблица 3.1.

Физико-химические и химические свойства исследуемых почв.

Почвы	рН		Обменная кислотность	Гидролитическая кислотность	Емкость катионного обмена	Обменные основания		Степень насыщенности основаниями, %
	H ₂ O	KCl				Ca ²⁺	Mg ²⁺	
мг экв/ 100г почвы								
Бурая лесная	5,8 5	5,0 0	3,25	7,20	44,70	30,3	7,5	83,9
Буро-подзолистая	7,3 6	6,3 6	1,15	1,74	80,74	65,1	14,2	97,8
Почвогрунт	6,6 0	5,5 8	1,53	2,88	45,88	35,2	8,1	93,7

Таблица 3.2.

Групповой состав гумуса исследуемых почв (в % от общего углерода почвы)

Типы почв	С, %	Фракции гуминовых кислот				Фракции фульвокислот					Сгк Сфк	+ Сгк /Сфк	Гуми н
		1	2	3	Σ*	1a	1	2	3	Σ*			
Бурая лесная	1,1	12,73	13,63	15,54	41,90	5,4 5	1,8 2	24,5 4	8,90	40,7 1	82,61	1,1	17,39
Буро-подзолистая	2,6	6,11	25,95	16,84	48,90	5,7 2	5,3 5	3,05	14,8 4	28,9 6	77,86	1,7	22,14
Почвогрунт	4,5	3,10	9,73	16,37	29,20	2,2 1	2,2 9	13,5 0	2,88	20,8 8	50,08	1,4	49,92

* Сумма фракций

Как видно из данных, представленных в таблице 3.2, содержание общего углерода в почвогрунте достигает 4,5 %, тогда как в буро-подзолистой почве - 2,6 %, а в бурой лесной - 1,1%. Можно предположить, что на существование листериозного и псевдотуберкулезного микробов в почвенных экосистемах оказывает влияние органический состав почв, с точки зрения характеристики его как возможного источника питания для бактерий.

Исследования, проведенные с целью изучения группового состава гумуса и представленные в таблице 3.2, показали, что в образце почвогрунта фульвокислот первой агрессивной фракции в половину меньше (2,21 %), чем в двух других исследуемых почвах (5,72% и 5,45% в буро-подзолистой и бурой лесной соответственно). Известно, что фульвокислоты этой фракции могут тормозить рост бактерий. Возможно, это объясняется тем, что первая агрессивная фракция фульвокислот связана с подвижными полуторными окислами, которые отрицательно влияют на поверхностные структуры бактерий, затрудняя обменные процессы последних.

Предпочтительное размножение исследуемых бактерий в почвогрунте возможно, объясняется не только повышенным содержанием общего углерода, но и качественным составом гумусовых кислот. Известно, что гумусовым кислотам свойственна гетерогенность и полидисперсность. Как гуминовые кислоты, так и фульвокислоты любого типа почв можно разделить на ряд фракций различной молекулярной массы, элементного и компонентного состава, но сохраняющих принцип строения и функциональные группы гумусовых кислот. Строение молекулы фульвокислот имеет принципиально однотипную природу с гуминовыми кислотами. В их составе также найдены ароматические и гетероциклические кольца, аминокислотные, углеводородные и углеводные компоненты (Орлов, 1974). Фульвокислоты имеют те же функциональные группы, что и гуминовые кислоты. Очевидно, эти компоненты и оказывают влияние на взаимодействие с поверхностными структурами грамположительных листерий и грамотрицательных иерсиний. Однако

фульвокислоты могут быть более доступны для бактерий за счет строения молекулы, которое отличается от строения молекулы гуминовых кислот тем, что имеет более длинную алифатическую часть (Орлов, 1990).

Анализ гумуса всех исследуемых почв показал, что его можно отнести к фульватно-гуматному типу (Сгк:Сфк = 1-2), что указывает на преобладание гуминовых кислот над фульвокислотами. Однако гумус почвогрунта содержит меньшее количество фульвокислот (20,9%), чем буро-подзолистая почва (30,0%) или бурая лесная почва (40,7%).

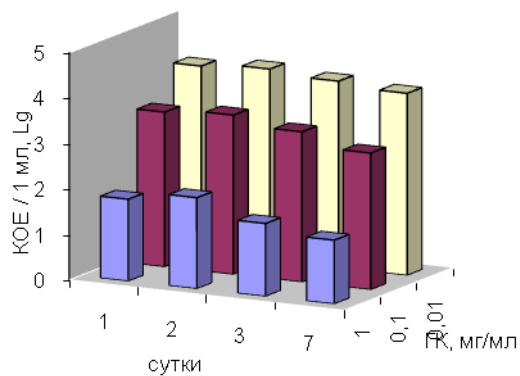
Следует также отметить, что в бурой лесной почве содержание второй фракции фульвокислот в 8 раз больше, чем в буро-подзолистой почве. Как известно, вторая фракция фульвокислот в почве связана со второй фракцией гуминовых кислот, которая в свою очередь связана, в основном, с кальцием, что, возможно, положительно сказывается на размножении бактерий.

Кроме того, в почвогрунте обнаружено наименьшее, по сравнению с другими почвами, взятыми для эксперимента, суммарное количество фракций гумусовых кислот.

Для изучения влияния количественного состава гумусовых кислот на размножение листерий и иерсиний были проведены экспериментальные исследования с использованием в качестве субстрата разных концентраций гуминовых кислот. В ходе которых удалось установить, что листерии иерсинии размножались на 0,01% растворах гуминовых кислот наиболее активно, чем на более высоких концентрациях, при этом прирост бактерий увеличивался на 3,5-4,0 lg по сравнению с исходным количеством ($p < 0,05$). Более высокие концентрации тормозили их рост (рис. 3.3). Следовательно, количественное содержание гуминовых кислот в почвах оказывает влияние на размножение бактерий. Это согласуется с данными И.Л. Работновой и И.Н. Позмоговой (1993), которые считают, что любые элементы питания (в том числе и гумусовые кислоты) в избыточных концентрациях могут быть ингибиторами роста микроорганизмов.

Таким образом, на сохранение и размножение листерий и иерсиний в почвах оказывают влияние, как физико-химические свойства почв, так и их органический состав, в том числе и концентрация гуминовых кислот, а также и биологические свойства изучаемых штаммов. *L. monocytogenes* и *Y. pseudotuberculosis* лучше всего размножаются в почвогрунте и буро-подзолистой почве, что объясняется оптимальными значениями рН этих почв, высоким содержанием общего углерода, по сравнению с бурой лесной почвой. Кроме того, буро-подзолистая почва обладает значительными количествами обменных ионов кальция и магния в составе почвенного поглощающего комплекса.

А



Б

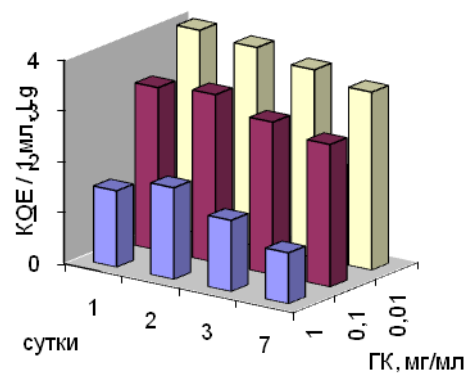


Рис. 3.3. Зависимость размножения А - *Y. pseudotuberculosis* (штамм 512) и Б - *L. monocytogenes* (штамм П) от концентрации гуминовых кислот (n=9).

3.1.4. Зависимость размножения иерсиний и листерий от качественных и количественных характеристик гумуса

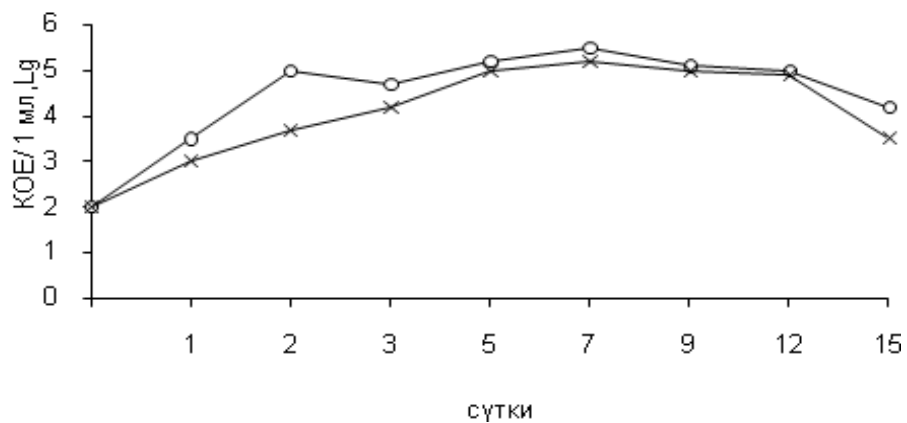
Гумусовые вещества, представляющие собой систему гетерополиконденсатов со сложной и своеобразной химической структурой, относятся к стойким в биологическом отношении природным органическим соединениям (Орлов, 1990). Наряду с микрозонами с достаточным запасом питательных веществ в почве всегда имеются микрозоны с недостатком одного или нескольких элементов, органического вещества (Звягинцев, 1987). К настоящему времени известно, что глино-гумусовые частицы, которые являются структурной единицей почвы, способны активировать процессы размножения большинства микроорганизмов, в том числе и псевдотуберкулезного микроба (Бузолева, 1990; Бузолева, Сидоренко, 2001). Очевидно, что именно это обстоятельство и является причиной мозаичного расположения очагов псевдотуберкулезного микроба в почве. Аналогичные данные имеются и в отношении листерий (Гершун, 1983). То обстоятельство, что фракции гуминовых и фульвокислот существенно различаются по элементному и функциональному составу, может оказывать влияние на их различную доступность для почвенной микрофлоры (Мурзаков, 1988). Известно, что гуминовые кислоты являются источником органического питания для почвенных микроорганизмов (Кононова, 1963; Бузолева, 1990; Cailler, Veser, 1989). В связи с этим следовало установить, могут ли патогенные бактерии использовать их также в качестве питательного субстрата. Поэтому далее была исследована динамика размножения листерий и иерсиний на препаратах гуминовых кислот в виде гуматов аммония. Для чего из образцов бурой лесной и буро-подзолистой почв, почвогрунта были получены чистые препараты гуминовых кислот, которые в количестве 0,01% (ранее подобранные концентрации) добавляли в дистиллированную воду, готовя, таким образом, среду для опыта. В эксперименте использовали штаммы «А», «П», «К», 10СN,

1А, 4В *L. monocytogenes* и штаммы шт. Н-557, 282, 512, 907, Н-2781, Н-3515 *Y. pseudotuberculosis*.

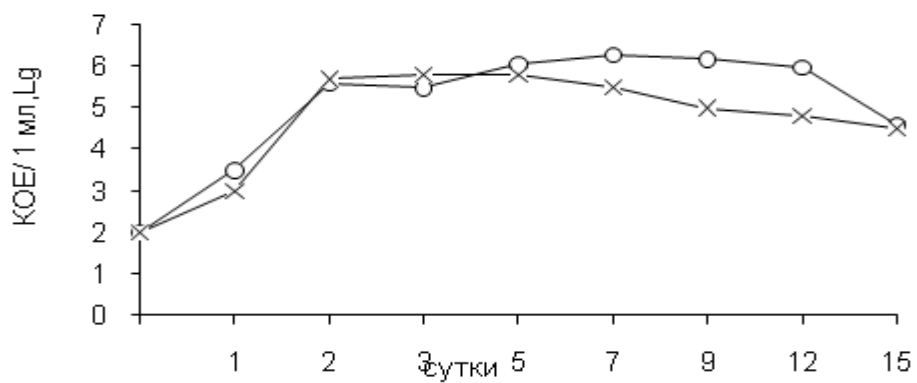
Результаты опыта, представленные на рисунке 3.4, свидетельствуют о том, что *L. monocytogenes* и *Y. pseudotuberculosis* практически одинаково размножались во всех вариантах опыта. При этом и листерии и иерсинии достигали максимального размножения на гуматах буро-подзолистой почвы (5,4 и 6 lg соответственно), что сопоставимо с размножением этих бактерий на лабораторных питательных средах. Таким образом, гуминовые кислоты способствуют активному размножению патогенных бактерий, независимо от того из каких почв они выделены.

То, что фракции гуминовых и фульвокислот существенно различаются по элементному и функциональному составу и другим свойствам, может указывать на их различную доступность почвенной микрофлоре (Мурзаков, 1988). В связи с этим следовало проследить влияние гумусового состава почв на размножение различных штаммов *L. monocytogenes* и *Y. pseudotuberculosis*. Для этого был проведен эксперимент, в ходе которого из изучаемых почв были получены кислотные и щелочные вытяжки следующих фракций гуминовых и фульвокислот. Гуминовые кислоты: фракция 1 (1ГК) - свободная и связанная с подвижными полуторными окислами; фракция 2 (2ГК) - связанная в основном с кальцием; фракция 3 (3ГК) - связанная с глинистыми минералами и устойчивыми полуторными окислами. Фульвокислоты: фракция 1а - свободная и связанная с подвижными полуторными окислами (так называемая «агрессивная» фракция); фракция 1(1ФК) - связанная в почве с фракцией 1 гуминовых кислот; фракция 2 (2ФК) - связанная в почве с фракцией 2 гуминовых кислот; фракция 3 (3ФК) - связанная в почве с фракцией 3 гуминовых кислот. В эксперименте также использовали штаммы «А», «П», «К», 10СН, 1А, 4В *L. monocytogenes* и штаммы шт. Н-557, 282, 512, 907, Н-2781, Н-3515 *Y. pseudotuberculosis*.

А



Б



—○— гуматы ННЗ буро-подзолистой почвы

—×— гуматы ННЗ бурой лесной почвы

Рис. 3.4. Динамика размножения *L. monocytogenes* шт. 10CN (**А**) и *Y. pseudotuberculosis* шт. 512 (**Б**) на гуминовых препаратах почв (n = 5).

Для приготовления среды применили стерильную дистиллированную воду, в которую добавляли в 0,01% концентрации отдельные вытяжки фракций гуминовых кислот или фульвокислот (в зависимости от варианта опыта).

Как показали данные эксперимента, вытяжка первой "агрессивной" фракции фульвокислот, свободных и связанных с подвижными полуторными окислами, всех исследуемых почв действовала губительно на все испытываемые штаммы патогенных бактерий. Все иерсинии и листерии погибали и не высевались уже на первые сутки после заражения. Это объясняется тем, что вытяжка первой агрессивной фракции фульвокислот - кислотная вытяжка (рН 2,5-2,8). При таком значении кислотности, исследуемые нами бактерии, погибают. Как уже отмечалось, оптимальные значения рН для листерий и иерсиний лежат в пределах 6-8. Реакция среды всех остальных вытяжек фракций гуминовых и фульвокислот находилась в допустимых пределах и потому не оказывала влияние на размножение исследуемых бактерий.

Результаты экспериментов, представленные на рисунках 3.5-3.8, свидетельствуют о том, что гуминовые и фульвокислоты обладают биологической активностью в отношении исследуемых бактерий.

Установлено, что размножение исследуемых штаммов листерий и иерсиний при температуре 20-22⁰С составил 3,2 lg, а при температуре 4-6⁰С - 1,9 lg. Так же можно отметить, что все испытываемые штаммы иерсиний хорошо размножались во всех вариантах опыта, и их количество было на 1- 2 lg выше, чем у листерий. Так, при температуре 20-22⁰С размножение *Y. pseudotuberculosis* достигало 6 lg, *L. monocytogenes* - 4,5 lg; а при температуре 4-6⁰С - 4,5 и 3,5 lg соответственно.

Показано, что отдельные вытяжки фракций гуминовых и фульвокислот по-разному влияют на рост и размножение листерий и иерсиний. Это влияние зависит от вида бактерий, их штаммовых характеристик и температуры культивирования, но не зависит от типа почв из которых были выделены фракции гуминовых и фульвокислот (рис. 3.5-3.8).

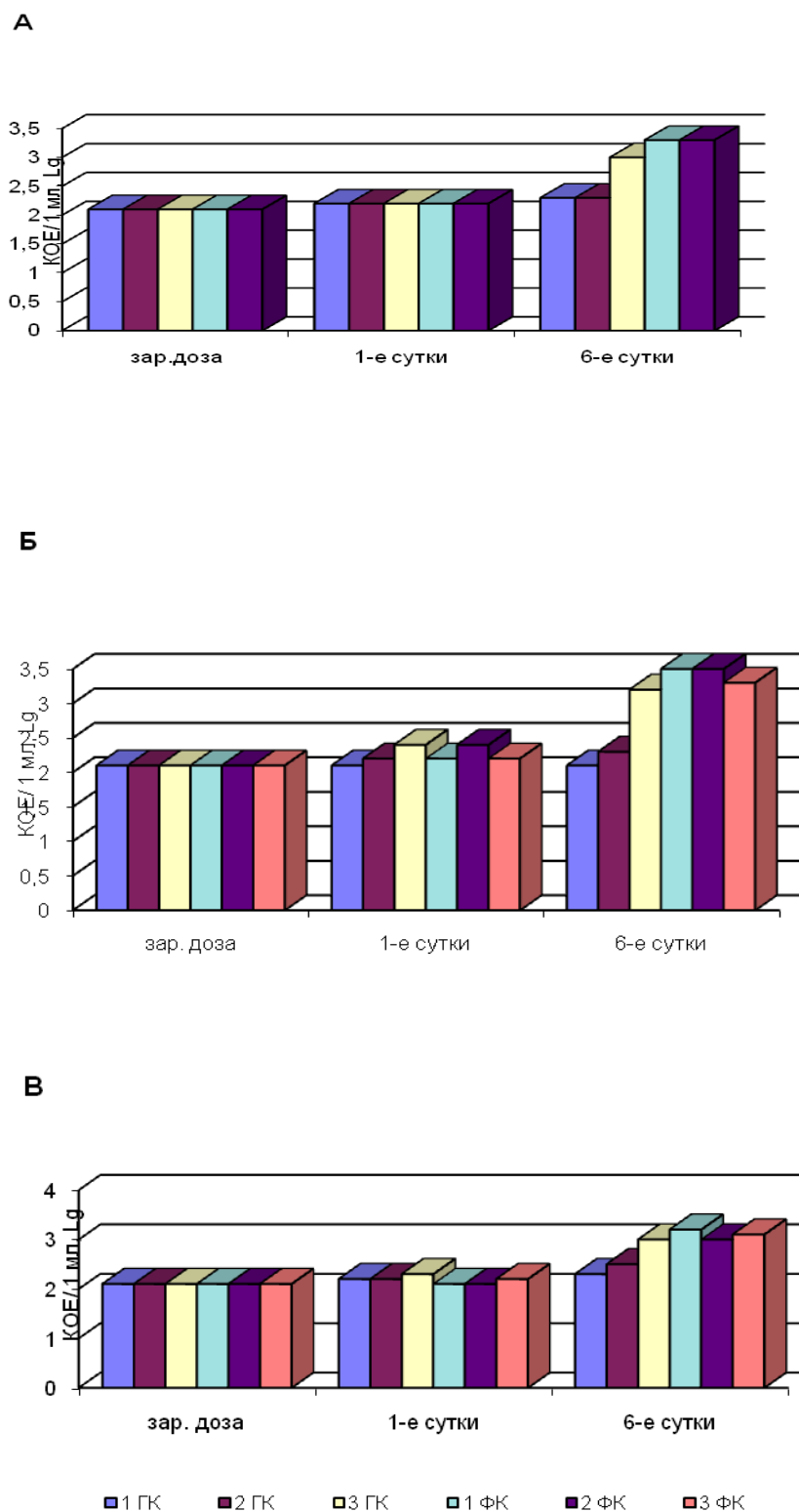
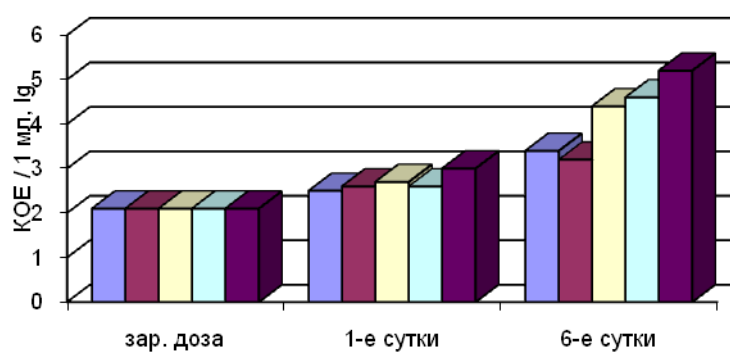
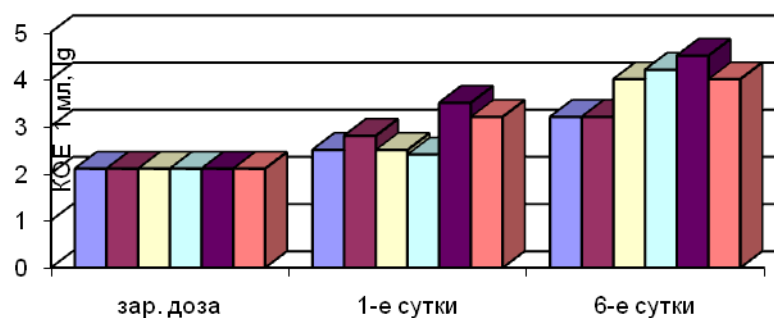
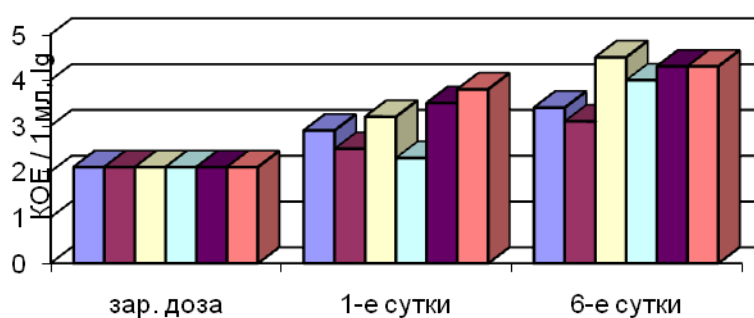


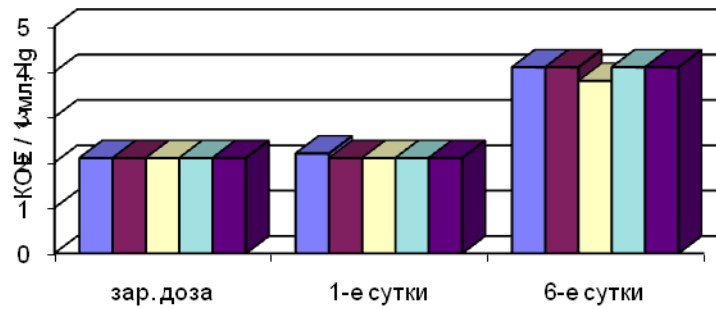
Рис. 3.5. Рост *L. monocytogenes* шт. П на различных фракциях гумусовых кислот при 4-6⁰С: **А** - буро-подзолистая почва, **Б** - бурая лесная почва, **В** - почвогрунт. **ГК** - гуминовые кислоты, **ФК** - фульвокислоты (n = 5).

А**Б****В**

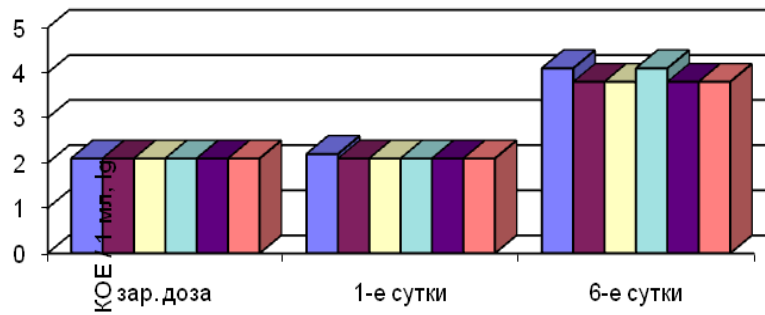
■ 1 ГК ■ 2 ГК ■ 3 ГК ■ 1 ФК ■ 2 ФК ■ 3 ФК

Рис. 3.6. Рост *L. monocytogenes* шт. П на различных фракциях гумусовых кислот при 20-22⁰С: **А** - буро-подзолистая почва, **Б** - бурая лесная почва, **В** - почвогрунт. **ГК** - гуминовые кислоты, **ФК** - фульвокислоты (n = 5).

А



Б



В

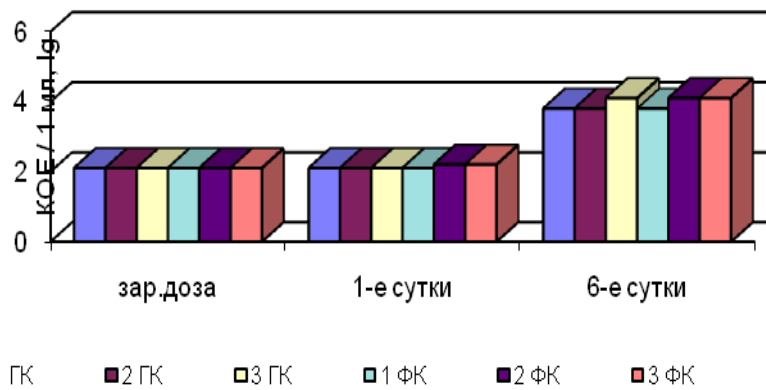


Рис. 3.7. Рост *Y. pseudotuberculosis* шт. Н-2781 на различных фракциях гумусовых кислот при 4-6⁰С: **А** - буро-подзолистая почва, **Б** - бурая лесная почва, **В** - почвогрунт. **ГК** - гуминовые кислоты, **ФК** - фульвокислоты (n = 5).

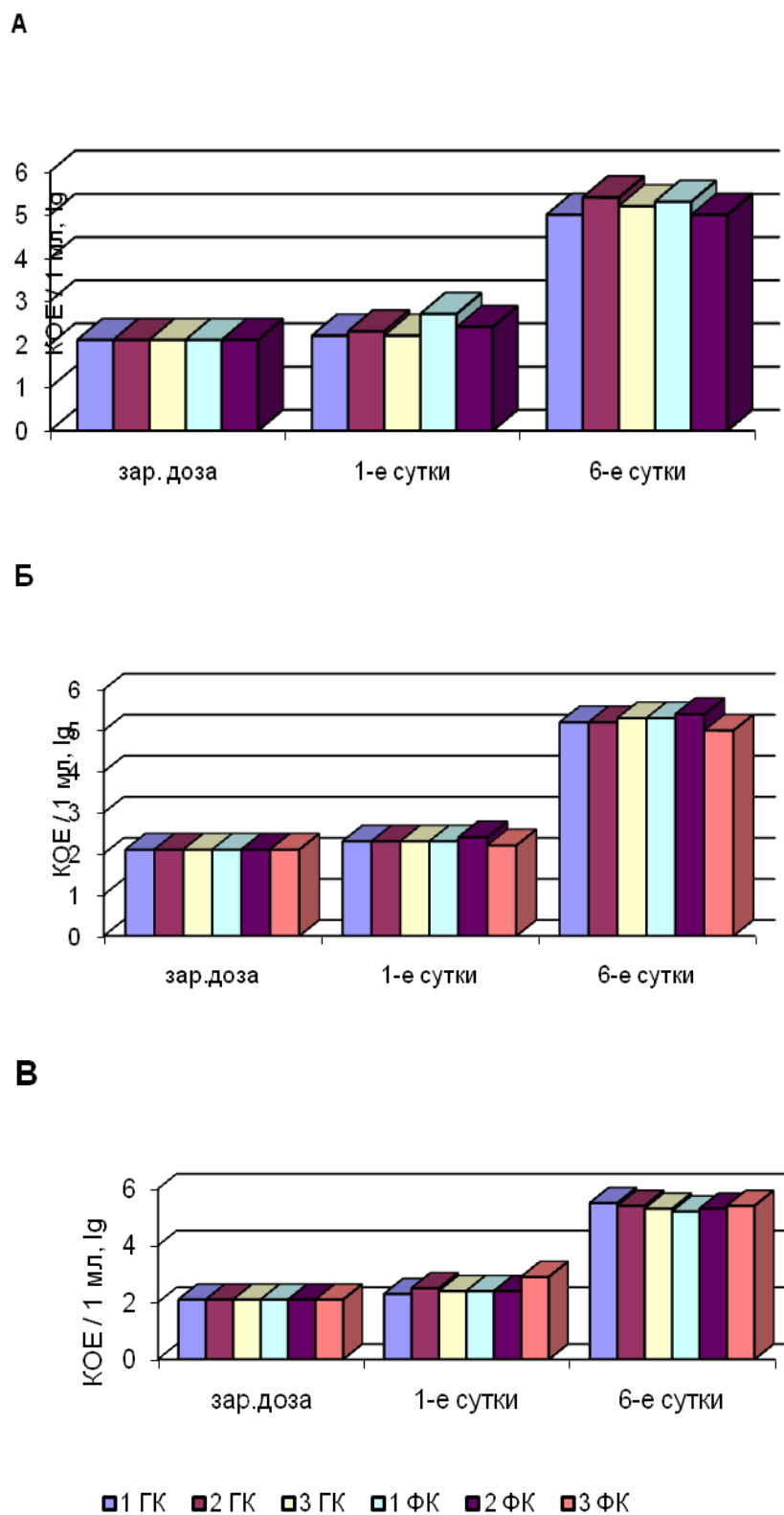


Рис. 3.8. Рост *Y. pseudotuberculosis* шт. Н-2781 на различных фракциях гумусовых кислот при 20-22⁰С: **А** - буро-подзолистая почва, **Б** - бурая лесная почва, **В** - почвогрунт. **ГК** - гуминовые кислоты, **ФК** - фульвокислоты (n = 5).

Так, штамм П *L. monocytogenes* (равно как и все остальные исследуемые штаммы листерий) одинаково хорошо размножался во всех вариантах опыта при обеих температурах культивирования, причем на вытяжках фракций фульвокислот наблюдался более сильный рост, чем на вытяжках фракций гуминовых кислот. Штамм Н-2781 *Y. pseudotuberculosis* одинаково хорошо размножался как на вытяжках фракций гуминовых кислот, так и на вытяжках фракций фульвокислот не зависимо от температуры культивирования. Аналогично вели себя и другие штаммы иерсиний.

Тот факт, что изучаемые нами листерии лучше размножались на средах содержащих фульвокислоты, чем на средах, не содержащих их, можно объяснить тем, что фульвокислоты, по сравнению с гуминовыми кислотами, имеют меньше бензолполикарбонновых кислот в ядре и больше цепей с полипептидными связями в периферической части молекулы, то есть они более гидрофильные, а тем самым более доступны для бактерий. Фульвокислоты также имеют более низкую молекулярную массу, чем гуминовые кислоты, и хотя содержат меньше углерода и азота, но азот фульвокислот большей частью гидролизуем, то есть содержится в основном в алифатической части молекулы, а значит более доступен для микробов. Так Д.С. Орлов (1990) отмечает, что фульвокислоты являются одной из наиболее доступных для микробов групп почвенного гумуса и поэтому быстро используются микроорганизмами.

В свою очередь биологическая активность различных фракций гуминовых кислот была неодинаковой. По результатам опыта отмечено положительное влияние фракции 3 гуминовых кислот на размножение листерий всех исследуемых штаммов. Так, размножение штамма П *L. monocytogenes* в температурном режиме 20-22⁰С в среде содержащей фракцию 3 выделенную из почвогрунта достигало 4,3 lg (рис. 3.6). Активность размножения можно объяснить наличием глинистых минералов, с которыми связана эта фракция, что, согласуется с данными авторов, которые относят эти вещества к гуминам,

являющимся биологически активными веществами (Комиссаров, Виленский, 1971).

Поскольку изучаемые бактерии отличаются по строению клеточной стенки, так листерии грамположительные, а иерсинии грамотрицательные (Митько, 1990), следовательно, имеют различные по химическому строению поверхностные структуры, поэтому и механизм взаимодействия этих бактерий с гуминовыми и фульвокислотами может быть различным.

Таким образом, на жизнеспособность и размножение листерий и иерсиний в автоморфных почвах оказывает влияние фракционный состав гумусовых веществ почв, а также температура окружающей среды и штаммовые характеристики самих бактерий. При этом фульвокислоты более активно, по сравнению с гуминовыми кислотами, стимулируют рост листерий, вне зависимости от того из каких почв они выделены. Размножение иерсиний одинаково активно стимулируется различными фракциями гуминовых и фульвокислот не зависимо от типа почв.

3.1.5. Влияние минеральных удобрений на размножение *Listeria monocytogenes* и *Yersinia pseudotuberculosis*

Наиболее часто *L. monocytogenes* и *Y. pseudotuberculosis* выделяют из сельскохозяйственных культур и пахотных почв (Кузнецов, 1983; Гершун, 1988), которые, как правило, удобряются. Известно положительное влияние оптимальных доз минеральных удобрений на питательный режим почвы, ее агрохимические и биологические свойства. При этом увеличивается численность различных групп почвенных микроорганизмов, повышается ферментативная активность почвы и интенсивность продуцирования почвенной углекислоты (Минеев, Ремпе, 1990).

В связи с этим следовало выяснить влияние минеральных удобрений на жизнедеятельность патогенных бактерий. Поэтому был поставлен эксперимент,

в котором использовали азотное ($\text{CO}(\text{NH}_2)_2$), фосфорное (Ca_2HPO_4) и калийное (K_2CO_3) удобрения путем добавления их в бурую лесную и буро-подзолистую почвы, а также штаммы «А», «П», «К», 10СН, 1А, 4В *L. monocytogenes* и штаммы шт. Н-557, 282, 512, 907, Н-2781, Н-3515 *Y. pseudotuberculosis*.

В результате исследований было установлено, что вносимые в почву удобрения оказывают положительное влияние на рост и размножение иерсиний и листерий. Так, внесение минеральных удобрений в бурую лесную почву способствовало увеличению максимальной концентрации роста исследуемых бактерий на 3-4 lg по сравнению с почвой, не содержащей удобрений. Очевидно, что в данном случае значительную роль играет кислотность среды этого типа почв, которая имеет низкие значения для размножения листерий - 5,85 (оптимальным для роста листерий являются рН 7,0 - 7,4). Дополнительное внесение удобрений в эту почву увеличивает рН среды до оптимальных значений для роста исследуемых бактерий. Отмечено интенсивное размножение исследуемых бактерий в буро-подзолистой почве, как в опыте (с удобрениями), так и в контроле (почва без удобрения), однако в опыте наблюдалась тенденция к увеличению роста популяции исследуемых бактерий на 2-2,5 lg по сравнению с контролем. Динамика размножения иерсиний и листерий в почвах с различными видами удобрений, при температуре 4-6⁰С и 20-22⁰С, на примере штамма П *L. monocytogenes* и штамма 282 *Y. pseudotuberculosis*, представлена на рисунках 3.9-3.10. Как видно, наибольший рост всех популяций исследуемых бактерий наблюдался в опытах с азотным удобрением не зависимо от типа почвы. Все варианты опыта с удобрениями можно расположить по степени их положительного влияния на рост и размножение патогенных бактерий: почва с азотным удобрением > почва с фосфорным удобрением > почва с калийным удобрением, независимо от типа почв. При этом следует отметить, что были получены одинаковые результаты, как для холодных, так и для теплых вариантов опыта. Так, штамм П *L. monocytogenes* преимущественно размножался в присутствии азотного и

фосфорного удобрений (5,2–4,3 lg соответственно), а в присутствии калийного удобрения рост бактерий достигал максимального значения 3,8 lg. Относительно иерсиний, штамм 282 *Y. pseudotuberculosis* в опытах с азотным и фосфорным удобрениями достигал максимальной концентрации 6,8 lg и 6,5 lg (соответственно), а в опыте с калийным удобрением 4,1 lg.

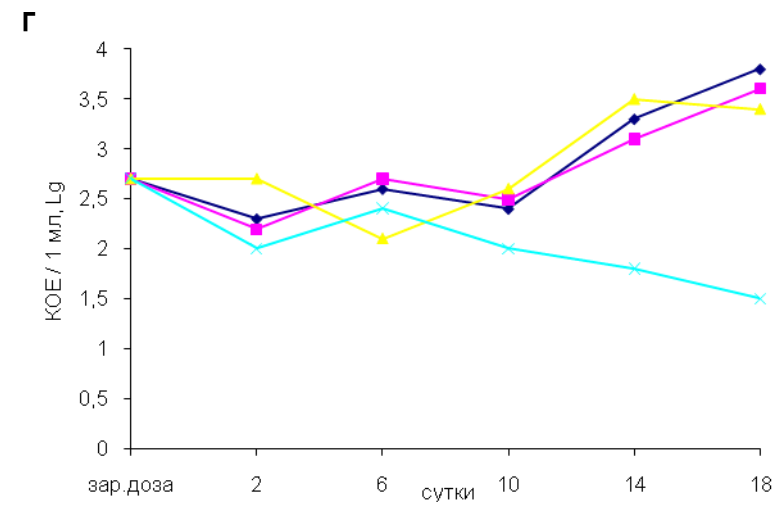
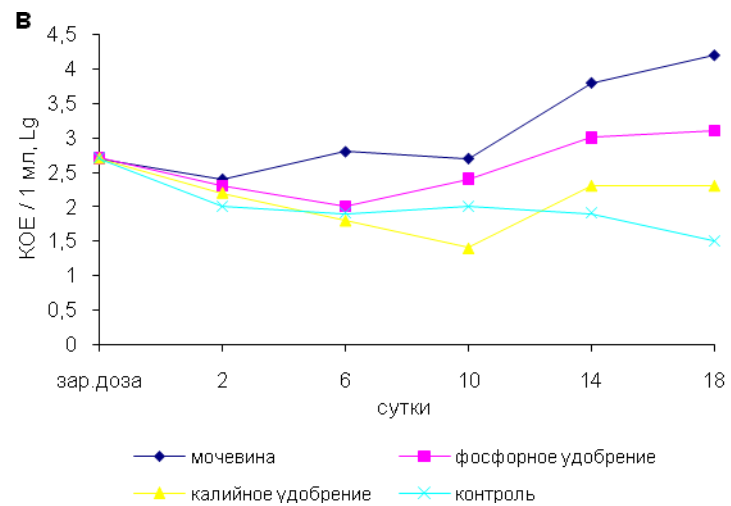
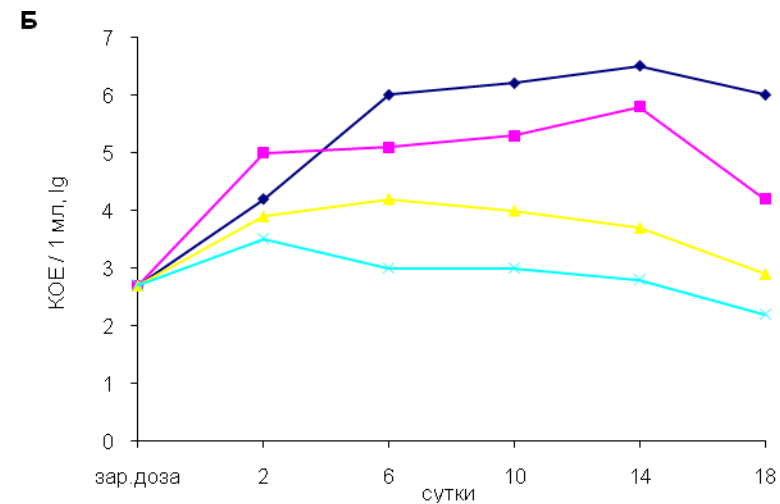
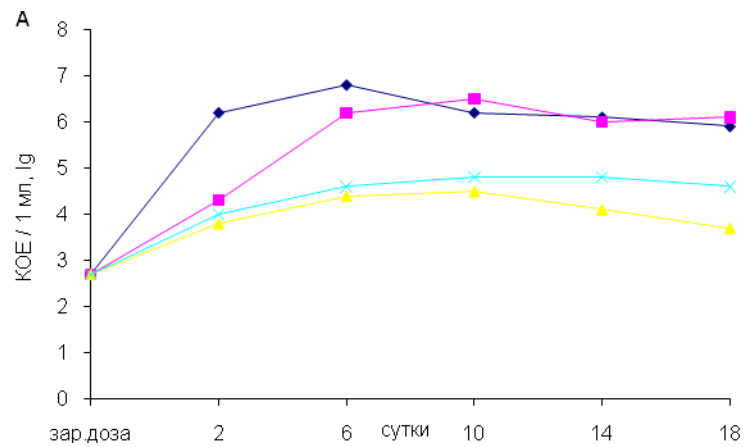


Рис. 3.9. Динамика размножения *Y. pseudotuberculosis* шт. 512 при 20-22⁰С в буро-подзолистой (А) и в бурой лесной (Б) почвах с различными видами удобрений; при 4-6⁰С в буро-подзолистой (В) и в бурой лесной (Г) почвах с различными видами удобрений (n = 5).

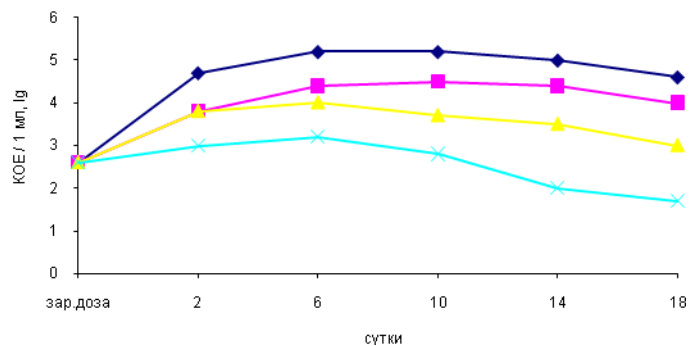
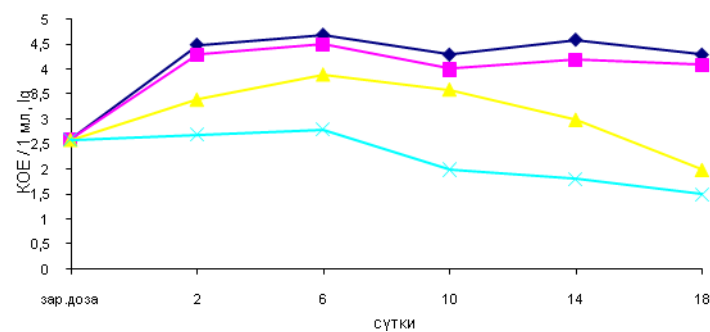
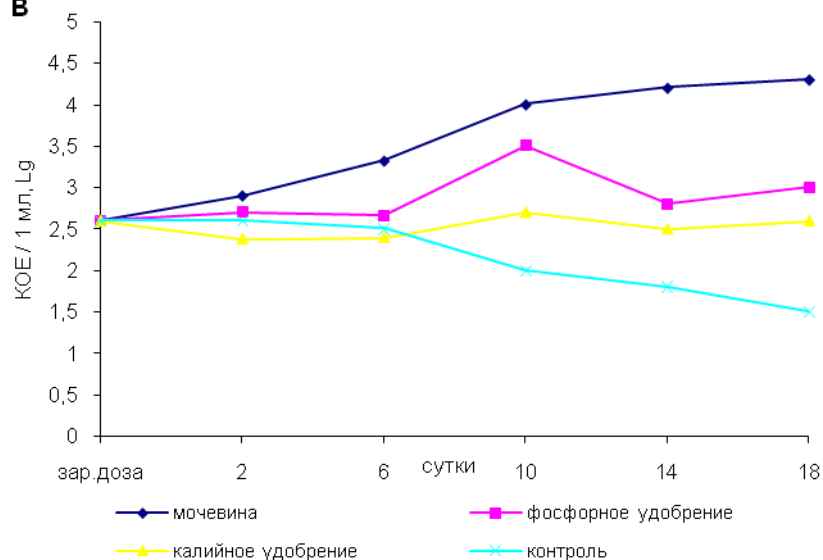
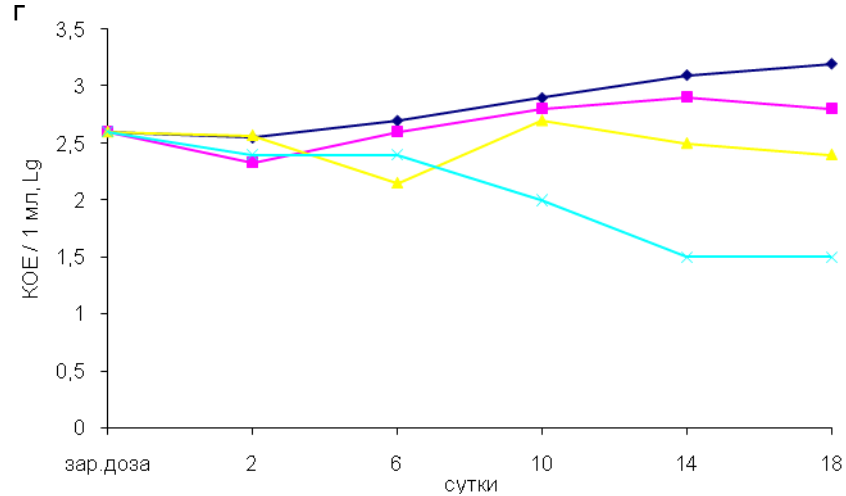
А**Б****В****Г**

Рис. 3.10. Динамика размножения *L. monocytogenes* шт. П при 20-22⁰С в буро-подзолистой (А) и в бурой лесной (Б) почвах с различными видами удобрений; при 4-6⁰С в буро-подзолистой (В) и в бурой лесной (Г) почвах с различными видами удобрений (n=5).

Можно предположить, что внесение в почву фосфорного и азотного удобрений положительно сказывается на росте и размножении иерсиний и листерий, поскольку при этом выдерживаются оптимальные значения рН для размножения этих бактерий (рН 7,2-7,4). Менее благоприятно для роста листерий присутствие калийного удобрения, сильно подщелачивающего почву (рН до 10) (табл. 4.1). Известно, что азот и фосфор – исключительно важные биогенные элементы. Они входят в состав основных полимеров любой живой клетки - структурных белков и белков-ферментов, нуклеиновых и аденозинфосфорных кислот. Азот служит микроорганизмам материалом для образования аминных (-NH₂-) и иминных (-NH-) групп в молекулах аминокислот, пуринов и пиримидинов, нуклеиновых кислот и других веществ, которые входят в состав клетки. Фосфор входит в состав ряда важных органических соединений клетки (нуклеиновых кислот, фосфолипидов, коферментов и др.), используется в живых организмах в качестве аккумуляторов энергии, высвобождающейся в ходе окислительных процессов.

Кроме того, известно, что внесение минеральных удобрений усиливает минерализационную деятельность микроорганизмов и приводит к разложению органического вещества почвы (Мишустин, Перцовская, 1954; Михновская, 1981; Щапова, 1994). В результате увеличивается количество ионов кальция и магния, что по данным И.Л. Работновой и И.Н. Позмоговой (1994) является необходимым для нормального роста любых микроорганизмов.

Следует отметить, что температура оказывала влияние на культивирование *L. monocytogenes* и *Y. pseudotuberculosis* в почвах с удобрениями (рис. 3.9-3.10). Так, при температуре +20+22⁰С максимум размножения листерий (5,2 lg, буро-подзолистая почва) регистрировался на 6-е и 10-е сутки, тогда как при температуре +4+6⁰С только на 18 сутки (срок наблюдения) и достигало значений 3,8 lg (буро-подзолистая почва). Что касается иерсиний, то при температуре +20+22⁰С максимум размножения их (6,8 lg, буро-подзолистая почва) регистрировался на 6-е сутки, тогда как при температуре +4+6⁰С только

на 18 сутки (срок наблюдения) и достигало значений $4,2 \lg$ (буро-подзолистая почва).

Таким образом, активность размножения *L. monocytogenes* и *Y. pseudotuberculosis* в почвах при внесении в них удобрений зависела, прежде всего, от вида удобрения, а также от температуры среды и характеристики самих штаммов бактерий. Преимущество в этом случае имеют буро-подзолистые почвы и внесение таких удобрений как азотное или фосфорное, при температуре $+20+22^{\circ}\text{C}$. Длительность применения минеральных удобрений положительно влияет на сохранение и размножение иерсиний и листерий в почвах различных типов. Результаты опыта свидетельствуют о возможности существования и размножения патогенных бактерий в почвах с удобрениями.

3.2. Размножение патогенных бактерий в почвах гидроморфного ряда (морского побережья)

Согласно общепринятым статистическим данным, инфицированные патогенными бактериями рыба и панцирные обитатели моря вызывают 10,5 % всех заболеваний пищевого происхождения (Liston, 1990), что превышает долю мяса и птицы в странах (Япония, Индия, Куба, Исландия, Бангладеш, Англия), где морепродукты в рационе людей составляют 80 % (Шарма, 1999). По данным F.E. Ahmed (1992) реальный уровень заболеваемости значительно выше, т.к. 55% заражений, обусловленных контактом с морской средой или употреблением морских гидробионтов в сыром виде, имеют неустановленную этиологию.

Резервуарную роль морской среды и ее обитателей в отношении патогенных бактерий и вирусов признают многие авторы (Сталлибрасс, 1936; Тульчинская, Губанов, 1979; Ahmed, 1992; Olafsen, Mikkelsen et al., 1993). В настоящее время имеется значительное количество сообщений относительно обнаружения листерий в прибрежных морских водах и донных осадках (Colburn, Kausner et al., 1990; Ben Embarek, 1994; Papa, Arvanitidou-Vayiona et al.,

1996; Farber, Peterkin, 1991; Lone, 2001). Высеваемость листерий из морской воды по данным G. Lone (2001) составляет 33%. Так же есть работы, освещающие вопросы выживания *L. monocytogenes* и *Y. pseudotuberculosis* в морской воде (Grimes, 1991; Беленева, 1996). Установлено, что штаммы листерий и иерсиний, адаптированные к низким положительным температурам, размножаются в нестерильной морской (Терехова, Бузолева и др., 2002) и речной (Сидоренко, Терехова, 2003) воде при низких положительных температурах и сохраняются длительное время. При этом листериозный микроб сохраняет жизнеспособность в нестерильной морской воде – до 2-х месяцев, в морском льду – до 3 месяцев.

Листерии достаточно часто выделяют из широкого спектра морепродуктов. Так, в Исландии при оценке обсеменения морепродуктов возбудитель выявили в 56 % образцов сырой рыбы и в 9 % проб креветок (Hartemink, Georgsson, 1991). В Японии, по данным А. Nakama с соавторами (1992), а также Y. Kokubo (1991), 1,3-1,8 % рыбных продуктов обсеменены *L. monocytogenes*. В России при анализе рыбной продукции в торговой сети Санкт-Петербурга 39% проб были контаминированы листериозным микробом. (Дмитриева, Мухина и др., 2001). И.А. Беленева и Э.Ф. Масленникова (2002) сообщают о выделении *L. monocytogenes* из органов японо-морских двустворчатых моллюсков.

По мнению ряда исследователей листерии не являются автохтонными морскими обитателями, а инфицированность морской среды данными бактериями обусловлена выносом *L. monocytogenes* жидким и твердым стоком рек (Watkins, Sleath, 1981; Schwartzbrod, Papadopoulus et al., 1989; Grimes, 1991).

Таким образом, можно отметить, что возбудители сапрозоонозных инфекций, в частности листерии и иерсинии, способны длительно существовать и размножаться в морской воде. Но исследователи не проводили анализа размножения патогенных бактерий в почвах морского побережья, которые по своим свойствам и условиям формирования существенно отличаются от почв автоморфного ряда. Существуют разрозненные данные, указывающие на

возможность существования листерий и иерсиний в пахотных почвах, но об индикации этих бактерий из почв морского побережья ничего не известно.

На Дальнем Востоке России почвы морских побережий составляют значительную долю территории (около 10%). На юге региона, где ощущается ограниченность земельного фонда из-за недостатка выровненных пахотно-пригодных земель, равнины морских побережий вовлекаются в сельскохозяйственное использование.

Экономическая и экологическая ценность почв морских побережий широко признана. Первая связана с относительно большой плотностью населения в приморских районах (Сафьянов, 1978). В экологическом плане морские берега представляют собой места существования специфических биоценозов, сохранить которые становится все труднее из-за растущего антропогенного пресса. В настоящее время прибрежная и морская экосистемы активно используются человеком, многие населенные пункты Дальнего Востока тяготеют к береговой зоне. Это рыбные и торговые порты, сельскохозяйственные угодья, пляжи и места организованного и неорганизованного («дикого») туристического посещения (Костенкова, 1987). Поэтому велика вероятность инфицирования людей и животных сапозоонозными инфекциями, возбудители которых могут присутствовать в микробоценозах почв морского побережья.

В связи с этим возникла необходимость в изучении абиотических и биотических факторов почв морского побережья, оказывающих влияние на рост и размножение в них листерий и иерсиний. Это позволит выявить закономерности распространения *L. monocytogenes* и *Y. pseudotuberculosis* в почвах различного генезиса и экологических условий формирования и спрогнозировать рост и размножение возбудителей сапозоонозных инфекций в почвенных экосистемах морского побережья.

3.2.1. Характеристика почв морского побережья юга Дальнего Востока

Почвы равнинных морских побережий формируются преимущественно на аккумулятивных, т.е. созданных деятельностью моря, формах рельефа, которые сложены прибрежно-морскими либо измененными морем терригенными отложениями. Море оказывает мощное влияние на гидрологический режим почв прибрежных равнин. Сравнительно узкая полоса примыкающих к нему почв испытывает также существенное геохимическое воздействие, которое осуществляется несколькими путями и отсутствует на внутриконтинентальных территориях. Такие почвы часто, хотя и не всегда, засолены преобладающими в морской воде легко растворимыми солями. Химизм засоления от хлоридного до сульфатного, характер распределения солей по профилю самый разный. Среди глинистых минералов наиболее часто встречается каолинит и присутствует кварц (Шляхов, Костенков, 2000).

Строение и морфология равнинных прибрежных почв очень разнообразны. Поэтому в качестве общих можно лишь перечислить такие часто встречающиеся черты, как полная или частичная оглеенность профиля, что влечет за собой появление холодных тонов почвенной массы, охристых, ржавых пятен и прослоек; бесструктурность; слоистость, несвязанная с процессами почвообразования, следы полициклического педогенеза; наличие биогенных включений по всему профилю (раковины моллюсков, неразложившиеся растительные остатки); отсутствие или слабая выраженность минеральных генетических горизонтов нередко при хорошей выраженности органогенных (Шляхов, 1997).

Микроорганизмы, обитающие в почвах морского побережья, во многом определяют химизм среды своего обитания. Они ответственны за такие процессы как сульфат редукция, окисление серы и сульфидов, метаногенез и др. Роль фауны в генезисе морских почв существенно выше, чем в большинстве континентальных почв. Особенность ее в том, что она включает как

прибрежные морские, так и приморские наземные виды, связанные между собой пищевыми цепями.

Весь спектр почв морского побережья по С. А. Шляхову (1996) называется «талласосоли» (от греч. *thalassa* - море). Талласосоли - это группа типов почв, включающая слаборазвитые почвы на свежих морских отложениях. Талассосоли можно определить как не зональные почвы сравнительно узкой равнинной прибрежной полосы с травянистой растительностью, испытывающие современное разностороннее воздействие моря в результате, которого у них формируются специфические особенности морфологии и свойств. Талассосоли по степени гидроморфности можно разбить на три части на уровне подгрупп типов.

Почвы первой подгруппы распространены в литоральной зоне и проходят гидроаккумулятивную стадию почвообразования или, в терминах В.М. Фридланда (1981), являются синлитогенными талассосолями. Они традиционно носят наименование маршевых почв. Две другие подгруппы содержат постлитогенные почвы, не входящие в приливно-отливную полосу, но соответствующие всем критериям талассосолей. Они называются маритимными почвами (Шляхов, 1996).

Маршевые почвы образуются на прибрежно-морских отложениях под разреженными ассоциациями солетолерантных видов растительности, испытывают постоянное водонасыщение или периодическое затопление приливами в сочетании с близким стоянием вод, соли в почвенный профиль попадают с морскими приливными и грунтовыми водами.

Образцы маршевых почв были отобраны с глубины 0-10 см. Разрез расположен на северном побережье Амурского залива в 1 км восточнее пос. Тавричанка, на западном берегу устья р. Давыдовка, который представляет собой марш. На большинстве своей площади он лишен высшей растительности, встречаются отдельные кусты солеросов, местами образующие скопления, вся поверхность покрыта зелеными водорослями, кое-где - раковинами

двустворчатых моллюсков. Даже во время отлива часть марша занята морской водой.

Строение профиля аллювиально-маршевой примитивной почвы:

I. 0-10 см. Неоднородный, слоистый, состоит из угольно-черного ила и серого песка с примесью мелких ракушек и мелкой гальки, мокрый, переход резкий.

II. 10-21 см. Желто-охристо-бурый слой гальки и ракушечника с примесью мелкозема, который составляет по объему не более 10%, переход постепенный.

III. 21-40 см. Сизовато-буро-желтый слой гальки, ракушечника и песка. Галька слабо- и среднеокатаная, диаметром 1-5 см. Вода с поверхности.

Маритимные почвы образуются на грубообломочных (песок, галька) береговых морских отложениях под средне- и низкотравными луговыми группировками с колосником и разнотравьем, испытывают грунтовый гидроморфизм подстилающих пород, иногда нижней части профиля (ниже 50 см).

Образцы маритимных почв были отобраны с глубины 0-10 см. Разрез расположен на северном берегу залива Углового, в 1 км на юго-восток от ст. Совхозная. Вершина мезоповышения, непосредственно примыкающего к литорали, высотой примерно 1,5 м. Растительность представлена осоками, злаками, камышом, полынью.

Строение профиля маритимной луговой торфяно-перегнойной слабощелочной почвы:

AT 0-7 см. Бурый, сырой, задернованный, слаборазложившийся торф и опад трав со значительной примесью минерального материала, переход резкий.

T1g 7-51 см. Окраска пестрая: бурый хорошо разложившийся торф беспорядочно перемежается с черными минеральными участками, встречаются неразложившиеся растительные остатки, обильны сизые пятна.

T2g 51-80 см. Окраска очень неоднородна, но темнее, чем в вышележащем горизонте: бурый торф перемежается с сизовато-черной минеральной частью,

много мелких темно-охристых линз и прослоек, есть неразложившиеся растительные остатки и светлые желтовато-серые небольшие линзы мелкозернистого песка, переход заметный.

T3g 80-107 см. Сизовато-черный с темно-бурыми и желтовато-светло-серыми участками мелкозернистого песка. Встречаются охристые прожилки и неразложившиеся растительные остатки. Основная часть горизонта состоит из сильно разложившейся органики, связанной с уже неотличимыми от нее минеральными тонкодисперсными отложениями. Влажный, переход ясный.

T4g 107-136 см. Бурый, хорошо разложившийся торф, занесенный желтосизым мелкозернистым песком. В торфе сохранилась структура большинства растительных волокон, встречаются крупные неразложившиеся растительные остатки. Влажный переход резкий.

DG 136-170 см. Ярко-сизый мелкозернистый, немного заиленный песок. Встречаются отдельные неразложившиеся растительные остатки. Мокрый, уплотнен. Примерно с глубины 160 см в разрезе устанавливается вода, уровень которой меняется вместе с приливно-отливными колебаниями уровня моря. В разрезе ощущается запах сероводорода.

3.2.2. Влияние абиотических факторов почв морского побережья на размножение *L.monocytogenes* и *Y. pseudotuberculosis*

При проведении исследований использовались образцы маршевой и маритимной луговой почв (Приморский край, побережье залива Петра Великого), отобранные из верхнего (0-10 см) горизонта, а также штаммы «А», «П», «К», 10CN, 1А, 4В *L. monocytogenes* и штаммы Н-557, 282, 512, 907, Н-2781, Н-3515 *Y. pseudotuberculosis*

Для эксперимента из почвенных образцов были приготовлены 0,01 % суспензии, которые заражали суточными культурами патогенных бактерий в количестве 10^3 КОЕ/мл (по стандарту мутности). Исходная заражающая доза

бактерий при контрольном высеве из почвенной суспензии составила 2,1 lg КОЕ/мл. Исследования проводили при двух температурах: +4+6⁰С и +20+22⁰С.

В ходе экспериментов было установлено, что все исследуемые штаммы бактерий лучше всего размножались в маритимной почве, где их концентрация увеличивалась на 3,2 lg. В маршевой почве наблюдалось менее интенсивное размножение бактерий, увеличение численности которых не превышало 1,6 lg при заражающей дозе 2,1 lg. При этом иерсинии во всех вариантах опыта размножались более интенсивно, чем листерии. Кроме того, размножение листерий и иерсиний в почвах морского побережья зависело от индивидуальных особенностей штамма. Так, штамм «К» *L. monocytogenes* одинаково интенсивно размножался как в маршевой, так и в маритимной почве. Штамм Н-2781 *Y. pseudotuberculosis* интенсивно размножался в маршевой почве, при этом в маритимной почве численность микроорганизмов резко снижалась, и на восьмые сутки высевались единичные колонии (рис. 3.11).

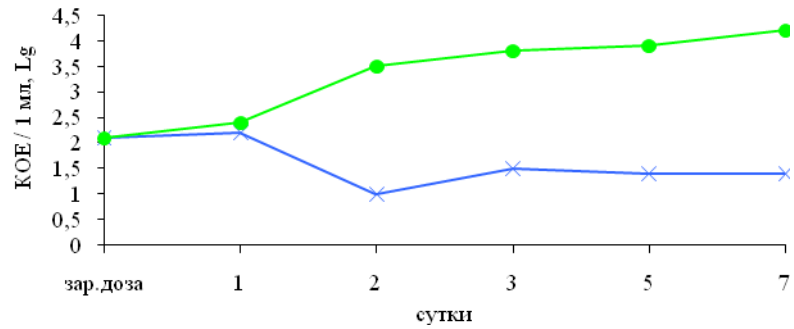
Как видно из рисунка 3.11, температура культивирования оказывала влияние на интенсивность размножения листерий и иерсиний, но не влияла на динамику размножения этих бактерий. Как листерии, так и иерсинии размножались менее интенсивно при температуре +4+6⁰С и более интенсивно - при температуре +20+22⁰С. Помимо индивидуальных особенностей штаммов бактерий, на размножение листерий и иерсиний в почвах морского побережья зависело от свойств самих почв. По величине рН водной вытяжки видно, что маршевая почва является слабокислой (рН = 6,1), а маритимная - нейтральной (рН = 6,76) (табл. 3.3.). Такие щелочно-кислотные условия среды благоприятны для размножения *L. monocytogenes* и *Y. pseudotuberculosis*.

Активное размножение листерий и иерсиний в маритимной почве, объясняется тем, что данная почва имеет более высокие показатели степени насыщенности основаниями (87,4%), емкости катионного обмена (46,1%), чем маршевая почва (85,99 % и 6,78 % соответственно) (табл. 3.3.). Это свидетельствует о том, что в маритимной почве более высокие концентрации

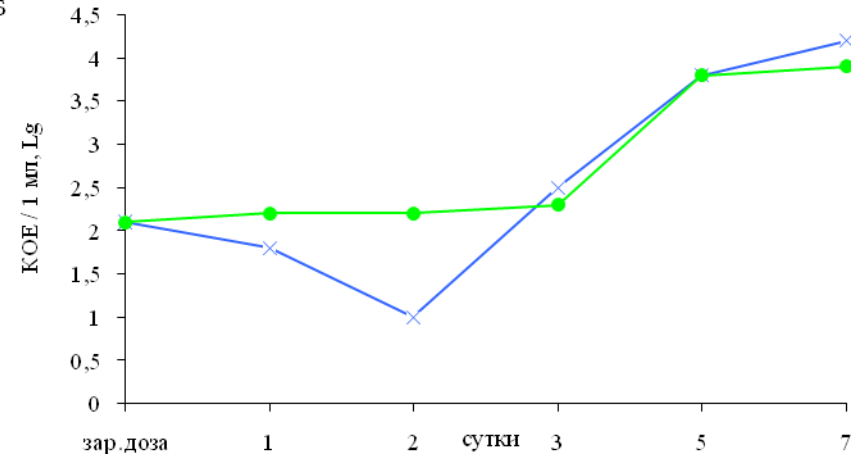
ионов кальция и магния, которые являются необходимыми для нормального роста и размножения патогенных бактерий. Как видно из таблицы 3.3, по содержанию обменных оснований маритимная почва превосходит маршевую: Ca^{2+} - 20 мг экв/100г почвы, Mg^{2+} - 5,2 мг экв/100г почвы; Ca^{2+} - 21,9 мг экв/100г почвы, Mg^{2+} - 8,7 мг экв/100г почвы соответственно.

Содержание гумуса, очевидно, является в этом случае одним из лимитирующих факторов при размножении патогенных бактерий в исследуемых почвах. Так, содержание гумуса маршевой почвы составляет 2,06%, маритимной - 5,43% (табл. 3.3). В связи с этим было исследовано влияние гумуса почв морского побережья на размножение патогенных бактерий. Для чего из этих почв были получены препараты гуминовых кислот в виде гуматов аммония. Результаты опыта, представленные на рисунке 3.12, показали, что *L. monocytogenes* и *Y. pseudotuberculosis* достаточно хорошо размножались как на гуматах маритимной луговой почвы (достигая размножения бактерий до 6 Lg *L. monocytogenes* шт. 10CN и 6,4 Lg - *Y. pseudotuberculosis* шт. 512), так и на гуматах маршевой почвы (до 5 Lg *L. monocytogenes* шт. 10CN - и 5,9 Lg - *Y. pseudotuberculosis* шт. 512), отдавая все же некоторое предпочтение гуматам, выделенным из маритимной луговой почвы (разница в 1 Lg у *L. monocytogenes* и 0,5 Lg у *Y. pseudotuberculosis* незначительна).

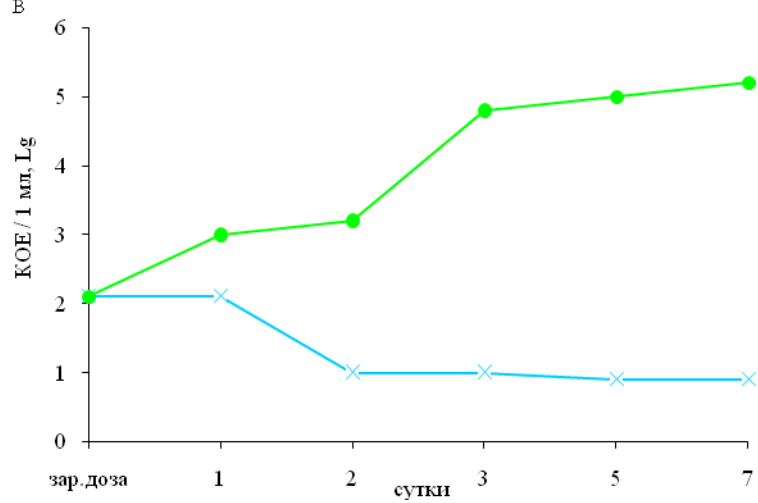
А



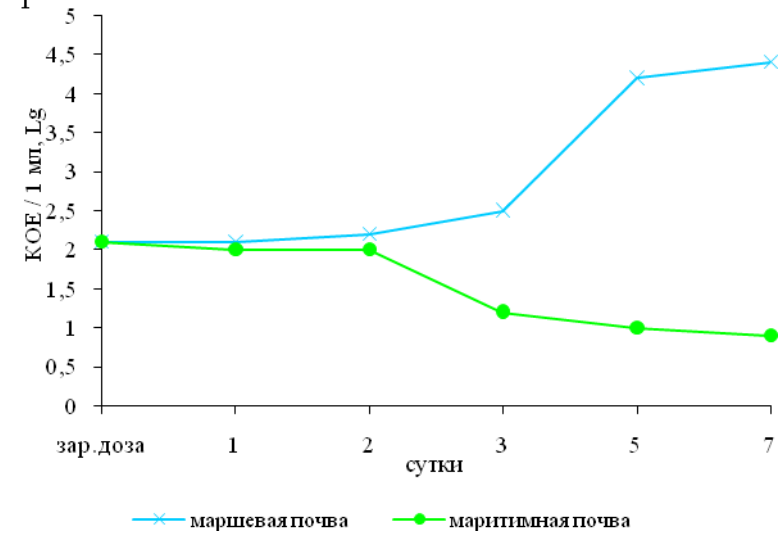
Б



В



Г



—×— маршевая почва —●— маршипимная почва

Рис. 3.11. Динамика роста *L. monocytogenes* шт. 10CN (А) и шт. К (Б) и *Y. pseudotuberculosis* шт. 907 (В) и шт. 2781 (Г) в почвах морского побережья (n = 5).

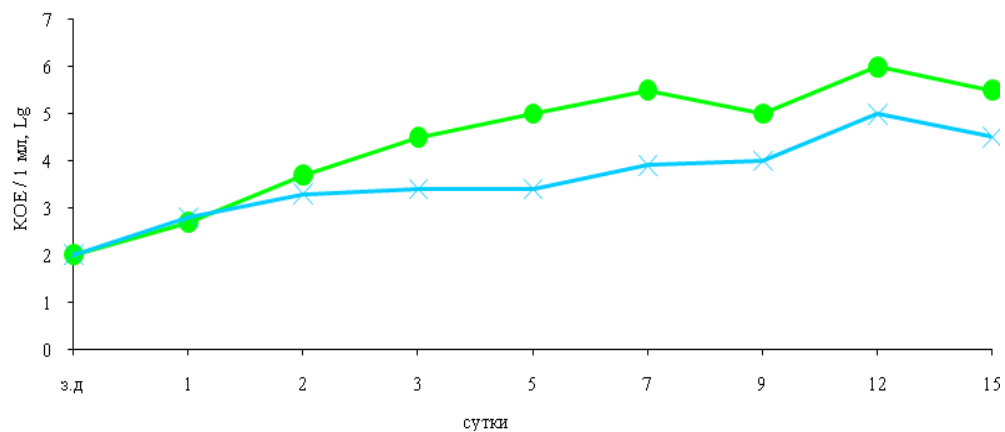
Таблица 3.3

Физико-химические и химические свойства почв морского побережья.

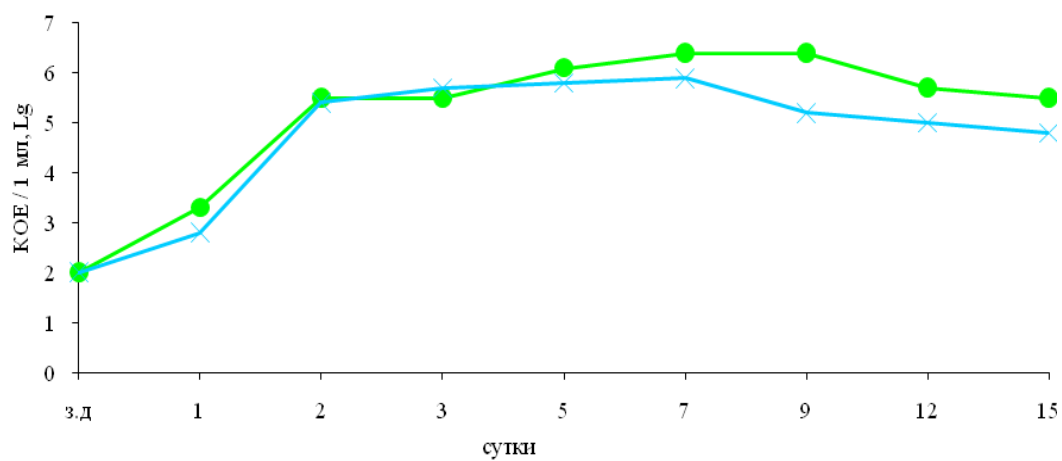
Почвы	рН		Обменная кислотность	Гидролитическая кислотность	Обменные основания		Емкость катионного обмена	Степень насыщенности основаниями, %	Гумус, %
	H ₂ O	KCl			Ca ²⁺	Mg ²⁺			
					мг экв/ 100г почвы				
Маршевая	6,01	5,20	0,10	0,95	3,74	2,09	6,78	85,99	2,06
Маритимная	6,76	6,08	0,16	5,83	31,2	9,05	46,08	87,35	5,43

Обобщая полученные данные, следует отметить, что жизнеспособность и размножение патогенной микрофлоры в почвах морского побережья, также как и в автоморфных почвах, зависит от таких характеристик как степень насыщенности основаниями, емкость катионного обмена, степень гумуссированности, а так же от штаммовых свойств самих бактерий и температуры внешней среды. Преимущество в этом случае имеют маритимные почвы с нейтральной реакцией среды, достаточным количеством гумуса и относительно высокой степенью насыщенности основаниями. Результаты экспериментов показали возможность существования и размножения патогенных бактерий в экосистемах морских побережий.

А



Б



● гуматы ННЗ маритимной луговой почвы

× гуматы ННЗ маршевой почвы

Рис. 3.12. Динамика роста *L. monocytogenes* шт. П (А) и *Y. pseudotuberculosis* шт. 512 (Б) на гуминовых препаратах почв морского побережья (n = 5)

ГЛАВА 4. БЕНТОНИТОВЫЕ ГЛИНЫ КАК МОДЕЛЬ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ВЛИЯНИЯ ОРГАНО-МИНЕРАЛЬНОГО КОМПЛЕКСА ПОЧВЫ НА РАЗМНОЖЕНИЕ ПАТОГЕННЫХ БАКТЕРИЙ

4.1. Характеристика бентонитовых глин как минерального и органического компонента почвы

Минералы группы монтмориллонита характеризуются выраженными ионнообменными, адсорбционными и коллоидными свойствами (Глоба и др., 1983; Эйриш и др., 1980). Ионнообменная способность бентонитовых глин определяется их структурными особенностями. Кристаллическая решетка монтмориллонита имеет непостоянный, колеблющийся состав слагающих его элементов $\text{Si}_8\text{Al}_4\text{O}_{20}(\text{OH})_4 \times n\text{H}_2\text{O}$, и представляет собой трехслойную структуру, в которой на два кремний-кислородных слоя приходится один алюмо-кислородно-гидроксильный слой. Эти слои удерживаются силами Ван-дер-Ваальса, что обуславливает слабую связь между ними и подвижность решетки монтмориллонита. В силу этого вода и другие полярные жидкости, проникая между слоями кристаллической решетки минерала, раздвигают последние на большие или меньшие расстояния в зависимости от количества поглощенной жидкости (Куковский, 1966; Мдивнишвили, Уридия, 1980). При этом атомы кремния способны легко обмениваться на катионы Al^{3+} , Fe^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} , Mg^{2+} и т.д., находящиеся во внешней среде (Комаров, 1977; Тарасевич, Овчаренко, 1975).

Замещение кремния в структуре минерала другими ионами металлов приводит к нескомпенсированности заряда структурной ячейки в целом, который и уравнивается адсорбированными обменными катионами. Эти катионы располагаются на базальной поверхности слоистых минералов и составляют около 80 % всей емкости катионного обмена (Мерабишвили, 1979; Овчаренко, 1961).

В растворах алюмосиликатных глин в ионном обмене принимают участие в основном коллоидные мицеллы. Внутренняя часть мицеллы представлена ядром, состоящим из алюмомагниевого и других силикатов (Круглицкий, 1968; Куковский, 1966). На поверхности ядра коллоидов расположены два слоя противоположно заряженных ионов. Внутренние, то есть находящиеся на ядре, ионы - потенциалопределяющие (отрицательный заряд), а внешние - компенсирующие (положительный заряд). Компенсирующие ионы являются обменными или поглощенными катионами, их сумма составляет емкость поглощения катионов (Тарасевич, Овчаренко, 1975).

Ядро вместе с потенциалопределяющими ионами образуют частицы, которые имеют отрицательный заряд. В большом объеме воды эти частицы находятся на определенном расстоянии друг от друга, что обусловлено электрическими зарядами, способствующими отталкиванию частиц и наличию водной оболочки, препятствующей их слипанию при столкновении (Головачева, 1978; Круглицкий, 1968).

Диспергирование глины до первичных ее частиц делает возможным получение высококоллоидных растворов, частицы которых остаются во взвешенном состоянии в течение многих месяцев. Высокая дисперсность в водной среде присуща особенно щелочным бентонитам, содержащим в качестве основного обменного иона натрия (Горбунов, 1967; Овчаренко, 1961). Так, у монтмориллонита, насыщенного натрием, пленка ориентированной воды может достигать толщины 100 \AA , что соответствует 35-40 молекулярным слоям. У монтмориллонита, насыщенного кальцием, толщина водной пленки - 15 \AA (Горбунов, 1971).

Не менее важное значение в обменных процессах имеет природа поверхности глинистых минералов, которая тесно связана со структурными особенностями монтмориллонитов и определяется набором активных центров, находящихся на поверхности кристаллов (Мерабишвили, 1979; Мдивнишвили, Уридия, 1980).

Вода оказывает значительное влияние на активность поверхности монтмориллонитов, так как вносит определенный вклад в распределение и строение активных центров поверхности твердой фазы. С поверхностными гидроксильными молекулами воды образуют связь типа водородной, а с другими адсорбционными центрами - типа координационной (Дубинин, 1967; Игнатъева и др., 1970; Овчаренко, 1961). Эти координационно-связанные молекулы воды сами становятся активными центрами при последующей адсорбции посредством водородных связей.

Наличие активных центров и сосредоточенного заряда на поверхности частиц глины способствует хемосорбции органических веществ, в молекулах которых имеются ненасыщенные электронные связи и активные функциональные группы.

Хемосорбция связана с существенной перестройкой электронных оболочек между адсорбирующей молекулой и поверхностью частиц глины с последующим образованием химического соединения. В этих случаях органические радикалы присоединяются к глинам либо через кислородный мостик ($\text{Si} - \text{O} - \text{R}$), либо образуется ковалентная связь непосредственно с атомом кремния ($\text{Si} - \text{R}$) в местах разрыва связей $\text{Si} - \text{O} - \text{Si}$ или $\text{Si} - \text{O} - \text{Al}$.

При химической адсорбции органическая молекула и решетка минерала образуют единую квантовомеханическую систему, которая рассматривается как единое целое (Агзамходжиев, 1979; Игнатъева и др., 1970).

При адсорбции органических веществ на поверхности бентонита наряду с хемосорбцией, имеет место физическая адсорбция. В последней принимают участие не отдельные активные центры, а вся свободная поверхность кристаллической решетки монтмориллонита. Эта адсорбция обусловлена Ван-дер-Ваальсовыми силами притяжения (Комаров, 1970; Мдивнишвили, Уридия, 1980).

Таким образом, отрицательный заряд и большая геометрическая неоднородность поверхности монтмориллонита, а также существование на ней

разнообразных по природе активных центров способствуют возникновению различных форм связей органических веществ с поверхностью глинистого минерала.

В естественных условиях глины являются своеобразными накопителями сложных и простых органических веществ. Д.С.Орлов (1981) подчеркивает, что в глинистых отложениях рассеяна основная масса органических соединений в природе, которые пребывают здесь как в свободном виде, так и связанные с минералами.

Поскольку глины являются структурными компонентами почвы, на наш взгляд, правомерно будет отождествить понятие органическое вещество бентонитовых глин и органическое вещество почвы с целью описания общей его характеристики.

Согласно классификации, принятой в почвоведении, к органическому веществу почвы относят так называемые «специфические», или собственно гумусовые вещества, и неспецифические соединения (аминокислоты, органические кислоты, полисахариды, жирные кислоты и др. (Кононова, 1963; Орлов и др., 1969) (рис. 4.1).

Гумусовые соединения широко распространены в природе. Они являются частью органического вещества почв, входят в состав минералов, углей, сланцев, встречаются в озерных и морских отложениях, в природных водах (Комиссаров и др., 1971; Орлов, 1974).

По данным J.A. Rise, P. Maccarthy (1988) их выделяют даже из таких нетрадиционных источников, как моллюски, волосы животных и человека, ткани органов животных.

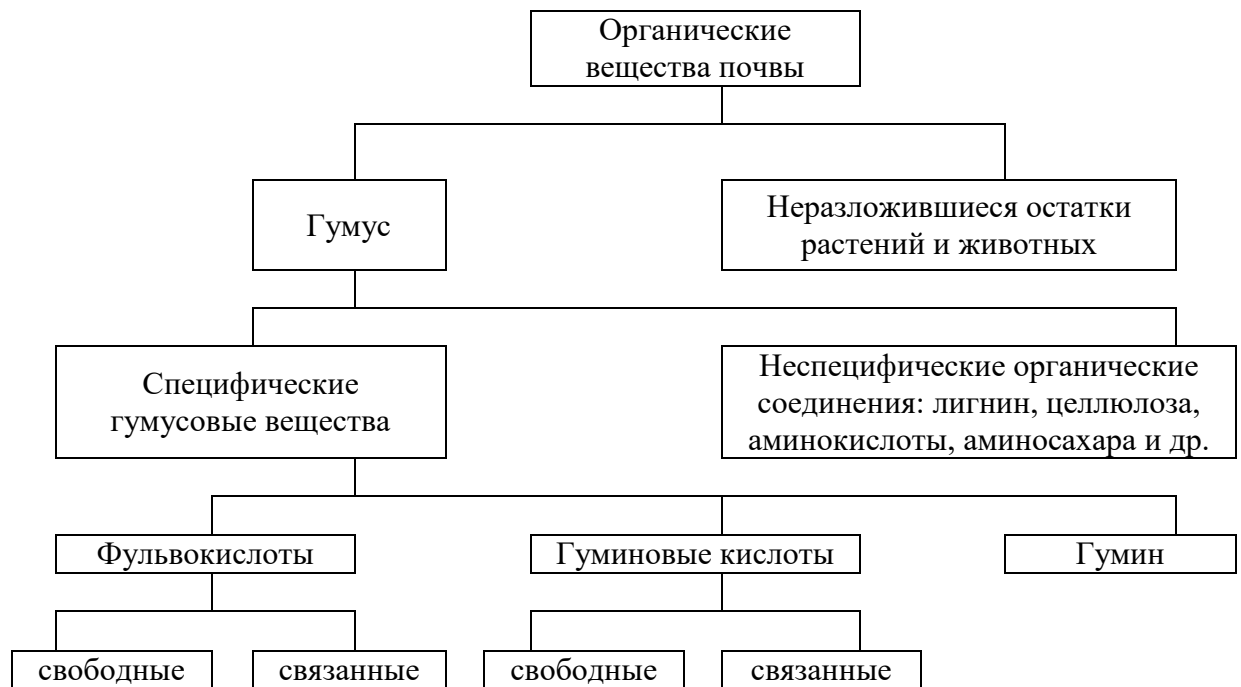


Рис. 4.1. Схема классификации органических веществ почвы.

Неоднородность условий образования гуминовых веществ является причиной известного их многообразия. Тем не менее, гуминовые кислоты можно считать относительно стабильной формой органического материала в почвенных условиях, так как при гумификации происходит своеобразный естественный отбор, когда непрочные энергетически богатые органические вещества быстро разлагаются почвенными микроорганизмами и усваиваются ими, а более прочные соединения сохраняются значительно дольше в почве (Кононова, 1970).

Постоянство содержания и состава гумуса – очень важное свойство почвы, в какой-то степени, ее паспорт. Погодные условия мало влияют на состав и содержание гумуса в ней (Фокина, 1986). Кроме того, по данным А.Д.Фокина (1986), полимерные молекулы гумуса могут обменивать отдельные компоненты своих молекул на другие молекулы органического вещества почвы.

История изучения гумусовых веществ уходит своими истоками в начало прошлого столетия. Основные этапы исследования и формирование представлений о природе гуминовых веществ в достаточной мере освещены в

ряде монографических работ (Александрова, Найденова, 1970; Кононова, 1963; Орлов, 1974). Поэтому, очевидно, нет смысла подробно описывать эти соединения. Обозначим лишь основные понятия, необходимые для дальнейшего обсуждения. В настоящее время гумусовые вещества принято разделять на гуминовые кислоты, фульвокислоты и гумин. Гуминовые кислоты представляют собой гетерополиконденсаты со свойствами оксикислот, содержащие в боковых алифатических цепях различные функциональные группы. Они имеют неодинаковый размер молекул и различную степень их уплотненности (Кононова, 1963; Cailler, Veser, 1988). Соотношение ароматических структур и алифатических цепей имеет определенную зависимость от вида исходного сырья, из которого выделяют гуминовые кислоты (почва, уголь, минералы и др.) (Комиссаров и др., 1971).

Молекулы гуминовых кислот не являются компактными, а имеют рыхлое, «губчатое» строение с множеством внутренних пор. Эти черты строения в значительной мере определяют водоудерживающую и сорбционную способность гуминовых кислот. Важным свойством последних является гидрофильность, которая зависит от соотношения в молекулах ароматических сеток углерода, обладающих гидрофобными свойствами, и боковых цепей, несущих гидрофильные группы. Этим соотношением определяются гидрофильные свойства гуминовых кислот в целом (Орлов, 1974; Chevolut, 1988). Наличие гидрофильных групп определяет склонность гумусовых веществ к образованию внутрикомплексных соединений (хелатов) с поливалентными катионами, а также с глинистыми частицами (Visser, Caillier, 1988).

Принципиально важное значение, на наш взгляд, имеет обнаружение у гуминовых кислот явлений электронного и парамагнитного резонанса. В связи с этим И.Д. Комиссаровым (1971) было высказано предположение, что, электронный парамагнетизм является фундаментальным свойством всех гуминовых веществ, и определяет их биологическую активность.

Известно, что гуминовые кислоты имеют некоторое сходство с фульвокислотами, которые также имеют ароматическое строение, содержат метоксильные и карбоксильные группы (Кононова, 1963; Rashid, King, 1969). Но, в отличие от гуминовых кислот, фульвокислоты слабо ароматизированы и в их структуре преобладают в основном боковые радикалы. В силу этого фульвокислоты являются более простыми соединениями по сравнению со сложноорганизованными молекулами гуминовых кислот (Кононова, 1968, 1970).

Помимо гуминовых и фульвокислот в группу специфических органических веществ почвы также входит гумин, так называемый негидролизуемый остаток. Последний по химическому составу и свойствам близок к гуминовым кислотам, но в отличие от них не растворяется ни в воде, ни в растворах щелочей (Орлов, 1974). Кроме того, негидролизуемый остаток в отличие от гумусовых кислот может содержать и неспецифические соединения, например, аминополисахариды (Saiz-Jimenez et al., 1978).

Как было отмечено ранее, помимо гумусовых веществ органическое вещество почвы включает так называемые «неспецифические» соединения, которые представлены различными группами жирных и органических кислот, моносахаров, аминокислот, фосфора и азотсодержащих производных (Кононова, 1963, 1968). Содержание этих соединений в почве постоянно колеблется и сравнительно невелико. Но это не умаляет их значения как биологически активных веществ почвы, так как многие их свойства (питание, стимуляторы, ингибиторы роста организмов) проявляются именно в малых дозах.

Таким образом, присутствие большого разнообразия органических веществ в почвах дает основание предполагать наличие их и в бентонитовых глинах. Это обусловлено обоюдной способностью гумусовых веществ и монтмориллонитовых частиц, входящих в состав бентонитовых глин, к комплексному связыванию друг с другом. Возникновению различных форм

связей органических веществ с поверхностью глинистого минерала способствуют как гидрофильные группы гумусовых веществ, так и активные центры, расположенные на поверхности бентонитовых частиц.

4.2. Питательная среда на основе бентонитовых глин для культивирования патогенных бактерий

Бентонитами принято называть алюмогидросиликатные глины вулканического происхождения, состоящие на 70-90 % из минералов группы монтмориллонитов (Эйриш и др., 1980; Ross, Hendriks, 1945). Как правило, они являются продуктами выветривания многих минералов, происходящего под действием воды, углекислоты, гуминовых кислот, и их состав может быть выражен общей формулой – $nAl((OH)_3 \times nH_2O \times mSiO_2)$ (Комаров, 1970).

Бентонитовые глины нередко образуют крупные месторождения, имеющие промышленное значение. Некоторые из них известны на территории Дальнего Востока: Вахрушевское (Южный Сахалин), Подкаирное (Камчатская область), Усть-Ургальское (Хабаровский край), Первомайское (Магаданская область), Устиновское (Приморский край) (Григорович, Кирсанов, 1972; Петров, 1980). Кроме того, эти минералы широко распространены в почвах, морских осадках, взвешенных веществах рек и озер, где они встречаются в смеси с так называемыми неглинистыми минералами (пирит, гипс, кальцит, кварц и т.д.) (Методы..., 1984).

Следует отметить, что наряду с неорганическими соединениями бентониты содержат органические вещества, представленные гумусовыми и простыми органическими соединениями: аминокислоты, органические кислоты, липиды, моносахара и т.д. (Хан, 1950; Эйриш и др., 1980).

В связи с этим принято считать, что бентонитовые глины являются сложными многокомпонентными системами и состоят из ассоциации глинистых и неглинистых минералов, включающие органические и неорганические

вещества (Цуринов, 1949; Tanihara, Sejama, 1978). Поэтому необходимо охарактеризовать как минеральный (монтмориллонит), так и возможные органические (гумусовые вещества, простые соединения) компоненты бентонитовых глин.

4.2.1. Поиск оптимальных физико-химических условий для культивирования бактерий

Отправным моментом, обеспечивающим возможность изучения эффективности бентонитовых глин для диагностики кишечных инфекций, является создание на их основе бифазных сред накопления.

В настоящее время достаточно хорошо изучена способность бентонитов стимулировать развитие почвенных бактерий и грибов в зависимости от концентрации используемого минерала, его физико-химических свойств и условий взаимодействия с микроорганизмами. Судя по доступным данным литературы, с патогенными бактериями такие исследования не проводились.

Направление по изучению эффективности алюмосиликатных глин в микробиологических исследованиях получило развитие в основном на основе использования минералов монтмориллонитовой группы, к которым относится бентонит. Последний не является однородным по гранулометрическому составу и требует применения фракционирования глин методом отмучивания. Эта методика, используемая в почвоведении в качестве критерия для характеристики структуры почвы, в нашем случае применена для приготовления бентонитовых сред на основе различных фракций его частиц с целью изучения их эффективности в отношении размножения патогенных бактерий.

Эффективность бифазных бентонитовых сред накопления зависит не только от особенностей бентонитов и микроорганизмов, но и от целого ряда других факторов, таких как способ очистки глинистых пород, концентрация исходной бентонитовой суспензии и размер ее частиц, реакция среды (рН), окислительно-

восстановительный потенциал, температурный режим культивирования, а также наличие в среде питательных минеральных веществ и факторов роста. В связи с этим для выбора оптимального варианта методики получения бентонитовых сред накопления мы провели оценку комплексного влияния указанных факторов на процессы размножения некоторых патогенных бактерий семейства *Enterobacteriaceae*.

Учитывая важность рассматриваемого вопроса, мы предприняли попытку разработать принципиально новый способ создания бифазных сред накопления на основе бентонитов, позволяющий использовать глины различных месторождений, в том числе Приморского края, для культивирования патогенных кишечных бактерий.

Размер и концентрация частиц бентонита

Разработка методики получения бентонитовых сред накопления проводилась, в основном, на примере глин Огланлынского месторождения (Туркменистан) и Устиновского (Приморский край, Россия).

Для приготовления бифазных бентонитовых сред на основе дистиллированной воды и фосфатного буфера использовали нефракционированный бентонит и фракции его частиц. Для получения последних исследовали гранулометрический состав глин по методу отмучивания Н.А. Качинского (1958), эффективность которого зависит от предварительной подготовки образцов. Поэтому перед отмучиванием была выполнена активация природных минеральных сорбентов двумя способами: физическим (Горбунов, 1971) и химическим (Качинский, 1958), предусматривающими пептизацию всех агрегатов и создание условий для разделения глины на составляющие ее частицы.

В результате были получены фракции частиц бентонита с размерами: 0,1; 0,05; 0,001мм (монтмориллонитовая фракция). Контроль за стандартизацией частиц осуществляли с помощью винтового окулярного микроскопа и окулярной

линейки (микрометра МОВ-1-15). В экспериментах использовали следующие концентрации полученных частиц: 2; 1; 0,5; 0,25; 0,125%.

Для определения оптимальных параметров бентонитовой среды было изучено 45 серий препаратов, включающих 5 вариантов концентраций бентонита (от 2% до 0,125%) и 3 варианта размеров его частиц: 0,1 (частицы примесей неглинистого происхождения); 0,05 мм (глинистые частицы с примесями частиц неглинистого происхождения), 0,001 мм (истинные глинистые частицы - монтмориллонитовая фракция). Качество полученных бентонитовых сред оценивали по их эффективности в отношении размножения в них бактерий кишечной группы.

В результате проведенных исследований установлено, что оптимальным вариантом для культивирования *Shigella sonnei* и *Salmonella enteritidis* оказались среды с бентонитовыми частицами размером 0,001 мм, для псевдотуберкулезного микроба - 0,05 мм (в 1% концентрации Устиновский бентонит и 0,25% - Огланлынский). В качестве иллюстрации в таблицах 4.1, 4.2 приведены результаты, полученные в эксперименте с *Shigella sonnei*.

Судя по данным этих таблиц, интенсивность размножения *S. sonnei* на бентонитовых средах с частицами размером 0,001 мм увеличилась на 2,5 lg по сравнению с контролем ($P < 0,01$), в то время как на средах с частицами размером 0,1-0,05 мм и нефракционированной глиной только на 0,1-1 lg соответственно ($P > 0,05$).

Эффективное действие монтмориллонитовой фракции на ускорение процессов размножения подтверждается работами ряда авторов на примере почвенных микроорганизмов (Stotzky, Rem, 1967; Stotzky, 1966). G. Stotzky (1966) отмечает высокую катионообменную емкость и сорбционную активность у этих частиц, что способствует адсорбции на их поверхности различных органических веществ. По мнению Д.Г. Звягинцева (1987) монтмориллонитовые частицы, концентрируя на своей поверхности органические вещества из

окружающей среды, являются основными поставщиками последних для почвенных микроорганизмов.

Эти данные нашли подтверждение в наших экспериментах. Судя нефракционированный бентонит по результатам, представленным в таблице 4.3, монтмориллонитовая фракция частиц размером 0,001 мм отличается от других фракций повышенным содержанием органических веществ. Это обстоятельство, возможно, способствовало интенсификации процессов размножения шигелл и сальмонелл в бентонитовых суспензиях с этими частицами.

Таблица 4.1.

Влияние размера и концентрации частиц Устиновского бентонита на размножение *Shigella sonnei*.

Размер частиц, мм	Концентрация частиц, %	Заражающая доза, Lg в 1 мл	Количество бактерий			
			1 сутки, Lg	2 сутки, Lg	3 сутки, Lg	4 сутки, Lg
0,1	1	1,7	1,11	5,60	5,50	6,49
0,1	0,5	1,6	0,50	2,30	4,90	5,40
0,1	0,25	1,3	0,50	2,90	4,30	4,00
0,1	0,125	1,2	2,01	3,07	4,30	4,40
0,5	1	1,6	0,97	2,01	5,59	5,80
0,5	0,5	0,9	1,88	2,62	5,85	5,95
0,5	0,25	1,1	1,86	2,60	5,43	6,10
0,5	0,125	1,6	1,54	2,80	5,32	6,39
0,001	1	1,3	4,85	6,12	7,90	7,49
0,001	0,5	1,6	3,61	5,48	7,54	6,60
0,001	0,25	1,6	4,13	5,70	7,20	6,00
0,001	0,125	1,2	4,56	5,67	7,52	6,00
цельн.	1	0,8	1,90	3,00	3,40	4,90
цельн.	0,5	0,9	1,00	2,90	3,80	3,80
цельн.	0,25	1,0	1,96	5,67	5,84	5,89
цельн.	0,125	1,0	2,10	5,18	6,62	6,71
контроль, ФСБ (рН 7,4)		1,1	4,64	5,02	5,45	5,08

ФСБ – фосфатно-солевой буфер, **цельн.** – нефракционированный бентонит

Таблица 4.2.

Влияние размера и концентрации частиц Огланлынского бентонита на размножение *Shigella sjnnei*.

Размер частиц, мм	Концентрация частиц, %	Заражающая доза, Lg в 1 мл	Количество бактерий			
			1 сутки, Lg	2 сутки, Lg	3 сутки, Lg	4 сутки, Lg
0,1	1	1,8	5,04	5,90	5,53	5,28
0,1	0,5	1,7	4,00	6,20	5,11	5,23
0,1	0,25	1,6	4,20	6,00	5,32	6,10
0,1	0,125	1,5	4,60	6,10	4,90	5,83
0,5	1	1,8	4,50	5,80	4,47	5,19
0,5	0,5	1,8	4,40	5,90	5,32	5,76
0,5	0,25	1,5	4,00	6,00	6,30	6,42
0,5	0,125	1,6	4,10	5,80	5,64	6,57
0,001	1	1,8	5,09	6,48	5,34	6,40
0,001	0,5	1,9	5,18	6,92	5,90	6,40
0,001	0,25	1,8	5,12	7,40	7,69	7,20
0,001	0,125	1,7	4,10	6,48	5,26	5,95
цельн.	1	1,8	4,30	5,90	4,69	5,88
цельн.	0,5	2,0	4,30	5,48	5,36	5,21
цельн.	0,25	1,9	4,00	5,92	6,06	5,79
цельн.	0,125	2,0	4,47	6,10	5,43	5,90
контроль, ФСБ (рН 7,4)		1,7	4,95	5,64	5,08	5,16

ФСБ – фосфатно-солевой буфер, **цельн.** – нефракционированный бентонит

Такая же корреляционная связь прослеживается между процентным содержанием органических веществ в бентонитах разных месторождений (табл.4.4) и скоростью размножения бактерий на этих бентонитовых средах (рис. 4.2).

Кроме того, в результате наших исследований было установлено, что бентонитовая суспензия с монтмориллонитом обладает наиболее высоким окислительно восстановительным потенциалом (Eh 301 - для Устиновского бентонита, Eh 384 - для Огланлынского) по сравнению с другими фракциями бентонита (табл. 4.4), что указывает на повышенную активность метаболических процессов (Костенков, 1987).

Таблица 4.3

Физико-химическая характеристика бентонитовых фракций.

фракции бентонита (1 % конц)	влажность, %	органические вещества, %	выход фракций	pH	Eh, мВ
Устиновский, цельный	3,0	6,38	100	8,4	284
Устиновский 0,1мм	3,0	4,52	38,5	7,4	269
Устиновский 0,05мм	3,0	4,74	38,0	8,8	253
Устиновский 0,001 мм	3,5	6,28	23,4	8,7	301
Огланлынский цельный	6,0	7,90	1010	8,3	371
Огланлынский 0,1мм	6,5	6,19	43,8	8,7	241
Огланлынский 0,05 мм	7,5	5,72	32,7	8,9	238
Огланлынский 0,001 мм	5,0	8,60	23,5	8,6	384

Таблица 4.4

Химический состав бентонитов.

Вид бентонита (по месторождению)	элементы, %										Органическое вещество, %
	Si	AL	Fe	Mn	P	Ca	Mg	S	Na	K	
Анивский	29,5	8,62	2,09	0,56	0,06	1,50	0,93	-	1,04	0,17	5,57
Усть-ургальский	26,6	9,20	2,03	0,05	0,73	1,29	0,83	-	0,89	1,74	6,18
Огланлынский	25,6	8,09	1,68	0,02	0,27	3,12	1,30	0,01	1,31	0,45	7,33
Аскангель	26,2	9,53	1,94	-	0,11	0,86	2,35	0,17	3,04	1,49	5,58
Устиновский	30,7	7,65	2,36	0,05	0,17	1,67	0,52	-	1,44	1,30	6,50

Необходимо отметить избирательное отношение исследуемых бактерий к частицам определенного размера. Так, если шигеллы и сальмонеллы более активно размножались в бифазных средах с частицами бентонита размером 0,001 мм, то иерсинии предпочитали среды с частицами размером 0,05 мм. На

этих средах количество псевдотуберкулезного микроба на 3 сутки роста было на 2 lg выше по сравнению с фосфатным буфером (рН 7,4) и на 1,5 lg выше, чем на средах, содержащих в качестве твердой фазы частицы размером 0,001 мм или цельный бентонит ($P < 0,01$). Эффективность бентонитовых сред с частицами размером 0,05 мм в отношении размножения иерсинии, возможно, объясняется молекулярными аспектами адсорбции бактерий на твердых поверхностях.

Д.Г. Звягинцевым (1987) экспериментально доказано, что механизм адсорбции различен в зависимости от размеров частиц и вида бактерий (Звягинцев, 1973). Аналогичные данные получены К.С. Marshall (1967), который утверждает, что тип ионогенной поверхности бактериальной клетки (однородная - карбоксильная; комплексная - карбоксиламинная) оказывает заметное влияние на ее взаимодействие с частицами монтмориллонита.

В частности, значительно большее количество бентонитовых частиц адсорбируется клетками с однородной поверхностью, в результате чего полное обволакивание бактерий глиной имеет отрицательные последствия, так как затрудняет протекание многих физиологических процессов (Marshall, 1968). Комплексная (карбоксиламинная) поверхность клетки способствует мозаичному распределению на ней бентонитовых частиц, что дает возможность клетке осуществлять активный газообмен с окружающей средой (Marshall, 1968). Так как шигеллы и сальмонеллы интенсивно размножаются в монтмориллонитовых средах, можно предположить наличие у них 2-го типа взаимодействия частиц с бактериями, а у иерсиний - 1-го (рис. 4.3). Очевидно, адсорбция последних в крупных порах частиц размером 0,05 мм дает определенные преимущества иммобилизованным бактериальным клеткам в обеспечении их питательными веществами (Горбунов, 1967; Navarre, Durand, 1981), а также не препятствует активному газообмену псевдотуберкулезного микроба. Следовательно, на характер взаимодействия бактерий с бентонитовыми частицами может оказывать влияние не только размер последних, но и тип ионогенной

поверхности микробной клетки, что также необходимо учитывать, исследуя процессы размножения кишечных бактерий в бентонитовых средах.

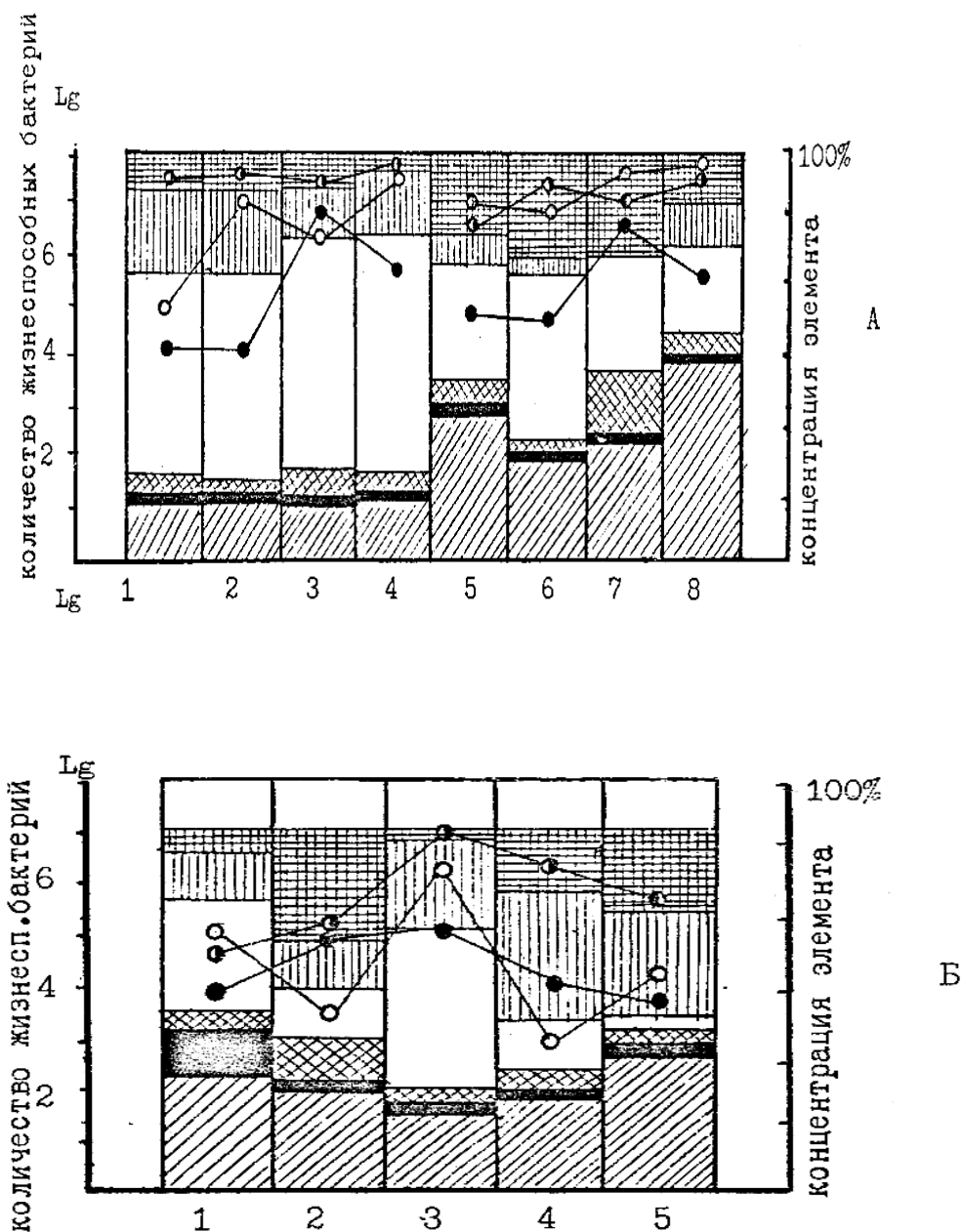


Рис. 4.2. Эффективность размножения энтеробактерий *S. enteritidis* (-o-), *Y. pseudotuberculosis* (-●-), *S. sonnei* (-○-) в различных бентонитовых средах.

А: 1 - Огланлы целый, 2 - Огланлы 0,1 мм, 3 - Огланлы 0,05 мм, 4 - Огланлы 0,01 мм, 5 - Устиновский цельный, 6 - Устиновский 0,1 мм, 7 - Устиновский 0,05 мм, 8 - Устиновский 0,01 мм

Б: 1 - Анивский, 2 - Усть-Ургальский, 3 - Аскангель, 4 - Устиновский.

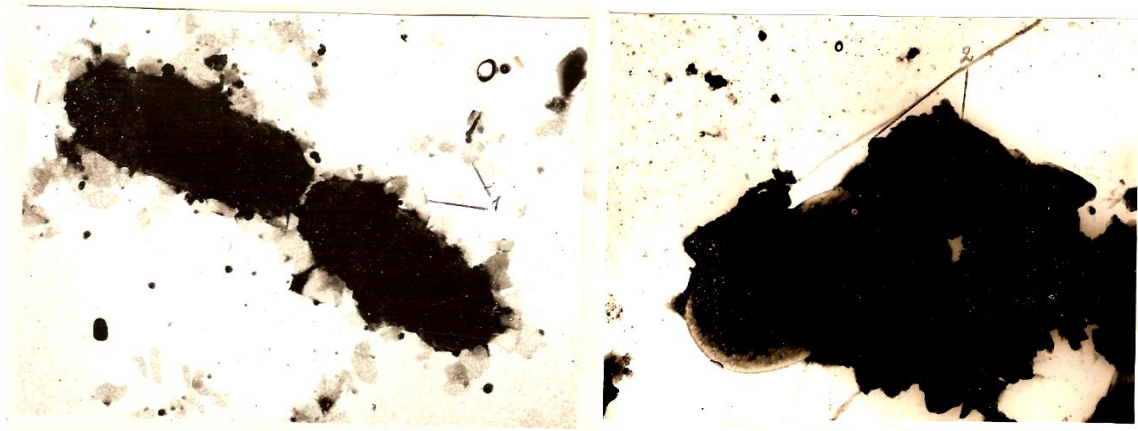


Рис.4.3. Типы взаимодействия бентонитовых частиц с энтеробактериями

Немаловажное значение для качества бентонитовых сред имеет выбор способа получения фракций частиц бентонита (химический и физический). Химический способ, предусматривающий перед фракционированием частиц предварительную обработку глины 1н соляной кислотой, позволил дополнительно интенсифицировать процессы размножения бактерий на 3 lg на Устиновском бентоните (размеры частиц 0,001мм в 1% концентрации) и на 1 lg на Огланлыньском (размеры частиц 0,001 мм в 0,125% концентрации) по сравнению с глиной, фракционированной физическим способом (по скорости осаждения частиц без предварительной обработки кислотой) (рис. 4.4).

Известно, что кислотная обработка бентонитов способствует более полному разделению глин на составляющие ее частицы (Горбунов, 1971). Кроме того, вследствие этого увеличивается число активных центров на поверхности частиц, то есть происходит так называемая активация бентонитов. А с активными центрами связаны проявляемые активированными бентонитами высокие сорбционные и каталитические свойства (Мдивнишвили, Уридия, 1980).

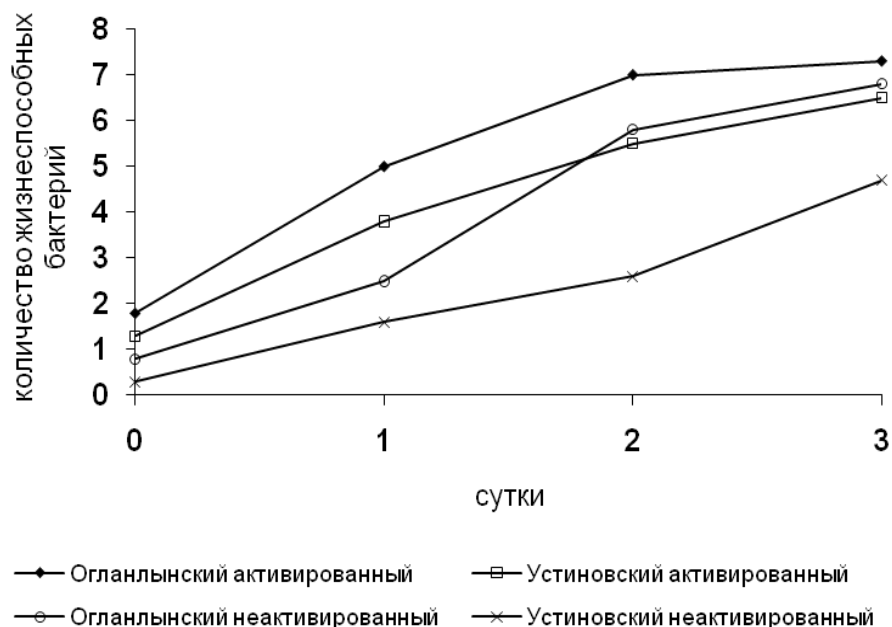


Рис. 4.4. Влияние активации бентонитов на размножение *Shigella sonnei*.

Разница в эффективности активации бентонитов, очевидно, объясняется тем, что в Огланлынской глине по сравнению с Устиновской содержится больше органических веществ (табл. 4.3), которые тормозят процесс активации. По данным М.С. Мерабишвили (1987), эффективность активации глин зависит от степени их «загруженности» неминеральными включениями, в частности органическими веществами, которые блокируют активные центры на поверхности минерала (Мерабишвили, 1979). Применение активации глин позволяет вскрыть некоторые механизмы, за счет которых стимулируются процессы размножения энтеробактерий в бентонитовых средах накопления. Так, кислотная обработка Устиновского бентонита способствовала усилению каталитической активности минерала, которая в свою очередь стимулировала размножение бактерий. Поскольку на Огланлынский бентонит активация не оказала такого влияния, можно предположить, что на этих частицах процессы размножения бактерий интенсифицировались за счет других факторов, таких, например, как содержание в бентоните органических или минеральных веществ.

В результате наших исследований было установлено, и это подтверждается работами многих авторов, что соотношение размера и концентрации частиц

также является существенным фактором при приготовлении бифазных сред, так как оказывает влияние на оптимизацию жизненных процессов микробной клетки (Marshall, 1968; Stotzky, Rem, 1966; Stotzky, 1966). Сравнение пяти вариантов суспензий, полученных одним способом (отмучивание после химического активирования) и имеющих размеры частиц 0,001 мм и 0,05 мм, показало, что наиболее оптимальной была 1% концентрация Устиновского бентонита и 0,125% - Огланлынского. Минимальное количество Огланлынского бентонита (в 3-4 раза меньше, чем Устиновского), обеспечивающее эффективный рост бактерий, обусловлено высокой набухаемостью этой глины, которая в 3-4 раза больше, чем у Устиновского. Существует корреляционная зависимость между набухаемостью бентонита и увеличением площади его поверхности, которая в свою очередь, как было отмечено ранее, благоприятно влияет на физиологические процессы в микробной клетке (Stotzky, Rem, 1967). Поэтому при изготовлении среды на основе Огланлынского бентонита необходимо снизить концентрацию его во столько же раз, во сколько набухаемость последнего превосходит Устиновский бентонит. Как увеличение, так и уменьшение концентрации бентонита в суспензии приводило к снижению активности процессов размножения бактерий. Наши данные коррелируют с результатами, полученными G. Stotzky (1966) для почвенных бактерий и грибов, где запредельные концентрации бентонитов (выше и ниже оптимальной) угнетали дыхание микроорганизмов.

Таким образом, результаты проведенных исследований показали, что качество бентонитовых сред в значительной степени зависит от вида месторождения глины, концентрации исходной бентонитовой суспензии, размера ее частиц и метода их получения. Наиболее результативными в бактериологических исследованиях были среды, приготовленные на основе бентонитовых глин, активированных химическим способом, имеющих размеры частиц 0,001 мм (для шигелл и сальмонелл) и 0,05 мм (для иерсиний) и концентрацию исходной суспензии 1% (Устиновский бентонит) и 0,125% (Огланлынский бентонит). Эта эффективность обеспечивалась не только

оптимальным соотношением величины частиц используемой фракции глины и их концентрации в единице объема жидкости, но также индивидуальными особенностями поверхностных структур бактерий (карбокисильная, карбоксиламинная) и активированных частиц бентонита.

рН бентонитовых суспензий

Помимо рассмотренных факторов нельзя недооценивать влияния рН бентонитовой среды на метаболизм бактерий. Величина рН является важнейшим условием среды, в которой протекает жизнь микроорганизмов, так как оказывает влияние на соотношение ионогенных групп поверхности клетки (Великанов, Звягинцев, 1968; Волова и др., 1986). Ионы H^+ и OH^- - наиболее подвижны из всех ионов, поэтому уже малейшие изменения их концентрации в среде оказывают на микроорганизмы сильное влияние. В связи с этим поддержание заданной оптимальной величины рН имеет существенное значение для размножения микробов (Великанов, Звягинцев, 1968).

Измерения значений рН проводили в бентонитовых суспензиях, приготовленных на основе фосфатного буфера (рН 7,4) и дистиллированной воды без микробов и инокулированных бактериями (шигеллы, сальмонеллы, иерсинии), в течение 3-х суток. Результаты этих наблюдений на примере *S.sonnei* представлены в таблице 4.5.

Необходимо отметить, что суспензии, как на основе цельного (нефракционированного) минерала, так и на основе частиц этого же бентонита, обладали каждая собственным рН. При этом каждая бентонитовая фракция в дистиллированной воде имела щелочную реакцию, значение которой увеличивалось прямо пропорционально увеличению концентрации бентонита. Наиболее высокое значение рН в водной среде имели монтмориллонитовая фракция частиц размером 0,001 мм и частиц 0,05 мм в 1 % концентрации (рН 8,7-8,8 соответственно).

По мнению ряда авторов этому способствует присутствие щелочных и щелочноземельных металлов в составе минерала, с повышением концентрации

которых наблюдается защелачивание бентонитовой суспензии (Глоба и др., 1983; Игнатьева и др., 1970). Однако, М.С. Мерабишвили, ссылаясь на значительный экспериментальный материал, утверждает, что щелочная реакция водных суспензий природных бентонитов обусловлена не гидролизом обменных катионов, а большей частью водорастворимыми солями, которые всегда содержатся в глинах в том или ином количестве, что и влияет на физико-химические свойства бентонитов (Мерабишвили, 1979).

Как можно видеть в таблице 4.5, с течением времени (3-и сутки наблюдения) значения рН водных бентонитовых суспензий изменялись. Особенно это было характерно для более концентрированных суспензий независимо от размера частиц (1% концентрации частиц). Нестабильные значения рН водных бентонитовых суспензий сохранялись и после внесения в эти среды культуры микробов. Последние в свою очередь способствовали в большинстве случаев снижению первоначальных значений рН.

Исключение составляли водные бентонитовые суспензии с частицами размером 0,1 мм и 0,05 мм в 0,25% концентрации, значения рН которых повышались с момента инокуляции их бактериями. Вероятно, объяснение этому можно найти в особенностях микроэлементного состава этих фракций частиц, которые будут рассмотрены в следующей главе наших исследований.

Следовательно, бентонитовые суспензии на основе дистиллированной воды не обладали стабильным значением рН. Это в свою очередь сказывалось на окислительно-восстановительной обстановке бентонитовой среды, которая имеет большое значение для растворимости различных веществ и доступности питательных элементов к бактериям.

Известно, что поддержание реакции среды во время роста особенно важно для энтеробактерий, которые в результате метаболизма продуцируют кислоты, но не обладают к ним толерантностью (Шлегель, 1987). В бактериологической практике для предотвращения гибели бактерий от ими же выделяемых кислот,

Таблица 4.5.

Динамика значений рН при культивировании *Shigella sonnei* в бентонитовых средах (на примере Устиновского бентонита)

Размер частиц, мм	Концентрация частиц, %	Жидкая фаза среды											
		дистиллированная вода						фосфатный буфер					
		1 сутки			3 сутки			1 сутки			3 сутки		
		суспензия без бактерий	суспензия + бактерии	Δр Н	суспензия без бактерий	суспензия + бактерии	Δр Н	суспензия без бактерий	суспензия + бактерии	Δр Н	суспензия без бактерий	суспензия + бактерии	Δр Н
0,1	1	7,40	7,70	0,28	7,63	7,56	0,10	7,42	7,8	0,38	7,42	7,3	0,38
	0,25	7,43	7,75	0,32	7,43	7,60	0,17	7,45	7,75	0,30	7,45	7,80	0,35
0,05	1	8,80	7,57	0,15	7,20	7,50	0,30	7,40	7,64	0,27	7,40	7,73	0,33
	0,25	7,25	7,65	0,40	7,05	7,60	0,55	7,45	7,72	0,27	7,42	7,75	0,33
0,001	1	8,70	7,80	0,90	8,30	7,89	0,41	7,44	7,70	0,27	7,42	7,77	0,35
	0,25	7,88	7,75	0,13	7,90	7,70	0,20	7,43	7,68	0,25	7,45	7,77	0,32
цельный	1	8,40	7,70	0,70	7,90	7,73	0,17	7,40	7,69	0,29	7,40	7,75	0,35
	0,25	7,80	7,70	0,1	7,50	7,75	0,2	7,42	7,69	0,27	7,42	7,80	0,33

			0			5							
контроль	6,80	7,45	0,6 5	6,80	7,60	0,8 0	7,40	7,70	0,30	7,40	7,45	0,05	

используют забуференные среды, как правило, на основе неорганических фосфатов (Волова и др., 1986; Елизарова, 1967).

Наши исследования подтвердили стабильность значений рН в бентонитовых суспензиях на основе фосфатного буфера. При инокулировании этих суспензий 18 часовыми культурами изучаемых бактерий резких колебаний значений рН также не наблюдалось.

В связи с этим мы считаем, что более целесообразно культивировать бактерии в бентонитовых средах, приготовленных на основе фосфатного буфера (рН 7,4), который оптимизирует условия существования энтеробактерий в этих средах.

Нами установлено, что бентонит в фосфатном буфере удерживает заданное рН среды в течение 7-дневного периода культивирования кишечных бактерий (время наблюдения), сохраняя оптимальные условия для существования микроорганизмов.

Высокая буферная емкость бентонитовых сред объясняется легко доступностью ионообменных участков глинистых минералов. Из данных литературы известно, что катионнообменная емкость бентонитовых частиц, особенно монтмориллонита, обусловлена способностью к расширению межслоевых пространств этого минерала при набухании в водных растворах; в результате чего обнажаются большинство катионнообменных участков, располагающихся между мицеллами, которые становятся доступными для обмена ионов водорода (Stotzky, Rem, 1967). По всей видимости, катионнообменная емкость является основным фактором, за счет которой глинистые минералы поддерживают рН окружающей среды в определенном интервале посредством замещения H^+ ионов, появляющихся в среде в результате метаболизма бактерий, щелочными катионами ионообменного комплекса.

Температура культивирования

В поисках оптимальной температуры культивирования энтеробактерий на бентонитовых средах были исследованы три ее варианта: 37°C, 22°C, 10°C. В качестве сред накопления были использованы бентонитовые суспензии с оптимальными параметрами для каждой культуры. Эксперимент проводили в условиях аэрирования и без аэрации.

Из графических данных, представленных на рисунке 4.5 видно, что лучшими для культивирования исследуемых энтеробактерий были температуры, которые традиционно используются для их выращивания. Так, *S. sonnei* активнее размножались на бентонитовых средах при температуре 37°C. При этом разность по отношению к результатам, полученным на вторые сутки культивирования при температуре 10°C была достоверной и составляла 5 lg, а при температуре 22°C - 1 lg. Аналогичные результаты были получены при выращивании *Salmonella enteritidis*.

Следует отметить, что температура 10°C не обеспечивала возможности активного размножения шигелл и сальмонелл, а для *Y. pseudotuberculosis* она была оптимальной на третьи сутки роста культуры. Как можно видеть (рис. 4.5), псевдотуберкулезный микроб при низкой температуре размножается на 0,8 - 1,8 lg быстрее (2-3 сутки роста), чем при температуре 37°C. Это подтверждает известное положение, что низкая температура (4-12°C) является важным фактором для проявления основных биологических свойств *Y. pseudotuberculosis* теплокровного организма вследствие его психрофильности (Сомов, 1985).

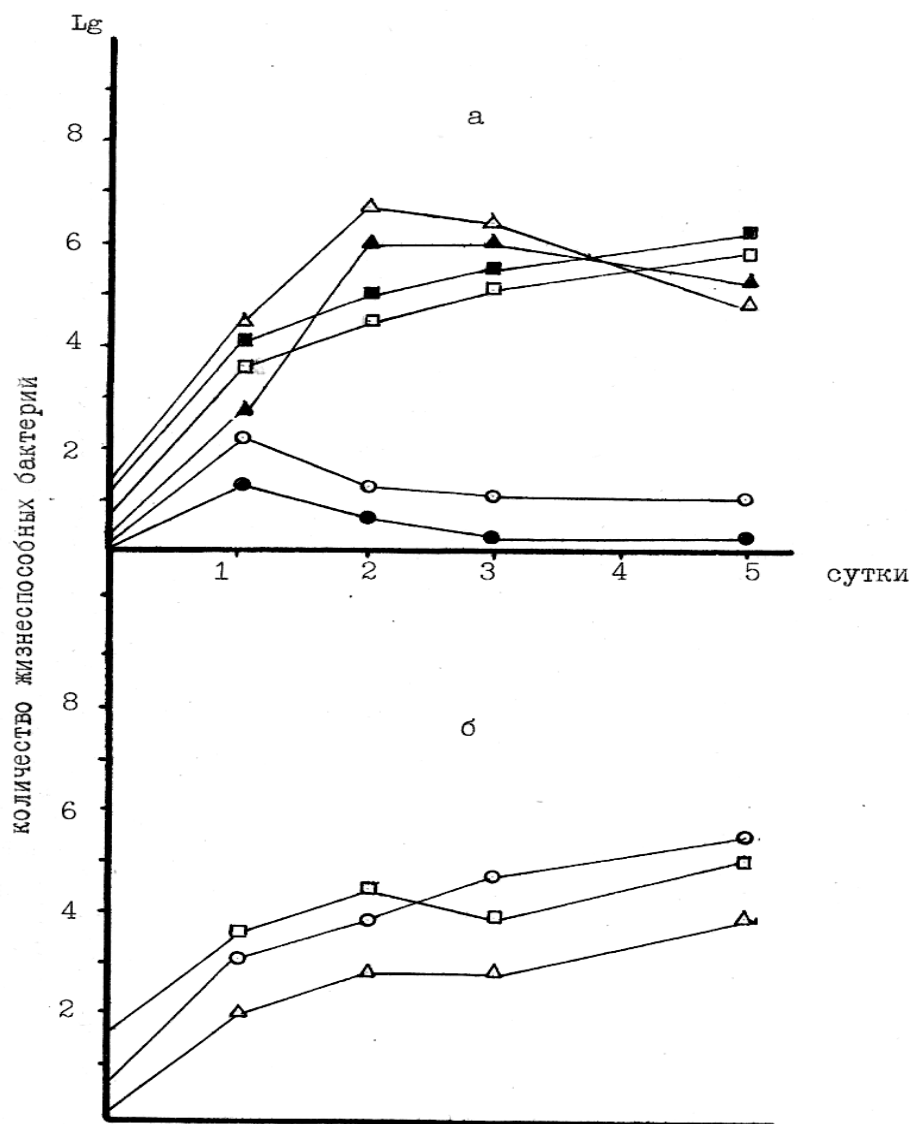


Рис. 4.5. Влияние температуры и аэрации на размножение энтеробактерий *S. sonnei* (а) и *Y. pseudotuberculosis* (б) в бентонитовых средах. (▲ - 37°C + аэрация, △ - 37°C без аэрации, ■ - 22°C + аэрация, □ - 22°C без аэрации, ● - 10°C + аэрация, ○ - 10°C без аэрации).

Динамика численности исследуемых штаммов энтеробактерий, выращенных при оптимальных температурах (37°C - сальмонеллы, шигеллы, 10°C - иерсинии) и температуре 22°C не имела достоверных отличий. При этом колебания температуры в указанных пределах (22°-37°C - сальмонеллы, шигеллы; 10°- 22°C - иерсинии) существенного влияния на характер кривых роста не оказывали.

Так как бентонитовые среды, испытанные при рассматриваемых температурных условиях, были эффективными как при традиционно используемых температурах, так и при температуре 22°C, то, очевидно, можно проводить культивирование кишечных бактерий в бентонитовых суспензиях и в условиях комнатной температуры.

Результаты наших наблюдений показали, что аэрация усиливала интенсивность размножения *S. sonnei* при температуре 37°C в первые сутки культивирования с достоверной разностью в 1,5 lg ($P < 0,05$ мм). На *Y. pseudotuberculosis* аэрирование не оказало стимулирующего эффекта, так как достоверной разности в результатах мы не наблюдали.

Таким образом, в результате проведенных экспериментальных исследований были определены не только оптимальные параметра бентонитовых сред накопления для каждой культуры, но и условия культивирования, предусматривающие выращивание энтеробактерий при pH 7,4 (фосфатный буфер) в диапазоне температур 37°-22°C (для шигелл и сальмонелл) и 22°-10°C (для иерсиний).

4.2.2. Влияние химического состава минерального компонента бифазной среды на размножение энтеробактерий

Роль макро- и микроэлементов в физиологии бактерий велика. Как правило, для роста и размножения бактериальных клеток используются специальные среды, приготовленные на основе мясных, рыбных гидролизатов или пептона, обогащенные теми или иными неорганическими солями. Последние являются жизненно необходимыми для нормального развития бактерий, так как отсутствие определенных катионов, анионов и их комплексных соединений в среде культивирования отрицательно сказывается на процессах жизнедеятельности микроорганизмов (Гордиенко, Глоба, 1986; Дорожко, Ротшильд, 1985).

В литературе широко представлены данные о роли макро- и микро-элементного питания в таких процессах как: рост и размножение, поддержание тургорного давления, стабилизация трансмембранного градиента H^+ ($\Delta\mu^\pm$), мембранный транспорт, регуляция активности ферментов, поддержание стабильности клеточных структур, биосинтез белка (Гершанович, 1980; Иванов, 1984; Корягина, Угодчиков, 1985).

В этой связи, изучение влияния макро- и микроэлементов, составляющих минеральную основу бентонитовых глин, на размножение энтеробактерий, на наш взгляд, является вполне оправданным и целесообразным, так как присутствие их в питательных средах может оказаться определяющим фактором процесса культивирования.

С целью выяснения влияния минерального компонента глины на размножение энтеробактерий необходимо было исключить аналогичное действие органического компонента бентонита на эти процессы, так как известно, что эти вещества способствуют активному росту и размножению бактерий. Достичь этого удалось путем нагревания глины до $300-800^\circ\text{C}$. По данным И.С. Рабочего (1975), при длительной (8 час.) термической обработке бентонитов (300°C), органические вещества, являющиеся их составной частью, сжигаются, а обменная емкость монтмориллонита при этом снижается незначительно (до 7,4%).

Сравнительное изучение влияния глин, не подвергнутых термической обработке (цельные глины на основе фосфатного буфера) и бентонитов, нагретых до температуры 300°C на размножение энтеробактерий, показало, что те и другие способны стимулировать процессы накопления биомассы шигелл и сальмонелл по сравнению с фосфатным буфером pH 7,4 (жидкая фаза среды).

Однако, исходя из данных, представленных на рисунке 4.6, можно видеть, что бентонит, не подвергнутый термической обработке, был более эффективным по сравнению с термически обработанным бентонитом (300°C) для всех исследуемых культур. Но, для шигелл эта разница ($1,5 \lg$) была достоверна

только на вторые сутки культивирования, для сальмонелл (1,5 lg) - на третьи, а для иерсиний (1 lg) - в течение всего периода выращивания ($P < 0,01$).

Такие, на наш взгляд, незначительные различия в эффективности действия термически обработанного бентонита (особенно в отношении шигелл и сальмонелл) и бентонита, не подвергнутого термической обработке, объясняются влиянием катионообменной деятельности минерала монтмориллонита, сохранившейся после нагрева глины при температуре 300° С.

На размножение псевдотуберкулезного микроба, обладающего способностью размножаться преимущественно на частицах размером 0,05 мм, термически обработанный бентонит оказывал менее эффективное действие. Это объясняется тем, что высокая катионообменная емкость присуща в основном монтмориллонитовой фракции частиц, содержание которых в цельном бентоните составляет 60-70%, и в меньшей степени это свойство распространяется на немонтмориллонитовые фракции частиц (0,05 мм и 0,1 мм), концентрация которых в глине составляет всего 20%.

Полученные результаты согласуются с данными, существующими в литературе (Stotzky, 1966; Stotzky, Rem, 1967). Следовательно, для доказательств влияния минерального компонента бентонита на размножение кишечных бактерий необходимо было учитывать не только присутствие органического компонента глины, но также физико-химические особенности самого минерала.

Чтобы исключить влияние этих факторов на размножение кишечных бактерий в эксперименте использовали бентониты, которые были подвергнуты глубокой термической обработке при 800°С в течение двух часов. Доказано, что в этом случае органические вещества сжигаются, структура минерала значительно изменяется, катионнообменная емкость снижается до 70-80 %, а качество и количество минеральных веществ остается неизменным (Мерабишвили, 1979).

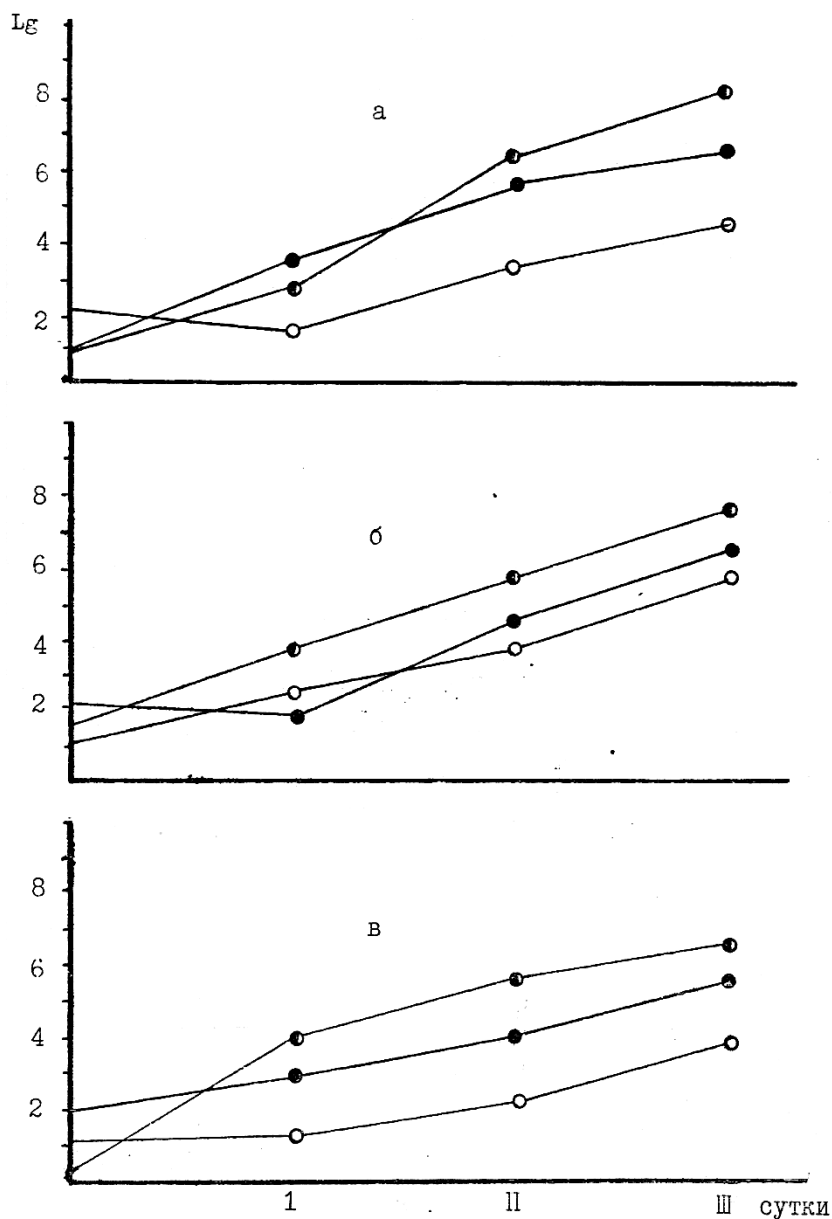


Рис. 4.6. Динамика накопления энтеробактерий *S. enteritidis* (а), *Y. pseudotuberculosis* (б), *S. sonnei* (в) в средах с термически обработанным бентонитом (● – 300⁰С, ⊙ - цельный бентинит, ○ – контроль (фосфатно-солевой буфер, рН 7,4)).

Полученные таким способом бентониты были использованы для приготовления бифазных сред (жидкая фаза ФБ рН 7,4) для культивирования кишечных бактерий. Результаты проведенных исследования на примере *S. enteritidis* приведены на рисунке 4.7. Как можно видеть, в бифазных средах с

термически обработанным бентонитом (температура 800°C) количество бактерий было на 2,5 lg выше по сравнению с контролем (жидкая фаза среды pH 7,4). Исходя из этого, можно сделать вывод, что процессы размножения бактерий в таких бентонитовых средах обеспечивались, в основном, за счет макро- и микроэлементов, входящих в состав минерального компонента бентонита, так как влияние органического компонента и катионнообменной емкости бентонита на эти процессы было исключено. Тем не менее, полученные нами результаты необходимо было конкретизировать, определив, какие именно элементы способствуют повышению активности этих процессов. 300 °C 800 °C

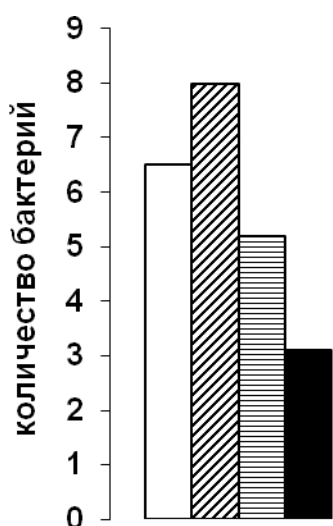


Рис. 4.7. Размножение *S. enteritidis* на средах с термически обработанным бентонитом на третьи сутки культивирования (□ – 300 °C, ▨ – 800 °C, ⊙ – цельный бентонит, ■ – ФСБ (жидкая фаза среды)).

С этой целью был проведен рентгеноструктурный анализ бентонитовых глин, который показал наличие в них помимо элементов составляющих истинные алюмосиликаты (Si, Al, Mg, Ca, Na, K, Fe) и таких как: Sr, Ba, Sn, Pb, Zn, Cu, B, P, Sb, Mn, Ca, Cr, Li, Co, Ag, V, Ni . Большое разнообразие химических элементов в бентонитах объясняется присутствием в них различных минералогических включений неглинистого происхождения, таких как: гипс,

кальцит, пирит, магнетит, полевои шпат и т.д., о чем более подробно было сказано в обзоре литературы.

Несмотря на то, что минеральный компонент бентонитовых глин представлен широким спектром макро- и микроэлементов наибольший интерес для нас (в плане количественного содержания) вызывали только те из них, которые, как свидетельствуют данные литературы, могут оказывать стимулирующее действие на рост и размножение энтеробактерий. Прежде всего, это пять так называемых главных биоэлементов: Р, Са, Mg, Fe, К. Четыре последних из них являются кофакторами большого числа бактериальных ферментов (Гапиков, 1984; Готтшалк, 1982; Дорожко, Ротшильд, 1985). Кроме того, такие элементы как калий и фосфор принимают активное участие в регуляции осмотического давления и поддержании кислотно-щелочного баланса бактериальной клетки (Бабьева, Зенова, 1983; Гершанович, 1980; Добрынина, 1976). Помимо пяти главных биоэлементов микроорганизмам требуется еще и ряд других элементов, которые находятся в бентоните в ничтожных количествах и называются микроэлементами.

Ввиду того, что прямых экспериментов по изучению влияния макро- и микроэлементов на размножение энтеробактерий поставлено не было, мы основывали свои выводы на аналитических данных, полученных в результате сравнения с одной стороны макро- и микроэлементного состава бентонитов, с другой - интенсивности размножения кишечных бактерий на этих бентонитах. В настоящем разделе представлены результаты анализов элементного состава бентонитов и рассмотрены корреляционные связи между преобладающим содержанием определенного элемента в среде с динамикой накопления в ней бактерий (рис. 4.2).

Сопоставление характера кривых размножения энтеробактерий в бентонитовых средах с различным количественным и качественным элементным составом этих бентонитов дает возможность оценить влияние

последних на скорость накопления биомассы бактериями *S. enteritidis*, *S. sonnei*, *Y. pseudotuberculosis*.

Анализируя данные, представленные в таблице 4.4, можно отметить, что Огланлынский бентонит, который, как было показано в предыдущей главе, оказывал наибольшее стимулирующее действие на размножение кишечных бактерий, содержит примерно в три раза больше кальция по сравнению с другими глинами. Это дает основание предположить, что ионы этого макроэлемента принимают участие в оптимизации условий существования энтеробактерий в бентонитовых средах накопления. Вероятней всего, это объясняется способностью кальция обеспечивать активный транспорт многих жизненно важных катионов и анионов через мембрану бактериальной клетки. Известно, что присутствие ионов кальция в среде, наряду с ионами магния, обеспечивает работу АТФ-азы бактерий, которая в свою очередь имеет непосредственное отношение к формированию градиента электрохимического потенциала ионов водорода у бактерий и, следовательно, к осмотической (транспортной) работе, осуществляемой бактериями (Гершанович, 1980).

Помимо ионов водорода, кальций стимулирует перенос через мембрану таких моновалентных катионов, как кальций и натрий (Бабьева, Зенова, 1983; Гершанович, 1980), а также активный транспорт анионов фосфата (Практикум..., 1989). Показано, что поступление ионов марганца в клетку энтеробактерий также активизируется ионами кальция (Бабьева, Зенова, 1983; Гершанович, 1980).

Следует отметить также, что ионы кальция играют важную роль в регуляции многих биохимических реакций, протекающих в клетке. Такие экзоферменты как амилазы и протеазы представляют собой кальций содержащие белки (Готтшлак, 1982).

По данным Г. Шлегеля (1987) накопление кальция в клеточной стенке грамм-отрицательных бактерий является необходимым для сохранения стабильности липополисахаридного слоя.

Как показали наши наблюдения, определенные виды кишечных бактерий имели тенденцию к росту и размножению на тех бентонитовых средах, которые отличались повышенным содержанием того, или иного микроэлемента. Так, шигеллы помимо Огланлынского бентонита, интенсивно размножались на Анивском (рис. 4.2), который по сравнению с другими бентонитами обогащен марганцем в 15 и более раз (табл. 4.4). Известно, что наличие этого элемента в среде сказывается на активности дыхания шигелл (Иванов, 1984).

Для размножения иерсиний лучшим после Огланлынского был Усть-Ургальский бентонит, в котором было отмечено высокое содержание фосфора и калия (рис. 4.2). Очевидно, наличие фосфора и калия в среде накопления является необходимым условием для размножения этих бактерий. В этой связи следует отметить, что широко используемый в качестве среды накопления для иерсиний фосфатно-солевой буфер также имеет в своем составе эти элементы. Известно, что калий является основным внутриклеточным катионом, оказывающим большое и разнообразное влияние на функции клеток (Гапиков, 1984; Гершанович, 1980). Что касается фосфора, то этот элемент входит в состав нуклеиновых кислот, фосфолипидов, тейхоевых кислот и нуклеотидов (Готтшлак, 1982).

По мнению Т.А. Корякиной с сотрудниками (1985) и С.С. Полушковой (1986) фосфор должен присутствовать в среде в оптимальном соотношении с ионами магния. От соотношения этих ионов в среде находятся в прямой зависимости кинетика роста и накопление биомассы энтеробактериями, так как фосфор играет решающую роль в обменных процессах в логарифмической стадии роста бактерий, а магний в стационарной.

Как показали наши наблюдения, последний оказывал особенно значительное влияние на размножение сальмонелл, интенсивный рост которых отмечали на бентоните Аскангель с высоким содержанием магния. Известно, что этот элемент входит также в состав сред накопления (магниевая среда), широко используемых в бактериологической практике для культивирования

сальмонелл. Согласно данным W. Webb (1966) сальмонеллы полностью удовлетворяют свою потребность в магнии при его концентрации во внешней среде не меньше 4 мкг/мл. В случае низких значений концентраций этого макроэлемента в среде рост клеток значительно замедляется. В изучаемых нами бентонитовых средах содержание магния колебалось в пределах от 35-152 мкг/мл, что полностью обеспечивало потребность сальмонелл в этом макроэлементе.

Данные литературы свидетельствуют о катализирующей способности магния в процессах синтеза бактериальной клетки (Гершанович, 1980). Помимо того, что магний участвует в функционировании бактериальной транспортной АТФ-азы, он входит в состав фосфотрансфераз и активирует ДНК-зависимую РНК-полимеразу. Следует отметить, что транспорт магния зависит от температуры, при низких значениях которой скорость поглощения и выхода магния из клетки резко снижается (Гапиков, 1984). Это обстоятельство, возможно, объясняет замедленные темпы размножения сальмонелл при низких температурах.

Различия в макро- и микроэлементном составе наблюдались не только между отдельными видами глин, но также между фракциями в пределах одного минерала. Сравнительное изучение элементного состава бентонитовых фракций частиц различной величины и интенсивности размножения бактерий кишечной группы на средах с этими частицами позволило получить данные, аналогичные результатам, полученным ранее для нефракционированных бентонитов из различных месторождений. В этом случае мы также пытались проследить взаимосвязь между превалирующим содержанием определенных макро- и микроэлементов в бентонитовых фракциях со скоростью накопления биомассы бактериями на средах с этими частицами.

В предыдущей главе было показано наиболее активное размножение иерсиний на бифазных бентонитовых средах, содержащих в качестве твердой фазы частицы размером 0,05 мм. По данным рентгеноструктурного анализа эта

фракция частиц содержала фосфора больше, чем другие фракции (табл. 4.6). Известно, что данный элемент, является необходимым для размножения иерсиний. Этот вывод подкрепляется также данными литературы (Гапиков, 1984; Иванов, 1984) и ранее полученными нами результатами для нефракционированных бентонитов (Табл. 4.4). Известно, что фосфор находится в почве, в основном в форме фосфоорганических соединений (80%) или в виде нерастворимых солей кальция, железа и алюминия, которые входят в состав бентонитовых частиц и не поглощаются бактериальными клетками в таком виде. Тем не менее, иммобилизованные на частицах 0,05 мм бактерии способны разлагать фосфорорганические соединения и соли до свободных фосфатных ионов, из которых затем вновь синтезируются необходимые фосфорорганические вещества (Бабьева, Зенова, 1983). Следовательно, потребление необходимого для размножения иерсиний фосфора из среды накопления находится в прямой зависимости от состояния иммобилизации этих бактерий. В этом смысле преимущества бентонитовых частиц размером 0,05 мм, на которых адсорбируются псевдотуберкулезные бактерии, очевидны по сравнению с частицами 0,001 мм, которые сами адсорбируются на поверхности микроба.

Следует отметить, что бентонитовые среды с частицами размером 0,001 мм, являющиеся оптимальными для размножения шигелл и сальмонелл, обогащены в основном, железом по сравнению с другими фракциями частиц. Особенно это характерно для монтмориллонитовой фракции Устиновского бентонита, в которой содержание этого микроэлемента в 2 и более раз превосходит концентрацию железа и в других фракциях частиц (рис. 4.2). Присутствие ионов железа в питательной среде играет важную роль в функционировании ряда дыхательных ферментов (цитохромы, каталаза, пероксидаза), повышение активности которых способствует оптимизации обменных функций микроба. Зарегистрированные нами высокие значения окислительно-восстановительного потенциала в монтмориллонитовых средах (табл. 4.3) способствуют активной

мобилизации железа, так как основную роль в миграции этого элемента играет окислительно-восстановительный потенциал среды (Санторо, Стоцкий, 1966; Костенков, 1987).

Как можно видеть по данным таблицы 4.6., помимо вышеупомянутых основных биоэлементов бентонитовые фракции содержат минимальные концентрации цинка, молибдена, меди (0,05%). В небольших количествах роль этих минорных элементов может быть довольно значительной для функциональной деятельности микробной клетки. Стимулирующее действие молибдена и цинка на рост энтеробактерий в такой концентрации отмечали ряд авторов (Иванов, 1984; Корягина, Угодчиков, 1985).

Присутствие меди в этих фракциях по аналогии с марганцем может способствовать стимуляции дыхания шигелл (Дорожко, Ротшильд, 1985). Следует отметить, что высокие концентрации этих элементов, по данным литературы, угнетают развитие микробов (Гершанович, 1980; Дорожко, Ротшильд, 1985), поэтому минимальное содержание их в бентоните способствует оптимизации процессов размножения бактерий.

Кроме того, известно, что аккумуляция энтеробактериями таких элементов как железо и магний, присутствующих в достаточном количестве в бентонитовых средах, способствует устойчивости этих бактерий к действию тяжелых металлов (Дорожко, Ротшильд, 1985).

Таблица 4.6.

Элементный состав бентонитовых фракций (%).

Фракции бентонита	элементы											
	P	Si	Al	Fe	Mg	K	Ca	Mn	Na	Cu	Zn	Pb
Огланлынский цельный	0.27	28.5	6.95	1.34	1.66	0.53	4.00	0.02	1.28	0.05	0.001	0.002
Огланлынский 0,1мм	0.02	28.3	6.61	1.37	1.50	0.49	4.00	0.02	0.20	0.05	0.016	0.002
Огланлынский 0,05 мм	0.63	28.7	6.53	1.34	1.20	0.62	4.50	0.02	0.65	0.05	0.019	0.002
Огланлынский 0,001мм	0.08	25.1	6.93	1.78	1.57	0.57	5.00	0.02	2.19	0.09	0.072	0.002
Устиновский, цельный	0.17	30.1	7.65	2.75	0.52	1.30	1.67	0.06	1.44	0.05	0.002	0.003
Устиновский 0,1мм	0.06	31.1	7.77	1.72	0.35	1.52	2.02	0.03	1.52	0.05	0.005	0.004
Устиновский 0,05мм	0.80	31.1	7.25	2.34	0.39	1.39	1.39	0.04	1.47	0.01	0.007	-
Устиновский 0,001 мм	0.28	29.0	8.16	4.00	0.69	0.71	1.44	0.09	1.56	0.01	0.005	0.002

В связи с использованием для культивирования сальмонелл и шигелл бентонитовых вытяжек представляло интерес проанализировать также их элементный состав. В предварительных экспериментах было показано, что вытяжки из разных бентонитов отличались по своему действию на процессы размножения энтеробактерий. Более эффективные в этом отношении вытяжки из Огланлынского бентонита содержали в два раза больше калия и кальция по сравнению с вытяжками из Устиновского бентонита. Последние частично угнетали размножение кишечных бактерий, возможно, за счет повышенного содержания ионов хлора. Размножение энтеробактерий на вытяжках из Устиновского бентонита, на наш взгляд, обеспечивалось кроме органических веществ, еще и насыщенностью их магнием и натрием (табл. 4.7.).

Таблица 4.7.

Химический анализ водных вытяжек (мг/экв на 100 г породы)

бентонит	pH	CO ₃ ²⁻	HCO ₃ ⁻	Ca ²⁺	Mo ²⁺	SO ₄ ²⁻	SO ₃ ⁻	Cl ⁻	Na ⁺	K ⁺
огланлынский	7.2	0.40	0.60	0.94	1.10	0.002	0.008	0.12	1.10	0.72
устиновский	7.0	0.40	1.60	0.42	0.42	0.002	0.008	1.64	2.95	0.39

Таким образом, значение минерального компонента бентонитовых сред для размножения кишечных бактерий очевидно. При этом большую роль в миграции макро- и микроэлементов играет характерная для бентонитов высокая катионообменная емкость. Прослеживаются коррелятивные связи между преобладающим содержанием в среде таких биоэлементов как: P, K, Ca, Fe, Mg и динамикой накопления в ней кишечных бактерий. Вместе с тем, отмечена избирательная чувствительность различных видов микробов к преобладанию определенных химических элементов в бентонитовых средах.

4.2.3. Изучение влияния органического компонента бентонитовой среды на процессы размножения энтеробактерий

Согласно данным, представленным в обзоре литературы, органическая часть почвы, так называемые гумусовые вещества, неоднородны по своему составу и включают различные группы органических соединений (специфические и неспецифические) (рис. 4.1). В этой связи несомненный интерес вызывало определение эффективности действия на динамику размножения кишечных бактерий каждого из составляющих органического компонента бентонитовых глин.

Известно, что в почве гумусовые вещества могут находиться как в свободном состоянии, так и в форме различных соединений с катионами

металлов (простые и комплексные соли), с глинистыми минералами (в форме адсорбционных комплексов) (Кононова, 1963; Ваксман, 1937) (рис. 4.1).

В настоящее время предложен ряд методов для выделения из почвы специфических (гумусовых) и неспецифических органических соединений и разделения гумуса на группы, отличающиеся составом или прочностью связи с минеральной частью почвы. Большинство методов имеет общую основу, а их особенности связаны с набором, видом и концентрацией применяемых экстрагентов. Несмотря на существующее разнообразие вариантов группового анализа гумуса (Кононова, 1968; 1970; Орлов и др., 1969; Орлов, Гришина, 1981; Пономарева, Плотникова, 1968), ни одна из этих методик не удовлетворяла нас в силу невозможности использования щелочных и кислотных экстрактов, получаемых в почвоведении с целью определения общего углерода, в качестве сред для культивирования микробов.

В этой связи, для получения фракций органических веществ из бентонитовых глин с целью оценки их биологической активности в качестве сред культивирования, мы предложили использовать вытяжки из бентонитов, полученные при помощи буферных растворов pH 7,4 - 12,30 (табл. 4.8).

Предложенная нами модификация позволила получить различные по составу группы органических веществ из бентонитовых глин. При этом, применение плавного градиента буферных растворов для приготовления вытяжек способствовало разделению органических веществ - глин на следующие группы: легкорастворимые, среднерастворимые и труднорастворимые вещества.

Судя по данным литературы, неспецифические соединения были сосредоточены в основном во фракциях легкорастворимых веществ (Кононова, 1968; Орлов, 1974), а средне- и труднорастворимые фракции содержали в основном гумусовые кислоты, которые выделяются из почв при высоких значениях pH (Кононова, 1963; 1970).

Таблица 4.8.

Характеристика экстрагентов

Экстрагент	Солевые компоненты	Навеска солей		Молярность		Ионная сила			Наименование вытяжки
		Компонентов	Общая	Компонентов	Общая	Компонентов	Общая	pH	
Дистиллированная вода	-	-	-	-	-	-	-	6-8	1лс
Фосфатный буфер 1	Na ₂ HPO ₄	0.71	0.85	0.004	0.005	0.008	0.01	7.40	2лс
	KH ₂ PO ₄	0.14		0.001		0.002			
Фосфатный буфер 2	Na ₂ HPO ₄	7.12	8.48	0.04	0.05	0.08	0.10	7.45	1сс
	KH ₂ PO ₄	1.36		0.01		0.02			
Карбонатный буфер 1	NaHCO ₃	1.05	4.41	0.01	0.05	0.02	0.10	9.35	2сс
	Na ₂ CO ₃	3.36		0.04		0.08			
Карбонатный буфер 2	NaHCO ₃	0.84	17.84	0.01	0.20	0.20	0.40	10.7	1тс
	Na ₂ CO ₃	9.54		0.09		0.18			
	KCl	7.46		0.10		0.20			
Боратный буфер	NaOH	4.00	22.30	0.10	0.35	0.20	0.70	12.3	2тс
	H ₃ BO ₃	3.71		0.06		0.12			
	KCl	12.67		0.17		0.34			
	Na ₂ O ₃	2.52		0.02		0.04			

Применение буферных растворов для приготовления вытяжек позволило получить органические вещества бентонитовых глин в нативном состоянии, что очень важно в плане обеспечения микробов полноценными питательными веществами. Кроме того, последовательная обработка бентонитовых глин буферными растворами, имеющими различное значение pH и ионную силу дает возможность получить бентонитовые вытяжки, которые отличаются между собой количественным и качественным составом органических веществ.

Полученные вытяжки (концентрация сухого вещества 350 мкг/мл) были использованы в качестве сред для культивирования кишечных бактерий *S. enteritidis*, *S. sonnei*, *Y. pseudotuberculosis* с целью определения наиболее эффективных из них в отношении размножения последних.

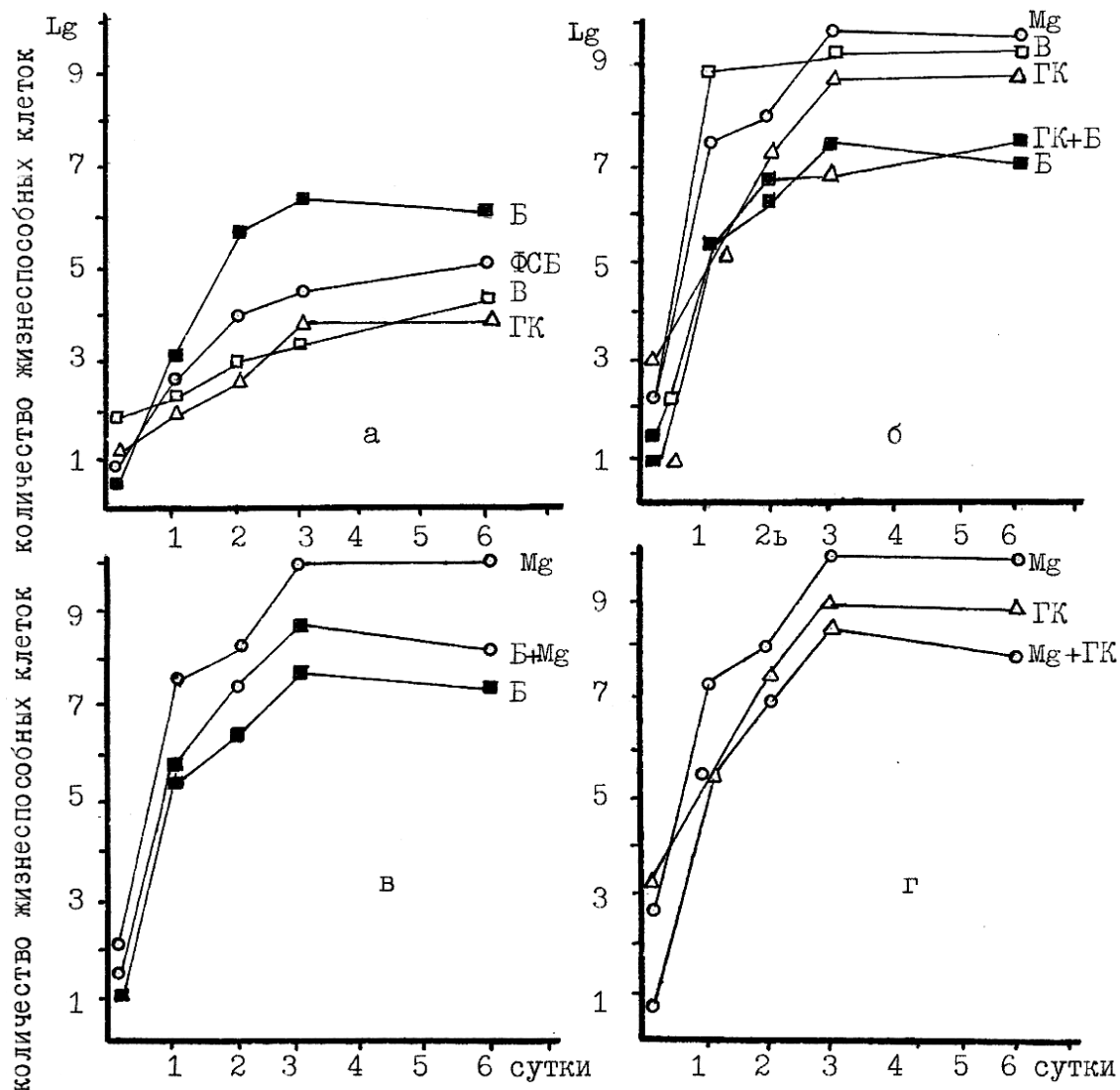


Рис. 4.8. Динамика накопления *Y. Pseudotuberculosis* (а) и *S. Enteritidis* (б, в, г) в различных питательных средах.

■Б – бентонитовые частицы (Устиновский) размером 0,05 мм в 1 % концентрации;

○ – общепринятые среды накопления: ФСБ (иерсинии), Mg – магниевая (сальмонеллы);

□В – вытяжка из бентонита (Устиновский);

ΔГК – раствор гуминовых кислот 0,01 % (третья фракция).

Таблица 4.9.

Влияние градиента рН бентонитовых вытяжек на размножение
Salmonella enteritidis (350 мкг/мл).

Вытяжки	рН	Устиновский бентонит 1-е сутки, Lg	Огланлынский бентонит 1-е сутки, Lg
дистиллированная вода	6,08	8,3	8,4
фосфатный буфер 1	7,40	8,4	8,8
фосфатный буфер 2	7,45	8,6	8,7
карбонатный буфер 1	9,35	8,7	9,1
карбонатный буфер 2	10,70	8,0	8,8
боратный буфер	12,30	8,5	7,8

Было показано, что количество сальмонелл и шигелл в бентонитовых вытяжках было на 2,5 lg выше, чем в бентонитовых средах (частицы размером 0,001 мм в 1% концентрации), в то время как численность псевдотуберкулезного микроба в бентонитовых средах (частицы размером 0,05 мм в 1% концентрации) на 3 lg превышала таковую в вытяжках из бентонита (на 3 сутки роста) (рис. 4.8.). Результаты проведенных исследований на примере *S. enteritidis* представлены в таблице 4.9, из которой видно, что размножение этих микробов на вытяжках из бентонитов достигало высоких значений уже в первые сутки культивирования (8,3-9,1 lg).

Несмотря на общий стимулирующий эффект вытяжек из Устиновского и Огланлынского бентонитов можно отметить, что вытяжки на основе фосфатного буфера и воды были менее активными по сравнению с карбонатными с достоверной разностью $P < 0,01$. Вероятней всего, причиной менее интенсивного размножения *S. enteritidis* в водных вытяжках является отсутствие буферной среды оптимальной для размножения бактерий, а в фосфатных

вытяжках для размножения сальмонелл было недостаточно питательных веществ (табл. 4.10).

Чтобы подтвердить это предположение мы провели обработку Устиновского бентонита фосфатным буфером рН 7,4 без предварительной экстракции водой. В результате были получены вытяжки с относительно высоким содержанием органических веществ (углеводы $-0,15 \pm 0,03$; белки $-0,10 \pm 0,01$; липиды $-1,07 \pm 0,07$ мг/мл) и более активные в отношении размножения кишечных бактерий ($8,7 \lg$ в первые сутки роста).

Очевидно также, что помимо количественного содержания органических веществ исследуемых вытяжек определенное значение имел и их качественный состав.

Таблица 4.10.

Содержание органических веществ в бентонитовых вытяжках (мг./мл)

№ вытяжки	рН	бентонит	общие углеводы (фенол-серый)	общие белки (по Лоури)	общие липиды (по Бродгану, Фолчу)
1	дистил. вода	огланлынский	0,29	0,14	1,47
2	7,40		0,04	0,06	0,68
3	9,35		0,08	0,10	1,21
4	10,00		0,12	0,10	1,30
5	12,30		0,10	0,17	1,21
1	дистил. вода	устиновский	0,64	0,23	2,80
2	7,40		0,12	0,12	1,14
3	9,35		0,29	0,21	2,02
4	10,00		0,48	0,34	2,80
5	12,30		0,52	0,40	1,96

Наши исследования показали, что легкорастворимые фракции органических веществ содержали 12 аминокислот: орнитин, гистидин, цистеин, серии, аспарагиновую и глутаминовую кислоты, аланин, тиразин, фенилаланин,

метионин, валин, треонин (рис. 4.9). Четыре последних из них являются незаменимыми аминокислотами.

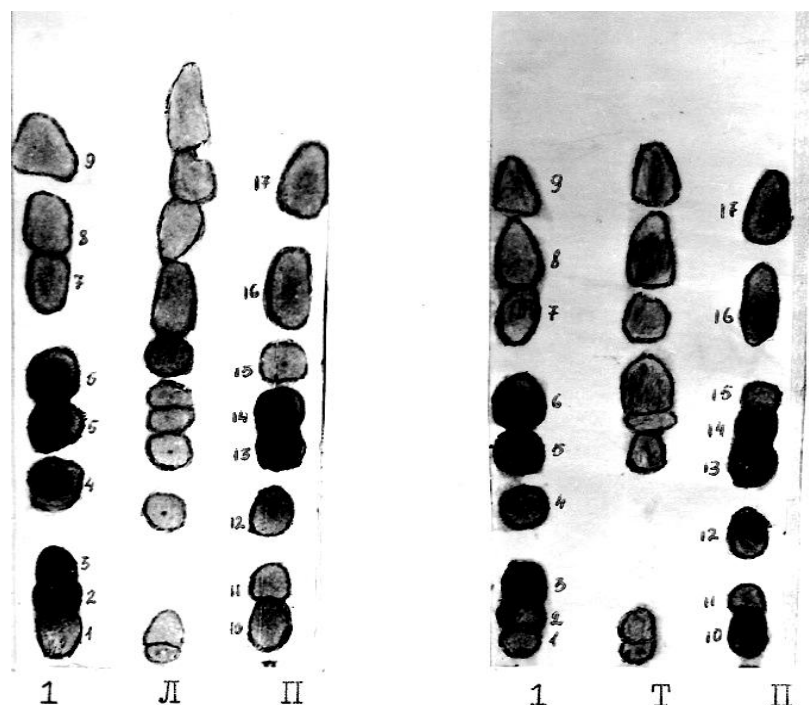


Рис. 4.9. Хроматограмма моносахаров, выделенных из легкорастворимых (Л), труднорастворимых (Т) фракций органических веществ Устиновского бентонита. 1 – II – смесь метчиков: 1 – DL-орнитин, 2 – DL-лизин, 3 – L-аргинин, 4 – L-глутамин, 5 – DL-серин, 6 – L-глутаминовая кислота, 7 – DL-аланин, 8 – DL-метионин, 9 – DL- β -фенил- α -аланин, 10 – L-гистидин, 11 – L-пролин, 12 – DL- β -треонин, 13 – L-цистеин, 14 – DL-аспарагиновая кислота, 15 – DL-валин, 16 – DL-лейцин, 17 – DL-тиразин.

Из основных аминокислот представлены только орнитин и гистидин, что, возможно, связано с неполным переходом в раствор диаминокарбонных аминокислот вследствие их адсорбции на бентоните (Звягинцев и др., 1980).

По данным Д.Г. Звягинцева (1968) эти аминокислоты довольно прочно связываются с бентонитовыми глинами в результате ионообменной сорбции (аргинин и лизин вытесняют с поверхности бентонитов ионы калия, кальция и магния в эквивалентных количествах) (Звягинцев и др., 1980). По свидетельству того же автора, кислые аминокислоты (аспарагиновая и глутаминовая)

довольно легко переходят в водный раствор, и это подтверждается нашими данными.

Представляет интерес присутствие во фракциях легкорастворимых веществ серосодержащих аминокислот метионина и цистеина, которые принимают активное участие в процессах биологического окисления (Добрынина, 1976).

Из литературных источников известно, что цистеин и фенилаланин стимулируют рост чумного микроба (Мартиневский, 1969), а псевдотуберкулезный микроб испытывает большую потребность для своего размножения в аспарагиновой кислоте (Мартиневский, 1969). Кроме того, на рост и размножение кишечных бактерий, в частности сальмонелл, также оказывает влияние гистидин, который является предшественником гормонов, и валин - предшественник янтарной кислоты, используемой в многочисленных метаболических реакциях (в цикле трикарбоновых кислот) (Гордиенко, 1985; Platz, 1980).

Помимо аминокислот в составе легкорастворимых фракций были обнаружены моносахара: глюкозамин, галактоза, глюкоза, манноза, рибоза, фукоза, рамноза, которые широко применяются в микробиологической практике в качестве основы для приготовления питательных сред и биохимической идентификации видов (рис. 4.10).

В труднорастворимых фракциях наблюдались некоторые изменения в аминокислотном спектре и в содержании сахаров. Они происходят, очевидно, в результате воздействия высоких значений pH (Ваксман, 1937; Головачева, 1978) на органические вещества в процессе приготовления вытяжки. По данным Д.С. Орлова (1980) в этом случае происходят потери треонина, серина, тирамина, чувствительных к высоким значениям pH. В свою очередь недостаток таких аминокислот в среде культивирования, очевидно, может сказаться на размножении бактерий. Так, судя по нашим данным, на вытяжках, полученных с помощью карбонатного буфера, имеющего pH 12,30, сальмонеллы размножались на 0,5 lg (Устиновский), 1,3 lg (Огланлы) менее интенсивно, чем

на вытяжках, полученных карбонатным буфером с рН 10,7 с достоверной разностью ($P < 0,05$).

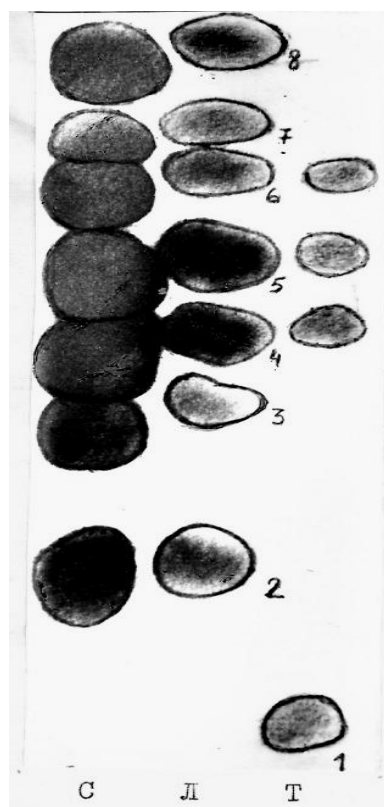


Рис. 4.10. Хроматограмма моносахаров, выделенных из легкорастворимых (Л), труднорастворимых (Т) фракций органических веществ Устиновского бентонита. (С) – смесь метчиков: 1 – олигосахара, 2 – глюкозамин, 3 – галактоза, 4 – глюкоза, 5 – манноза, 6 – рибоза, 7 – фукоза, 8 – рамноза.

Очевидно, что на динамику размножения кишечных бактерий в этих вытяжках оказывали влияние не только аминокислоты. Как можно видеть из рисунка 4.10 фракции труднорастворимых веществ содержали также моносахара, состав которых отличался от фракции легкорастворимых веществ, так как к действию высоких значений рН оказались неустойчивы гексозамины, фукоза, рамноза, галактоза. Но, в отличие от легкорастворимых фракций, труднорастворимые вещества содержали высокомолекулярные компоненты, которые, как свидетельствуют данные литературы, представлены в основном

полисахаридами или уроновыми кислотами (Орлов и др., 1969; Орлов, Гришина, 1981).

Несомненный интерес, на наш взгляд, представляло наличие в бентонитовых вытяжках липидов, на долю которых приходится основная часть всех органических веществ (0,4% от сухого веса бентонита). По данным Д.С. Орлова (1981), они могут служить индикатором интенсивности биохимических процессов в почве, так как содержат физиологически активные компоненты. В этой связи представлялось целесообразным более подробно изучить эту группу органических веществ. С этой целью был проведен анализ жирных кислот общих липидов, выделенных из средней пробы бентонитовой глины (табл. 4.11).

Таблица 4.11.

Состав жирных кислот органического вещества Устиновского бентонита (% от суммы жирных кислот).

№		название жирной кислоты	концентрация
1	12:0	лауриновая	0,39
2	14:0	миристиновая	8,42
3	15:0	пентадепановая	0,55
4	16:0	пальмитиновая	22,15
5	16:1	пальмитолеиновая	9,39
6	17:0	маргориновая	1,42
7	17:1	гептадеценная	0,29
8	18:0	стеариновая	3,72
9	18:1	олеиновая	17,59
10	18:2 ω 6	линолевая	2,20
11	18:3 ω 3	α-линоленовая	1,03
12	18:4 ω 3	октадекатетраеновая	3,08
13	20:1	гадолеиновая	6,40
14	20:3 ω 6	эйкозатриеновая	0,81
15	20:5 ω 3	эйкозапентаеновая	6,95
16	22:1	эруковая	3,58
17	22:6 ω 3	докозагесаеновая	12,08

Из таблицы видно, что преобладающими жирными, кислотами в бентонитовых глинах являются насыщенные (14:0; 16:0) и моноеновые (16:1; 18:1). Представляет интерес относительно высокое содержание 22:6 ω -3-докозагексаеновой и 20:5 ω -3-эйкозапентаеновой кислот, биологическая ценность которых определяется, прежде всего, тем, что они являются предшественниками синтеза простагландинов, которые в свою очередь выполняют важные регуляторные функции. Эти кислоты называют эссенциальными или жизненно необходимыми, дефицит которых ведет к замедлению роста у наземных млекопитающих (Leat, 1981), плавниковой и кожной эррозии рыб (Leonardopulos, Papakonstantinou, 1980), к возникновению атеросклероза у человека (Frantz, 1981).

Следует отметить, что согласно данным литературы, наличие этих веществ характерно в большей степени для морских экосистем. Так, как мы не располагаем подобной информацией в отношении бентонитов, можно только предположить, что эти глины могут быть источником ценных эссенциальных кислот для различных организмов, в том числе для микроорганизмов.

Мы можем предположить, что присутствие этих веществ в бентонитовых средах оказывает влияние на динамику роста кишечных бактерий по аналогии с эукариотами, но этот вопрос достаточно сложен и является отдельной темой для исследования.

Таким образом, различный уровень биологической активности бентонитовых вытяжек объясняется долей содержащихся в них органических веществ, а также их составом.

Если в группу легкорастворимых веществ в основном входили неспецифические вещества (аминокислоты, жирные кислоты, сахара), то средне- и труднорастворимые фракции были представлены также и специфическими соединениями, так называемыми гумусовыми кислотами. Состав последних представлен на рисунке 4.1, где можно видеть разделение их на следующие основные группы: гуминовые кислоты, фульвокислоты, гумин.

В естественных условиях все эти соединения с различной прочностью связаны с поверхностью минералов, особенно с их высокодисперсной частью (монтмориллонитовыми частицами). При этом принято различать гуминовые и фульвокислоты, находящиеся в глине в свободном состоянии и образующие соли, и комплексные соединения (гетерополярные гуматы и фульваты щелочных и щелочноземельных металлов) (Дергачева, 1989).

Для получения фракций гуминовых и фульвокислот мы применили методику В.В. Пономаревой (1957), которая дает возможность определить в составе гумуса три фракции гуминовых кислот и четыре фракции фульвокислот (рис. 4.11.).

Нами установлено, что способ извлечения гумусовых кислот из бентонитов накладывает определенный отпечаток на их состав, свойства и количественное содержание во фракции. Как свидетельствуют данные, полученные нами, процент выхода свободных гуминовых кислот (0,4%) невелик по сравнению с гуминовыми кислотами, связанными с минеральной частью (19,6%) и глиной (80%).

Очевидно, свободные гумусовые кислоты довольно легко извлекаются из глины вследствие разрыва непрочных водородных связей в боковых цепях молекул (Переверзев, 1987). Но они представлены в небольших количествах в глинах, так как бентонитовые частицы, являясь хорошими адсорбентами прочно связывают значительную часть органических веществ. При этом взаимодействие между поверхностью минерала и органическими молекулами осуществляется при помощи ионных форм связи, которые можно разрушить только воздействием гидролиза (Григорович, Кирсанов, 1972; Орлов, 1974). Такое же распределение органических веществ во фракциях наблюдали для фульвокислот.

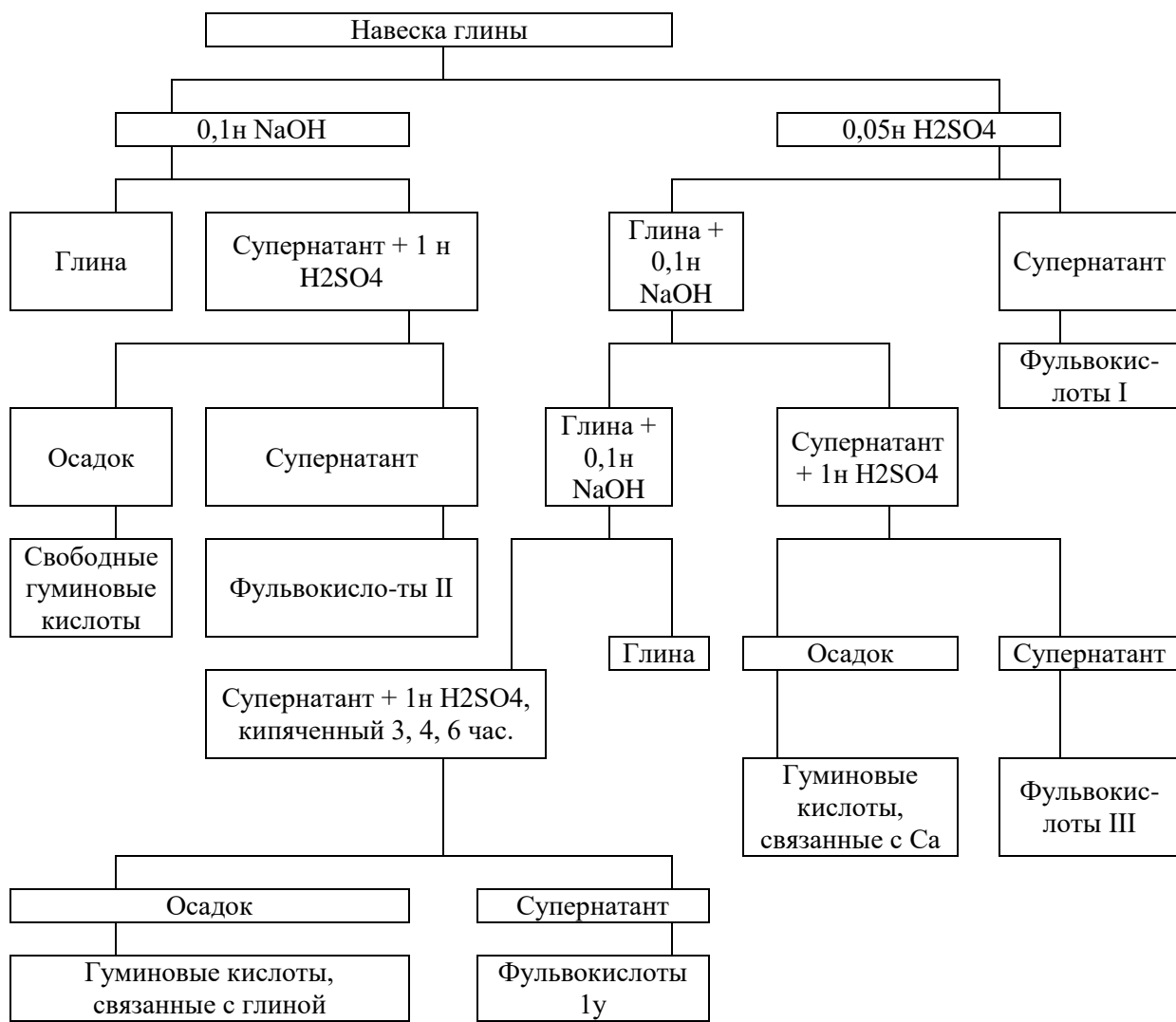


Рис. 4.11. Схема выделения фракций гумусовых кислот

Различные группы гумусовых кислот, выделенные из бентонита, отличались по степени их влияния на процессы размножения энтеробактерий. При этом, все использованные в работе штаммы кишечных бактерий интенсивнее росли на средах с гуминовыми кислотами, связанными с кальцием и с глинистыми частицами, достигая максимального размножения на третьи сутки культивирования (табл. 4.12.). Эти данные коррелируют с содержанием органических веществ во фракциях гуминовых кислот (табл. 4.13.).

Таблица 4.12.

Влияние различных групп гуминовых кислот, выделенных из Устиновского бентонита, на размножение энтеробактерий (500 мкг/мл)

Гуминовые кислоты	<i>Salmonella enteritidis</i>				<i>Shigella sonnei</i>				<i>Yersinia pseudotuberculosis</i>			
	зар. доза, Lg	1-е сутки Lg	2-е сутки Lg	3-е сутки Lg	зар. доза Lg	1-е сутки Lg	2-е сутки Lg	3-е сутки Lg	зар. доза Lg	1-е сут Lg	2-е сут Lg	3-е сут Lg
Свободные	1.7	5.6	5.6	7.0	0.9	4.9	7.3	8.0	0.9	3.0	3.0	3.0
Связанные с Са	1.3	5.4	7.6	8.1	1.4	4.6	7.2	8.7	0.8	4.4	4.7	4.9
Связанные с глиной	1.5	7.0	8.3	8.8	0.8	5.2	7.7	8.6	1.3	6.5	6.5	7.6

Таблица 4.13.

Содержание органических веществ во фракциях гуминовых кислот, выделенных из глин (мг %)

Фракция	Бентонит	Гуминовые кислоты	Общие углеводы	Общие белки	Общие липиды
1	устиновский	свободные	19	3	29
2		связанные с Са	30	2	70
3		связанные с глиной	35	11	90
1	огланлынский	свободные	34	9	90
2		связанные с Са	29	13	140
3		связанные с глиной	68	24	190

Судя по данным таблицы 4.14, у фульвокислот наиболее активной группой была вторая, связанная с первой группой гуминовых кислот. Свободные фульвокислоты, которые по данным литературы представлены в основном неспецифическими соединениями, были менее эффективны в качестве сред накопления для исследуемых кишечных бактерий.

Следует отметить, что группы как гуминовых, так и фульвокислот представляют собой сумму органических веществ с разным молекулярным весом, объединенных между собой по способу выделения. Следовательно, мы

также оцениваем аддитивное действие последних на размножение энтеробактерий на средах накопления с этими веществами. В глиногумусовых комплексах с бентонитовыми частицами также могут быть связаны как высокомолекулярные, так и низкомолекулярные гуминовые кислоты, поэтому необходимо было определить, какие из них оказывают влияние на размножение кишечных бактерий.

Таблица 4.14.

Влияние различных групп фульвокислот, выделенных из бентонитов на размножение *Salmonella enteritidis* (500 мкг/мл).

фракции фульво-кислот	Устиновский бентонит					Огланлынский бентонит				
	% выхода	зар. доза, Lg	1-е сутки, Lg	2-е сутки, Lg	3-е сутки, Lg	% выхода	зар. доза, Lg	1-е сутки, Lg	2-е сутки, Lg	3-е сутки, Lg
свободные	17,50	1,2	4,0	5,9	5,7	13,7	1,6	5,0	6,5	7,3
связанные с первой фракцией гуминовых кислот	23,15	1,1	7,3	7,8	8,7	28,1	1,9	4,3	6,0	6,5
связанные со второй фракцией гуминовых кислот	17,50	1,8	4,0	4,3	4,4	6,4	1,7	4,5	5,8	6,2
связанные с третьей фракцией гуминовых кислот	41,25	1,7	4,6	5,9	5,8	51,8	1,7	6,2	8,0	8,6

С этой целью, оптимальные варианты гумусовых кислот (гуминовые кислоты, связанные с глиной; фульвокислоты, связанные с первой группой гуминовых кислот, выделенные из Устиновского бентонита) подвергли гель-фильтрации на сефадексах (G-25, G-50, G-100). Использование разных типов

сефадексов позволило подобрать наиболее оптимальные условия для разделения гумусовых кислот.

В результате гель-фильтрации были определены примерные размеры частиц, входящих в состав исследуемых гуминовых веществ.

По данным гель-хроматограмм, представленных на рисунке 4.12., можно определить, что на сефадексе G - 25 практически вся гуминовая кислота находится во внешнем объеме, имея, следовательно, средневесовую молекулярную массу не более 5000-6000. Только небольшая часть веществ диффундировала во внутренний объем, образуя слабозаметный шлейф на кривой выхода.

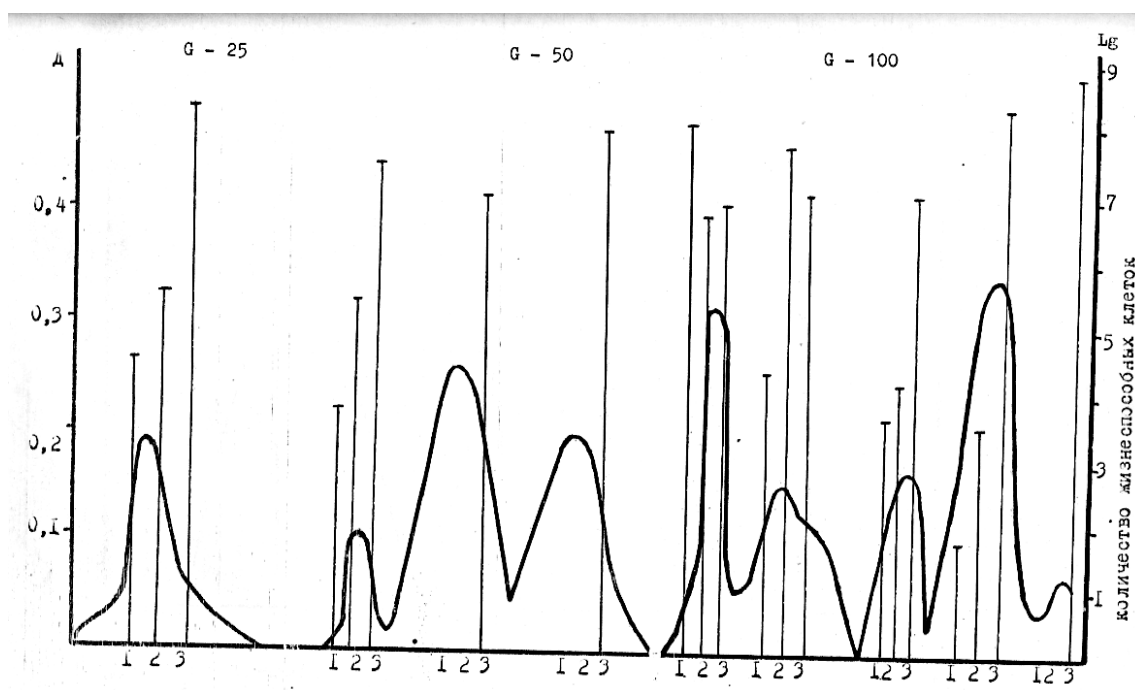


Рис. 4.12. Размножение *Yersinia pseudotuberculosis* (1), *Shigella sonnei* (2), *Salmonella enteritidis* (3) в элюатах гуминовых кислот (100мг/мл), полученных гель-фильтрацией на сефадексах G-25, G-50, G-100.

На сефадексе с размером пор G -50 четко обнаруживалось деление гуминовых кислот на три фракции. При этом максимум, отвечающий внешнему объему, уменьшался, а элюирование вещества из внутреннего объема указывало

на присутствие в них не менее чем двух фракций. В результате гель-фильтрации на этом сефадексе получили фракции гуминовых кислот с молекулярной массой от 1000 до 30000.

Наиболее рельефно фракционирование по молекулярной массе проходило на колонке с сефадексом G - 100. При этом гуминовые кислоты бентонита разделились на пять фракций. Первая из них выходила со свободным объемом (М.м. 80000), второй пик был близок к первому. Третья и четвертая фракции были также довольно близки и имели молекулярную массу около 20000. Последняя задерживаемая зернами данного геля фракция, имела молекулярную массу менее 5000.

В отношении фульвокислот нужно отметить значительно меньшую степень полидисперсности по сравнению с гуминовыми кислотами. В результате гель-фильтрации были получены только две фракции фульвокислот. Это соответствует данным литературы, свидетельствующим о том, что на сефадексах фульвокислоты делятся практически только на две довольно компактные фракции с молекулярной массой 5000-6000 и 10000-12000 (Методы..., 1975; Орлов, 1974).

Вследствие выявленной неоднородности гумусовых кислот возникла необходимость определения биологической активности каждой из полученных фракций.

Для культивирования энтеробактерий использовали полученные в результате гель-фильтрации элюаты гуминовых кислот.

В результате культивирования кишечных бактерий наблюдали максимальное накопление биомассы шигелл и иерсиний на средах, содержащих гуминовые кислоты с молекулярной массой > 80000 . Вместе с тем, эти бактерии практически не размножались на средах с гуминовыми кислотами, имеющими молекулярную массу < 30000 и с фульвокислотами (молекулярная масса 5000-10000) (рис. 4.12., 4.13.).

Напротив, сальмонеллы активно размножались на средах с низкомолекулярными фракциями гуминовых кислот (молекулярная масса < 5000), а также на средах с фракциями фульвокислот с молекулярной массой от 5000 до 10000 (рис. 4.12., табл. 4.14.). При этом максимумы накопления биомассы кишечных бактерий на средах с активными фракциями гуминовых кислот совпадали с максимумами, полученными на средах с исходными гумусовыми кислотами, в состав которых входят эти активные фракции (табл. 4.12., 4.14.).

Следует отметить, что гуминовые кислоты различных фракций отличались между собой не только размерами молекул, но также разнообразием входящих в их состав органических веществ. Так, гуминовые кислоты с молекулярной массой около 80000 содержали в основном углеводы и липиды, а фракции гуминовых кислот с молекулярной массой около 5000 - белки и липиды (табл. 4.15.).

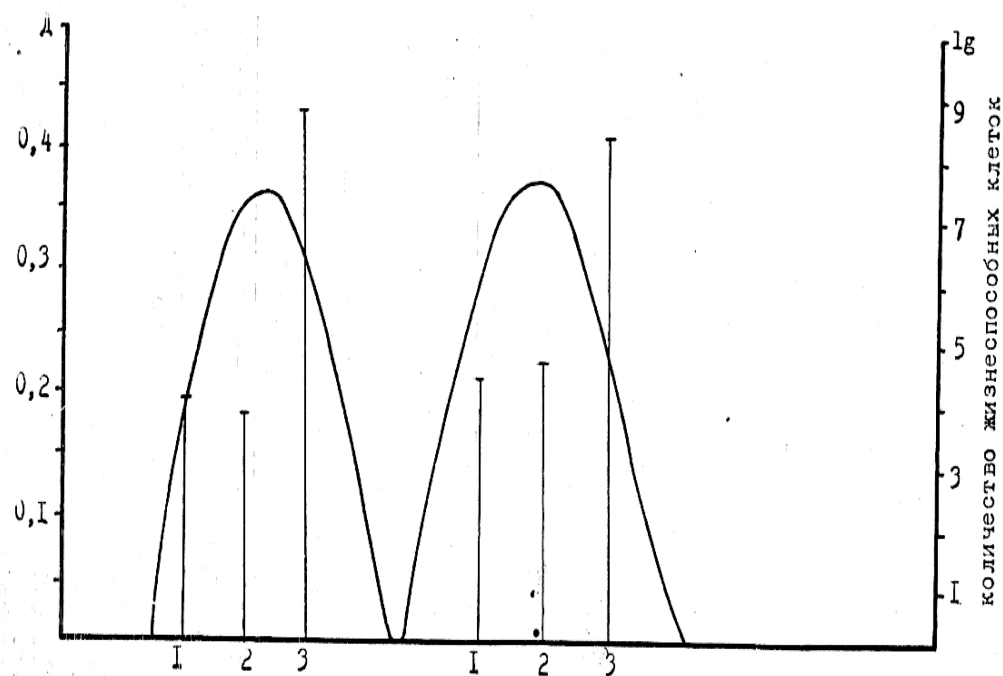


Рис. 4.13. Размножение *Yersinia pseudotuberculosis* (1), *Shigella sonnei* (2), *Salmonella enteritidis* (3) в элюатах фульвокислот (100мг/мл), полученных гель-фильтрацией на сефадексе G-100.

Таблица 4.15

Содержание органических веществ во фракциях гуминовых кислот, полученных методом гель-фильтрации (мкг/мл).

сефадекс	№ пика	общие углеводы	общие белки	общие липиды
25 G	1	43.60	91.00	760.00
50 G	1	54.60	120.00	140.00
50 G	2	65.40	30.00	470.00
50 G	3	0.00	24.00	140.00
100 G	1	27.00	0.00	2380.00
100 G	2	71.00	30.00	190.00
100 G	3	0.27	36.00	480.00
100 G	4	0.00	15.00	140.00
100 G	5	0.27	20.00	430.00

Таким образом, органические вещества бентонитовых глин (неспецифические соединения, гумусовые кислоты) утилизируются бактериями в процессах размножения на бентонитовых средах.

Неспецифические органические вещества, в состав которых входят незаменимые аминокислоты, жизненно необходимые сахара и биологически активные жирные кислоты используются бактериями в качестве факторов роста и питательных веществ.

Такую же функцию могут выполнять и гумусовые кислоты, в состав которых также входят фрагменты углеводов, белков, липидов, и которые, в силу своей полидисперсности, оказывают активное влияние на размножение энтеробактерий в соответствии с определенным молекулярным весом и составом органических веществ.

4.2.4. Активный фактор бентонитовых сред и его влияние на биокаталитические процессы бактерий

При наличии в бентонитовых средах разнообразных активных факторов, влияющих на размножение энтеробактерий, довольно сложно определить наиболее значимые из них в этом отношении. В связи с этим мы провели сравнительный анализ всех полученных нами органических и неорганических составляющих бентонитовых глин, используя их в качестве сред для культивирования кишечных бактерий.

Для приготовления этих сред использовали найденные в результате экспериментов оптимальные концентрации глин и органических веществ бентонитов, активных в отношении размножения энтеробактерий. Для сравнения были использованы общепринятые среды накопления магниевая (для сальмонелл) и ФСБ – (для иерсиний).

Данные, представленные на рисунке 4.8, показывают, что на бентонитовых средах сальмонеллы размножались на $2 \lg$ менее интенсивно по сравнению с магниевой средой с достоверной разностью $P < 0,01$. Объяснение этому факту мы дали в предыдущей главе, предполагая, что он определяется недостаточным содержанием органических веществ в бентонитовых средах.

Использование комбинированной среды (частицы Устиновского бентонита размером $0,001 \text{ мм}$ в 1% концентрации в магниевой среде) также не позволило достичь еще более высоких результатов размножения бактерий. Очевидно, для проявления активных свойств бентонита необходимы были определенные условия, так, как согласно данным, представленным на рисунке 4.15, каталитические свойства бентонита были четко выражены в средах, лишенных органических веществ. Следовательно, здесь правомерно предположить наличие конкурентного ингибирования.

Известно, что бентонитовые глины относят к так называемым «первичным» катализаторам, которые значительно усиливают скорость протекания

химических реакций, адсорбируя и тем самым, концентрируя молекулы реагирующих веществ на своей поверхности. При этом глинистые частицы способствуют соединению или полимеризации адсорбированных на них молекул аминокислот, пуринов и других веществ (Худякова, 1968). Д.А. Криволуцкий, А.Д. Покаржевский (1986) сообщают, что в присутствии глины экспериментально удавалось синтезировать не только аминокислоты и полипептиды из более простых соединений, но даже белки и нуклеиновые кислоты.

Для сравнительной характеристики общепринятых сред накопления и сред на основе органического вещества бентонита использовали гуминовые кислоты как наиболее стабильную часть органического вещества глины. Гуминовые среды накопления оказались менее эффективными по сравнению с магниевыми. В этом случае, очевидно, определенную роль играет изменение этих веществ в результате их получения. Но, тем не менее, гуминовые вещества оптимизируют размножение сальмонелл в большей степени, чем, например, бентонит (на 2 lg на третьи сутки роста с достоверной разностью $P < 0,05$) (рис. 4.8).

Опираясь на полученные нами экспериментальные данные, можно предположить, что интенсификация процессов размножения происходит за счет активных гуминовых кислот, которые представлены для сальмонелл низкомолекулярными структурами (М.в. 5000), а для иерсиний более высокомолекулярными (М.в. 80000). Эти вещества составляют только небольшую долю всех гуминовых веществ, присутствующих в бентонитовых глинах, но, тем не менее, обладают большей активностью по сравнению с ними (табл. 4.16.).

Таблица 4.16.

Биологическая активность бентонита и его производных в процессах размножения *Salmonella enteritidis*

препарат	концентрация, мг/мл	количество бактерий на 3-и сутки, Lg	активность/концентрация
бентонит 1% частицы 0,01 мм	10,00	7,40	0,74
вытяжка из бентонита 1:16	3,35	9,40	47,00
гуминовые кислоты, связанные с глиной	1,66	8,80	5,30
фракции 1 гуминовых кислот	0,45	7,00	15,60
фракция 2	0,43	7,10	16,50
фракция 3	0,30	8,00	26,70
фракция 4	0,33	7,00	21,20
фракция 5	0,15	8,30	55,30

По эффективности действия на процессы размножения сальмонелл к активным гуминовым кислотам близки бентонитовые вытяжки (табл. 4.16.), в состав которых входят частицы монтмориллонита и органическое вещество бентонита. Экспериментально нами было показано, что основная часть органического вещества глины связана с бентонитовыми частицами (80% от всех выделенных гумусовых кислот), образуя, судя по прочности связи, глиногумусовые мицеллы.

Как свидетельствуют результаты, представленные в таблице 4.16, ни бентонит, лишенный органических веществ, ни органические вещества, выделенные из бентонита, не являлись такими активными стимулирующими

факторами ростовых процессов *S. enteritidis*, какими были бентонитовые вытяжки. Искусственное сочетание элементов бентонитовых глин (гуминовые кислоты, жженный бентонит) с общепринятыми средами накопления, как было отмечено ранее, не дало ощутимых результатов. Возможно, это связано с утратой естественных связей гуминовых кислот с бентонитом, вследствие изменения структуры молекул органического вещества глины, что в свою очередь ведет к потере активных свойств комплекса (органическое вещество-глина) в целом. В бентонитовых вытяжках такие комплексы находятся в естественном состоянии и связи между их составными частями не нарушены, что, очевидно, сказывается на интенсивности размножения кишечных бактерий.

Как можно видеть из данных, представленных на рисунке 4.8., псевдотуберкулезный микроб предпочитает для своего размножения среды с бентонитовыми частицами размером 0,05 мм в 1% концентрации и значительно хуже размножается на гуминовых средах и вытяжках из бентонита, поскольку механизм действия глиногумусового комплекса отличается от наблюдаемого у сальмонелл и шигелл.

Иммобилизация глиногумусовых частиц на поверхности микроба (сальмонеллы и шигеллы) или иммобилизация микроба на поверхности глиногумусовой частицы (иерсинии) способствует активному размножению этих бактерий (Hilge, Reim, 1989; Navarre, Durand, 1981). Это происходит как за счет доступного питания, поставляемого частицами бентонита, так и за счет каталитических процессов, характерных для глиногумусовых соединений (Троицкий, 1941).

Для изучения каталитических свойств бентонитовых сред исследовали изменение ферментативной активности бактерий, культивируемых на этих средах в сравнении с таковой на общепринятых средах накопления. В эксперименте были исследованы такие ферменты как липаза, ДНК-аза, каталаза.

Известно, что специфический фермент липаза принимает участие в реакции гидролиза триацилглицеринов, в результате которого образуются свободные неэтерифицированные жирные кислоты, способные служить источником энергии для бактерий.

Эта биохимическая реакция лежит в основе метода, предложенного для определения липазы бактерий, где в качестве субстрата используются эфиры пальмитиновой, стеариновой и олеиновой кислот, что соответствует твинам 40,60,80. Применение этого и других общеизвестных методов (Navakova, 1984; Sierra, 1957) выявления ферментов для кишечных бактерий не дало удовлетворительных результатов в связи с низкой чувствительностью и длительностью сроков проявления реакции. Поэтому нами был предпринят поиск условий, приемлемых не только для определения липазы у этих бактерий, но и для сокращения сроков исследования, а также повышения чувствительности метода.

В эксперименте использовали все штаммы исследуемых бактерий, а также среды накопления: магниевая, МНЕ, ФСБ, бентонитовые суспензии с частицами размером 0,001; 0,05 мм в 1% концентрации, вытяжки из бентонитов (Устиновский, Огланлынский), растворы гуминовых кислот 0,01 %. Общепринятые среды накопления и бентонитовые среды с оптимальными параметрами для каждой культуры заражали так, что исходная доза в инокуляте составляла 100 клеток в 1 мл по оптическому стандарту мутности. Культивирование проводили при температуре 37°С в течение семи дней (время наблюдения), высевая ежедневно по 0,1 мл инокулированной среды на агаровые чашки Петри с твинами: 40, 60, 80.

Для определения оптимальной концентрации твина, двухсуточную культуру бактерий высевали штрихом на чашки с агаровой средой, содержащей 0,01% $\text{CaCl}_2 \times \text{H}_2\text{O}$ и твин до конечной концентрации 0,25; 0,5; 1; 0; 1,5; 2,0% (по объему). Чашки инкубировали первые сутки при температуре 37°С и в течение шести суток в условиях комнатной температуры (22°-25°С).

Положительный результат учитывали по появлению мутного ореола вокруг колоний, который получался за счет образования кристаллов кальциевого мыла.

В результате проведенных исследований было установлено появление ореолов вокруг колоний кишечных бактерий на всех агаровых средах, содержащих твины, за исключением твина 30, где ореолов вокруг колоний обнаружено не было.

Следовательно, в качестве субстрата липаза кишечных бактерий предпочитает эфиры насыщенных жирных кислот, что может служить возможным диагностическим признаком для идентификации этих бактерий. В связи с этим, в отличие от существующей методики, наряду с твинами 40 и 60 мы применили также твин 20 - эфир лауриновой кислоты.

Исследования показали, что использование этих субстратов позволяет получить четкие ореолы с характерным для каждого твина рисунком на агаровых средах для всех видов используемых культур. Так, твин 20 способствовал образованию вокруг колоний дымчатого сплошного ореола с радужным оттенком. Для твина 40 характерны игольчатые ореолы, для твина 60 - в виде веточек (рис. 4.14.).

Результаты опыта позволили обнаружить определенную связь между эффективностью действия фермента, разновидностью субстрата и его концентрацией. Было установлено, что твин 20 необходимо использовать в 1% концентрации, твины 40 и 60 - в 0,25% концентрации, что в 4 раза меньше по сравнению с известной методикой (Методы..., 1984).

Следует отметить, что с увеличением концентрации твинов активность липазы значительно падает, что выражается в более поздних сроках появления ореолов и недостаточно четких очертаний рисунков вокруг колоний. Аналогичные результаты были получены И.Д. Комиссаровым и А.А. Климовой (1970) на примере липазы злаковых растений (Комиссаров, Климова, 1971). Вероятно, увеличение содержания субстрата (твина) в реакционной среде резко снижает эффективность процесса гидролиза, так как в этом случае скорость

реакции зависит от концентрации комплекса фермент-субстрат (Уэбб, 1966). Кроме того, наши наблюдения показали, что количество субстрата, используемого ферментом, находится в соответствии с длиной цепи жирных кислот. Чем короче цепь эфиров жирных кислот, тем большее их количество необходимо в качестве субстрата для липазы, а с увеличением длины цепи жирных кислот используются минимальные их количества.

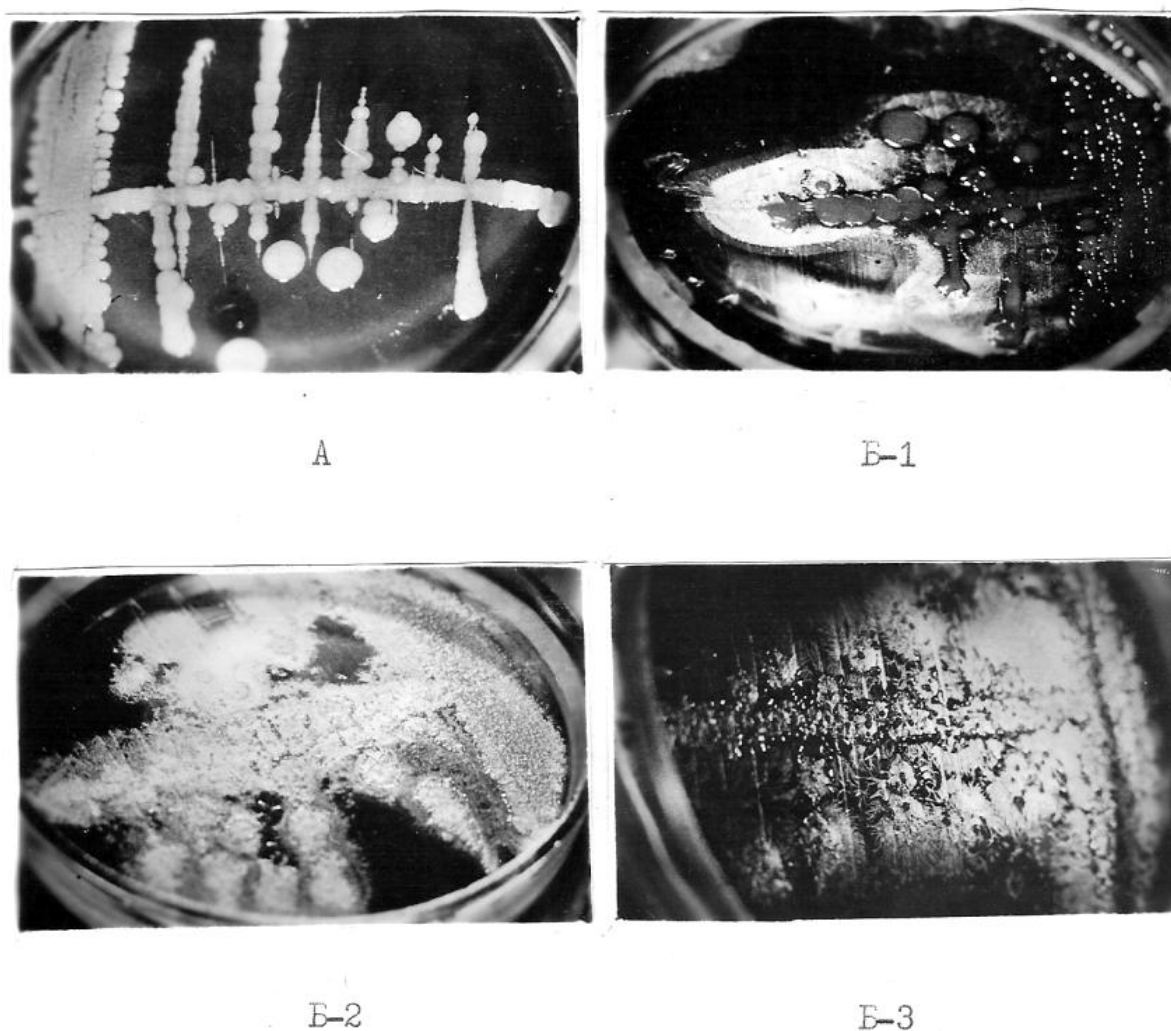


Рис. 4.14. Выявление фермента липазы у *Salmonella enteritidis* бактериологическим методом (в первые сутки роста). **А** – в бентонитовой среде (Устиновский бентонит, размер частиц 0,001 мм в 1% концентрации), **Б** – в вытяжке из бентонита (Устиновский бентонит, 1 – твин 20, 2 – твин 40, 3 – твин 60).

Нами была отмечена зависимость сроков проявления рисунков вокруг колоний и степени выраженности реакции от условий культивирования кишечных бактерий. Так, у культур, выращенных в буферном растворе, ореолы вокруг колоний появлялись на 6-7 сутки, в бентонитовых суспензиях - на 3-4 сутки в вытяжках из бентонита, МПБ, магниевой среде и растворах гуминовых кислот - на 1-2 сутки.

Эти данные коррелируют с результатами интенсивности размножения кишечных бактерий на этих средах. Так, например, размножение *S. enteritidis* на вытяжках из бентонита было на 2,5 lg выше, чем в бентонитовых суспензиях и на 4 lg выше по сравнению с буферным раствором. Активность этого фермента в бентонитовых средах (в суспензиях для иерсиний и в вытяжках для сальмонелл и шигелл) обусловлена наличием в них относительно высокой концентрации липидов, которые и выступают в качестве субстрата для проявления катализирующего действия липазы. В результате действия фермента, липиды подвергаются гидролизу, образуя неэтерифицированные жирные кислоты, которые могут служить источником энергии для кишечных бактерий.

Помимо липазы изучали активность таких ферментов как ДНК-аза и каталаза известным методом (Самнер, Сомерс, 1948; Методы..., 1984). Для определения ДНК-азы ДНК (Методы..., 1984) растворяли в дистиллированной воде и добавляли краситель (толуидиновый синий). В эксперименте использовали все штаммы исследуемых культур и технику посева, такую же, как в предыдущем опыте.

Положительную реакцию на наличие ДНК-азы у бактерий определяли по появлению светлой розовой зоны вокруг участка колоний на синем фоне чашки с красителем - толуидиновым синим. Подобные зоны были нами зарегистрированы на сутки раньше у бактерий, выращенных на бентонитовых средах, по сравнению с фосфатно-буферными средами, что говорит о способности бентонита катализировать биохимические процессы бактерий.

Следует отметить, что наличие светлых розовых зон было обнаружено через сутки после посева как из общепринятых сред накопления (МПБ, магниевая среда), так и из бентонитовых сред (вытяжки из бентанита, бентонитовые суспензии с частицами размером 0,05 мм в 1% концентрации), но у последних эти зоны были гораздо ярче и лучше выражены (рис. 4.15.).

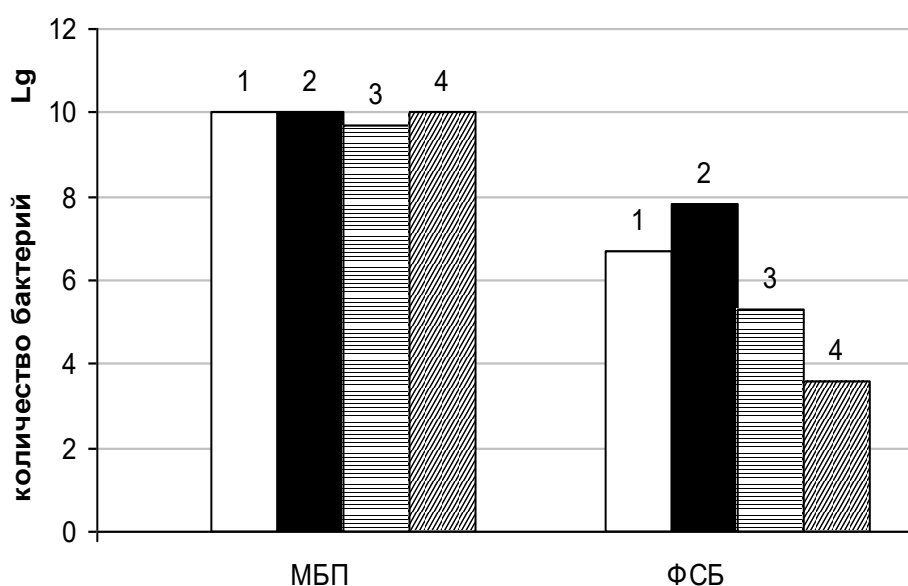


Рис. 4.15. Размножение *Shigella sonnei* на средах с термически обработанным бентонитом на 3-и сутки роста. 1 - жидкая фаза среды (МПБ, ФСБ), 2 – цельный бентонит, 3 – 300 °C, 4 – 800 °C.

Для определения активности каталазы применили метод Д.Е. Самнер, Г.Ф. Сомерс (1948) и И.Л. Левина, Л.Т. Лебедева (1966), который предусматривает использование в качестве субстрата для фермента H_2O_2 , разлагающуюся при действии каталазы на воду и молекулярный кислород. Активность каталазы выражали количеством перекиси, разложившейся под воздействием фермента бактерий, инкубируемых в исследуемых средах накопления.

Данные, представленные на рисунке 4.16. показывают, что в первые три часа культивирования, активность каталазы в средах с бентонитом или его

производными (вытяжка из бентонита, растворы гуминовых кислот 0,01%) была выше и значения ее были более стабильными по сравнению с магниевой средой. Возможно, этим и объясняется ускоренный рост микробов на вытяжках из бентонитов и гуминовых средах, поскольку имеются сведения, что наличие у бактерий высокоактивных каталазы и пероксидазы способствует быстрому разложению гуминовых кислот (Никитин, 1972; Горбунов, 1967).

Следовательно, наши эксперименты подтвердили известную способность бентонитов катализировать биохимические реакции метаболических процессов бактерий.

Таким образом, основным фактором, активизирующим размножение энтеробактерий в бентонитовых средах накопления являются глиногумусовые или органо-минеральные комплексы, которые выполняют роль поставщика органического и минерального питания (аминокислоты, липиды, жирные кислоты, углеводы, гумусовые кислоты и т.д.). Кроме того, эти комплексы, адсорбируясь на поверхности клетки микроба, или, адсорбируя бактерии на своей поверхности, усиливают скорость протекания химических реакций метаболизма бактерий.

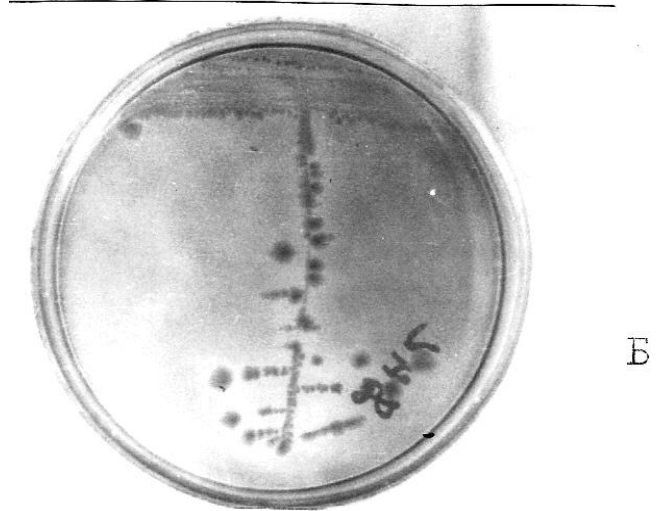
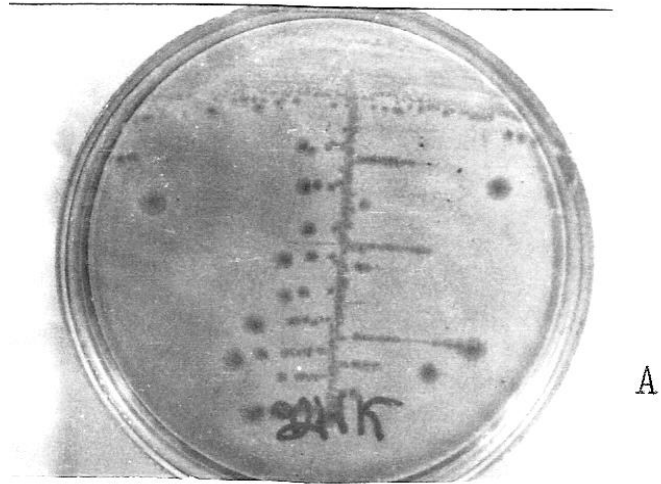


Рис. 4.16. Выявление фермента ДНК-азы у *Salmonella enteritidis* бактериологическим методом. **А** – выращенных на бентонитовой среде (размер частиц 0,001 мм, в 1% концентрации), **Б** – выращенных на вытяжках из бентонита.

ГЛАВА 5. ИЗМЕНЧИВОСТЬ ПОПУЛЯЦИЙ *LISTERIA MONOCYTOGENES* И *YERSINIA PSEUDOTUBERCULOSIS* ПРИ ОБИТАНИИ В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ПОЧВЕННЫХ ЭКОСИСТЕМАХ

5.1. Биотические связи в почвенных сообществах

Почва - обязательный компонент любого биогеоценоза - среда обитания множества различных микроорганизмов. В ней можно встретить самые различные микрзоны, в том числе достаточно благоприятные по своим параметрам для существования бактерий (Звягинцев, 1973; Кожевин, 1989). Наряду с этим, патогенные бактерии, попадая в почву, встречаются с неблагоприятными для них физико-химическими условиями и антагонистическим действием разнообразной почвенной биоты. Огромное разнообразие и комбинации компонентов, составляющих почву, отмечаются даже в пределах одной и той же ограниченной местности. Этим, по-видимому, и объясняются значительные расхождения в вопросе о выживаемости патогенных микробов в почве (Скворцов и соавт., 1966; Сомов, Литвин, 1988).

В естественных условиях микроорганизмы, обитающие в почвенных биогеоценозах, реагируют на изменения условий среды, как результат общего воздействия всех природных факторов. Поэтому оптимальным вариантом для изучения адаптации бактериальных популяций к воздействию изменяющихся факторов окружающей среды является использование в качестве модели почвенных резервуаров, установленных на открытом воздухе и подвергающихся воздействию естественных метеоусловий. В связи с этим в качестве почвенной макроэкосистемы открытого типа использовали резервуар, содержащий 1м³ садово-огородной почвы (почвогрунт), который был установлен на открытом воздухе, где исследуемая бактериальная популяция подвергалась всем естественным воздействиям (температура, осадки, взаимодействия со всеми

членами биоценоза). Почву заражали микробной взвесью, содержащей 10^9 КОЕ/мл (по стандарту мутности). Исходная заражающая доза бактерий при контрольном высеве из почвы составила 6,2-6,5 lg в 1 мл почвенной взвеси.

Для выделения изучаемых патогенных бактерий из почвы необходимо было применить методы, предусматривающие использование адаптированных к почвенным условиям питательных сред, в отличие от традиционно используемых сред, приготовленных на основе рыбного или мясного гидролизатов. С этой целью были созданы эффективные питательные среды на основе смеси экстрактов из капусты, моркови и ржаных отрубей (Патент РФ № 2161655 от 10.11.98). На этой среде колонии изучаемых бактерий развивались так же хорошо, как и на обычных питательных средах. Состав подобной среды, в отличие от питательного агара, приготовленного на основе рыбного гидролизата, максимально приближен к условиям питания микроба, выделенного из почвы, тем более, что овощи являются основными факторами передачи *Y. pseudotuberculosis* (Кузнецов и соавт., 1975; Рожкова, 1977) и в меньшей степени *L.monocytogenes* (Гершун, 1979).

Выделение патогенных бактерий из объектов окружающей среды (почвы, воды, растительного субстрата), обильно обсемененных сапрофитной микрофлорой, представляет большие трудности, и применение обычных дифференциально-диагностических сред не дает возможности наблюдать за динамикой численности этих бактерий в почвенных экосистемах. Поэтому для псевдотуберкулезного микроба была сконструирована генетически маркированная среда приготовленная на основе растительного сырья, куда был внесен в определенной дозе рифампицин (Максименкова, 1987) убивающий почти всю почвенную микрофлору и, не препятствующий росту иерсиний, поскольку были отобраны штаммы бактерии, обладающие высокой устойчивостью к этому антибиотику. При посеве образцов почвы, обсемененной бактериями псевдотуберкулеза, на этих средах выростала почти чистая культура исследуемых бактерий, и небольшом количестве росли представители других

видов почвенной микрофлоры. Полученную дифференциально-диагностическую среду использовали для выделения из экспериментально зараженных почв рифампицинустойчивого штамма Н-2781 псевдотуберкулезного микроба (1b сероварианта), имеющего плазмиды м.м. 4,4 и 48 md.

Наблюдения за динамикой численности псевдотуберкулезного микроба, длительно существующего в нестерильной почве, и изменением его биологических свойств, проводили в течение девяти месяцев (за период с марта по ноябрь 1993 года включительно). Пробы почв, зараженные культурой, отбирали ежемесячно и изучали изменение культуральных, морфологических, ультраструктурных, биохимических и антигенных свойств почвенных штаммов, а также их вирулентность.

В результате проведенных наблюдений удалось установить, что в течение всего весенне-летнего периода (семь месяцев) сохранялась относительно высокая обсемененность почвы иерсиниями (10^3 - 10^4 КОЕ/1мл почвенной взвеси), при этом бактерии не изменили своих морфологических, культуральных и антигенных свойств. Тем не менее, следует отметить, что вирулентность культуры, высеянной в апреле 1993 года, понизилась на один порядок ($LD_{50} 1,2 \times 10^4$), по сравнению с исходной ($LD_{50} 1,1 \times 10^3$), и в последующие месяцы до сентября включительно оставалась на этом уровне.

Некоторые изменения свойств псевдотуберкулезного микроба обнаружили в конце сентября, когда среднемесячная температура составила $+8^\circ$, $+10^\circ$ C. (а в ночное время падала до нуля) (табл. 5.1.).

Изменение вирулентности, морфологических и антигенных свойств псевдотуберкулезного микроба при длительном существовании в почвенной экосистеме открытого типа

Свойства микроба	Контроль*	март-август	сентябрь	октябрь	ноябрь	ноябрь (после реверсии)
Титр реакции агглютинации	1: 3200	1 : 800	1 : 200	1 : 200	1 : 100	1 : 400
Значения LD ₅₀ и ее возможные колебания	1,1 x 10 ³ 2,6x10 ² -0,8x10 ³	1,2 x 10 ⁴ 4,8x10 ⁴ -2,3x10 ⁵	1,1 x 10 ⁵ 2,6x10 ⁵ -3,8x10 ⁶	8,8 x 10 ⁶ 4,5x10 ⁶ -2,3x10 ⁷	2,3 x 10 ⁶ 5,4x10 ⁶ -7,7x10 ⁷	1,2 x 10 ⁶ 3,8x10 ⁶ -6,3x10 ⁷
Морфология колоний	Типичные в S-форме 1-2 мм	Типичные в S-форме 1-2 мм	S-R варианты 2-3 мм	S-R варианты 2-3 мм	R-форма 2-3 мм	S-форма 2-3 мм
Морфология бактерий	Грам- палочки 0,5-1 мкм	Грам- палочки 0,8-1 мкм	Грам- палочки 2-3 мкм	Грам- палочки 2-3 мкм	Грам- палочки 3-4 мкм в цепочках	Грам- палочки 1-2 мкм
ДНКаза	20 ± 7,2	80 ± 9,5	150 ± 20,1	220 ± 35,0	**	-
липаза	50 ± 4,8	60 ± 4,2	160 ± 31,0	220 ± 30,0	-	-
уреаза	80 ± 9,5	80 ± 5,2	130 ± 20,0	350 ± 21,4	-	-
амилаза***	10 ± 2,1	15 ± 1,4	25 ± 7,1	55 ± 9,3	-	-
Плазмидный спектр	48, 4,4 MDa	4,4 MDa	4,4 MDa	4,4 MDa	4,4 MDa	4,4 MDa

Примечание: * - рифампицинустойчивый штамм , ** - не определяли; *** - диаметр поля реакции в мм

Таблица 5.2.

**Изменение биохимических свойств псевдотуберкулезного микроба,
обитающего в нестерильной, искусственно зараженной почве.**

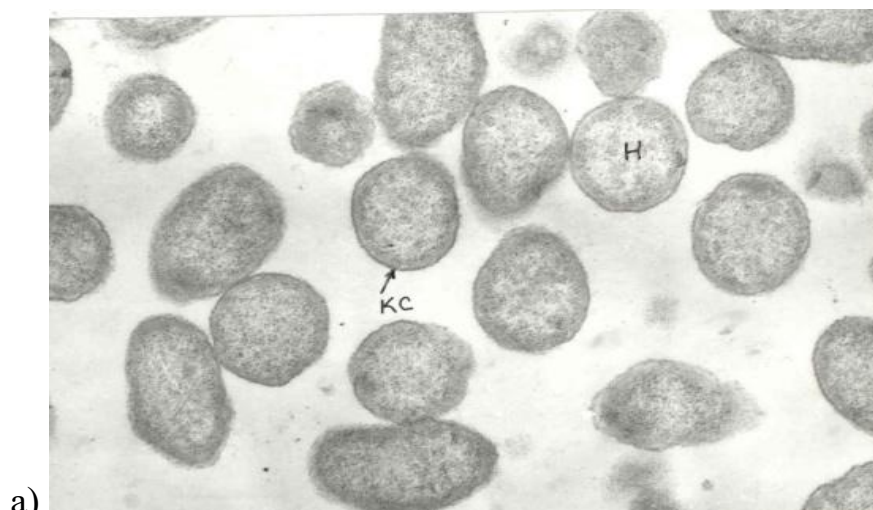
Субстрат	Контроль, исходный штамм	Штамм Н-2781, обитающий в почве				
		март- август	сентябрь	октябрь	ноябрь	ноябрь *(после реверсии)
Глюкоза	+	+	+	+(7)	+(8)	+
Ксилоза	+сл	+сл	—	—	—	+сл
Фруктоза	+	+	+(4)	+(7)	—	+
Мальтоза	+	+	+(5)	+(8)	—	+
Салицин	+	+	—	—	—	+
Манноза	+	+	+(4)	+(7)	—	+
Арабиноза	+	+	+	+(6)	—	+
Мелибиоза	+сл	+сл	+сл	—	—	+сл
Рамноза	+	+	+(7)	+(8)	—	+
Маннит	+	+	+(5)	+(7)	—	+
Сорбит	—	—	+	—	—	—
Малонат Na	—	—	+	+	+	—
Цитрат Кристенсена	—	—	+	+	+	—
Цитрат Симмонса	—	—	+	+	+	—
Лактоза	—	—	—	—	—	—
Аргинин	—	—	—	—	—	—
Сахароза	—	—	—	—	—	—
Лизин	+	—	—	—	—	+
Эскулин	—	+	+(3)	+(6)	—	+(2)
Дульцит	—	—	—	—	—	—
Инозит	—	—	—	—	—	—
Мочевина	+	+	+(2)	+(5)	—	+

Примечания: * - почвенный 9-месячный штамм после 7 пассажей на питательном агаре при 12⁰С

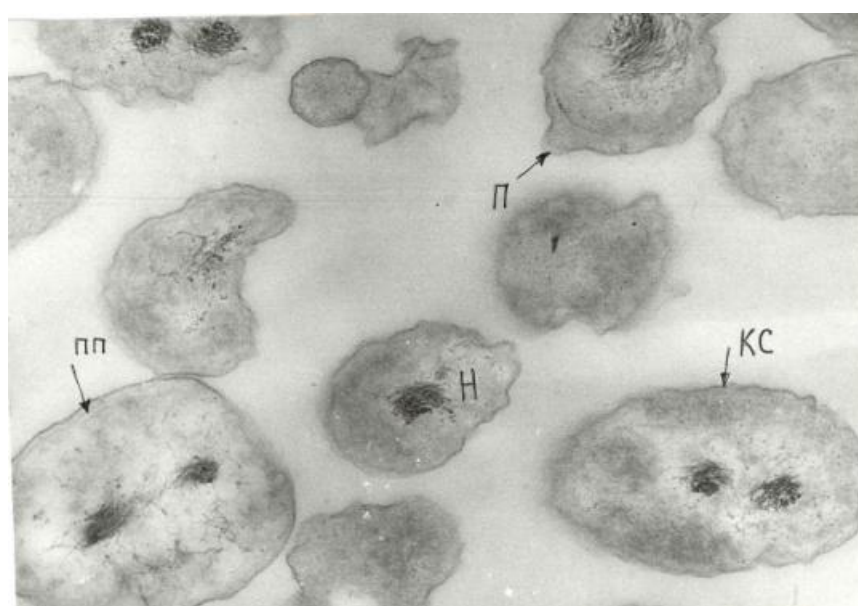
Количество выросших на чашках колоний сократилось до 100 КОЕ/1мл. При этом псевдотуберкулезный микроб, после семимесячного пребывания в почве, начал медленнее разлагать такие сахара как фруктоза, мальтоза, манноза, рамноза, маннит, а также эскулин, мочевины, не разлагал ксилозу и салицин, но в отличие от контрольного штамма приобрел способность разлагать цитраты (среды Кристенсена, Симонса), а также малонат натрия (табл. 5.2.).

Изменились и морфологические свойства культуры. Колонии на растительном агаре имели R-форму (с неровным фестончатым краем, зернистые, мутновато-белые), большие размеры (2-3 мм) по сравнению с контролем (1-2 мм) и плохо снимались бактериологической петлей. На среде Серова колонии также выглядели нетипично для иерсиний по сравнению с контролем: крупные, блестящие колонии с неровным краем, центр которых неясно выражен. По Граму бактерии окрашивались отрицательно и были в два раза крупнее (2-3 мкм) по сравнению с контролем (0,5-1 мкм).

Почвенные варианты бактерий претерпевали достаточно существенные изменения и на уровне ультраструктурной организации, что было установлено при электронно-микроскопическом исследовании ультратонких срезов клеток псевдотуберкулезного микроба. Как можно видеть на рисунке 5.1, нуклеоид псевдотуберкулезного микроба, находящегося в почве в течение 7 месяцев, был более сконденсированным по сравнению с диспергированным его состоянием у исходного варианта. Кроме того, у бактериальных клеток 7-месячной почвенной культуры наблюдалось формирование выростов клетки - простеков, увеличивающих площадь клеточной поверхности.



а)



б)

Рис. 5.1. Изменение ультраструктуры псевдотуберкулезного микроба (штамм Н-2781- 1b серовариант), после пребывания в почве в течение 7 месяцев (б), (а) – контроль, исходная культура.

КС – клеточная стенка, ПП – периплазматическое пространство, Н – зона нуклеоида, П – простеки. Электронограмма.

По данным литературы, такие образования наблюдаются при адаптации к условиям голодания у неспорных почвенных бактерий (Никитин , 1985). Тем не менее, следует отметить, что исследуемые бактерии, выделенные из почвы через 7-8 месяцев после ее заражения, сохранили свои основные клеточные структуры, что свидетельствует о возможности их длительного существования и

размножения в объектах окружающей среды.

Антигенные свойства почвенных вариантов культур также изменились, титр агглютининов упал с 1:800 до 1: 200, культура стала слабовирулентной ($1,1 \times 10^6$) по сравнению с контролем ($1,1 \times 10^3$) ($p < 0,05$). Вероятно, это связано с элиминацией плазмиды вирулентности (pYv) с м.м. 48 md, которая играет важнейшую роль в патогенности иерсиний (Шубин и соавт., 1985, Шубин, 1993; Gemsky et. al., 1980 Bolin et. al., 1982). Как было установлено по данным, характеризующим плазмидные спектры почвенного штамма по сравнению с контрольным, уже к 6 месяцам пребывания в почве плазида вирулентности отсутствовала у почвенного варианта штамма. Возможно, элиминированию плазмиды способствовали высокие летние температуры, так как известно, что в экспериментах *in vitro* при 36-37°C более 90 % клеток *Y.pseudotuberculosis* теряют плазмиду вирулентности в течение 15 - 20 пассажей (Тимченко, 1986; Венедиктов, 1988).

Более глубокие изменения в сторону сапрофитизации наблюдали у почвенного штамма, выделенного в ноябре. На дифференциально-диагностических средах с замедлением роста (2-3 суток) высевали уже единичные колонии иерсиний, которые имели вид типичных R-форм. Колонии «врастали» в агар и плохо снимались бактериологической петлей. Данные световой микроскопии показали, что эти колонии образованы грамтрицательными бактериями размером 3-5 мкм (что в 2-3 раза больше по сравнению с контролем), образующими цепочки разной длины. В этот период наблюдался значительный полиморфизм исследуемых бактерий.

Электронно-микроскопическое исследование, подтвердило наличие полиморфных форм у «девятимесячного» почвенного штамма псевдотуберкулезного микроба. Кроме того, как можно видеть на рис. 5.2, бактерии после 9-месяцев пребывания в почве претерпевали значительные субмикроскопические изменения.

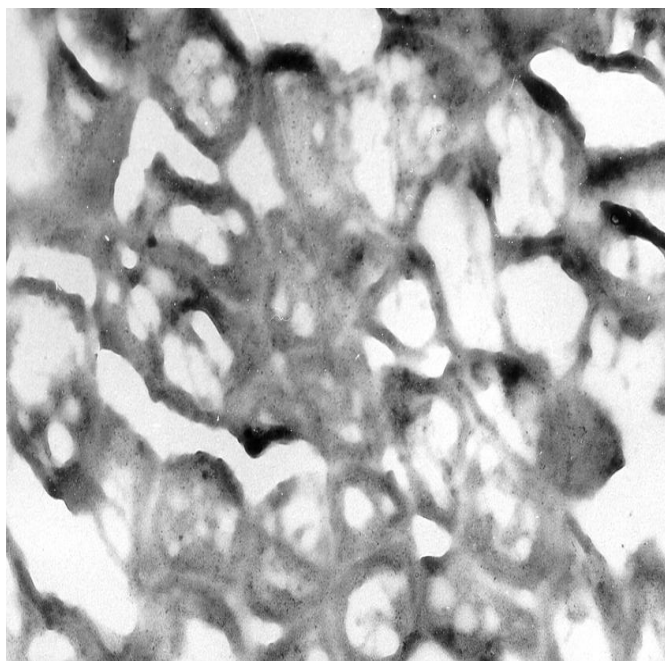


Рис. 5.2. Субмикроскопические изменения ультраструктуры псевдотуберкулезного микроба (штамм H-2781- 1b серовариант), после пребывания в почве в течение 9 месяцев.

Наблюдали скопления бактерий, окруженных межклеточным аморфным веществом, образующимся, по-видимому, за счет интенсивного слизиобразования. Обнаружены дефекты зоны нуклеоида. Такое же явление ряд авторов наблюдали у цианобактерий при длительном обитании их в почве (Громов, 1989), у галотолерантных дрожжей при повышенном содержании в среде NaCl, у дрожжевых клеток *Candida utilis* при недостатке фосфора в среде (Петрекевич, Литвиненко, 1988).

По-видимому, в бактериальной клетке псевдотуберкулезного микроба, так же как у дрожжевых клеток, при стрессовых ситуациях возникают межмембранные связи для непосредственного обмена метаболитами, что является структурным проявлением наличия жестких регуляторных механизмов. Судя по данным литературы, природа этих механизмов пока неясна. Можно лишь предположить, что здесь имеет место нарушение механизма контроля синтеза структурных компонентов клетки - органелл, связанных с энергетическим обеспечением метаболизма и синтеза белка.

По данным, представленным в таблице 5.1, видно, что титр реакции

агглютинации у штамма псевдотуберкулезного микроба, пробывшего в почве в течение 9-и месяцев, снизился до 1:100 по сравнению с исходным (1:800), и культура по-прежнему оставалась слабовирулентной ($LD_{50} - 2,3 \times 10^6$).

У почвенного «девятимесячного» штамма изменялись и биохимические свойства. Так, он перестал ферментировать почти все углеводы, которые разлагались исходным штаммом, включая моносахариды, дисахариды, трисахариды, а также сахароспирты и гликозиды. Однако, так же как «6-7-месячные» почвенные штаммы, он разлагал цитраты и малонат натрия, вероятно используя их в качестве источника углерода. В связи с этим с помощью традиционных бактериологических методов невозможно было определить вид выделенного из почвы штамма, поэтому пришлось прибегнуть к помощи молекулярно-генетического анализа. При постановке полимеразной цепной реакции (ПЦР), проведенной совместно с М.Ф. Дзадзиевой, удалось доказать принадлежность выделенного нами почвенного штамма к виду *Y. pseudotuberculosis*.

Поскольку большинство сахаров не ферментировались почвенным «девятимесячным» штаммом, а разлагались субстраты, которые ранее не использовались исходным штаммом псевдотуберкулезного микроба, можно было предположить, что в зависимости от условий обитания бактерий в процесс биосинтеза включаются разные метаболические пути. При этом индуцируется синтез ферментов, соответствующих определенному пути метаболизма (Шлегель, 1987).

В подтверждение этому следует отметить, что активность некоторых ферментов почвенного «девятимесячного» штамма была действительно выше по сравнению с исходным штаммом. Так, из данных, представленных в табл. 5.1., видно, что активность липазы у почвенного штамма в три раза превышала показатели контроля, что коррелирует с данными по утилизации почвенными бактериями цитратов (в отличие от исходного штамма), которые являются необходимой основой для синтеза жирных кислот (Ленинджер, 1976).

Активность ДНК-азы почвенного штамма была в 6 раз выше, чем у исходного, что очевидно связано с участием фермента в процессах расщепления на фрагменты почвенных нуклеиновых кислот, которые, выступая в роли субстрата, используются клеткой в качестве строительных блоков в анаболическом процессе.

Таким образом, в течение длительного времени обитания в нестерильной почве псевдотуберкулезный микроб изменяется в сторону сапрофитизации, что подтверждает высказывания некоторых исследователей, работавших в этом направлении (Классовский и соавт. 1965; Сомов, 1976; Литвин, 1988), о том, что псевдотуберкулезный микроб приспособлен к сапрофитному образу жизни, что и является одной из его характерных экологических особенностей.

Дальнейшие исследования показали, что многократное пассирование почвенной «девятимесячной» культуры (7 пассажей) на питательном рыбном агаре при температуре 6-8°C привело к возвращению всех утраченных свойств микроба, присущих исходному штамму (исключая вирулентность). Очевидно, что в данном случае мы наблюдали фенотипическую изменчивость, возникшую у псевдотуберкулезного микроба при изменении экологических условий.

Следует отметить, что сапрофитизация псевдотуберкулезного микроба сопровождалась диссоциацией его в R-форму, что, как известно, является приспособлением к неблагоприятным условиям обитания (Беляков и соавт. 1987). При этом R-форма не являлась истинной, так как при 4-7-кратном пассировании культуры при температуре 6-8 °C она реверсировала в исходную S-форму. Кроме того, «девятимесячный» почвенный штамм не терял полностью своих агглютинабельных свойств, что характерно для истинной R-формы псевдотуберкулезного микроба (Петровская, 1967; Варвашевич, Сомов, 1978), титр агглютининов лишь значительно снижался по мере пребывания бактерий в почве.

В течение 9-ти месяцев было отмечено постепенное изменение свойств псевдотуберкулезного микроба. Так, если весенне-летний период не был

результативным в отношении изменения свойств исследуемых бактерий, то в сентябре-октябре расщепление бактериями сахаров было замедленным по сравнению с контролем, а у «ноябрьского» штамма ферментацию ряда сахаров не наблюдали до тех пор, пока не вернули культуру в исходное состояние путем пересевов на питательном агаре. К тому же культура потеряла свою прежнюю вирулентность и титры агглютинации были снижены по сравнению с исходным штаммом. Это подтверждает данные о том, что не только биохимические свойства, но также агглютинабельность и вирулентность являются варьирующими признаками и легко поддаются изменчивости (Беленева, 1996; Woodet, Wadbine, 1979; Stecha et al., 1989).

По всей вероятности, новые свойства, возникшие у исходного лабораторного штамма псевдотуберкулезного микроба под влиянием факторов окружающей среды (трофика, pH, температура и т.д.), были вначале нестойкими, лабильными, в дальнейшем при продолжающемся действии тех же факторов стойко закреплялись в новых генерациях у все большего количества бактериальных клеток.

5.2. Влияние температурного фактора на существование патогенных бактерий в проточных почвенных колонках

Размножение псевдотуберкулезного и листериозного микробов в почвенных биогеоценозах в настоящее время является известным фактом, но большинство исследователей рассматривали почву как обобщенный субстрат, без учета ее особенностей и специфики сложного состава. Очевидно, что тип и состояние почв играют огромную роль в существовании патогенных микроорганизмов, так как почвы резко различаются между собой по запасу органического вещества и элементов минерального питания, реакции среды, гранулометрическому составу и микробным ассоциациям.

Несмотря на то, что в природных условиях живые организмы реагируют,

как правило, на общее воздействие среды, чем на отдельные ее факторы, познать видовые особенности функционирования и правильно интерпретировать их в каждом конкретном случае помогают исследования, относящиеся к действию какого-либо одного фактора, важность которого не вызывает сомнения. К числу подобных факторов следует отнести температуру.

В связи с этим мы поставили перед собой задачу изучить влияние температурного фактора, а также физико-химических особенностей почв на выживание популяций патогенных бактерий на примере листериозных (штаммы П, К, 10 CN, 1m – серовариант 1/2a) и псевдотуберкулезных (штаммы Н-2781, 282, 512 – серовариант 1b и 907 штамм 1a серовариант) микробов.

Для решения поставленной задачи мы провели долгосрочный опыт в почвенных колонках (Ларионов, Беляков, 1990), которые были заполнены тремя различными типами почв (бурая отбеленная, бурая лесная, почвогрунт – садовоогородная) и находились в двух температурных режимах 18-20⁰С и 6-8⁰С в течение 2-х лет (срок наблюдения).

Следует отметить, что не все взятые в эксперимент штаммы смогли приспособиться к выбранным условиям среды. Так, наиболее жизнеспособными оказались штаммы П и 10CN листерий и штаммы Н-2781, 512, 907 иерсиний (бактерии высевали в течение всего срока наблюдения - 2 года), а такие штаммы листерий, как К, 1m и штамм 282 иерсиний высевались только в течение 1-1,5 недель.

На высеваемость исследуемых бактерий из почв оказывали влияние биотические факторы среды. Так, данные, представленные на рис. 5.3, показывают, что высеваемость патогенных бактерий из экспериментально зараженного нестерильного почвогрунта была гораздо ниже (в 100-1000 раз) по сравнению со стерильной почвой, что объясняется активным влиянием на исследуемые бактерии аутохтонной почвенной микрофлоры и других представителей почвенной биоты.

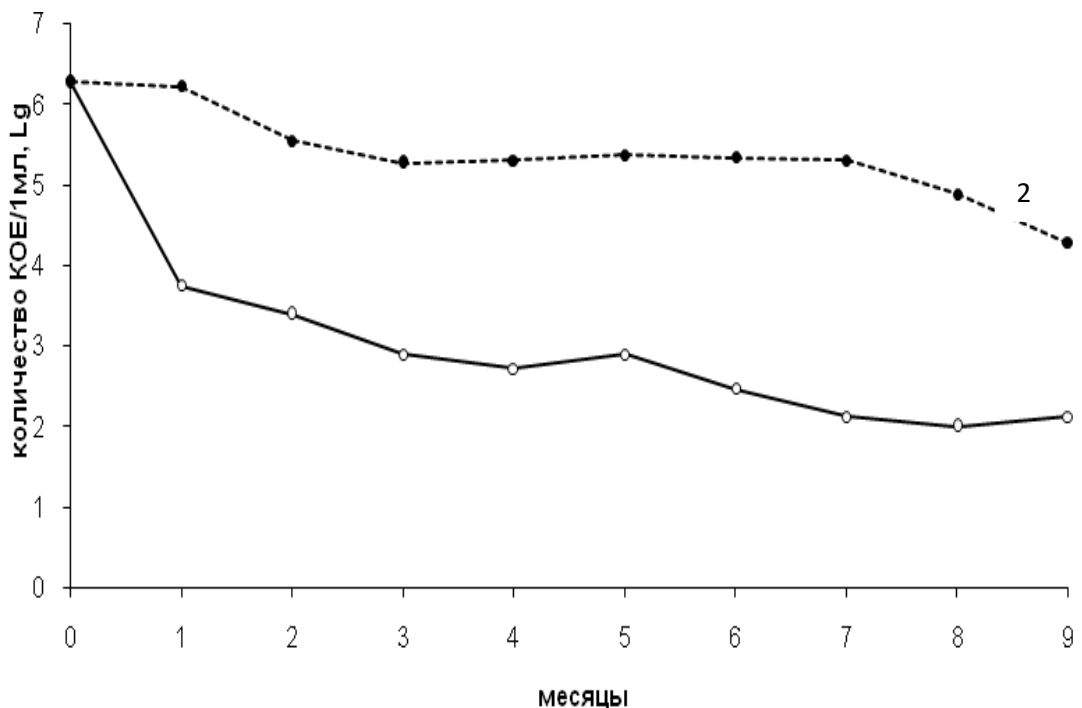


Рис. 5.3. Высеваемость *L.monocytogenes* (штамм 2L) из экспериментально зараженной нестерильной (1) и стерильной (2) почвы (почвогрунт) при температуре 6-8⁰С, (n=9) (p<0,05)

Результаты проведенных исследований позволили установить, что листерий и иерсиний высевались из всех трех типов почв в течение всего срока наблюдения. Тем не менее, при экспериментальном заражении почв большее количество листерий высевалось из почвогрунта, а иерсиний - из почвогрунта и бурой отбеленной почвы. При этом к 9 месяцам (срок наблюдения) ясно проявилась тенденция к стабилизации численности почвенных вариантов бактерий на определенном уровне. В.Ю. Литвин (1988), П.А. Кожевин (1989) отмечают, что стабилизация популяции бактерий на ненулевом уровне численности является первым критерием адаптации ее к условиям данной среды.

Можно было предположить, что на существование листериозного и

псевдотуберкулезного микробов в почвенных экосистемах оказывает влияние органо-минеральный состав почв, с точки зрения характеристики его как возможного источника питания для исследуемых бактерий.

Сравнительный анализ исследуемых типов почв, представленный в табл. 5.3., показал, что количество гумуса и обменных оснований Ca^+ и Mg^+ убывает в соответствии со следующей последовательностью почв: почвогрунт, отбеленная, бурая лесная. Анализируя полученные данные, можно было предположить, что на выживаемость исследуемых бактерий в почвогрунте оказывало влияние большее содержание в нем гуминовых кислот по сравнению с другими почвами.

Известно, что гуминовые кислоты являются источником органического питания для почвенных микроорганизмов (Кононова, 1963; Бузолева, 1990). В связи с этим представляло интерес установить, могут ли патогенные бактерии использовать их также в качестве питательного субстрата. С этой целью были проведены экспериментальные исследования, в ходе которых удалось установить, что листерии и иерсинии размножались на 0,01% растворах гуминовых кислот, при этом прирост бактерий увеличивался на 3,5 - 4 lg по сравнению с исходным количеством ($p < 0,05$).

Таблица 5.3.

Органический и минеральный состав исследуемых почв
(на 100 г почвы)

тип почвы	рН	обменные основания, % к почве		емкость катионного обмена	общий углерод, % к почве	сумма ГК, % к общему углероду почвы	сумма ФК, % к общему углероду почвы
		Ca^{2+}	Mg^{2+}				
бурая отбеленная	7,36	0,65 ±0,02	0,14 ±0,03	1,84 ±0,05	2,69 ±0,06	22,14 ±2,15	17,9 ±2,64
бурая лесная	5,85	0,35 ±0,01	0,08 ±0,01	0,89 ±0,01	1,1 ±0,01	17,39 ±1,06	82,6 ±2,81
почвогрунт	6,6	0,8 ±0,02	0,25 ±0,01	2,5 ±0,12	4,52 ±0,05	49,92 ±3,05	50,1 ±12,6

Поскольку структурной единицей почвы являются глино-гумусовые частицы, представляло определенный интерес изучить влияние на размножение исследуемых бактерий не только гуминовых кислот, но и второй составляющей - монтморилонитовых глин (на примере цеолитовых и бентонитовых пород). Результаты экспериментальных исследований, представленные на рис. показывают, что бентонитовые и цеолитовые минералы повышают численность бактерий на 4-5 lg по сравнению с исходной концентрацией ($p < 0,01$) в зависимости от штамма, размеров частиц используемых глин и их разновидности (месторождение минерала). Глино-гумусовые комплексы играют роль поставщика органического и минерального питания для патогенных бактерий, обитающих в почве (Звягинцев, 1987; Бузолева, 1990). Известно, что, адсорбируясь на поверхности клетки микроба или адсорбируя бактерии на своей поверхности они способны усилить скорость протекания химических реакций обмена (Звягинцев, 1973; Garsia, Feller, 198; Grosovsky, 1982).

Следует отметить, что не только трофические особенности почв, но и температурный фактор оказывал существенное влияние на высеваемость исследуемых патогенных бактерий из экспериментально зараженных почв.

Так, на рис. 5.4 показано, что к 9- месячному сроку наблюдения высеваемость у иерсинии при низкой температуре была на 1,5 lg, а у листерии на 2 lg выше ($p < 0,01$) по сравнению с тепловыми вариантами культур.

Кроме того, удалось установить, что температура оказывала значительное влияние на изменение биологических свойств исследуемых бактерий. Сравнительные результаты по изучению биохимической активности иерсиний отражены в таблице 5.4. Как видно из представленных данных, почвенные варианты штаммов псевдотуберкулезного микроба 512 и 907 отличались по своим биохимическим свойствам.

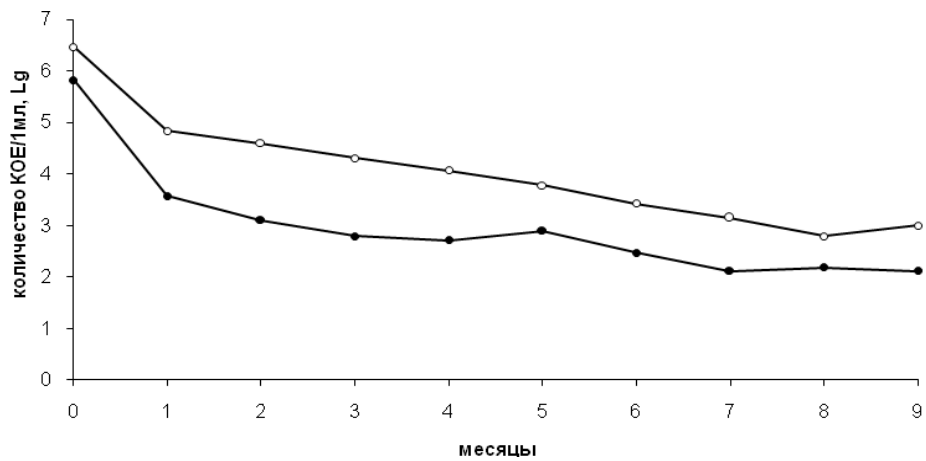
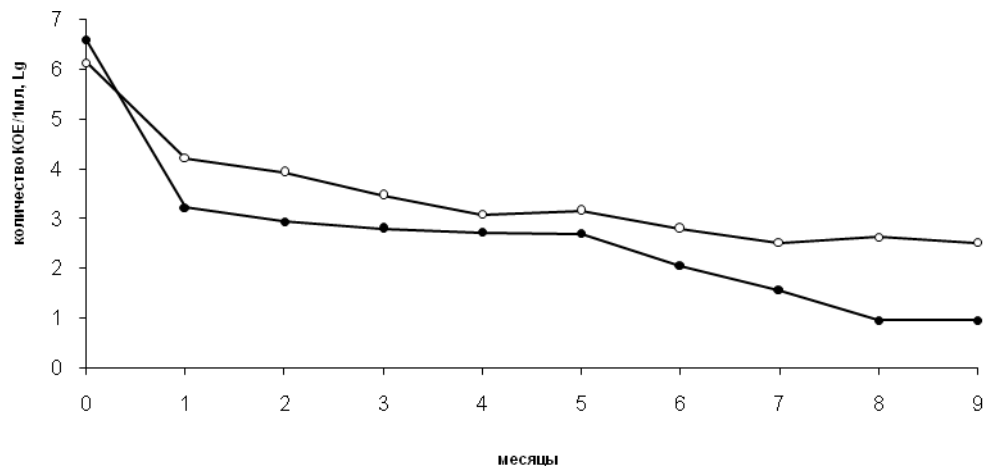


Рис. 5.4. Влияние температурного фактора (1- 18-20⁰С; 2 – 6-8⁰С) на выживаемость *L. monocytogenes* (А) и *Y. pseudotuberculosis* (Б) в нестерильном экспериментально зараженном почвогрунте, (n=3) (p<0,01)

Таблица 5.4.

Изменение биохимических свойств штаммов *Y. pseudotuberculosis* при длительном обитании в нестерильном почвогрунте при разных температурных условиях

Субстраты	штамм 512							штамм 907						
	Конт-роль*	18-20 ⁰ С			6-8 ⁰ С			Конт-роль*	18-20 ⁰ С			6-8 ⁰ С		
		1 мес	9 мес	2 год	1 мес	9 мес	2 год		1 мес	9 мес	2 год	1 мес	9 мес	2 год
глюкоза	+	+	+(3)	+(7)	+	+(3)	+(3)	+	+	сл+	+(5)	+	+	+(7)
лактоза	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
мальтоза	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+(3)	+(5)	+	+	+(8)
маннит	+	+	+(3)	-	+	+	-	+	+	+(3)	+(5)	+	+	+(8)
сахароза	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
малонат Na	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
крахмал	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+(4)	+(5)	+	+	+(7)
манноза	+	+	+(3)	-	+	+	+(5)	+	+	+(3)	+(5)	+	+	+(8)
аденит	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ксилоза	+	+	+(3)	-	+	+(5)	+(7)	+	+	+(3)	+(3)	+	+	+(8)
аргинин	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
лизин	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
эскулин	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+(2)	+(7)	+	+	+(7)
мочевина	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+(3)	+(5)	+	+	+(7)
цитрат Симонса	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	сл+	сл+

Примечание: * - исходный музейный штамм, «+» – положительная реакция, «сл+» – слабоположительная реакция, () – время проявления реакции в сутках

Таблица 5.5.

Изменение биохимических свойств штаммов *L. monocytogenes* при длительном обитании в нестерильной почве при разных температурных условиях

Субстраты	штамм А							штамм П						
	Конт-роль*	18-20 ⁰ С			6-8 ⁰ С			Конт-роль*	18-20 ⁰ С			6-8 ⁰ С		
		1 мес	9 мес	2 год	1 мес	9 мес	2 год		1 мес	9 мес	2 год	1 мес	9 мес	2 год
глюкоза	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
лактоза	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
мальтоза	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
маннит	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	сл+	-	-
сахароза	-	-	+	+	-	-	-	+	+	+	сл+	+	+	+
дульцит	-	-	-	сл+	-	-	-	-	-	-	сл+	-	-	-
мелибиоза	-	-	-	сл+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
крахмал	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
аденит	-	-	-	сл+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ксилоза	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	сл+	+	+	+
рафиноза	-	-	-	сл+	-	-	-	-	-	-	сл+	-	-	-
аргинин	-	-	-	сл+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
лизин	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-
эскулин	+	+	-	-	+	сл+	+	+	+	-	-	+	сл+	сл+
арабиноза	-	-	-	сл+	-	-	-	-	-	-	сл+	-	-	-
салицин	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	сл+	+	+	+

Примечание: * - исходный музейный штамм, «+» – положительная реакция, «сл+» – слабоположительная реакция

Таблица 5.5. (продолжение)

Изменение биохимических свойств штаммов *L. monocytogenes* при длительном обитании в нестерильной почве при разных температурных условиях

Субстраты	штамм 10CN							штамм 2L						
	Конт- роль*	18-20 ⁰ С			6-8 ⁰ С			Конт- роль*	18-20 ⁰ С			6-8 ⁰ С		
		1 мес	9 мес	2 год	1 мес	9 мес	2 год		1 мес	9 мес	2 год	1 мес	9 мес	2 год
глюкоза	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
лактоза	-	-	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
мальтоза	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	сл+	+	+	+
маннит	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
сахароза	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
дульцит	-	-	-	сл+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
мелибиоза	-	-	-	сл+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
крахмал	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
манноза	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
аденит	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ксилоза	+	+	+	сл+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+
рафиноза	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
аргинин	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
лизин	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
эскулин	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	сл+	сл+
арабиноза	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	сл+	-	-	-

Примечание: * - исходный музейный штамм, «+» – положительная реакция, «сл+» – слабоположительная реакция

Примечание: * - рифампицинустойчивый штамм; ** - не определяли; *** - диаметр поля реакции в мм

Так, длительное существование штамма 512 в почве привело к утрате активности ферментов, разлагающих пентозы и гексозы как у «холодовых», так и у «тепловых» вариантов. В отношении 907 штамма таких изменений отмечено не было. Но, тем не менее, оба «почвенных» штамма при длительном существовании при комнатной температуре приобретали способность, в отличие от исходного варианта, разлагать цитраты и малонат натрия. Аналогичные результаты были получены для штамма Н-2781, находящегося в течение 9 месяцев в открытом резервуаре с почвой. Следовательно, температурный фактор оказывает влияние на характер обменных процессов псевдотуберкулезного микроба при длительном обитании его в почвенных экосистемах.

Следует отметить, что «холодовые» варианты культур, как листерий, так и иерсиний в основном сохраняли свои биохимические свойства, но разлагали медленнее все сахара, т.е. наблюдалась значительная задержка ферментативной активности бактерий, что согласуется с данными литературы (Фиштейн, 1985; Беленева, 1996).

Результаты исследований, представленные в табл. 5.5., показывают, что при температуре 18-20°C листерий изменяли свои биохимические свойства (в зависимости от штамма). Так, почвенные варианты штаммов листерий (10CN, П и А) в отличие от контрольного и почвенного штамма 2L, приобретали способность дополнительно ферментировать некоторые сахароспирты (маннит, дульцит, инозит) и аминокислоты (лизин, аргинин). Кроме того, почвенные штаммы листерий при комнатной температуре утрачивали способность разлагать ксилозу и сложные органические вещества эскулин и крахмал. Изменения ферментативной активности листерий описаны при длительном взаимодействии их с простейшими (Пушкарева и соавт, 1994).

Следует отметить, что листерий, после двухлетнего пребывания в почве при 18-20°C, полностью диссоциировали в R-форму. При этом бактерии имели форму длинных извитых нитей с булабовидными утолщениями на концах (рис.

5.5.a). Аналогичные морфологические особенности у листерий в неблагоприятных экологических условиях описали П.П. Сахаров, Е.И. Гудкова (1950) и В.В. Сливко (1959).

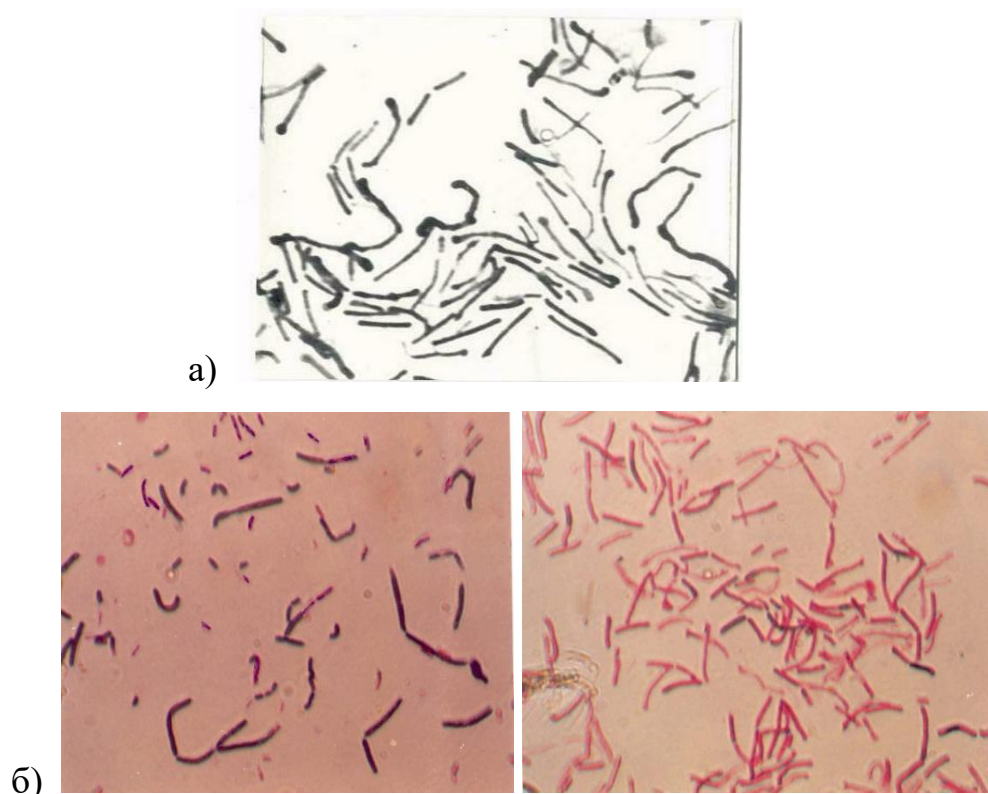


Рис. 5.5. Изменчивость листерий после двухлетнего пребывания в почве, х400

При микроскопии препаратов, окрашенных по Граму, отмечали полиморфность листерий и изменение окраски в сторону красной гаммы (рис. 55б), по-видимому, в результате изменения химического состава клеточной стенки бактерий. Подобное явление отмечено также при длительном взаимодействии листерий с простейшими (Пушкарева и соавт., 1994). Очевидно, что при длительном существовании в почвенных биогеоценозах, сапрофитная микрофлора почв, которая активно размножается и конкурирует при этой температуре, оказывает влияние на поверхностные структуры исследуемых патогенных бактерий.

Данные сравнительных исследований, представленные в табл., позволяют

сделать заключение, что при 18-20°C при длительном пребывании в почве (2 года) и у листерий, и у иерсиний изменяется антигенная структура (снижаются титры агглютинации) и штаммы бактерий становятся авирулентными (табл.5.6.).

Таблица 5.6

Изменение титра агглютинации различных штаммов листериозного и псевдотуберкулезного микробов при длительном обитании в почвенных проточных колонках при разных температурах.

штамм	длительность пребывания в почве (месяцы)						
	контроль, исходный штамм	6		12		24	
		18-20 ⁰ С	6-8 ⁰ С	18-20 ⁰ С	6-8 ⁰ С	18-20 ⁰ С	6-8 ⁰ С
907*	1:800	1:400	1:800	1:100	1:400	1:100	1:400
512*	1:1600	1:200	1:800	1:100	1:800	1:100	1:800
П**	1:6400	1:400	1:1600	1:100	1:800	1:100	1:800
10CN**	1:600	1:200	1:600	1:100	1:600	1:50	1:600

Примечание: * - иерсинии, ** - листерии

Следует отметить, что обнаруженные при 18-20°C изменения происходили на фенотипическом уровне и, при пассировании измененных штаммов на питательном агаре (от 3 до 5 пассажей в зависимости от штамма), они вновь приобретали свои исходные морфологические, культуральные и биохимические свойства, но вирулентность их не восстанавливалась. При низкой температуре (6-8°C) и листерий и иерсиний сохраняли в основном свои биологические свойства и исходную вирулентность. Очевидно, что для проявления и поддержания вирулентности нужны особые условия. Эпидемиологический анализ в полном соответствии с указанным выводом свидетельствует, что почти все эпидемические вспышки псевдотуберкулеза и листериоза возникли после употребления в пищу длительно хранившихся инфицированных овощей и

силоса при низкой температуре (Кузнецов, 1975; Гершун, 1988).

В результате проведенных наблюдений обнаружено, что листерии, при длительном пребывании в почве, образуют капсулу (рис. 5.6.).

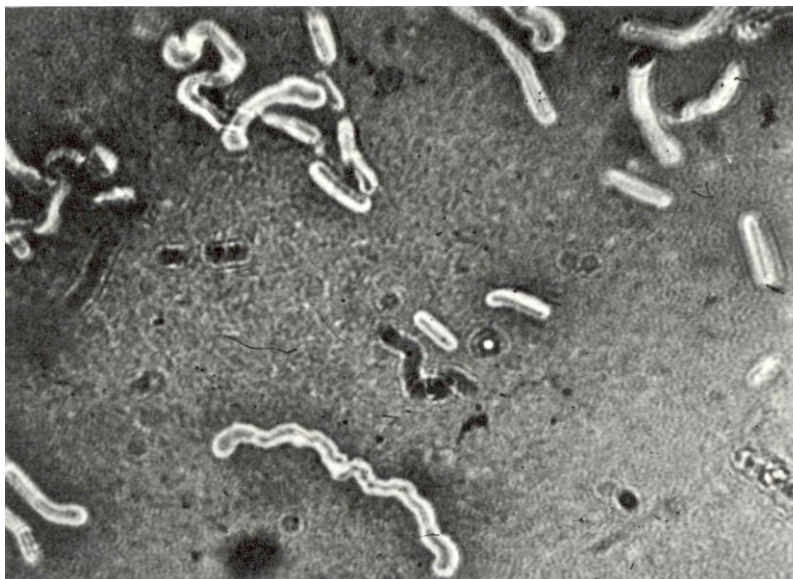


Рис. 5.6. Капсула у *L.monocytogenes* (штамм 4b сер.) после двухлетнего пребывания в нестерильной почве при температуре 18-20°C, x400

До сих пор этот вопрос оставался дискуссионным в литературе. Еще в 1939 году J.S.Paterson сообщил о наличии у листерии капсулоподобного слоя. G. Smith et.al. наблюдали существование капсулы при помощи электронной микроскопии. Однако исследования Х. Зеелигера (1959), направленные на выявление капсулы у листерии, не увенчались успехом. В последнем издании определителя бактерий (Bergey`s manual, 1997) также отрицается наличие капсулы у листерии. По-видимому, существующие методы определения капсулы не были удовлетворительными в отношении листерии, поэтому в справочной и учебной литературе либо отрицается наличие капсулы у этого микроорганизма, либо не упоминается о ней совсем.

Нами установлено, что хорошо выраженную капсулу у *L.monocytogenes* можно обнаружить при выращивании культуры на кровяном агаре. В литературе также описаны случаи применения специальных питательных сред с целью выявления капсулы у бактерий (Прохоров, и соавт., 1976; Голубев, Манукян,

1979). Для получения более контрастного препарата использовали метод окрашивания мазка черной тушью по Гинсу с последующей фиксацией абсолютным метанолом и докраски карболовым раствором фуксина в течение 5-10 мин.

Бактериоскопия мазков одного и того же штамма листерий показала различную выраженность капсульного вещества. Часто наряду с формами, имеющими хорошо выраженную капсулу, выявлялись бактерии со слабо выраженной капсулой или не имеющие ее совсем. Очевидно, это в какой-то степени объясняет противоречивость данных, имеющихся в литературе. Процент капсулированных форм бактерий зависел от штамма и температурных условий. Так, у штамма листерий П это составило 75-80% при 18-20°C и 30-40% при 6-8°C, а у штамма 10 CN - 45-50% и 10-15% соответственно.

Таким образом, *L. monocytogenes* и *Y. pseudotuberculosis* способны длительно существовать в почвенных экосистемах, когда в результате селективного действия среды обитания, формируются соответствующие субпопуляции микроорганизмов, наиболее адекватные условиям данной почвенной экониши. При этом на длительность существования модельных бактерий в почвах оказывают влияние, как биологические свойства самих бактерий, так и органо-минеральный состав почвенной среды обитания, температурный фактор и взаимоотношения с почвенной микрофлорой. Существенное влияние оказывают низкие температуры, которые в какой-то степени обеспечивают стабильное сохранение биологических свойств патогенных бактерий, включая вирулентность. Изменчивость свойств модельных бактерий под действием температуры, как одно из проявлений адаптации микробных клеток к постоянно изменяющимся параметрам этого фактора в объектах окружающей среды, обеспечивает им высокую экологическую пластичность, определяющую их длительное выживание в почве.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В монографии обобщены литературные материалы и результаты собственных исследований по вопросам, связанным с существованием патогенных бактерий (возбудителей сапрозоонозов) в почвах различного типа.

Динамика численности микроорганизмов в такой сложной биокосной системе как почва представляет собой процесс, обусловленный с одной стороны, свойствами самой почвы и влиянием таких динамичных факторов, как температура, влажность, наличие питательных веществ, с другой стороны - микробными взаимоотношениями, имеющими место в почве (регулирующие факторы). Суммарное действие абиотических и биотических факторов определяет изменения численности микроорганизмов в почве, в том числе и патогенных.

Авторы монографии на основании своих многолетних исследований показали, что некоторые патогенные бактерии, относящиеся к возбудителям сапрозоонозов размножаются в почвах автоморфного ряда и почвогрунте городских газонов. При этом установлено, что наиболее активно бактерии размножались в почвогрунте и буро-подзолистой почве, отличающимися низким содержанием суммарного количества гумусовых кислот, оптимальными значениями рН, высоким содержанием общего углерода, по сравнению с бурой лесной почвой, в которой размножения не наблюдали. Показано, что размножение листерий и иерсиний в буро-подзолистой почве обусловлено наличием в почвенном поглощающем комплексе повышенного содержания обменных ионов кальция и магния, необходимых для нормального роста и размножения патогенных бактерий.

Кроме этого было установлено, что *L. monocytogenes* и *Y. pseudotuberculosis* способны к сохранению и размножению в почвах морского побережья. При этом в маритимной луговой почве отмечено более активное размножение этих бактерий, чем в маршевой почве.

Так как основной структурной единицей почвы является глино-гумусовые частицы, то в задачу исследования входило изучение влияния на размножение патогенных бактерий их составляющих: монтмориллонитовых глин и органических кислот (гуминовых и фульвокислот).

Экспериментально было установлено, что на сохранение и размножение листерий и иерсиний в почвах оказывают влияние, их органический состав, в том числе и концентрация гуминовых кислот. Показано, что гуминовые и фульвокислоты исследуемых почв, независимо от их типа, являются биологически активными в отношении размножения *L. monocytogenes* и *Y. pseudotuberculosis*, но отдельные вытяжки фракций гуминовых и фульвокислот каждого типа почв оказывают разное влияние на рост и размножение патогенных бактерий. При этом все штаммы листерий размножались более активно на фракциях фульвокислот, по сравнению с фракциями гуминовых кислот. Для иерсиний такой зависимости не наблюдали.

Для изучения влияния монтмориллонитовых глин на размножение исследуемых бактерий были созданы модели путем подбора оптимального размера и концентрации частиц бентонита и цеолита. С помощью использования этих моделей удалось установить, что основным фактором, активизирующим размножение бактерий в бентонитовых средах накопления, являются глиногумусовые комплексы, которые играют роль поставщика органического и минерального питания для бактерий, а также, адсорбируясь на поверхности клетки микроба, или, адсорбируя бактерии на своей поверхности, усиливают скорость протекания химических реакций метаболизма.

Органические вещества, входящие в состав бентонитовых глин, принимают активное участие в процессах размножения бактерий. Незаменимые аминокислоты, жизненно необходимые сахара, биологически активные жирные кислоты, содержащиеся в бентонитовых средах, могут быть использованы бактериями в качестве факторов роста и питательных веществ. Гумусовые кислоты, входящие в состав бентонитовых сред, в силу своей

полидисперсности, оказывают разностороннее влияние на размножение бактерий в соответствии с определенным их составом и молекулярным весом.

Показано также значение минерального компонента бентонитовых глин для размножения исследуемых бактерий. При этом большую роль в миграции макро- и микроэлементов играет характерная для бентонитов высокая катионообменная емкость. Прослежены коррелятивные связи между преобладающим содержанием в среде таких биоэлементов как: P, K, Ca, Fe, Mg и динамикой накопления в ней бактерий. Вместе с тем, отмечена избирательная чувствительность различных видов микробов к преобладанию определенных химических элементов в бентонитовых средах.

Однако размножение *L. monocytogenes* и *Y. pseudotuberculosis* в почвах зависело не только от типа исследуемых почв, но и от биологических свойств бактерий на уровне штамма, а также от температуры культивирования. Как листерии, так и иерсинии размножались в почвах более интенсивно при температуре 20-22⁰C, тогда как при 4-6⁰C активность размножения была несколько ниже.

Пахотные почвы, в большинстве своем, обрабатываются минеральными удобрениями. В связи с этим в наших исследованиях было показано, что применение минеральных удобрений также способствует активному размножению иерсиний и листерий в исследуемых почвах. При этом наиболее благоприятно на активность роста бактерий влияет внесение азотного или фосфорного удобрений.

Помимо абиотических факторов среды на размножение патогенных бактерий оказывают влияние и биотические факторы, к которым можно отнести межметаболические взаимоотношения бактерий. Следует отметить, что метаболиты, выделяемые микроорганизмами в почвенных экосистемах в процессе их жизнедеятельности, являются предметом особого внимания исследователей. Их регулирующей роли в микробных сообществах придается все большее значение. Однако экологическая роль летучих продуктов

жизнедеятельности микроорганизмов в микробных ассоциациях изучена недостаточно. Нами установлено, что летучие метаболиты сапрофитных бактерий почв могут являться для исследуемых патогенных бактерий единственным источником углерода и энергии. При этом наблюдали специфичность действия летучих органических соединений, которая зависела от свойств самих бактерий. Полученные данные позволяют предположить, что на метаболическом уровне прослеживается разный характер межвидовых и родовых взаимоотношений между бактериями, оказывающий прямое влияние на их рост и размножение. Летучие соединения, продуцируемые микроорганизмами, могут действовать как внутри- или межвидовые регуляторы микробных сообществ. В этой связи размножение патогенных бактерий, обитающих в почве, может стимулироваться или угнетаться продуктами метаболизма почвенных микроорганизмов. Большую роль в этом процессе играет метанол, выделяемый сапрофитными бактериями в окружающую среду.

Выдвинутые в книге теоретические положения открывают новые пути для изучения экологии возбудителей сапрозоонозных инфекций и способствуют утверждению представления об особой группе инфекций, называемых сапрозоонозами.

ЛИТЕРАТУРА

1. Абросов Н.С. К теории трофической конкуренции // Анализ динамики роста биологических объектов. – М.: Наука, 1978. – С. 38-48.
2. Абросов Н.С., Ковров Б.Г., Черепанов О.А. Экологические механизмы сосуществования и видовой регуляции. – Новосибирск: Наука. Сиб. Отделение, 1982. – 297 с.
3. Агзамходжиев А.А. Хемосорбция органических веществ на монтмориллоните // Исследование адсорбционных процессов и адсорбентов. – Ташкент, 1979. – С. 218-229.
4. Агрочвоведение. Под ред. В.Д. Мухи. – М.: Колос, 1994. – 528 с.
5. Айзенман Б.Е. Антибиотические свойства бактерий. – Киев: Наукова Думка, 1973. – 182 с.
6. Айзенман Б.Е., Смирнов Б.Е., Бондаренок А.С. Фитонциды. – Киев: Наукова Думка, 1984. – 112 с.
7. Александрова Л.Н. Органическое вещество почвы и процессы ее трансформации. – Л.: Наука, 1980. – 287 с.
8. Александрова Л.Н., Найденова О.А. Состав и природа гумусовых веществ почвы // Гумусовые вещества почвы. – 1970. – Т. 142. – С.83-156.
9. Александрова Л.Н., Найденова О.А. Лабораторно-практические занятия по почвоведению. – Л.: Агропромиздат, 1986. – 295 с.
10. Алексеева Н.Т., Шубин Ф.Н., Шарапова Т.А. и др. Способ обработки материала для посева на иерсинии // Лабораторное дело. – 1982. – № 12. – С.47-49.
11. Андреюк Е.И., Валагурова Е.В., Мальцева Н.Н. Инструментальные методы в почвенной микробиологии. – Киев: Наукова Думка, 1982. – 323 с.
12. Андреюк Е.И., Валагурова Е.В. Основы экологии почвенных микроорганизмов. – Киев, Наукова думка, 1992. – 224 с.

13. Антипов-Каратаев И.Н., Цюрупа И.Г., Алферова В.А. Закономерности биохимического разрушения альбита и мусковита // Кора выветривания. – 1966. – № 7. – С.230.
14. Аринушкина Е.В. Руководство по химическому анализу почв. - М.: Изд. Моск. ун-та, 1970. – 487 с.
15. Аристовская Т.В. Микробиология подзолистых почв. – Л.: Наука, 1965. – 187 с.
16. Аристовская Т.В. Микробиология процессов почвообразования. – Л.: Наука, 1980. – 187 с.
17. Бабьева И.П., Зенова Г.М. Участие почвенных микроорганизмов в циклах основных биогенных элементов в биосфере и почвообразовательных процессах // Биология почв / Под ред. Д.Г.Звягинцева. – М.: Издательство МГУ, 1983. – С.143-156.
18. Бабьева И.П., Зенова Г.М. Биология почв. – М.: Издательство МГУ, 1989. – 336 с.
19. Бакулов И.А., Котляров В.М., Шестиперова Т.И. Листерия - пищевая инфекция (масштабы опасности и меры борьбы) // Ветеринария. – 1991. – № 4. – С. 32-36.
20. Бакулов И.А., Котляров В.М., Шестиперова Т.И. Эпидемиологические и эпизоотологические аспекты листериоза. // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 1994. – № 5. – С. 100-105.
21. Башенин В.А. Курс общей эпидемиологии. – М.: Медицина, 1936. – 419 с.
22. Беленева И.А. Психрофильность *Listeria monocytogenes* и ее эколого-эпидемическое значение: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Владивосток, 1996. – 29 с.
23. Беленева И.А., Масленникова Э.Ф. Условно-патогенные бактерии, обнаруживаемые в культивируемых мидиях // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2002. – № 2. – С. 81-83.

24. Беляков В.Д. Эпидемический процесс. Теория и методы изучения. – Л.: Медицина, 1964. – 244 с.
25. Беляков В.Д. Носительство возбудителей инфекционных болезней и его значение в развитии эпидемического процесса // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 1976. – № 7. – С.67-70.
26. Беляков В.Д., Голубев Д.Б., Каминский Г.Д., Тец В.В. Саморегуляция паразитарных систем. – Л.: Медицина, 1987. – 240 с.
27. Беляков В.Д., Литвин В.Ю. Патогенные бактерии, общие для человека и растений // Патогенные бактерии в сообществах. – М.: Медицина, 1994. – С. 13-14.
28. Беляков В.Д., Ряпис Л.А. Сапрофиты медицинского значения и природа их полипатогенности на примере псевдомонад // Экология возбудителей сапронозов. – М.: Медицина, 1988. – С.7-19.
29. Беляков В.Д., Яфаев Р.Х. Эпидемиология.. – М.: Медицина, 1989. – 416 с.
30. Берестецкий О.А., Кравченко Л.В., Азарова Т.С. Использование почвенными микроорганизмами летучих выделений прорастающих семян как источника углерода и энергии // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 1981. – Т. 50, – Вып. 5. – С. 898-902.
31. Берестецкий О.А., Кравченко Л.В. Масс-спектрометрический анализ летучих метаболитов прорастающих семян пшеницы и кукурузы // Бюллетень ВНИИСХМ. – 1976. – Т. 18. – № 3. – 38 с.
32. Беседнова Н. Н., Венедиктов В. С. Изучение хемотаксиса бактерий псевдотуберкулеза к сокам из овощей // Психрофильные патогенные микроорганизмы. – Новосибирск, 1986. – С. 56-57.
33. Богоев В.М., Гильманов Т.Г. Численность и биомасса микроорганизмов в почвах некоторых зональных экосистем // Биологические науки. – 1982. – № 7. – С. 12-24.
34. Бузолева Л.С. Бифазные бентонитовые среды для диагностики кишечных инфекций: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Владивосток, 1990. – 27 с.

35. Бузолева Л.С. Некультивируемые формы бактерий *Yersinia pseudotuberculosis* при периодическом культивировании // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2000. – Т.129. – № 4. – С. 444-447.
36. Бузолева Л.С., Сидоренко М.Л. Влияние газообразных метаболитов почвенных бактерий на размножение *Listeria monocytogenes* и *Yersinia pseudotuberculosis* // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2005. – № 2. – С. 7-11.
37. Бургасов П.Н., Румянцев С.Н. Эволюция клостридиозов. – М.: Медицина, 1974. – 247 с.
38. Бухарин О.В., Гинцбург А.Л., Романова Ю.М., Эль-Регистан Г.И.. Механизмы выживания бактерий. – М.: Медицина, 2005. – 367 с.
39. Быченко Б.Д. Мировое распространение столбняка и его профилактика: Автореф. дисс. ... докт. биол. наук. – Москва, 1970. – 31 с.
40. Ваксман С.А. Гумус. Происхождение, химический состав и значение его в природе. – М.: Сельхозгиз, 1937. – 470 с.
41. Варвашевич Т.Н., Сомов Г.П. Влияние низких температур на некоторые свойства псевдотуберкулезного микроба // Дальневосточная скарлатиноподобная лихорадка (псевдотуберкулез человека). – Л., 1978. – С. 61-72.
42. Васильев Н.В. Лабораторные опыты по выживанию чумного микроба в почве // Особо опасные инфекции на Кавказе. – 1970. – Вып. 1. – С.64-66.
43. Ващенко Г.И., Вансулин С.А. Распространение возбудителя кишечного иерсиниоза в Ленинграде среди диких и домашних животных и во внешней среде // Труды НИИ ЭМ им. Пастера. – 1980. – Вып.55. – С.74-76.
44. Великанов Л.Л., Звягинцев Д.Г. Развитие бактерий на средах с адсорбентами при разных значениях рН // Почвоведение. – 1968. – № 1. – С.75-79.

45. Венедиктов В.С. Влияние температуры культивирования на биологические свойства псевдотуберкулезного микроба: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. - Владивосток, 1988. – 12 с.
46. Венедиктов В.С., Тимченко Н.Ф., Шубин Ф.Н. Температура культивирования и вирулентность *Yersinia pseudotuberculosis* // Всесоюз. научно-практ. конф. «Иерсиниозы». - Владивосток, 1986. – С. 23-25.
47. Вернадский В.И. Очерки геохимии. – М.: Горгеонефтеиздат, 1934. – 384 с.
48. Виноградов-Волжинский Д.В. Эпидемиология. – Л.: Медицина, 1973. – 354 с.
49. Виноградский С.Н. Микробиология почвы. Проблемы и методы 50 лет исследований. – М.: Изд-во АН СССР, 1952. – 792 с.
50. Волкова Д.А. О жизнедеятельности столбнячного микроба в почвах Молдавии: Авреф. дисс. ... канд. биол. наук. – Киев, 1968. – 16 с.
51. Волкова Д.А. Влияние аутометаболитов на рост популяции // Водородные бактерии. – Кишинев: Штиинца, 1976. – С. 10-13.
52. Волкова Т.Г., Терешкова Г.М., Полачева Г.С., Сальников М.В. Влияние рН среды на рост и физиологию водородокисляющих бактерий // Микробиология. – 1986. – Т.55. – № 5. – С.745-749.
53. Воронков М.Г., Зельчан Г.И., Лукевиц Э.Я. Кремний и жизнь. – Рига: Зинатне, 1978. – 588 с.
54. Выговская Е.Л., Кичко В.Б., Ельчиц С.В. Оптимизация условий культивирования дрожжей *Sacch. cerevisial* при гетеротрофном культивировании // Современные проблемы биотехнологии микроорганизмов: Тезисы докладов конференции молодых ученых. – Рига, 1987. – С.19.
55. Ганнушкин М.С. Курс эпизоотологии. – М.: Сельхозгиз, 1952. – 432 с.
56. Гапиков Н.С. Количественные закономерности потребления микроорганизмами элементов минерального питания // Рост микроорганизмов. – Пушкино: Издательство НЦБИ, 1984. – С.37-50.

57. Гаузе Г.Ф. Лекции по антибиотикам. – М.: Изд-во АМН СССР, 1953. – 252 с.
58. Гершанович В.Н. Биохимия и генетика транспорта ионов у бактерий. – М.: Медицина. – 1980. – 176 с.
59. Гершун В.И. Влияние различных почв на выживаемость возбудителя листериоза // Ветеринария. – 1971. – № 1. – С. 32-33.
60. Гершун В.И. Жизнеспособность листерий в почве // Сибирский вестник сельскохозяйственной науки. – 1978. – № 6. – С. 65-69.
61. Гершун В.И. Жизнеспособность листерий в воде. // Сибирский вестник сельскохозяйственной науки. – 1979а. – № 6. – С. 48-50.
62. Гершун В.И. Способность листерий размножаться в растительных субстратах // Вестник сельскохозяйственной науки Казахстана. – 1979б. – № 4. – С. 91-92.
63. Гершун В.И. Распространение листерий в объектах внешней среды // Известия АН Казахской ССР. Серия биологическая. – 1980а. – № 6. – С. 42-44.
64. Гершун В.И. Влияние абиотических факторов на жизнеспособность листерий в почве // Сибирский вестник сельскохозяйственной науки. – 1980б. – № 3. – С. 78-81.
65. Гершун В.И. Распространение и жизнеспособность листерий в объектах внешней среды и влияние температурного фактора на их морфологические свойства // Вопросы природной очаговости болезней. – 1981. – Вып. 12. – С. 78-89.
66. Гершун В.И. Листериоз сельскохозяйственных животных. – Алма-Ата: Кайнар, 1981. – С. 32-47.
67. Гершун В.И. Влияние температурного режима на популяцию листерий в объектах окружающей среды // Ветеринария. – 1983. – № 8. – С. 80-85.
68. Гершун В.И. Экология листерий и пути их циркуляции в природном очаге // Экология возбудителей сапронозов. – М., 1988. – С. 80-85.

69. Гири́н В.Н., Широ́боков В.П., Фу́рман А.А. Количественное изучение энтеропатогенной вирусной и бактериальной флоры городских сточных вод // Актуальные вопросы санитарной микробиологии: Тезисы докладов Всесоюзной конференции по санитарной микробиологии. – М., 1978. – С.210-211.
70. Глоба П.И., Гордиенко А.С., Гарбара С.В., Ротмистрова М.Н. Взаимодействие бактерий с черкасским полыгорскитом при различных значениях рН среды // Микробиологический журнал. – 1983. – Т.45. – № 2. – С.22-26.
71. Головачева В.Я. Сохранение возбудителей псевдотуберкулеза, листериоза и эризипелоида в почве из нор грызунов // Особо опасные инфекции в Сибири и на Дальнем Востоке: Доклады Иркутского противочумного института.- Иркутск, 1966. – Вып.7. – С.73-75.
72. Головачева В.Я. О длительности выживания псевдотуберкулезного микроба в почве // Дальневосточная скарлатиноподобная лихорадка (псевдотуберкулез человека). – Л.: Полиграфический комбинат «Ротапринт», 1978. – С. 188-189.
73. Голубев М.В. Принципы количественного анализа механизма передачи возбудителя в природном очаге лептоспирозов: Авреф. дисс. ... канд. биол. наук. – М., 1983. – 19 с.
74. Голубев М.В., Литвин В.Ю. К популярной экологии лептоспир. Сообщение 1. Опыт оценки численности в организме носителя и интенсивности выведения с мочой // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 1983а. – № 6. – С. 60-63.
75. Голубев М.В., Литвин В.Ю. К популяционной экологии лептоспир. Сообщение 2. Опыт оценки численности в почве и эпизоотического потенциала зараженных точек // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 1983б. – № 7. – С. 106-109.

76. Голубев В.И., Манукян А.Р. Капсулообразование у сапрофитных дрожжей // Микробиология. - 1979. – Т. XLVIII, вып. 2. – С. 314-318.
77. Горбунов Н.И. Строение коллоидной мицеллы // Почвенные коллоиды и их значение для плодородия. – М.: Наука, 1967. – С.11-15.
78. Горбунов Н.И. Методика подготовки почв к минералогическим анализам // Методы минералогического и микроморфологического изучения почв. – М.: Наука, 1971. – С.5-15.
79. Гордейко В.А. Цепь циркуляции иерсиний в агроценозе и эпидемиологическое ее проявление // Потенциально патогенные бактерии в природе. – М.: Издательство АМН СССР, 1991. – С. 75-85.
80. Гордиенко А.С. Применение высокодисперсных минеральных сорбентов для осаждения клеток микроорганизмов // Достижения микробиологии в практике: Тезисы докладов Всесоюзного микробиологического общества. – Алма-Ата, 1985. – Т.4. – С.32.
81. Гордиенко А.С., Глоба Л.И. Применение минеральных сорбентов для концентрирования биомассы клеток // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 1986. – Т.55. – № 1. – С.148-151.
82. Готтшалк Г. Метаболизм бактерий. – М.: Мир, 1982. – 310 с.
83. Готштейн А, Добрейцер И. Учение об эпидемиях (пособие к изучению эпидемиологии). – М.: Гос. мед.изд-во, 1933. – 312 с.
84. Грант В. Эволюционный процесс. – М.: Мир, 1991. – 488 с.
85. Григорович М.Б., Кирсанов Н.В. Ресурсы бентонитового сырья СССР и рекомендации по усилению его использования в народном хозяйстве // Сырьевая база бентонитов СССР и их использование в народном хозяйстве. – М., 1972. – С.83-99.
86. Громашевский Л.В. Общая эпидемиология. – М.: Медицина, 1965. – 290 с.
87. Громов Б.В., Павленко Г.В. Экология бактерий. – Л.: Изд-во Ленинградского университета, 1989. – 248 с.

88. Гусев М.В., Коронелли Т.В. Изучение ассоциации цианобактерий и нефтеокисляющих бактерий в условиях нефтяного загрязнения // Микробиология. – 1981. – Т. 50. – Вып. 6. – С. 1092-1097.
89. Давыдовский И.В. Учение об инфекции (биологический аспект проблемы). – М.: Медицина, 1956. – 107 с.
90. Дадыкин В.П., Степанов Л.Н., Рыжова В.Е. О значении летучих выделений растений при разработке закрытых систем // Физиолого-биохимические основы взаимодействия растений в фитоценозах. – Киев: Наукова Думка, 1970. – 118 с.
91. Дергачева М.И. Система гумусовых веществ почв: пространственные и временные аспекты. – Новосибирск: Наука, 1989. – 110 с.
92. Дмитриева Е.Ю., Мухина Л.Б., АльАсхаби Н.И. Проблемы видовой идентификации листерий в рыбных продуктах // Нейроинфекции: бешенство, глубоководная энцефалопатия крупного рогатого скота, болезнь Крейтцфельдт-Якоба и другие прионные болезни; листериоз, болезнь Ауески, болезнь Тешена. – Покров, 2001. – С. 129-132.
93. Добрынина В.И. Биологическая химия. – М.: Медицина, 1976. – 513 с.
94. Добровольский В.В. Химия земли. – М.: Просвещение, 1988. – 176 с.
95. Догель В.А. Курс общей паразитологии. – Л.: Учпедгиз, 1947. – 371 с.
96. Домарадский И.В., Григорян Э.Г., Борзенкова В.И., Вальков Б.Г. О размножении возбудителя чумы в стерильной и нестерильной почве // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 1968. – № 8. – С.104-108.
97. Дорожко О.В., Ротшильд Е.В. Микроэлементы в жизнедеятельности микроорганизмов // Успехи современной биологии. – 1985. – № 2. – С.313-319.
98. Дубинин М.М. Адсорбция в микропорах // Природные сорбенты. – М.: Наука, 1967. – С.5-24.

99. Дудченко В.Г., Уляшова Р.М., Слюсарь И.Т., Пота Л.Г. Влияние водно-воздушного режима на микробиологические процессы органогенной почвы // Сезонная динамика почвенных процессов. – Таллин, 1979. – С. 66-72.
100. Дьяконова К.В. Железо-гумусовые комплексы и их роль в питании растений // Почвоведение. – 1962. – № 7. – С.19-25.
101. Дядичев Н.Р. Об определении понятия «эпидемический процесс» // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 1965. – № 6. – С. 145-149.
102. Дятлов И.А. Исследование условий культивирования чумного микроба в многофазных системах: Дис. ... канд. мед. наук. – Саратов, 1986. – 207 с.
103. Егоров Н.С. Микробы - антагонисты и методы определения антибиотической активности. – М.: Высшая школа, 1965. – С. 38-42.
104. Егоров Н.С. Основы учения об антибиотиках. – М.: Высшая школа, 1986. – 448 с.
105. Егоров Н.С., Ландау Н.С. Биосинтез биологически активных соединений смешанными культурами микроорганизмов // Прикладная биохимия и микробиология. – 1982. – Т. 18. – Вып. 6. – С. 835-849.
106. Елизарова Т.Н. О методах поддержания постоянных значений рН в культурах микроорганизмов // Микробиология. – 1967. – Т.36. – Вып.1. – С.38-45.
107. Елкин И.И. Очерки теории эпидемиологии. – М.: Медгиз, 1960. – 215 с.
108. Заварзин Г.А. Экстенсивная микробиология // Известия АН СССР. Серия биологическая. – 1976. – № 1. – С. 121-134.
109. Заварзин Г.А. Микробный геохимический цикл кальция. // Микробиология. – 2002. – Т. 71. – № 1. – С. 5-22.
110. Заварзин Г.А., Бонч-Осмоловская Е.А. Синтрофные взаимодействия в сообществах микроорганизмов // Микробиология. – 1981. – № 2. – С. 165-173.

111. Зайцев С.В. О достоверности метода изучения выживаемости патогенных лептоспир в почве открытой среды // Лептоспирозы: Тезисы докладов VII Всесоюзной конференции по лептоспирозам. – Киев, 1979. – С.40-41.
112. Зайцев С.В., Чернуха Ю.Г. Возможность переживания патогенных лептоспир в почве природного очага // Экология возбудителей сапронозов. – М.: Медицина, 1988. – С. 85-93.
113. Зайцева Е.А., Терехова В.Е. Эколого-эпидемические особенности *Listeria monocytogenes* в Приморском крае // Тихоокеанский Медицинский журнал. – 2001. – № 2. – С. 29-31.
114. Звягинцев Д.Г. Взаимодействие микроорганизмов с твердыми поверхностями. – М.: Изд-во МГУ, 1973. – 256 с.
115. Звягинцев Д.Г. Некоторые концепции строения и функционирования комплекса почвенных микроорганизмов // Вестник МГУ. Серия 17, Почвоведение. – 1978. – № 4. – С. 48-56.
116. Звягинцев Д.Г. Газовая фаза почвы и микроорганизмы // Роль микроорганизмов в круговороте газов в природе. – М.: Наука, 1979. – С. 92-104.
117. Звягинцев Д.Г. Почва и микроорганизмы. – М.: Изд-во МГУ, 1987. – 170 с.
118. Звягинцев Д.Г., Асеева И.В., Бабьева И.Б., Мирчинк Т.Г. Методы почвенной микробиологии и биохимии. – М.: Изд-во МГУ, 1980. – 224 с.
119. Звягинцев Д.Г., Великанов Л.Л. Влияние адсорбентов на активность бактерий, растущих на средах с аминокислотами // Микробиология. – 1968. – Т.37. – Вып.6. – С.1017-1023.
120. Зеелигер Х. Листерия. – М.: Сельхозиздат, 1959. – 309 с.
121. Зенова Г.М. Роль метаболитов во взаимодействиях микроорганизмов в ассоциациях природных экосистем // Экологическая роль микробных метаболитов. – М.: Изд-во МГУ, 1986. – С. 166-177.

122. Зенова Г.М., Рыдкина Е.Б., Калакуцкий Л.В. Рост и антимикробная деятельность в ассоциации актиномицета и зеленой водоросли // Биологические науки . – 1983. – № 3. – С. 81-85.
123. Знаменский В.А. Дальневосточная скарлатиноподобная лихорадка (псевдотуберкулез) // Природно-очаговые болезни в Приморском крае. – Владивосток, 1975. – С. 136-160.
124. Знаменский В.А., Вишняков А.К. этиология дальневосточной скарлатиноподобной лихорадки // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 1967. – № 2. – С.125 – 130.
125. Иванов Г.И. Почвообразование на юге Дальнего Востока. – М.: Наука, 1976. – 200 с.
126. Иванов В.Н. Рост микроорганизмов и потребление ими минеральных компонентов питательной среды // Рост микроорганизмов. – Пущино, 1984. – С.97-104.
127. Игнатьева Л.А., Чукин Г.Д., Юхневич Т.В. Взаимодействие H_2O , D_2O и НДО с поверхностью алюмосиликатного катализатора // Журнал прикладной спектроскопии. – 1970. – Т.12. – Вып.2. – С.318-322.
128. Илялетдинов А.Н. Иммобилизация металлов микроорганизмами и продуктами их жизнедеятельности // Микроорганизмы как компонент биосинтеза. – М., 1984. – С.18-31.
129. Исидоров В.А. Органическая химия атмосферы. – Л.: Химия, 1985. – 264 с.
130. Исраилов В.К. Изменчивость *S.enteritidis* в природных условиях // Профилактика инфекционных болезней животных в Узбекистане. – Ташкент, 1984. – С.12-17.
131. Казаков А.В. К вопросу об экологии возбудителя листериоза // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 1985. – № 5. – С. 91-98.
132. Казаков А.В. К вопросу об экологии возбудителя листериоза. // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 1993. – № 5. – С.113-114.

133. Калишин Н.М. Методические рекомендации по диагностике, профилактике и мерам борьбы с листериозом крупного рогатого скота в северо-западной зоне РСФСР. - Л.: Ветеринарный институт. – 1988. – 35с.
134. Карасева Е.В., Зайцев С.В., Чернуха Ю.Г. Некоторые особенности экологии лептоспир в естественных условиях природного очага // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 1974. – № 5. – С. 36-40.
135. Карасева Е.В., Чернуха Ю.Г., Сухарцева Т.Ф. Результаты исследования почвы на зараженность лептоспирами // VI Всесоюзная конференция «Лептоспиры»: Тезисы докладов. – М., 1976. – С. 12-13.
136. Карпунина Л.В., Никитина В.Е., Воротилова Н.А. и др. Изучение азотфиксирующей активности клеток *Azospirillum brasilense Sp 7*, иммобилизованных на микропористых сорбентах // Биотехнология. – 1989. – Т.5. – № 2. – С.208- 221.
137. Качинский Н.А. Механический и микроагрегатный состав почвы, методы его изучения. – М.: Изд-во АН СССР, 1958. – 192 с.
138. Киктенко В.С. Лептоспирозы человека. – М.: Медицина, 1954. – 209 с.
139. Классовский Л.Н., Осадчая Л.М., Петров В.С. Вопросы экологии чумных и псевдотуберкулезных микробов. Сообщение 1. Об углеродном и азотном питании возбудителя псевдотуберкулеза грызунов // Журн. микробиол. – 1965. - № 4. – С. 37-41.
140. Клец Э.И., Щекунова З.И. О длительности сохранения чумного микроба в некоторых объектах внешней среды // Доклады Иркутского противочумного института. – 1961. – Вып.2. – С.35-38.
141. Климова Т.К. К характеристике псевдотуберкулезного микроба и псевдотуберкулезного бактериофага, выделенных от серых крыс: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Саратов, 1947. – 15 с.
142. Клюйвер А., Ван Ниль К. Вклад микробов в биологию. – М.: Изд-во иностр. лит-ры, 1959. – 243 с.

143. Кожевин П.А. Микробные популяции в природе. – М.: Изд-во МГУ, 1989. – 170 с.
144. Кожибски Т., Ковшик-Гиндифер З., Курылович В. Антибиотики. – Варшава: Польское мед. изд-во. – 1969. – Т. 1. – С. 1344 .
145. Колесникова В.В. Новые факты в эпидемиологии псевдотуберкулеза // Иерсиниозы. – Новосибирск, 1983. – С. 50-55.
146. Колесникова В. В. Роль почвы в циркуляции возбудителя псевдотуберкулеза // XI Всесоюзная конференция по природной очаговости болезней. Тезисы докладов – М., 1984. – С. 78-79.
147. Колесникова В.В. Роль почвы в экологии псевдотуберкулезного микроба // Психрофильность патогенных микроорганизмов. – Новосибирск, 1986. – С. 68-73.
148. Комаров В.С. Адсорбционно-структурные, физико-химические и каталитические свойства бентонитовых глин Белоруссии. – Минск: Наука и техника, 1970. – 104 с.
149. Комаров В.С. Адсорбенты и их свойства. – Минск: Наука и техника, 1977. – 248 с.
150. Комиссаров И.Д., Виленский И.И., Федченко О.И. Извлечение гуминовых веществ из органогенных пород // Научные труды Тюменского сельскохозяйственного института. – 1971. – Т. XIV. – С.237.
151. Комиссаров И.Д., Логинов Л.Ф. Электронный парамагнитный резонанс в гуминовых кислотах // Научные труды Тюменского сельскохозяйственного института. – 1971. – Т. XIV. – С. 99-115.
152. Комиссаров И.Д., Климова А.А. Влияние гуминовых кислот на биокаталитические процессы // Научные труды / Тюменского сельскохозяйственного института. – 1971. – Т. XIV. – С. 237.
153. Комитет экспертов ФАО/ВОЗ по зоонозам: Третий доклад. – Женева, 1969.

154. Кондрашева З.Н., Казаков А.В., Козлов А.П. Сероэпидемиология листериоза и сальмонеллеза в зоне действия крупного свиноводческого комплекса // Природно-очаговые инфекции и инвазии. – Омск, 1984. – С. 174-187.
155. Кононова М.М. Органическое вещество почвы. – М.: Издательство: АН СССР, 1963. – 312 с.
156. Кононова М.М., Александрова И.В., Титова Н.А. Разложение силикатов органическими веществами почвы // Почвоведение. – 1964. – № 10. – С. 1-12.
157. Кононова М.М. Процессы превращения органического вещества и их связь с плодородием почвы // Почвоведение. – 1968. – № 8. – С.17-26.
158. Кононова М.М. Некоторые дискуссионные вопросы проблемы почвенного гумуса // Известия АН СССР. Серия биология. – 1970. – № 3. – С.364-373.
159. Коровина В.П., Сазонова А.А., Вайсман И.Ш. Изучение механизма регуляции численности популяции в эксперименте на культурах бактерий // Экология. – 1974. – № 6. – С. 5-9.
160. Корягина Т.А., Угодчиков Г.А. Влияние компонентов питательной среды на жизнеспособность М.17 // Контроль и управление биотехнологическими процессами. Тезисы Всесоюзной конференции. – Горький, 1985. – С.34-38.
161. Костенков Н.М. Окислительно-восстановительные режимы в почвах периодического переувлажнения. - М.: Наука, 1987. – 192 с.
162. Костенкова А.Ф. Маршевые почвы притихоокеанского побережья, их солевой состав и электропроводность // Почвенный покров ДВ, проблемы его эффективного использования, мелиорации и охраны. – Владивосток: ДВО АН СССР, 1987. – С. 67-73.
163. Кравченко Л.В., Фомичева А.П. Содержание летучих органических соединений у проростков семян злаковых и бобовых культур // Микробиологические процессы в почвах и урожайность сельскохозяйственных культур. – Вильнюс: Изд-во АН Литовской ССР, 1978. – 171 с.

164. Красильников Н.А. Биологическое значение антибактериальных веществ // Труды Института микробиологии. – 1951. – Т. 1. – С. 142-161.
165. Красильников Н.А. Антагонизмы микробов и высшие растения. – М.: Советская наука, 1958. – 340 с.
166. Криволицкий Д.А., Покаржевский А.Д. Животные в биогенном круговороте веществ // Новое в жизни науки, техники. Серия биология. – 1986. – № 3. – С.36-37.
167. Крищенко В.П. Метод разделения белков на фракции буферными растворами // Известия АН СССР. Серия биология. – 1978. – № 3. – С.405-418.
168. Круглицкий Н.Н. Физико-химические основы регулирования свойств дисперсий глинистых минералов. – Киев: Наукова думка, 1968. – 320с.
169. Крю Ж. Биохимия. Медицинские и биологические аспекты. – М.: Медицина, 1979. – 325 с.
170. Кузнецов В.Г. Выделение бактерий рода *Yersinia* из различных источников в Приморском крае // Гигиена и санитария. – 1983. – № 2. – С. 72-74.
171. Кузнецов В.Г., Раковский В.И., Гребенщиков Л.А. Изучение эпидемиологии дальневосточной скарлатиноподобной лихорадки в Приморском крае. Сообщение 1. Заряженность овощей, корнеплодов и солений псевдотуберкулезным микробом в очагах скарлатиноподобной лихорадки // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 1975. – № 10. – С. 34-38.
172. Кузнецов В.Г., Раковский В.В., Валекжанин Т.С., Сомов Г.П. Изучение эпидемиологии дальневосточной скарлатиноподобной лихорадки в Приморском крае. Сообщение III. Выделение псевдотуберкулезного микроба из почвы и роль почвы в распространении инфекции // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 1976. – № 7. – С. 138-139.

173. Куковский Е.Г. Особенности строения и физико-химические свойства глинистых минералов. – Киев: Наукова думка, 1966. – 132 с.
174. Кульчицкий Л.И., Зиангиров Р.С., Рабаев Г.С. Изменение гидрофильных свойств бентонитов и каолинов в зависимости от изменения их агрегатного состояния в процессе сухого помола глин в шаровой мельнице // Сырьевая база бентонитов СССР и их использование в народном хозяйстве. – М., 1972. – С.197-201.
175. Кухарская Э.В., Федосеева А.Д. Органические производные силикатов со сложной структурой // Успехи химии. – 1963. – Т.32. – Вып.9. – С.1113-1124.
176. Лабинская А.С. Микробиология с техникой микробиологических исследований. – М.: Медицина, 1978. – 394 с.
177. Лазарев О.П., Краснов В.Я., Благовидов О.П. К изучению скарлатиноподобной лихорадки на Чукотке // Проблемы особо опасных инфекций. – Саратов, 1969. – Вып. 3. – С. 203-204.
178. Лакин Г.Ф. Биометрия. – М.: Высшая школа, 1990. – 344 с.
179. Ландау Н.С., Милованова И.И., Егоров Н.С. Некоторые особенности развития и биосинтетической активности смешанной культуры микроорганизмов // Микробиология. – 1985. – Т. 54. – Вып. 4. – С. 529-532.
180. Ланчини Д., Паренти Ф. Антибиотики. – М.: Мир, 1985. – 272 с.
181. Ларионов Г.М. К эколого-биологическому содержанию сапронозов // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 1988. – № 3. – С. 36-39.
182. Ларионов Г.М., Беляков В.Д. Стратегия жизни и механизмы саморегуляции популяций возбудителей сапронозов (на примере *Pseudomonas pseudomallei*) // Журн. микробиол. – 1990. - № 1. – С. 13-17.
183. Лебедев Н.Ф., Шапиро М.И., Дьяков Н.В. Эпидемиологические особенности Дальневосточной скарлатиноподобной лихорадки // Сборник научных

- трудов врачей Тихоокеанского флота. – Владивосток, 1964. – Вып. 2. – С. 272-276.
184. Ленинджер А. Биохимия. – М.: Мир, 1976. – 915 с.
185. Лисичков В.С. Физико-химическая характеристика природных минеральных сорбентов от североиздточна България с оглед санитарно-гигиенного им приложение за пречистване на води: Автореф. ... доктор хим. наук. – Варна, 1979. – 25 с.
186. Литвин В.Ю. Возбудители зоонозов и среды обитания. I. Экологические аспекты паразитизма. // Научные доклады высшей школы. Биологические науки. – 1976. – № 11. – С. 42-48.
187. Литвин В.Ю. Общие закономерности и механизмы существования патогенных микроорганизмов в почвенных и водных экосистемах // Экология возбудителей сапрозоонозов. – М., 1988а. – С. 20-34.
188. Литвин В.Ю. Эколого-эпидемиологические аспекты случайного паразитизма некоторых патогенных бактерий // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 1988б. – № 1. – С. 85-91.
189. Литвин В.Ю. Потенциальная патогенность и случайный паразитизм микроорганизмов // Потенциально патогенные бактерии в природе. – М., 1991. – С. 9-30.
190. Литвин В.Ю. Случайный паразитизм микроорганизмов // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 1992. – № 1. – С. 52-55.
191. Литвин В.Ю., Гинцбург А.Л., Пушкарева В.И., Романова Ю.М., Боев Б.В. Эпидемиологические аспекты экологии бактерий. – М.: Фармарус-Принт, 1998. – 229 с.
192. Литвин В.Ю., Голубев М.В. Динамика гетерогенной популяции лептоспир в паразитической и сапрофитической фазах существования // Вопросы санитарной охраны территорий и профилактики природно-очаговых инфекций. – Хабаровск, 1986. – С. 50-51.

193. Литвин В.Ю., Пушкарева В.И. О возможном механизме формирования эпидемических вариантов возбудителей сапронозов в почве или воде // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 1994. – № 5. – С. 89-95.
194. Литвин В.Ю., Карасева Е.В., Карулин Б.Е. Распределение лептоспир в почве природного очага инфекции /опыт радиоизотопного лечения зараженных полевок/ // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 1979. – № 6. – С.74-79.
195. Литвин В.Ю., Пушкарева В.И.. // Тез. докл. VI Всеросс. съезда миколбиол., эпидемиол. и паразитол. - Н-Новгород, 1991. - т. 1.- С.97-98.
196. Литвин В.Ю., Пушкарева В.И. Усиление вирулентности *Yersinia enterocolitica* в процессе пассирования через инфузории и макрофагимлекопитающих: (Сравнительное исследование) // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 1991. – N7. – С. 2-5.
197. Литвин В.Ю., Пушкарева В.И. Факторы патогенности бактерий: функции в окружающей среде // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. –1994. – Приложение 1. – С. 83-87.
198. Максименкова И.А., Карпачевский Л.О. Характеристика почв природного очага лептоспирозов, псевдотуберкулеза и кишечного иерсиниоза // Почвоведение. – 1985. – № 10. – С.101-115.
199. Максименкова И.А., Литвин В.Ю. Влияние некоторых почвенных факторов на динамику численности псевдотуберкулезного микроба // Вопросы микробиологии, патогенеза и лабораторной диагностики иерсиниозов. – Новосибирск, 1985. – С. 29-33.
200. Максименкова И.А. Популяционная динамика псевдотуберкулезного микроба в почве: Автореф. дис. ...канд. биол. наук. – М., 1987. – 28с.
201. Мартыневский И.Л. Биология и генетические особенности чумного и близкородственных ему микробов. – М.: Медицина, 1969. – 295 с.

202. Матвеев К.И., Соловьев С.В., Волкова З.М. Обсеменение почвы столбнячной палочкой и заболеваемость столбняком // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 1957. – № 3. – С. 54-58.
203. Машковский Ш.Д. Функциональная паразитология // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. – 1946. – № 4. – 21 – 25.
204. Мдивнишвили О.М., Уридия Л.Я. Сравнительное физико-химическое изучение активных центров в глинах и цеолитах // Бентониты. – М.: Наука, 1980. – С.126-131.
205. Меньш А.Ф. О выживаемости сальмонелл во внешней среде // Труды ВНИИ ветеринарной санитарии. – 1974. – Вып. 49. – С.12-19
206. Мерабишвили М.С. Бентонитовые глины. Состав, свойства, исследование, производство, использование. – Тбилиси: Мецниереба, 1979. – 308 с.
207. Мерков А.М., Поляков Л.Е. Санитарная статистика. – Л.: Медицина, 1974. – 384 с.
208. Методы изучения минералогического состава и органического вещества почв. Под ред. И.С. Рабочева. – Ашхабад: Ылым, 1975. – 416 с.
209. Методы общей бактериологии. Под, ред. Ф.Герхардта. – М.: Мир, 1984. – 264 с.
210. Минеев В.Г., Ремпе Е.Х. Агрохимия, биология и экология почвы. – М.: Росагропромиздат, 1990. – 206 с.
211. Милтько Е.С. Нестабильность синтеза практически ценных веществ бактериями и процесс диссоциации. // Прикладная биохимия и микробиология. – 1990. – Т. 26. – Вып. 6. – С. 732-739.
212. Михновская А.З. Микробиологическая характеристика черноземов Украины и ее изменение под влиянием обработки и удобрений // Черноземы СССР (Украина). – М., 1981. – С. 215-229.
213. Мишустин Е.Н. Ассоциация почвенных микроорганизмов. – М: Наука, 1975. – 107 с.

214. Мишустин Е.Н., Перцовская М.И. Микроорганизмы и самоочищение почвы. – М.: Изд-во АН СССР, 1954. – 158 с.
215. Мишустин Е.Н., Перцовская М.И., Горбов В.А. Санитарная микробиология почвы. – М.: Наука, 1979. – 304 с.
216. Мошковский Ш.Д. Функциональная паразитология // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. – 1946. – Вып. 4. – С. 21-25.
217. Мурзаков Б.Г. О разложении гумусовых веществ почвенной микрофлорой // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 1988. – Т. 57. – Вып. 2. – С. 292-296.
218. Мухамеджанов Х.Р., Якубов Ш.К. Действие некоторых комплексных соединений микроэлементов на микроорганизмы // Медицинский журнал Узбекистана. – 1982. – № 3. – С. 42-44.
219. Навашин С.М., Фрмина И.П. Рациональная антибиотикотерапия. – М.: Медицина, 1982. – 495 с.
220. Наумова И.Б., Белозерский А.Н. Рибиттейхоевая кислота из клеточной стенки актиномицета - продуцента антибиотика аурантина // Биохимия. – 1966. – Т.31. – Вып.6. – С.15-18
221. Никитин Б.А. Опыт изучения сезонной динамики гумуса // Труды Горьковского сельскохозяйственного института. – 1972. – Т.49. – С.114-121
222. Никитин Д.И. Роль микроорганизмов в образовании и удалении этилена // Роль микроорганизмов в круговороте газов в природе. – М.: Наука, 1979. – С. 241-254.
223. Никульшин С.В., Онацкая Т.Г., Луканина Л.М., Бондаренко А.И. Изучение ассоциаций почвенных амёб *Hartmannella rhysodes* с бактериями – возбудителями чумы и псевдотуберкулеза в эксперименте // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 1992. – № 9–10. – С. 2–4.
224. Овчаренко Ф.Д. Гидрофильность глин и глинистых минералов. – Киев: Издательство АН УССР, 1961. – 275 с.

225. Одум Ю. Основы экологии. – М.: Мир, 1975. – 740 с.
226. Определитель бактерий Берджи. Под. Ред. Дж. Хоулта, Н. Крига, П. Смита, Дж. Стейли, С. Уильямса. – М.: Мир, 1997. – 799с.
227. Орлов Д.С. Гумусовые кислоты почвы. – М.: Издательство МГУ, 1974. – 205 с.
228. Орлов Д.С. Методы определения рН и окислительно-восстановительного потенциала // Агрехимические методы исследования почв. – М.: Наука, 1975. – С.245-269.
229. Орлов Д.С. Гумусовые кислоты почв и общая теория гумификации. – М.: Издательство МГУ, 1990. – 326 с.
230. Орлов Д.С., Гришина Л.А. Практикум по химии гумуса. – М.: Издательство МГУ, 1981. – 272 с.
231. Орлов Д.С., Гришина Л.А., Ерошичева Н.Л. Практикум по биохимии гумуса.- М.: Издательство МГУ, 1969. – 158 с.
232. Павловский Е.И. Учебник паразитологии человека с учением о переносчиках трансмиссивных болезней. – М.: Наука, 1945. – 275 с.
233. Переверзев В.Н. Биохимия гумуса и азота почв Кольского полуострова. – Л.: Наука, 1987. – 226 с.
234. Петерсон Н.В., Курыляк Е.К. Взаимоотношения групп микроорганизмов в почвах и рекультивируемых землях // Микробные сообщества и их функционирование в почве. – Киев: Наукова думка, 1981. – С. 173-179.
235. Петрикевич С.Б., Литвиненко Л.А. Морфоцитологические изменения дрожжей *Candida utilis* при нестационарном непрерывном культивировании с лимитом по фосфору // Микробиология. – 1988. – Т. 57, вып. 3. – С. 415-419.
236. Петров В.П. Проблема бентонитов и их народохозяйственное значение // Бентониты. – М.: Наука, 1980. – С.3-16.
237. Петровская В.Г. Проблема вирулентности бактерий. – М.: Наука, 1967. - 221 с.

238. Пианка Э. Эволюционная экология. – М.: Мир, 1981. – 399 с.
239. Погорелова Н.П. Распространение бактерий *Yersinia enterocolitica* в регионе дельты Волги и совершенствование методов их индикации: Автореф. дис. ... канд. наук. – Л., 1986. – 24 с.
240. Поздеев О.К. Медицинская микробиология. – М.: ГЭОТАР-МЕД, – 2002. – 768 с.
241. Полушковая С.С. Потребление фосфора и магния при периодическом и непрерывном культивировании чумного микроба // Управляемое культивирование микроорганизмов. – Пущино: НИБИ, 1986. – С.65.
242. Польшников Д.Г. Роль почвы в сохранности патогенных клостридий // Инфекционные болезни животных и вопросы природной очаговости. – Фрунзе: Илим, 1982. – С. 87-91.
243. Поманская А.А. О размножении листерий // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. – 1962. – № 9. – С. 102-105.
244. Поманская А.А. О размножении листерий в почве // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. – 1963. – № 6. – С. 99-101.
245. Пономарева В.В., Плотникова Т.А. Методика и некоторые результаты изучения и фракционирования гумуса черноземов // Почвоведение. – 1968. – № 11. – С.104-117.
246. Почвоведение. Под ред. И.С. Кауричева. – М.: Колос, 1975. – 496 с.
247. Практикум по биохимии. Под ред. С.Е. Северина, Г.А. Соловьевой. – М.: Издательство МГУ, 1989. – 238 с.
248. Практикум по почвоведению. Под ред. И.С. Кауричева. – М.: Колос, 1980. – 272 с.
249. Прозоровский С.В., Покровский В.И., Тартаковский И.С. Болезнь легионеров (легионеллез). – М.: Медицина, 1984. – 207 с.

250. Прохоров В.Я., Акатов А.К., Хатеневер М.А. Капсулообразование у золотистых стафилококков госпитального происхождения // Журн. микробиол. – 1976. - № 7. – С. 124-127.
251. Пручкина З.В. Бентонитовые диагностикумы для индикации возбудителей бактериальных инфекций в объектах внешней среды: Дис. ... канд. мед. наук. – Владивосток, 1982. – 19 с.
252. Пушкарева В.И., Литвин В.Ю., Тартаковский И.С. Популяционная динамика *Yersinia pseudotuberculosis* в ассоциации с инфузориями // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. – 1989. – № 1. – С. 17-21.
253. Пушкарева В.И., Литвин В.Ю., Константинова Н.Д. Анализ механизмов межпопуляционных взаимодействий иерсиний с инфузориями *Tetrahymena pyriformis* на клеточном и субклеточном уровнях // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. – 1990. – № 1. – С. 3-9.
254. Пушкарева В.И., Константинова Н.Д., Тартаковский И.С., Бархатова О.И., Литвин В.Ю. Численность и изменчивость листерий в сообществе с инфузориями // Потенциально патогенные бактерии в природе. – М.: АМН СССР, 1991. – С. 50-60.
255. Пушкарева В.И., Троицкая В.В. Спонтанная зараженность некоторых гидробионтов потенциально патогенными бактериями // Патогенные бактерии в сообществах. – М., 1994. – С. 70-74.
256. Пшеничников Б.Ф. Почвы Дальнего Востока. – Владивосток.: Изд-во ДВГУ, 1986. – 60 с.
257. Работнова И.Л., Позмогова И.Н. Хемостатное культивирование и ингибирование роста микроорганизмов. – М.: Наука, 1979. – 207 с.
258. Работнова И.Л., Позмогова И.Н. Питание микроорганизмов // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. – 1993. – № 5. – С. 112-116.

259. Работнова И.Л., Позмогова И.Н. Некоторые вопросы общей физиологии микроорганизмов // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. –1994. – № 4. – С. 116-120.
260. Риклефс Р. Основы общей экологии. – М.: Мир, 1979. – 424 с.
261. Рожкова Л.П. О выживаемости псевдотуберкулезного микроба на некоторых овощах // Дальневосточная скарлатиноподобная лихорадка (псевдотуберкулез человека). – Владивосток: Дальнаука, 1974. – С. 35-38.
262. Рожкова Л.П. Эпидемиология дальневосточной скарлатиноподобной лихорадки (псевдотуберкулез человека) на Дальнем Востоке: Автореф. дис. ...канд. мед. наук. – М., 1977. – 21с.
263. Рудиченко В.Ф., Касьяненко А.М., Синяк К.М. Картографический метод при эпидемиологическом исследовании инфекций и инвазий. Исследование закономерностей распространения столбняка и связи с эдафическими факторами // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 1984. – № 2. – С. 73-79.
264. Руководство к практическим занятиям по микробиологии. Под ред. Н.С.Егорова. – М.: Издательство МГУ, 1983. – 215 с.
265. Сазонова Л.А., Вайсман И.Ш. Моделирование эколого-популяционных отношений в эксперименте на культурах бактерий // Доклады АН СССР. – 1973. – Т. 208. – № 5. – С. 1217-1220.
266. Самнер Д.Б., Сомерс Г.Ф. Химия ферментов и методы их исследования. – М.: ИЛМ, 1948. – 301 с.
267. Санторо Т., Стоцкий Г. Поверхностные взаимодействия между глинистыми минералами и микроорганизмами и их метаболитами // Тезисы докладов IX Международной конференции по микробиологии. – М., 1966. – С.359-360.
268. Сафьянов Г.А. Береговая зона океана в XX веке. – М.: Мысль, 1978. – 263 с.
269. Сахаров П.П., Гудкова Е.И. Листериязная инфекция. – М.: Изд-во АМН СССР, 1950. – 205 с.

270. Сегаль М.С., Сахновская Г.К. Обсемененность почв спорами и палочкой столбняка и заболеваемость столбняком // Анаэробные инфекции. – Киев: Госмедиздат, 1957. – С. 85-86.
271. Сергеева Т.И. Столбняк мирового времени в СССР (Эпидемиология, профилактика, экология и физиологические свойства возбудителя): Автореф. дисс. ... докт. биол. наук. – М., 1971. - 26 с.
272. Сидоренко М.Л., Терехова В., Бузолева Л.С. Особенности биологии возбудителя листериоза при обитании в объектах окружающей среды / Приоритет России XXI века: от биосферы и техносферы к ноосфере. Материалы международной научно-практической конференции. – Пенза, 2003. – С. 159-161.
273. Скворцов В.В., Киктенко В.С., Кучеренко В.Д. Выживаемость и индикация патогенных микробов во внешней среде. – М.: Медицина, 1966. –350 с.
274. Слабова О.И., Никитин Д.И. Использование C₁-соединений газоокисляющими олиготрофами // Микробиология. – 1988. – Т. 57. – Вып. 3. – С. 373-377.
275. Сливко В.В. Листериоз сельскохозяйственных животных: Автореф. дис. ... докт. вет. наук. – М., 1959. – 19 с.
276. Слизко В.В. Листереллез (листериоз) сельскохозяйственных животных: Автореф.дис. ... док-ра биол.наук.- М., 1959. – 24 с.
277. Смирнов В.В., Василевская А.А., Резник С.З. Антибиотики. – Киев: Вища школа, 1985. – 191 с.
278. Соболева К.П. Наблюдение за жизнедеятельностью вегетативных форм Клостридиум перфрингенс в почве // Патогенные клостридии: Труды Молдавского НИИ ЭМ. – Кишинев, 1961. – Вып. 5. – с. 35-42.
279. Соболева К.П. О жизнедеятельности Клостридиум перфрингенс в почве: Авреф. дисс. ... канд. биол. наук. - Кишинев, 1963. - 19 с.
280. Сомов Г.П. Дальневосточная скарлатиноподобная лихорадка. – М.: Наука, 1970. – 499 с.

281. Сомов Г.П. Дальневосточная скарлатиноподобная лихорадка (эпидемический псевдотуберкулез) // Дальневосточная скарлатиноподобная лихорадка (псевдотуберкулез у человека). – Владивосток, 1974. – С. 3-11.
282. Сомов Г.П. Дальневосточная скарлатиноподобная лихорадка (Псевдотуберкулез человека) // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 1976а. – № 4. – С. 103-108.
283. Сомов Г.П. Итоги изучения эпидемического псевдотуберкулеза (Дальневосточной скарлатиноподобной лихорадки) // Природно-очаговые антропонозы. - Омск, 1976б. - С. 102-113.
284. Сомов Г.П. О психрофильных свойствах псевдотуберкулезного микроба и значении этого феномена в эпидемиологии Дальневосточной скарлатиноподобной лихорадки // Дальневосточная скарлатиноподобная лихорадка (псевдотуберкулез человека). – Л.: Наука, 1978. – С.3-13.
285. Сомов Г.П. Дальневосточная скарлатиноподобная лихорадка. – М.: Медицина, 1979. – 184 с.
286. Сомов Г.П. Психрофильность патогенных микроорганизмов и ее эпидемиологическое и патогенетическое значение // Вестник АМН СССР. – 1985. – № 1. – С.58-65.
287. Сомов Г.П. Еще раз о сапронозах // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 1985. – № 5. – С. 98-104.
288. Сомов Г.П. Особенности экологии внеорганизменных популяций патогенных бактерий и их отражение в эпидемиологии инфекций // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 1997. – № 5. – С. 7-11.
289. Сомов Г.П. Современное представление о сапронозах (основные итоги изучения проблемы) // Тихоокеанский медицинский журнал. – 2001. – № 2. – 67-70.
290. Сомов Г.П. Современные представления о сапронозах и сапрозоонозах // Ветеринарная патология. – 2004. – № 3 (10). – С. 31-35.

291. Сомов Г.П., Бузолева Л.С. Адаптация патогенных бактерий к абиотическим факторам окружающей среды. – Владивосток: Примполиграфкомбинат, 2004. – 167 с.
292. Сомов Г.П., Варвашевич Т.Н., Тимченко Н.Ф. Психрофильность патогенных бактерий. – Новосибирск: Наука, 1991. – 204 с.
293. Сомов Г.П., Литвин В.Ю. Сапрофитизм и паразитизм патогенных бактерий: экологические аспекты. – Новосибирск: Наука, 1988. – 208 с.
294. Сомова Л.М., Бузолева Л.С., Плехова Н.Г. Ультраструктура патогенных бактерий в разных экологических условиях. – Владивосток: Медицина ДВ, 2009. – 200 с.
295. Соркин Ю.И., Прокудин Ю.Н., Сизых Л.В. Выделение возбудителя сибирской язвы из почвы пастбищ Юго-Восточной Тувы // Особоопасные инфекции в Сибири и на Дальнем Востоке. – Кызыл, 1966. – С. 94-96.
296. Сорокин Ю.И., Родзиковский А.В., Жиров А.Я. Динамика популяции *Bacillus anthracis* СТИ в естественных биогеоценозах горных лесных почв Приморского края // Вопросы санитарной охраны территорий и профилактики природно-очаговых инфекций. – Хабаровск, 1986. – С. 75-77.
297. Сталлибрасс К. Основы эпидемиологии. – М.-Л.: Биомедгиз, 1936. – 593 с.
298. Сухотина М.И. Жизнеспособность листерий в почвах // Научные труды Омского сельскохозяйственного института. – Омск, 1975. – Т.139. – С.81-83.
299. Тамбиев А.Х., Телитченко М.М. Роль летучих и водо-растворимых биологически активных соединений в формировании биоценозов и изучение их современными биофизическими и химическими методами // Летучие биологически активные соединения биогенного происхождения. – М.: Изд-во МГУ, 1971. – С. 14-27.
300. Тарасевич Ю.И., Овчаренко Ф.Д. Адсорбция на глинистых минералах. – Киев: Наукова думка, 1975. – 351 с.

301. Тарков М.И., Тиховская Т.М., Меренюк Г.В., Тимченко О.Л.А. К вопросу о выживаемости сальмонелл в почве // Актуальные вопросы гигиены и эпидемиологии. – Кишинев, 1972. – С.34-36.
302. Тартаковский И.О., Прозоровский С.В. Экология легионелл // Экология возбудителей сапронозов.- М., 1988.- С.47-51.
303. Тен Хак Мун. Закономерности формирования и стабилизация микробценозов в почве. – М.: Наука, 1983. – 104 с.
304. Тен Хак Мун, Кондратьева Л.М., Чухлебова Л.М. Межпопуляционные взаимоотношения микроорганизмов в почве // Микробные сообщества и их функционирование в почве. – Киев: Наукова думка, 1981. – С. 64-69.
305. Терехова В.Е., Бузолева Л.С., Айздайчер Н.А., Ярославцева Л.М., Сергеева Э.П., Шакиров Р.Б., Зайцева Е.А., Сомов Г.П. Крайние моря северо-западной части Тихого океана как среда обитания *Listeria monocytogenes* и эпидемиологическое значение этого явления // Эпидемиология и инфекционные болезни. – 2002. – № 1. – С. 43-46.
306. Терских В.И. Сапронозы // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 1958. – № 8. – С. 118-122.
307. Тимаков В.Д. Микробиология. – М.: Медицина, 1973. – 431 с.
308. Тимофеева Л.А., Головачева В.Я., Смирнова Л.А., Одькова Н.В. Роль почвы в сохранении чумного микроба // Доклады Иркутского противочумного института. – 1969. – Вып.8. – С.64-66.
309. Тимченко Н.Ф. Материалы по микробиологической характеристике возбудителя Дальневосточной скарлатиноподобной лихорадке (псевдотуберкулез человека): Дис. ... канд. мед. наук. – Владивосток, 1972. – 190 с.
310. Тимченко Н.Ф. Генетико-биохимические механизмы патогенности бактерий и перспективы их изучения // Бюллетень СО АМН СССР. – 1986. – № 4. – С. 66-71.

311. Тирранен Л.С., Ковров Б.Г., Черепанов О.А. Характер взаимодействия микроорганизмов через их газообразные метаболиты // Микробиология. – 1980. – Т. 49. – Вып. 5. – С. 788-793.
312. Тирранен Л.С. Роль летучих метаболитов в межмикробном взаимодействии. – Новосибирск: Наука, 1989. – 104 с.
313. Тодоров Т.О. Применение реакции флокуляции с латексом и бентонитом в иммунодиагностике // Современная медицина. – 1972. – № 23/5. – С.25-27.
314. Токаревич К.Н. Важнейшие инфекционные болезни, общие для животных и человека. –Л.: Медицина, 1979. – 222 с.
315. Троицкий Е.П. Химические основы процесса гумификации: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. – М., 1941. – 23 с.
316. Трчунян А.А. Роль ионов калия в жизнедеятельности бактерий // Биологический журнал Армении. – 1987. – Т.40. – № 4. – С.267-275.
317. Тульчинская В.П., Губанов В.В. Изучение контаминации мидий бактериями кишечной палочки и парагемолитическими вибрионами // Промысловые двухстворчатые моллюски-мидии и их роль в экосистемах. – Л., 1979. – С. 120-122.
318. Туманский В.М. Псевдотуберкулез. – М.: Медгиз, 1958. – 81 с.
319. Тюлин А.Ф. Методы пептизационного анализа в связи с вопросом об общих закономерностях в химических и физических свойствах почв // Почвоведение. – 1943. – № 4-5. – С.4-5.
320. Тюрин И.В. Органическое вещество почв. – М.-Л.: Сельхозгиз, 1937. – 288 с.
321. Уэбб Л. Ингибиторы ферментов и метаболизма. Общие принципы торможения. – М.: Мир, 1966. – 862 с.
322. Федоров Л.И., Бунин В.Т. О водном пути заражения людей псевдотуберкулезом // Природа Сахалина и здоровье человека. – Южно-Сахалинск, 1971. – Вып. 2. – С. 86-87.

323. Федоров В.Д., Кафар-Заде Л. Экспериментальное исследование физиологической активности метаболитов (фильтратов) планктонных водорослей как регуляторов их численности в смешанных культурах // Человек и биосфера. – 1976. – Вып. 1: Математическое моделирование водных экологических систем. – С. 175-194.
324. Филипченко А.А. Экологическая концепция паразитизма и самостоятельность паразитологии как научной дисциплины // Ученые записки МГУ. – 1937. – № 13(4). – С. 4-14.
325. Фиштейн А.Б. Об изменчивости физиологических признаков микроорганизмов // Микробиология. – 1985. – Т. 54, вып. 4. – С. 560-562.
326. Фокин А.Д. Почва, биосфера и жизнь на Земле. – М.: Наука, 1986. – 176 с.
327. Фридланд В.М. Основы профильно-генетического компонента базовой классификации почв // Почвоведение. – 1981. – № 6. – С. 106-118.
328. Хан Д.В. Поглощение органического вещества минералами почв // Почвоведение. – 1950. – № 11. – С.673-679.
329. Холодный Н.Г. Биологическое значение летучих органических веществ, выделяемых растениями // Среди природы и в лаборатории. – М.: МОИП, 1949. – Вып. 1. – С. 156-173.
330. Холодный Н.Г. Усвоение летучих органических веществ почвенными бактериями // Избранные труды. – Киев: Изд-во АН УССР, 1957а. – С. 308-320.
331. Холодный Н.Г. О физиологическом действии летучих органических веществ на растения // Избранные труды. – Киев: Изд-во АН УССР, 1957 б. – С. 338-340.
332. Холодный Н.Г. Действие летучих выделений почвы на рост растений // Избранные труды. – Киев: Изд-во АН УССР, 1957 в. – С. 374-376.
333. Христева Л.А. Роль гуминовой кислоты в питании растений и гуминовые удобрения // Труды Почвенного института им. В.В.Докучаева. – М., 1951. – Т.38. – С.108-184.

334. Хроматография на бумаге. Под ред. И.М. Хайса и К. Мацека. – М.: Издательство иностранной литературы, 1962. – 851 с.
335. Худякова Ю.А. Микробные метаболиты во взаимодействии с глинными минералами почв // Микроорганизмы в сельском хозяйстве. – М., 1968. – С.133-134.
336. Цуринов А.И. Новое о глинах и глинистых растворах. – М.: Наука, 1949. – 245 с.
337. Чернуха В.Г. Экология возбудителей сапронозов: Сборник научных трудов – М., 1988. – 545 с.
338. Чернуха Ю.Г., Зайцев С.В. Определение патогенных лептоспир в почве биологическим методом // Материалы симпозиума по лептоспирозу. – М., 1975. – С. 70-71.
339. Чернуха Ю.Г., Зайцев С.В. Возможность переживания патогенных лептоспир в почве природного очага // Экология возбудителей сапронозов. – М.: Издательство АМН СССР, 1988. – С.85-94.
340. Чумаченко С.С. Значение биологической активности *Clostridium tetani* при столбняке мирного времени: Авреф. дисс. ... канд. биол. наук. – Львов, 1969. – 23с.
341. Шарма Р.К. Обнаружение бактерий в продуктах морей и океанов // Листерия на рубеже веков. Тезисы докладов международного симпозиума. – Покров, 1999. – С. 97-99.
342. Шарапов В.М. Возбудители висцеральных микозов как компоненты почвенных биот // Экология возбудителей сапронозов. – М., 1988. – С.94-105.
343. Шарапова Т.А., Григорян И.П., Сомов Г.П. Предварительные данные о наличии Дальневосточной скарлатиноподобной лихорадке (псевдотуберкулеза) за пределами ДВ. // Тезисы докладов. – Хабаровск, 1972. – С. 109-110.

344. Шварц С.С. Метаболическая регуляция роста и развития животных на популяционном и организменном уровнях // Известия АН СССР. Серия Биология. – 1972. – № 6. – С. 822-835.
345. Ширококов В.П. Сравнительное изучение биохимических свойств вирусов Коксаки и их селекционированных вариантов: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. – Киев, 1977. – 23 с.
346. Шлегель Г. Общая микробиология. – М.: Мир, 1987. – 567 с.
347. Шляхов С.А. Классификация почв морских побережий. – Владивосток: Дальнаука, 1996. – 35с.
348. Шляхов С.А. Почвы равнинных морских побережий. – Владивосток: Дальнаука, 1997. – 55с.
349. Шляхов С.А. Костенков Н.М. Почвы Тихоокеанского побережья России, их классификация, оценка и использование. – Владивосток: Дальнаука, 2000. – 183 с.
350. Шпатенко И.Г., Антонюк В.П. Почва - основной резервуар возбудителя сибирской язвы // Разработка методов проверки биологических свойств производственных штаммов микроорганизмов и диагностических препаратов. – М., 1983. – С. 54-56.
351. Шубин Ф.Н., Сибирцев Ю.Т., Рассказов В.А. Плазмиды *Yersinia pseudotuberculosis* и их значение в реализации эпидемического процесса при псевдотуберкулезе // Журн. Микробиол. – 1985. - № 12. – С. 53-56.
352. Шубин Ф.Н. Экологические и молекулярно-генетические аспекты эпидемиологии псевдотуберкулеза: Дис. ...докт. мед. наук. – М., 1993. – 212 с.
353. Шустова Н.И., Гордейко В.А., Мисуренко Е.Н. и др. Иерсинии в растениях // Потенциально патогенные бактерии в природе. – М., 1991. – С. 86-94.
354. Щапова Л.Н. Микрофлора почв юга ДВ России. - Владивосток: ДВО РАН, 1994. - 186 с.

355. Эйриш М.В., Эйриш З.Н., Беззубов В.М. и др. Кристаллические и структурные особенности монтмориллонита и их влияние на свойства бентонитовых глин // Бентониты. – М., 1980. – С.117-125.
356. Экологическая роль микробных метаболитов. Под ред. Д.Г. Звягинцева. – М.: Изд-во МГУ, 1986. – 240 с.
357. Эль-Регистан Г.И., Дуда В.И., Светличный В.А. Динамика ауторегуляторных факторов в периодических культурах *Pseudomonas carboxydoflava* и *Bacillus cereus* // Микробиология. – 1983. – Т. 52. – Вып. 2. – С. 238-243.
358. Ющенко Г.В. Экологические аспекты эпидемиологии иерсиниоза и псевдотуберкулеза: Автореф. Дисс... доктора мед. наук. – М., 1990. – 26 с.
359. Яковлева Е.П. Совместное культивирование продуцентов биологически активных веществ с другими микроорганизмами // Прикладная биохимия и микробиология. – 1983. – Т. 19. – Вып. 3. – С. 330-346.
360. Якунина Т.И., Никифорова Л.Н., Михайлова О.А. Некоторые данные о размножении и выживаемости псевдотуберкулезного микроба в объектах внешней среды в условиях эксперимента. // I Межобластная научно-практическая конференция по псевдотуберкулезу человека. – Владивосток, 1970. – С. 63-66.
361. Ahmed F.E. Review - assessing and Managing risk due to consumption of seafood contamination with microorganisms, parasites and natural toxins in the United States // Int. J. Food Science Technol. – 1992. – V.27 (3). – P. 243-260.
362. Alemzade I., Maeda Y., Fazeli A. Bacterial flocculation with sodium bentonite // J. Perm. Toch. – 1977. – V. 55(2). – P.181-188.
363. Allain B.C., Chisholm E.S., Капан J.G. Use of bentonite flocculation test for diagnosis of schistosomiasis // Health. Serv. – 1972. – V.87. – P.550-554.
364. Babich H., Stotzky S. Air pollution and microbial ecology // CRC Crit. Rev. Environm. Control. ... – 1974. – V.4 – P. 354-421.

365. Ben Embarek P.K. Presence, detection and growth of *Listeria monocytogenes* in seafood's: a review // *Int. J. Food Microbiol.* – 1994. – V. 23. – P.17-34.
366. Berestetsky O.A., Kravchenko L.V. Volatile products of plant residue decomposition and their effect on soil microflora // *Soil. Biol. Conserv. Biosphere.* – 1984. – V. 1. – P. 419-425.
367. Bligh E.G., Dyer W.J. A rapid method of total lipid extraction and purification // *Can. J. Biochem. Physiol.* – 1959. – V. 37. – P.911-917.
368. Bodnar L., Bodnar S., Szita J. et al. *Yersinia enterocolitica* tullelese felszini vizben es talajban // *Egeszsegtudowany* 1980. – V. 24(2). – P. 136-140.
369. Bolin I., Norlander L., Wolf-Watz H. Temperature-inducible outer membrane protein of *Y. pseudotuberculosis* and *Y. enterocolitica* is associated with the virulence plasmida // *Infect/ and Immun.* – 1982. Vol. 37, № 2. – P. 506-512.
370. Botzler R.G., Cowan A.B., Wetzler T.F. Survival of *Listeria monocytogenes* in soil and water // *J. Wildlife Diseases.* – 1974. – V. 10(3). – P. 204-212.
371. Boyle D.L., Schmidt G. R., Sofos J. N. Growth of *Listeria monocytogenes* inoculated in waste fluid from clean-up of a meat grinder // *J. Food Sei. ...* – 1990. – V. 55(1). – P. 277-278.
372. Bozigevich J., Nasov J.B., Kayhol D.E. Desoxyribo-nucleic acid (DNK)-bentonite flocculation test for *lupus crythomatos sus* // *J. Proc. Soc. exp. Biol. and Med.* – 1960. – V.103 (3). – P. 636-640.
373. Bucke C. Methods of immobilizing cells // *Process Eng. Aspects Immobilized cell syst.* – Rugby, 1986. – P. 20-34.
374. Bull A.T., Slater J.H. Microbial interactions and community structure // *Microbial interactions and communities.* – London: Acad. Press, 1982. – P. 130-162.
375. Buncic Sava. The incidence of *Listeria monocytogenes* in slaughtered animals, in meat, and in meat product in Yugoslavia. // *Int. J. Food Microbiol.* – 1991. – V. 12. – P. 173-180.

376. Cailler M., Veser S. Observation on the dispersion and aggregation of clays by humic substances. 2. Short-term effects of humus-rich peat water on clay aggregation // *Geoderma*. – 1988. – V. 43(1). – P. 1-9.
377. Campbell R., Ephgrave J.M. Effects of bentonite clay on the growth of *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* on its interactions with antagonistic bacteria // *J. Cen. Micro.* – 1983. – V.13. – P.771-777.
378. Carbonelle B., Cotton Y. *Listeria monocytogenes* et listeriose en Anjou de 1975 a 1987 // *Sem. Hop.* – 1988. – V. 64(33). – P. 317-320.
379. Carbonelle B., Cotton Y. Epidemie de Listeriose dans L'Ouest de la France (1975-1976) // *Rev. Epidem. Sant. Publ.* – 1978. – V. 26(6). – P. 451-467.
380. Carreau J.P., Dubacq J.P. Adaptation of a macro-scale method to the micro-scale for fatty acid methyl transesterification of biological lipid extracts // *J. Chromatogr.* – 1978. – V.151 (3). – P. 384-390.
381. Casey M., Maeda Y., Fazeli A. Bacterial flocculation using sodium bentonite as aid agent // *J. Ferm. Tech.* – 1974. – V. 55(2). – P.174-180.
382. Chevolut L. Humic substances // *Dissolved organic Matter*. – Paris: Inst. Oceanographique, 1988. – 311 p.
383. Claus D., Wittmann H., Ripell-Baldes A. Untersuchungen über die Zusammensetzung von Bakterien Schleimen und deren Lösungsvermögen gegenüber schwerlöslichen anorganischen Verbindungen // *Archiv für Mikrobiologie*. – 1958. – V.29 (2). – P. 169-178.
384. Colburn K. G., Kausner C. A., Abeyta C. et al. *Listeria* species in California coast estuarine environment // *Appl. Environ. Microbiol.* – 1990. – V.56. – P. 2007-2011.
385. Cole J.A. Microbial gas metabolism // *Adv. Microbiol. Physiol.* – 1976. – V.14. – P. 1-90.
386. Cormick R.W., Wolf D.C. Effect of montmorillonite and trace element on the growth of *Penicillium frequentans*: 1. Ammonium nitrogen source // *Soil. Sci. Soc. Amer. J.* – 1979. – V.43 (6). – P.1114-1120.

387. Cormick R.M., Wolf D.C. Effect of montmorillonite and trace elements on the growth of *Penicillium frequentans*: 2. Nitrate nitrogen source // *Soil. Sci. Soc. Amer. J.* – 1979. – V.43(6). - P.1120-1124.
388. Davidson R.J., Sprung D.W., Park C.E., Rouman M.K. Occurrence of *Listeria monocytogenes*, *Campylobacter* spp. and *Yersinia enterocolitica* in Manitoba raw milk // *Can. Inst. Food. Sci. and Technol. J.* – 1989. – V. 22(1). – P. 70-74.
389. DeFlaun M. F., Paul J. H. Detection of exogenous gene sequences in dissolved DNA from aquatic environments // *Microbiol ecology.* – 1989. – V. 18(1). – P. 21-28.
390. Dijkhuizen L. Microbial responses to changes in growth conditions // *Forum.Microbiol.*-1989. – V. 12 (1-2). – P.40.
391. Dijkstra R. G. Ecology of *Listeria* // *Microbiol. Alim., Nutr.* – 1989. – V. 7(4). – P. 353-359.
392. Dominguez Rodrigues Lukas, Fernandez Garayzabal Jose F., Vazguer Boland Jose A., Rodriguez Ferri Elias, Suarez Fernandez Guillermo. Isolation de microorganismes du genre *Listeria* a partir de lait cru destine a la consommation humaine // *Can. J. Microbiol.* – 1985. – V. 31(10). – P. 938-941.
393. Drapeau A.J., Lairence R.A., Narbec P.S. et al. Bioaccumulation de meatous lourds certain microorganismes // *Sci.et techn.eau.* – 1983. – V.16 (4). – P.359-368.
394. Dreyfuss M. A. Fungicidal and bactericidal gas from the mycellum of a *Paecilomyces* strain // *Experientia.* – 1980. – V. 36(4). – P. 500-501.
395. Dubois M., Gilles K.A., Hamilton J.K. et al. A colorimetric method for indication glucoses // *Analit.-chesi.* – 1955. – V. 28. – P.350-356.
396. Eilertz I., Danielsson-Tham M.L., Hammarberg K.E., Reeves M.W., Rocourt J. et al. Isolation of *Listeria monocytogenes* from goat cheese associated with a case of listerioses in goat // *Aacta Vet. Scand.* – 1993. – V. 34(2). – P. 145-149.
397. Farber J.M., Peterkin P.I. *Listeria monocytogenes*, Foodborn pathogen // *Microbiol. Rev.* – 1991. – V. 55. – P. 476-511.

398. Fenlon D.R., Wilson J. The incidence of *Listeria monocytogenes* in farm bulk milks in NE Scotland // *Acta Mikrobiol. Hung.* – 1989. – V. 36(2-3). – P. 255-258.
399. Filip L., Haider K., Martin J.P. Influence of montmorillonite on the formation of bio-mass and metabolic products by some technically important microorganisms // *Foliamicro-biol.* – 1971. – V.16 (6). – P.507.
400. Flaig W. *Fortschritte der Huminstoff-Chemie.-Landbauforsch* // Volkenrode. – 1969. – V.2. – P.53-55.
401. Flaig W. Organic compounds in soil. // *Soil. Sci.* – 1971. – V. 111(1). – P.314.
402. Folch J., Lees M., Sloane-Stanley D.A. A simple method for the isolation and purification of total lipid from animal tissues // *J.Biol.Chem.* – 1957. – V.226(1). – P.497-509.
403. Forsyth W. G. C. Studies on the more soluble complexes of soil organic matters: 1. A method of Fractionation // *Biochem.J.* – 1947. – V. 41(2). – P. 176-181.
404. Frantz I.D. Lipids and atherosclerosis // *Cancer research.* – 1981. – V. 41(9). – P.3718-3721.
405. Freeman L. P., Silverman G. J., Angelini et al. Volatile produced by microorganisms isolated from refrigerated chicken at spoilage // *Appl. Environ. Microbiol.* – 1976. – V. 32(2). – P. 222-231.
406. Fries N. Effect of volatile organic compounds on the growth and development of fungi // *Trans. Brit. Mycol. Soc.* – 1973. – V. 60(1). – P. 1-21.
407. Frouin A. *Listeria ecologia et epidemiologie* // *Cah. Nutr. et Diet.* – 1989. – V. 24(4). – P. 302-305.
408. Fuchigami M., Senshu T., Horiguchi M.A. Simple Continuous Culture System for Rumen Microbial Digestion Study and Effects of Defaunation and Dilution Rates // *J. Dairy Sci.* – 1989. – V. 72(11). – P. 3070-3078.
409. Garsia Jean-Louis, Feller Christian. Influence de la teneur en éléments fins et de la nature des minéraux argileux sur la dénitrification dans divers sols tropicaux. // *Cah. Orstom. Biol.* – 1981. – № 43. – P.7-12.

410. Gemski P., Lazere J.R., Casey T. Plasmid associated with pathogenicity and calcium dependency of *Yersinia enterocolitica* // *Infect. Immun.* – 1980. – Vol. 27, № 2. – P. 682-685.
411. Geuenich H., Muller H. Isolierung und Keimzahlbestimmung von *Listeria monocytogenes* in ungeklartem und biologisch gereinigtem Abwasser // *Zbl. Bakteriol.* – 1984. – V. 179(3). – P. 266-273.
412. Globa L., Gordienko A., Lesichkov V., Garbara S. Effect of Ca^{2+} and Al^{3+} ions on interaction between bacteria and mineral sorbents // *Scr. Sci. Med.* – 1985. – V. 22. – P.130-133.
413. Gottfried D. The production and role of antibiotics in soil // *J. Antibiotics.* – 1976. – V. 29. – P. 987-1000.
414. Graham-Weiss Lori, Bennett Mari Lynn, Paav Alan S. Production of bacterial inoculants by direct fermentation on nutrient-supplemented vermiculite. // *Appl. and Environ. Microbiol.* – 1987. – V. 53(9). – P.2138-2141.
415. Grimes D. J. Ecology of estuarine bacteria capable of causing human disease: a review // *Estuaries.* – 1991. – V. 14(4). – P. 345-360.
416. Grosovsky B.D. What are the selective advantages of metal deposition and solubilization by microbes? // *J. Theor. Biol.* – 1982. – Vol. 97, № 1. – P.83-96.
417. Hartemink R., Georgsson F. Incidence of *Listeria* species in seafood and seafood salads // *Int. J. Food Microbiol.* – 1991. – V. 12. – P. 189-195.
418. Haider K., Filip Z., Martin J.P. Einflub von montmorillonit auf die Bildung von Biomasse and Stoffwechselzwischenprodukten durch einige Microorganismen // *Arch. Microbiol.* – 1970. – V. 72(1) – P. 69-73.
419. Hattori Reiko, Hattori Teutonu. Absorptive plunomena involving bacterial cells and an anion ex-change resin. // *J. Gen. and Appl. Microbiol.* – 1985. – V.31(2). – P.147-163.
420. Hilge B., Relm H.J. Vergleich des Stoffvechsels freier und immobilisierter Zeilen von *Saccharomyces cerevisial* // *Forum. Microbiol.* – 1989. – V.12(1-2). – P.58.

421. Hintz I., Kiss S., Papacostea P. et al. Application of a microbiological method for diminution of Al_2O_3 content of kaolins. // 4 Sunp. Soil. Biol., Cluj. – Napaca, 1977. – P.387-391.
422. Hue A.J., Durand B. Etude ces asides Crumitiques et de l'hu-mine de sediments recents considerable comme precurseurs des kerogens // Adv.Org.Geoderm. – 1973. – P.53-72.
423. Ibrahim G. A. M., Dojan-Kovacs H., Fabian A., Ralovich B. Listeria in milk and dairy products in Hungary // listeria 1991 : 11th Inc. Symp. Probl. Listeriosis. ISOPOL XI: Book Abstr. – Copenhagen, 1992. – P. 297-298.
424. Jansen A., Fredericsen W., Gerner-Smidt P. Risk factors for listeriosis in Denmark, 1989-1990 // Scand. J. Infec. Diseases. – 1994. V. 26(2). – P. 171-178.
425. Jansen G.P., Saari T.N. Waterborne Yersinia enterocolitica in the Midwest United States // Contrib. Microbiol. Immunol. – 1979. V.5. – P.185-195.
426. Juttner F. Detection of lipid degradation Products in the matter of a reservoir during a bloom of Synura uvella // Appl. Environm. Microbiol. – 1981b. – V. 41(1). – P. 100-106.
427. Keller F., Reimann. G., Hoffmann R., Korn S. Adsorption von Bakterien an Acrylhydrogelbeschichtete Aktivkohle, Model-iversuch. // Munch. Med. Wschr. – 1984. – V.126(31). – P.923-926.
428. Kiel H., Schwartz W. Leaching of a silicate and carbonate copper are with heterotrophic Pungi and bacteria producing organic acids. // Z. Allg. Microbiol. – 1980. – V.20(10). – P.627-636.
429. Knapp W. Pasteurella pseudotuberculosis unter besondere Berucksichtigung ihrer human medizinischen Bedeutung // Ergebnisse Mikrobiol., Immun. Forsch. Exp. Ther. – 1959. – V. 32. – P. 196-269.
430. Kokubo Y., Nakama A., Iida T. Listeria and safety of food products // Mod. Media. – 1991. – V. 37(10). – P. 3-10.
431. Korzibski T., Kouszyk-Cindifer Z., Kurilowicz W. Antibiotics. – Washington, 1978. – 562 p.

432. Kubat J., Kralov M., Novak B. Influence of fluctuating temperature on soil microflora // Zbl. Bacteriol., Parasitenk., Infektionskrankh. und Hyg. Abt. 2. – 1979. – V. 134(3). – P. 229-236.
433. Labows J. N., Mc Gineley K. J., Webster G. F., Leyden J. J. Headspace analysis of volatile metabolites of *Pseudomonas aeruginosa* and related species by gas chromatography mass spectrometry // J. Clin. Microbiol. – 1980. – V. 12(4). – P. 521-526.
434. Larsson L., Mardh P. A., Odham G. Analysis of amines and other bacterial products by head-space gas chromatography // Acta pathol. microbiol. scand. – 1978a. – V. 86(4). – P. 207-213.
435. Leat W.M.F. Man's requirement for essential fatty acids // TIBS. – 1981. – V.6. – P.9-10.
436. Leger C. Developments relative to the notion of essential fatty acids in fish // Ann.Nutr.Alim. – 1980. – V. 34. – P.207-216.
437. Leonardopulos J., Papakonstantinou A., Kourti H, Papavassiliou J. Survival of shigellae in soil // Zentralbl Bakteriologie Mikrobiologie Hygiene B.. – 1980. – Abt.1. – V.171 (4-5). – P.459-465.
438. Linnan M. J., Mascola L., Lou X. D., Goulet V., May S. et al. Epidemic listeriosis associated with mexican-style cheese // N. Engl. J. Med. – 1988. – V. 319(13). – P. 823-825.
439. Liston J. Microbial hazards of seafood consumption. Toxins, bacteria and viruses are the principal causes of seafood borne diseases // Food. Technol. – 1990. – V. 44(12). – P. 58-62.
440. Lone G. Potential hazards in cold-smoked fish: *Listeria monocytogenes* // J. Food Science. – 2001. – V. 66(7). – P. 1071-1081.
441. Lorian V. Antibiotics in laboratory medicine. – Baltimore: Williams and Wilking, 1980. – 478 c.
442. Lowry O.H., Rosenbrough N.J., Farr A.L. et al. Protein measurement with Folin phenol reagent // J. Biol. Chem. – 1951. – V. 193. – P.265-275.

443. Marchman N.A., Marshall K.C. Bacterial growth on the presence of clay minerals // *Soil. Biol. and Biochem.* – 1981. – V.13 (2). – P.127-134.
444. Marchman N.A., Marshall K.C. Some effects of montmorillonite on the growth of mixed microbial cultures // *Soil. Biol. and Biochem.* – 1981. – V.13 (2). – P.135-141.
445. Marshall K.C. Interaction between colloidal montmorillonite and cells of *Rhizobium* species with different ionogenic surfaces // *Biochimica et Biophysica acta.* – 1968. – V.156 (1). – P. 179-186.
446. Mc Lauchlin J., Gilbert R. J. The contamination of pate by *L. monocytogenes* in England and Wales // *Listeria 1992: 11th Int. Symp. probl. Listeriosis, Copenhgagen, 11-14 May, 1992: ISOPOL XI: Book Abstr.* – S. A., s. a. – P. 313-314.
447. Michard J., Jardy Nelly. Denombrement et localisation de *Listeria monocytogenes* dans des fromages a pate molle et a croute lavee fabriques avec du lait cru en provenance d'une entreprise fromagere // *Microbiol., alim., nutr.* – 1989. – V. 7(2). – P. 131-137.
448. Mizzaden A., Maeda Y., Fazeli A. Effects of sodium bentonite and ferric-chloride on activated-sludge treatment of waste-water // *J. Form. Tech.* – 1977. – V.55 (3). – P.258-264.
449. Mollaret H.H. Le bacile de Malassez et Vignal (Caracteres Cultureux et biochimiques) // *Appl. Microbiol.* – 1962. – V. 30(1). – P. 29-32.
450. Moon N., Reinbold G. W. Commensalism and competition in mixed cultures of *Lactobacillus bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* // *J. Milk and Food Technol.* – 1976. – V. 39 (5). – P. 337-341.
451. Moore-Landecker E., Stotzky G. Inhibition of fungal growth and sporulation by volatile metabolites from bacteria // *Can. J. Microbiol.* – 1972. – V. 18 (7). – P. 957-962.
452. Moore-Landecker E., Stotzky G. Morphological abnormalities of fungi induced by volatile microbial metabolites // *Mycologia.* – 1973. - V. 65. – P. 519.

453. Moore-Landecker E., Stotzky G. Effects of concentration of volatile metabolites from bacteria and germinating seeds of fungi in the presence of selective absorbents // *Can. J. Microbiol.* – 1974. – V. 20 (1). – P. 97-103.
454. Muller F. O., Heller G. Versuchsapparatur zum Nachweis von Geruchsstoffen bakterieller Genese in Trinkwasser: 1. Mitteilung: Der Vergleich eines bakteriell bedingten Geruchsstoffes mit einer chemischen Bezugssubstanz und eine einfache Apparatur zur Gewinnung Konzentrierung von biogenen Geruchsstoffen // *Zbl. Bacteriol. Parasitenk., Infektionskrankh. und Hyg.* – 1977. – Abt. 1. – Orug., A 23 (5-6). - P. 480-486.
455. Nakama A., Maruyama T., Kokubo Y., Iida T., Umek F. Incidence of *Listeria monocytogenes* in foods in Japan // *Lisyeria 1992: 11th Int. Synp. Probl. Listeriosis, Copenhagen, 11-14 May, 1992: ISOPOL XI: Booc Abstr.* – S. I., s. a. – P. 317-318.
456. Navakova J. Effect of bentonite and kaolinite on growth curve of *E. coli* // *Fol. microb.* – 1968. – V.3 (6). – P.543.
457. Navakova J., Habetin P. The effect of clays on the breakdown of lucerne and straw. // *Soil. Biol. and Conserv. Biosphere.* – 1984. – V.1. – P.413-417.
458. Navarre J.M., Durand G. Sinchronisation ce la croissance de microorganismes immobilises sur des supports solides // *Ann.Microbiol.* – 1981. – V.132 (2). – P.241-255.
459. Olafsen J. A., Mikkelsen H. V., Glaever H. M. Indigenous bacteria in hemolimh and tissues of marine bivalves at low-temperatures // *Appl. Environ. Microbiol.* – 1992. – V. 59 (6). – P. 1848-1854.
460. Papa A., Arvanitidou-Vayiona M., Konstantinidis T. S. et al. Causes of incidence of *Listeria* in superficial water // *Acta microbiol. hell.* – 1996. – V. 41(16). – P. 575-579.
461. Pekdeger A. Pathogenic bacteria and viruses in the unsaturated zone // *Pollut. Porous Medic.-Berlin*, 1984. – P.195-210.

462. Platz S. Experimentelle Untersuchungen zur Persistenz von *Salmonella typhimurium* in verschiebenden Kulturböden // *Gbl. bacteriol.* – 1980. – Abt.1. – Vol.171 (2-3). – P.256-268.
463. Rai B., Srivastava A. K., Singh D. B. Volatile and non-volatile metabolites of actinomycetes and the growth of some litter decomposing fungi // *Soil. Biol. Biochem.* – 1981. – V. 13(1). - P.75-76.
464. Rice G.A., Macarthy P. Comments on the literature of the humin fraction of humus // *Geoderma.* – 1988. – V.43 (1). – P.65.
465. Rashid M.A., King L.H. Molecular weight distribution measurements on humic and fulvic fractions from marine clays on the Scotian Shelf // *Geochimica and Cosmochimica Acta.* – 1969. – V.33. – P. 147-151.
466. Rasmussen R. A., Hutton R. S. Utilization of atmospheric organic volatiles as energy sources by microorganisms in the tropics // *Chemosphere.* – 1972, – V. 1 (1), – P. 47-50.
467. Rochier M. Hydrophobic or organophilic bentonites // *Fonderie.-Fr.* – 1978. – V.33. –P.286-288.
468. Ross C.B., Hendriks S.B. Minerals of montmorillonite group // *U.S. Geol.Surv., Prof., Pap.* – 1945. – V.205. – P.23-79.
469. Rosset R. Legumes de IV et V gammes: Microbiologie et toxoinfections alimentaires collectives // *Bull. Acad. vet. Fr.* – 1990. - V. 63(3), Suppl. - P. 43-55.
470. Rowbotham T.J. Preliminary report on the pathogenicity of *Legionella pneumophila* for freshwater and soil amoebae // *J. Clin. Pathol.* – 1980. – V.33. – P.1179-1183.
471. Rozenzweig W. D., Stotzky G. Influence of environmental factors on antagonism of fungi by bacteria in soil: nutrient levels // *Appl. Environ. Microbiol.* – 1980. – V. 39(2). – P. 354-360.

472. Saiz-Jimenez C., Martin F., Haider K., Menselaeer H.L. Comparison of humic and fulvic acids from different soils by perolysis mass spectrometry // *Ibid.* – 1978. – V. 22(3-4). – P. 353-359.
473. Schenck S., Stotzky G. Effect on microorganisms of volatile compounds released from germinating seeds // *Can. J. Microbiol.* – 1975. – V. 21. – P. 1622.
474. Schwarzbrod J., Papadopoulus O., Burdin C. Detection et comportement des *Listeria* dans les bones d'epuration // *Microbiol., alim., nutr.* – 1989. – V. 7(3). – P. 225-232.
475. Seeliger H. *Listeriose.* – Leipzig, Beirdgezur Hygieneund Epidemiologie, 1955. – 230 p.
476. Shaegani M., De Forge J., McGlinn D. et al. Characteristics of *Yersinia enterocolitica* and related species isolated from human, animal and enviromental sources // *J. Clin. Microbiol.* – 1981. – V. 14(3). – P. 304-312.
477. Shahamat M., Seaman A., Woodbine M. Survival of *Listeria monocytogenes* in high salt concentrations // *Zbl. Bacteriol.* – 1980. – Abt. 1. – V. 246 (4). – P. 506-511.
478. Sierra G. Antonie Van Leeuwen hoek // *J. Microbiol. Serol.* – 1957. – V.23. – P.15-22.
479. Siqueira J.O., Cartro H.A. Bio-extraction of metallic elements from aluminosilicate by *Aspergillus* // *Rev. Latincamer. microbiol.* – 1982. – V.24 (4). – P.267-271.
480. Slade P. J., Collins-Thompson D. L., Fletcher F. Incidence of *Listeria* species in Ontario raw milk // *Can. Inst. Food Sci. and Technol. J.* – 1988. – V. 21(4). – P. 425-429.
481. Slater J. H. The role of microbial communities // *Mixed culture fermentation's.* – L., 1981.
482. Slater J. H., Bull A. T. Interactions between microbial populations // *Co. Microbiol. Selec. Top. Further Study.* – L., N. Y., 1978. – P. 181-206.

483. Smith G., Turner L. The effect of pH on the survival of leptospire in water // Bull. WHO. – 1961. – V. 24. – P.35 -43.
484. Smyk B., Rozycki E., Barabasz W. Changes in composition and structure of soil microbial communities in selected mountain grassy ecosystems under the influence of mineral nitrogen fertilization // Abstr. 4th Int. Symp. Microb. Ecology. – Ljubljana, 1986. – P. 74.
485. Splino M., Merha V., Ihhyntere F. Uberlebensvemogen von Yersinia enterocolitica in verschiedenen // Z. gesante Hyg. Und brenzgeb. – 1987. – V.27 (11). – P.828-832.
486. Sprecher E., Hanssen H-P. Distribution and strain-dependent formation of volatile metabolites in the genus Ceratocystis // Antonie Van Leeuwenhoek. – 1983. – V. 49 (4-5). – P. 493- 499.
487. Stecha P.F., Heyness C.D., Roll J.T., Brown J.P., Czuprinsky C.J. Effects of growth temperature on the ingestion and killing of clinical isolates of L. monocytogenes by human neutrophills // J. Clin. Microbiol. – 1989. Vol. 31. - № 5. – P. 1572-1576.
488. Stotzky G. Influence of clay minerals on microorganisms. III. Effect of particle size, cation exchange capacity and surfance area on bacteria // Canad. J. Microbiol. – 1966. – V. 12(6). – P.1235-1246.
489. Stotzky G., Rem L.T. Influence of Clay Minerals on Microorganiscnes. I Montmorillonite and Kaolinite on Bacteria // Canad. J. Microbiol. – 1966. – V.12 (3). – P.547-564.
490. Stotzky G., Rem L.T. Influence of clay minerals on microorganisms. IV Montmorillonite and kaolinite on funge // Canad. J. Microbiol. – 1967. – V. 13 (11). – P.1535-1550.
491. Stotzky G., Schenck S. Volatile organic compounds and microorganisms // CRC Crit. Revs. Microbiol. – 1976. – V. 4(4). – P. 333-382.
492. Straube W. L., Deming J. W. et al. // Applied and Enviromental Microbiology. – 1990. – V. 56(5). – P. 1440-1447.

493. Tabbjebakhche N., Nasari A.A. A persistance de Salmonella abortus ovis dans le sol // Rev. et med. Vet. pays trop. – 1974. – V.27 (1). – P.57-59.
494. Takai S., Orii F., Yasuda K. et al. Isolation of Listeria monocytogenes from rew milk and its enviroment at dairy farm in Japan // Microbiol. and Immunol. – 1990. – V. 34(7). – P. 631-534.
495. Tanihara K., Sejama T. Flocculation treatment of waste water containing montmorillonite. 6 Selting behavior of flocculated bentonite suspension in presence of inorganic electelyte // Nip. Kag. Kai. – 1978. – V.4. – P.495-504.
496. Tsuchiya T., Rosen B.P. Characterization of an active transport system of calcium in inverted merrbrane vesicles of E. coli // J. Biol. Chem. – 1975. – V.250. – P.7687-7692.
497. Tyrrell E.A., Mc Donald R.E., Gerharst P. Biphasic system for growing bacteria in concentrated culture. // J. Bacteriol. – 1958. – V.75 (1). – P.1-4.
498. Veiss L., Seelicer H. Incidence of Listeria monocytogenes in Nature // Appl. Microbiol. – 1975. – V.30. – P.29-32.
499. Visser S.A., Caillier M. Observations on the Dispersion and Aggregation of clays by Humic Substances. I Dispersive Effects of Humic Acids // Geoderma. – 1988. – V.42. – P. 331-337.
500. Waksman S. A. The role of antibiotics in nature // Perspect. Biol. Med. – 1961. – V. 4. - P. 271-288.
501. Watkins J., Sleath K. P. Isolation and enumeration of Listeria monocytogenes from sewege, sewege sluge and river water // J. Appl. Bacteriol. – 1981. – V. 50. – P. 655-657.
502. Webb W. The mechanism of acquired resistance to Co^{2+} and Ni^{2+} in gram-positive and gram-negative bacteria // Bioch. Biophys. Acta. – 1970. – V.222. – P.440-446.
503. Weinberg S.R., Stotzky G. Effect of clay minerals on growth conjugation and genetic recombination of E.coli in soil // X Int. Congr. Microbiol. Abstr. – 1970. – P.5.

504. Weiss J., Seeliger H. Incidence of *Listeria monocytogenes* in nature // *Appl. Microbiol.* – 1975. – V. 30(1). – P. 29-32.
505. Welsimer H. J. The genus *Listeria* and related organisms // *The Prokaryotes. A Handbook on Habitats, Isolations and Identification of Bacteria.* – New York: Springer-Verlang, 1981. – P. 1680-1687.
506. Włodarczyk T. Dynamika wzrostu mikroorganizmów na powierzchni kaolinitu. // *Arch. Ochr. Środow.* – 1980. – V. 3-4. – P.183-186.
507. Woodet L., Wodbine M. Low temperature virulence of *L. monocytogenes* in the avian embryo // *Zbl. Bakt. Hyg. S. Abt. Orig. A.* – 1979. – Vol. 243, № 1. – P. 74-81.
508. Yamieson Y.P. GLC identification techniques for long-chain unsaturated fatty acids // *J. Chromatog. Sci.* – 1975. – V.13 (10). – P.491-497.

Научное издание

Бузолева Любовь Степановна

Сидоренко Марина Леонидовна

**АДАПТАЦИЯ ПАТОГЕННЫХ БАКТЕРИЙ К АБИОТИЧЕСКИМ И
БИОТИЧЕСКИМ ФАКТОРАМ ПОЧВ**

Утверждено к печати

Ученым советом Биолого-почвенного института ДВО РАН

Ученым советом НИИ ЭМ им. Г.П. Сомова СО РАМН

Кафедрой биохимии, микробиологии и биотехнологии ШЕН ДВФУ