

Применение додецилсульфата натрия для усиления эффективности десорбции клеток при количественном учете почвенных бактерий.

Научный руководитель – Горовцов Андрей Владимирович

Дагалдьян А.С.¹, Костюк Е.А.², Сасина У.А.³

1 - Южный федеральный университет, Академия биологии и биотехнологии им. Дмитрия Иосифовича Ивановского, Кафедра биохимии и микробиологии, Ростов-на-Дону, Россия, *E-mail: dagaldian@sfnu.ru*; 2 - Южный федеральный университет, Академия биологии и биотехнологии им. Дмитрия Иосифовича Ивановского, Кафедра биохимии и микробиологии, Ростов-на-Дону, Россия, *E-mail: elisk0s@yandex.ru*; 3 - Южный федеральный университет, Академия биологии и биотехнологии им. Дмитрия Иосифовича Ивановского, Кафедра биохимии и микробиологии, Ростов-на-Дону, Россия, *E-mail: ulya.sasina@bk.ru*

Для решения многих микробиологических задач используется метод количественного учёта культивируемых микроорганизмов. В почве, как и в других природных средах, микроорганизмы формируют биоплёнки, которые обеспечивают их прикрепление к поверхности субстрата [1]. Отделить клетки от почвенных частиц позволяют различные методы десорбции. Количественный учет, а также выделение чистых культур бактерий требует поиска таких методик, которые позволяют эффективно отделять клетки при сохранении их выживаемости. В данном исследовании использовался химический способ десорбции, применявшийся детергент — додецилсульфат натрия (SDS).

Целью данного исследования было определить оптимальную концентрацию SDS, при которой обеспечивается максимальная эффективность десорбции при сохранении жизнеспособности клеток, что в дальнейшем может упростить количественный учёт и выделение чистых культур.

Для проведения исследования были отобраны образцы чернозема обыкновенного карбонатного на территории Щепкинского заказника (Ростовская область). Навеска почвы растиралась резиновым пестиком до гомогенного состояния в соотношении 10 г на 100 мл. Для разведения использовалась стерильная водопроводная вода с добавлением 0% (контроль), 0,005%, 0,01%, 0,02%, 0,03%, 0,05% додецилсульфата натрия (SDS). После растирания колбы помещались на шейкер на 30 мин при 250 об/мин, а затем использовались для приготовления серийных разведений. Посев производился из разведения 1:10000 на питательный агар-ГРМ с добавлением 0,5% дрожжевого экстракта. Перед посевом в среду вносили раствор нистатина для предотвращения роста дрожжевых и плесневых грибов. После инкубации в течение 7 суток производился количественный учёт выросших колоний. Данные учета представлены на Рис.1.

Как следует из данных диаграммы, наибольшее количество колоний было получено на концентрации в 0,01% (на 45,7% выше по сравнению с контролем). Повышение концентрации SDS до 0,02, 0,03 и 0,05% приводило к статистически достоверному снижению численности выросших колоний на 23,3%, 23,4%, 34,4% соответственно. Это связано с нарушением целостности мембран и гибелью части клеток бактерий. Таким образом, оптимальной концентрацией детергента для повышения эффективности десорбции клеток при количественном учете почвенных бактерий можно считать 0,01%. При данной концентрации детергента не происходит снижения жизнеспособности почвенных микроорганизмов при статистическом значимом увеличении численности учитываемых культивируемых бактерий.

Исследование выполнено в лаборатории «Здоровье почв» Южного федерального университета при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, соглашение № 075-15-2022-1122.

Источники и литература

- 1) Зорина А.С. биопленки нитрилгидролизующих бактерий *Alcaligenes faecalis* 2 и *Rhodococcus ruber* gt 1 в процессах трансформации нитрилов и амидов карбоновых кислот // Дис.канд.биол. наук. - Пермь, 2020. - 153 с.

Иллюстрации

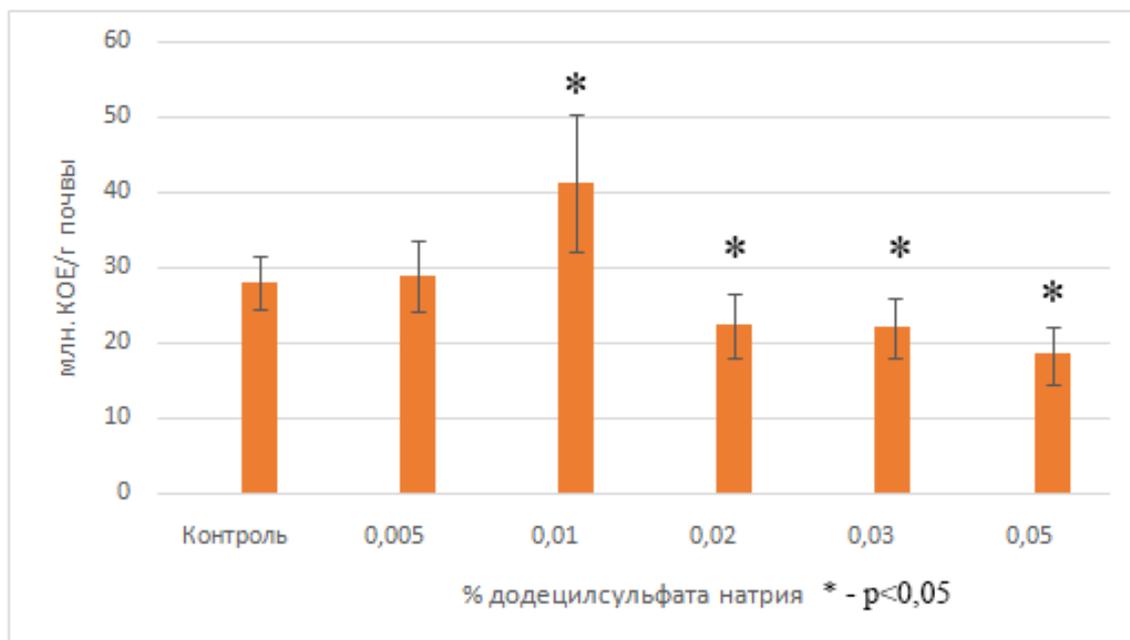


Рис. : 1