

ВИЯВЛЕННЯ ЖИВИХ КЛІТИН *E.coli* ПРИ КУЛЬТИВУВАННІ НА СКОНСТРУЙОВАНОМУ ПОЖИВНОМУ ІДИКАТОРНОМУ СЕРЕДОВИЩІ ВС

О. І. ГОРДІЄНКО, ст. наук. співробітник

Використання поживного індикаторного середовища ВС при культивуванні клітин *E.coli* дає змогу збільшити швидкість росту біомаси, скоротити час візуального контролю росту, зменшити початкову концентрацію живих клітин у посівному матеріалі.

Ключові слова: *живі клітини, поживні середовища, культивування, посівний матеріал.*

Культивування мікроорганізмів передбачає асиміляцію клітинами речовин з поживних середовищ. За метаболічним процесом мікроорганізми поділяються на кислотоутворювальні та лугоутворювальні. Збалансований вміст поживних речовин у середовищі культивування впливає на ріст біомаси та швидкість збільшення живих клітин [1, 2].

Кількісно-якісний баланс речовин у поживному середовищі досягається завдяки оптимізації якісного підбору складових та їх кількісного співвідношення між собою. Додавання до поживного середовища індикаторів дає змогу візуально спостерігати присутність живих клітин за зміною кольору індикатора при культивуванні мікроорганізмів [3, 4]. Індикатор червоний-нейтральний в середовищі з нейтральним рН має червоний колір і не має негативного впливу на хемотаксис бактеріальних клітин [5].

Мета: розробити та сконструювати поживне індикаторне середовище з оптимізованими параметрами кількісно-якісного складу, яке за своїми характеристиками дасть змогу використовувати його при візуальному контролі

ростових властивостей клітин різних мікроорганізмів при скороченому терміні накопичення біомаси.

Матеріали та методика досліджень. Нами було сконструйоване універсальне поживне індикаторне середовище ВС, складовими якого були солодове молоко, одержане з пророщеного зерна пшениці; амінокислотний концентрат, одержаний з панкреатичного гідролізату м'язевої тканини великої рогатої худоби та індикатор червоний-нейтральний. Середовище агаризоване додаванням 0,5 % агар-агару. Складові змішували об'ємно-ваговим способом для оптимізації кінцевих концентрацій амінного азоту, цукру, ідикатору червоного-нейтрального та агар-агару. Таке поживне індикаторне середовище мало рН 7,0-7,2 та збалансовані, за основними органогенами, складові, що забезпечувало оптимальну поживність.

Результати дослідження. Поживне індикаторне середовище ВС досліджували в порівнянні з тіогліколевим індикаторним середовищем при культивуванні *E.coli*. Посівна доза добової суспензії *E.coli* становила $0,1 \text{ см}^3$ клітин з початковою концентрацією 1 млрд. кл./см³. Пробірки (по 10 штук з кожним середовищем) із внесеним посівним матеріалом інкубували в термостаті при температурі 37 °С. За аналогічною методикою проводили дослід, який відрізнявся зменшеною початковою концентрацією клітин *E.coli* в посівному матеріалі до 500 тис. кл./см³. За дослідним матеріалом у пробірках вели візуальні спостереження.

При культивуванні на поживному індикаторному середовищі ВС з початковою концентрацією клітин *E.coli* в посівному матеріалі 1 млрд. кл./см³ спостерігали часткову зміну кольору вже на другу добу дослідження, повну – на третю добу, а на тіогліколевому середовищі - на 10 добу. При культивуванні *E.coli* з початковою концентрацією 500 тис. кл./см³ на поживному індикаторному середовищі ВС часткову зміну кольору у пробірках з посівним матеріалом відзначали на 10-ту добу, а повну зміну - на 14 добу. При культивуванні клітин *E.coli* з початковою концентрацією посівного матеріалу

500 тис. кл./см³ на тіогліколевому середовищі зміну кольору не спостерігали у пробірках і на 18-ту добу (таблиця 1).

Одержані результати дослідів свідчать про те, що швидкість росту клітин *E.coli* при культивуванні є похідною від складових поживного середовища, а також від початкової концентрації клітин у посівному матеріалі.

Порівняльні результати одержані при культивуванні *E.coli* на поживному індикаторному середовищі ВС та на тіогліколевому середовищі свідчать, що швидкість росту клітин при початковій посівній концентрації 1 млрд. кл./см³ на сконструйованому поживному індикаторному середовищі ВС в 3 рази вище, ніж при використанні тіогліколевого середовища. Збалансований вміст складових поживного індикаторного середовища ВС дає змогу візуально визначити наявність живих клітин *E.coli* у посівному матеріалі при початковій концентрації 500 тис. кл./см³, про що свідчила часткова зміна кольору середовища на 14-ту добу культивування. На тіогліколевому середовищі з аналогічною початковою концентрацією клітин при культивуванні *E.coli* зміни кольору у пробірках не спостерігали і на 18-ту добу.

Використання сконструйованого поживного індикаторного середовища ВС порівняно з тіогліколевим при культивуванні клітин *E.coli* показало можливість його використання для візуального виявлення живих клітин з початковою концентрацією 500 тис. кл./см³.

Завдяки використанню індикаторного поживного середовища ВС, яке має високі поживні властивості і може використовуватись для культивування багатьох видів мікроорганізмів, при культивуванні на ньому *E. coli* O55 нам вдалося збільшити накопичення життєздатних клітин з типовою видовою ознакою. Використання середовища ВС спрощує спостереження за ростом культури мікроорганізмів завдяки присутності в індикаторному середовищі хімічного індикатора червоного нейтрального. Так, при культивуванні *E. coli* O55 на вищезгаданому середовищі життєздатність клітин візуально визначається завдяки зміни кольору про що свідчать метаболічні кислотоутворювальні процеси у живих клітинах (рисунок 1).

Результати досліджень свідчать про те, що сконструйоване поживне індикаторне середовище ВС можна використовувати як експрес-метод для візуального виявлення живих клітин *E.coli* в посівному матеріалі з незначною концентрацією живих клітин.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Ветеринарная микробиология и иммунология; под ред. Н. А. Радчука – М.: ВО «Агропромиздат», 1991 – С. 14-24, 35-54.
2. Микробиология / В. А. Благовещенский, В. М. Кушнарв – М.: Агопромиздат, 1963, – 50 с.
3. Микробиология / В. Т. Емцев, Е. Н. Мишустин – М.: Агопромиздат, 1987 375 с.
4. Методы общей бактериологии под редакцией Ф. Герхарда и др. Перевод с англ. Под ред. чл.-корр. АН СССР Е. Н. Кондратьевой и проф. Л. В. Калакуцкого – М.: Мир, 1983. – 216 с.
5. Приклад. Биохимия. Микробиология / В. А Кудрявцев, А. И. Осадчая, Л. А. Сафронова и др.– 1997.– Т. 33. – № 3. – С. 321 – 324.

ВЫЯВЛЕНИЕ ЖИВЫХ КЛЕТОК *E.coli* ПРИ КУЛЬТИВИРОВАНИИ НА СКОНСТРУИРОВАННОЙ ПИТАТЕЛЬНОЙ ИНДИКАТОРНОЙ СРЕДЕ ВС

О. И. Гордиенко

Использование питательной индикаторной среды ВС при культивировании клеток *E.coli* даёт возможность ускорить рост, упростить визуальный контроль роста клеток, уменьшить начальную концентрацию живых клеток в посевном материале.

Ключевые слова: *живые клетки, питательная среда, культивирование.*

**CELL CULTIVATION E.coli IN SOWING MATERIAL THE USAGE
OF NUTRITIVE INDICATOR MEDIUM BC.**

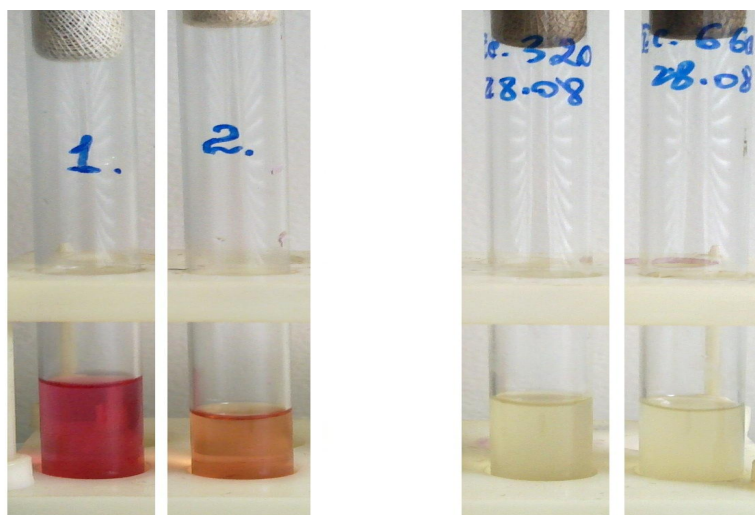
Gordienko O.

During cell cultivation E.coli the usage of nutritive indicator BC gives opportunity to increase growth rate, short visual control of growth, and decrease initial live cell concentration in sowing material during control.

Key words: *during cell, cultivation, nutritive medium/*

Порівняльна динаміка росту клітин *E.coli*

№ з/ч	Доба спостереження	Ріст клітин <i>E.coli</i> за зміною кольору поживного середовища			
		Концентрація клітин 1 млрд./см ³		Концентрація клітин 500 тис./см ³	
		Поживне інд. середовище ВС	Тіогліколове середовище	Поживне інд. середовище ВС	Тіогліколове середовище
1	Перша	Часткова	Без змін	Без змін	Без змін
2	Друга	Часткова	Без змін	Без змін	Без змін
3	Третя	Зміна	Без змін	Без змін	Без змін
4	Четверта		Без змін	Без змін	Без змін
5	П'ята		Без змін	Без змін	Без змін
6	Шоста		Без змін	Без змін	Без змін
7	Сьома		Без змін	Без змін	Без змін
8	Восьма		Без змін	Без змін	Без змін
9	Дев'ята		Часткова зміна	Без змін	Без змін
10	Десята		Зміна	Часткова зміна	Без змін
11	Одинадцята			Часткова зміна	Без змін
12	Дванадцята			Часткова зміна	Без змін
13	Тринадцята			Часткова зміна	Без змін
14	Чотирнадцята			Зміна	Без змін
15	П'ятнадцята				Без змін
16	Шіснадцята				Без змін
17	Сімнадцята				Без змін
18	Вісімнадцята				Без змін



контроль 1 доба
 культивування культивування

3 доба 4 доба
культивування культивування

Рис. 1 Характер відновленої культури *E. coli* O55 на індикаторному поживному середовищі ВС (посівна доза – 1 млрд. кл./см³)