

УДК: 579:576.6;616-003.215

Б.Б. Калдарбекова, У.Т. Арыкпаева, К.Х. Алмагамбетов, К.А. Динкаева, А.С. Махатова,
А.А. Ескараева, Р.К. Ергебаева
РГП «Республиканская коллекция микроорганизмов», г. Астана, Казахстан
*e-mail: rcmkz@list.ru

Использование адсорбентов для контактно-сорбционного обезвоживания микроорганизмов при хранении субкультур коллекционных штаммов

Были разработаны и испытаны 6 вариантов контактно-сорбционного метода, все они показали эффективность их применения, которое оценивалось с учетом максимального показателя жизнеспособности. В качестве сорбента были взяты отечественные препараты Тагансорбент с ионами серебра, Алтай сорбент (ТОО «Сорбент», г. Усть-Каменогорск, РК). Также были отобраны наиболее доступные, простые в использовании и менее затратные варианты закладки на хранение контактно – сорбционным методом.

Ключевые слова: Коллекция, контактно-сорбционный метод, сорбенты, микроорганизмы различной таксономической группы, жизнеспособность, хранение, лиофилизация, криоконсервация, субкультивирование, биологическая активность.

У.Т. Арыкпаева, К.Х. Элмагамбетов, Б.Б. Қалдарбекова, К.А. Динкаева, А.С. Махатова,
А.А. Ескараева, Р.К. Ергебаева

Коллекциялық штамдар субкультураларын микроорганизмдерді сорбентті-байланыстыру әдісі бойынша құрғатуда адсорбенттерді қолдану

Бұл жұмыс барысында сорбентті – байланыс әдісінің 6 – нұсқасы зерттелді, олардың барлығы қолдануда тиімді, микроорганизмдердің өмірсіз мүмкіндігі жоғары екендігін көрсетті. Сорбенттер ретінде отандық препараттар, күміс ионды Таган сорбенті және Алтай сорбенті (АОҚ «Сорбент», Өскемен қ. ҚР) алынды. Сонымен қатар қолдануға тиімді, қарапайым, аз шығынды нұсқалар таңдалып алынып сақтауға жіберілді.

Түйін сөздер: Коллекция, сорбентті-байланысу әдісі, сорбенттер, әр-түрлі токсологиялық топтарға жататын микроорганизмдер, тіршілік мүмкіндігі, сақтау, лиофилизация, криоконсервация, субдақылдау, биологиялық белсенділік.

U.T. Arykpaeva, K.H. Almagambetov, B.B. Kaldarbekova, K.A. Dinkayeva, A.S. Makhatova,
A.A. Eskarayeva, R. Yergebaeva

Use of adsorbents for contact-sorption dehydration of microorganisms when stored subcultures collection strains

6 variants of contact-sorption method was developed and tested. The effectiveness of their application, which was estimated considering the maximum rate of viability, has been shown. Sorbents of domestic origin such as Tagansorbent with silver ions and Altaysorbent (Corporation "Sorbent", town of Ust-Kamenogorsk, Republic of Kazakhstan) were used. The most accessible, simple in use and less costly variants of storage of microorganisms using contact-sorption method were selected.

Keywords: Collection, contact – sorption method, sorbents, microorganisms of various taxonomical group, viability, storage, liofilization, kriokonservation, subcultivation, biological activity.

Длительное хранение клеток без утраты ценных свойств проводится методами, обеспечивающими существенное торможение протекающих у них жизненных процессов. Это достигается путем глубокого замораживания микроорганизмов или их высушивания из замороженного (лиофилизация) либо непосредственно из жидкого состояния (*L* высушивание). Известно, что при длительном хранении культур микроорганизмов в музейных условиях, отличающихся от

природных и производственных, некоторые свойства коллекционных культур ослабевают или даже утрачиваются [1-2].

Одно из решений существующей проблемы по эффективному сохранению и развитию ресурсов промышленных коллекций заключается во внедрении методов хранения ценных культур современными технологиями с использованием субкультивирования контактно-сорбционным методом на различных носителях.

Материалы и методы

Объекты исследования: коллекционные культуры: бактерий, дрожжей, мицелиальных грибов, бацилл, лактобактерий, различные сорбенты отечественного производства.

Методы исследования: Микробиологические методы

Оценка жизнеспособности и культурально-морфологических свойств микроорганизмов различных таксономических групп коллекции заложенных, на хранение субкультивированием контактно-сорбционным методом разведение [3-4].

Культуральные признаки изучали на плотных и жидких питательных средах. Инкубировали в зависимости от таксономической группы при оптимальной температуре до 2-7 суток. Описание характера роста на жидких питательных средах оценивали по следующим признакам: 1) наличие пристеночного кольца, 2) наличие, характер, толщина поверхностной пленки, 3) характер и интенсивность мути, 4) цвет, структура, количество осадка.

Оценка показателя жизнеспособности культур микроорганизмов методом Miles&Misra и определение количества жизнеспособных клеток культуры методом последовательных посевов [5-6].

Результаты и обсуждение

Нами были испытаны 6 вариантов контактно-сорбционного метода, все они

показали эффективность их применения, которое оценивалось с учетом максимального показателя жизнеспособности. В качестве сорбента брали отечественные препараты Тагансорбент с ионами серебра, Алтай сорбент (ТОО «Сорбент», г. Усть-Каменогорск, РК) на первом этапе хранения.

1. В ходе работы установлено, что показатель жизнеспособности стабилен при хранении во всех шести вариантах. Поэтому нами был проведен сравнительный анализ этапов подготовки каждого варианта с учетом доступности, просты в использовании и менее затратных вариантов закладки на хранение контактно-сорбционным методом.

2. По результатам сравнительных анализ этапов подготовки каждого варианта с учетом доступности, просты в использовании и менее затратных вариантов закладки на хранение контактно-сорбционным методом на адсорбентах и отобраны для дальнейших исследований 3-ий и 6-ой варианты.

Микроскопия препаратов, приготовленных из коллекционных микроорганизмов различных таксономических групп, заложенных на хранения контактно-сорбционным методом с использованием Таган и Алтай сорбентов на 3-ем и 6-ом вариантах КСО показало полное соответствие морфологии клеток исходным данным до закладки на хранение и паспортным данным по этому признаку.

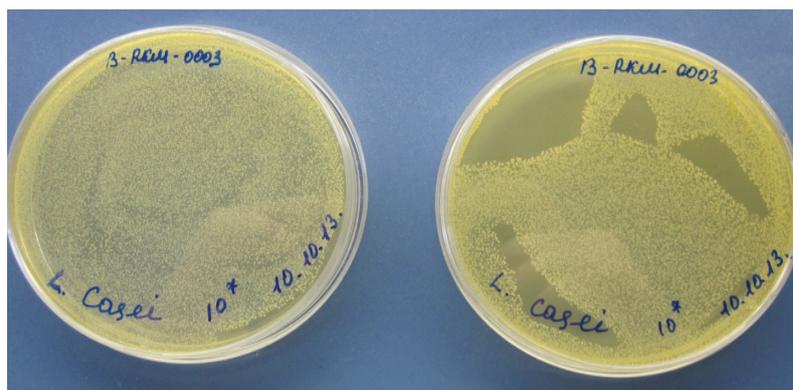


Рисунок – *Lactobacillus casei* M RKM 0003 через 3 месяца хранения с использованием Таган и Алтай сорбентов после реактивации и титрования

Была определена эффективность хранения микроорганизмов контактно-сорбционным методом через 3 месяца с их количественной оценкой ЖСП по методу Miles&Misra и

методом последовательных посевов, контролем количественной оценки служил качественный показатель высевы штамма после реактивации (таблица 1). Окончательный

вариант реактивации после консервации методом КСО включает: введение в пробирки с испытуемым штаммом физиологического раствора с последующим высевом 0,1 мл

содержимого на соответствующую данному микроорганизму плотную питательную среду (рисунок).

Таблица 1 – Количественная характеристика микроорганизмов через 3 месяца хранения на 3- 6 ом вариантах с использованием Таган и Алтай сорбентов

Таксономическая группа	Количество клеток 10^8 степени разведений после консервации	Количество клеток 10^9 степени разведений после консервации	Количество клеток после консервации, $M \pm m$	
			Степень разведений – 10^8	Степень разведений – 10^9
Бактерии (таган сорбент) ТС	от 1,8 до 5,2	от 0,8 до 2,2	$3,5 \pm 0,7$	$3,4 \pm 0,7$
Бактерии (алтай сорбент) АС	от 2,2 до 5,6	от 1,8 до 3,8	$4,2 \pm 0,6$	$2,5 \pm 0,6$
Дрожжи (ТС)	от 2,8 до 5,4	от 2,2 до 4,2	$3,9 \pm 0,6$	$3,5 \pm 0,5$
Дрожжи (АС)	от 4,4 до 6,6	от 3,8 до 5,2	$5 \pm 0,6$	$3,7 \pm 0,5$
Грибы (ТС)	от 7,4 до 8,6	от 1,4 до 5,8	$5 \pm 0,7$	$3,3 \pm 0,7$
Грибы (АС)	от 4,6 до 8,2	от 2,8 до 4,4	$4,8 \pm 0,8$	$3,8 \pm 0,6$

Результаты количественной и качественной оценки эффективности хранения коллекционных микроорганизмов различных таксономических групп контактно-сорбционным методом с использованием Таган сорбента и Алтай сорбента через 3 месяца и их культурально-морфологической характеристики и анализ литературы по данной проблеме позволили нам сделать некоторые обоснования и требования при использовании данного метода.

Сущность метода КСО заключается в обезвоживании микроорганизмов при контакте с сорбентом влаги, в результате чего микроорганизмы теряют воду и метаболические процессы резко замедляются.

Таким образом, контактно-сорбционный метод, не требующий специального оборудования, значительных физических и экономических затрат позволяет

консервировать и длительно сохранять различные группы микроорганизмов без потери ими своих основных биологических свойств.

В ходе работы было установлено, что показатель жизнеспособности стабилен при хранении во всех шести вариантах контактно-сорбционного метода. Поэтому нами был проведен сравнительный анализ этапов подготовки каждого варианта с учетом доступности, просты в использовании и менее затратных вариантов закладки на хранение контактно-сорбционным методом и отобраны для дальнейших исследований 3-ий и 6-ой варианты.

КСО с использованием Таган сорбента и Алтай сорбента позволяет консервировать и сохранять различные группы микроорганизмов без потери ими своих основных биологических свойств (морфологических и культуральных, изученные нами через 3 месяца хранения).

Литература

- 1 Лозина-Лозинский Л.К. Адаптация и устойчивость организмов и клеток к низким и сверхнизким температурам // Очерки по криобиологии – Л.: Наука, 1972. – 288 с.
- 2 Maintenance of microorganisms. A manual of laboratory methods // ed. by B. Kirsop, J. Snell. – L.: Acad. Press, 1984. – 207 p.
- 3 Porter J.N. Cultural conditions for antibiotic-producing microorganisms // Methods in enzymology. – N.Y.: Acad. Press, 1975. – V. 43: Antibiotics. – P. 3–23.
- 4 Smith D. The preservation and maintenance of living fungi / D. Smith, A. H. S. Onions. Kew (Richmond); Surrey (England): Commonwealth Mycol. Inst. Publ., 1983. – 51 p.
- 5 Бекер М.Е., Рапопорт А.И., Калакуцкий Л.В. Торможение жизнедеятельности клеток // – Рига: Зинатне, 1987. – 240 с.
- 6 Бузолева Л. С. Некультивируемые формы бактерий *Yersinia pseudotuberculosis* при периодическом культивировании // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2000. – Т. 129. – № 4. – С. 444–447.