

## Образование жизнеспособных некультивируемых клеток *P. aeruginosa* при трофическом и осмотическом стрессах

Научный руководитель – Блинкова Лариса Петровна

*Коровенкова Нина Васильевна*

*Студент (бакалавр)*

Московский государственный университет пищевых производств, Москва, Россия

*E-mail: n.korovenkova@yandex.ru*

**Ключевые слова:** стресс, ЖНК, искусственная морская вода, лизогенные, нелизогенные, *Pseudomonas aeruginosa*.

Неблагоприятные условия, такие как голодание, изменение температуры, и др. вызывают у неспорообразующих микроорганизмов снижение активности метаболизма и временную потерю способности к делению, в результате чего бактерии образуют жизнеспособные некультивируемые клетки (ЖНК), способные к длительному переживанию стресса, и под действием ряда факторов возвращающиеся к исходному состоянию [1-4]. ЖНК не выявляются на традиционных средах, что дает ложноотрицательные результаты оценки загрязнения продуктов питания, объектов среды и др.

**Методика:** выращенные на питательном бульоне при 37°C 24-часовые посевные культуры *P. aeruginosa* с профагом G101 (ph<sup>+</sup>) и без него (ph<sup>-</sup>) вносили в 3% искусственную морскую воду (трофический стресс), дополненную до 4 и 5% NaCl (осмотический стресс) и инкубировали в течение 9 месяцев при 20-22°C. В камере Горяева/Тома считали общее число бактерий, в люминесцентном микроскопе «Opton» живые/мертвые клетки, окрашенные красителем Live/Dead, определяли количество КОЕ/мл.

**Результаты и обсуждение:** мониторинг основных показателей популяций в условиях длительного стресса показал, что нелизогенные (ph<sup>-</sup>) клетки *P. aeruginosa* образуют большее количество ЖНК по сравнению с лизогенными (ph<sup>+</sup>). В морской воде, содержащей 4% или 5% NaCl, на 116 сутки обнаружено 74% против 55% ЖНК или 52% против 42%. Отметим, что при 4% концентрации NaCl на 48 сутки у (ph<sup>-</sup>) выявлено 95% ЖНК по сравнению с 35% ЖНК у (ph<sup>+</sup>). Аналогичная количественная тенденция зафиксирована на 48 сутки при содержании в морской воде 5% NaCl- 65% у (ph<sup>-</sup>) и 40% у (ph<sup>+</sup>) с увеличением до 75% (ph<sup>-</sup>) и 43% у (ph<sup>+</sup>) на 69 сутки. Колебание показателей, возможно, связано с лизисом клеток, являющихся дополнительным субстратом, индуцирующим увеличение количества КОЕ/мл в результате реверсии клеток в вегетативное состояние.

**Выводы:** таким образом, в условиях трофического и осмотического стресса (ph<sup>-</sup>) штамм, формируя больше ЖНК, имеет преимущество при выживании. Доказано, что культуральные особенности сохранения жизнеспособности и образования ЖНК в популяциях псевдомонад зависят не только от стрессовых условий (количественного уровня основного осмотического фактора в морской воде), но и от присутствия профага в бактериях.

### Источники и литература

- 1) Блинкова Л.П., Пахомов Ю.Д., Стоянова Л.Г. Свойства некультивируемых и покоящихся форм микроорганизмов. Иммунопатология, аллергология, инфектология, 2010, №3, с. 67-76.
- 2) Blinkova L., Pakhomov Yu., Stoyanova L. Detection of viable and dead bacteria by flow cytometry and luminescence microscopy. "How dead id dead?" Proceedings of the "5th conference on exploring the edge of bacterial life". Vienna, 2017, p. 37.

- 3) Kimata, N., T. Nishino, S. Suzuki, and K. Kogure. *Pseudomonas aeruginosa* isolated from marine environments in Tokyo Bay. *Microb. Ecol.* 2004. p. 41–47.
- 4) Oliver J.D. The viable but nonculturable bacteria. *J. Microbiol.* 2005 vol. 2. p. 93-100.