

**Влияние стрессовых факторов на формирование биопленок бактериями
*Bacillus subtilis*****Научный руководитель – Рудакова Наталья Леонидовна*****Ахметова Гульназ Римовна****Студент (бакалавр)*Казанский (Приволжский) федеральный университет, Институт фундаментальной
медицины и биологии, Кафедра микробиологии, Казань, Россия*E-mail: gulnaz55@inbox.ru*

Биопленки являются сложным поверхностно-ассоциированным сообществом бактериальных клеток. Структура биопленки позволяет бактериям приобретать устойчивость к различным стрессовым факторам, тем самым обеспечивая выживание в экстремальных условиях, а так же колонизацию недоступных поверхностей, как естественных, так и искусственных [1]. В изучении формирования биопленок активно используют непатогенные грамположительные бактерии рода *Bacillus*, способные образовывать устойчивые структуры на различных средах [2].

Материалы и методы. Для оценки влияния стрессовых факторов на образование биопленок различными штаммами *B. subtilis* использовали 96% этанол, в конечных концентрациях 5% и 7%, высокую концентрацию NaCl, ЭДТА, в конечных концентрациях 1, 2 и 5 мМ, а также ионы двухвалентных металлов Ca²⁺, Mn²⁺, Mg²⁺ и Zn²⁺ в конечных концентрациях 2, 3, 5, 10 и 15 мМ. Штамм *B. subtilis 168* является немодифицированным природным изолятом, а в геноме штамма *B. subtilis BRB14* deletированы 11 экзопротеаз. Штаммы выращивали на жидкой среде в круглодонных 96-луночных планшетах при температуре 37 °С в течении 48 часов без качания.

Результаты. Внесение 5% этанола в среду культивирования штамма *168* вызывало снижение уровня образования биопленок на 25% к 48-му часу роста, при концентрации 7,5% до 40% уже на 12-й час роста культуры. Для штамма *BRB14* показатели в обоих случаях не превысили 35%. NaCl в концентрации 1М приводит к снижению образования биопленок у штамма *168* на 50% к 36-му часу, при этом снижение уровня образования биопленок штаммом *BRB14* не превышало 17%. При внесении ионов Ca²⁺ в концентрации до 5 мМ у штаммов *168* и *BRB14* на 36 час роста уровень образования биопленки повышался до 25%, но с увеличением концентрации ионов Ca²⁺ до 15 мМ формирование биопленок ингибировалось до 35%. Аналогичные данные получены при внесении в среду ионов Mn²⁺, присутствие которых необходимо в начале созревания биопленки. Отсутствие выраженного ингибирования при внесении ионов Ca²⁺ и Mn²⁺ указывает на их нетоксичность в отношении формирования биопленок. Ионы Mg²⁺ в среде культивирования в концентрациях 2-5 мМ способствуют образованию биопленки у *B. subtilis 168* на ранних стадиях ее формирования, а повышение концентрации соли в среде до 15 мМ показатели снизились до 60%. Для штамма *BRB14* ионы Mg²⁺ до 36 часа не оказывали влияния на образование биопленок. Ионы Zn²⁺ в спектре концентраций 2 и 3 мМ не влияли на образование биопленок у штамма *168* на 12 и 24 часы роста, но при повышении концентрации от 5 мМ и выше наблюдается снижение роста биопленок до 70% в течение всего периода роста культуры. У штамма *BRB14* показатели снизились только с 36 часа роста во всем спектре концентраций. При внесении ЭДТА в конечной концентрации 1, 2 и 5 мМ у *B. subtilis 168* к 48 часу наблюдалось ингибирование формирования биопленок более чем на 50% обоими штаммами. Вероятно, ЭДТА как сильный хелатирующий

агент инактивирует металлзависимые ферменты, участвующие в формировании биопленок при переходе из стационарной фазы роста культуры. Работа выполнена в рамках государственной программы повышения конкурентоспособности Казанского (Приволжского) федерального университета среди ведущих мировых научно-образовательных центров.

Источники и литература

- 1) Cairns L.S., Hogley L., Stanley-Wall N.R. Biofilm formation by *Bacillus subtilis*: new insights into regulatory strategies and assembly mechanisms // *Mol Microbiol.* 2014. V.93. P. 587-598.
- 2) Branda S.S., González-Pastor J.E., Ben-Yehuda S., Losick R., Kolter R. Fruiting body formation by *Bacillus subtilis* // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2001. V.98. P. 11621-11626.