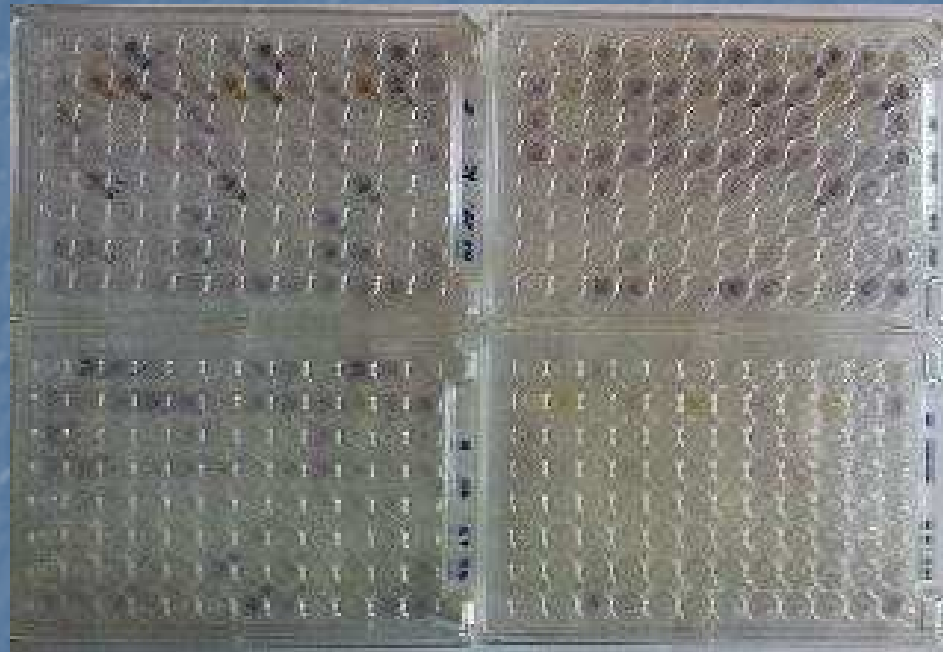


Mikrobaközösség szubsztrát- hasznosításának jellemzése Biolog Ecoplate™ teszttel



Készítette: Nagy Zsuzsanna

Bevezetés

A talajban milliárdnyi mikroorganizmus él, szoros együttműködésben. A mikrobaközösségeket több mikroorganizmus faj alkotja. Ezeknek a fajoknak az egymáshoz viszonyított aránya (a fajeloszlás) megváltozhat a körülményektől (hőmérséklet, nedvességtartalom, oxigénellátottság, stb.), a talaj tápanyagtartalmától, a talajban lévő szennyezőanyagoktól függően. Ezeket a változásokat követhetjük a Biolog-rendszerrel.

A Biolog mikrolemezek leírása

A Biolog mikrolemezek mind a 31 cellájába eltérő mikrobiális tápanyagot (szubsztrát) és tetrazólium-vörös indikátort helyeznek el a lemez gyártásakor. A környezetből származó és előkészített talaj- vagy vízminták cellákba bemérése után a lemezeket termosztátba helyezzük, hogy a talajban vagy a vízben lévő mikroorganizmusok jól tudjanak működni és szaporodni. A szaporodás során a cellákban működő mikroorganizmusok vagy fel tudják használni a cellába tett tápanyagot, vagy nem. Ezt színváltozás jelzi. Így különböző anyagcsere mintázatok alakulnak ki, melyek lehetővé teszik a mikrobaközösségek gyors jellemzését. A tesztben mérhető színváltozást a tetrazólium-vörös indikátor redukciója szolgáltatja. Az indikátor elszíneződését a mikrobák légzése következtében keletkezett NADH váltja ki.

A vizsgált szubsztrátok elhelyezkedése a Biolog EcoPlate™ mikrolemezen

A1 víz	A2 β-metil-D-glükózid	A3 D-galaktonsav-γ-lakton	A4 L-arginin	A5 víz	A6 β-metil-D-glükózid	A7 D-galaktonsav-γ-lakton	A8 L-arginin	A9 víz	A10 β-metil-D-glükózid	A11 D-galaktonsav-γ-lakton	A12 L-arginin
B1 piruvát-sav metil-észter	B2 D-xilóz	B3 D-galakturonsav	B4 L-aszparagin	B5 piruvát-sav metil-észter	B6 D-xilóz	B7 D-galakturonsav	B8 L-aszparagin	B9 piruvát-sav metil-észter	B10 D-xilóz	B11 D-galakturonsav	B12 L-aszparagin
C1 Tween 40	C2 i-eritritol	C3 2-hidroxi-benzoe-sav	C4 L-fenilalanin	C5 Tween 40	C6 i-eritritol	C7 2-hidroxi-benzoe-sav	C8 L-fenilalanin	C9 Tween 40	C10 i-eritritol	C11 2-hidroxi-benzoe-sav	C12 L-fenilalanin
D1 Tween 80	D2 D-mannitol	D3 4-hidroxi-benzoe-sav	D4 L-szerin	D5 Tween 80	D6 D-mannitol	D7 4-hidroxi-benzoe-sav	D8 L-szerin	D9 Tween 80	D10 D-mannitol	D11 4-hidroxi-benzoe-sav	D12 L-szerin
E1 α-ciklo-dextrin	E2 N-acetil-D-glükózamin	E3 γ-hidroxi-vajsav	E4 L-treonin	E5 α-ciklo-dextrin	E6 N-acetil-D-glükózamin	E7 γ-hidroxi-vajsav	E8 L-treonin	E9 α-ciklo-dextrin	E10 N-acetil-D-glükózamin	E11 γ-hidroxi-vajsav	E12 L-treonin
F1 glikogén	F2 D-glükózaminsav	F3 itakonsav	F4 glicil-L-glutaminsav	F5 glikogén	F6 D-glükózaminsav	F7 itakonsav	F8 glicil-L-glutaminsav	F9 glikogén	F10 D-glükózaminsav	F11 itakonsav	F12 glicil-L-glutaminsav
G1 D-cellobióz	G2 glükóz-1-foszfát	G3 α-ketovajsav	G4 fenil-etilamin	G5 D-cellobióz	G6 glükóz-1-foszfát	G7 α-ketovajsav	G8 fenil-etilamin	G9 D-cellobióz	G10 glükóz-1-foszfát	G11 α-ketovajsav	G12 fenil-etilamin
H1 α-D-laktóz	H2 D,L-α-glicerol-foszfát	H3 D-almasav	H4 putreszcin	H5 α-D-laktóz	H6 D,L-α-glicerol-foszfát	H7 D-almasav	H8 putreszcin	H9 α-D-laktóz	H10 D,L-α-glicerol-foszfát	H11 D-almasav	H12 putreszcin

Talajszuszpenzió készítése

45 ml steril 0,85%-os NaCl oldatot mérünk hozzá 5 g talajhoz egy 100 ml-es mérőedényben, majd 30 percen át rázatjuk.

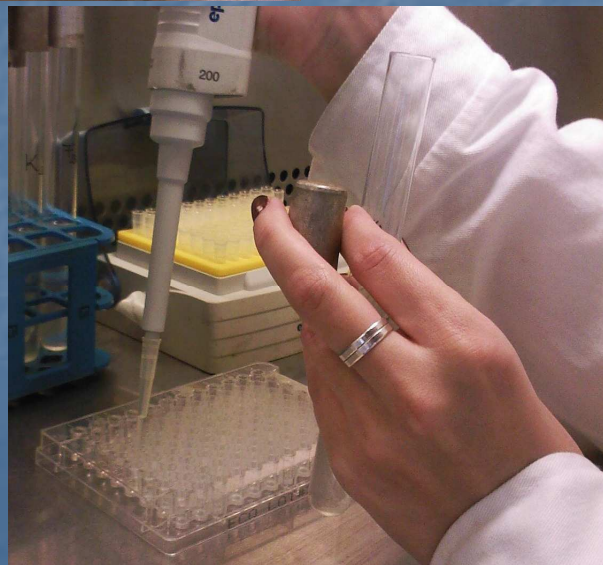
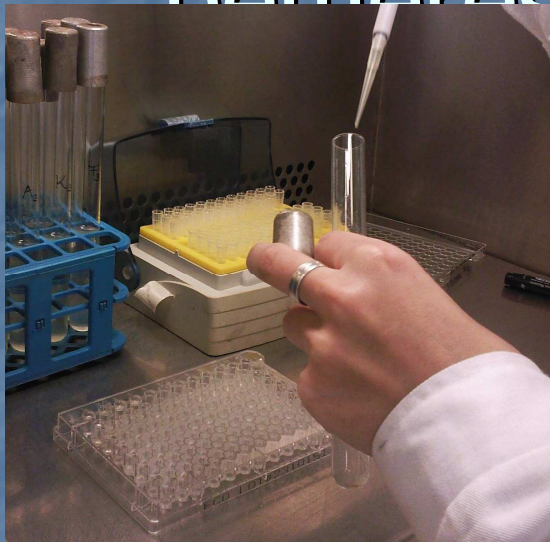


A talajszuszpenzió hígítása

10 perces
ülepedési idő
elteltével 1 ml-t
pipettázunk át 9
ml steril 0,85%-os
NaCl oldatba.



A hígított talajszuszpenzió homórosítása a mikrolemez celláiba



A Biolog mikrolemez kialakítása 3 párhuzamos mérést tesz lehetővé. A hígított szuszpenziókból 125 μ l-t mértünk be az egyes cellákba, majd a módszer fényérzékenysége miatt fóliába csomagolva 25 °C-on inkubáljuk a lemezt.

A cellák színváltozásának mérése

A cellák
színváltozását
Microplate Reader
műszerrel olvassuk
le 24, 48, 72, 96,
120, 144 és 168
óra elteltével.



Kiértékelés

A kiértékelés során a különböző szubsztrátok idő függvényében mért OD adataira görbét illesztünk, majd kiszámoljuk az egyes szubsztrátok görbe alatti területét (T) és a cellák átlagos színfejlődési értékét (AWCD).

Forrás

Biolog Inc. Bacterial Identification
Microbial Identification Phenotype
MicroArray <http://www.biolog.com/>