

Биология

УДК 576.852.24

А. С. АКОПЯН, О. А. ПАНОСЯН, И. Л. БАЗУКЯН

ВЫДЕЛЕНИЕ И ИЗУЧЕНИЕ СВОЙСТВ МОЛОЧНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ
ИЗ ЗАКВАСОК МАЦУНА РАЗЛИЧНЫХ РЕГИОНОВ АРМЕНИИ

Из образцов мацуна, собранных в разных регионах Армении, выделены молочнокислые бактерии, относящиеся к родам *Lactobacillus* и *Streptococcus*. Изучены их биологические свойства и показана высокая антимикробная активность по отношению к грамположительным и грамотрицательным бактериям.

Большое разнообразие эколого-географических условий Армении с ее выраженной вертикальной зональностью способствовало развитию уникальных ассоциаций молочнокислых микроорганизмов в молочных продуктах, среди которых особое значение имеет мацун. На протяжении многих веков армяне готовили богатые белками традиционные кисло-молочные продукты, которые обладают значительной физиологической, в частности антибактериальной и антиоксидантной активностью [1–6]. Поэтому выделение и создание коллекции культур этих микроорганизмов, изучение их биологических свойств и выявление биотехнологического потенциала актуально и открывает новые перспективы для получения разных биопрепаратов.

Материал и методика. Объектами исследования являлись молочнокислые бактерии, выделенные нами из проб мацуна, взятого в мелких крестьянских хозяйствах различных сел на территории Армении. Выделение чистых культур бактерий проводилось на среде МРС [7] при 37 и 45°C для мезофильных и термофильных культур соответственно. Выделение молочнокислых бактерий осуществлялось методом накопительных культур и прямого посева разведенного образца мацуна на питательную среду [7]. Культуры поддерживались путем периодических пересевов на свежие питательные среды и хранились при 4°C.

Определение антибактериальных свойств выделенных чистых культур проводилось методом диффузии в агар с использованием цилиндриков [2]. В качестве тест-организмов брали представителей различных групп микроорганизмов: *Escherichia coli*, *Staphylococcus citreus*, *St. aureus*, *Salmonella typhimurium*, *Bacillus subtilis*, *B. subtilis*, *B. mesentericus*. После 24-часовой инкубации при температуре, оптимальной для развития тест-культуры, измеряли диаметр зоны отсутствия роста.

С целью идентификации молочнокислых бактерий использовали комплекс признаков: культуральных, морфологических, физиологических и биохимических. Тестирование признаков для диагностики культур осуществляли согласно общепринятым методам [8, 9]. Штаммы идентифицировались до вида с помощью диагностических ключей определителя Берги [8, 10] и с учетом характеристик этих бактерий в первоисточниках [2, 3].

Результаты и обсуждение. Зоны ингибирования роста ряда тест-организмов наиболее активными культурами представлены в таблице 1.

Таблица 1

Зоны подавления роста тест-организмов в мм

Тест-организм	№ культуры						
	10.2	28.2	49.1	53.1	54.1	58.5	59.2
<i>E. coli</i>	10	10	14	10	14	12	12
<i>S. citreus</i>	12	16	14	—	10	10	10
<i>S. aureus</i>	—	10	10	10	—	18	9
<i>S. typhimurium</i>	10	12	12	10	12	10	10
<i>B. subtilis</i>	—	10	—	—	—	20	—
<i>B. mesentericus</i>	14	—	18	18	18	22	16

Как видно из таблицы 1, почти все штаммы проявляли антагонистическую активность. Особенно можно отметить культуру 58.5, которая сильно угнетала рост *B. mesentericus*, *S. aureus* и *B. subtilis*. Кроме того, все культуры проявляли антагонизм также против *E. coli* и *S. typhimurium*. Рост грамположительных бактерий угнетался сильнее, чем грамотрицательных.

Целью дальнейших исследований была идентификация отобранных культур. Для определения их таксономического статуса исследовано более 10 диагностически важных культуральных, морфологических, физиологических и биохимических признаков.

Все бактерии представлены неподвижными, не образующими спор прямыми палочками (штаммы 10.2, 28.2, 53.1) или кокками (штаммы 49.1, 54.1, 58.5, 59.2), окрашивающимися по Граму положительно. Размеры лактобацилл варьируют в пределах 0,35–0,9 мкм × 1,26–11,84 мкм. Как лактобациллы, так и стрептококки образуют мелкие, чечевицеобразные или неправильные, гладкие, плоские, тусклые, бесцветные однородные колонии с ровным краем и диаметром 1,5–2 мм.

Культуры различаются по способности к росту на средах с различными концентрациями NaCl и разными источниками углерода, имеют разные интервалы pH и температуры роста. Большинство из выделенных культур являются мезофилами (37°C), некоторые растут также и при высоких температурах (45°C), т.е. являются термотолерантными. Термофильные культуры 10.2 и 53.1 растут при температурах 50°C и более. Помимо культуры 58.5, почти все культуры растут при 10°C.

Исследованные стрептококки более стойки к воздействию высоких значений pH и концентрации NaCl, чем лактобациллы. Так, культуры стрептококков 58.5 и 59.2, растущие в среде, содержащей NaCl в концентрации от 1 до 6,5%, толерантны по отношению к высоким значениям pH (табл. 2).

Все новые изоляты являются каталазо-отрицательными гомоферментативными бактериями. Газ на среде с глюкозой не образуют, нитриты из нитратов не восстанавливают, гиппуровокислый натрий не усваивают, желатину не расщепляют. Определение аргининдезаминазной активности этих культур показало, что только две культуры стрептококков (штаммы 58.5 и 59.2) образуют аммиак из аргинина. Среди изученных культур только штамм 58.5 восстанавливает метиленовый голубой.

Таблица 2

Некоторые физиологические признаки выделенных молочнокислых бактерий

Физиологические особенности		№ штамма						
		10.2	28.2	49.1	53.1	54.1	58.5	59.2
Рост при	2% NaCl	-	-	-	-	-	+++	+++
	6,5% NaCl	-	-	-	-	-	+++	+++
	pH 7,2	+	+	+	+	+	+	+
	pH 9,6	-	-	-	-	-	±	±
	10° С	+++	+	+	+	+	-	+
	45° С	+	+	-	+++	-	+++	+++
	50° С	++	-	-	+++	-	-	-

Изучалась способность изолятов усваивать различные источники углерода. Все штаммы одинаково хорошо усваивают глюкозу и арабинозу. Данные по сбраживанию остальных сахаров представлены в таблице 3.

Таблица 3

Сбраживание углеводов молочнокислыми бактериями

№ штамма	Раффиноза	Сорбит	Глюконат	Мальтоза	Лактоза	Сорбоза	Манноза	Сахароза
10.2	+	+	+	-	+	-	+	+
28.2	+	+	+	-	+	-	+	+
49.1	±	+	+	0*	0	0	0	0
53.1	+	+	+	-	-	-	-	-
54.1	-	+	-	0	0	0	0	0
58.5	+	-	+	0	0	0	0	0
59.2	+++	+	-	0	0	0	0	0

* Условное обозначение: 0 – не определено.

Согласно полученным данным, изученные штаммы относятся к родам *Lactobacillus* (53.1, 10.2, 28.2) и *Streptococcus* (49.1, 54.1, 58.5, 59.2). Предварительные данные позволяют отнести эти штаммы к следующим видам: *Lactobacillus lactis* (53.1), *L. casei* (10.2, 28.2), *Streptococcus cremoris* (49.1, 54.1), *Str. lactis* (58.5, 59.2).

Выделенные культуры сохраняются в коллекции культур микроорганизмов кафедры микробиологии и биотехнологии микроорганизмов и растений ЕГУ и послужат в дальнейшем объектом исследований с целью выявления природы вещества с антагонистической активностью.

Кафедра микробиологии и биотехнологии
микроорганизмов и растений

Поступило 08.09.2006

ЛИТЕРАТУРА

1. Ерзкян Л.А. Биологические особенности некоторых рас молочнокислых бактерий. Ер.: Изд-во АН Арм. ССР, 1971, 210 с.
2. Квасников Е.И., Нестеренко О.А. Молочнокислые бактерии и пути их использования. М.: Изд-во АН Уз. ССР, 1975, 384 с.
3. Степаненко П.П. Микробиология молока и молочных продуктов. М.: ООО «Все для Вас-Подмосковье», 1999, 413 с.
4. Goh K.T., Haisman D.R., Archer R.H., Singh H. – Food Research International, 2005, v. 38, p. 605–613.
5. Deraz S.F., Karlsson E.N., Hedstrom M., Andersson M.M., Mattiasson B. – Journal of Biotechnology, 2005, v. 117, p. 343–354.
6. Mkrtumyan M.K., Bazukyan I.L., Panosyan O.A., Akopyan A.S., Karapetyan Yu.I. III Moscow Inter. Congress «Biotechnology: State of the art and prospects of development». 2005, part 2, p. 134.
7. Практикум по микробиологии. Под ред. Нетрусова А.И. М.: Изд-во АН РФ, 2005, 603 с.
8. Краткий определитель бактерий Берги. Под ред. Хоулота Дж.М. М.: Мир, 1980, 485 с.
9. Holt J.G., Krieg N.R., Sneath P.H. A., Staley J.T. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. V. 2. Baltimore, Hong-Kong, London, Sydney: The Williams and Willkins Co., 1986, pp. 1043–1070, 1208–1234.
10. Хоулот Дж., Криг Н., Снит П., Стейли Дж., Уильямс С. Определитель бактерий Берги. В 2-х т. М.: Мир, 1997, 800 с.

Ա. Ս. ՀԱՎՈՅԱՆ, Հ. Հ. ՓԱՆՈՍՅԱՆ, Ի. Լ. ԲԱԶՈՒԿՅԱՆ

ՀԱՅԱՍՏԱՆԻ ՏԱՐԲԵՐ ՇՐՋԱՆՆԵՐԻ ՄԱՇՆԻ ՄԵՐԱՆՆԵՐԻ ԿԱԹՆԱԹՎԱՅԻՆ ՄԱՆԲԵՆԵՐԻ ԱՆՁԱՏՈՒՄ ԵՎ ՈՒՍՈՒՄՆԱՍԻՐՈՒԹՅՈՒՆԸ

Ամփոփում

Հայաստանի տարբեր շրջաններից հավաքված մաձնի ցանցներից մեկուսացվել և ուսումնասիրվել են *Lactobacillus* և *Streptococcus* ցեղերին պատկանող կաթնաթթվային բակտերիաներ: Յույց է տրվել նրանց բարձր հակամանրէական ակտիվությունը ինչպես գրամդրական, այնպես էլ գրամբացասական մանրէների նկատմամբ:

A. S. HAKOBYAN, H. H. PANOSYAN, I. L. BAZUKYAN

ISOLATION AND STUDY OF LACTIC ACID BACTERIA FROM MATSUN'S FERMENTS OF DIFFERENT REGIONS OF ARMENIA

Summary

Matsun samples from different regions of Armenia were collected. Lactic acid bacteria belonging to genus *Lactobacillus* and *Streptococcus* were isolated and studied. Their high antibacterial activity against gram-positive and gram-negative bacteria has been shown.