

ТАКСОНОМИЧЕСКАЯ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПРОМЫШЛЕННО-ЦЕННЫХ ШТАММОВ МОЛОЧНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ ДЛЯ ХЛЕБНЫХ ЗАКВАСОК

к.т.н. Савкина О.А., Локачук М.Н./ Научный консультант – Кузнецова Л.И., д.т.н.

Таблица - Углеводный катаболизм исследованных штаммов молочнокислых бактерий.

Наименование источника углеводов	В И Д И Ш Т А М М М К Б									
	L.paracasei ssp. paracasei 5	L.plantarum 13	L.paracasei ssp. paracasei 6	L.plantarum 76	L.buchneri 30	L.paracasei ssp. paracasei 63	L.fermentum 34	L.buchneri 52 AH	L.plantarum И-30	
А - арабиноза	-	-	-	+	+	-	-	+	-	-
Д - рибоза	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Д - ксилоза	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
Д - галактоза	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Д - глюкоза	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Д - фруктоза	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Д - манноза	+	+	+	+	-	+	+	-	+	-
Л - сорбоза	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Д - маннит	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+
Д - сорбит	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+
Метил-α-D-маннопиранозид	-	+	-	+	-	-	-	-	-	+
N-ацетилглюкозамин	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+
Амигдалин	-	+	+	+	-	+	-	-	-	+
А р б у т и н	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+
Эскулин /железа цитрат	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+
С а л и ц и н	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+
Д - целлобиоза	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+
Д - мальтоза	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Д - лактоза	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+
Д - мелибиоза	-	+	+	+	-	+	-	+	+	+
Д - сахароза	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Д - трегалоза	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+
И н у л и н	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+
Д - мелцитоза	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Д - раффиноза	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+
Гентиобиоза	-	+	-	+	-	-	-	-	-	+
Д - тураноза	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-
Д - тагатаза	+	-	+	-	-	+	-	-	-	-
Л - арабит	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Д - арабит	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
Калия глюконат	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+

Актуальность

Молочнокислые бактерии играют ведущую роль в брожении ржаных хлебных заквасок и в обеспечении качества хлебобулочных изделий с использованием ржаной муки. В Санкт-Петербургском филиале НИИХП с 1946г существует коллекция молочнокислых бактерий и дрожжей для хлебопекарной промышленности. Чистые культуры микроорганизмов из коллекции имеют большую практическую ценность и широко используются на хлебопекарных предприятиях страны для приготовления заквасок. Большинство штаммов были идентифицированы до вида в 70-х годах XX века в соответствии с имеющимися на тот момент методиками и данными систематики бактерий [2]. С тех пор в связи с накоплением новых данных и развитием методов биохимических и молекулярно-генетических исследований в классификации микроорганизмов произошли существенные изменения. Современные методы фенотипических и генотипических исследований молочнокислых бактерий предполагают использование мультисубстратного тестирования [3, 4] и геномного AFLP фингерпринтинга [5], которые позволяют идентифицировать микроорганизмы с помощью изучения их биохимических и генетических особенностей и проводить паспортизацию штаммов на основе поиска их уникальных характеристик. Изучение физиолого-биохимических свойств, идентификация и молекулярно-генетическая паспортизация коммерческих штаммов молочнокислых бактерий являются актуальными задачами промышленного производства заквасок, решение которых необходимо для аутентификации культур, контроля за качеством микробного материала, а также разработки новых субстрат-ориентированных технологий.

Цель исследования: Идентификация промышленно-ценных штаммов молочнокислых бактерий на основании изучения биохимического профиля и AFLP фингерпринтинга геномной ДНК для выявления уровней сходства между штаммами и их уникальных особенностей.

Объекты и методы исследований. Объектами исследований являлись девять штаммов молочнокислых бактерий рода *Lactobacillus* для густых и жидких заквасок из коллекции для хлебопекарной промышленности Санкт-Петербургского филиала НИИХП. Для молекулярно-генетических исследований в качестве референтного штамма использовали штамм *L. acidophilus* 01413 из Ведомственной коллекции полезных микроорганизмов сельскохозяйственного назначения. Биохимические свойства молочнокислых бактерий изучали при помощи системы стандартизованных биохимических микротестов API50 CH (BioMérieux, Франция), содержащих 49 различных углеводов и их производных в соответствии с рекомендациями производителя.

Изучение геномной ДНК исследуемых штаммов для выявления уровней их сходства и уникальных особенностей проводили с помощью AFLP-фингерпринтинга.

Результаты исследований. Результаты изучения углеводного катаболизма исследуемых штаммов молочнокислых бактерий с помощью API50 CH тестов представлены в таблице 1. Компьютерная обработка данных позволила отнести штаммы к видам *L. fermentum*, *L. plantarum*, *L. buchneri* и *L. paracasei*. Изучение фингерпринтинга геномной ДНК исследуемых молочнокислых бактерий показало, что все штаммы генерируют разные наборы фрагментов ДНК. Полученные данные позволили выделить 3 статистически-достоверных кластера с уровнем сходства более 60%: группа I - штаммы *L. paracasei* ssp. *paracasei* 5, 6 и 63; группа II - штаммы *L. plantarum* И-30, 13 и 76; группа III - штаммы *L. buchneri* 30 и 52AH, *L. rhamnosus* 28 (рис. 1). Штаммы *L. fermentum* 34 и *L. acidophilus* 01413 не вошли ни в одну из групп (уровни сходства менее 50%). Таким образом, все изученные штаммы *L. paracasei* ssp. *paracasei* и *L. plantarum* образовали два обособленных гомологичных кластера.

Выводы: В результате проведенных исследований определена видовая принадлежность 9 промышленно-ценных штаммов молочнокислых бактерий рода *Lactobacillus*, получены данные по их углеводному катаболизму, а также уникальные AFLP-профили фрагментов геномной ДНК. Полученные данные имеют большую практическую ценность, поскольку позволяют учитывать биохимические особенности штаммов при разработке инновационных технологий хлебобулочных изделий на заквасках, а также использовать AFLP-фингерпринты для аутентификации штаммов с целью отслеживания изменчивости культур при длительном хранении в лабораторных условиях и при длительном ведении заквасок.

Number correlation (Exp 1.00%) (0.0% - 100.0%)

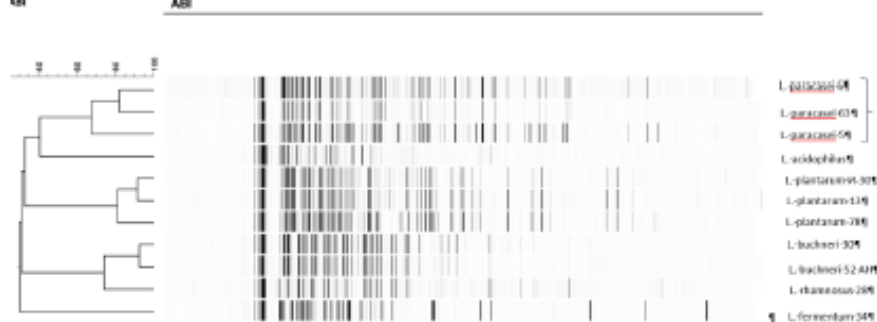


Рисунок 1. Результаты геномного AFLP фингерпринтинга исследованных штаммов молочнокислых бактерий.

Список литературы

1. Каталог культур микроорганизмов «Молочнокислые бактерии и дрожжи для хлебопекарной промышленности» из Коллекции Санкт-Петербургского филиала ГНУ ГОСНИИХП Россельхозакадемии / О.В. Афанасьева, Е.Н. Павловская, Л.И. Кузнецова – М.: Россельхозакадемия, 2008. – 98с.
2. Афанасьева О. В. Микробиология хлебопекарного производства / О.В.Афанасьева; С.–Петер. фил. Гос. НИИ хлебопек. Пром-ти (СПб Ф ГОСНИИХП). –СПб.: Верста, 2003. – 220с.
3. Mahmood T., Masud T., Imran M., Ahmed I., Khalid N. Selection and characterization of probiotic culture of *Streptococcus thermophilus* from dahi. *Int J Food Sci Nutr*, 2013, 64 (4), 494 – 501.
4. Li Y., Canchaya C., Fang F., Raftis E., Ryan K.A., van Fijkeren J.-P., van Sinderen D., O'Toole P.W. Distribution of *Megaplasmids* in *Lactobacillus salivarius* and Other *Lactobacilli*. *J Bacteriol*, 2007, 189(1), 6128–6139.
5. Kudo Y., Oki K., Watanabe K. *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *sunkii* subsp. nov., isolated from sunki, a traditional Japanese pickle. *Int J Syst Evol Microbiol*, 2012, 62, 2643 – 2649.
6. Martinez-Peña M.D., Castro-Escarpulli G., Aguilera-Arreola M.G. *Lactobacillus* species isolated from vaginal secretions of healthy and bacterial vaginosis-intermediate Mexican women: a prospective study. *BMC Infect Dis.*, 2013, 13, 189 – 197.