

Биолог. журн. Армении, 3 (51), 1998

УДК 576.852.22:579.873.13

О НЕКОТОРЫХ ОСОБЕННОСТЯХ МОЛОЧНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ ПРОДУКТА "НАРИНЭ"

Յ.Դ. ԱՎԱԿՅԱՆ, Դ.Տ. ԴԱՎԻԴՅԱՆ

Республиканский Центр депонирования микробов НАН и Министерства образования и
науки Армении, 378510, г. Абовян

Молочнокислые бактерии - витамины - аминокислоты

Видовая идентификация и дифференциация молочнокислых бактерий представляют большие затруднения, из-за изменчивости их многих свойств, особенно при культивировании на разных средах. Они могут изменять как морфологические, так и культуральные свойства, приобретать или терять те или иные особенности. Поэтому для характеристики культур этих бактерий привлекается большое число признаков, на основании которых создается возможность сравнительно точной видовой идентификации.

Большинство видов молочнокислых бактерий нуждается для своего развития в витаминах группы В [2]. Рогоза с сотрудниками [4] установили, что 250 изученных штаммов нуждались в пантотеновой кислоте и ни один из них не зависел от инозита, холина и пара-аминобензойной кислоты.

Выявлено, что *Lactobacillus casei* и *Lactobacillus plantarum* целесообразно дифференцировать по потребностям в фолиевой кислоте и пиридоксале [5]. Изучив большую коллекцию молочнокислых бактерий они установили в ряде случаев четкую зависимость между потребностями в витаминах и видовой принадлежностью [6]. Показано, что на потребность молочнокислых бактерий в витаминах влияют температура, pH, CO₂ и окислительно-восстановительный потенциал [7].

Культура молочнокислых бактерий *Lactobacillus acidophilus* штамм ИИМНА-9602, выделенная и изученная Л.А.Ерзиняном как культура Ер 317/402, широко используется при выработке лечебно-диетического продукта "Наринэ" [1]. Вопросы идентификации и дифференциации штаммов этих бактерий, используемых при выработке этого продукта, представляют существенный интерес, поскольку в коммерческом производстве нередко нарушаются необходимые микробиологические требования хранения и репродукции исходной культуры бактерий.

Нами представлены данные об использовании в качестве

дополнительных критериев идентификации указанного штамма специфичности действия антибиотиков, а также потребности к различным витаминам группы В.

Материал и методика. Работа проводилась на 10 культурах молочнокислых бактерий, в том числе коллекционных и штаммов, выделенных из продукта "Наринэ", вырабатываемого на производстве. Перечень использованных штаммов представлен в табл. 1.

Таблица 1. Происхождение использованных штаммов продукта "Наринэ"

Штаммы	Источник, время выделения и условия хранения
Н-1	Продукт "Наринэ", Ереван, лиофилизирован в 1986г. Репродуцирован в 1996г.
Н-2	Продукт "Наринэ", г.Абовян, лиофилизирован в 1992г. Репродуцирована в 1996г.
Н-3	Продукт "Наринэ", лиофилизирован в 1986г. Репродуцирована в 1996г.
Н-4	Продукт "Наринэ", г.Одесса, 1996г. Леофилизированная культура
Н-5	Продукт "Наринэ", г.Житомир, 1996г. Леофилизированная культура
Н-6	Продукт "Наринэ", г.Новосибирск, 1996г.
Н-7	Продукт "Наринэ", Ереван, частная фирма, 1996г.
Н-8	Продукт "Наринэ", Ереван, частная фирма, 1996г.
Н-9	Продукт "Наринэ", Ереван, частная фирма, 1996г.
Н-10	Продукт "Наринэ", Ереван, гос. предприятие, 1996г.
Н-11	Фекалий новорожденных детей, аутентичный штамм, штамм Ер. 317/4026 1953г. Леофилизированная культура
Н-15	Продукт "Наринэ", лиофилизирован в 1986г. Репродуцирован в 1997г.

Исследования по определению потребностей молочнокислых бактерий в витаминах группы В проводили в несколько этапов. Вначале определяли зависимость испытываемых штаммов от смеси витаминов группы В, аминокислот (в этом случае использовали гидролизат казеина) и от смеси витаминов с гидролизатом казеина. Затем у аукогетеротрофных штаммов определяли зависимость от отдельных витаминов с использованием дисков, пропитанных витаминами с исключением одного из них.

Подбор минимальной среды для определения витаминотребных свойств проводили испытанием питательных сред с добавками различных источников белкового питания - гидролизатов казеина. Испытывали среды Придхема [3], Рогозы [5] и предложенную нами минимальную среду следующего состава (в %): KH_2PO_4 - 0,1, Na_2HPO_4 - 0,3, глюкоза - 2,0, гидролизат казеина, лишенный витаминов - 0,5. Опыты показали, что для этих целей можно использовать и среду Придхема [3].

Для качественной характеристики витаминотребных свойств применяли следующую методику. Диски из хроматографической бумаги диаметром 0,5 см смачивались раствором всех витаминов и смеси витаминов с исключением одного из них. Конечные концентрации витаминов в бумажных дисках (мкг/диск): тиамин, рибофлавин, пантотенат кальция, пиридоксин, никотиновая, пара-аминобензойная и фолиевая кислоты - 10; биотин - 0,002; цианкобаламин - 0,0002; инозит, холин - 100. В контроле применяли диски, импрегнированные в растворе гидролизата казеина, содержащего все витамины группы В. Применяли также наложение атаровых блоков МПА. Учет результатов проводили по наличию роста вокруг дисков по величине зоны (в мм).

Действие антибиотиков также изучалось методом наложения смоченных в растворах антибиотиков, в концентрации 40-50 ед/мл.

Культуры тест-микробов высевали диффузно в растопленную и остуженную до 40-45° агаризованную среду с гидролизатом молока, которую разливали в чашки Петри. На поверхность агара накладывали бумажные диски и после инкубации при 37° в течение 18-24 ч проводили учет антибиотического действия по наличию стерильных зон отсутствия роста испытываемых культур бактерий. Количественную характеристику антибиотического действия проводили методом серийных разведений на жидких средах *MRS* и гидролизате молока.

Результаты и обсуждение. Было испытано 16 препаратов антибиотиков отечественного и зарубежного происхождения.

Результаты опытов, обобщенные в табл. 2, показывают, что изученные штаммы характеризуются в целом однородной качественной реакцией к

Таблица 2. Подверженность культур молочнокислых бактерий продукта "Наринз" действию антибиотиков

Угнетение роста под действием антибиотиков		
Сильное	Слабое	Не угнетают
Пенициллин, ампициллин, амоксициллин, стрептомицин, канамицин, гентамицин, рифампицин, тетрациклин, олететрин, эритромицин, линкомицин	Флоримицин, оксациллин	Колистин, полимиксин В, нистатин

действию испытанных антибиотиков. Препараты с антибактериальным спектром действия, исключая антибиотики полимиксиновой группы, достаточно активно угнетают рост исследованных штаммов. Рост штаммов не подавляется и под воздействием нистатина, активного к дрожжам и грибам. Подобная специфика действия может, на наш взгляд, послужить основанием для использования этих антибиотиков для выделения молочнокислых бактерий *L. acidophilus* в чистую культуру из молочных и других продуктов. Опытами на жидких средах методом серийных разведений бактериостатическая концентрация пенициллина и стрептомицина установлена в пределах 0,5 ед/

Таблица 3. Витаминопотребные свойства молочнокислых бактерий (рост испытанных штаммов вокруг использованных дисков на минимальной среде)

Штаммы	Дрожжевой автолизат	Все витамины группы В	Гидролизат казеина, лишенный витаминов	Гидролизат казеина + все витамины	Все витамины - тиамин	Все витамины - биотин	Биотин	Тиамин
Н-1	+20	+40	-	+40	+30	-	+40	-
Н-2	+30	+30	-	+30	+30	-	+30	-
Н-5	+20	+50	-	+50	+30	-	+40	-
Н-6	+30	+30	-	+30	+30	-	+30	-
Н-10	+30	+30	-	+30	+30	-	+30	-

мл. По спектру действия антибиотиков изученные штаммы - продуценты "Наринэ" можно разделить на 5 групп: I - Н-2, Н-3; II - Н-7, Н-8, Н-9; III - Н-1, Н-4, Н-5; IV - Н-6; V - Н-10, Н-11.

Витаминопотребные свойства изучались у пяти наиболее используемых в производстве штаммов на трех различных средах. Полученные данные суммированы в табл. 3.

Как видно из представленных данных, все изученные штаммы зависят от биотина. Одновременно можно отметить, что смесь витаминов в синтетических средах можно заменить дрожжевым аутолизатом. Предложена оптимальная среда для изучения гетеротрофности штаммов молочнокислых бактерий. Она является более простой и доступной по сравнению с другими средами.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ерзинкян Л.А. Биологические особенности некоторых рас молочнокислых бактерий. Ереван. Изд-во АН Арм. ССР, 233 с., 1971; АС СССР N 163573, 1964.
2. Niven C.F., Sherman J.M. J. Bacteriol., 47, 335, 1944.
3. Pridham T.G., Gottlieb D.J. Bacteriol., 56 (1), 107, 1948.
4. Rogosa M., Tittsler R.P., Geib D.S. J. Bacteriol., 54, 13, 1947.
5. Rogosa M. J. Gen. Microbiol. 24, 401, 1961.
6. Rogosa M. et al. J. Bacteriol. 65, 681, 1953.
7. Tittsler R.P., Pederson C.S., Snell E.E., Hendlin D., Niver C.F. J. Bacteriol. Revs., 16, 227, 1952.

Поступила 20.IV.98

Биол. журн. Армении, 3 (51), 1998

УДК 595.765.4

К МОРФОЛОГИИ ВИДА *PARACARDIOPHORUS PERMODICUS* (FALD.) (*COLEOPTERA, ELATERIDAE*)

М.А. МАРДЖАНИЯН

Институт зоологии ИАН Армении, 375014, Ереван

Род *Paracardiophorus* относится к подсемейству *Cardiophorinae* и представлен в фауне Кавказа, как и Армении, 2 видами. Систематика подсемейства остается недостаточно изученной из-за наличия труднолифференцируемых видов. Строение внутренних структур, а именно склеротизированных образований совокупительной сумки и параметр эдеагуса,