

УДК 579.23

К.М. Кебекбаева, Г.Т. Джакибаева\*, А.К. Джобулаева, А.В. Медведева  
 Институт микробиологии и вирусологии, г. Алматы, Казахстан  
 \*e-mail: [J.Gulnar60@mail.ru](mailto:J.Gulnar60@mail.ru)

### Сравнение способов хранения молочнокислых бактерий

Проведены исследования по влиянию методов хранения на жизнеспособность и пробиотическую активность молочнокислых микроорганизмов из коллекции Института микробиологии и вирусологии. Показано, что при закладке на хранение разными способами не все исследуемые штаммы сохранили пробиотическую активность.

Наиболее приемлемыми методами для хранения молочнокислых микроорганизмов является хранение под слоем минерального масла и в 10% растворе глицерина при низких температурах.

**Ключевые слова:** Молочнокислые микроорганизмы, генофонд, коллекция, хранение, методы, тест-микроорганизмы, антимикробная активность.

К.М. Кебекбаева, Г.Т. Джакибаева, А.К. Джобулаева, А.В. Медведева

### Сүт қышқылы бактерияларының тіршілікке қабілеттілігіне сақтау әдістерінің әсер етуі

Микробиология және вирусология институтының коллекциясынан алынған микроорганизмдердің пробиотикалық белсенділігін және тіршілікке қабілеттілігіне сақтау әдістерінің әсер етуі бойынша зерттеулер жүргізілді. Әртүрлі әдістермен сақтауда кейбір штамдар пробиотикалық белсенділігін сақтап қалмағандығын көрсетті. Сүт қышқылы бактериялар үшін төменгі температурада 10%-тік глицериннің ерітіндісінде және минералды майдың астында сақтау анағұрлым жақсы әдістер болып табылады.

**Түйін сөздер:** Сүт қышқылы бактериялар, генофонд, коллекция, тіршілікке қабілеттілік, сақтау, әдістер, пробиотикалық белсенділік, тест-культуры, антагонистік белсенділік, микробқа қарсы белсенділік.

K.M. Kebekbaeva, G.T. Dzhakibaeva, A.K. Dzhobulaeva, A.V. Medvedeva

### Influence of storage methods on viability lactic microorganisms

The research conducted on the effect of storage methods on the viability and probiotic activity of lactic acid microorganisms from the collection of the Institute of Microbiology and Virology. It is shown that when placing the storage in many ways, not all researched probiotic strains retained activity.

Most acceptable method for the storage of lactic acid microorganisms is storage under a layer of mineral oil and 10% glycerol solution at low temperatures.

**Keywords:** Lactic microorganisms, genofond, collection, storage, methods, probiotic characteristics, test-microorganisms, antagonistic characteristics, antimicrobial activity.

Благодаря научным достижениям микробиологии, внедрению новых разработок генной инженерии стало возможным получать высокотехнологичные штаммы микроорган-измов, продуцентов ферментов, аминокислот, антимикробных метаболитов и других биологически активных веществ. При этом неотъемлемым компонентом фундаментальной базы практически любого биотехнологического проекта являются коллекции микроорганизмов, которые гарантируют сохранение ресурсов микробного разнообразия и делают их доступными для использования в научных исследованиях. Особое внимание уделяется группам бактерий, представляющим потенциальный интерес в качестве объектов биотехнологии и играющим важную роль в функционировании различных экосистем.

Интерес к изучению молочнокислых бактерий объясняется широким спектром их биологической активности и безвредностью для человека и животных. В последние годы особое внимание исследователей привлекают пробиотические свойства этих бактерий [1-3]. Анализ имеющихся литературных данных свидетельствует о многогранном воздействии пробиотиков на микроэкологию пищеварительного тракта. Наиболее важными аспектами взаимодействия пробиотических штаммов с микрофлорой кишечника и организмом человека и животных являются образование антибактериальных веществ, конкуренция за питательные вещества и места адгезии, стимуляция иммунной системы [4]. Отмечено, что среди одних и тех же видов встречаются как сильные, так и слабые антагонисты, что свидетельствует о том, что антагонистическая активность является в большей степени штаммовым признаком [5].

Приведенные выше сведения свидетельствуют о необходимости поддержания коллекции активных штаммов молочнокислых бактерий и пополнении ее новыми штаммами с пробиотическими свойствами.

### Материалы и методы

Объектами исследования служили 10 штаммов молочнокислых бактерий из коллекции лаборатории: *Lactobacillus plantarum* № 53H, *Lactobacillus plantarum* 22, *Lactobacillus plantarum* 2, *Lactobacillus cellobiosus* 20, *Lactobacillus acidophilus* 27W, *Lactobacillus curvatus* 18δ, *Lactobacillus casei* 139, *Lactobacillus casei* 173a, *Lactobacillus salivarius* 8δ, *Lactobacillus fermentum* 27. В качестве питательных сред для молочнокислых бактерий использовали среду МРС. Количество жизнеспособных клеток молочнокислых бактерий определяли с помощью титра мутности одинакового для всех трех методов хранения; затем методом серийных разведений с последующим высевом на агаризованные среды подсчитывали число выросших микроколоний. Для определения антагонистической активности молочнокислых бактерий в отношении *E.coli* использовали твердую питательную среду сусло-агар в смеси с МПА в соотношении 1:1. Антагонистическую активность устанавливали диффузионным методом в отношении тест-культур: *Esherichia coli*, *Bacillus cereus*.

### Результаты и их обсуждение

С целью подбора оптимальных методов консервации молочнокислых бактерий для длительного хранения в условиях коллекции проведена закладка 10 штаммов тремя способами: методом пересева, хранение под минеральным маслом, хранение в глицерине при низких температурах.

Из результатов, представленных в таблице 1 видно, что наилучшим способом хранения для молочнокислых микроорганизмов является хранение под слоем вазелинового масла и в 10% растворе глицерина при низких температурах (-20°C). Выживаемость при хранении методом пересева для таких культур как *L. plantarum* 2, *L. curvatus* 18, *L. salivaris* 8δ оказалась хуже, чем при хранении под слоем вазелинового масла и при хранении в 10% растворе глицерина при низких температурах.

**Таблица 1** – Жизнеспособность молочнокислых микроорганизмов при различных методах хранения

Название культуры	Жизнеспособность, КОЕ, мл		
	Хранение на твердой среде	Хранение под вазелиновым маслом	Хранение в 10% глицерина при низких T <sup>0</sup>
<i>Lactobacillus plantarum</i> 53H	11 x10 <sup>7</sup>	10 x10 <sup>7</sup>	12 x10 <sup>7</sup>
<i>Lactobacillus plantarum</i> 22	13 x10 <sup>5</sup>	9 x10 <sup>6</sup>	5 x10 <sup>6</sup>
<i>Lactobacillus plantarum</i> 2	10 x10 <sup>7</sup>	8 x 10 <sup>7</sup>	9x 10 <sup>7</sup>
<i>Lactobacillus cellobiosus</i> 20	8 x 10 <sup>7</sup>	7 x 10 <sup>7</sup>	7 x 10 <sup>7</sup>
<i>Lactobacillus acidophilus</i> 27w	3x10 <sup>5</sup>	3x10 <sup>6</sup>	10x10 <sup>6</sup>
<i>Lactobacillus curvatus</i> 18δ	8x10 <sup>6</sup>	4x10 <sup>6</sup>	8x10 <sup>6</sup>
<i>Lactobacillus casei</i> 139	10x10 <sup>6</sup>	7x10 <sup>6</sup>	9x10 <sup>6</sup>
<i>Lactobacillus casei</i> 173a	6x 10 <sup>6</sup>	5x 10 <sup>6</sup>	8x 10 <sup>6</sup>
<i>Lactobacillus salivaris</i> 8δ	8 x 10 <sup>7</sup>	9 x 10 <sup>7</sup>	10 x 10 <sup>7</sup>
<i>Lactobacillus fermentum</i> 27	6x10 <sup>6</sup>	5x10 <sup>6</sup>	8x10 <sup>6</sup>

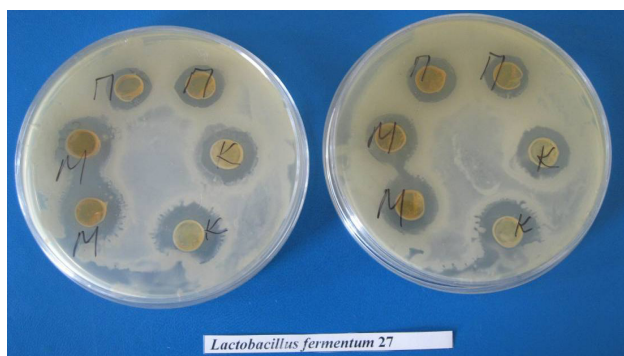
**Таблица 2** – Антагонистическая активность молочнокислых микроорганизмов

Название культур	Диаметр зон подавления роста <i>E.coli</i>		
	Хранение на твердой среде	Хранение под вазелиновым маслом	Хранение в 10% глицерина при низких T(-20°C)
<i>Lactobacillus plantarum</i> 53H	12±0,1	15,5±0,2	14±0,4
<i>Lactobacillus plantarum</i> 22	10±0,1	13,5±0,6	13±0,7
<i>Lactobacillus plantarum</i> 2	0	12±0,2	15±0,1
<i>Lactobacillus cellobiosus</i> 20	11±0,4	13,5±0,5	20±0,3
<i>Lactobacillus acidophilus</i> 27w	13,7±0,5	13±0,6	10±0,1
<i>Lactobacillus curvatus</i> 18δ	13±0,6	12±0,4	13±0,6
<i>Lactobacillus casei</i> 139	10±0,5	11±0,2	10±0,2
<i>Lactobacillus casei</i> 173a	11±0,1	11±0,3	13±0,4
<i>Lactobacillus salivaris</i> 8δ	12,5±0,5	13±0,3	15±0,1
<i>Lactobacillus fermentum</i> 27	15±0,1	17±0,5	18±0,5

Была проверена антимикробная активность молочнокислых микроорганизмов по отношению к тест-культуре *E.coli* (таблица 2). Все молочнокислые бактерии в той или иной степени проявили антагонистическую активность по отношению к *E.coli*. Наилучшие показатели по антимикробной активности были получены после хранения молочнокислых культур в 10% растворе глицерина при низких температурах. Диаметры зон подавления роста *E.coli* у таких культур как *L. plantarum* 53Н, *L.cellobiosus* 20, *L. fermentum* 27 достигали от 15 мм до 20 мм.

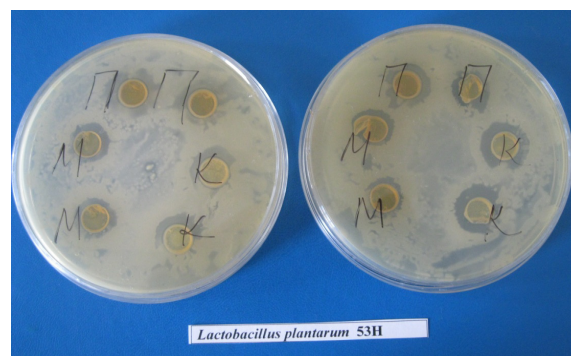
Более слабую пробиотическую активность проявила культура *Lactobacillus casei* 139 при всех трех методах хранения. При хранении методом пересева наилучшую антимикробную активность проявили культуры – *L. acidophilus* 27w и *L.fermentum* 27.

У *L. plantarum* 2 после хранения методом пересевов не наблюдалось антимикробной активности. При хранении молочнокислых культур под вазелиновым маслом все культуры проявили антимикробную активность по отношению к тест-культуре *E.coli*. Наилучшие показатели по антагонистической активности были у культуры *L. fermentum* 27 при всех трех методах хранения. Таким образом, после хранения молочнокислых микроорганизмов такими методами как метод пересевов, хранение под вазелиновым маслом и в 10% растворе глицерина при низких температурах была сохранена антимикробная активность молочнокислых микроорганизмов к возбудителю кишечных заболеваний – *E.coli*.



П – Метод пересева, М – хранение под слоем минерального масла,  
К – хранение в 10% растворе глицерина при низких Т (-20°C)

**Рисунок 1** – Антагонистическая активность *L. fermentum* 27 к тест-культуре *E.coli*



**Рисунок 2** – Антагонистическая активность *L. plantarum* 53Н к тест-культуре *Bac.subtilis*

Исследовали антибиотические свойства молочнокислых микроорганизмов по отношению к тест-культуре, вызывающей кишечные инфекции *Bac.subtilis* (таблица 3). При хранении молочнокислых культур на твердой среде методом пересевов ни одна из культур не проявила антагонистическую активность при высеве на агаризованную среду МРС за исключением культуры *L.plantarum* 53Н.

**Таблица 3** – Антагонистическая активность молочнокислых микроорганизмов

Название культур	Диаметр зон подавления роста <i>Bac.subtilis</i> , мм		
	Хранение на твердой среде	Хранение под вазелиновым маслом	Хранение в 10% глицерина при низких Т(-20°C)
<i>Lactobacillus plantarum</i> 53Н	15±0,7	14±0,3	15±0,4
<i>Lactobacillus plantarum</i> 22	0	20±0,1	22±0,3
<i>Lactobacillus plantarum</i> 2	0	0	0
<i>Lactobacillus cellobiosus</i> 20	0	0	0
<i>Lactobacillus acidophilus</i> 27w	0	17±0,9	25±0,3
<i>Lactobacillus curvatus</i> 18д	0	0	0
<i>Lactobacillus casei</i> 139	0	20±0,1	0
<i>Lactobacillus casei</i> 173a,	0	20±0,4	20±0,1
<i>Lactobacillus salivaris</i> 8д	0	0	0
<i>Lactobacillus fermentum</i> 27	0	0	22±0,7

При хранении молочнокислых культур под слоем вазелинового масла на скошенном агаре пять культур проявили антагонистическую активность; из них четыре культуры: *L. plantarum* 22, *L. acidophilus* 27w, *L. casei* 139, *L. casei* 173a проявили повышенную антимикробную активность. Хранение в 10% растворе глицерина при низких температурах дало аналогичную картину, что при хранении под вазелиновым маслом: пять культур проявили повышенную антимикробную активность.

Из десяти исследованных молочнокислых культур четыре культуры: *L. plantarum* 2, *L. cellobiosus* 20, *L. curvatus* 18д, *Lactobacillus salivaris* 8д не проявили антагонистической активности по отношению к *Bac. subtilis* ни при одном методе хранения. Из полученных данных следует, что хранение методом пересева отрицательно сказывается на сохранении молочнокислыми бактериями антимикробных свойств. При хранении молочнокислых культур под слоем вазелинового масла и в 10% растворе глицерина при низких температурах молочнокислые культуры сохраняют антимикробные свойства.

Проведенные исследования по влиянию методов хранения на жизнеспособность и пробиотическую активность молочнокислых микроорганизмов показали, что при закладке на хранение разными способами не все исследуемые штаммы сохранили пробиотическую активность.

Наиболее приемлемыми методами для хранения молочнокислых микроорганизмов является хранение под слоем минерального масла и в 10% растворе глицерина при низких температурах.

#### Литература

- 1 Гаврилова Н.Н., Ратникова И.А. Основные достижения лаборатории микробных препаратов в области биотехнологии, Известия НАН РК, серия биологических и медицинских наук. – 2003. – №2. – С. 48-57.
- 2 Ратникова И.А., Гаврилова Н.Н. Создание пробиотиков для лечения социально-значимых инфекций // Материалы конгресса «Пробиотики, пребиотики, симбиотики и функциональные продукты питания». – Санкт-Петербург, 2007. – С.44.
- 3 Ратникова И.А., Гаврилова Н.Н. Создание комплексных пробиотиков для лечения социально-значимых инфекций // Материалы тезисов Международного конгресса по пробиотикам. – Санкт-Петербург, 2009. – С.33.
- 4 Гаврилова Н.Н., Ратникова И.А. Создание пробиотиков широкого спектра действия // Тезисы докладов на Международном конгрессе «Биотехнология-состояние и перспективы развития». – Москва, 2010. – С. 471.
- 5 Хорошилова Н.В. Иммуномодулирующее и лечебное действие пробиотиков //Иммунология. – 2003. – №6. – С. 352-356.

УДК: 633.16:633.52:632.112

С.С. Кенжебаева, Ш.С. Дагарова\*, Г. Калдыбеккызы, Г. Доктырбай  
Казахский национальный университет имени аль-Фараби, г. Алматы, Казахстан  
\*e-mail: [dshynar@mail.ru](mailto:dshynar@mail.ru)

#### Идентификация мутантных линий М4 Алмакен по содержанию белка

Адаптивная селекция растений, базирующаяся на мобилизации генофонда, управлении наследственностью в обозримом будущем будет обеспечивать повышение величины и качества урожая сельскохозяйственных культур на всей земледельческой территории Земли. Проведен структурный анализ по продуктивности новых продуктивных мутантных линии М4 поколения сортов яровой пшеницы Алмакен, определены содержание запасных белков и коэффициент корреляции.

**Ключевые слова:** физический мутагенез, мутантные линии пшеницы, алмакен, продуктивность, белок, эффект дозы.

#### С.С. Кенжебаева, Ш.С. Дагарова, Г. Калдыбеккызы, Г. Доктырбай Мутанты бидай линиясы Алмакен сортының М4 ұрпағының қор белоктары бойынша идентификациясы

Генофондтың мобилизациясына негізделген өсімдіктердің бейімделушілік селекциясы жер шаруашылық территорияларында ауылшаруашылық дақылдардың сапасы мен көлемін арттыруды жүзеге асырады. Зерттеу жұмысында объектілері ретінде Алмакен жаздық бидай сорттарының жаңа мутанты М<sub>4</sub> ұрпақтың өнімді линиялары алынды, олардың өнімділік көрсеткіштері және қор белоктарының мөлшері анықталды. Мутанты линиялардың өнімділік бойынша көрсеткіштері мен қор белоктарының мөлшері арасындағы корреляция коэффициенті есептелінді.

**Ключевые слова:** мутагенез физиологиясы, бидайдың мутанты линиялары, өнімділік, белок, тиімді доза.