

А.Н. Иркитова, Я.Р. Каган, Г.Г. Соколова

Влияние аэробных и анаэробных условий культивирования на антагонистическую активность *Lactobacillus acidophilus* к *Escherichia coli*

A.N. Irkitova, Ya.R. Kagan, G.G. Sokolova

Effect of Aerobic and Anaerobic Cultivation Conditions on Antagonistic Activity of *Lactobacillus acidophilus* to *Escherichia coli*

Представлены сравнительные данные антагонистической активности коллекционных штаммов *L. acidophilus* по отношению к тест-штаммам *Escherichia coli* в зависимости от аэробных и анаэробных условий культивирования.

Ключевые слова: антагонизм, *Lactobacillus acidophilus*, *Escherichia coli*, аэробные и анаэробные условия.

The article presents the comparative data describing antagonistic activity of collection of strains *L. acidophilus* in relation to the test strains of the *E. coli* depending on the aerobic and anaerobic conditions of cultivation.

Key words: antagonism, *Lactobacillus acidophilus*, *Escherichia coli*, aerobic and anaerobic conditions.

Введение. *L. acidophilus* является наиболее сильным антагонистом к патогенной, условно-патогенной и технически вредной микрофлоре среди других представителей рода *Lactobacillus*. Это свойство обуславливает широкое применение ацидофильной палочки в качестве пробиотической культуры в пищевой, сельскохозяйственной и фармацевтической промышленности. На рост и антагонистическую активность коллекционных или производственных штаммов *L. acidophilus* оказывают влияние различные экологические факторы. Изучение устойчивости этих штаммов к неблагоприятным факторам среды и их способности сохранять биологические и технологически ценные свойства при совместном культивировании со штаммами *E. coli* актуально, поскольку результаты таких исследований позволяют выявить перспективные штаммы для производства пробиотических продуктов и препаратов.

Одним из важных экологических факторов, обуславливающих антагонистическую активность штаммов *L. acidophilus*, является наличие кислорода в среде обитания.

Материалы и методы. Для определения влияния аэробных и анаэробных условий на антагонистическую активность штаммов *L. acidophilus* по отношению к штаммам *E. coli* нами применялся модифицированный метод капель [1; 2]. Для создания анаэробных условий посеы инкубировали в микроанаэроах марки «МИ» (Россия). Для поддержания рабочих культур ацидофильной палочки использовали стерильное обезжиренное молоко: свежесепарированное молоко, не содержащее ингибирующих веществ, разливали дозатором по 10 см³ в пробирки, закрывали ватно-марлевыми пробками и автоклавируют 10 мин при 121 °С.

Для дальнейших экспериментов использовали обогащенный агар с гидролизированным молоком — АГМ для палочек (среда для определения антагонистической активности ацидофильных палочек диффузионными методами). Состав: обезжиренное молоко, гидролизованное панкреатином, — 350 см³, дрожжевой автолизат — 50 см³, глюкоза — 2 г, агар — 15 г, водопроводная вода для доведения общего объема среды до 1 дм³. Стерилизовали автоклавированием в течение 10 мин при 121 °С [3].

Для поддержания культур кишечной палочки использовали бульон из гидролизованного молока — БГМ, состоящий из обезжиренного молока, гидролизованного панкреатином, — 350 см³, дрожжевого автолизата — 50 см³, глюкозы — 2 г, агара — 0,75 г, водопроводной воды для доведения общего объема среды до 1 дм³. Стерилизовали автоклавированием в течение 10 мин при 121 °С.

Результаты. Анализ результатов показал, что в аэробных и анаэробных условиях антагонистический эффект к обоим штаммам кишечной палочки проявили все исследованные штаммы ацидофильной палочки, но минимальное соотношение клеток штаммов антагонист/тест-культура, при котором происходит полное подавление кишечной палочки, сильно варьировало (табл. 1–2).

В аэробных условиях наибольший антагонистический эффект проявил штамм СКМ-500 (МСК<10¹ по отношению к обоим штаммам кишечной палочки). На втором месте оказались штаммы СКМ-501 и СКМ-502 (МСК=10² по отношению к штамму СКМ-829, МСК=10⁴ по отношению к штамму СКМ-830). Самым слабым антагонистом к штамму СКМ-829 был штамм СКМ-498 (МСК=10⁶), а по отношению к штам-

му СКМ-830 самыми слабыми антагонистами были штаммы СКМ-498, СКМ-503, СКМ-504 (табл. 1).

В контроле рост обоих штаммов кишечной палочки наблюдался до 8-го разведения, что значительно выше, чем при совместном выращивании с испытуемыми штаммами ацидофильной палочки (табл. 1). Кроме того, у 9 из 11 исследованных штаммов ацидофильной палочки (кроме СКМ-505 и СКМ-498) отмечено усиление роста газона вокруг колоний кишечной палочки (рис. 1). Вероятнее всего, это можно объяснить тем, что кишечная палочка выделяет витамины (в частности витамины группы В), которые стимулируют рост ацидофильной палочки.

Таким образом, при культивировании изучаемых штаммов *L. acidophilus* в аэробных условиях самый сильный антагонистический эффект в отношении штаммов *E. coli* проявил штамм СКМ-500, а самый слабый антагонистический эффект отмечен у штамма СКМ-498.

В анаэробных условиях все исследованные штаммы ацидофильной палочки проявляли значительно более сильный антагонистический эффект, чем в аэробных условиях. Наибольшая антагонистическая активность наблюдалась у штаммов СКМ-492 и СКМ-504, в анаэробных условиях они проявили себя как самые сильные антагонисты. Наименьшая антагонистическая активность отмечена для штаммов СКМ-505 и СКМ-499 (табл. 2).

По отношению к штамму СКМ-829 в анаэробных условиях изменилась антагонистическая активность штамма ацидофильной палочки СКМ-500, он оказался на втором месте ($MCK=10^1$), уступив первое место штаммам СКМ-492 и СКМ-504 ($MCK<0$). По отношению к штамму СКМ-830 штамм СКМ-500 также изменил уровень антагонистической активности, уступив позиции сильного антагониста штаммам СКМ-492 и СКМ-504 (табл. 2).

Таблица 1

Ингибирование роста штаммов тест-культуры *E. coli* коллекционными штаммами *L. acidophilus* при культивировании в аэробных условиях

№	Штамм <i>L. acidophilus</i>	Минимальное соотношение клеток антагонист/тест-культура, вызывающее полное подавление роста штаммов тест-культуры	
		СКМ-829	СКМ-830
1	СКМ-492	10^3	10^5
2	СКМ-495	10^4	10^5
3	СКМ-497	10^5	10^5
4	СКМ-498	10^6	10^6
5	СКМ-499	10^3	10^5
6	СКМ-500	10^0	10^0
7	СКМ-501	10^2	10^4
8	СКМ-502	10^2	10^4
9	СКМ-503	10^5	10^6
10	СКМ-504	10^2	10^6
11	СКМ-505	10^5	10^5

Таблица 2

Ингибирование роста штаммов тест-культуры *E. coli* коллекционными штаммами *L. acidophilus* при культивировании в анаэробных условиях

№	Штамм <i>L. acidophilus</i>	Минимальное соотношение клеток антагонист/тест-культура, вызывающее полное подавление роста тест-культуры	
		СКМ-829	СКМ-830
1	СКМ-492	10^0	10^2
2	СКМ-495	10^2	10^3
3	СКМ-497	10^1	10^4
4	СКМ-498	10^1	10^4
5	СКМ-499	10^4	10^6
6	СКМ-500	10^1	10^3
7	СКМ-501	10^1	10^3
8	СКМ-502	10^2	10^4
9	СКМ-503	10^1	10^3
10	СКМ-504	10^0	10^2
11	СКМ-505	10^3	10^5

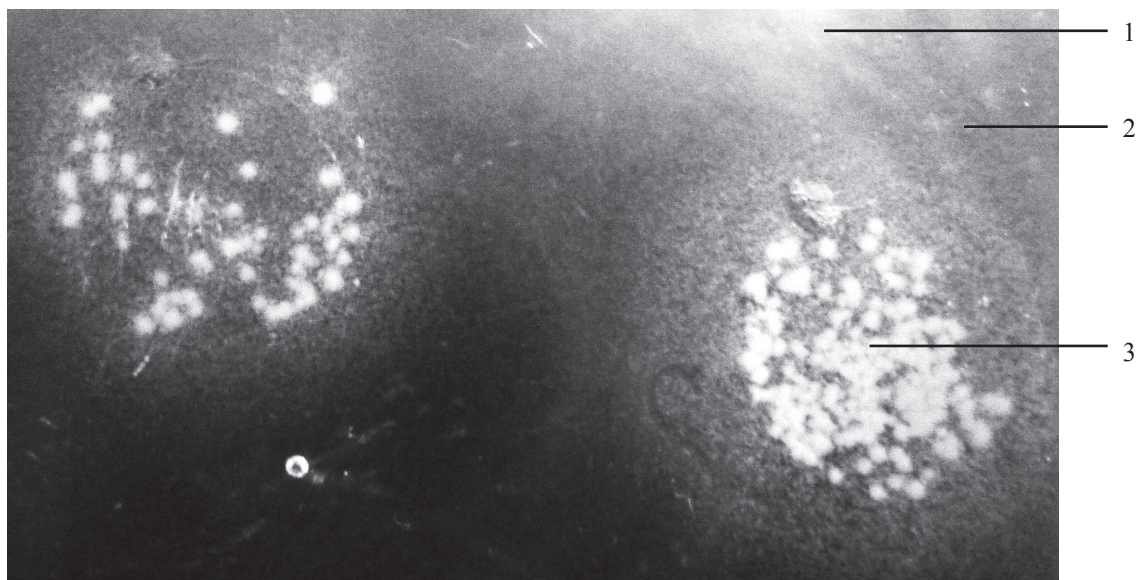


Рис. 1. Усиленный рост штаммов ацидофильной палочки (СКМ-500) вокруг штаммов кишечной палочки (СКМ-829): 1 – газон *L. acidophilus*; 2 – усиленный рост *L. acidophilus* вокруг *E. coli*; 3 – колония *E. coli*

Как самый слабый антагонист проявил себя в анаэробных условиях по отношению к штамму СКМ-829 штамм СКМ-499 ($\text{МСК}=10^4$). По отношению к штамму СКМ-830 самыми сильными антагонистами оказались штаммы СКМ-492 и СКМ-504, а самым слабым — штамм СКМ-499 ($\text{МСК}=10^6$).

Штамм СКМ-498, который в аэробных условиях проявил себя как самый слабый антагонист, в анаэробных условиях изменил свою антагонистическую активность по отношению к штамму СКМ-829 и вышел на один уровень со штаммами СКМ-497, СКМ-500 и СКМ-501 ($\text{МСК}=10^1$).

Исследования формы и края колоний штаммов ацидофильной палочки в аэробных и анаэробных условиях выявили следующие морфологические отличия (рис. 2).

В аэробных условиях клетки штаммов ацидофильной палочки длинные, тонкие, извитые, в колонии расположены разреженно. В анаэробных условиях края колонии значительно ровнее, клетки толстые, длинные, в колонии они плотно прилегают друг к другу. Следовательно, газон в анаэробных условиях получается гуще, и соответственно антагонистический эффект выражается сильнее.

Таким образом, в анаэробных условиях штаммы *L. acidophilus* проявляют больший антагонистический эффект, чем в аэробных условиях, причем наиболее сильные антагонисты по отношению к штаммам тест-культуры *E. coli* штаммы СКМ-492 и СКМ-504, а самые слабые — штаммы СКМ-505 и СКМ-499.

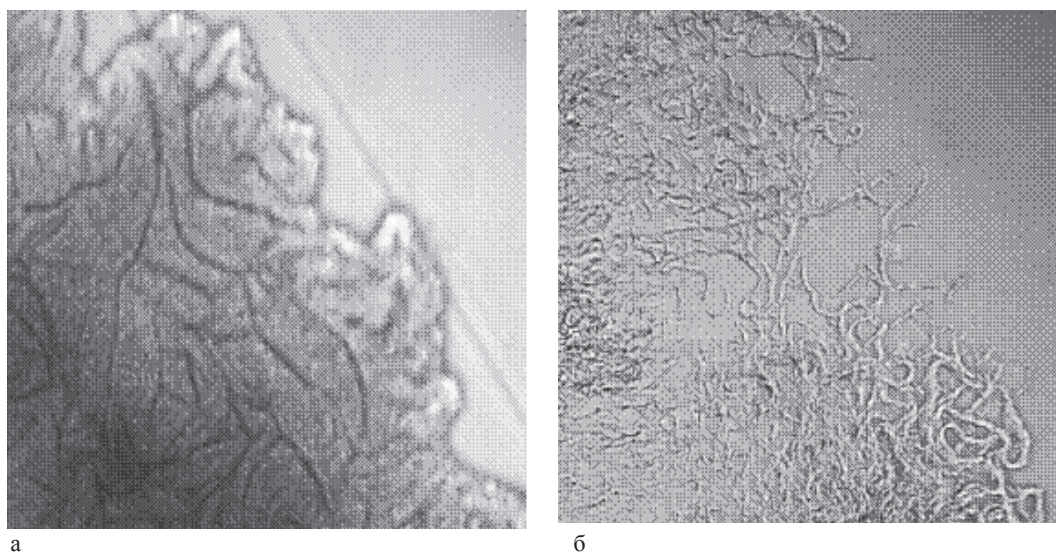


Рис. 2. Края колонии штамма СКМ-492 на поверхности агаровой среды (увеличение $\times 40$): а – аэробные условия; б – анаэробные условия

Библиографический список

1. Иркитова А.Н. Эколого-биологическая оценка штаммов *Lactobacillus acidophilus*, используемых в производстве пробиотических продуктов : автореф. дис. ... канд. биол. наук. — Пермь, 2012.
2. Иркитова А.Н., Каган Я.Р., Соколова Г.Г. Антагонистическая активность молочных культур *Lactobacillus acidophilus* по отношению к тест-штаммам *Escherichia coli* // Известия Алтайского государственного университета. — 2011. — № 3/2.
3. Банникова Л.А., Королева Н.С., Семенихина В.Ф. Микробиологические основы молочного производства. — М., 1987.