

УДК 579.8:576.8

Т.В. Чаевская, ассистент; Л.Л. Богданова, м.н.с. УП «БелНИКТИММП»;
Н.А. Белясова, доцент; Н.В. Гриц, доцент

ПЕРЕНОС ДЕТЕРМИНАНТ ФАГОРЕЗИСТЕНТНОСТИ В ХОДЕ ГЕНЕТИЧЕСКОГО ОБМЕНА В СИСТЕМЕ ЛАКТОКОККОВ

Under protoplasts fusion of phage sensitive aroma produced bacteria *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* var. *diacetylactis* 631/6 and phage resistance bacteria *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* L91 were obtained fusants with ability to produce aromatic substances, resistance to bacteriophages and more valuable industrial characteristics.

На предприятиях молочной промышленности при производстве кисломолочных продуктов широко распространено такое явление, как фаголизис, которое создает немалые проблемы специалистам и сказывается на качестве продукции, а также на ее себестоимости [1]. Явление фаголизиса состоит в массовом выходе зрелых фаговых частиц из клеток микроорганизмов, который сопровождается инфицированием соседних заквасочных бактерий и их лизисом.

Целью данного исследования являлось получение фагоустойчивых ароматобразующих лактококков, чьи производственные характеристики не уступали бы родительским штаммам, используемым в настоящее время в составе заквасок. Применение для генетической селекции метода слияния протопластов позволяет комбинировать признаки родительских бактерий в клетках одного штамма [2]. При этом можно получить варианты, не встречающиеся в окружающей среде.

Для эксперимента по получению фагоустойчивых фузантов был отобран штамм *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* var. *diacetylactis* 631/6, устойчивый к рифампицину (12,5 мкг/мл) и чувствительный к большинству коллекционных фагов. В качестве второго родительского штамма использовали *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* L91, фагорезистентный, но чувствительный к рифампицину. В исследовании использовали разработанный ранее метод и оптимизированные условия получения, регенерации и слияния протопластов бактерий рода *Lactococcus* [3].

Высев смеси протопластов родительских штаммов осуществляли на плотную гипертоническую среду, содержащую рифампицин. На такой селективной среде имели возможность регенерировать клеточную стенку и формировать колонии бактерии *L. diacetylactis* 631/6, а также устойчивые к рифампицину фузанты, среди которых вероятно присутствие фагорезистентных форм. Для отбора последних производили смывы клеток с гипертонической среды и обработку суспензий бактериофагами, к которым чувствительны бактерии *L. diacetylactis* 631/6.

Из обработанных фаголизатами суспензий производили высевы на полноценную среду и отбирали изолированные колонии, клетки которых тестировали на устойчивость к используемым бактериофагам и способность сквашивать молоко. Для бактерий, наследующих оба свойства, определяли время сквашивания молока и способность к ароматобразованию (табл.).

Одной из наиболее важных производственных характеристик заквасочных штаммов лактококков, определяющих процесс производства кисломолочных продуктов, является скорость сквашивания молока. Данный показатель для бактерий рода *Lactococcus* должен находиться в интервале 5–8 ч.

Способность образовывать ароматические вещества характерна только для одного из родительских типов—*Lactococcus lactis* ssp. *lactis* var. *diacetylactis* 631/6. Этот признак выявляется по появлению розово-малинового окрашивания при добавлении 40%-ного раствора КОН к оттопленной сыворотке. Данный тест являлся определяющим при анализе фузантов, поскольку позволяет судить о принадлежности отобранных бактерий к разновидности *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* var. *diacetylactis* (табл.).

Таблица

Производственные характеристики фагоустойчивых фузантов

Штамм	Время сквашивания молока, ч	Время окрашивания 40%-ным раствором КОН, мин
L91	5	—
631/6	5,5	20
Rn 1/1	5,5	8
Rn 1/2	5	—
Rn 2/1	5	20
Rn 2/2	5,5	5
Rn 3/1	5	±
Rn 3/2	5	—
Rn 4/1	5	20
Rn 4/2	5	>40
Rn 5/1	5	20
Rn 5/2	5	—
Rn 6	5,5	25

Примечание: "—" — отсутствие окрашивания (ароматобразования),
"±" — слабое окрашивание.

Из таблицы видно, что такой показатель, как время сквашивания молока, сохранился у рекомбинантных штаммов на уровне родительских. Способность к ароматобразованию наследовали не все фузанты, тем не менее у двух рекомбинантных штаммов этот показатель улучшился по сравнению с родительскими бактериями.

Полученные фагорезистентные ароматобразующие бактерии пригодны для использования в составе заквасок для производства кисломолочных продуктов после определения стабильности наследования приобретенных в ходе слияния протопластов признаков и органолептических свойств.

ЛИТЕРАТУРА

1. Банникова Л.А., Королева Н.С., Семенихина В.Ф. Микробиологические основы молочного производства. — М.: Агропромиздат, 1987. — 400 с.
2. Стенько А.С. Протопласты как модель генетического исследования у микроорганизмов // Молекул. биология. — 1982. — Вып. 32. — С.7–16.
3. Беясова Н.А., Чаевская Т.В., Гриц Н.В. Оптимизация условий получения и регенерации протопластов молочнокислых стрептококков // Труды БГТУ. Серия 3. Химия и технология органических веществ. — 1997. — Вып. 5.