

**ГЕНОТИПИЧЕСКАЯ ДИФФЕРЕНЦИАЦИЯ
МОЛОЧНОКИСЛЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ
ПРИ СОСТАВЛЕНИИ БАКТЕРИАЛЬНЫХ КОНСОРЦИУМОВ**

Бирюк Е. Н., Фурик Н. Н., Подберезко Д. В., Титова О. А.

РУП «Институт мясо-молочной промышленности»

г. Минск, Республика Беларусь

Для создания устойчивых к фагам консорциумов необходимо использование штаммов, имеющих низкий уровень внутривидового генетического родства. Использование таких культур в составе консорциумов для заквасок стабилизирует их производственно-ценные свойства (газо- и ароматообразование, кислотообразование, фагоустойчивость и т. д.), что, в свою очередь, обеспечит гарантированное получение ферментированных продуктов высокого качества.

Молекулярное типирование позволяет дифференцировать культуры по генотипу и выявлять группы наиболее родственных штаммов. Для выявления внутривидовой генетической гетерогенности при необходимости анализа большого количества штаммов наиболее часто применяют амплификацию со случайными праймерами (RAPD), амплификацию консервативных повторяющихся последовательностей (Rep-ПЦР) и риботипирование (ITS-ПЦР) [1-5].

В экспериментах использовали 15 штаммов молочного лактококка, 14 штаммов ароматобразующего лактококка и 8 штаммов термофильного стрептококка.

Схема генотипической дифференциации исследуемых бактерий состояла из проведения амплификации с использованием для Rep-ПЦР праймеров: ERIC2-1, ERIC1R1, BOX A1R; для RAPD-ПЦР праймеров: P15, P16 (для лактококков) и XD8, XD9 (для термофильного стрептококка), электрофоретического разделения синтезированных продуктов и анализа получившихся «фингерпринтов».

Для оценки генетического родства исследуемых культур результаты генотипирования переводили в бинарные матрицы (наличие фрагмента обозначали 1, отсутствие – 0) и проводили кластерный анализ с помощью программы TREECON.

В результате проведения молекулярно-генетической дифференциации среди 15 культур молочного лактококка было выделено 4 генетически различающиеся группы. Штаммы внутри каждой группы характеризуются генетическим сходством. Остальные культуры формировали отдельные филогенетические ветви.

Все образцы ароматообразующего лактококка разделились на две генетические группы (А и В), три штамма достоверно отличаются от остальных образцов и могут использоваться в комбинации с любыми образцами из групп А и В.

Среди исследуемых культур термофильного стрептококка отдельно в филогенетическом дереве располагается образец р625/6-3. Остальные изоляты термофильного стрептококка формируют две группы бактерий, которые обладают высокой степенью сходства внутри группы.

Подбор кислотообразующих основ для заквасочных консорциумов осуществляли на основе изучения производственно-ценных свойств штаммов и с учетом результатов их внутривидовой генотипической дифференциации.

Для включения штаммов в состав бактериальной основы изучали кислотообразующую активность, сквашивающую активность в пастеризованном обезжиренном молоке и проводили оценку органолептических свойств молочных сгустков, образуемых исследуемыми культурами в соответствии с ТИ ВУ 100098897.167-2009. В одну кислотообразующую основу выбирали штаммы, близкие по энергии кислотообразования, но из разных генетических групп.

На следующем этапе было проведено конструирование бактериальных консорциумов для творога. К кислотообразующим основам добавляли штаммы ароматообразующего лактококка и термофильного стрептококка и проводили оценку полученных пятиштаммовых консорциумов.

В результате исследований по совокупности органолептических свойств и учетом внутривидовой генотипической дифференциации сконструированы два заквасочных консорциума для производства творога.

ЛИТЕРАТУРА

1. Rossetti L., Giraffa G. Rapid identification of dairy lactic acid bacteria by M13-generated, RAPD-PCR fingerprint databases // *J. Microbiol.Methods*. 2005. – V.63(2).
2. Ruiz P. Intraspecific genetic diversity of lactic acid bacteria from malolactic fermentation of Cencibel wines as derived from combined analysis of RAPD-PCR and PFGE patterns // Patricia Ruiz, Pedro Miguel Izquierdo, Susana Sesen, M. Llanos Palop / *Food Microbiology*. – 25 (2008). – P. 942–948.
3. Samarzija D, Sikora S, Redzepović S, Antunac N, Havranek J. Application of RAPD analysis for identification of *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* strains isolated from artisanal cultures. // *Microbiol Res*. 2002. - V.157. - P.13-17.
4. Stern M.J., Ames G.F., Smith N.H., Robinson E.C., Higgins C.F. Repetitive extragenic palindromic sequences: a major component of the bacterial genome. // *Cell*. 1984. V.37. P.1015-1026.