

УДК 579.663

ЖИДКАЯ СРЕДА ДЛЯ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ *PROPIONIBACTERIUM FREUDENREICHII*

Бучина Ю. А. *, студент 4 курса естественно – географического факультета
Научные руководители – Васильев Д.А. **, доктор биологических наук,
профессор; Шестаков А.Г. **, кандидат биологических наук, старший
научный сотрудник; Батраков В.В. *, кандидат биологических наук, доцент

*ФГБОУ ВПО Ульяновский государственный педагогический
университет им. И.Н. Ульянова

**ФГБОУ ВПО «Ульяновская ГСХА им. П.А. Столыпина»

Ключевые слова: *Propionibacterium freudenreichii*, жидкая среда, витамин В12.

Аннотация. Работа посвящена обзору существующих жидких сред для культивирования *Propionibacterium freudenreichii*. При выполнении практической части работы выбрана среда, позволяющая культивировать бактерии *Propionibacterium freudenreichii* с наибольшим выходом биомассы.

Пропионовокислые бактерии (ПКБ) имеют разнообразное практическое применение. Достаточно напомнить, что *Propionibacterium freudenreichii subsp. shermanii* (далее – *P. freudenreichii*) – основная и незаменимая культура, используемая в мировом производстве «твёрдых» сыров, а в России – и в производстве витамина В12, однако области применения ПКБ этим не ограничены. Биология ПКБ вызывает научный интерес специалистов разных профилей. Регулярно проводится международный тематический симпозиум “*Propionibacteria*”. Научный интерес вызывает неоднозначность метаболизма ПКБ, например их отношение к молекулярному кислороду. Исходя из основного способа получения энергии (пропионовокислого брожения, ПБ) и способности развиваться при доступе кислорода, – это аэротолерантные анаэробы (Определитель бактерий Берджи, девятое издание, 1997), но их относят к микроаэрофильным организмам (Воробьёва, 1995). Правильно сконструированные оптимальные среды позволяют бактериям производить обильное количество экзополисахарида (Батраков и др., 2014), который препятствует негативному влиянию различных химических соединений на бактериальные клетки (Малинов, 2012).

Существует ряд сред включающие в свой состав органические и неорганические компоненты. Однако наиболее оптимальными на наш взгляд являются синтетические среды с органическим источником азота в форме дрожжевого экстракта и пептона.

Состав на 1 литр первой прописи среды:

Казеин или пептон	10.0г
Лактат натрия	10.0г
Дрожжевой экстракт.....	5.0г
pH 7.0–7.2 при 25°C	

Приготовление питательной среды: Все компоненты смешивают в 1 литре дистиллированной воды и автоклавируют 15 минут при 121°C.

Наиболее активно на данной среде развиваются бактерии следующих видов: *Propionibacterium acidipropionici*, *Propionibacterium thoenii*, *Propionibacterium Freudenreichii*

Состав на 1 литр второй прописи среды:

Na ₂ HPO ₄ •2H ₂ O	3.0г
KH ₂ PO ₄	1.0г
Лактат натрия	40.0мл
pH 7.0 ± 0.2 при 25°C	

Раствор натрия лактата получают внесением порошка указанной соли в 100 мл дистиллированной воды. Приготовление питательной среды: Все компоненты смешивают в 1 литре дистиллированной воды и автоклавируют 15 минут при 121°C.

Наиболее активно на данной среде развиваются бактерии следующих видов: *Propionibacterium acidipropionici*, *Propionibacterium freudenreichii*, *Propionibacterium jensenii* и *Propionibacterium thoenii*.

Пропионовокислые бактерии являются активными продуцентами витамина B₁₂. Следует отметить, что синтез витамина зависит от условий культивирования. Известно, что для лучшего синтеза витамина B₁₂, является наличие в питательной среде ионов Co²⁺. Так же в некоторых литературных источниках указано, что ионы Co²⁺ могут являться предшественниками витамина B₁₂. Однако в указанных питательных средах, содержание кобальта минимально, либо отсутствует поэтому в питательную среду мы так же добавляли ионы Co²⁺, которые влияют на выход биомассы и синтез витамина B₁₂ (Воробьева, 1995).

Основываясь на литературных данных, нами была сконструирована среда следующего состава:

Вода дистиллированная	1000 мл.
Дрожжевой экстракт.....	10,0 г.
Дрожжевой экстракт.....	10.0г
KH ₂ PO ₄	1,0 г.
Na ₂ HPO ₄ •2H ₂ O	3,0 г.
CoSO ₄	1,0 мг.

Данную питательную среду мы разливали в пробирки по 10 мл и автоклавировали при 121°C в течение 15 минут. Затем заливали стерильным вазелиновым маслом и резко остужали в холодной воде. Таким образом, создавали

анаэробные условия. После внесения инокулята *Propionibacterium freudenreichii* штамм №1 культивирование проводили при 30°C в течение 96 часов. После культивирования наблюдали выраженный осадок кремового цвета. При окраске по Граму обнаруживали короткие грамм положительные ветвящиеся палочки.

Библиографический список:

1. Хоулт Дж., Криг Н. Определитель бактерий Берджи. В 2-х т./ Хоулт Дж., Криг Н.// Перевод с английского под редакцией акад. РАН Г. А. Заварзина. Москва. Издательство «Мир»,1997.
2. Воробьева, Л.И. / Пропионовокислые бактерии / Л.И. Воробьева. - М.: Изд - во МГУ, 1995. - 288 с.
3. Батраков В.В. Влияние L-аргинина на формирование внеклеточного полимерного матрикса бактериями *Pseudomonas aeruginosa* //Батраков В.В., Шестаков А.Г., Малинов Е.С., Васильев Д.А. // В сборнике: Любичевские чтения - 2014. Современные проблемы эволюции и экологии Сборник материалов международной конференции. 2014. С. 267-270.
4. Малинов Е.С. Влияние уксуснокислого свинца на планктонные и биопленочные формы *Pseudomonas aeruginosa* /Малинов Е.С., Шестаков А.Г., Васильев Д.А.//Ветеринария и кормление. 2012. № 5. С. 28-30.
5. Золотухин С.Н. Изучение чувствительности *E.coli* к колифагам / С.Н. Золотухин, Н.И. Молофеева, Д.А. Васильев // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. Ульяновск. - 2001. - № 11. - С. 59.
6. Золотухин С.Н. Чувствительность патогенных энтеробактерий, выделенных при диареях молодняка животных к антибиотикам и специфическим бактериофагам / С.Н. Золотухин, А.С. Мелехин, Д.А. Васильев, Л.С. Каврук, Н.И. Молофеева, Л.П. Пульчеровская, Б.М. Коритняк, Е.А. Бульканова // Профилактика, диагностика и лечение инфекционных болезней, общих для людей и животных. Ульяновск. - 2006. - С. 233-236.
7. Золотухин С.Н. Выделение и селекция клонов бактериофагов патогенных энтеробактерий / С.Н. Золотухин, Д.А. Васильев, Л.С. Каврук, Н.И. Молофеева, Л.П. Пульчеровская, Б.М. Коритняк, Е.А. Бульканова, Н.А. Феоктистова, Е.Н. Пожарникова, А.С. Мелехин, Н.Г. Барт, Н.П. Катмакова // Профилактика, диагностика и лечение инфекционных болезней, общих для людей и животных. Ульяновск. - 2006. - С. 227-230.
8. Курьянова Н.Х. Проблемы биологической диагностики орнитобактериоза / Н.Х. Курьянова, Н.И. Молофеева, Д.А. Васильев // Научный вестник Московского государственного горного университета. Москва. - 2009. - С. 170.
9. Золотухин С.Н. Штаммы бактериофагов малоизученных патогенных энтеробактерий и их практическое применение / С.Н. Золотухин, Д.А. Васильев, Л.С. Каврук, Л.П. Пульчеровская, Н.И. Молофеева, Б.М. Коритняк, А.Ю. Кузнецов,

- Е.А. Булькинова, Е.Н. Пожарникова, Н.А. Феоктистова, А.С. Мелехин, С.В. Ленева // Научные разработки и научно-консультационные услуги Ульяновской ГСХА. Информационно-справочный указатель. Ульяновск. - 2006. - С. 45-49.
10. Потатуркина-Нестерова Н.И. Атомно-силовая микроскопия как метод исследования в микробиологии / Н.И. Потатуркина-Нестерова, И.С. Немова, А.В. Даньшина // Современные проблемы науки и образования. - 2012. - № 3. - С. 316.
 11. Елистратова Л.Л. Современное состояние проблемы демодекоза / Л.Л. Елистратова, Н.И. Потатуркина-Нестерова, А.С. Нестеров // Фундаментальные исследования. - 2011. - № 9-1. - С. 67-69.13. Потатуркина-Нестерова Н.И. Изменение вирулентных свойств урогенитальных энтерококков в условиях межмикробных взаимоотношений / Н.И. Потатуркина-Нестерова, И.С. Немова, М.Н. Артамонова, Е.Б. Хромова, О.Е. Хохлова, Н.В. Трофимова, О.В. Теплякова, И.А. Кочергина // Современные проблемы науки и образования. - 2013. - № 1. - С. 8.
 12. Белозерова Е.А. Влияние хронического поступления солей меди, цинка и свинца на микробиологический баланс толстой кишки в условиях эксперимента / Е.А. Белозерова, Н.И. Потатуркина-Нестерова, Е.С. Климов. -Токсикологический вестник. - 2007. - № 4. - С. 26-30.
 13. Яцишина С.Б. Применение мультиплексной ПЦР для идентификации вирулентных форм возбудителя сибирской язвы / С.Б. Яцишина, И.Л. Обухов, Л.С. Саленко, Б.И. Шморгун и др. // Сб. тезисов Генодиагностика инфекционных заболеваний. Всеросс. науч.-практич. Конференция. – 2002.
 14. Калдыркаев А.И. Разработка системы фаговаров *Bacillus cereus* / А.И. Калдыркаев, Н.А. Феоктистова, Д.А. Васильев, А.В. Алешкин, С.В. Мерчина // Материалы V Международной научно-практической конференции. Ульяновск, ГСХА им. П.А. Столыпина. -. 2013. - С. 178-185.
 15. Макеев В.А. Изучение чувствительности бактерий рода *Bacillus* к различным концентрациям хлорида натрия / В.А. Макеев, М.А. Юдина, А.Х. Мустафин, А.И. Калдыркаев, Н.А. Феоктистова, С.В. Мерчина // Ветеринарная медицина XXI века: инновации, опыт, проблемы и пути их решения Международная научно-практическая конференция, посвященная Всемирному году ветеринарии в ознаменовании 250-летия профессии ветеринарного врача. Ульяновск. - 2011. - С. 185-187.

THE LIQUID MEDIUM FOR CULTURING PROPIONIBACTERIUM FREUDENREICHII

Buchina Y.A, Vasilyev D.A, Shestakov A.G, Batrakov V.V

Key words: Propionibacterium freudenreichii, fluid, vitamin B12.

Summary. The work is devoted to the review of existing liquid media for the cultivation of Propionibacterium freudenreichii. In carrying out the practical part of the selected environment to cultivate the bacteria Propionibacterium freudenreichii with the highest biomass yield.