

УДК 579.24, 579.222

UDC 579.24, 579.222

**ШТАММОСПЕЦИФИЧЕСКИЕ
ОСОБЕННОСТИ В СОСТАВЕ И ДИНАМИКЕ
КАРБОНОВЫХ КИСЛОТ ПРИ
ВЫРАЩИВАНИИ БАКТЕРИЙ *ESCHERICHIA
COLI* И *SALMONELLA ENTERITIDIS*¹**

**STRAIN SPECIFIC FEATURES OF THE
COMPOSITION AND DYNAMICS OF THE
CARBOXYLIC ACIDS DURING CULTIVATION
ESCHERICHIA COLI AND *SALMONELLA
ENTERITIDIS***

Полевая Елена Валерьевна
аспирант

Polevaya Elena Valeryevna
postgraduate student

Вахитов Тимур Яшэрович
д.б.н
*Государственный научно-исследовательский ин-
ститут особо чистых биопрепаратов, Россия,
197110, Санкт-Петербург, ул.Пудожская, д.7 len-
na_22@mail.ru*

Vakhitov Timur Yasherovich
Dr.Sci.Biol.
*State research institute of highly pure biopreparations,
Saint-Petersburg, Russia*

Яковлева Елена Павловна
д.б.н., профессор
*Санкт-Петербургская государственная химико-
фармацевтическая академия, Санкт-Петербург,
Россия*

Yakovleva Elena Pavlovna
Dr.Sci.Biol., professor
*Saint-Petersburg state chemical pharmaceutical acad-
emy, Saint-Petersburg, Russia*

Исследован качественный и количественный со-
став низкомолекулярных карбоновых кислот (НК)
в культуральной жидкости (КЖ) четырех штаммов
Escherichia coli и *Salmonella enteritidis*
var.Issatchenko. Показано, что помимо различий в
составе НК, их динамика в процессе роста бакте-
рий, а также общая концентрация в КЖ являлись
штаммоспецифической характеристикой. Выявле-
ны различия в составе и динамике НК, характер-
ные только для пробиотических и только для
условно-патогенных штаммов

Qualitative and quantitative composition of the low-
molecular carboxylic acids (CA) which were contained
in the cultural liquid (CL) of the four strains of *Esche-
richia coli* and *Salmonella enteritidis var.Issatchenko*
was investigated. The differences in the composition
of the CA were shown, their dynamics during the bac-
terial growth and their total concentration in CL were
strain specific characteristic. The differences in the
composition and dynamics of the CA, which are spe-
cific only to probiotic and opportunistic strains were
revealed

Ключевые слова: НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫЕ
КАРБОНОВЫЕ КИСЛОТЫ, ПРОБИОТИЧЕСКИЕ
И УСЛОВНО-ПАТОГЕННЫЕ ШТАММЫ,
КОММУНИКАЦИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ

Keywords: LOW-MOLECULAR CARBOXYLIC
ACIDS, PROBIOTIC AND OPPORTUNISTIC
STRAINS, COMMUNICATION BETWEEN
MICROORGANISMS

Взгляд на физиологические функции выделяемых бактериями metabo-
литов в настоящее время претерпевает значительные изменения. Исследо-
вания последних лет показали, что экзометаболиты, в том числе низкомо-
лекулярные карбоновые кислоты, являются не просто конечными продук-
тами обмена, но и обладают определенными регуляторными функциями.

¹ Работа выполнена при финансовой поддержке грантов Министерства образования и науки РФ (гос.контракт № 16.512.11.2225) и «У.М.Н.И.К.» (№ 14193).

Многие карбоновые кислоты обладают специфичностью, то есть по-разному влияют на рост культур разных видов и даже штаммов.

Согласно данным литературы добавление ацетата в среду культивирования *E.coli* приводило к повышению экспрессии одних белков и понижению других, в результате чего устойчивость бактерий к стрессу повышалась в 50-400 раз. Формиат, подавлял синтез ряда индуцировавшихся ацетатом белков [2; 3].

Высокие концентрации ацетата и низкие рН подавляли синтез шигатоксина у *E.coli* O157:H7 *in vivo* и *in vitro* [5; 6]; пропионовая, уксусная и масляная кислоты ингибировали рост энтерогеморрагической *E.coli* O157:H7 [7] и увеличивали экспрессию генов вирулентности, отвечающих за колонизацию кишечника [8; 9; 10]. Масляная кислота подавляла экспрессию 19 генов вирулентности *Salmonella enterica* [11], а формиат обеспечивал ее инвазию. Штамм с делецией генов ацетаткиназы и фосфотрансацетилазы (*ackA-pta*) выделял в 68 раз меньше формиата, чем дикий тип, и по этой причине оказался неспособен к инвазии и экспрессии ряда генов вирулентности. Добавление формиата восстанавливало экспрессию генов и инвазивность штамма. Полагают, что формиат регулирует не только процесс инвазии, но и определяет ее локализацию в кишечнике хозяина [12]. Имеются и другие примеры подобной регуляции [10; 11; 13].

Наличие регуляторных функций у внеклеточных НК заставляет по-новому относиться к изучению их динамики в процессе роста микроорганизмов, полагая, что она является не только усредненной характеристикой биохимических процессов, протекающих у отдельных клеток, но и причиной их согласования у всех членов популяции. Поскольку одни и те же НК по-разному действуют на разные виды и штаммы, следует ожидать, что и их динамика в процессе выращивания каждой культуры будет иметь свои особенности.

Целью настоящей работы являлось сравнительное изучение состава и динамики низкомолекулярных карбоновых кислот, выделяемых в среду культивирования четырьмя штаммами *Escherichia coli* и одним штаммом *Salmonella enteritidis*.

Материалы и методы

Культуры бактерий. Объектами исследования служили пробиотические и условно-патогенные бактерии: *Escherichia coli* М-17 (производственный штамм, входящий в состав пробиотика «Колибактерин»), *E. coli* К-12 VL 613 (пробиотический штамм, продуцирующий лизин и способный длительное время существовать в желудочно-кишечном тракте сельскохозяйственных животных), *E. coli* O75 №5557 (условно-патогенный штамм), *E. coli* №14 (условно-патогенный штамм), *Salmonella enteritidis* var.*Issatchenko* (штамм, патогенный для грызунов). Все штаммы поддерживали в коллекции ФГУП «ГосНИИ ОЧБ» ФМБА России.

Условия культивирования бактерий. В работе использовали два способа выращивания посевного материала:

1) Замороженные культуры пересевали на чашки Петри с агаризованной средой (LB-агар) и выращивали 18 – 20 часов при 37°C, клетки смывали 0.85 % раствором хлорида натрия и использовали в качестве посевного материала.

2) Смывы с LB-агара клетки суспендировали в глюкозо-минеральной среде М-9 (с 0.4 % глюкозы и 0.005 % никотиновой кислоты; рН 7.2-7.4) в концентрации, соответствующей 0.2 – 0.3 единицам оптической плотности (D_{460}) по 100 мл в 0.75 л колбы. Выращивание проводили на качалке (“Gerhardt”, Германия) с постепенным увеличением оборотов от 150 до 200 при 37°C до стационарной фазы роста. Конечная плотность культуры обычно составляла 3 – 6 D_{460} . Полученные культуры использовали в качестве посевного материала. Эксперименты проводили в 3 – 4-кратных повторностях.

Контроль роста культур бактерий. Контроль роста осуществляли каждый час, начиная с момента засева. Оптическую плотность измеряли на спектрофотометре UV-mini (“Shimadzu”, Япония) на длине волны 460 нм (D_{460}) в односантиметровой кювете. Отобранные пробы центрифугировали при 3000 g в течение 10 минут при 4 °С. Супернатант фильтровали через фильтр Millipore 0.45μ и хранили при -7°С.

Хроматографический анализ карбоновых кислот. Анализ НК проводили методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) на специализированной колонке Supelcogel H 250×4.6 мм (“Sigma-Aldrich”, США) в 0.1% фосфорной кислоте с 5% ацетонитрила со скоростью потока 0.3 мл/мин при температурах 25°С и 55 °С. Установка ВЭЖХ состояла из насоса LAB-20 (“Shimadzu”, Япония), термостата и блока измерения Uvicord SD (“LKB”, Швеция). Результаты регистрировали и обрабатывали с помощью программного обеспечения «МультиХром». Все использованные реактивы имели соответствующую квалификацию (осч).

Идентификация и определение концентрации кислот. Идентификацию НК осуществляли на основе сравнения их времен удержания с временами удержания стандартных образцов при 2-х температурах разделения и путем внесения стандартного образца кислоты в анализируемую пробу. Концентрацию кислот определяли по разности высот или площадей пиков с добавлением и без добавления эталона.

В таблицах и на рисунках приведены средние арифметические величины. Значения в таблице 1 рассчитывали путем усреднения максимальных концентраций НК, выделяемых культурами во всех вариантах культивирования.

Расчет параметров кривой роста культур. Удельную скорость роста бактерий (μ) рассчитывали по формуле экспоненциального роста [14]. Длительность лаг-периода определяли методом наименьших квадратов, расчет скорости выделения НК (v) проводился по формуле:

$$v = \frac{c_k - c_{(k-1)}}{t_k - t_{(k-1)}}$$

где c_k и $c_{(k-1)}$ – концентрации кислот в моменты времени t_k и $t_{(k-1)}$ соответственно.

Для всех вычислений использовали статистические инструменты MS Excel.

Результаты и обсуждение

Состав и количество НК в КЖ четырех штаммов *E. coli* и одного штамма *S. enteritidis*. Объектами настоящего исследования являлись близкородственные микроорганизмы, однако для каждого из них был характерен свой состав и количество НК. Штаммы, не различавшиеся по качественному составу выделяемых кислот, заметно отличались друг от друга по их количественному содержанию.

Общими для всех бактерий продуктами метаболизма являлись уксусная и муравьиная кислоты (ацетат и формиат), кроме того три штамма из пяти выделяли молочную кислоту (лактат) и один – янтарную (сукцинат) (табл.1).

Таблица 1 – Состав и количество НК в культуральной жидкости четырех штаммов *E. coli* и *S. enteritidis var.Issatchenko*.

Анионы карбоновых кислот	Культура микроорганизма				
	<i>E.coli</i> M-17	<i>E.coli</i> VL 613	<i>E.coli</i> №14	<i>E.coli</i> O75	<i>S.enteritidis</i>
ацетат	5,86	3,89	6,38	5,01	4,02
формиат	0,92	1,82	2,82	0,55	0,4
лактат	1,9	-	0,89	0,43	-
сукцинат	-	0,46	-	-	-

Примечание к табл.1 и 2. Прочерк – не обнаружено.

Наибольшее количество ацетата и формиата выделял штамм №14, наименьшее количество ацетата – VL 613, формиата – *S.enteritidis* и *E.coli* O75. По количеству других кислот, последние 2 штамма также оказались весьма похожими.

Пробиотический штамм М-17 выделял наибольшее количество лактата, а *S. enteritidis* и *E. coli* VL 613 – совсем его не выделяли. При этом *E. coli* VL 613 оказался единственным штаммом, который выделял сукцинат. Возможно, что высокое содержание лактата является фактором выраженной антагонистической активности штамма М-17.

Влияние способа выращивания посевного материала на рост бактерий и выделение НК В задачи настоящей работы входило сравнение двух основных способов приготовления посевного материала – выращивание клеток на плотной и жидкой питательных средах. В биотехнологии эти способы обычно применяются последовательно в ходе подготовки посевного материала для засева в промышленный ферментатор.

Если для засева использовали культуру выращенную на жидкой среде, ее засев в свежую жидкую среду сопровождался переносом метаболитов со стационарной фазы старой культуры на лаг-фазу новой. При смыве бактерий с плотной питательной среды метаболитов переносилось меньше, что можно видеть на рисунке 1 при сравнении значений нулевых точек правых и левых графиков.

Для большинства бактерий основными переносимыми метаболитами, являлись ацетат и лактат. Ранее нами было показано, что их наличие в среде во многом определяло последующее развитие культуры *E. coli* М-17. Если в начале культивирования ацетат в среде отсутствовал, то рост не начинался до тех пор, пока его концентрация не достигала порогового значения. Добавление ацетата в среду приводило к сокращению лаг-периода. Внесение лактата лаг-период не сокращало, но при его добавлении вместе с ацетатом лаг-период сокращался больше, чем при добавлении только ацетата. Лактат, таким образом, не обладал собственной стимулирующей активностью, но усиливал действие ацетата [15].

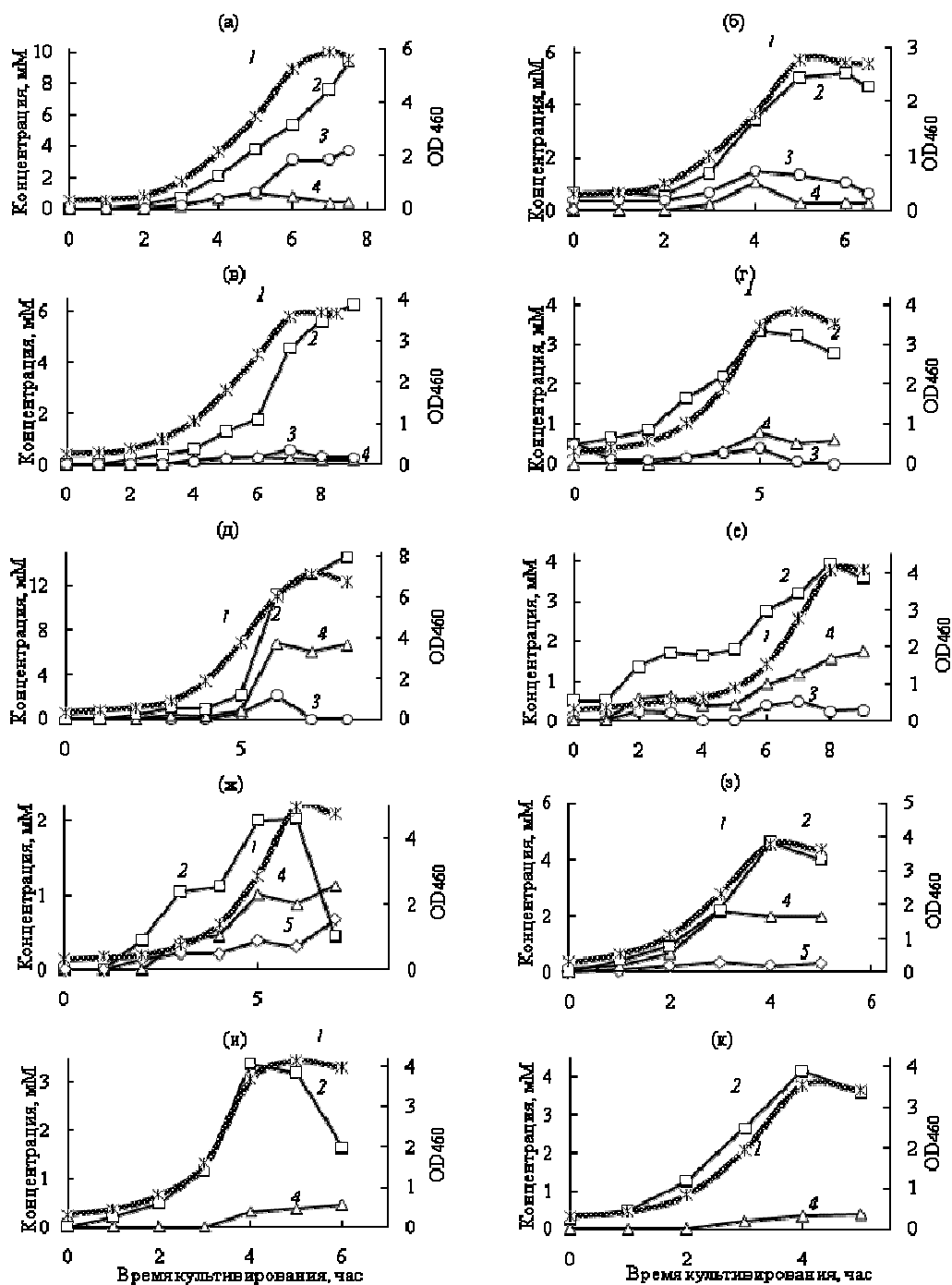


Рисунок 1 – Динамика роста и выделения НК штаммами *E.coli* М-17 (а, б), О75 (в, г), №14 (д, е), VL 613 (ж, з) и *S.enteritidis* (и, к). 1 – кривая роста, 2 – ацетат, 3 – лактат, 4 – формиат, 5 – сукцинат. Левые графики соответствуют засеву с плотной среды, правые – пересеву с жидкой среды.

Эти результаты подтвердились и в настоящей работе. Статистический анализ показал, что для штаммов М-17 и О75, при засеве которых в новую среду переносились ацетат и лактат, существовала отрицательная корреля-

ция между концентрацией ацетата в первый час роста и продолжительностью лаг-периода. Иными словами, чем больше была начальная концентрация ацетата, тем меньше длился лаг-период. Наибольший по абсолютному значению коэффициент корреляции был получен для штамма O75 – (-0.915), а наименьший – для M-17 – (-0.717). Коэффициент корреляции для лактата у обоих штаммов по абсолютному значению был меньше 0.5, таким образом, значимой корреляции с концентрацией лактата не наблюдалось. Из таблицы 2 видно, что при засева штамма №14 из старой среды в новую переносились ацетат и формиат. Как и в случае штаммов M-17 и O75, сильная отрицательная корреляция существовала только с концентрацией ацетата (коэффициент корреляции составлял (-0.676)).

Таблица 2 – Концентрация НК (мМ) в культуральной жидкости *E. coli* и *S. enteritidis* сразу после засева жидкой культурой

Анионы карбоновых кислот	Культура микроорганизма				
	<i>E.coli</i> M-17	<i>E.coli</i> VL 613	<i>E.coli</i> №14	<i>E.coli</i> O75	<i>S.enteritidis</i>
ацетат	0,68	-	0,68	0,49	0,31
формиат	-	-	0,18	-	-
лактат	0,35	-	-	0,20	-
сукцинат	-	-	-	-	-

Ранее на примере *E.coli* M-17 нами было показано, что при пересеве НК не только пассивно переносятся из одной среды в другую, но и могут дополнительно выделяться или поглощаться клетками. В настоящей работе это подтвердилось и для других бактерий. Так, например, концентрации лактата для штамма O75 и ацетата для *S.enteritidis* после их пересева оказались соответственно в 3 и 15 раз выше рассчитанных на основе состава КЖ посевного материала. Объяснить это можно только дополнительным выделением этих метаболитов. По крайней мере, в случае лактата это выделение энергетически выгодно клетке, поскольку сопровождается генера-

цией мембранного потенциала, необходимого для запуска ростовых процессов.

Обратный процесс – поглощение метаболитов – наблюдался при пересеве *E.coli* №14. Этот штамм отличался от других повышенным выделением формиата, однако при пересеве весь накопленный формиат поглощался бактериями и в составе среды не обнаруживался. Ранее считалось, что поглощение формиата не может приносить какой-либо энергетической выгоды клетке. В настоящее время существуют веские основания полагать, что окисление формиата и восстановление протонов с помощью формиат-водород-лиазы сопряжено с генерацией мембранного потенциала [16]. Таким образом, поглощение формиата штаммом №14 может быть для него точно таким же энергетическим толчком, инициирующим рост, как и выделение лактата штаммом O75.

Поглощение метаболитов наблюдалось и на других стадиях роста. На рисунке 1 видно, что вблизи стационарной фазы все микроорганизмы потребляли ацетат, причем для трех штаммов - *E.coli* M-17, O75 и №14 это потребление отмечалось только при пересеве культур с жидкой среды (рис.1б, г, е). Кроме того, при пересеве штамма №14 наблюдалось периодическое выделение-потребление лактата (рис.1е), не характерное для всех других штаммов. Интересно, что пробиотический штамм M-17 потреблял лактат только при засеве с плотной среды.

Несмотря на более продолжительный лаг-период культур, засеянных с плотной питательной среды, в дальнейшем они росли лучше, чем пересевянные с жидкой среды. Как видно на рисунке 1, при пересеве культур штаммов M-17, №14 и VL 613 с плотной среды, их оптическая плотность в конечном итоге была выше, чем при пересеве с жидкой. Для *E.coli* O75 и *S.enteritidis* результат роста в обоих случаях был приблизительно одинаков. Как уже отмечалось, эти два штамма были весьма схожи и по количеству выделяемых НК.

Важным показателем физиологии роста бактерий принято считать соотношение выделяемых ими продуктов. На рисунке 1 видно, что при засевах с плотной питательной среды все штаммы, за исключением VL 613, выделяли больше ацетата, а также молочной кислоты (М-17, №14 и O75) и/или формиата (*E.coli* №14 и *S. enteritidis*). Для штамма М-17 концентрация формиата не зависела от способа засева, а у O75 его было меньше при засевах с плотной среды. Для штамма VL 613, напротив, концентрация ацетата и формиата была выше при засевах с жидкой среды, однако сукцинат при этом способе засева он выделялся значительно меньше.

Анализ динамики НК. Концентрация ацетата, основного метаболита исследуемых бактерий, в целом изменялась схожим образом для всех бактерий. С первых часов роста его количество монотонно увеличивалось вплоть до стадии замедления роста или его окончания. В первом случае к моменту окончания роста концентрация ацетата несколько снижалась. Для каждого из штаммов в динамике ацетата были выявлены определенные особенности. Так, для штамма VL 613 на рисунке 1(ж) видны периоды, когда культура временно прекращала выделять ацетат, для штаммов М-17 и №14 в ходе культивирования его концентрация могла уменьшаться (б, е) либо резко увеличиваться (д).

Выделение формиата обычно связывают с ухудшением условий аэрации культуры, поскольку основной фермент пути его образования (пируват-формиат-лиаза) чувствителен к кислороду. Однако *E.coli* VL 613 выделял формиат уже на 1-м часу роста (рис. 1з), то есть в условиях высокой аэрации культуры. Возможно, что его пируват-формиат-лиаза отличалась особой устойчивостью к кислороду.

Поскольку концентрация растворенного кислорода снижается с увеличением плотности аэрируемой культуры, производство формиата по ходу культивирования должно возрастать. В действительности это правило выполнялось только для *S. enteritidis* (рис. 1и, к), выделявшей формиата мень-

ше других штаммов (табл.1). Остальные культуры с определенного момента переходили на потребление формиата, например, штамм М-17 на рис.1б и VL 613 на рис.1(з). Возможно, это было связано с необходимостью поддержания гомеостаза рН [3; 17], однако нельзя исключить и возможность его использования в энергетических или конструктивных целях.

Для большинства штаммов, за исключением М-17, отмечалось сходство в изменении концентраций ацетата и формиата. Статистический анализ показал, что коэффициент корреляции между концентрациями формиата и ацетата находился в пределах от 0.680 для *E.coli* VL 613 до 0.986 для *E.coli* №14. Для пробиотического штамма М-17, напротив, с динамикой ацетата коррелировала динамика лактата, коэффициент корреляции составлял соответственно 0.969. Высокие коэффициенты корреляции между концентрациями двух продуктов могут означать, что они одновременно участвуют в авторегуляции одних и тех же популяционных процессов.

В процессе роста *E.coli* М-17 и О75 лактат постепенно накапливался обоими штаммами и практически полностью потреблялся в начале фазы замедленного роста *E.coli* М-17 (рис.1б) и на стационарной фазе штаммом О75 (рис.1в, г). *E.coli* №14 поглощала лактат дважды: на фазе ускоренного роста и в начале стационарной фазы (рис.1д, е).

Единственным штаммом среди эшерихий, не выделявшим лактат, являлся штамм *E.coli* VL 613. И он же, единственный, выделял в среду сукцинат. Известно, что образование сукцината – продукта фумаратного дыхания – сопровождается генерацией мембранного потенциала. Динамика концентрации сукцината повторяла динамику формиата: в течение первой половины роста штамм VL 613 выделял сукцинат, а в середине логарифмической фазы начинал его потреблять. Две важные особенности этого штамма – раннее выделение формиата и наличие сукцината среди продуктов метаболизма позволяют полагать, что этот штамм больше других склонен к анаэробному метаболизму [18].

Концентрация НК и удельная скорость роста. Поскольку НК участвуют в регуляции роста культуры [15], представляло интерес сравнить динамику μ с концентрацией НК. В большинстве случаев, если исключить относительно непродолжительные периоды поглощения НК, повышение μ после засева культуры сопровождалось увеличением концентраций выделяемых НК (рис.2а). Затем концентрация НК продолжала расти, а значения μ снижались. При μ ниже 0.6, культуры начинали потреблять некоторые НК.

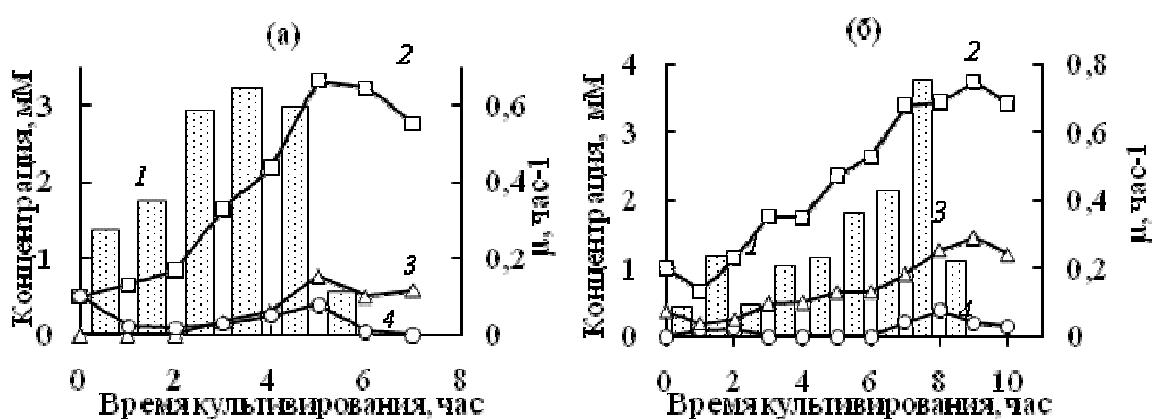


Рисунок 2 – Динамика НК и удельная скорость роста *E.coli* O75 (а) и №14 (б). 1 –удельная скорость роста (час⁻¹), 2 – ацетат, 3 – формиат, 4 –лактат.

У штамма №14 наблюдали два максимума удельной скорости роста, что отчетливо видно на гистограмме (рис.2б). Первый отмечался после потребления ацетата и формиата, и выделения лактата. Второй максимум наблюдался, когда общая концентрация НК достигала порядка 4 мг-экв/мл. Для остальных бактерий максимальные значения скорости роста (μ_{max}) соответствовали более низким концентрациям НК, например, для штаммов М-17 и O75 они составляли соответственно 0.9 и 2.0 мг-экв/мл. Возможно, что для каждого штамма существовала своя пороговая концентрация метаболитов, при которой удельная скорость его роста была максимальной.

Значения μ_{max} по-разному коррелировали с концентрацией НК. Для штаммов М-17, №14 и VL 613 при высокой концентрации кислот наблюдались низкие значения μ_{max} , а для *E.coli* O75 и *S.enteritidis* – наиболее высокие. Кроме того, величина μ_{max} коррелировала с концентрацией индивиду-

альных кислот. Для штамма М-17 высокие значения μ_{\max} наблюдались при низких концентрациях ацетата и лактата, а для VL 613 – ацетата и сукцината. Для условно-патогенных культур *E.coli* O75 и *S.enteritidis* с увеличением концентрации ацетата возрастала и μ_{\max} .

Скорость выделения НК и удельная скорость роста. Физиология роста культур определяется не только концентрацией НК в среде культивирования, но и скоростью их выделения с μ не только интегральные кривые, но и производные по времени от концентраций НК, т.е. скорости их выделения.

На рисунке 3 видно, что скорость выделения ацетата культурой *E.coli* VL 613 имела два максимума: первый – в начале культивирования при увеличении μ и второй – на фазе замедленного роста, когда μ заметно понижалась.

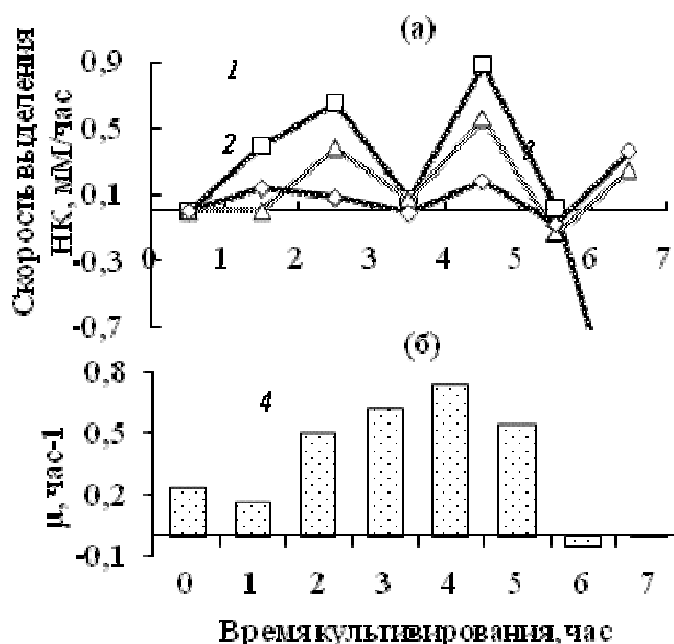


Рисунок 3 – Скорость выделения НК (мм/час) (а) и удельная скорость роста (час⁻¹) (б) *E. coli* VL 613. 1 – ацетат, 2 – формиат, 3 – сукцинат.

Наиболее выраженной двухфазность была у условно-патогенных штаммов №14 и O75 и пробиотического штамма VL 613. Известно, что ацетат выделяется культурой в двух случаях: либо в аэробных условиях

при высоких темпах роста, когда источник углерода не лимитирован, либо при снижении концентрации доступного кислорода и низкой скорости роста [19]. Можно полагать, что два пика на рис.3 как раз и соответствуют этим двум случаям.

Аналогичный эффект наблюдался и для других НК. На кривых скорости выделения лактата для штаммов М-17, О75 и №14 также можно было выделить две фазы. Для некоторых культур наличие двухфазности зависело от способа засева. Например, скорость выделения ацетата для *E.coli* М-17 и VL 613 и лактата для VL 613 носила двухфазный характер только при засеве с плотной среды. При засеве с жидкой среды имелся дополнительный максимум в конце роста бактерий. Аналогичный максимум в конце роста отмечался на графиках скоростей выделения формиата для штаммов VL 613, О75 и №14 (на рис.3 представлены графики только для *E.coli* VL 613). Отрицательные значения на приведенных кривых означали, что имело место поглощение соответствующих кислот.

Общая концентрация НК и рН при засеве культур с жидкой среды. Помимо состава и динамики НК штаммоспецифической особенностью являлась и их общая концентрация в КЖ. Наибольшее количество НК выделяли пробиотические штаммы VL 613 и М-17, общая концентрация НК составляла соответственно 7.1 и 6.7 мг-экв/л, а рН 6.71 и 6.67. Наименьшее количество кислот экскретировали условно-патогенные культуры, рН их КЖ был близок к нейтральным значениям. Так штамм №14 выделял 5.73 мг-экв/л, а *E.coli* О75 и *S.enteritidis* - только по 4.5 мг-экв/л, что подтверждало уже отмечавшееся ранее сходство этих культур.

Штаммоспецифической оказалась и пороговая концентрация метаболитов, при которой удельная скорость роста была максимальной. Кроме того, у одних штаммов высокая концентрация кислот коррелировала с высокими значениями μ_{max} , у других штаммов наблюдалась обратная корреляция.

Высокое содержание кислот, в особенности лактата, принято считать важным фактором антагонизма пробиотических бактерий. Нами, однако, было показано, что помимо этого лактат является стимулятором роста лактобацилл и бифидобактерий, то есть выполняет регуляторные функции на межвидовом уровне [19].

Полученные в результате работы данные могут использоваться для понимания механизмов коммуникации микроорганизмов и их практического применения: регуляции состава микробиоценозов и совершенствования процесса культивирования производственных культур.

Работа выполнена при финансовой поддержке грантов Министерства образования и науки РФ (гос.контракт № 16.512.11.2225) и «У.М.Н.И.К.» (№ 14193).

Список литературы

1. Вахитов Т.Я., Момот Е.Н., Шалаева О.Н. // Журн. микробиол. 2003. №6. С. 20-25.
2. Arnold C. N., McElhanon J., Lee A. et al. // J. Bacteriol. 2001. V.183. №7. P.2178-2186.
3. Kirkpatrick C., Maurer L. M., Oyelakin N. E. et al. // J. Bacteriol. 2001. V.183. P.6466-6477.
4. Stancik L.M., Stancik D.M., Schmidt B. et al. // J. Bacteriol. 2002. V.184. P.4246-4258.
5. Asahara T., Shimizu K., Nomoto K. et al. // Infection and Immunity. 2004. V.72. №4. P.2240-2247.
6. Carey C.M., Kostrzynska M., Ojha S., Thompson S. // J Microbiol. Methods. 2008. Vol.73. №.2. P.125-132.
7. Shin R., Suzuki M., Morishita Y. // J. Med. Microbiol. 2002. V. 51. P. 201-206.
8. Nakanishi N., Tashiro K. // Microbiology. 2009. V.155. P.521-530.
9. Tobe T, Nakanishi N., Sugimoto N. // Infection and Immunity. 2011. V. 79. №. 3. P. 1016-1024.
10. Herold S., Paton J. C., Srimanote P. // Microbiology. 2009. V. 155. №. 11. P. 3554-3563.
11. Gantois, R. Ducatelle, F. Pasmans et al. // Appl. Environ. Microbiol. 2006. V.72. №1. P. 946-949.
12. Huang Y., Suyemoto M., Garner Ch. D. et al. // J. Bacteriol. 2008. V.190. №12. P. 4233-4241.
13. Lawhon S.D., Maurer R., Suyemoto M., Altier, C. // Mol. Microbiol. 2002. V.46. №5. P.1451-1464.
14. Шлегель Г. Общая микробиология. М.: Мир, 1987. С. 192 – 194.
15. Вахитов Т.Я., Момот Е.Н., Толпаров Ю.Н. // Журн. микробиол. 2005. № 1. С. 16-21.
16. Акопян М., Поладян А., Баграмян К. // Биофизика. 2006. Т.51. №3. С.466-471.
17. Rossman R., Sawers G., Bock A. // Mol. Microbiol. 1991. Vol.5. P.2807-2814.
18. Alexeeva, S., Hellingwerf K. J., Teixeira de Mattos M. J. // J. Bacteriol. 2002. V.184. №5. P.1402-1406.
19. Вахитов Т.Я., Петров Л.Н. // Микробиология. 2006. №Т.75.№4. С. 483-488.