ISSN 2074-9414 (Print)
ISSN 2313-1748 (Online)

https://doi.org/10.21603/2074-9414-2021-3-574-583
УДК 579.67:579.82

Оригинальная статья
http://fptt.ru

Исследование устойчивости *Lactobacillus sakei* к осмотическому стрессу

А. П. Никифорова*, С. Н. Хазагаева, И. С. Хамагаева

Восточно-Сибирский государственный университет технологий и управления, Улан-Удэ, Россия

Поступила в редакцию: 29.03.2021
Принята после рецензирования: 22.04.2021
Принята в печать: 15.07.2021

**e-mail: anna.p.nikiforova@gmail.com*
© А. П. Никифорова, С. Н. Хазагаева, И. С. Хамагаева, 2021

Аннотация.
Введение. Разработка новых технологий бактериальных препаратов, предназначенных для применения при производстве рыбных продуктов, является актуальным направлением исследований. При изготовлении рыбных продуктов применяется поваренная соль, оказывающая ингибирующее действе на большинство микроорганизмов. Цель данной работы – изучить устойчивость молочнокислых бактерий вида *Lactobacillus sakei* к различным концентрациям соли.
Объекты и методы исследования. Штаммы молочнокислых бактерий вида *L. sakei* (*L. sakei* LSK-45 и *L. sakei* DSM 20017). При проведении исследования бактерии культивировали на полужидкой среде MRS с добавлением хлорида натрия в различных концентрациях. О росте бактерий судили по оптической плотности среды и количеству жизнеспособных клеток. Морфологию клеток бактерий изучали путем микроскопирования препаратов, окрашенных по Граму.
Результаты и их обсуждение. Оба штамма *L. sakei* выдерживают концентрации соли до 6 %, о чем свидетельствует высокая плотность клеточной популяции 10^9 КОЕ/см^3. При дальнейшем повышении концентрации до 10 % высокой устойчивостью к осмотическому стрессу характеризуется штамм *L. sakei* LSK-45. В конце культивирования плотность популяции снижается незначительно – до 10^8 КОЕ/см^3, а выживаемость составляет 92 %. У *L. sakei* DSM 20017 отмечается частичная гибель клеток: количество жизнеспособных клеток снижается до 10^6 КОЕ/см^3, а выживаемость до 62 %. Высокая устойчивость *L. sakei* LSK-45 к осмотическому стрессу обусловлена когезией клеток, которая усиливается при повышении концентрации соли и регулируется системой quorum sensing.
Выводы. Полученные данные демонстрируют гибкое реагирование *L. sakei* на изменение концентрации соли в питательной среде. При росте в экстремальных условиях *L. sakei* проявляют специальную стратегию выживания, основанную на коллективном поведении популяции микроорганизмов.

Ключевые слова. *Lactobacillus sakei*, хлорид натрия, молочнокислые бактерии, осмотический стресс, соль, солевой стресс, культивирование

Финансирование. Работа выполнена на базе ФГБОУ ВО «Восточно-Сибирский государственный университет технологий и управления» (ВСГУТУ) при поддержке гранта Президента РФ для молодых российских ученых-кандидатов наук (номер гранта МК-128.2020.11).

Для цитирования: Никифорова А. П., Хазагаева С. Н., Хамагаева И. С. Исследование устойчивости *Lactobacillus sakei* к осмотическому стрессу // Техника и технология пищевых производств. 2021. Т. 51. № 3. С. 574–583. https://doi.org/10.21603/2074-9414-2021-3-574-583.

Original article
Available online at http://fptt.ru/eng

Tolerance of *Lactobacillus sakei* to Osmotic Stress

Anna P. Nikiforova*, Sofia N. Khazagaeva, Irina S. Khamagaeva

East Siberia State University of Technology and Management, Ulan-Ude, Russia

Received: March 29, 2021
Accepted in revised form: April 22, 2021
Accepted for publication: July 15, 2021

**e-mail: anna.p.nikiforova@gmail.com*
© A.P. Nikiforova, S.N. Khazagaeva, I.S. Khamagaeva, 2021

Abstract.
Introduction. The development of new technologies of bacterial cultures for fish products is an important area of research. Sodium chloride (NaCl) has an inhibitory effect on most microorganisms and is often used in fish industry. The present research objective was to study the effect of NaCl on the growth of lactic acid bacteria of the species *Lactobacillus sakei*.
Study objects and methods. The research featured strains of lactic acid bacteria *L. sakei* (*L. sakei* LSK-45 and *L. sakei* DSM 20017). The bacteria were cultivated in a semi-liquid MRS medium supplemented with sodium chloride at various concentrations. The optical density (OD) of the medium and the viable cell counts served as indicators of bacterial growth. The morphology of bacterial cells was studied by microscopic examination of Gram-stained bacteria.
Results and discussion. Both *L. sakei* strains proved tolerant to NaCl concentrations up to 6% as proved by the high density of the cell population – 10^9 CFU/cm^3. When NaCl concentration reached 10%, *L. sakei* LSK-45 demonstrated the highest resistance to osmotic stress. At the end of cultivation, the population density dropped to 10^8 CFU/cm^3, and the survival rate was 92%. The number of viable cells of *L. sakei* DSM 20017 decreased to 10^6 CFU/cm^3, and the survival rate reached 62%. The high resistance of *L. sakei* LSK-45 to osmotic stress was caused by cell cohesion, which increased with the growing NaCl concentration and was regulated by the quorum sensing system.
Conclusion. *L. sakei* showed a flexible response to the changes in NaCl concentration. *L. sakei* LSK-45 strain had the highest resistance to osmotic stress.

Keywords. *Lactobacillus sakei*, sodium chloride, lactic acid bacteria, osmotic stress, salt, salt stress, cultivation

Funding. The research was performed on the premises of the East Siberian State University of Technology and Management (ESSUTM) with the financial support from the Presidential grant for young Russian Candidates of Sciences No. MK-128.2020.11.

For citation: Nikiforova AP, Khazagaeva SN, Khamagaeva IS. Tolerance of *Lactobacillus sakei* to Osmotic Stress. Food Processing: Techniques and Technology. 2021;51(3):574–583. (In Russ.). https://doi.org/10.21603/2074-9414-2021-3-574-583.

Введение

Рыба и рыбные продукты занимают важное место в рационе питания жителей многих регионов мира. Они являются одним из важнейших источников белковых веществ, а также макро- и микронутриентов, таких как витамины, минеральные вещества (цинк, железо, йод и селен). Следует также отметить, что употребление рыбных продуктов (т. е. изготовленных из морских видов рыб) обеспечивает необходимый уровень омега-3 жирных кислот. По сравнению с традиционными рационами питания современная западная диета характеризуется дефицитом омега-3 жирных кислот и нерациональным соотношением омега-6:омега-3 полиненасыщенных жирных кислот. Омега-3 жирные кислоты имеют множество преимуществ для здоровья человека. Они положительно влияют на мозговую деятельность, сердечно-сосудистую систему и играют важную роль при внутриутробном развитии.

Большинство длинноцепочечных полиненасыщенных жирных кислот не синтезируются млекопитающими и могут быть получены только из пищи. Рыбные продукты, в том числе рыбий жир, являются основными диетическими источниками ДГК (докозагексаеновой кислоты) и ЭПК (эйкозапентаеновой кислоты). Они являются незаменимыми кислотами и играют большую роль в нормальном развитии человека.

Известны различные способы консервирования рыбы, позволяющие сохранить, а также улучшить ее вкусовые свойства. Одним из традиционных способов консервирования является ферментация. В некоторых регионах мира существуют традиционно производимые ферментированные рыбные продукты. Например, в странах Северной Европы производятся такие продукты как ракфиск (Норвегия) сюрстрёмминг (Швеция), хакарл (Исландия); в странах Азии – nam pla (Тайланд), jeotgal (Корея), budu (Малайзия) и др. [1, 2].

Одним из основных промысловых видов рыб Байкальского региона является байкальский омуль. Ассортимент продуктов из него достаточно разнообразен. Среди продуктов из этой рыбы особый интерес представляет омуль «с душком», который традиционно производится с применением ферментации. Готовый продукт обладает своеобразным запахом, нежной консистенцией и приятным маслянистым вкусом. Одной из особенностей продукта является его характерный аромат, интенсивность которого может варьироваться от слабой до выраженной [3].

При производстве этого продукта применяется «неуправляемая» ферментация, что является причиной высокой продолжительности изготовления и нестабильности качественных характеристик. Этот недостаток характерен для большинства традиционных ферментированных продуктов питания. В связи с этим большой научный интерес представляет применение стартовых культур различных микроорганизмов для производства ферментированных рыбных продуктов [2, 4, 5]. Ферментация с помощью стартовых культур в сочетании с применением других методов

увеличения хранимоспособности рыбопродуктов («барьерные технологии») может использоваться для повышения микробиологической безопасности и качества. Подбору бактериальных штаммов, оптимальных для производства ферментированных рыбных продуктов, посвящены исследования зарубежных ученых. Установлено, что применение бактерий рода *Pediococcus* позволяет улучшить микробиологические характеристики рыбного соуса и сократить время ферментации [4]. Известны исследования, показывающие применение культур бактерий *Lactobacillus plantarum* 120, *L. plantarum* 145 и *Pediococcus pentosaceus* 220 для производства традиционного ферментированного продукта Suan yu и позволяющие сократить продолжительность производственного процесса и повысить качество [2]. Также известно, что при промышленном производстве традиционного рыбного продукта ракфиск некоторые производители добавляют сахара в небольших количествах и препараты молочнокислых бактерий [6].

Таким образом, подбор и применение стартовых культур, обладающих высокой биохимической активностью, является актуальным направлением исследований.

Молочнокислые бактерии играют важную роль при производстве пищевых продуктов. Они входят в состав бактериальных препаратов для мясной и молочной промышленности, являются важной частью микрофлоры традиционных ферментированных продуктов питания. В настоящее время молочнокислые бактерии при производстве рыбных продуктов применяются очень редко. Большой научный интерес представляет разработка бактериальных препаратов, предназначенных для использования при производстве рыбных продуктов. Бактерии этого вида являются частью микрофлоры некоторых ферментированных рыбных продуктов, таких как ракфиск, jeotgal и др. [1, 6, 7]. В связи с этим перспективными для использования в составе бактериальных препаратов для производства ферментированных продуктов являются бактерии вида *Lactobacillus sakei*. Следует отметить свойства бактерий, такие как высокая биохимическая активность, способность синтезировать бактериоцины, а также ферментировать углеводы, присутствующие в рыбе [8].

При производстве мясных и рыбных продуктов обычно применяется поваренная соль, которая оказывает ингибирующее действие на большинство микроорганизмов. В связи с этим подбор штаммов микроорганизмов, применяемых для производства бактериальных препаратов для мясных и рыбных продуктов, должен проводиться с учетом толерантности бактерий к стрессовым факторам среды.

В литературе имеются данные отечественных и зарубежных ученых о механизмах адаптации бактерий, в том числе молочнокислых, к неблагоприятным условиям [9–13]. Механизмы адаптации к стрессовым условиям различны и зависят от многих факторов.

Для осуществления активного метаболизма внутриклеточные условия, такие как ионный состав и уровень pH, должны оставаться относительно постоянными. Так как цитоплазматическая мембрана бактериальной клетки является проницаемой для воды, но образует эффективный барьер для большинства растворенных веществ, то изменение осмотической концентрации окружающей среды может быстро нарушить основные функции клеток. В подобных условиях бактериям необходимо адаптироваться к изменениям, происходящим в окружающей среде [11].

Адаптация большинства бактерий к осмотическому стрессу происходит за счет накопления в гиперосмотических условиях или высвобождения в гипоосмотических условиях растворенных веществ. Помимо влияния на осмотический баланс, растворенные вещества также могут стабилизировать ферменты. Таким образом, они обеспечивают защиту не только от осмотического стресса, но и от действия высоких и низких температур.

Молочно-кислые бактерии практически не способны синтезировать растворенные вещества. Таким образом, одним из механизмов защиты от изменения осмотической концентрации является поглощение растворенных веществ из питательной среды. Этот способ реагирования на изменение осмотических условий был ранее изучен на бактериях вида *L. plantarum* и *Lactococcus lactis* [11]. Было установлено, что основными осмопротекторами являются глицин-бетаин, холин, карнитин и сульфобетаин. Еще один механизм, позволяющий молочнокислым микроорганизмам справляться с осмотическим стрессом, – это регулирование внутриклеточных концентраций определенных аминокислот. Замечено, что концентрации пролина, глутаминовой кислоты, аланина и аспарагиновой кислоты в клетках бактерий увеличиваются в условиях высокого осмотического давления.

Следует отметить, что существуют и другие механизмы защиты бактерий от осмотического стресса.

Любое стрессовое воздействие приводит к изменению функционирования бактериальной клетки. Неблагоприятные условия культивирования вызывают переход популяции к несбалансированному росту, когда в результате изменения физико-химических условий меняется скорость реакций биохимического синтеза и соотношение макромолекулярных компонентов в клетках. Сложная система, состоящая из множества сенсорных компонентов генных регуляторных сетей, воспринимает сигналы среды и реагирует на них, запуская те или иные механизмы физиологической адаптации. В связи с этим клетки популяции

сталкиваются с необходимостью выбора стратегии выживания [9].

В ходе эволюции микроорганизмы выработали различные стратегии борьбы с вредными воздействиями. В условиях стресса клетки пытаются адаптироваться с помощью соответствующих молекулярных реакций в попытке смягчить негативные эффекты и восстановить потенциал роста или выживания. Бактерии постоянно отслеживают изменения в окружающей среде и при необходимости реагируют на изменившуюся обстановку [12].

Следует отметить ограниченную информацию о толерантности штаммов бактерий вида *L. sakei* к высоким концентрациям NaCl. Сведений о морфологических изменениях бактерий данного вида в литературе не обнаружено.

Цель данной работы – изучить устойчивость молочнокислых бактерий вида *L. sakei* к различным концентрациям соли.

Объекты и методы исследования

Экспериментальные исследования проводились в научно-исследовательских лабораториях кафедр Технология молочных продуктов. Товароведение и экспертиза товаров и Стандартизация, метрология и управление качеством ФГБОУ ВО «Восточно-Сибирский государственный университет технологий и управления». Объектами экспериментальных исследований служили следующие штаммы молочнокислых бактерий вида *Lactobacillus sakei*:

а) штамм *L. sakei* LSK-45 (регистрационный номер В-8896 в коллекции);

б) штамм *L. sakei* DSM 20017 (регистрационный номер В-10905 в коллекции).

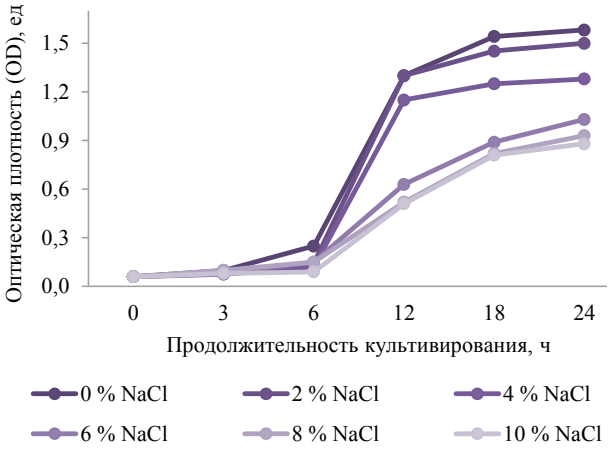
Используемые для проведения исследований штаммы были получены из фонда Национального биоресурсного центра – Всероссийской коллекции промышленных микроорганизмов (НБЦ ВКПМ) ФГУП «Государственный научно-исследовательский институт генетики и селекции промышленных микроорганизмов Национального исследовательского центра «Курчатовский институт» (ГосНИИгенетика).

Культивирование молочнокислых бактерий проводили на полужидкой среде MRS при температуре 37 °С. Способность бактерий расти в присутствии хлорида натрия определяли на полужидкой среде MRS (ООО «НПЦ «Биокомпас-С»), в которую была добавлена поваренная соль в различных концентрациях – 0 (контроль), 2, 4, 6, 8 и 10 %. Устойчивость микроорганизмов к хлориду натрия определяли по уровню накопления биомассы (изменению оптической плотности) и количеству жизнеспособных клеток бактерий через определенное время культивирования. Измерение оптической плотности среды проводили при длине волны 590 нм на спектрофотометре PD-303 (APEL, Япония).

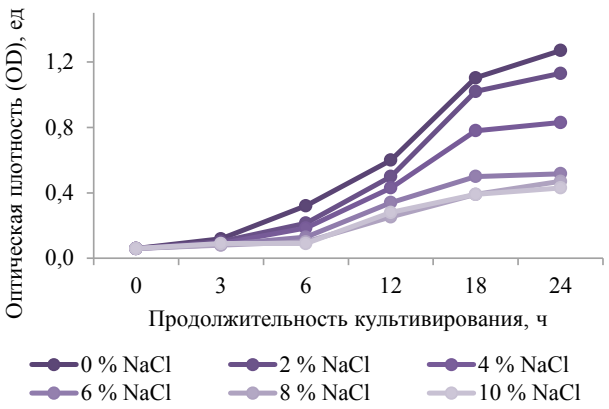
Количественный учет проводили методом предельных разведений на агаризованной среде MRS (ООО «НПЦ «Биокомпас-С»).

Морфологию клеток бактерий изучали путем изготовления препаратов, окрашенных по Граму. Микроскопирование полученных препаратов проводили с использованием микроскопа Микмед-6 (ЛОМО, Россия).

Статистическую обработку результатов исследований проводили с помощью компьютерной программы Microsoft Excel 2010. Исследования проводили в 2-ух повторностях. Высчитывали среднее



a



b

Рисунок 1. Влияние различных концентраций хлорида натрия на рост бактерий вида *Lactobacillus sakei:* а – *Lactobacillus sakei* LSK-45; b – *Lactobacillus sakei* DSM 20017

Figure 1. Effect of different concentrations of NaCl on the growth of *Lactobacillus sakei:* a – *Lactobacillus sakei LSK-45; b – Lactobacillus sakei DSM 20017*

Таблица 1. Влияние различных концентраций хлорида натрия на рост молочнокислых бактерий вида *Lactobacillus sakei*

Table 1. Effect of different concentrations of NaCl on the growth of *Lactobacillus sakei*

Изучаемые штаммы	Количество жизнеспособных клеток бактерий, КОЕ/см^3, при различных концентрациях хлорида натрия, %					
	0	2	4	6	8	10
Lactobacillus sakei LSK-45	2×10^9	1×10^9	1×10^9	4×10^8	3×10^8	3×10^8
Lactobacillus sakei DSM 20017	5×10^9	3×10^9	1×10^9	1×10^7	1×10^7	3×10^6

значение и ошибку средней величины. Нулевая гипотеза отклонялась при уровне значимости $P < 0{,}05$.

Результаты и их обсуждение

На первом этапе исследований изучали влияние поваренной соли на рост молочнокислых бактерий. Данные о количестве жизнеспособных клеток бактерий и сведения о выживаемости бактерий приведены в таблице 1 и на рисунке 1. Данные, представленные на рисунке 1a, показывают, что с увеличением концентрации хлорида натрия до 6 % динамика роста биомассы практически не отличается от контрольного образца. При этом количество жизнеспособных клеток во всех образцах составляет 10^9 КОЕ/см^3 (табл. 1). Дальнейшее повышение концентрации NaCl до 10 % приводит к незначительному замедлению накопления биомассы и снижению плотности клеток в популяции *Lactobacillus sakei* LSK-45 до 10^8 КОЕ/см^3. Отмечена высокая выживаемость клеток *L. sakei* LSK-45 при высоких концентрациях хлорида натрия, которая составляет 91,2 % (рис. 2).

Что касается штамма *L. sakei* DSM 20017, то при концентрации хлорида натрия в питательной среде, равной 6 %, наблюдается резкое снижение активности наращивания биомассы. В конце культивирования плотность клеток достигает 10^7 КОЕ/см^3 (табл. 1). Подобная динамика наблюдается при концентрации хлорида натрия 8 %. При концентрации соли до 10 % отмечается дальнейшее замедление прироста биомассы, о чем свидетельствует снижение плотности клеток в популяции до 10^6 КОЕ/см^3 (рис. 1b). Следует отметить значительную гибель клеток *L. sakei* DSM 20017 при высоких концентрациях хлорида натрия. При концентрациях NaCl 6–8 % выживает 72 % клеток *L. sakei* DSM 20017, а при 10 % – 67 % (рис. 2).

Из анализа полученных данных следует, что *L. sakei* LSK-45 характеризуется высокой стойкостью к солевому стрессу в сравнении с *L. sakei* DSM 20017, которая зависит от штаммовой принадлежности микроорганизма. Это обусловлено тем, что штамм *L. sakei* LSK-45 был выделен из колбас, при производстве которых применяется поваренная соль.

Высокая выживаемость клеток в среде с концентрациями хлорида натрия до 10 % является свойством, которое позволяет применять штамм *L. sakei* LSK-45 при производстве рыбных продуктов. Следует отметить, что массовая доля поваренной соли для малосоленой рыбы составляет 3–5 %, для слабосоленой – 5–7 %, для среднесоленой 7–12 %. Содержание соли в ферментированных рыбных продуктах значительно отличается, в зависимости от вида продукта, и может варьироваться от 1 до 20 % [4]. Например, в продукте ракфиск может составлять от 3,5 до 7,4 %, в продукте Suan yu – 3 % [2, 6].

На следующем этапе исследований изучали влияние различных концентраций поваренной соли на морфологию молочнокислых бактерий (рис. 3). Популяция бактерий представляет собой не просто сумму клеток, а является своеобразной надорганизменной системой, одним из свойств которой является взаимодействие отдельных клеток с целью получения определенного результата [13]. Бактерии способны проявлять различные виды коллективного поведения, в том числе афилиацию (когезию), кооперацию, координированную агрессию и избегание [14]. Когезия бактерий – это защитная реакция микроорганизмов (в частности против излишней солености питательной среды). При этом в

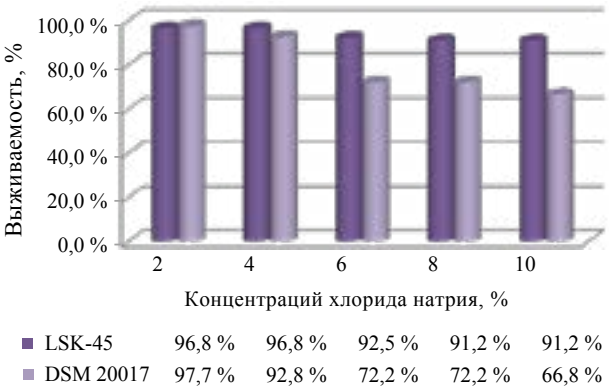
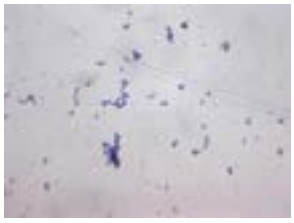
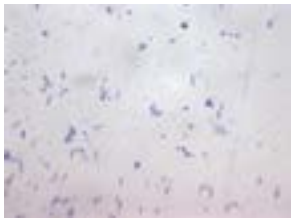


Рисунок 2. Влияние различных концентраций хлорида натрия на выживаемость бактерий вида *Lactobacillus sakei*

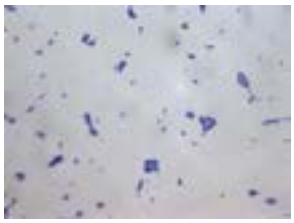
Figure 2. Effect of different concentrations of NaCl on the survival rate of *Lactobacillus sakei*



Lactobacillus sakei LSK-45, 0 %



Lactobacillus sakei DSM 20017, 0 %

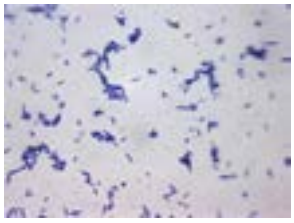


Lactobacillus sakei LSK-45, 2 %

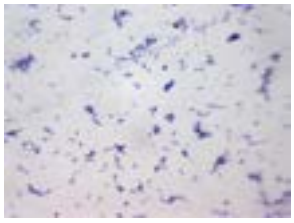
Lactobacillus sakei DSM 20017, 2 %

Lactobacillus sakei LSK-45, 4 %

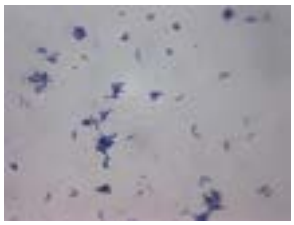
Lactobacillus sakei DSM 20017, 4 %



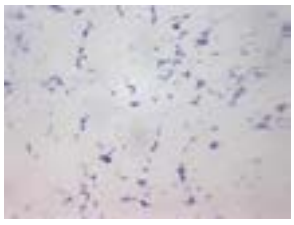
Lactobacillus sakei LSK-45, 6 %



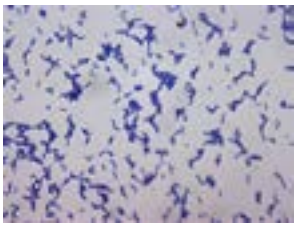
Lactobacillus sakei DSM 20017, 6 %



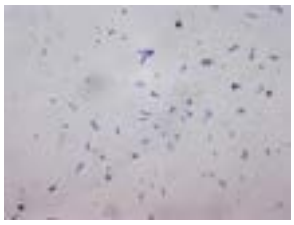
Lactobacillus sakei LSK-45, 8 %



Lactobacillus sakei DSM 20017, 8 %



Lactobacillus sakei LSK-45, 10 %



Lactobacillus sakei DSM 20017, 10 %

Рисунок 3. Морфология бактерий вида *Lactobacillus sakei* на среде MRS с различной концентрацией NaCl

Figure 3. Morphology of *Lactobacillus sakei* on MRS medium with different concentration of NaCl

основе когезии и адгезии бактерий лежат одинаковые механизмы [13].

Из данных, представленных на рисунке 3, видно, что у *L. sakei* LSK-45 с увеличением концентрации соли в среде усиливаются межклеточные контакты и когезия клеток. Процесс когезии регулируется системой «quorum sensing» (QS), представляющей собой тип регуляции экспрессии генов бактерий, функционирующий при высокой плотности популяции. С помощью сигнальных молекул QS систем, называемых аутоиндукторами, происходит межклеточная коммуникация бактерий, обеспечивающая их скоординированный ответ на изменение условий среды [15].

Бактерии используют QS для регулирования разнообразных физиологических процессов, в том числе механизмов толерантности к неблагоприятным факторам, таким как высокая кислотность среды, низкие температуры, присутствие антибиотиков и осмотический стресс [16, 17]. В случае молочнокислых бактерий и бифидобактерий, которые широко используются в молочной промышленности, система QS чрезвычайно важна для их выживания и обеспечения высокой биохимической активности. Кроме того, система QS связана с синтезом молочнокислыми бактериями противомикробных агентов, таких как бактериоцины [18].

Как следует из морфологических исследований, высокая плотность популяции *L. sakei* LSK-45 (10^8–10^9 КОЕ/см^3) (табл. 1) запускает систему QS при осмотическом стрессе бактерий, обеспечивает когезию клеток и обуславливает повышенную вероятность коллективного выживания микроорганизмов.

Благодаря коммуникации (межклеточной передачи информации) бактерии могут скоординированно регулировать экспрессию генов во всей популяции. Это способствует выживанию *L. sakei* в неблагоприятных условиях среды. Такое поведение бактерий часто называют «социальным», в нем проявляются черты сходства с многоклеточными организмами.

При исследовании *L. sakei* DSM 20017 установлено, что при плотности клеточной популяции 10^7 КОЕ/см^3 эффект QS отсутствует, а когезии клеток не происходит, т. к. при низкой плотности популяции бактерии продуцируют базальный уровень аутоиндукторов. Их концентрация недостаточна для активации экспрессии специфических генов у бактерий.

При дальнейшем понижении количества жизнеспособных клеток до 10^6 КОЕ/см^3 отмечается наличие мелких единичных клеток бактерий. Это связано с осмотическим стрессом и последующим высыханием клеток и угнетением роста бактерий. Следует отметить, что при повышении концентрации соли в окружающей среде активность воды снижается и она выходит из клеток, т. е. происходит обезвоживание микроорганизма (полный стресс), что приводит к высыханию и уменьшению размера клеток.

Таким образом, осмотический стресс приводит к уменьшению скорости роста, снижению общего количества образуемой биомассы, количества жизнеспособных клеток и выживаемости *L. sakei* DSM 20017.

Необходимо отметить наличие морфологически разнообразных межклеточных контактов, обеспечивающих адаптацию к высоким концентрациям соли. Морфологическая вариабельность клеток *L. sakei* обусловлена влиянием физико-химических факторов, т. е. воздействием различных концентраций соли, а также трансформацией клеток в цикле развития.

Для микроорганизмов, устойчивых к повышенным концентрациям соли, характерны модификации не только в морфологии, но и структуре клеток. Структурная адаптация клеточных мембран к осмотическому шоку состоит в изменении состава белков, липидов и жирных кислот. Жирные кислоты бактериальных липидов первыми вовлекаются в ответные реакции на стимулы внешней среды и могут служить маркерами физиологических изменений при воздействии тех или иных стрессовых факторов. В условиях солевого стресса в клеточных мембранах было обнаружено увеличение количества гликолипидов, по сравнению с амфотерными липидами, и отмечено изменение соотношения жирных кислот в фосфолипидах. Это важно для поддержания стабильности бислойной структуры мембран. Индуцированное стрессом ремоделирование мембранных липидов приводит к изменению физического состояния мембраны – ее ригидификации или флюидизации [19].

Результаты подтверждают данные проведенных ранее исследований о том, что бактерии вида *L. sakei* являются толерантными к хлориду натрия, но это свойство сильно зависит от штамма. Так, в работе C. Montanari и др. были изучены толерантность шести штаммов бактерий вида *L. sakei* к различным стрессовым факторам. Установлено, что все шесть изученных штаммов были способны расти при содержании хлорида натрия в питательной среде 8 % [20].

Полученные результаты демонстрируют гибкое реагирование *L. sakei* на изменение концентрации соли в питательной среде. Одним из механизмов адаптации к солевому стрессу является когезия, которая повышает выживаемость бактериальной популяции и устойчивость к факторам внешней среды.

Выводы

В результате проведенных исследований установлено, что наиболее высокой устойчивостью

к солевому стрессу характеризуется штамм *Lactobacillus sakei* LSK-45. Он является перспективным для применения при ферментации рыбы. Отмечены активный рост биомассы и высокая плотность клеточной популяции *L. sakei* LSK-45 при высоких концентрациях поваренной соли (8–10 %). Это позволит применять этот штамм бактерий для производства стартовых культур для рыбоперерабатывающей промышленности.

Морфологические исследования свидетельствуют о том, что когезия клеток обеспечивает адаптацию *L. sakei* LSK-45 к высоким концентрациям хлорида натрия и регулируется системой «quorum sensing».

Критерии авторства

А. П. Никифорова – экспериментальная работа, анализ литературных данных, подготовка первоначального варианта текста и доработка текста статьи. С. Н. Хазагаева – консультации по вопросам проведения экспериментальных исследований. И. С. Хамагаева – формулирование основной концепции исследования, общее руководство исследованием, критический анализ первоначального варианта текста. А. П. Никифорова, С. Н. Хазагаева и И. С. Хамагаева имеют на статью равные авторские права и несут равную ответственность за плагиат.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Благодарности

Выражаем благодарность Совету по Грантам Президента РФ за финансирование исследования (номер гранта МК-128.2020.11).

Contribution

A.P. Nikiforova was responsible for the experimental work, review, initial manuscript, and proofreading. S.N. Khazagaeva provided consultations on the experimental research. I.S. Khamagaeva designed the basic research concept, supervised the research, and analyzed the initial version of the text. A.P. Nikiforova, S.N. Khazagaeva, and I.S. Khamagaeva have equal copyright for the article and bear equal responsibility for any possible cases of plagiarism.

Conflict of interest

The authors declare that there is no conflict of interest regarding the publication of this article.

Acknowledgments

We express our gratitude to the Council for Grants of the President of the Russian Federation for funding the study (grant No. MK-128.2020.11).

Список литературы

1. Fermented and ripened fish products in the northern European countries / T. Skåra [et al.] // Journal of Ethnic Foods. 2015. Vol. 2. № 1. P. 18–24. https://doi.org/10.1016/j.jef.2015.02.004.

2. Quality, functionality, and microbiology of fermented fish: a review / J. Zang [et al.] // Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 2020. Vol. 60. № 7. P. 1228–1242. https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1565491.

3. Nikiforova A., Zamaratskaia G., Pickova J. Fatty acid composition of salted and fermented products from Baikal omul (*Coregonus autumnalis migratorius*) // Journal of Food Science and Technology. 2020. Vol. 57. № 2. P. 595–605. https://doi.org/10.1007/s13197-019-04091-z.

4. Selection of autochthonous strains as starter cultures for fermented fish products / B. Speranza [et al.] // Journal of Food Science. 2015. Vol. 80. № 1. P. M151–M160. https://doi.org/10.1111/1750-3841.12721.

5. Kongkiattikajorn J. Potential of starter culture to reduce biogenic amines accumulation in *som-fug*, a Thai traditional fermented fish sausage // Journal of Ethnic Foods. 2015. Vol. 2. № 4. P. 186–194. https://doi.org/10.1016/j.jef.2015.11.005.

6. Exploring the brine microbiota of a traditional Norwegian fermented fish product (*Rakfisk*) from six different producers during two consecutive seasonal productions / G. A. Bjerke [et al.] // Foods. 2019. Vol. 8. № 2. https://doi.org/10.3390/foods8020072.

7. Bacterial community analysis in three types of the fermented seafood, *jeotgal*, produced in South Korea / E.-J. Song [et al.] // Bioscience, Biotechnology and Biochemistry. 2018. Vol. 82. № 8. P. 1444–1454. https://doi.org/10.1080/09168451.2018.1469395.

8. Zagorec M., Champomier-Vergès M.-C. *Lactobacillus sakei*: A starter for sausage fermentation, a protective culture for meat products // Microorganisms. 2017. Vol. 5. № 3. https://doi.org/10.3390/microorganisms5030056.

9. Магданова Л. А., Голясная Н. В. Гетерогенность как адаптивное свойство бактериальной популяции // Микробиология. 2013. Т. 82. № 1. https://doi.org/10.7868/S0026365613010072.

10. Differential analysis of stress tolerance and transcriptome of probiotic *Lacticaseibacillus casei* zhang produced from solid-state (SSF-SW) and liquid-state (LSF-MRS) fermentations / P. Wu [et al.] // Microorganisms. 2020. Vol. 8. № 11. https://doi.org/10.3390/microorganisms8111656.

11. Stress responses in lactic acid bacteria / M. Van de Guchte [et al.] // Antonie van Leeuwenhoek, International Journal of General and Molecular Microbiology. 2002. Vol. 82. № 1–4. P. 187–216. https://doi.org/10.1023/A:1020631532202.

12. Stress physiology of lactic acid bacteria / K. Papadimitriou [et al.] // Microbiology and Molecular Biology Reviews. 2016. Vol. 80. № 3. P. 837–890. https://doi.org/10.1128/MMBR.00076-15.

13. Олескин А. В. Биосоциальность одноклеточных (на материале исследований прокариот) // Журнал общей биологии. 2009. Т. 70. № 3. С. 225–238.

14. Николаев Ю. А. Внеклеточные факторы адаптации бактерий к неблагоприятным условиям среды // Прикладная биохимия и микробиология. 2004. Т. 40. № 4. С. 387–397.

15. Абатуров А. Е., Крючко Т. А. Ингибирование бактериального кворум сенсинга (общие представления) // Здоровье ребенка. 2019. Т. 14. № 1. С. 54–59. https://doi.org/10.22141/2224-0551.14.1.2019.157881.

16. The response of LuxS/AI-2 quorum sensing in *Lactobacillus fermentum* 2-1 to changes in environmental growth conditions / Y. Gu [et al.] // Annals of Microbiology. 2018. Vol. 68. № 5. P. 287–294. https://doi.org/10.1007/s13213-018-1337-z.

17. Zhao X., Yu Z., Ding T. Quorum-sensing regulation of antimicrobial resistance in bacteria // Microorganisms. 2020. Vol. 8. № 3. https://doi.org/10.3390/microorganisms8030425.

18. Kareb O., Aïder M. Quorum sensing circuits in the communicating mechanisms of bacteria and its implication in the biosynthesis of bacteriocins by lactic acid bacteria: A review // Probiotics and Antimicrobial Proteins. 2020. Vol. 12. № 1. P. 5–17. https://doi.org/10.1007/s12602-019-09555-4.

19. Шипко Е. С., Дуванова О. В. Изменение спектра жирных кислот как один из механизмов адаптации/персистенции микроорганизмов // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2019. № 5. С. 109–118. https://doi.org/10.36233/0372-9311-2019-5-109-118.

20. Phenotypic diversity of *Lactobacillus sakei* strains / C. Montanari [et al.] // Frontiers in Microbiology. 2018. Vol. 9. https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02003.

References

1. Skåra T, Axelsson L, Stefansson G, Ekstrand B, Hagen H. Fermented and ripened fish products in the northern European countries. Journal of Ethnic Foods. 2015;2(1):18–24. https://doi.org/10.1016/j.jef.2015.02.004.

2. Zang J, Xu Y, Xia W, Regenstein JM. Quality, functionality, and microbiology of fermented fish: a review. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 2020;60(7):1228–1242. https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1565491.

3. Nikiforova A, Zamaratskaia G, Pickova J. Fatty acid composition of salted and fermented products from Baikal omul (*Coregonus autumnalis migratorius*). Journal of Food Science and Technology. 2020;57(2):595–605. https://doi.org/10.1007/s13197-019-04091-z.

4. Speranza B, Racioppo A, Bevilacqua A, Beneduce L, Sinigaglia M, Corbo MR. Selection of autochthonous strains as starter cultures for fermented fish products. Journal of Food Science. 2015;80(1):M151–M160. https://doi.org/10.1111/1750-3841.12721.

5. Kongkiattikajorn J. Potential of starter culture to reduce biogenic amines accumulation in *som-fug*, a Thai traditional fermented fish sausage. Journal of Ethnic Foods. 2015;2(4):186–194. https://doi.org/10.1016/j.jef.2015.11.005.

6. Bjerke GA, Rudi K, Avershina E, Moen B, Blom H, Axelsson L. Exploring the brine microbiota of a traditional Norwegian fermented fish product (Rakfisk) from six different producers during two consecutive seasonal productions. Foods. 2019;8(2). https://doi.org/10.3390/foods8020072.

7. Song E-J, Lee E-S, Park S-L, Choi H-J, Roh SW, Nam Y-D. Bacterial community analysis in three types of the fermented seafood, jeotgal, produced in South Korea. Bioscience, Biotechnology and Biochemistry. 2018;82(8):1444–1454. https://doi.org/10.1080/09168451.2018.1469395.

8. Zagorec M, Champomier-Vergès M-C. *Lactobacillus sakei*: A starter for sausage fermentation, a protective culture for meat products. Microorganisms. 2017;5(3). https://doi.org/10.3390/microorganisms5030056.

9. Magdanova LA, Golyasnaya NV. Heterogeneity as an adaptive trait of microbial populations. Microbiology. 2013;82(1). (In Russ.). https://doi.org/10.7868/S0026365613010072.

10. Wu P, An J, Chen L, Zhu Q, Li Y, Mei Y, et al. Differential analysis of stress tolerance and transcriptome of probiotic *Lacticaseibacillus casei* zhang produced from solid-state (SSF-SW) and liquid-state (LSF-MRS) fermentations. Microorganisms. 2020;8(11). https://doi.org/10.3390/microorganisms8111656.

11. Van de Guchte M, Serror P, Chervaux C, Smokvina T, Ehrlich SD, Maguin E. Stress responses in lactic acid bacteria. Antonie van Leeuwenhoek, International Journal of General and Molecular Microbiology. 2002;82(1–4):187–216. https://doi.org/10.1023/A:1020631532202.

12. Papadimitriou K, Alegria A, Bron PA, De Angelis M, Gobbetti M, Kleerebezem M, et al. Stress physiology of lactic acid bacteria. Microbiology and Molecular Biology Reviews. 2016;80(3):837–890. https://doi.org/10.1128/MMBR.00076-15.

13. Oleskin AV. Biosocial phenomena in unicellular organisms (exemplified by data concerning Prokaryota). Journal of General Biology. 2009;70(3):225–238. (In Russ.).

14. Nikolaev YuA. Extracellular factors of bacterial adaptation to unfavorable environmental conditions. Applied Biochemistry and Microbiology. 2004;40(4):387–397. (In Russ.).

15. Abaturov AE, Kryuchko TA. Inhibition of bacterial quorum sensing (general concept). Child`s health. 2019;14(1):54–59. (In Russ.). https://doi.org/10.22141/2224-0551.14.1.2019.157881.

16. Gu Y, Li B, Tian J, Wu R, He Y. The response of LuxS/AI-2 quorum sensing in *Lactobacillus fermentum* 2-1 to changes in environmental growth conditions. Annals of Microbiology. 2018;68(5):287–294. https://doi.org/10.1007/s13213-018-1337-z.

17. Zhao X, Yu Z, Ding T. Quorum-sensing regulation of antimicrobial resistance in bacteria. Microorganisms. 2020;8(3). https://doi.org/10.3390/microorganisms8030425.

18. Kareb O, Aïder M. Quorum sensing circuits in the communicating mechanisms of bacteria and its implication in the biosynthesis of bacteriocins by lactic acid bacteria: A review. Probiotics and Antimicrobial Proteins. 2020;12(1):5–17. https://doi.org/10.1007/s12602-019-09555-4.

19. Shipko ES, Duvanova OV. Changing the spectrum of fatty acids as one of the mechanisms of adaptation/persistence of microorganisms. Journal of Microbiology Epidemiology Immunobiology. 2019;(5):109–118. (In Russ.). https://doi.org/10.36233/0372-9311-2019-5-109-118.

20. Montanari C, Barbieri F, Magnani M, Grazia L, Gardini F, Tabanelli G. Phenotypic diversity of *Lactobacillus sakei* strains. Frontiers in Microbiology. 2018;9. https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02003.