

Фролова Яна Николаевна

АНТАГОНИСТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ МЕТАБОЛИТОВ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* К СИМБИОТИЧЕСКИМ МИКРООРГАНИЗМАМ КИШЕЧНИКА ЧЕЛОВЕКА

Адрес статьи: www.gramota.net/materials/1/2009/11-1/67.html

Статья опубликована в авторской редакции и отражает точку зрения автора(ов) по рассматриваемому вопросу.

Источник

Альманах современной науки и образования

Тамбов: Грамота, 2009. № 11 (30): в 2-х ч. Ч. I. С. 197-199. ISSN 1993-5552.

Адрес журнала: www.gramota.net/editions/1.html

Содержание данного номера журнала: www.gramota.net/materials/1/2009/11-1/

© Издательство "Грамота"

Информация о возможности публикации статей в журнале размещена на Интернет сайте издательства: www.gramota.net

Вопросы, связанные с публикациями научных материалов, редакция просит направлять на адрес: almanac@gramota.net

Полученное диагностическое уравнение

$$Y = 7,32 - 0,17(F_1 - 2,48) + 0,22(F_3 - 9,07) + 0,22(F_5 - 11,52) \quad (1)$$

позволяет сформулировать интерпретацию, которая, по нашему мнению, воспроизводит биологические закономерности развития сои в специфических условиях Дальнего Востока России.

Первый фактор F_1 соответствует среднему количеству осадков 121-123 дней года, причем количество осадков, превышающее среднее значение фактора - 2,48, негативно сказывается на продуктивности растения. Поскольку данный период с 1 по 3 мая (121-123 дни календарного года) является периодом, предшествующим севу сои, то избыточная увлажненность в эти дни снижает урожай.

Третий фактор F_3 описывает наименьшую минимальную температуру 176-189 дней года. Из уравнения (1) следует, что температуры, опускающиеся ниже $9,07^\circ\text{C}$, влекут за собой снижение урожайности сои текущего года. В период с 25 июня по 7 июля (176-189 дни календарного года) происходит формирование продуктивных органов, при этом нормальному развитию растения препятствуют достаточно низкие температуры.

Пятому фактору F_5 соответствует максимальная температура 97-101 дней года, максимальная температура этого периода, превышающая $11,52^\circ\text{C}$, благоприятно сказывается на развитии растения. Период с 7 апреля по 11 апреля (97-101) является периодом начала процесса прогрева почвы, высокая температура в этот период ускоряет данный процесс.

Кроме моделей, приведенных в таблице, рассмотрена авторегрессионная модель, фактором которой служила урожайность сои, полученная в прошлом году. Данная модель явилась не состоятельной из-за плохих качественных показателей, низкого коэффициента корреляции и высокого среднеквадратического отклонения.

На основе полученных диагностических моделей можно разработать прогностические, причем своевременность прогноза обеспечивается рассмотрением показателей только первых 200 календарных дней года.

Список использованной литературы

1. **Краснянская В. П.** Разработка методов агрометеорологических прогнозов урожайности. Л.: Гидрометеоздат, 1984. 120 с.
2. **Описание массива данных суточной температуры воздуха и количества осадков на 223 метеорологических станциях на территории бывшего СССР** [Электронный ресурс] / Версия массива 6.01. 2007 г. Февраль / ID RUS-6.01.01-01-26/02/2007. URL: <ftp://ftp.meteo.ru/okldata/F31594v6.zip>
3. **Сверлова Л. И.** Климат и качество сельскохозяйственных культур на востоке России. Хабаровск: СКМР Управления статистики Хабаровского края, 1993. 148 с.
4. **Соя в западной Сибири** / Н. И. Кашеваров, В. А. Солощенко. Новосибирск: Юпитер, 2004. 256 с.
5. **Фишман Б. Е.** Многофакторная модель урожайности сои в среднем Приамурье: диагностический аспект / Б. Е. Фишман, Н. Ю. Сухарева // Синергетика природных, технических и социально-экономических систем: сб. статей V Международной научно-технической конференции. Тольятти: Изд-во ПВГУС, 2008. 248 с.
6. **Яновский Л. П.** Введение в эконометрику / Л. П. Яновский, А. Г. Буковец; под ред. Л. П. Яновского. М.: КНО-РУС, 2007. 256 с.

АНТАГОНИСТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ МЕТАБОЛИТОВ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* К СИМБИОТИЧЕСКИМ МИКРООРГАНИЗМАМ КИШЕЧНИКА ЧЕЛОВЕКА

Фролова Яна Николаевна
Ростовский НИИ микробиологии и паразитологии, Южный федеральный университет

Введение. Проблема сохранения здоровья, поиск путей снижения неблагоприятного воздействия на организм внешней среды являются в настоящее время крайне актуальной. По данным Российской академии наук, более 90% населения Российской Федерации в настоящее время имеют отклонения от физиологической нормы по тем или иным показателям, характеризующим здоровье человека. Техногенные и экологические катастрофы, инфекционные болезни, экспансия некачественных лекарственных средств и продуктов питания, самоотравление алкоголем и наркотиками, психоэмоциональное напряжение и множество других вредоносных факторов истощают защитные силы организма, снижают его адаптационный потенциал [2].

Одной из важнейших систем поддержания и сохранения гомеостаза организма является его нормальная микрофлора, населяющая желудочно-кишечный тракт, мочеполовую систему, кожные покровы. Она оказывает многоплановое влияние на защитные, адаптационные и обменно-трофические механизмы организма, а ее нарушения под влиянием факторов эндогенной или экзогенной природы могут привести к утрате или искажению этих функций, которые влекут за собой проявления дисбактериоза - изменения качественного и количественного состава микрофлоры организма. При дисбактериозе повышается проницаемости кишечной стенки для токсинов и аллергенов, развивается интоксикация, снижаются барьерные функции печени и кожи, что приводит к формированию аллергических заболеваний; страдает пристеночное пищеварение и всасывание микроэлементов, вызывающее сбои белково-жирового, холестерина и билирубинового обменов в организме, что способствует формированию заболеваний печени и поджелудочной железы [3].

Перспективным направлением в разработке новых препаратов для коррекции дисбактериоза желудочно-кишечного тракта может стать использование культуры *Saccharomyces cerevisiae* и ее метаболитов [2]. Так как известно, что бактериоцины *Saccharomyces cerevisiae* избирательно подавляют рост патогенных и условно - патогенных микроорганизмов, а также оказывают иммуномодулирующее действие на микроорганизмы [4].

Цель работы: изучить антагонистическую активность метаболитов *Saccharomyces cerevisiae* по отношению условно-патогенным микроорганизмам. В работе использовались микроскопические и микробиологические методы.

Методы и материалы. Объектом исследования служила производственная раса хлебопекарских дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*, произведенные в Турции компанией Pak Gida Üretim ve Pazarlama A.S. Тест культуры: *Lactobacillus plantarum*, *Escherichia coli* M - 17, *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* высевали сплошным газодом с помощью шпателя Дригольского на среду Сабуро. Затем поверх посева выкладывали стерильные кружки фильтровальной бумаги смоченные в биологических пробах. Инкубировали при 37°C 1 сутки и 2 суток при 20°C.

Дизайн эксперимента был следующий. Производственная раса хлебопекарских дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* культивировали в стерильной питательной среде (NaCl 0.5%, глюкоза 5%, 1 л воды) в течении 48 часов на магнитной мешалке (60 об/мин) при 37°C. пробы культивированной жидкости отбирали ежедневно в течении 6, 18, 24 и 48 часов от начала культивирования. Контроль роста *S.cerevisiae* по изменению уровня pH, оптической плотности, жизнеспособности культуры и количеству колониеобразований в 1 мл культуральной жидкости. Пробы центрифугировали для получения надосадочной (активность метаболитов) и осадочной фракций (клетки дрожжей).

Учёт результатов. Проводили замеры зон задержки роста вокруг тест - культур, этом для *Candida albicans* диаметр зоны сдерживания роста составлял 7.5 и 7.0 мм соответственно; *Escherichia coli* M - 17 8 мм и 6 мм; *Staphylococcus aureus* 7 мм и 11.5 мм; *Lactobacillus plantarum* 8 мм и 12.5 мм; *Klebsiella pneumoniae* 10.0 мм и 6.0 мм.

Таким образом антагонистическая активность вещества по отношению к *C. albicans*, *Escherichia coli* M, *Staphylococcus aureus*, *Lactobacillus plantarum*, *Klebsiella pneumoniae* были обнаружены в культуральной среде в период разрушения дрожжевой культуры, что может свидетельствовать о вероятном внутриклеточном их нахождении в живых клетках. Изменение метаболических процессов на протяжении цикла клеточного деления приходится на шестой час от начала культивирования штамма хлебопекарских дрожжей.

Результаты и обсуждения. Нормальная микрофлора является стимулятором пролиферации плазматических клеток. Экспериментальные исследования показали, что *Saccharomyces cerevisiae* присутствующие в кишечнике в процессе своей жизнедеятельности образуют вещества с антимикробной активностью (бактериоцины) и избирательно подавляют жизнедеятельность многих патогенных и условно - патогенных микроорганизмов за счет ингибирования клеточного метаболизма (эубикор). Установлено, что добавление сахаромыцетов мышам, которым предварительно вводили в кишечник *Candida albicans*, снижало случаи транслокации *Candida* из кишечника в мезентеральные лимфоузлы. Это связывают со стимуляцией защитных механизмов, в частности с активацией комплемента, макрофагов и повышением содержания sIgA [4]. Была изучена антагонистическая активность *Saccharomyces cerevisiae* по отношению к симбиотическим микроорганизмам желудочно-кишечного тракта человека. Данными антагонистами были выбраны культуры: *K. pneumoniae*, *St. aureus*, *C.albicans*, *E.coli* M-17, *L.plantarum*. Перед постановкой эксперимента музейные культуры (штаммы - антагонисты), омолаживали путем пересева их на скошенный агар в бактериальные пробирки с соответствующей питательной средой и выращивали в течение 24 часов при 37°C. По наличию зон роста дрожжей была выявлена низкая и средняя антагонистическая активность *Saccharomyces cerevisiae* в процессе культивирования. Всего было, выявлено 50% положительных проб из них 80% приходилось на фазу экспоненциального роста и стационарную фазу культивирования. При этом для *Candida albicans* диаметр зоны сдерживания роста составлял 7.5 и 7.0 мм соответственно; *Escherichia coli* M - 17 8 мм и 6 мм; *Staphylococcus aureus* 7 мм и 11.5 мм; *Lactobacillus plantarum* 8 мм и 12.5 мм; *Klebsiella pneumoniae* 10.0 мм и 6.0 мм. Видимо, это связано с тем, что именно в это время культура дрожжей наиболее биологически (антагонистически) активна, поскольку происходят ускоренные процессы ферментации внутри клетки, скорость метаболизма возрастает в несколько раз, и как следствие, интенсивность наращивания биомассы клетки, увеличение их в размерах и увеличение почкующихся клеток, потребление субстрата и синтез биологически активных веществ (фермент лизоцим, летучие жирные кислоты, витамины группы B и никотиновая кислота). Параллельно изучению интенсивности роста *Saccharomyces cerevisiae*, накоплению их биомассы, смотрели, как влияют на тест - штаммы метаболиты, накопленные внутри дрожжевых клеток, которые по средством центрифугирования были разделены на 2 фракции: осадочную и надосадочную жидкости. Известно, что лизированные клетки дрожжей выделяют в окружающую среду биологически активные вещества и низкомолекулярные продукты жизнедеятельности, в качестве которых могут выступать гидролитические ферменты, неизрасходованные запасные вещества, накопившиеся токсичные и прочие продукты метаболического обмена, которые могут способствовать подавлению роста бактерий [1]. В связи с этим, была изучена антагонистическая способность биологически активных веществ дрожжей попавших в культуральную среду. В качестве тест - культур была отобрана группа штаммов, относящихся к разным группам микроорганизмов, обитающих в желудочно - кишечном тракте человека: *Escherichia coli* M - 17 и *Lactobacillus plantarum* - облигат-

ные микроорганизмы. *Klebsiella pneumonia* и *Candida albicans* - факультативные микроорганизмы. *Staphylococcus aureus* - патогенный - транзитный микроорганизм. Таким образом, во всех вариантах эксперимента, при сопоставлении кривой роста и антагонистической активности культуры *Saccharomyces cerevisiae* по отношению к тест - штаммам, выяснилось, что к грамотрицательным и грамположительным штаммам действие метаболитов дрожжей было различно. На *E.coli* M - 17 антагонистическую активность оказывают метаболиты, выделяемые в окружающую среду посредством лизиса дрожжевых клеток, который наступает на фазе их гибели. При этом степень антагонизма не велика. По отношению к *K.pneumonia* наблюдается слабая антагонистическая способность, которая выявлена у убитых дрожжевых клеток. Очевидно, это связано с тем, что фенолы, крезолы, и детергенты которые действуют на наружные слои клеток и нарушают избирательную проницаемость плазматической мембраны, что и приводит к ингибированию роста грамотрицательных штаммов на данной стадии культивирования культуры дрожжей. Продукты обмена, вещества выделенные лизированными клетками *Saccharomyces cerevisiae* обладали не значительной антагонистической активностью на род дрожжеподобных грибов рода *C. albicans*. Полученные результаты не в коей мере не противоречат данным литературы, т.к. если провести исследования среди многих культур *Candida* скорее всего закономерность будет подтверждена. И лишь на грамположительные тест - культуры: *St. aureus* и к *L.plantarum* антагонистическую активность проявляют живые клетки дрожжей на экспоненциальной и стационарной фазах культивирования. Вероятно, это связано с тем, что входе своей жизнедеятельности дрожжи способны вырабатывать вещества с антимикробной активностью (бактериоцины) и избирательно подавляют жизнедеятельность многих патогенных и условно - патогенных микроорганизмов за счет ингибирования клеточного метаболизма [5]. Анализ фаз роста культуры *Saccharomyces cerevisiae* в динамике непрерывного культивирования показал, что он соответствует классической схеме роста при глубинном культивировании микроорганизмов. При этом в лаг - фаза длилась 1 час; экспоненциальная 2 и 3 час; стационарная фаза 4и 5 час; фаза отмирания с 6 по 24 часы культивирования. Наиболее жизнеспособные клетки культуры дрожжей выявлены в экспоненциальную фазу и стационарную фазу роста (до 85.9% и 73.4% соответственно). *Saccharomyces cerevisiae* обладала антагонистической активностью по отношению ко всем тестируемым культурам. Однако, степень выраженности антагонизма была средней и слабой. В среднем зона задержки роста была: *Candida albicans* - 6 мм; *Escherichia coli* M - 17 - 7.16 мм; *Staphylococcus aureus* - 11.5 мм; *Lactobacillus plantarum* - 9.16 мм; *Klebsiella pneumonia* - 8 мм. Антагонистическая активность *Saccharomyces cerevisiae* осадочной и надосадочной фракции по отношению к *Escherichia coli* M - 17 и *Klebsiella pneumonia*, была наибольшей в период угасания роста культуры, т.е. на грамотрицательные культуры влияли метаболиты, полученные в результате гибели дрожжевых клеток. Но антагонистическая активность была слабой как для *Escherichia coli* M - 17, так и для *Klebsiella pneumonia* (7.16 мм и 8 мм, соответственно).

Способность к антагонизму *Saccharomyces cerevisiae* осадочной и надосадочной фракции по отношению к *Candida albicans* была не велика, на всем протяжении эксперимента и составляла в среднем 9 мм (надосадочная фракция) и 6 мм (осадочная фракция). Антагонистическая активность *Saccharomyces cerevisiae* осадочной и надосадочной фракции по отношению к грамположительным бактериям определялась в течение всего срока наблюдения и находилась: для *Staphylococcus aureus* в пределах 11.5 мм; для *Lactobacillus plantarum* - 9.16 мм.

В целом, наиболее антагонистически активна культура *Saccharomyces cerevisiae* была во всех фазах роста, против грамположительных микроорганизмов. По отношению к грамотрицательным микроорганизмам антагонистически активнее оказался лизат клеток дрожжей расы *Saccharomyces cerevisiae*. Лизаты культур дрожжей представляют (интересный гаклотон) перспективный материал для дальнейшего исследования на организменном уровне, принимая во внимание их (антагонистическую активность к УПМ-симбионтам, а так же учитывая иммуномодулирующую способность).

Список использованной литературы

1. **Бабушкин Н. В.** Применение препарата «Хилак-форте» в комплексном лечении дисбактериоза кишечника // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. 1997. № 5. Т. VII. С. 96-97.
2. **Corazz G. R., Sorge M., Strocchi A. et al.** Non-absorbable antibiotics and small bowel bacterial overgrowth // Ital. J. Gastroenterol. 1992. Vol. 24. № 9. P. 4-9.
3. **Кобаев Ю. А., Кузьменко Л. Г.** // Особенности применения препаратов для микробиологической коррекции дисбактериоза кишечника. 2000. № 5-6. С. 41.
4. **Митрофанов В. С.** Внекишечные проявления кандидоза кишечника // Тезисы доклада на «СПб-Гастро 2005».
5. **Михайлов И. Б.** Фармакотерапия острой диареи у детей: методическое пособие для врачей-педиатров. СПб., 2006. С. 16.