

## ТРАВЯНИСТЫЕ РАСТЕНИЯ КАК ИСТОЧНИК ЛАКТОБАКТЕРИЙ

**Введение.** Лактобактерии являются перспективными микроорганизмами, относящимися к группе молочнокислых бактерий, представляют собой удлиненные грамположительные палочки, принадлежат к факультативным анаэробам.

Основной положительный эффект лактобактерий заключается в их способности образовывать вещества, обладающие антибактериальным эффектом, а также угнетающие рост гнилостных и патогенных микроорганизмов в кишечнике.

Лактобактерии обнаруживаются не только в кишечнике человека, но и входят в состав эпифитной микрофлоры растений — находятся на их поверхности, что очень важно для защиты растений от грибковых болезней. Кроме того, травянистые растения, богатые лактобактериями, используют как компонент корма для травоядных животных, для улучшения пищеварения [1, с. 6].

Закваски на основе лактобактерий широко используют для изготовления кисломолочных продуктов, включение которых в пищевой рацион человека улучшает состояние микрофлоры кишечника.

Цель исследования: выделить лактобактерии из травянистых растений для изучения их морфологических особенностей.

Задачи исследования:

1. Выделить чистую культуру лактобактерий из травянистых растений.
2. Сравнить морфологические особенности лактобактерий из травянистых растений.
3. Сравнить количественный состав лактобактерий из травянистых растений.

Объекты исследования: травянистые растения — тысячелистник обыкновенный (*Achillea millefolium*), льнянка обыкновенная (*Linaria vulgaris*), люцерна посевная (*Medicago sativa*).

**Основная часть.** Перед осуществлением забора проб микроорганизмов были подготовлены необходимые материалы и инструменты, а именно — стерильные салфетки, пробирки со стерильным физиологическим раствором, стерильные пинцеты.

Забор проб микрофлоры с поверхности травянистых растений проводился в Кобринском районе, на поле за городом, вдали от дороги и промышленных предприятий. Подбор необходимых растений осуществлялся с учетом их состояния — выбранные растения находились в нормальном состоянии, без видимых повреждений. Отбор проб осуществлялся методом смыва со стеблевой части растения на расстоянии 4–5 см от корня. Смывы были помещены в пробирки с физиологическим раствором, которые были плотно закрыты притертой пробкой для транспортировки в лабораторию [2, с. 98].

Для культивирования микроорганизмов была использована селективная питательная среда для лактобактерий — агар с гидролизованным молоком.

Для осуществления микробиологического анализа было подготовлено 6 десятичных разведений — от  $10^1$  до  $10^6$ . Для разведений была использована стерильная дистиллированная вода, разлитая в пробирки по 9 мл. Посев на питательную среду проводился из каждого разведения. Для этого 1 мл суспензии из каждого разведения был внесен в подготовленные чашки Петри и равномерно распределен по поверхности чашки стерильным шпателем. Затем в чашки Петри была залита охлажденная до 40 °С питательная среда. После этого чашки были помещены в термостат для культивирования [3, с. 104].

После трех суток инкубации был проведен подсчет колоний лактобактерий. При количественном учете микроорганизмов учитывались колонии, находящиеся в толще питательной среды и имеющие вид плотных шариков.

Количество лактобактерий вычисляли по формуле:

$$N = \frac{c}{n \times 0,1} \times d,$$

где  $N$  — количество лактобактерий в пробе, КОЕ/мл;

$C$  — сумма колоний, подсчитанных на чашках;

$n$  — количество чашек;

$d$  — величина первого разведения, взятого для подсчета [1, с. 28].

Для идентификации лактобактерий в полученных культурах была проведено микроскопирование культур с окраской мазков по Граму. Мазок был приготовлен на чистом предметном стекле и зафиксирован термическим способом, после чего на мазок был нанесен генцианвиолет на 2 минуты. Далее не промывая, на мазок была нанесена капля йода на 2 минуты — до почернения мазка. После этого мазок был обесцвечен добавлением 96 % спирта на 60 секунд. По истечению этого времени спирт был смыт водой, а на мазок нанесен последний краситель – карболовый фуксин на 3 минуты, по истечению которых остатки красителя были смыты водой, а мазок высушен над пламенем спиртовки и рассмотрен под микроскопом при большом увеличении (таблица 1).

Т а б л и ц а 1 — Морфологические особенности лактобактерий из травянистых растений

Травянистое растение	Морфология лактобактерий
Тысячелистник обыкновенный	Колонии имеют форму удлинённых прямых палочек с закруглёнными концами, расположены по парам
Льнянка обыкновенная	Колонии представляют собой утолщённые палочки, собранные в цепочки различной длины
Люцерна посевная	Колонии представляют собой удлинённые одиночные палочки

Анализируя данные таблицы, можно сказать, что лактобактерии в каждом из образцов отличаются друг от друга по морфологическим признаками, но тем не менее, полученные колонии схожи с лактобактериями, находящимися в толстом кишечнике человека и животным [4, с. 316].

Другим важным показателем является количество лактобактерий, полученное при посеве разных разведений (таблица 2).

Т а б л и ц а 2 — Количественный учет лактобактерий

Тысячелистник обыкновенный						
Степень разведения	10 <sup>1</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>5</sup>	10 <sup>6</sup>
Число колоний	123	111	98	96	46	26
КОЕ/мл	12,3 · 10 <sup>1</sup>	11,1 · 10 <sup>2</sup>	9,8 · 10 <sup>3</sup>	9,6 · 10 <sup>4</sup>	4,6 · 10 <sup>5</sup>	2,6 · 10 <sup>6</sup>
Льнянка обыкновенная						
Степень разведения	10 <sup>1</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>5</sup>	10 <sup>6</sup>
Число колоний	203	178	134	90	56	30
КОЕ/мл	20,3 · 10 <sup>1</sup>	17,8 · 10 <sup>2</sup>	13,4 · 10 <sup>3</sup>	9,0 · 10 <sup>4</sup>	5,6 · 10 <sup>5</sup>	3,0 · 10 <sup>6</sup>
Люцерна посевная						
Степень разведения	10 <sup>1</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>5</sup>	10 <sup>6</sup>
Число колоний	134	99	76	56	42	26
КОЕ/мл	13,4 · 10 <sup>1</sup>	9,9 · 10 <sup>2</sup>	7,6 · 10 <sup>3</sup>	5,6 · 10 <sup>4</sup>	4,2 · 10 <sup>5</sup>	2,6 · 10 <sup>6</sup>

Исходя из данных таблицы видно, что из посевов проб, взятых с растения льнянка обыкновенная было получено наибольшее количество колоний лактобактерий во всех разведениях. Такие результаты могут свидетельствовать о том, что льнянка обыкновенная может рассматриваться как перспективный источник лактобактерий. У люцерны посевной средние показатели количества колониеобразующих единиц, что значительно ниже в сравнении с льянкой обыкновенной. Наименьшее число колоний было выделено у тысячелистника обыкновенного, но, исходя из всего, это травянистое растение является источником различных соединений, обладающих, в том числе, и антибактериальной активностью, что вероятно, могло сказаться на результатах исследования.

**Заключение.** Полученные в ходе исследования данные позволяют сделать вывод, что лактобактерии, полученные из исследованных травянистых растений имеют морфологическое сходство с лактобактериями, входящими в состав микрофлоры толстого кишечника человека и животных. Из них Люцерна посевная, используется как ценный корм для крупного рогатого скота и лошадей, а также может являться источником пополнения микрофлоры кормов. Льнянка обыкновенная используется как наиболее быстрый источник для выделения диких микроорганизмов, что используется для пополнения их коллекций и производства антибиотиков. Тысячелистник обыкновенный крайне положительно влияет на работу желудочно-кишечного тракта, улучшает пищеварение, уменьшает газообразование и снимает спазмы кишечника.

Исследованные травянистые растения являются важным резервуаром для выделения лактобактерий и их можно использовать для промышленного получения молочнокислых заквасок.

#### Список цитируемых источников

1. Ярулина, Д. Р. Бактерии рода *Lactobacillus*: общая характеристика и методы работы с ними : Учебно-методическое пособие / Д. Р. Ярулина, Р. Ф. Фахруллин. — Казань : Казанский университет, 2014. — 51 с.
2. Теппер, Е. З. Практикум по микробиологии : учебное пособие для ВУЗов / Е. З. Теппер. — Москва : Издательский центр «Академия», 2004. — 256 с.
3. Нетрусов, А. И. Практикум по микробиологии / А. И. Нетрусов [и др.]. — Москва : Издательский центр «Академия», 2005. — 160 с.
4. Определитель бактерий Берджи : в 2 томах. / под ред. Дж. Хоулта [и др.]. — Москва : Мир, 1997. — Т. 2. — 780 с.