

УДК 579.864.1

DOI: 10.15587/2313-8416.2016.76712

## БІОЛОГІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ ШТАМІВ ЛАКТОБАКТЕРІЙ ВИДІЛЕНИХ ІЗ ПРОДУКТІВ ХАРЧУВАННЯ РОСЛИННОГО ПОХОДЖЕННЯ ТА ЇСТІВНИХ РОСЛИН

© В. В. Баті, Н. В. Бойко

*Вивчено біологічні властивості лактобактерій, ізольованих із етнічних страв і їстівних рослин країн регіону Чорного моря. Дані штами характеризуються специфічними антагоністичними властивостями та здатністю модулювати локальну імунну відповідь організму, тому вони можуть використовуватись як закваски у виготовленні новітніх ферментованих харчових продуктів із заданими властивостями і як компоненти про- чи синбіотичних біопрепаратів*

**Ключові слова:** *лактобактерії, етнічні ферментовані продукти харчування, антагоністична активність, чутливість до антибіотиків, імуномодуляторний вплив*

*The biological properties of Lactobacilli, isolated from ethnical foods and edible plants of the Black Sea region' countries had been studied. These strains characterized by specific antagonistic properties and the ability to modulate host local immune response. Thus these strains could be used as microbial starters in the production of newly designed fermented foods of plant origin with predicted properties or as basic components of pro- or synbiotics*

**Keywords:** *lactobacilli, ethnical fermented foods, antagonistic activity, sensitivity to antibiotics, immunomodulatory effects*

### 1. Вступ

Відкриття мікробіому [1, 2] людини сприяє розвитку новітніх підходів у регулюванні та модулюванні імунного статусу організму за допомогою спрямованої корекції її нормальної мікробіоти. Мікробний ценоз кишечника значною мірою залежить від харчування. Харчові продукти рослинного походження, в тому числі ферментовані страви і напої, містять багато біологічно-активних речовин і пробіотичних мікроорганізмів [3]. Важливим аспектом персоналізованого харчування є одержання вичерпних даних про специфічні біологічні властивості мікроорганізмів, які входять до складу їжі та їхню принципову можливість регулювати локальну імунну відповідь макроорганізму.

Молочнокислі бактерії на сьогодні є добре вивченими, а їх біологічні властивості дозволяють широко застосовувати ці мікроорганізми в щоденній практиці. Є дані щодо успішного використання молочнокислої продукції, яка містить ті чи інші штами лактобактерій, для лікування цілого ряду захворювань травного тракту людини [4, 5]. Зокрема, відомо, що ацидофільне молоко, до складу якого входить штам *L. acidophilus*, використовують для лікування закрепів і для покращення моторики кишечника [6]. Однак, ці ж штами при їх використанні у таблетова-

ному вигляді не забезпечують очікуваного результату [7, 8]. Багатими на молочнокислі мікроорганізми є ферментовані продукти харчування [3]. Біологічні властивості молочнокислих бактерій залежать від джерела їх виділення, а їх переважна більшість здатна пригнічувати ріст патогенних та умовно-патогенних мікроорганізмів [3, 9, 10]. Актуальною задачею залишається з'ясування принципової можливості використання лактобактерій зокрема і ферментованої продукції в цілому для корекції кишкової мікробіоти, а, відтак, і модулювання локальної імунної відповіді організму. На відміну від окремих штамів мікроорганізмів, цільна їжа, збагачена ними, здатна постачати їх в різні ділянки травного тракту. Застосування ж капсульованих пробіотичних мікроорганізмів не завжди призводить до заселення кишечника, оскільки зазвичай вони не досягають всіх його відділів, і тому їх дія є тимчасовою.

### 2. Літературний огляд

Дослідження антагоністичної активності 109-ти штамів *L. plantarum*, які були виділені з традиційних ферментованих продуктів харчування різних регіонів України, показало, що всі вони різною мірою пригнічували ріст 11-ти референс-штамів умовно-патогенних мікроорганізмів, зокрема: *Pseudomonas*

*aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, *Shigella flexneri*, *S. sonnei*, *Proteus vulgaris*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella enterica*, *Candida albicans* та шість штамів фітопатогенних мікроорганізмів [3]. Встановлено, що *S. sonnei*, *S. flexneri*, *S. aureus*, *Pectobacterium carotovorum*, *S. epidermidis* та *C. albicans* виявились найбільш чутливими до лактобацил, виділених із ферментованих овочів, тоді як *S. enterica*, *P. fluorescens* та *P. syringae* – до дії штамів, ізолюваних із кисломолочних продуктів [9]. Культури лактобактерій, виділені з інших кисломолочних продуктів, характеризувались іншим спектром пригнічуючої дії стосовно штамів *K. pneumoniae*, *E. coli*, *P. vulgaris* [11]. В результатах *in vitro* та *in vivo* доведено вибірккову антагоністичну активність штамів *L. casei* та *L. catenaformis* стосовно умовно-патогенних ентеробактерій *Pantoea agglomerans* і *Providencia rettgeri* [12].

Часом корисні властивості лактобактерій залежать від присутності в бродильному субстраті дріжджів, які використовуються для одержання класичного традиційного болгарського напою Бози [13]. Це призводить до утворення бурштинової кислоти, яка є відомим потужним антиоксидантом [14, 15], зміцнює імунітет, гальмує розвиток запальних процесів, сприяє зниженню рівня цукру в крові тощо [16].

Більше того, штамів лактобацил можуть використовуватися як хімічні консерванти для пригнічення росту патогенних *Listeria monocytogenes* [9], умовно-патогенних *B. cereus*, *S. typhimurium*, *S. aureus*, *E. coli* [17–19] та фітопатогенних мікроорганізмів (*Erwinia carotovora*, *Xanthomonas campestris*) [20].

Виявлено, що лактобактерії впливають на наявність біфідобактерій в кишечнику лабораторних тварин, тобто при недостатній кількості лактобактерій спостерігається значне зменшення числа біфідобактерій [21–23].

Загальновідомими є імуномодуляторні властивості молочнокислих бактерій, зокрема вони стимулюють синтез ендогенного інтерферону, ініціюють продукцію загальних і специфічних імуноглобулінів локально і системно, зумовлюють проліферацію макрофагів і нейрофілів [6].

### 3. Мета дослідження

Метою дослідження є вивчення біологічних властивостей ізолюваних штамів лактобактерій, виділених із етнічних ферментованих харчових продуктів рослинного походження та їстівних рослин країн регіону Чорного моря, визначення їхніх антагоністичних властивостей, встановлення чутливості до антибіотиків і з'ясування принципової можливості використання цих штамів для коригування локальної імунної відповіді організму.

### 4. Результати дослідження біологічних властивостей штамів лактобактерій, виділених із ферментованих харчових продуктів і їстівних рослин

Із 24 взірців ферментованих харчових продуктів промислового (присутні в супермаркеті) та тра-

диційного домашнього виробництва, було ізолювано 10 штамів різних видів лактобактерій (табл. 1). На основі детального вивчення їх біологічних властивостей було відібрано цінні пробіотичні штамів мікроорганізмів *L. casei* IMB B-7412, *L. delbrueckii* IMB B-7414, *L. catenaformis* IMB B-7483, *L. plantarum*, перспективні для конструювання пробіотиків, синбіотиків чи продуктів харчування. Штами лактобактерій (*L. casei* та *L. delbrueckii*) були виділені з квашеної капусти домашнього виробництва (с. Бедевля, Тячівського району Закарпатської області) за оригінальною традиційною рецептурою її приготування. Штам *L. catenaformis* IMB B-7483 ізолювано із зеленої частини часнику (*Allium sativum*) та штам *L. plantarum* виділений із ягід кизилу (*Cornus mas L.*). Ці мікроорганізми завдяки їх властивостям включені до реєстру Депозитарію (колекції) цінних і промислових культур мікроорганізмів Інституту мікробіології і вірусології ім. Д. К. Заболотного.

Для виділення штамів лактобактерій із ферментованих продуктів рослинного походження та їстівних рослин використовували рідке і тверде поживне середовище MRS агар (інша назва Rogosa Agar): MRS Agar, CM 361 і MRS бульйон, MRS Broth, CM 359. Видову належність виділених культур лактобактерій визначали за допомогою біохімічних тест-систем ENTERO-test 24 і ANAERO-test 23 (Erba Lachema, Brno, CZ). Для підтверджуючої (уточненої) ідентифікації використовували метод мас-спектрометрії MALDI. Антагоністичні властивості ізолюваних штамів лактобацил визначали методом відстроченого антагонізму та агарових блоків за Єгоровим [24] по відношенню до бактерій, ізолюваних від пацієнтів із шлунково-кишковими розладами (ШКР), представників коменсальної мікробіоти, а також стосовно типових тест-культур мікроорганізмів: *P. aeruginosa* ATCC 27853, *S. aureus* ATCC 22923, *E. coli* ATCC 25922, *C. albicans* ATCC 10231.

Чутливість ізолюваних штамів лактобактерій до антибіотиків визначали диск-дифузійним методом за Кірбі-Бауером [25]. Досліджували дію 30-ти сучасних антибіотиків, які найчастіше застосовуються в медицині для контролю над патогенними та умовно-патогенними мікроорганізмами.

Імуномодуляторну дію лактобактерій вивчали в експериментах на мишах лінії BALB/c протягом 14 днів, ввівши їм одноразово перорально 200 мкл суспензії штаму *L. delbrueckii* в кількості  $1 \cdot 10^8$  КУО/мл (за МакФарландом). Кількість продукованого локально загального секреторного імуноглобуліну А (SIgA) визначали на 7-й і 14-й день експерименту. Дослідження проводили на 20 мишах чоловічої статі, вагою  $18 \pm 2,5$  г (10 контроль, 10 дослід). Утворення секреторного SIgA визначали в супернатантах культивованих фрагментів тканин [26]: лімфатичних, асоційованих із слизовими оболонками кишечника (КАЛТ) і верхніх дихальних шляхів (НАЛТ), Пейєрових бляшок (ПБ) і мезентеріальних лімфатичних вузлів (МЛВ), різних відділів тонкого кишечника (дванадцятипалої, порожньої і клубової кишок), слинної залози і дрейфуючих лімфатичних вузлів шляхом використання ін-

дикаторної імуоферментної системи Вектор-Бест (Київ, Україна). Для математичного аналізу даних використовували програмне забезпечення IBM SPSS Statistics V. 22.0.; графічну обробку отриманих даних здійснювали за допомогою програми Origin 10.

Дослідження на мишах виконано у відповідності до Міжнародних принципів Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986), підписаної Верховною Радою України у 2002 році, Закону України № 3447 IV “Про захист тварин від жорстокого поводження” (протокол № 1, від 12.01.2014 р.) і засідання комісії з питань біоетики медичного факультету ДВНЗ “Ужгородський національний університет”. Експерименти проведені у троекратній повторності.

**5. Результати досліджень та їх обговорення**

Із ферментованих традиційних продуктів харчування країн регіону Чорного моря ізольовано

10 штамів лактобактерій (табл. 1.), дев'ять із яких були досліджені на антагоністичну активність стосовно одержаних від пацієнтів з ШКР клінічних штамів умовно-патогенних мікроорганізмів і типових представників коменсальних бактерій кишечнику людини.

**Антагоністична активність.** Нами встановлено антагоністичну активність ізольованих штамів лактобактерій по відношенню до умовно-патогенних бактерій – клінічних ізолятів, а саме: *S. aureus*, *Methicillin-resistant S. aureus* (MRSA), *E. cloacae*, *K. oxytoca*, *P. aeruginosa*, *E. coli*, *C. albicans* (табл. 2). Так, наприклад, ріст клінічних культур стафілококів (*S. aureus* і MRSA) найбільше пригнічували штами лактобактерій, ізольовані з квашеної капусти (*L. delbrueckii* і *L. casei*) та Бози (*L. fermentum*). Лактобактерії (*L. plantarum* та *L. catenaformis*), виділені відповідно з кизилу та часнику, характеризувались здатністю інгібувати саме штами MRSA (зони затримки 36,6±1,6 – 33,6±1,3 – для MRSA у порівнянні з 28,3±1,1 і 21,2±1,1 – для *S. aureus*).

Таблиця 1

Вміст лактобактерій у тестованих ферментованих продуктах харчування рослинного походження і їстівних рослинах країн регіону Чорного моря

№ з/п	Ферментні продукти (оригінальна назва) і їстівні рослини (латинська назва), джерело виділення лактобактерій	Ізольований вид лактобактерій
1	Напій із борошна проса, боза (Boza), Болгарія	<i>L. fermentum</i> <i>L. casei</i>
2	Квас південний (Квас южный), Російська Федерація	<i>L. delbrueckii</i> <i>L. plantarum</i> <i>L. casei</i>
3	Ферментовані зелені боби (Fasulye turkousu kavurması), Туреччина	<i>L. delbrueckii</i>
4	Квашена капуста (Капуста білокачанна квашена), Україна	<i>L. casei</i> <i>L. delbrueckii</i>
5	Зелена частина часнику ( <i>Allium sativum</i> )	<i>L. catenaformis</i>
6	Їстівна частина кизилу ( <i>Cornus mas L.</i> )	<i>L. plantarum</i>

Ці ж штами лактобацил виявляли максимальну протимікробну ефективність стосовно *P. aeruginosa* і ентеротоксигенного штаму *E. coli* у порівнянні з іншими тестованими пробіотичними мікроорганізмами.

Водночас нами відмічено відсутність антибактеріальної дії штаму *L. delbrueckii* щодо коменсального представника кишечнику здорових осіб – штаму *E. coli* 058. Порівняно незначним виявився вплив інших мікробів-антагоністів на штами решти тестованих умовно-патогенних мікроорганізмів, у тому числі *C. albicans*. Музейні штами умовно-патогенних культур характеризувалися більшою чутливістю до впливу всіх ізольованих штамів лактобактерій.

При визначенні антагоністичної активності ізольованих штамів *L. delbrueckii* та *L. casei* методом відстроченого антагонізму (радіальних штрихів (рис. 1, табл. 3), тест-культурами слугували 16 штамів мікроорганізмів, у тому числі непатогенні штами бацил, ізольовані з кишечнику сільськогосподарських тварин, які входять до складу пробіотиків ветеринарного призначення (*B. subtilis* 8130, *B. subtilis* 090), коменсальних (мутантний штам *K. pneumoniae* RF, *Neisseria*

*sicca*, *M. morganii*, *E. coli*) і умовно-патогенних бактерій (*P. aeruginosa*, *E. coli*, *E. cloacae*, *K. pneumoniae*, MRSA, *S. aureus*, *P. mirabilis*, *S. enteritidis*, *S. flexneri*).

Отже, як бачимо, антагоністична активність ізольованих штамів лактобактерій щодо референс-штамів залежала від виду як мікроба-антагоніста, так і виду та джерела виділення тест-культури. Найбільшу вибірку протибактеріальну ефективність проявляли штами *L. delbrueckii* та *L. casei*, виділені з квашеної капусти, що підтверджено також нами з використанням методу відстроченого антагонізму (табл. 3 і рис. 1). Як видно і наведених в табл. 3 даних, *L. casei* зумовлював значні (до 20 мм включно) зони затримки росту клінічних штамів ентеробактерій (*E. cloacae*, *E. coli*, *K. pneumoniae*), і стафілококів (MRSA, *S. aureus*) – 12,3±0,6 – 14,1±0,5 мм, а також деяких коменсальних штамів – *B. subtilis* 8130 – 19,2±0,4 мм і *M. morganii* – 16,6±0,5 мм. Даний штам теж пригнічував, хоч і значно меншою мірою, ріст інших умовно-патогенних бактерій – *S. hominis*, *P. mirabilis*, *S. enteritidis*, не виявляючи жодної активності стосовно *S. flexneri* і *N. sicca*.

Таблиця 2

Антагоністична активність ізольованих лактобактерій стосовно тест-культур мікроорганізмів

№ з/п	Тест-культури	Зона затримки росту в міліметрах, визначена методом агарових блоків							
		<i>L. delbrueckii</i> (квас)	<i>L. plantarum</i> (квас)	<i>L. delbrueckii</i> (квашена капуста),	<i>L. casei</i> (кваш. капуста)	<i>L. acidophilus</i> (боза)	<i>L. fermentum</i> (боза)	<i>L. cateniformis</i> (часник)	<i>L. plantarum</i> (кизил)
1	<i>S. aureus</i> ATCC 22923	38,3±1,2	28,1±1,1	40,0±1,4	28,1±2,1	32,0±1,7	28,1±2,1	28,1±1,2	34,0±1,2
2	<i>S. aureus</i> (кл. штаб)	29,2±1,3	21,3±1,2	30,0±1,1	30,1±1,1	20,3±1,1	32,1±1,3	21,2±1,1	28,3±1,1
3	MRSA (кл. штаб)	31,1±1,1	32,3±1,4	38,4±1,4	38,2±1,2	34,2±1,6	36,3±2,2	33,6±1,3	36,6±1,6
4	<i>E. cloacae</i> (кл. штаб)	25,5±1,7	26,2±1,1	22,2±1,1	25,2±1,1	30,1±1,1	24,1±1,1	0	21,1±1,2
5	<i>K. oxytoca</i> (кл. штаб)	30,2±2,3	26,3±1,3	26±1,6	27,1±1,1	28,4±1,3	36,1±1,3	22,6±1,1	28,2±1,1
6	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	31,4±2,2	28,1±1,2	37,0±1,1	38,1±1,4	26,0±1,2	32,3±1,2	31,4±1,1	35,7±1,1
7	<i>P. aeruginosa</i> (кл. штаб)	24,6±1,4	24,2±2,2	36,2±1,4	37,2±1,3	24,1±1,1	32,2±1,1	30,4±1,6	35,0±1,3
8	<i>E. coli</i> ATCC 25922	32,4±2,1	26,1±1,2	28,2±2,2	30,2±1,2	32,7±1,6	35,2±1,4	36,4±1,4	33,7±1,0
9	<i>E. coli</i> (кл. штаб)	12±2,3	20,0±1,3	34,4±1,3	34,2±1,1	30,1±1,2	28,3±1,7	32,1±1,4	34,2±1,3
10	<i>C. albicans</i> ATCC 10231	0	0	28,2±1,1	23,4±1,2	21,4±1,1	19,1±1,2	0	20,2±1,1
11	<i>C. albicans</i> (кл. штаб)	2,1±1,5	0	27,2±1,3	22,3±1,1	20,1±1,3	18,2±1,0	0	18,2±0,2
12	<i>E. coli</i> 058 (коменсал)	28,1±1,2	28,2±1,2	20,1±1,1	26,1±1,1	32,2±1,1	38,3±1,2	36,1±1,3	32,1±1,1

Примітка: діаметр зони затримки росту мікроорганізмів із врахуванням блоку (16мм) <23 мм – мікроорганізми малочутливі до дії лактобактерій; 23–33 мм – чутливі; >33 мм – високочутливі мікроорганізми; кл. штаб – клінічний штаб.

Штаб *L. delbrueckii* проявив високу інгібуючу дію щодо усіх клінічних штабів тест-культур, взятих в експеримент. За зменшенням чутливості до антибактеріального впливу *L. delbrueckii* тест-культури можна розмістити в такий ряд: *E. cloacae*, *K. pneumoniae*, *Morganella morganii* (коменсал), *B. subtilis* 090 (основа

пробіотику Моноспорин, коменсал), *E. coli*, *B. subtilis* 8130 (входить до складу пробіотику Бацел, коменсал), *S. flexneri*, *K. pneumoniae* RF (непатогенний безкапсульний мутантний штаб), *P. aeruginosa*, *S. enteritidis*, *S. aureus*, MRSA, *E. coli* 058 (коменсал), *P. mirabilis*, *S. hominis* та *N. sicca* (табл. 3).

Таблиця 3

Визначення антагоністичної активності *L. casei* і *L. delbrueckii*, виділених із квашеної капусти методом радіальних штрихів (відстроченого антагонізму)

№ з/п	Вид (штаб) тест-мікроорганізму	Зона затримки росту, мм	
		<i>L. casei</i>	<i>L. delbrueckii</i>
1	<i>K. pneumoniae</i> (клінічний ізолят)	19,4±0,4	24,3±0,5
2	<i>N. sicca</i> (коменсал, НАЛТ)	0	0
3	<i>P. aeruginosa</i> (клінічний ізолят)	9,3±0,6	18,2±0,3
4	<i>B. subtilis</i> 8130 (входить до складу біопрепарату Бацел, коменсал кишечнику тварин)	19,2±0,4	20,4±0,3
5	<i>B. subtilis</i> 090 (входить до складу біопрепарату Моноспорин, коменсал кишечнику тварин)	3,1±0,5	23,5±0,4
6	<i>E. coli</i> (клінічний ізолят)	19,2±0,6	22,3±0,6
7	<i>E. cloacae</i> (клінічний ізолят)	24,3±0,7	36,2±0,3
8	<i>M. morganii</i> (коменсал)	16,6±0,5	23,7±0,2
9	<i>E. coli</i> 058 (коменсал)	18,2±0,4	7,5±0,3
10	<i>K. pneumoniae</i> RF (безкапсульний штаб, мутант)	17,1±0,5	18,4±0,4
11	MRSA (клінічний ізолят)	12,3±0,6	9,2±0,5
12	<i>S. aureus</i> (клінічний ізолят)	14,1±0,5	14,3±0,6
13	<i>S. hominis</i> (клінічний ізолят)	5,2±0,2	5,2±0,4
14	<i>P. mirabilis</i> (клінічний ізолят)	7,1±0,3	7,1±0,5
15	<i>S. enteritidis</i> (клінічний ізолят)	7,2±0,1	15,3±0,5
16	<i>S. flexneri</i> (клінічний ізолят)	0	19,2±0,3

Таким чином, з одержаних даних видно, що обох випадках спостерігається позитивна в цілому тенденція – здатність відібраних штабів лактобактерій (пригнічувати ріст цілого ряду умовно-патогенних мікроорганізмів і, іноді, непатогенних (сапрофітних) і коменсальних мікроорганізмів.

Менша ефективність дії на клінічні культури стафілококів (*S. aureus*, MRSA) очевидно пов'язана тут із залежністю ефекту від методу визначення антибактеріальних властивостей мікробів антагоністів.

Найбільш перспективними для практичного використання на нашу думку є штаби лактобактерій,

ізолюванні з квашеної капусти – *L. delbrueckii* та *L. casei*, а також *L. catenaformis* (виділений із зеленої частини молодого часнику), який забезпечував вибір-

кову ефективність стосовно клінічних культур псевдомонад та і *L. plantarum* (ізолюваний з ягід кизилу) – активний по відношенню до *P. aeruginosa* і MRSA.

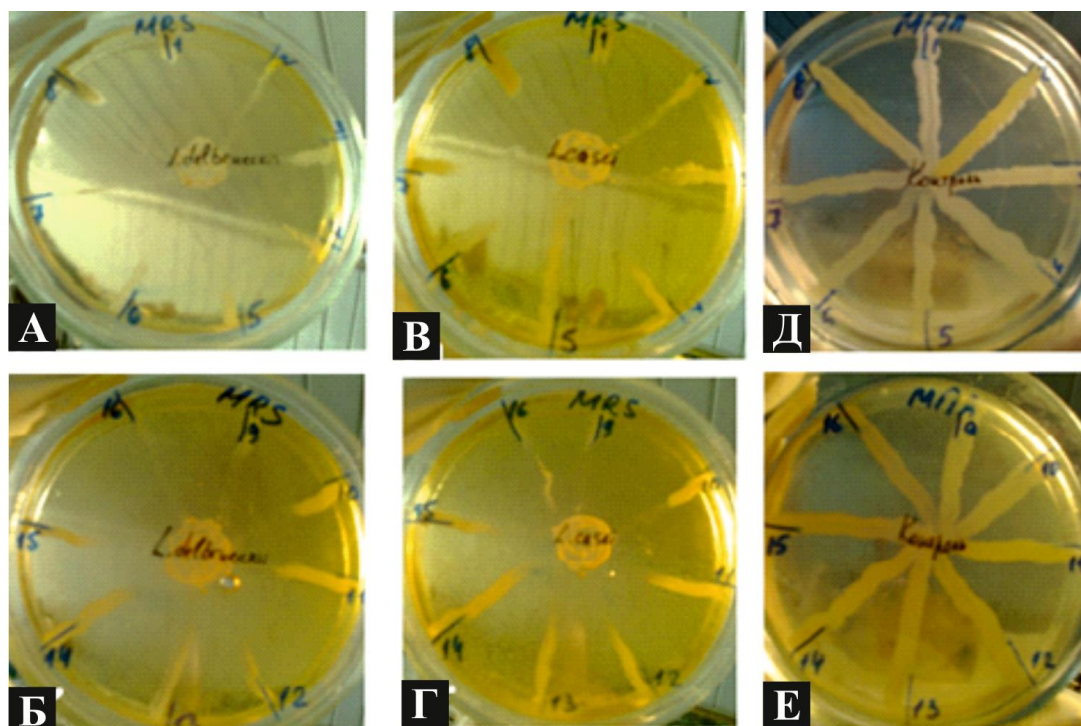


Рис. 1. Антагоністична дія ізолюваних штамів *L. delbrueckii* та *L. casei* по відношенню до представників кишкової мікробіоти та деяких іншумовно-патогенних бактерій. А, Б – штам *L. delbrueckii*; В, Г – штам *L. casei*; Д, Е – контроль; 1 – *K. pneumoniae*; 2 – *N. Sicca*; 3 – *P. aeruginosa*; 4 – *B.subtilis* 8130; 5 – *B. subtilis* 090; 6 – *E. coli*; 7 – *E. cloacae*; 8 – *M. organii*; 9 – *E. coli* 058; 10 – *K. pneumoniae* RF; 11 – MRSA; 12 – *S. aureus* клінічний штам; 13 – *S. hominis*; 14 – *P. mirabilis*; 15 – *S. enteritidis*; 16 – *S. flexneri*.

**Антибіотикочутливість.** При дослідженні диск-дифузійним методом чутливості ізолюваних нами пробіотичних штамів лактобактерій було виявлено (табл. 4) їх стійкість до наступних антибіотиків:

1) у штаму *L. delbrueckii* – до амікацину, ванкоміцину, оксациліну, оптохіну, флуконазолу, цефамандолу, цефепіміу;

2) у штаму *L. casei* – до метранідазолу, стрептоміцину, флуконазолу, ципрофлоксацину, цефамандолу;

3) у штаму *L. catenaformis* – до амікацину, ванкоміцину, стрептоміцину;

4) у штаму *L. plantarum* – до амікацину, метранідазолу, оптохіну, офлоксацину, флуконазолу, ципрофлоксацину.

Антибіотики, до яких дані штами лактобактерій є стійкими, можуть бути використані як маркери їх індикації.

Такі антибіотики як: амоксиклав, ампіцилін, левофлоксацин, моксифлоксацин, оксацилін, олеандоміцин, рифампіцин, спіраміцин, тікарцилін, ципрофлоксацин, цефоперазон, цефотаксим і цефуроксин повністю інгібували ріст штаму *L. delbrueckii* (>30 мм).

Решта перспективних для практичного використання штамів лактобактерій характеризувались меншою чутливістю до тестованих антибіотиків. Саме тому *L. delbrueckii* було використано нами в експериментах *in vivo* з метою встановлення імунomodulatory властивостей за його здатністю стимулювати синтез SIgA локально (рис. 2).

Таблиця 4

Відношення до антибіотиків ізолюваних штамів лактобактерій

№	Антибіотики	Скорочення	Скорочення	Зона затримки росту EUCAST, мм			
				<i>L. delbrueckii</i>	<i>L. casei</i>	<i>L. catenaformis</i>	<i>L. plantarum</i>
1	2	3	4	5	6	7	8
1	Амікацин	АН	–	0	7	0	0
2	Амоксиклав	АМК	–	46	26	26	25
3	Ампіцилін	АМП	–	42	40	35	28
4	Ванкоміцин	ВА	–	0	0	0	0
5	Гентаміцин	ГЕН	GEN <sup>10</sup>	2	8	11	12
6	Гатіфлоксацин	ГАТ	–	12	10	10	24

Продовження таблиці 4

1	2	3	4	5	6	7	8
7	Левофлоксацин	–	LE <sup>5</sup>	48	16	30	14
8	Лінкоміцин	–	L <sup>10</sup>	32	14	31	34
9	Меропенем	МПН	–	16	14	12	36
10	Метронідазол	–	MT <sup>4</sup>	8	0	7	0
11	Моксифлоксацин	МОК	–	36	24	30	18
12	Оксацилін	ОКС	–	0	8	8	16
13	Оксацилін	–	OX <sup>5</sup>	30	24	17	30
14	Олеандоміцин	–	OL <sup>15</sup>	32	18	32	28
15	Оптохін	–	Op	0	7	6	0
16	Офлоксацин	ОФЛ	OF <sup>5</sup>	12	12	6	0
17	Рифампіцин	РИФ	R <sup>5</sup>	48	28	20	30
18	Спираміцин	–	SR <sup>30</sup>	36	26	30	22
19	Стрептоміцин	СТР	S <sup>10</sup>	11	0	0	8
20	Тікарцилін	–	TI <sup>75</sup>	46	28	18	28
21	Фурагін	–	–	18	26	20	36
22	Флуконазол	ФКН	–	0	0	0	0
23	Ципрофлоксацин	ЦИП	–	8	0	0	0
24	Ципрофлоксацин	–	C	46	0	22	14
25	Цефамандол	ЦМЛ	CEF <sup>30</sup>	0	0	15	28
26	Цефепім	ЦПМ	–	0	8	8	34
27	Цефоперазон	ЦФП	CPZ <sup>75</sup>	46	24	24	33
28	Цефотаксим	ЦТК	CTX <sup>10</sup>	36	26	18	36
39	Цефтазидім	ЦАЗ	–	10	11	15	22
30	Цефуроксин	–	CXM <sup>30</sup>	32	28	24	36

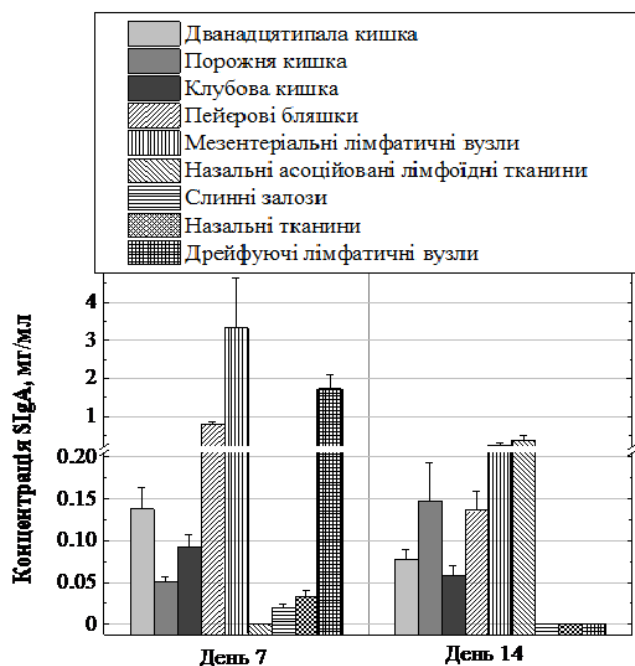


Рис. 2. Імуномодуляторні властивості штаму *L. delbrueckii* за його здатністю стимулювати синтез SIgA локально

Як показано на рис. 2, одноразове пероральне введення даного штаму лактобацил призводило до максимальної продукції секреторного SIgA на 7-й день експерименту в МЛВ і дрейфуючих ЛВ (шиї і паху), а також у ПБ – але дещо в меншій мірі. В інших місцях – назальних слизових оболонках і слинних залозах – ці рівні були незначними навіть у порівнянні з кількістю SIgA продукованого в різних відді-

лах тонкого кишечника мишей – дванадцятипалій, порожній і клубовій. На 14-тий день експерименту нами відмічено незначні зміни рівнів SIgA у тонкому кишечнику, скоріше їх перерозподіл – зростання рівнів у порожній кишці і незначне зменшення у дванадцятипалій, та тенденцію до вирівнювання кількості продукції SIgA у ПБ та МЛВ і назальних тканинах, при повній відсутності (на межі визначення) рівню

SIgA у слинних залозах і шийних і пахових ЛВ. Для більшого розуміння механізмів активації імунної відповіді організму локально необхідним є дослідження ініціації інших біомаркерів, зокрема цитокінів тощо. Важливим є також аналогічне вивчення аналогічних особливостей інших штамів лактобактерій, що є перспективними для практичного використання.

## 6. Висновки

Досліджено біологічні властивості ізолюваних нами штамів лактобактерій. Встановлено їх високу вибірку антагоністичну активність по відношенню до умовно-патогенних бактерій, а саме: *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *E. coli*, *E. cloacae*, *M. morgani*, *MRSA*, *S. aureus*, *S. hominis*, *P. mirabilis*, *S. enteritidis*, *S. flexneri*.

За результатами проведених досліджень найбільш перспективними для практичного використання на нашу думку є штами лактобактерій, ізолювані з квашеної капусти – *L. delbrueckii* та *L. casei*, а також штам виділений з часнику – *L. cateniformis*, які забезпечували вибірку антагоністичну активність стосовно клінічних ізолятів і меншу протимікробну дію на коменсальні мікроорганізми.

Нами було встановлено ряд антибіотиків, до яких дані штами лактобактерій є стійкими і які, відповідно, можуть бути використані як маркери їх індикації.

Отримані нами результати в цілому обґрунтовують перспективність продовження досліджень ізолюваних штамів *L. casei* IMB B-7412, *L. delbrueckii* IMB B-7414, *L. cateniformis* IMB B-7483, *L. plantarum* з метою їх подальшого використання як заквасок при дизайні персоналізованих продуктів харчування чи як компонентів майбутніх пробіотичних і синбіотичних біопрепаратів із заданими властивостями.

Дані штами лактобактерій характеризуються специфічними імуномодуляторними властивостями – як показано нами тут на прикладі штаму *L. delbrueckii* і в експериментах проведених раніше [28], також, виходячи із спектру їх протимікробної активності, встановленої в експериментах *in vitro*, вони здатні регулювати баланс мікробіоти шлунково-кишкового тракту, а відтак попереджувати виникнення як інфекційних, так і некомунікаційних захворювань людини.

## Література

1. Nelson, K. E. A Catalog of Reference Genomes from the Human Microbiome [Text] / K. E. Nelson, G. M. Weinstock, S. K. Highlander, K. C. Worley, H. N. Creasy, J. R. Wortman et al. // Science. – 2010. – Vol. 328, Issue 5981. – P. 994–999. doi: 10.1126/science.1183605
2. Peterson, J. The NIH Human Microbiome Project [Text] / J. Peterson, S. Garges, M. Giovanni, P. McInnes, L. Wang, J. A. Schloss et al. // Genome Research. – 2009. – Vol. 19, Issue 12. – P. 2317–2323. doi: 10.1101/gr.096651.109
3. Василюк, О. М. Антагоністичні властивості штамів *Lactobacillus plantarum*, ізолюваних із традиційних ферментованих продуктів України [Текст] / О. М. Василюк, Н. К. Коваленко, І. Л. Гармашева // Мікробіологічний журнал. – 2014. – Т. 76, № 3. – С. 24–30.
4. Mezaini, A. Antibacterial activity of some lactic acid bacteria isolated from an Algerian dairy product [Text] / A. Mezaini, N.-E. Chihib, A. Dilmi Bouras, N. Nedjar-Arroume,

J. Pierre Hornez // Journal of Environmental and Public Health. – 2009. – Vol. 2009. – P. 1–6. doi: 10.1155/2009/678495

5. Коваленко, Н. К. Кисломолочные продукты, их качество и влияние на здоровье человека [Текст] / Н. К. Коваленко // Справочник потребителя. – 2002. – № 3. – Режим доступа: [http://www.medved.kiev.ua/arh\\_nutr/art\\_2003/n03\\_1\\_14.htm](http://www.medved.kiev.ua/arh_nutr/art_2003/n03_1_14.htm)

6. Ершова, И. Б. Значение лактобактерий в организме человека и тактика правильного выбора эубиотика [Текст] / И. Б. Ершова, Л. И. Гаврыш, Е. Н. Кунегина, А. А. Мочалова // Здоровье ребенка. – 2008. – № 1 (10). – Режим доступа: <http://www.mif-ua.com/archive/article/4305>

7. Володин, Н. Н. Влияние пробиотиков и биотерапевтических препаратов на иммунную систему организма хозяина [Текст] / Н. Н. Володин, В. М. Коршунов, С. А. Агафонова, О. В. Коршунова // Педиатрия. – 2002. – № 5. – С. 92–100.

8. Воробьев, А. А. Исследование пристеночной микрофлоры желудочно-кишечного тракта у человека в норме и при патологии [Текст] / А. А. Воробьев, Ю. В. Несвижский, Е. М. Липницкий, М. Н. Алленов, Е. А. Богданова, М. Л. Корнеев // Вестн. РАМН. – 2004. – № 2. – С. 43–47.

9. De Vuyst, L. Antimicrobial potential of lactic acid bacteria [Text] / L. De Vuyst, E. J. Vandamme // Bacteriocins of Lactic Acid Bacteria. – London, United Kingdom: Blackie Academic and Professional, 1994. – P. 91–142. doi: 10.1007/978-1-4615-2668-1\_3

10. Roberfroid, M. Functional food concept and its application to prebiotics [Text] / M. Roberfroid // Digestive and Liver Disease. – 2002. – Vol. 34. – P. S105–S110. doi: 10.1016/s1590-8658(02)80176-1

11. Collado, M. C. Development of new probiotics by strain combinations: is it possible to improve the adhesion to intestinal mucus? [Text] / M. C. Collado, J. Meriluoto, S. Salminen // Journal of Dairy Science. – 2007. – Vol. 90, Issue 6. – P. 2170–2176. doi: 10.3168/jds.2006-456

12. Мудрик, М. Р. Особливості мікробної безпеки традиційних страв із рослин [Текст] / М. Р. Мудрик, І. І. Кутчак, В. О. Петров, В. В. Баті, Н. В. Маркуш, О. Б. Левчук, Н. В. Бойко // Науковий вісник Ужгородського університету. Серія медицина. – 2013. – Вип. 1 (46). – С. 157–161.

13. Todorov, S. D. Optimization of bacteriocin production by *Lactobacillus plantarum* ST13BR, a strain isolated from barley beer [Text] / S. D. Todorov, C. A. van Reenen, L. M. Dicks // The Journal of General and Applied Microbiology. – 2004. – Vol. 50, Issue 3. – P. 149–157. doi: 10.2323/jgam.50.149

14. Гирич, С. В. Визначення комплексного показника якості капусти квашеної «Асорті» [Текст] / С. В. Гирич, Р. О. Мосійчук // Молодий вчений. – 2015. – № 1 (16). – С. 70–73.

15. Орлов, М. П. Вплив рецептури господарсько-ботанічних сортів капусти на розвиток мікрофлори при ферментації [Текст] / М. П. Орлов, Н. С. Ясинська // Сучасні проблеми товаровознавства. – Київ: КНТЕУ, 1999. – С. 65–70.

16. Хомич, Г. П. Вплив попередньої обробки ягід чорниці на вміст флавоноїдів у соку [Текст] / Г. П. Хомич, Л. В. Капрельянц // Наук. пр. ОНАХТ. Серія «Технічні науки». – 2010. – Вип. 38 (2). – С. 4–7.

17. Microbiology of fermented foods [Text] / J. B. W. Brihan (Ed.). – London: Blackie, 1998. – 852 p.

18. Plengvidhya, V. Use of RAPD-PCR as a method to follow the progress of starter cultures in sauerkraut fermentation [Text] / V. Plengvidhya, J. F. Breidt, H. P. Fleming // International Journal of Food Microbiology. – 2004. – Vol. 93, Issue 3. – P. 287–296. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2003.11.010

19. Plengvidhya, V. DNA Fingerprinting of Lactic Acid Bacteria in Sauerkraut Fermentations [Text] / V. Plengvidhya, J. F. Breidt, Z. Lu, H. P. Fleming // Applied and Environmental Microbiology. – 2007. – Vol. 73, Issue 23. – P. 7697–7702. doi: 10.1128/aem.01342-07

20. Barrangou, R. Identification and characterization of *Leuconostoc fallax* strains isolated from an industrial sauerkraut fermentation [Text] / R. Barrangou, S.-S. Yoon, F. Breidt, H. P. Fleming, T. R. Klaenhammer // *Applied and Environmental Microbiology*. – 2002. – Vol. 68, Issue 6. – P. 2877–2884. doi: 10.1128/aem.68.6.2877-2884.2002

21. Perdigon, G. Study of the possible mechanisms involved in the mucosal immune system activation by lactic acid bacteria [Text] / G. Perdigon, E. Vintini, S. Alvarez, M. Medina, M. Medici // *Journal of Dairy Science*. – 1999. – Vol. 82, Issue 6. – P. 1108–1114. doi: 10.3168/jds.s0022-0302(99)75333-6

22. *Mucosal Immunology* [Text] / D. C. Savage, P. L. Ogura, J. Mestecky, M. E. Lamm, W. Strober, J. R. McGhee, J. Bienenstock (Eds.). – San Diego: Academic Press, 2005. – 2064 p.

23. Stebbins, C. E. Structural mimicry in bacterial virulence [Text] / C. E. Stebbins, J. E. Galan // *Nature*. – 2001. – Vol. 412, Issue 6848. – P. 701–705. doi: 10.1038/35089000

24. Сизенцов, А. Н. Методы определения антибиотикопродуктивности и антибиотикорезистентности [Текст]: метод. ук. / А. Н. Сизенцов. – Оренбург: ГОУОГУ, 2009. – 102 с.

25. Про затвердження методичних вказівок "Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів" [Текст]. – Міністерство охорони здоров'я України, 2007. – № 167.

26. Cebra, J. J. The role of mucosal microbiota in the development, maintenance, and pathologies of the mucosal immune system [Text] / J. J. Cebra, H.-Q. Jiang, N. Boyko, H. Tlaskalova-Hogenova // *Mucosal Immunology*. – 2005. – P. 335–368. doi: 10.1016/b978-012491543-5/50022-x

27. Bubnov, R. V. Probiotics and immunity: provisional role for personalized diets and disease prevention [Text] / R. V. Bubnov, M. Y. Spivak, L. M. Lazarenko, A. Bomba, N. V. Boyko // *EPMA Journal*. – 2015. – Vol. 6, Issue 1. doi: 10.1186/s13167-015-0036-0

## References

1. Nelson, K. E., Weinstock, G. M., Highlander, S. K., Worley, K. C., Creasy, H. H., Wortman, J. R. et al. (2010). A Catalog of Reference Genomes from the Human Microbiome. *Science*, 328 (5981), 994–999. doi: 10.1126/science.1183605

2. Peterson, J., Garges, S., Giovanni, M., McInnes, P., Wang, L., Schloss, J. A. et al. (2009). The NIH Human Microbiome Project. *Genome Research*, 19 (12), 2317–2323. doi: 10.1101/gr.096651.109

3. Vasylyuk, O. M., Kovalenko, N. K., Garmasheva, I. L. (2014). Antagonistychni vlastyvoosti shtamiv *Lactobacillus plantarum*, izolovanyx iz tradycyjnyh fermentovanyh produktiv Ukrainy [Antagonistic properties of *Lactobacillus plantarum* strains isolated from traditional fermented foods of Ukraine]. *Microbiological journal*, 76 (3), 24–30.

4. Mezaini, A., Chihib, N.-E., Dilmi Bouras, A., Ndjjar-Arroume, N., Hornez, J. P. (2009). Antibacterial Activity of Some Lactic Acid Bacteria Isolated from an Algerian Dairy Product. *Journal of Environmental and Public Health*, 2009, 1–6. doi: 10.1155/2009/678495

5. Kovalenko, N. K. (2002). Kislomolochnye produkty, ih kachestvo i vlijanie na zdorov'e cheloveka [Dairy products, their quality and the impact on human health]. *Journal of Consumer Guide*, 3. Available at: [http://www.medved.kiev.ua/arh\\_nutr/art\\_2003/n03\\_1\\_14.htm](http://www.medved.kiev.ua/arh_nutr/art_2003/n03_1_14.htm)

6. Yershova, I. B., Gavrysh, L. I., Kunegina, N. E., Mochalova, A. A. (2008). Znachenie laktobakterij v organizme cheloveka i taktika pravil'nogo vybora jeubiotika [The value of *Lactobacillus* strains in the human body and correct selection the tactics of eubiotics]. *Journal of Child Health*, 1 (10). Available at: <http://www.mif-ua.com/archive/article/4305>

7. Volodin, N. N., Korshunov, V. M., Agafonova, S. A., Korshunova, O. V. (2002). Vlijanie probiotikov i bioterapevtycheskih preparatov na immunnuju sistemu organizma hozjaina

[Effect of Probiotics and biotherapeutics drugs on the immune system of the host organism]. *Journal of Pediatrics*, 5, 92–100.

8. Vorobjov, A. A., Nesviszskiy, Yu. S., Lipnickiy, E. M., Allenov, M. N., Bogdanova, E. A., Korneev, M. L. (2004). Issledovanie pristenochnoj mikroflory zheludochno-kishechnogo trakta u cheloveka v norme i pri patologii [Research near the wall microflora of the digestive tract in humans in normal and pathologic]. *Bulletin of the Russian Academy of Medical Sciences*, 2, 43–47.

9. De Vuyst, L., Vandamme, E. J. (1994). Antimicrobial potential of lactic acid bacteria. *Bacteriocins of Lactic Acid Bacteria*. London, United Kingdom: Blackie Academic and Professional, 91–142. doi: 10.1007/978-1-4615-2668-1\_3

10. Roberfroid, M. (2002). Functional food concept and its application to prebiotics. *Digestive and Liver Disease*, 34, S105–S110. doi: 10.1016/s1590-8658(02)80176-1

11. Collado, M. C., Meriluoto, J., Salminen, S. (2007). Development of New Probiotics by Strain Combinations: Is It Possible to Improve the Adhesion to Intestinal Mucus? *Journal of Dairy Science*, 90 (6), 2710–2716. doi: 10.3168/jds.2006-456

12. Mudryk, M. R., Kutchak, I. I., Petrov, V. O., Bati, V. V., Markush, N. V., Levchuk, O. B., Boyko, N. V. (2013). Osoblyvosti mikrobnoyi bezpeky tradycyjnyh stravy iz roslyn [Particularities of microbial safety of the traditional foods of plant origin]. *Scientific Bulletin of the Uzhgorod University. Series of Medicine*, 1 (46), 157–161.

13. Todorov, S. D., Reenen, C. A. van, Dicks, L. M. T. (2004). Optimization of bacteriocin production by *Lactobacillus plantarum* ST13BR, a strain isolated from barley beer. *The Journal of General and Applied Microbiology*, 50 (3), 149–157. doi: 10.2323/jgam.50.149

14. Gyrych, S. V., Mosiychuk, R. O. (2015). Vyznachenna kompleksnogo pokaznyka yakosti kapusty kvashenoji «Asorti» [Definition of complex quality Sauerkraut «Assorted»]. *Journal of Young Scientist*, 1 (16), 70–73.

15. Orlov, M. P., Yasynska, N. S. (1999). Vplyv receptury gospodarsko-botanichnyh sortiv kapusty na rozvytok mikroflory pry fermentaciyi [Effect of recipes of botanical varieties of cabbage on the development of the microflora during fermentation]. *Proceeding of Ukrainian student conference "Modern problems of commodity research"*. Kyiv: KNTEU, 65–70.

16. Homych, G. P., Kaprelyants, L. V. (2010). Vplyv poperednoyi obrobky yagid chornyci na vmist flavonoyidiv u soku [Effect of preliminary treatment of blueberries on the content of flavonoids in juice]. *Science. pr. ONAFT. Series «Engineering»*, 38 (2), 4–7.

17. Brian, J. B. W. (Ed.) (1998). *Microbiology of fermented foods*. London: Blackie, 852.

18. Plengvidhya, V., Breidt, F., Fleming, H. (2004). Use of RAPD-PCR as a method to follow the progress of starter cultures in sauerkraut fermentation. *International Journal of Food Microbiology*, 93 (3), 287–296. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2003.11.010

19. Plengvidhya, V., Breidt, F., Lu, Z., Fleming, H. P. (2007). DNA Fingerprinting of Lactic Acid Bacteria in Sauerkraut Fermentations. *Applied and Environmental Microbiology*, 73 (23), 7697–7702. doi: 10.1128/aem.01342-07

20. Barrangou, R., Yoon, S.-S., Breidt, F., Fleming, H. P., Klaenhammer, T. R. (2002). Identification and Characterization of *Leuconostoc fallax* Strains Isolated from an Industrial Sauerkraut Fermentation. *Applied and Environmental Microbiology*, 68 (6), 2877–2884. doi: 10.1128/aem.68.6.2877-2884.2002

21. Perdigon, G., Vintiñi, E., Alvarez, S., Medina, M., Medici, M. (1999). Study of the Possible Mechanisms Involved in the Mucosal Immune System Activation by Lactic Acid Bacteria. *Journal of Dairy Science*, 82 (6), 1108–1114. doi: 10.3168/jds.s0022-0302(99)75333-6



22. Savage, D. C., Ogra, P. L., Mestecky, J., Lamm, M. E., Strober, W., McGhee, J. R., Bienstock, J. (Eds.) (2005). *Mucosal Immunology*. San Diego: Academic Press, 2064.

23. Stebbins, C. E., Galán, J. E. (2001). Structural mimicry in bacterial virulence. *Nature*, 412 (6848), 701–705. doi: 10.1038/35089000

24. Sizencov, A. H. (2009). Metody opredeleniya antibiotikoproduktivnosti i antibiotikorezistentnosti [Methods for determination of antibiotic resistance and antibiotic efficiency]. Orenburg: SEIOSU, 102.

25. Pro zatverdzhennya metodychnyh vkazivok shhodo vyznachennya chutlyvosti mikroorganizmiv do antybakterialnyh

preparativ [Order of the Ministry of Health of Ukraine on approval of guidelines for determining the sensitivity of microorganisms to antibacterial preparations] (2007). Ministry of Health of Ukraine, 167.

26. Cebra, J. J., Jiang, H.-Q., Boiko, N., Tlaskalova-Hogenova, H. (2005). The Role of Mucosal Microbiota in the Development, Maintenance, and Pathologies of the Mucosal Immune System. *Mucosal Immunology*, 335–368. doi: 10.1016/b978-012491543-5/50022-x

27. Bubnov, R. V., Spivak, M. Y., Lazarenko, L. M., Bomba, A., Boyko, N. V. (2015). Probiotics and immunity: provisional role for personalized diets and disease prevention. *EPMA Journal*, 6 (1). doi: 10.1186/s13167-015-0036-0

Рекомендовано до публікації д-р біол. наук Бойко Н. В.  
Дата надходження рукопису 12.07.2016

**Баті Вікторія Віталіївна**, асистент, кафедра мікробіології, вірусології, імунології з курсом інфекційних хвороб, Державний вищий навчальний заклад "Ужгородський національний університет", вул. Народна, 3, м. Ужгород, Україна, 88000  
E-mail: v.bati@mail.ru

**Бойко Надія Володимирівна**, доктор біологічних наук, професор, кафедра мікробіології, вірусології, імунології з курсом інфекційних хвороб, Державний вищий навчальний заклад "Ужгородський національний університет", вул. Народна, 3, м. Ужгород, Україна, 88000  
E-mail: nadiya.boyko@gmail.com

УДК 579:672.35

DOI: 10.15587/2313-8416.2016.76711

## ВИВЧЕННЯ МОРФОЛОГІЧНИХ ОЗНАК АУТОФАГІЇ ЯК ТИПУ ПРОГРАМОВАНОЇ СМЕРТІ РОСЛИННОЇ КЛІТИНИ ЗА УМОВ БАКТЕРІАЛЬНОЇ ІНФЕКЦІЇ

© С. І. Шевченко, І. П. Аносов

*Вивчено ультраструктуру руйнації протопласту рослинної клітини за умов бактеріальної інфекції. За аналогією до процесів аутофагії в тваринних клітинах визначено морфологічні шляхи аутофагії рослинних клітин - вакуолізація цитоплазми, конденсація та деконденсація ядерної маси, мультивезикулярну нуклеацію, експансію фагофора та дозрівання макроаутофагосом, утворення аутофаголізосом, утворення мікроаутофагосом шляхом інвагінації тонопласту, явище мітофагії. Показано місця кінцевої деградації зруйнованої цитоплазми у вакуолях уражених клітин*

**Ключові слова:** аутофагія, аутофагосома, лізосома, аутолізосома, аутофаголізосома, некроз, тонопласт, гонофора, везикула

*The ultrastructure of the destruction of the plant cells protoplast is studied under the condition of bacterial infection. According to the autophagy processes in animal cells, the morphological ways of plant cells autophagy – vacuolization of cytoplasm, condensation and decondensation of the nuclear mass, multivesicular nucleation, phagophore expansion and macroautophagosome ripening, autophagolysosome formation by the way of tonoplast invagination, mitophagy phenomenon are determined. The places of the final degradation of the ruined cytoplasm in the vacuoles of destroyed cells are shown*

**Keywords:** autophagy, autophagosome, lysosome, autolysosome, autophagolysosome, necrosis, tonoplast, gonophore, vesicles

### 1. Вступ

Трансмісійний електронний мікроскоп (ТЕМ) є одним з найбільш ранніх інструментів, використовуваних для характеристики аутофагії, і він залишається одним з найнадійніших методів моніторингу аутофагії в клітинах і тканинах. Проте, інтерпретація даних ТЕМ вимагає спеціальних знань. Існує кілька критеріїв для точного опису аутофагосом і аутолізосом. Відмінною рисою аутофагосом є їх подвійні або мультимембранні структури, що містять електронно-щільний матеріал з щільністю, аналогічній цитоплазми [1].

Наявність в аутофагосомі органел, таких як мітохондрії, хлоропласти, що містять в собі аутофаголізосоми, мають більш темний колір, і нагадують лізосоми цитоплазми. Інші цитоплазматичні утворення можуть бути помилково описані як аутофагосоми і аутофаголізосоми.

Іноді типова подвійна структура мембрани аутофагосоми може бути порушена, наприклад після інфікування деяких патогенних мікроорганізмів. Тому, неупереджена і чітка ідентифікація аутофагосоми з використанням ТЕМ вимагає запобіжних заходів.