

DOI: 10.15593/2224-9400/2017.4.04

УДК 579.64

Е.Ф. Чернявская, Н.А. БелясоваБелорусский государственный технологический университет,
Минск, Беларусь**ПРОБИОТИЧЕСКИ ЦЕННЫЕ БАКТЕРИИ,
КОЛОНИЗИРУЮЩИЕ ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНЫЙ ТРАКТ
МОЛОНЯКА КУР**

Применение в птицеводстве пробиотических препаратов, нормализующих микробиоту желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) цыплят, позволяет ускорить набор массы цыплятами, увеличить сохранность и яйценоскость кур-несушек, повысить качество получаемого мяса и яиц. Создание таких препаратов требует изучения состава микробиоты для выявления пробиотически ценных микроорганизмов, наиболее приспособленных к существованию в условиях ЖКТ сельскохозяйственной птицы конкретных географических регионов.

Целью исследования являлось определение доминирующих в ЖКТ цыплят бактерий и выделение представителей, которые характеризуются пробиотическими свойствами и могли бы стать основой пробиотического препарата для кур.

В соответствии с поставленной целью использовали классические микробиологические методы прижизненной диагностики микробиоты ЖКТ цыплят, фенотипические (морфологические и физиолого-биохимические) и филогенетические методы идентификации микроорганизмов.

В представленном исследовании микробиоты цыплят делается вывод о преобладании в ЖКТ птиц бактерий двух филогенетических ветвей Firmicutes и Proteobacteria. Пробиотическим потенциалом среди этих групп прокариот обладают молочнокислые бактерии (МКБ), широко представленные в микробиоте ЖКТ цыплят. Особый интерес представляют бактерии рода Enterococcus, характеризующиеся высокой выживаемостью в условиях ЖКТ цыплят и способностью синтезировать широкий спектр бактериоцинов.

Кроме того, в состав микробиоты ЖКТ входят пигментированные микроорганизмы, способные к синтезу каротиноидов. Каротиноиды, синтезируемые такими бактериями, наряду с провитаминными и антиоксидантными, обладают также иммуностимулирующими свойствами. Создание комбинированного пробиотического препарата на основании этих двух групп микроорганизмов (молочнокислые и каротиноидообразующие бактерии) позволит повысить благотворный эффект, оказываемый препаратом на цыплят.

Ключевые слова: пробиотики, ЖКТ, молочнокислые бактерии, каротиноиды, микробиота, фирмкуты.

E.F. Chernyavskaya, N.A. Belyasova

Belarusian State Technological University, Minsk, Belarus

**PROBIOTICALLY VALUABLE BACTERIA,
COLONIZING THE GASTROINTESTINAL TRACT
OF THE YOUNG CHICKEN**

The use of probiotic drugs in poultry farming, which normalize the microbiota of the gastrointestinal tract (GIT) of chickens, allows accelerating the collection of chickens, increasing the safety and egg laying of laying hens, and improving the quality of meat and eggs. The creation of such drugs requires the study of the composition of the microbiota for the detection of probiotically valuable microorganisms that are most adapted to the existence in the conditions of the gastrointestinal tract of an agricultural bird of specific geographical regions.

The aim of the study was to determine of the prevailing bacteria in the gastrointestinal tract and to isolate representatives that are characterized by probiotic properties and could become the basis of a probiotic preparation for chickens.

In accordance with the goal, classical microbiological methods of intravital diagnosis of microbiota of gastrointestinal tract chicks, phenotypic (morphological and physiological-biochemical) and phylogenetic methods for identifying microorganisms were used.

*In the presented study of chicken microbiota, a conclusion is made about the predominance of bacteria of two phylogenetic branches of Firmicutes and Proteobacteria in the gastrointestinal tract of birds. Among these groups of prokaryotes, lactic acid bacteria (LAB), widely represented in the microbiota of the gastrointestinal tract of chickens, possess probiotic potential. Special interest present bacteria of the genus *Enterococcus*, characterized by high survival in the conditions of the gastrointestinal tract of chicks and the ability to synthesize a wide range of bacteriocins.*

In addition, the microbiota of the gastrointestinal tract includes pigmented microorganisms, capable of synthesizing carotenoids. Carotenoids synthesized by such bacteria, have previtamin and antioxidant activity and also have immunostimulating properties. The creation of a combined probiotic preparation on the basis of these two groups of microorganisms (lactic acid and carotenoid-forming bacteria) will increase the beneficial effect of the drug on chickens.

Keywords: probiotics, gastrointestinal tract, lactic acid bacteria, carotenoids, microbiota, firmicutes.

Желудочно-кишечный тракт животных и птиц с упрощенной пищеварительной системой, таких как куры, содержит огромное количество разнообразных видов микроорганизмов. Недавние исследования

позволили предположить, что состав микробиоты желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) кур может превышать 650 видов, более половины из которых принадлежит к бактериальным родам, неизвестным к настоящему времени [1].

Исследования, проведенные со стерильными животными, убедительно доказали, что микробиота ЖКТ оказывает огромное влияние на развитие цыплят [2, 3]. От состава микробиоты зависит как общая физиология кишечника, так и иммунологические, пищеварительные и защитные функции организма.

Наиболее благоприятным влиянием микробиоты ЖКТ на организм хозяина считается повышение устойчивости организма к патогенной микробиоте [4], обусловленное синтезом нормобиотой анти-микробных веществ, таких как органические кислоты и бактериоцины, стимуляцией иммунной системы хозяина, а также конкуренцией с патогенными микроорганизмами за питательные вещества и специфические области прикрепления и обитания на эпителии ЖКТ [5].

При вылуплении цыплят их пищеварительный тракт и иммунная система в значительной мере менее развита, чем у взрослых птиц, которые защищены от кишечных инфекций, благодаря сформировавшейся микробиоте и иммунитету [6]. Стабильная микробиота ЖКТ достигается только на 6–7-ю неделю после вылупления, а полное становление микробиоценоза может занять более 30 недель.

Популяции микроорганизмов ЖКТ изменяются в зависимости от множества факторов, среди которых можно назвать возраст цыплят, применяемую диету, условия выращивания молодняка и использование препаратов, а также от отдела ЖКТ.

Задачами исследования являлись качественный и количественный анализ состава микробиоты ЖКТ цыплят, определение групп микроорганизмов, преобладающих в пищеварительной системе молодняка кур, и оценка пробиотического потенциала доминирующих в ЖКТ цыплят бактерий.

Экспериментальная часть

В качестве объекта исследования выступали пробы помета цыплят одной из белорусских птицефабрик. Для анализа микробиоты ЖКТ цыплят применяли общепринятый микробиологический способ анализа микробного пейзажа ЖКТ цыплят [7].

Получение чистых культур, тесты на каталазную, оксидазную активность, на способность к сквашиванию молока и фаготипирование проводили с использованием общепринятых методов [8]. Инкубирование и хранение бактерий осуществляли на плотных и в жидких средах M17 [9], среде LB [8], «анаэробном» агаре [10]. Морфологию клеток оценивали посредством микроскопирования дифференциально окрашенных препаратов (окраска по Граму, окраска эндоспор) [11]. Идентификацию микроорганизмов проводили на основании морфологических и физиолого-биохимических признаков [12].

Полимеразную цепную реакцию проводили с использованием набора реактивов PCR Master Mix (2x) и праймеров (EntprolF: AATCA CGGCGACACAAAAGTC; EntprolR: GGCAGCATCGGTTGAATGG; EntpromF: GAAGGAAGCGGCGTGATCTA; EntpromR: ATCCAGCTTT TTCAGCCGGT), подобранных к уникальной для представителей рода *Enterococcus*, но универсальной для представителей вида *E. faecalis* и *E. faecium* последовательности ДНК и стандартных праймеров для гена 16S РНК в программируемом термоцикlerе «Терцик».

Для выделения и идентификации каротиноидов использовали модифицированный метод Хандла [13], в который введена дополнительная стадия механического разрушения клеток. Анализ каротиноидов осуществляли с помощью спектрофотометрии.

Результаты и их обсуждение

На сегодняшний день существует два подхода к анализу состава микробиоты ЖКТ – классический микробиологический и метагеномный [7]. Метагеномный анализ позволяет оценить все разнообразие как культивируемых, так и некультивируемых микроорганизмов, однако не обеспечивает возможность выделения интересующих штаммов. В то же время применение микробиологических методов позволяет выделить доминирующие виды бактерий, которые составляют обычно 20–60 % (в зависимости от выбранной методики) общего числа видов микроорганизмов, колонизирующих ЖКТ кур.

Поскольку анализ всего разнообразия бактерий, доминирующих в ЖКТ животных, невозможен, мы сконцентрировали внимание на представителях филогенетических ветвей прокариот, которые обычно преобладают в ЖКТ цыплят (Firmicutes, Proteobacteria, Bacteroidetes и Actinobacteria) [14, 15].

Источниками для выделения бактерий служили пробы помета цыплят разного возраста, отобранные непосредственно перед анализом из нескольких птичников одной из птицефабрик Беларуси. Отбор проб осуществляли дважды в течение 2011–2012 гг. Выделение доминирующих изолятов проводили по морфотипам. К доминирующему представителям относили те бактерии, чья концентрация в помете превышала 10^3 КОЕ/г.

Из проб помета первой партии (2011 г.) в виде чистых культур выделены 72 штамма доминирующих бактерий. В табл. 1 отражено количество и разнообразие бактерий в помете цыплят разного возраста.

Таблица 1

Концентрация доминирующих бактерий и число изолятов, полученных из помета цыплят (2011 г.)

Условия выделения	Концентрация бактерий, КОЕ/г (число изолятов) в помете цыплят разного возраста				
	5 сут	15 сут	25 сут	35 сут	45 сут
LB, 30 °C	$3,1 \cdot 10^5$ (6)	$5,6 \cdot 10^5$ (8)	$2,4 \cdot 10^5$ (6)	$4,1 \cdot 10^5$ (6)	$6,7 \cdot 10^5$ (8)
M 17, 30 °C	$7,4 \cdot 10^6$ (24)	$2,3 \cdot 10^6$ (10)	$6,9 \cdot 10^5$ (10)	$5,6 \cdot 10^6$ (12)	$6,1 \cdot 10^6$ (14)
M 17, 42 °C	$8,5 \cdot 10^5$ (8)	$4,9 \cdot 10^5$ (8)	$3,2 \cdot 10^5$ (6)	$6,8 \cdot 10^5$ (10)	$5,1 \cdot 10^5$ (6)
Анаэробный агар, 30 °C	$5,6 \cdot 10^3$ (4)	$3,1 \cdot 10^3$ (2)	$2,7 \cdot 10^3$ (2)	$2,9 \cdot 10^3$ (4)	$4,3 \cdot 10^3$ (5)
Итого	$7,4 \cdot 10^6$ (42)	$2,3 \cdot 10^6$ (28)	$6,9 \cdot 10^5$ (24)	$5,6 \cdot 10^6$ (32)	$6,1 \cdot 10^6$ (33)

Согласно представленным результатам, концентрация бактерий, способных к лабораторному культивированию варьирует в аэробных условиях от 10^5 до 10^6 КОЕ/г помета. Напротив, анаэробных бактерий в помете на 2–3 порядка меньше – до 10^3 КОЕ/г помета). Из литературных данных известно, что содержание микроорганизмов в ЖКТ цыплят колеблется от 10^7 до 10^{11} КОЕ/г в зависимости от отдела ЖКТ и условий выделения [16]. Полученные нами результаты несколько ниже, что можно объяснить условиями получения бактериального пейзажа, направленными на выделение потенциально пробиотических бактерий.

Содержание доминирующих бактерий в помете цыплят разного возраста колеблется незначительно (в пределах одного порядка) и в незначительной мере зависит от возраста цыплят. Прослеживается динамика изменения разнообразия прокариот, колонизирующих ЖКТ цыплят: к 25-му дню жизни общее число изолятов уменьшается с 42 до 24, а затем постепенно увеличивается до 33. Это можно связать с периодичностью введения в рацион поголовья антибиотиков. На птицефабрике,

где осуществляли отбор проб помета, цыплят обрабатывают антибиотиками по следующей схеме: 2-й день – энрофлоксацин; 6-й день – колистин; 10-й и 14-й дни – доксициклин; 20-й и 24-й дни – энрофлоксацин. На этом профилактическая обработка антибиотиками завершается. Из табл. 1 следует, что в период с 5-го по 25-й день жизни цыплят итоговые количество и разнообразие бактерий в их помете уменьшается, а затем, по окончании внесения в корм антибиотиков, снова восстанавливается. Выделенные из помета цыплят доминирующие бактерии (72 штамма) в соответствии с одной из задач исследования подвергали анализу, чтобы выяснить долю преобладающих крупных групп прокариот в ЖКТ цыплят.

Идентификация на основании формы клеток, грампринадлежности, способности к сквашиванию молока, спорообразованию, каталазной и оксидазной активности позволила отнести бактерии выделенных штаммов к одной из четырех филогенетических ветвей, составляющих основу микробиоты ЖКТ птиц. На рис. 1 отображено представительство крупных групп бактерий в ЖКТ цыплят разного возраста.

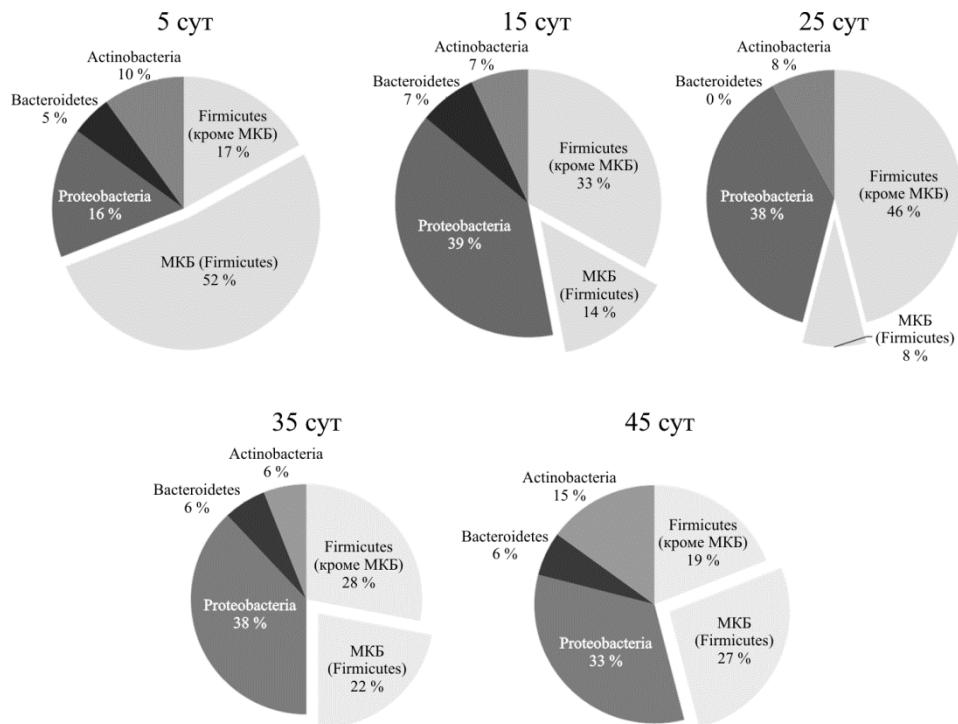


Рис. 1. Относительное содержание представителей филогенетических ветвей бактерий в ЖКТ цыплят разного возраста (2011 г.)

Преобладающими группами бактерий в ЖКТ цыплят всех исследуемых возрастов являются *Firmicutes* и *Proteobacteria* (см. рис. 1), причем относительное содержание протеобактерий, как и немолочнокислых фирмикутов, с возрастом увеличивается, что может быть связано с изменениями рациона цыплят и свидетельствовать об ухудшении микробиологического статуса ЖКТ птицы [17, 18]. Как видно из диаграммы на рис. 1, доля МКБ, выделенных из помета цыплят, резко снижается в период активной обработки поголовья птицы антибиотиками, что свидетельствует о высокой чувствительности различных видов МКБ к применяемым антибиотикам. По достижении цыплятами 25-дневного возраста обработка антибиотиками прекращается, что способствует расширению микробного разнообразия. Характерно, что среди молочнокислых бактерий на 35-е сутки жизни цыплят в их ЖКТ на первое место выходят молочнокислые энтерококки, что может являться свидетельством их наилучшей приспособленности к выживанию в сложившихся условиях и высокой конкурентоспособности. Кроме того, с 30-го по 45-й день в рацион цыплят вводят лимонную кислоту, что создает благоприятные условия для развития ацидофильных молочнокислых бактерий и должно приводить к увеличению их численности.

Неслучайный характер изменения разнообразия прокариот в ЖКТ цыплят подтвержден в исследовании второй партии помета цыплят (2012 г.), где в качестве источника бактериальных изолятов использованы пробы помета цыплят разного возраста из одного (контрольного) птичника. Выделено 134 доминирующих штамма бактерий, распределение количества которых по срокам отбора проб отражено в табл. 2.

Таблица 2

Концентрация и количество изолятов, выделенных из помета цыплят (2012 г.)

Условия выделения	Концентрация бактерий, КОЕ/г (число изолятов) в помете цыплят разного возраста					
	7 сут	14 сут	21 сут	28 сут	35 сут	42 сут
LB, 30 °C	$6,1 \cdot 10^5$ (12)	$6,9 \cdot 10^5$ (15)	$4,3 \cdot 10^5$ (10)	$3,9 \cdot 10^5$ (8)	$4,1 \cdot 10^5$ (8)	$8,6 \cdot 10^5$ (11)
M 17, 30 °C	$8,3 \cdot 10^6$ (24)	$8,6 \cdot 10^6$ (26)	$4,8 \cdot 10^6$ (18)	$5,9 \cdot 10^6$ (26)	$4,7 \cdot 10^6$ (21)	$9,1 \cdot 10^6$ (25)
M 17, 42 °C	$7,8 \cdot 10^5$ (14)	$5,8 \cdot 10^5$ (13)	$3,7 \cdot 10^5$ (10)	$5,2 \cdot 10^5$ (12)	$6,4 \cdot 10^5$ (11)	$8,9 \cdot 10^5$ (18)
Анаэробный агар, 30 °C	$3,2 \cdot 10^3$ (5)	$2,8 \cdot 10^3$ (3)	$2,4 \cdot 10^3$ (2)	$1,6 \cdot 10^3$ (2)	$2,7 \cdot 10^3$ (4)	$2,9 \cdot 10^3$ (4)
Итого	$8,3 \cdot 10^6$ (55)	$8,6 \cdot 10^6$ (57)	$4,8 \cdot 10^6$ (40)	$5,9 \cdot 10^6$ (48)	$4,7 \cdot 10^6$ (44)	$9,1 \cdot 10^6$ (58)

Доминирующие бактерии, выделенные из помета второй партии, идентифицированы по той же схеме, что использовалась для проб первой партии. На рис. 2 можно видеть, как меняется относительное содержание представителей крупных групп бактерий в помете цыплят 7–42-дневного возраста.

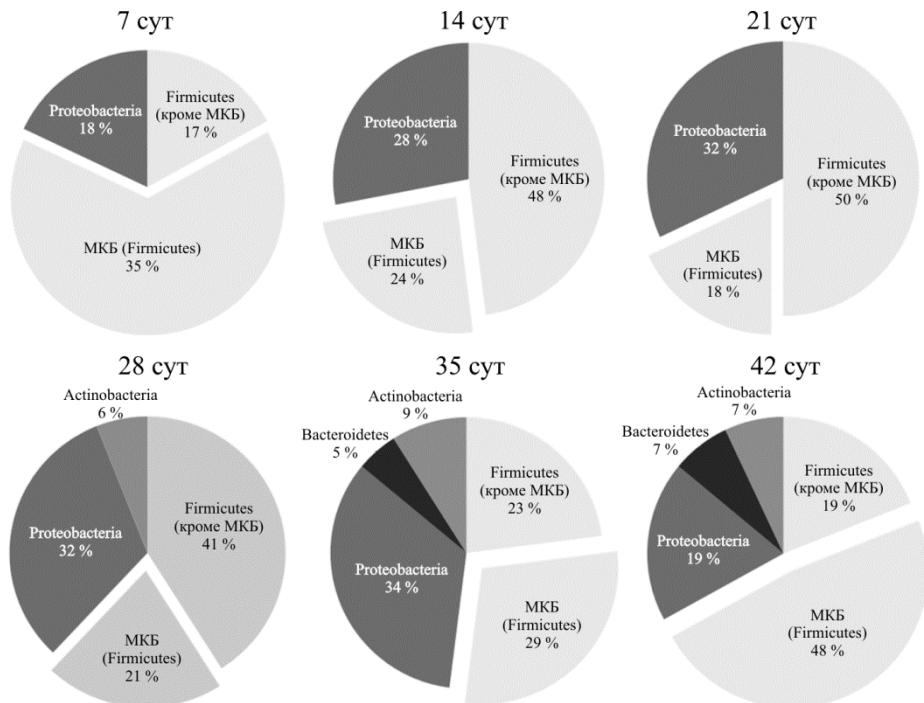


Рис. 2. Относительное содержание представителей филогенетических ветвей бактерий в ЖКТ цыплят разного возраста (2012 г.)

Характер изменения состава микробиоты второй партии помета цыплят совпадает с таковым для проб помета 1-й партии – преобладающими являются представители *Firmicutes* и *Proteobacteria*, а соотношение протеобактерий, молочнокислых и немолочнокислых фурмикутов изменяется в зависимости от схемы обработки цыплят антибиотиками. Можно видеть (см. рис. 2), что к шестой неделе жизни цыплят (через 3 недели после завершения программы обработки их антибиотиками) количество штаммов молочнокислых бактерий достигает почти половины от общего числа штаммов культивируемых бактерий. Это является отражением благоприятного физиологического-биохимического статуса ЖКТ цыплят и их здоровья в целом, поскольку, как следует из данных работы [19], количество и разнообразие молочнокислых бакте-

рий в кишечном тракте животных обеспечивает конкурентное ингиби-рование патогенных микроорганизмов. Необходимо отметить, что при анализе пейзажа помета партий 2011–2012 гг. обнаружено незначи-тельное содержание пигментированных бактерий (менее 3 % от общего числа выделенных штаммов бактерий, $<10^3$ КОЕ/г помета).

Из полученных данных (см. рис. 1 и 2) видно, что молочнокислые бактерии составляют значительную часть микробиоты ЖКТ цыплят разного возраста. Поскольку они относятся к потенциально пробиоти-ческим бактериям, их исследовали более обстоятельно для уточнения родовой принадлежности: проводили фаготипирование, амплифика-цию со специфичными к энтерококкам разных видов праймерами, оп-ределяли температурные оптимумы, характер клеточных скоплений. В результате удалось распределить 22 (2011 г.) и 53 (2012 г.) штамма молочнокислых бактерий между 5 родами.

На рис. 3 представлены диаграммы, отражающие относительное содержание представителей разных родов МКБ в помете цыплят (2011–2012 гг.)

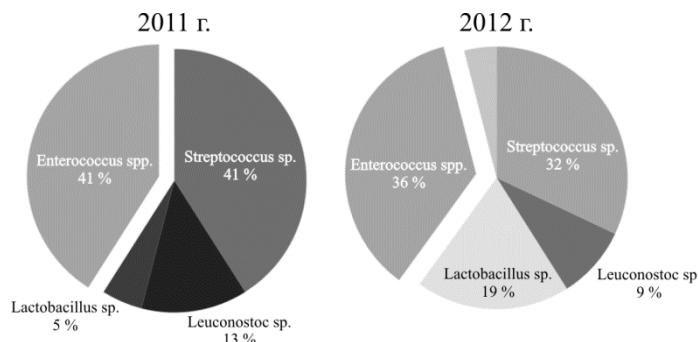


Рис. 3. Относительное содержание МКБ разных родов в ЖКТ цыплят (2011–2012 гг.)

Как следует из диаграммы на рис. 3, преобладающими молочно-кислыми бактериями ЖКТ цыплят являются представители рода *Enterococcus* и *Streptococcus* (мезофильные и термофильные).

К штаммам, которые могут применяться в качестве пробиотиков, предъявляют ряд требований: бактерии должны быть нормальными обитателями желудочно-кишечного тракта здоровых животных или человека, непатогенными и нетоксичными; неинвазивными, неканцерогенными, не обладать антагонистической активностью по отношению к организмам нормобиоты человека или животного; обладать антагони-

стическими свойствами по отношению к основным патогенам ЖКТ; обладать способностью к адгезии на эпителии и приживлению в ЖКТ; должны быть устойчивы к желчи, фенолу, основным антибиотикам и быть способными достигать минимальной концентрации 10^6 – 10^8 КОЕ/г содержимого кишечника [20]. В настоящее время многие исследователи все чаще используют именно бактерии рода *Enterococcus* для создания пробиотических препаратов [21]. Это обусловлено не только способностью данных бактерий успешно колонизировать ЖКТ хозяина, но также способностью синтезировать бактериоцины и молочную кислоту, обеспечивающих антагонистические свойства энтерококков по отношению к патогенной и условно-патогенной микробиоте. Установлено, что именно эти бактерии играют ведущую роль в процессах пищеварения цыплят, выступают в качестве конкурентов по отношению к патогенной микробиоте и стимулируют иммунную систему хозяина [21]. Сказанное предопределяет целесообразность использования энтерококков в качестве пробиотических бактерий для профилактики и лечения заболеваний у цыплят. В соответствии с одной из задач исследования провели оценку соответствия изолятов МКБ требованиям, предъявляемым к пробиотикам, в ходе которой отобрали 5 штаммов *Enterococcus* spp. и 1 штамм *Streptococcus* sp., характеризующихся высоким пробиотическим потенциалом (M42 42.1.3, MM42 42.5.2, M42 7.4.2, M30 28.6.1.1, MM42 28.3 и MM42 42.1).

В настоящее время большой популярностью пользуются комбинированные пробиотические препараты, в состав которых входят бактерии нескольких штаммов, обладающие разными свойствами. Выделение из помета пигментированных бактерий позволяет предположить, что в ЖКТ цыплят могут выживать каротиноидообразующие бактерии, которые также могут быть использованы для создания пробиотических препаратов. Выделяемые такими микроорганизмами каротиноиды в организме птиц могут преобразовываться посредством ферментативных систем хозяина в витамин А, недостаток которого приводит к замедленному развитию цыплят и потере мышечной координации. Сочетая такие микроорганизмы с МКБ, можно получить комбинированный пробиотик, воздействующий на организм птицы посредством сразу нескольких механизмов. Перспективным компонентом комбинированного пробиотического препарата могут стать пигментирующие спорообразующие бактерии рода *Bacillus*, способные синтезировать широкий спектр каротиноидов [22].

Поскольку содержание пигментированных бактерий в помете цыплят невелико, для выделения и отбора наиболее перспективных штаммов каротиноидосинтезирующих штаммов подбрали элективные условия:

- облучение коротковолновым ультрафиолетом (265 нм, 70 см, 10 мин) для инактивации непигментированных микроорганизмов, которые гораздо более чувствительны к фотодинамическому действию ультрафиолета, чем пигментированные формы;
- пастеризацию (80 °С, 15 мин) для выделения спорообразующих, устойчивых к нагреванию микроорганизмов, которые могут быть использованы в качестве основы пробиотического препарата, производство которого включает технологическую стадию пастеризации;
- сочетание облучения УФ и пастеризации.

Основным признаком, согласно которому производили отбор, являлось наличие желтого, оранжевого или красного пигмента в составе колоний.

Из трех проб помета цыплят контрольного птичника в мае 2014 г. выделено в виде чистых культур 78 штаммов пигментированных бактерий.

В табл. 3 приведены результаты эффективности выделения пигментированных бактерий из проб помета при использовании элективных условий.

Таблица 3

Эффективность выделения пигментированных бактерий из проб помета цыплят в разных условиях

Условия выделения микроорганизмов	Концентрация (число изолятов), КОЕ/г		Относительное содержание пигментированных форм, %
	непигментированных	пигментированных	
Пастеризация	$5,1 \cdot 10^2$ (51)	$3,8 \cdot 10^2$ (38)	43
УФ-облучение	$3,4 \cdot 10^2$ (34)	$3,9 \cdot 10^2$ (39)	53
Пастеризация + УФ-облучение	$1,1 \cdot 10^2$ (11)	$3,6 \cdot 10^2$ (36)	77
Без элективных факторов	$3,7 \cdot 10^7$ (> 500)	$5,2 \cdot 10^2$ (1)	< 0,1

Из полученных данных следует, что наибольшее содержание пигментированных микроорганизмов наблюдается при комбинированном воздействии на клетки ультрафиолета и пастеризации – колонии большинства микроорганизмов на плотной среде оказались окрашенными в желто-оранжевые и розовые тона.

Идентификацию пигментированных бактерий проводили на основании формы клеток, грампринадлежности, способности к спорообразованию, типу пигмента, каталазной и оксидазной активности [23].

Анализ полученных данных показал, что преобладающие среди пигментированных микроорганизмов изоляты относятся к следующим семействам: *Enterobacteriaceae* (23 %), *Staphylococcaceae* 18,5 %), *Micrococcaceae* (16 %), *Clostridiaceae* (16 %), *Pseudomonadaceae* (14,5 %). Представители этих семейств характеризуются выживаемостью в условиях ЖКТ цыплят и могут обладать пробиотической ценностью.

Оценка способности пигментированных изолятов синтезировать каротиноиды позволила отобрать 14 штаммов каротиноидообразующих бактерий, относящихся к семействам *Enterobacteriaceae*, *Micrococcaceae*, *Pseudomonadaceae*. Характерный спектр поглощения каротиноидов одного из штаммов представлен на рис. 4.

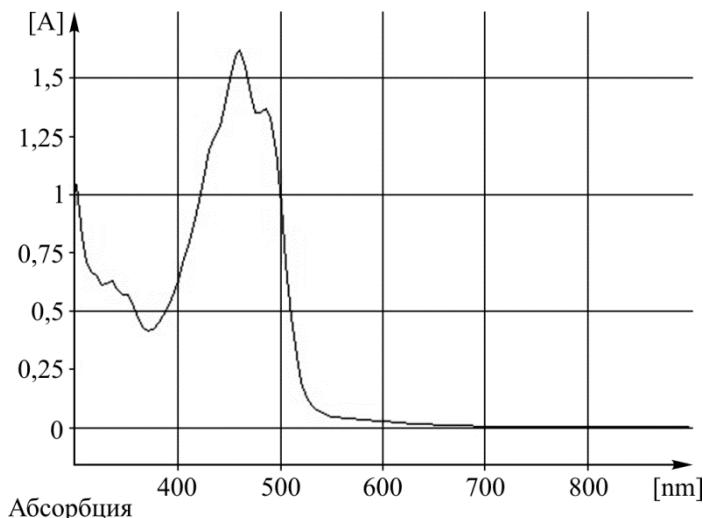


Рис. 4. Спектр поглощения каротиноидов, продуцируемых бактериями штамма p8.2

Анализ пробиотического потенциала выделенных изолятов каротиноидообразующих бактерий, проведенный аналогично МКБ, позволил отобрать 4 штамма пигментированных бактерий, пригодных для использования в пробиотическом препарате (p8.2, ufp16.3, КП35.1.2.4, p35.4).

На основании проведенного исследования установлено, что в микробиоте ЖКТ молодняка кур характеризуется широким спектром микроорганизмов, в том числе пробиотически ценных. Среди всего многообразия представителей микробиоты удалось выделить 6 штам-

МОВ МКБ (*Enterococcus* sp., *Streptococcus* sp.) и 4 штамма каротиноидообразующих бактерий (представители семейств *Enterobacteriaceae*, *Micrococcaceae* и *Pseudomonadaceae*), которые будут на следующем этапе исследованы для составления комбинаций, характеризующихся индифферентными или мутуалистическими взаимоотношениями компонентов.

Список литературы

1. Characteristics of the gastrointestinal microbial communities, with special reference to the chicken / J. Apajalahti, A. Kettunen, H. Graham // World's Poult. Sci. J. – 2004. – № 60. – P. 223–232.
2. Probiotics shown to change bacterial community structure in the avian gastrointestinal tract / T. Netherwood [et al.] // Appl Environ Microb. – 1999. – № 65. – P. 5134–5138.
3. Patterson J.A., Burkholder K.M. Application of prebiotics and probiotics in poultry production // Poultry Sci. – 2003. – № 82. – P. 627–631.
4. Mead G.C. Prospects for competitive exclusion treatment to control salmonellas and other foodborne pathogens in poultry // Vet. J. – 2000. – № 159. – P. 111–123.
5. Direct-fed microbials and their impact on the intestinal microflora and immune system of chickens / K. Lee, S. Hyun, G.R. Siragusa // Journal Poultry Science. – 2010. – № 47 (2). – P. 106–114.
6. Amit-Romach E., Sklan Z. Uni D. Microflora ecology of the chicken intestine using 16S ribosomal DNA primers // Poultry Schience. – 2004. – № 83. – P. 1093–1098.
7. Methods of analysis of gut microorganism – actual state of knowledge / I. Ignys [et al.] // Annals of Agricultural and Environmental Medicine. – 2014. – Vol. 21, no. 4. – P. 799–803.
8. Методы общей бактериологии: в 3 т. / под ред. Ф. Герхардта [и др.]. – М.: Мир, 1983. – Т. 1. – 536 с.
9. Terzaghi B.E., Sandine W.E. Improved medium for lactic streptococci and their bacteriophages // ApplMicrobiol. – 1975. – № 29. – P. 807–813.
10. Cultivation of Anaerobic and Facultatively Anaerobic Bacteria from Spacecraft-Associated Clean Rooms / M. Stieglmeier [et al.] // Applied and environmental microbiology. – 2009. – Vol. 75, no. 11. – P. 3484–3491.

11. Практикум по микробиологии / под ред. А.И. Нетрусова. – М.: Академия, 2005. – 608 с.
12. Определитель бактерий Берджи: в 2 т. / под ред. Дж. Хоулта, Н. Крига, П. Снита, Дж. Стейли, С. Уильямса – М.: Мир, 1997. – Т. 1 – 432 с.; Т. 2. – 368 с.
13. Carotenoids of *E. herbicola* and an *E. coli* HB101 strain carrying the *E. herbicola* carotenoid gene cluster / B.S. Hundle [et al.] // *J. Photochemistry and photobiology*. – 1991. – Vol. 54. – P. 89–93.
14. Pan D., Yu Z. Intestinal microbiome of poultry and its interaction with host and diet // *Gut Microbes*. – 2005. – № 1. – P. 108–119.
15. Classification of domains and phyla – Hierarchical classification of prokaryotes (bacteria). – 2016. – URL: <http://www.bacterio.net-classifphyla.html> (accessed 21 September 2017).
16. Waite D.W., Taylor M.W. Characterizing the avian gut microbiota: membership, driving influences, and potential function // *Frontiers in Microbiology*. – *Microbial Symbioses*. – 2014. – Vol. 5. – P. 1–13.
17. The chicken gastrointestinal microbiome / B.B. Oakley [et al.] // *FEMS MicrobiolLett*. – 2014. – № 360. – P. 100–112.
18. Калоев Б.С. Научное обоснование и практическое использование молочнокислых препаратов в кормлении молодняка сельскохозяйственных животных и птицы: дис. ... д-ра сельхоз. наук: 06.02.02. – Владикавказ, 2003. – 189 с.
19. The role and application of enterococci in food and health / M.R. Foulquie [et al.] // *International Journal of Food Microbiology*. – 2005. – № 106. – P. 1–24.
20. Marteau P., Rambaud J.C. Potential of using lactic acid bacteria for therapy and immunomodulation in man // *FEMS Microbiol. Rev.* – 1993. – № 12. – P. 207–220.
21. Ennahar S., Deschamps N. Anti-Listeria effect of enterocin A, produced by cheese-isolated *Enterococcus faecium* EFM01, relative to other bacteriocins from lactic acid bacteria // *Journal of Applied Microbiology*. – 2000. – № 88. – P. 449–457.
22. Carotenoids found in *Bacillus* / R. Khaneja [et al.] // *Journal of Applied Microbiology*. – 2010. – № 108. – P. 1889–1902.
23. Isolation & identification of pigment producing bacterial isolates from different terrestrial habitats in thane district, m.s, india / A. Shubhangi [et al.] // *World journal of pharmacy and pharmaceutical sciences*. – 2016. – Vol. 5. – P. 618–628.

References

1. Apajalahti J., Kettunen A., Graham H. Characteristics of the gastrointestinal microbial communities, with special reference to the chicken. *World's Poult. Sci. J.*, 2004, no. 60, pp. 223–232.
2. Netherwood T. et al. Probiotics shown to change bacterial community structure in the avian gastrointestinal tract. *Appl Environ Microb.*, 1999, no.65, pp. 5134-5138.
3. Patterson J.A., Burkholder K.M. Application of prebiotics and probiotics in poultry production. *Poultry Sci.*, 2003, no. 82, pp. 627-631.
4. Mead G. C. Prospects for competitive exclusion treatment to control salmonellas and other foodborne pathogens in poultry. *Vet. J.*, 2000, no. 159, pp. 111-123.
5. Lee K., Hyun S., Siragusa G.R. Direct-fed microbials and their impact on the intestinal microflora and immune system of chickens. *Journal Poultry Science*, 2010, no. 47 (2), pp. 106-114
6. Amit-Romach E., Sklan D., Uni Z. Microflora ecology of the chicken intestine using 16S ribosomal DNA primers. *PoultrySchience*, 2004, no. 83, pp. 1093-1098.
7. Ignyś I. et al. Methods of analysis of gut microorganism – actual state of knowledge. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 2014, vol. 21, no. 4, pp. 799–803.
8. Gerhardt F. et al. Metody obshchei bakteriologii [Methods of common Bacteriology]. Moscow, Mir, 1983, 536 p.
9. Terzaghi B.E., Sandine W.E. Improved medium for lactic streptococci and their bacteriophages. *ApplMicrobiol.*, 1975, no. 29, pp. 807-813.
10. Stieglmeier M. et al. Cultivation of Anaerobic and Facultatively Anaerobic Bacteria from Spacecraft-Associated Clean Rooms. *Applied and environmental microbiology*, 2009, vol. 75, no. 11, pp. 3484–3491.
11. Praktikum po mikrobiologii [Practice of microbiology] Ed. A.I. Netrusova. Moscow, Akademiia, 2005, 608 p.
12. Houlta Dzh., Kriga N., Snita P. et al. Opredelitel' bakterii Berdzhi [Bergys' Manual of bacteria]. Moscow, Mir, 1997, vol. 1, 432 p., vol. 2, 368 p.
13. Hundle B.S. et al. Carotenoids of *E. herbicola* and an *E. coli* HB101 strain carrying the *E.herbicola* carotenoid gene cluster. *J. Photochemistry and photobiology*, 1991, vol. 54, pp. 89-93.
14. Pan D., Yu Z. Intestinal microbiome of poultry and its interaction with host and diet. *Gut Microbes*, 2005, no. 1, pp. 108–119.

15. Classification of domains and phyla – Hierarchical classification of prokaryotes (bacteria), 2016, available at: <http://www.bacterio.net/-classifphyla.html> (accessed 21.09.2017).
16. Waite D.W., Taylor M.W. Characterizing the avian gut microbiota: membership, driving influences, and potential function. *Frontiers in Microbiology. Microbial Symbioses*, 2014, vol.5, pp.1-13.
17. Oakley B.B. et al. The chicken gastrointestinal microbiome. *FEMS MicrobiolLett.*, 2014, no. 360, pp. 100–112.
18. Kaloev B.S. Nauchnoe obosnovanie i prakticheskoe ispol'zovanie molochnokislykh preparatov v kormlenii molodniaka sel'skokhoziaistvennykh zhivotnykh i ptitsy [Scientific substantiation and practical use of lactic acid preparations in the feeding of young animals of agricultural animals and birds]. Doctor's degree dissertation. Vladikavkaz, 2003, 189 p.
19. Foulquier M.R. et al. The role and application of enterococci in food and health. *International Journal of Food Microbiology*, 2005, no. 106, pp. 1-24.
20. Marteau P., Rambaud J.C. Potential of using lactic acid bacteria for therapy and immunomodulation in man. *FEMS Microbiol. Rev.*, 1993, no. 12, pp. 207-220.
21. Ennahar S. Anti-Listeria effect of enterocin A, produced by cheese-isolated Enterococcus faecium EFM01, relative to other bacteriocins from lactic acid bacteria. *Journal of Applied Microbiology*, 2000, no. 88, pp. 449-457.
22. Khaneja R. Carotenoids found in *Bacillus*. *Journal of Applied Microbiology*, 2010, no. 108, pp. 1889-1902.
23. Shubhangi A. Isolation & identification of pigment producing bacterial isolates from different terrestrial habitats in thane district, m.s, india. *World journal of pharmacy and pharmaceutical sciences*, 2016, vol. 5, pp. 618-628.

Получено 30.10.2017

Об авторах

Чернявская Екатерина Федоровна (Минск, Беларусь) – ассистент кафедры биотехнологии и биоэкологии Белорусского государственного технологического университета (220006, г. Минск, ул. Свердлова, 13А, e-mail: chernyavskaya@belstu.by).

Белясова Наталья Александровна (Минск, Беларусь) – кандидат биологических наук, доцент кафедры биотехнологии и биоэкологии Белорусского государственного технологического университета (220006, г. Минск, ул. Свердлова, 13А, e-mail: belyasova@belstu.by).

About the authors

Katerina F. Chernyavskaya (Minsk, Belarus) – Assistant, Department of Biotechnology and Bioecology, Belorussian State Technological University (13A, Sverdlova str., 220006, Minsk, e-mail: chernyavskaya@belstu.by).

Natalia A. Belyasova (Minsk, Belarus) – Ph.D. in Biological Sciences, Associate Professor, Department of Biotechnology and Bioecology, Belorussian State Technological University (13A, Sverdlova str., 220006, Minsk, e-mail: belyasova@belstu.by).