

<https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0108598>
(дата обращения 15.01.2024).

3. Международная научная конференция молодых ученых «Молодежь в науке-2023», 20–22 сентября 2023 г. : материалы конф. / Нац. акад. наук Беларуси, Совет молодых ученых ; редкол.: В. Г. Гусаков [и др.]. – Минск: Беларуская навука, 2023. – С. 178-180.

4. Сизенцов, А.Н. Методы определения антибиотикопродуктивности и антибиотикорезистентности: методические указания к лабораторному практикуму : метод. указания / А. Н. Сизенцов. – Оренбург: ГОУ ОГУ, 2009. – С. 50.

УДК 579.62

Д. С. Ковальская, мл. науч. сотр.;

Н. А. Ванькевич, науч. сотр.;

И. А. Проскурнина зав. лабораторией;

Н. В. Сверчкова канд. биол. наук, доц.,

зам. ген. дир. по науч. работе, гл. науч. сотр.;

Э. И. Коломиец д-р биол. наук, проф., академик, ген. дир. гл. науч. сотр.

(ГНПО «Химический синтез и биотехнологии», г. Минск);

Е. А. Раевская студ. (БГУ, г. Минск)

ИЗУЧЕНИЕ ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ИЗОЛЯТОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ МИКРОБИОМА РУБЦА ОВЕЦ

Рубец мелкого рогатого скота (МРС), в частности овец, играет важную роль в вопросе поддержания иммунитета животных. Микроорганизмы, находящиеся в рубцовой биомассе, способны продуцировать летучие жирные кислоты, витамины, ряд ферментов, необходимых для нормального переваривания комбикормов, а также антимикробные пептиды, защищающие организм от патогенной микробиоты [1]. Увеличение в рубце количества болезнетворных бактерий провоцирует развитие различных инфекций у животных, лечение которых, как правило, связано с применением антибиотиков.

Помимо проблемы с употреблением в пищу мяса вылеченных таким образом животных существует еще одна – приобретение антибиотикорезистентности патогенами и, следовательно, отсутствие впоследствии лечебного эффекта.

Для того, чтобы предотвратить развитие инфекционных заболеваний у МРС, а также улучшить перевариваемость комбикормов, предлагается дополнять их кормовую базу пробиотическим компонентом. На сегодняшний день основой пробиотических кормовых добавок могут быть бактерии рода *Bacillus*, так как они соответствуют основным свойствам пробиотиков: сохранение жизнеспособности и функциональных свойств при прохождении через пищеварительный тракт, продукция ферментов и биологически активных веществ, оказание ингибирующего действия на различные патогенные микроорганизмы [2, 3].

В связи с указанной целью работы являлось выделение штаммов бактерий с высокой ферментативной и антимикробной активностью из микробиоты рубца овец и определение их физиолого-биохимических свойств. Объектом исследования служили изоляты микроорганизмов, выделенные из образцов рубца мелкого рогатого скота. В качестве тест-объектов для определения антагонистической активности исследуемых культур использовали условно-патогенные бактерии *Escherichia coli* 39А, *Staphylococcus aureus* 1528 и *Salmonella dublin* 3.

Производство изолятами ферментов оценивали по способности утилизировать специфические субстраты в составе следующих сред: голодный агар с казеинатом натрия, минимальная среда с добавлением натрия карбоксиметилцеллюлозы, минимальная среда с добавлением крахмала. Морфологию клеток и грампринадлежность оценивали с помощью микроскопии фиксированных препаратов, окрашенных по методу Грама с иммерсионной системой.

Физиолого-биохимические свойства изолятов исследовали общепринятыми методами [4]. Антимикробную активность изолятов в отношении представителей условно-патогенной микробиоты определяли методом лунок [5]. Чашки инкубировали при 28–30°C, результаты оценивали на 2-е сутки по диаметру зон ингибирования патогенов.

В ходе работы из рубцов мелкого рогатого скота выделили 32 изолята бактерий, которые были исследованы на способность продуцировать ряд ферментов (амилаза, протеаза, целлюлаза), а также подавлять рост условно-патогенной микробиоты.

В таблице 1 представлены изоляты, обладающие наиболее высокими показателями антимикробной и ферментативной активности, на рисунке 1 продемонстрированы зоны гидролиза субстратов, а также антимикробная активность некоторых культур бактерий.

Таблица 1 – Характеристика отобранных изолятов с наиболее высокой ферментативной и антагонистической активностью

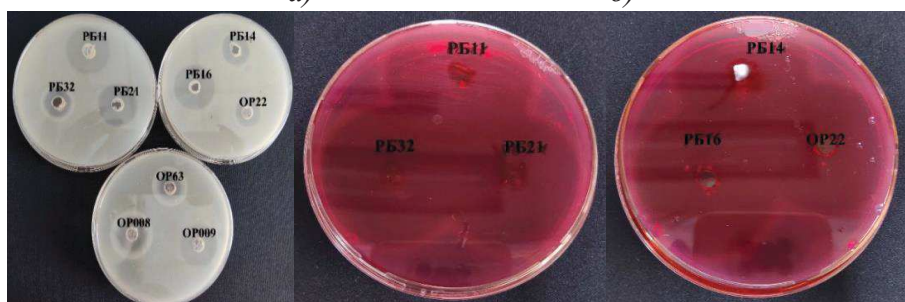
Изолят	Ферментативная активность			Антимикробная активность (мм) в отношении тест-объекта		
	Амилолитическая	Протеолитическая	Целлюлолитическая	<i>E. coli</i> 39A	<i>S. aureus</i> 1528	<i>S. dublin</i> 3
РБ11	3,2	4,0	6,0	13,0±0,2	22,3±0,3	14,2±0,2
РБ14	4,3	5,0	3,0	28,1±0,2	20,4±0,2	22,4±0,2
РБ16	5,0	5,4	4,4	18,3±0,4	27,3±0,2	16,1±0,3
РБ21	4,7	5,0	6,0	20,2±0,2	22,2±0,2	21,3±0,2
РБ24	3,5	8,7	5	26,2±0,3	27,4±0,3	17,0±0,2
РБ32	3,7	5,5	1,1	26,1±0,3	20,0±0,3	23,6±0,4
ОР22	3,2	4,3	4,5	27,2±0,2	31,3±0,3	23,4±0,4
ОР008	5,0	2,8	1,5	20,4±0,3	18,0±0,2	–
ОР009	3,0	4,7	6,0	21,3±0,2	28,1±0,3	17,2±0,3
ОР41С	4,4	6,0	5	18,3±0,2	23,5±0,2	21,3±0,4

Примечание. Оценка ферментативных активностей проводилась по величине отношения диаметра зоны гидролиза субстрата (D) к диаметру колонии (d), продуцирующей фермент.



а)

б)



в)

г)

д)

Рисунок 1 – Проявление антимикробной (А, Б) и ферментативной (протеолитической (В), целлюлолитической (Г, Д) активностей наиболее активными изолятами

Установлено, что изучаемые культуры являются аэробами или факультативными анаэробами с оптимумом роста в диапазоне температур 28–37°C и значений pH среды 6–8.

Штаммы утилизируют широкий спектр сахаров с образованием кислоты (D-глюкозу, D-маннозу, мальтозу, галактозу, D-фруктозу, сорбит, лактозу, D-ксилозу), не потребляют D-арабинозу и L-ксилозу, гидролизуют казеин и желатину.

По морфологии клетки представляют собой грамположительные палочки, расположенные одиночно или в цепочках, споры. Согласно данным MALDI-TOF масс-спектрометрии 5 изолятов относятся к виду *Bacillus amyloliquefaciens*, 2 – *Bacillus subtilis*, 2 – *Bacillus licheniformis*, 1 – *Bacillus pumilus*.

Из исследованных изолятов, проявляющих комплексную ферментативную и антагонистическую активность, отобрано две культуры с самыми высокими и стабильными показателями, что позволит использовать их в дальнейшей работе в качестве основы для пробиотической кормовой добавки для МРС.

ЛИТЕРАТУРА

1. Лаптев Г.Ю. Микробиом сельскохозяйственных животных: связь со здоровьем и продуктивностью / Г.Ю. Лаптев [и др.]. – Санкт-Петербург : Проспект Науки, 2020. – 336 с.

2. Солдатова В.В. Влияние кормовой добавки Профорт® на микрофлору рубца и продуктивность дойных коз / В.В. Солдатова [и др.] // Молочное и мясное скотоводство. – 2018. – № 5. – С. 24-28.

3. Лаптев Г.Ю. Геномный и фенотипический потенциал антимикробной активности штамма бактерии *Bacillus megaterium* В-4801 / Г.Ю. Лаптев [и др.] // Сельскохозяйственная биология. – 2020. – Т. 55. – № 4. – С. 816-829.

4. Лысак В.В., Желдакова Р.А. Микробиология: методические рекомендации к лабораторным занятиям и контроль самостоятельной работы студентов. – Минск: БГУ, 2002. – 100 с.

5. Нетрусов А.И. Практикум по микробиологии: Учеб. пособие для студ. высш. учеб. Заведений / А.И. Нетрусов [и др.]. Москва : Издательский центр “Академия”, 2005. – 608 с.