

## ИДЕНТИФИКАЦИЯ И ИЗУЧЕНИЕ СВОЙСТВ МИКРООРГАНИЗМОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ДОННЫХ ОТЛОЖЕНИЙ ПРЭСНОВОДНЫХ ВОДОЕМОВ

П. А. КРАСОЧКО<sup>1</sup>, Д. С. БОРИСОВЕЦ<sup>1</sup>, Т. А. ЗУЙКЕВИЧ<sup>1</sup>,  
А. М. МОРОЗОВ<sup>1</sup>, Т. М. ПРОКОПЕНКОВА<sup>1</sup>, И. Н. ДЕРЕВЯНКО<sup>2</sup>

<sup>1</sup> РУП «Институт экспериментальной ветеринарии  
им. С.Н. Вышелесского», г. Минск, РБ

<sup>2</sup> Белорусский государственный университет, г. Минск, РБ

Поступила в редакцию 16.10.2015 г.

### ВВЕДЕНИЕ

Для создания пробиотического препарата необходимо, чтобы микроорганизмы, входящие в его состав, обладали свойствами, которые позволят им выполнять функции по стимулированию иммунитета, не были патогенными и обладали антагонистическими свойствами по отношению к патогенным микроорганизмам [4].

В последнее время в сельском хозяйстве часто используют пробиотические препараты, что засоряет биогеоценоз промышленными штаммами. В связи с этим выделение природных штаммов из изолятов, находящихся возле животноводческих комплексов, стало практически невозможным.

Для решения данной проблемы в качестве источников природных штаммов могут стать природные изоляты, которые находятся относительно далеко от сельскохозяйственных угодий и животноводческих комплексов.

Целью работы является выделение из пресноводных водоемов, идентификация и изучение свойств природных микроорганизмов, перспективных для конструирования пробиотических препаратов для сельскохозяйственных животных.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Исследования проводились в отделе вирусных инфекций РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского». При выполнении научно-исследовательской работы были использованы тест-штаммы бактерий (*E.coli*, *Salm. dublin*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staph. epidermidis*), депонированные в коллекции микроорганизмов РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского».

В качестве объекта исследования были использованы образцы донных отложений пресноводного водоема, находящегося в Лельчицком районе Гомельской области Республики Беларусь.

Предметом исследований являлся видовой состав перспективных в пробиотическом отношении изолятов рода *Bacillus*, их ферментативные и антибактериальные свойства.

В качестве селективной среды для выделения бактерий рода *Bacillus* использовалась *Spizizen's minimal salts* [1]. Выделение и идентификацию

бактериальных изолятов проводили согласно схеме выделения и идентификации Желдакова Р.А. [2]. Определение их ферментативных и антибактериальных свойств – согласно схеме Лысак В.В., Желдакова Р.А. [3]. Идентификацию выделенных изолятов проводили на автоматическом микробиологическом анализаторе VITEK 2 compact.

### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Данные, полученные при проведении серии опытов по выделению, идентификации, ферментативных и антибактериальных исследований, представлены в таблицах 1–4.

Таблица 1 – Грампринадлежность и наличие спор у полученных бактериальных изолятов

Изолят	Грампринадлежность	Наличие спор	Форма клеток
105-1 (2)	+	+	длинные, тонкие, септированные палочки
105-2	+	+	длинные, толстые палочки
105-3 (3)	+	+	короткие, септированные палочки
Г1-5	+	+	средние палочки с утолщением на конце (теннисная ракетка)
СВ1-3	+	+	короткие, септированные палочки

Примечание – «-» отсутствие спор, «+» наличие спор

Все выбранные изоляты являются грамположительными, спорообразующими и имеют форму палочек, кроме штамма Г1-5, который имеет форму теннисной ракетки. В связи с этим все изоляты были выбраны для идентификации.

Таблица 2 – Результаты идентификации выделенных микроорганизмов на автоматическом микробиологическом анализаторе VITEK 2 compact

Изолят	Идентификационное название	Степень идентификации
105-1 (2)	<i>Bacillus licheniformis</i>	93%
105-2	<i>Bacillus subtilis</i>	94%
105-3 (3)	<i>Bacillus subtilis</i>	93%
СВ1-3	<i>Bacillus cereus</i>	91%
Г1-5	<i>Lysinibacillus sphaericus</i>	92%

Таблица 3 – Амилолитическая, целлюлолитическая и протеолитическая активность выделенных изолятов

Изолят	Целлюлолитическая активность	Амилолитическая активность	Протеолитическая активность
<i>B. subtilis</i> 105-2	+	+	+
<i>B. subtilis</i> 105-3(3)	+	+	+
<i>B. licheniformis</i> 105-1 (2)	+	+	+
<i>B. cereus</i>	–	–	+
<i>Lysinibacillus sphaericus</i>	+/-	–	+

Примечание – «–» отсутствие проявления активности; «+» наличие активности; «+/-» слабое проявление активности

Из таблицы 3 видно, что изоляты *B. subtilis* 105-2, *B. subtilis* 105-3 (3) и *B. licheniformis* 105-1 (2) обладают всеми тремя активностями, *Lysinibacillus sphaericus* обладает выраженной протеолитической активностью и слабовыраженной целлюлолитической активностью, а *B. cereus* обладает только протеолитической активностью.

Таблица 4 – Антагонистическая активность выделенных микроорганизмов в отношении патогенных и условно-патогенных возбудителей желудочно-кишечных инфекций телят и поросят

Изолят	<i>E.coli</i>	<i>Salm. dublin</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Staph. epidermidis</i>
<i>B. subtilis</i> 105-2	–	+	+	+	+
<i>B. subtilis</i> 105-3 (3)	+	+	+	+	–
<i>B. licheniformis</i> 105-1 (2)	+	+	–	–	+
<i>B. cereus</i>	–	–	–	–	–
<i>Lysinibacillus sphaericus</i>	–	–	–	–	–

Примечание– «–» отсутствие проявления активности; «+» наличие активности

Как показано в таблице 4, наиболее выраженная антагонистическая активность отмечалась у изолятов *B. subtilis* 105-2 и *B. subtilis* 105-3 (3), которые угнетали рост четырех из пяти патогенных тест-культур. Выделенный изолят *B. licheniformis* 105-1 (2) проявлял антагонистическую активность по отношению к *E.coli*, *Salm. dublin* и *Staph. epidermidis*, в то же время изоляты *Bacillus cereus* и *Lysinibacillus sphaericus* не проявляли антагонистической активности в отношении данных тест-культур.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В процессе исследований выделено 5 природных изолятов бактерий из донных отложений пресноводного водоема, идентификационный анализ которых позволил отнести их к роду *Bacillus*.

Для выделенных изолятов *B. subtilis* 105-2 и *B. subtilis* 105-3 (3) и *B. licheniformis* 105-1 (2) установлена выраженная амилолитическая, целлюлолитическая и протеолитическая активность.

Результаты изучения антагонистической активности выделенных микроорганизмов в качестве перспективных в пробиотическом отношении позволяют рекомендовать изоляты *B. subtilis* 105-1 (2) и *B. subtilis* 105-3 (3).

### ЛИТЕРАТУРА

1 Anagnostopoulos, C. and Spizizen, J. (1961) Requirements for transformation in *Bacillus subtilis*. *J. Bacteriol.* – Vol. 81. – P. 741–746.

2 Выделение и идентификация микроорганизмов / Авт.-сост. Р.А. Желдакова. – Мн.: БГУ, 2003. – 27 с.

3 Лысак, В.В., Желдакова, Р.А. Микробиология: методические рекомендации к лабораторным занятиям, контроль самостоятельной работы студентов. – Мн.: БГУ, 2002. – 97 с.

4 Беденко, А. Пробиотики в рационе молодняка крупного рогатого скота: опыты на телятах молочного периода в ФРГ / А. Беденко // Молоко & Корма. Менеджмент. – 2007. – № 4. – С. 32–34.