

УДК 579.64

ПОДБОР ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЫ ДЛЯ ВЫДЕЛЕНИЯ И ИДЕНТИФИКАЦИИ БАКТЕРИЙ РОДА *BIFIDOBACTERIUM* ИЗ РУБЦА И ТОЛСТОЙ КИШКИ ТЕЛЯТ МОЛОЧНОГО ПЕРИОДА

*Ломакин А.А., магистрант 1 курса ФВМиБ,
artemy.lomakin@yandex.ru*

*Научные руководители: Улитико В.Э., доктор сельскохозяйственных наук, профессор, заслуженный деятель науки РФ,
Васильев Д.А., доктор биологических наук, профессор
ФГБОУ ВО Ульяновский ГАУ*

Ключевые слова: выделение, идентификация, рубец, толстая кишка, *Bifidobacterium* spp.

*Работа посвящена изучению подбору питательных сред для выделения, количественного определения бактерий рода *Bifidobacterium* из содержимого рубца и толстой кишки телят молочного периода. По результату проведенной работы установлено, что наиболее подходящими средами является среда бифидум-среда.*

Цель работы: подбор питательной среды для выделения и идентификации, определение количественного состава бактерий рода *Bifidobacterium* в рубце и толстой кишки телят молочного периода.

В работе использованы штаммы музея кафедры МВЭВСЭ ФГБОУ ВПО «Ульяновская ГАУ»: бактерий *B. animalis*, штамм *B. anim* -230.

Оборудование: микроскоп БИОМЕД 6 № 4F 8663200/01, эксикатор тринокуляр с видеонасадкой и программным обеспечением; термостат ТС-80М-2.

Для оценки морфологии колоний на различных средах их культивировали при температуре 36-37°C: агар бактериологический (ТMedia, Испания), Бифидум-среда (ФБУН ГНЦ ПМБ, Оболенск); Лактобакагар (ФБУН ГНЦ ПМБ, Оболенск); питательный бульон для культивирования микроорганизмов сухой (ФБУН ГНЦ ПМБ Оболенск), агар МакКонки с хлоридом натрия, солями желчных кислот и лактозой (ТMedia, Индия), питательная среда для свыведения сальмонелл сухая-висмут-сульфит агар (ФБУН ГНЦ ПМБ, Оболенск), питательная среда для индификации энтеробактерий ацетатный агар (ФБУН ГНЦ ПМБ, Оболенск), агар Эндо (ФБУН ГНЦ ПМБ, Оболенск), агар Клиглера-ГРМ (ФБУН ГНЦ ПМБ, Оболенск), среда Симмонса (Биокомпас-С, Углич) среда Кристенсена (Биокомпас-С, Углич), среда Левина-ГРМ (ФБУН

ГНЦ ПМБ, Оболенск), среда Эндо (ФБУН ГНЦ ПМБ, Оболенск), бифидум-среда(ФБУН ГНЦ ПМБ, Оболенск), соль NaCl.

В процессе эволюционного развития пищеварительный тракт жвачных животных, в том числе крупного рогатого скота, приспособился к переработке большого количества грубого растительного корма, в состав которого входит клетчатка. По сути рубец является большой «бродильной установкой». В этом отделе в огромных количествах живут разнообразные микроорганизмы, вызывающие процессы брожения, которые протекают в условиях нейтральной или слабощелочной реакции[1,4].

Благодаря различной по своему видовому составу микрофлоре (более 60 видов бактерий) и ее обилию в рубце, происходит сбраживание основных питательных веществ корма – углеводов, белков и липидов и создаются условия для последующего их эффективного использования в нижележащих отделах пищеварительного тракта[2,3].

Одним из представителей микрофлоры рубца КРС – бактерии рода *Bifidobacterium*. Положительный эффект бифидобактерий показан при различных заболеваниях, например, диарее, связанной с ротавирусной инфекцией и некоторыми воспалительными кишечными заболеваниями, с приемом антибиотиков и др. [5]. Существует мнение о положительной роли бифидобактерий в стимулировании иммунитета [6].

Пищеварительная функция включает в себя синтез микроорганизмами ферментов дисахаридаз, полисахаридаз и гликозидаз, расщепляющих некрахмальные полисахариды и пищевые волокна на мономеры, которые подвергаются ферментации; липаз, завершающих гидролиз жиров. Ключевую роль в процессах деполимеризации таких субстратов играют бактерии, принадлежащие к родам *Bacteroides* и *Bifidobacterium*. Деконъюгация желчных кислот микроорганизмами определяет гипохолестеринемический эффект микрофлоры. Дефицит бифидобактерий и активные гнилостные процессы в толстой кишке способствуют накоплению в организме холестерина. Бифидобактерии и в меньшей степени ацидофильные палочки выделяют ферменты деконъюгазы, которые переводят соли желчных кислот в труднорастворимые формы, акцептирующие в толстой кишке холестерин, который экскретируется с калом. При дефиците бифидобактерий, холестерин из толстой кишки всасывается в кровь, что сопровождается гиперхолестеринемией и гипертриглицеринемией, вследствие чего формируется гиперхолерез желчи и стеатоз печени [1,7].

Собственные исследования. При помощи метода окраски по Граму (Лабинская А.С,1984) *B. animalis* штамм *B.anim* -230 грамположительные палочковидные микроорганизмы (Рисунок 1).

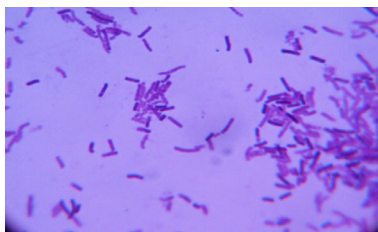


Рисунок 1 - Окраска по Грамму бактерий *B. animalis* штамм *V.anim* -230, микроорганизм культивировали на бифидум-среде при 37°C в анаэробных условиях

Для подбора оптимальных сред для идентификации микроорганизмов *B. animalis* культивировали на питательных средах, как накопления, так и на дифференциально-диагностических. Все культуры микроорганизмов культивировали в термостате при температуре 37°C, аэробных условиях, так и в условиях с повышенным содержанием углекислого газа. Для этого использовали эксикатор для выращивания на плотных питательных средах, на жидких и полужидких питательных средах сверху вносили вазелиновое масло. Для исследования культуры пересеивали с на бифидум-среды. Посевы на плотные были произведены по методу Дригальского. Бактерии, *B. animalis* не растут на МПА и МПБ в течении 48 часов культивирования при температуре 37°C, как в анаэробных, так и в аэробных условиях.

Результаты исследования на дифференциально- диагностических средах представлены в таблице 1.

По результатам проведённых исследований *B. animalis* штамм *V.anim* -230 на дифференциально- диагностических средах, таких как среде Эндо, МакКонки, Левина, Плоскирева, на висмут-сульфит агаре, желточно-солевой агаре и ацетатном росте не было через 72 часа при температуре 37°C, как в аэробных условиях так и в условиях эксикатора. В аэробных условиях роста не было не на одной среде. Но на среде Клиггера наблюдается рост под слом вазелинового масла (повышенное содержание углекислого газа) через 72 часа при температуре 37°C с изменением цвета среды, без газообразования. На среде Кристенсена с мочевиной и среде Симмонса при тех же условиях был слабый рост по месту укола. На Бифидум-среде при 37°C через 48 часов наблюдалось помутнение среды.

Таблица 1 - Рост микроорганизмов *B. animalis*, дифференциально-диагностических средах при температуре 37°C в анаэробных условиях

Питательные среды	<i>B. animalis</i>
Среда Эндо	-
Висмут-сульфит агар	-
Среда Левина	-
Среда Плоскирева	-
Ацетатный агар	-
Среда МакКонки	-
Среда Клиглера	+
Среда Кристенсена с мочевиной	+
Желточно-солевой агар	-
Лактобакагар	-
Среда Симмонса	+
Бифидум-среда	+

Таблица 2 - Результат исследования биохимической активности бактерий видов *B. animalis* при 37°C в течении 72 часа в анаэробных условиях

Сахар	<i>B. animalis</i> штамм <i>B. anim</i> -230
Лактоза	+
Глюкоза	+
Манноза	+
Мальтоза	+
Раффиноза	+

Так же было проведено исследование биохимической активности бактерий вида *B. animalis* штамма *B. anim* -230 при использовании малого ряда сред Гисса. Результаты представлены в таблице 2. Было проведено при 37°C в течении 72 часа. Все пробы культивировались под слоем вазелинового масла, что позволило создать оптимальные условия.

В результате изучения данных свойств установлено, что наиболее подходящая среда для выделения бактерий рода *Bifidobacterium* является бифидум-среда, для увлечения селективного эффекта необходимо

проводить закисление среды. По полученным данным, выявлено что штамм *V.anim* -230 в качестве источника углеводов-сахарозу, глюкозу, маннозу, мальтозу, раффинозу, глюкозу.

Полученные данные будут использованы в дальнейшей работе для выделения и идентификации бактерий рода *Lactobacillus* из рубца и толстой кишки телят.

Библиографический список

1. Алешкевич В. Н. и др. Определение микробиоценоза кишечного тракта животных в норме и при дисбактериозах,-2017.
2. Брауде А. Г., Гудкова А. Ю. Состав биоценоза рубца крупного рогатого скота в возрастном аспекте в пастбищный период //Российский паразитологический журнал. – 2013. – №. 4.
3. Домотенко Л. В., Шепелин А. П., Морозова Т. П. Питательные среды для основных представителей нормофлоры кишечника //Бактериология. – 2016. – Т. 1. – №. 1. – С. 48-53
4. Дускаев Г.К. Течение преджелудочного пищеварения у бычков мясной породы в зависимости от типа кормления // Вестник мясного скотоводства, вып. 56. 2003. С. 230-233
5. Беляева Е. А. и др. Характеристика пробиотических свойств штаммов рода *Bifidobacterium*, выделенных из желудочно-кишечного тракта жителей Центрального региона России //Клиническая лабораторная диагностика. – 2015. – Т. 60. – №. 2.
6. Красникова Л. В., Гунькова П. И. Микробиологическая безопасность пищевого сырья и готовой продукции: учеб.-метод. пособие //Санкт-Петербург: НИУ ИТМО. – 2014.
7. Fernando S. C. et al. Rumen microbial population dynamics during adaptation to a high-grain diet //Applied and Environmental Microbiology. – 2010. – Т. 76. – №. 22. – С. 7482-7490.

SELECTION OF THE NUTRIENT ENVIRONMENT FOR THE IDENTIFICATION AND IDENTIFICATION OF BACTERIA OF THE GENUS BIFIDOBACTERIUM FROM THE RUBBER AND COLON OF BREAST DAWNS

Lomakin A.A., Ulitiko V.E., Vasiliev D.A..

Key words: *isolation, identification, scar, colon, Bifidobacterium spp.*

The work is devoted to the study of the selection of nutrient media for the isolation, quantification of bacteria of the genus Bifidobacterium from the contents of the rumen and colon of the calves of the milk period. According to the results of the work carried out, it is established that the most suitable medium is the Bifidum-medium.