Скрининг перспективных пробиотических штаммов бактерий *Bacillus spp.*, выделенных из микробиоты здоровых кур различных типов содержания

Головин С.Н., Празднова Е.В., Мазанко М.С.

Докладчик: Головин С.Н.

ЦЕНТР АГРОБИОТЕХНОЛОГИИ ДГТУ

Пробиотики – биологически активные пищевые добавки, содержащие живые микроорганизмы, обладающие полезными для организма свойствами

Микробиота – совокупность всех микроорганизмов, населяющих тот или иной эпитоп организма хозяина

Цель работы

Поиск перспективных пробиотических штаммов *Bacillus spp.*

Задачи

- **Выделение потенциальных пробиотических бацилл из микробиоты птиц;**
- **Определение свойств выделенных штаммов и оценка их потенциальной пробиотической активности;**
- **Формирование пула перспективных пробиотических штаммов бацилл.**

Места отбора проб

- ОАО «Птицефабрика Белокалитвинская», п.Сосны Белокалитвинского р-на РО (БК)
- ЗАО «Птицефабрика Гуляй-Борисовская», х.Гуляй-Борисовка Зерноградского р-на РО (ГБ)
- ООО «Шахтинская инкубаторно-птицеводческая станция», г.Шахты, РО
- Птицефабрика «Донецкий бройлер» (ИП Строителев О.Н.), г.Донецк, РО
- Учхоз ДГТУ, РО
- Частное подсобное хозяйство, п.Персиановский Октябрьского р-на РО (П)
- Частное подсобное хозяйство, с.Раздольное, Краснодарский край (Раз)
- Частное подсобное хозяйство, г.Ростов-на-Дону (РнД)

Исследованные птицы

- Несушки клеточного содержания, кросс Хайсекс Браун, корм: стандартная кормосмесь;
- Несушки клеточного содержания, кросс Хайсекс Браун, корм: стандартная кормосмесь;
- Бройлеры клеточного содержания, кросс Кобб, корм: полнорационный комбикорм;
- Бройлеры напольного содержания, кросс Кобб, корм: полнорационный комбикорм;
- Несушки свободновыгульного содержания, кросс Хайсекс Браун, корм: комбикорм ПК-1-2;
- Несушки свободновыгульного содержания, кросс Хайсекс Браун, корм: комбикорм «Мегамикс» с добавками в виде овощей до 10% рациона;
- Несушки свободновыгульного содержания, порода полосато-пестрый Леггорн,

Отбор проб

Для исследования от 5-6 здоровых кур в стерильные пластиковые контейнеры отбирался свежий помёт в количестве 30-40 грамм. Пробы охлаждались до температуры +4°С и в течение суток доставлялись в лабораторию.

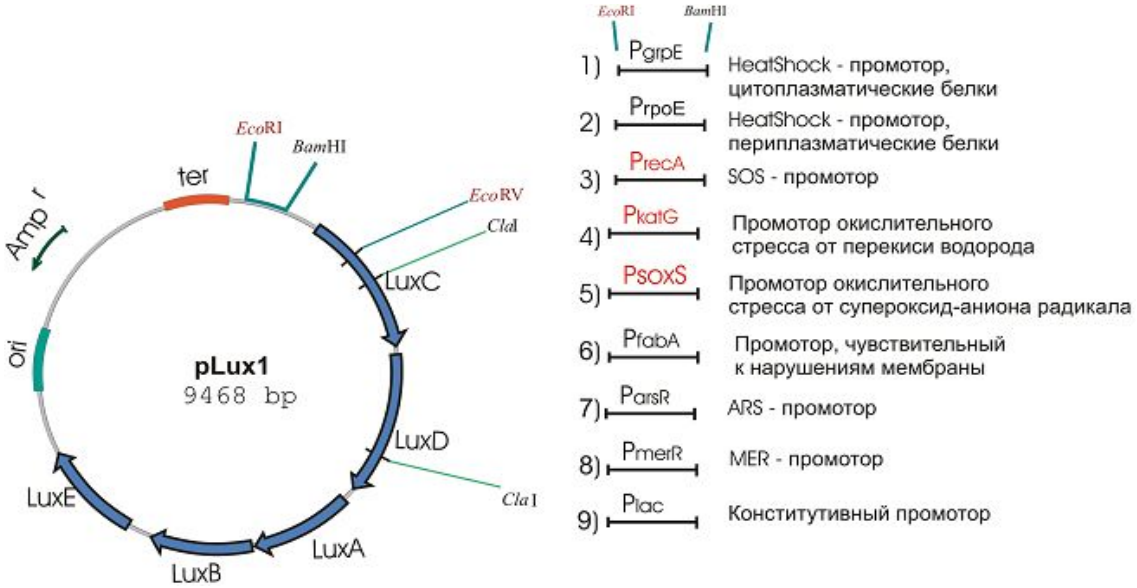
Этапы бактериологического исследования

- Каждая проба тщательно стерильно перемешивалась и помещалась в холодильник на 48 ч при +4°С для образования спор.
- Для выделения бактерий рода *Bacillus spp.* навески после инкубации разводили физиологическим раствором из расчёта 1:10 и прогревали на водяной бане при 93-95°С в течение 3 минут для удаления вегетативных форм бацилл.
- После охлаждения взвеси делали ряд последовательных разведений и высевали поверхностно на МПА.
- Посевы инкубировали 24 ч при температуре 42°С, после чего проводили учёт.

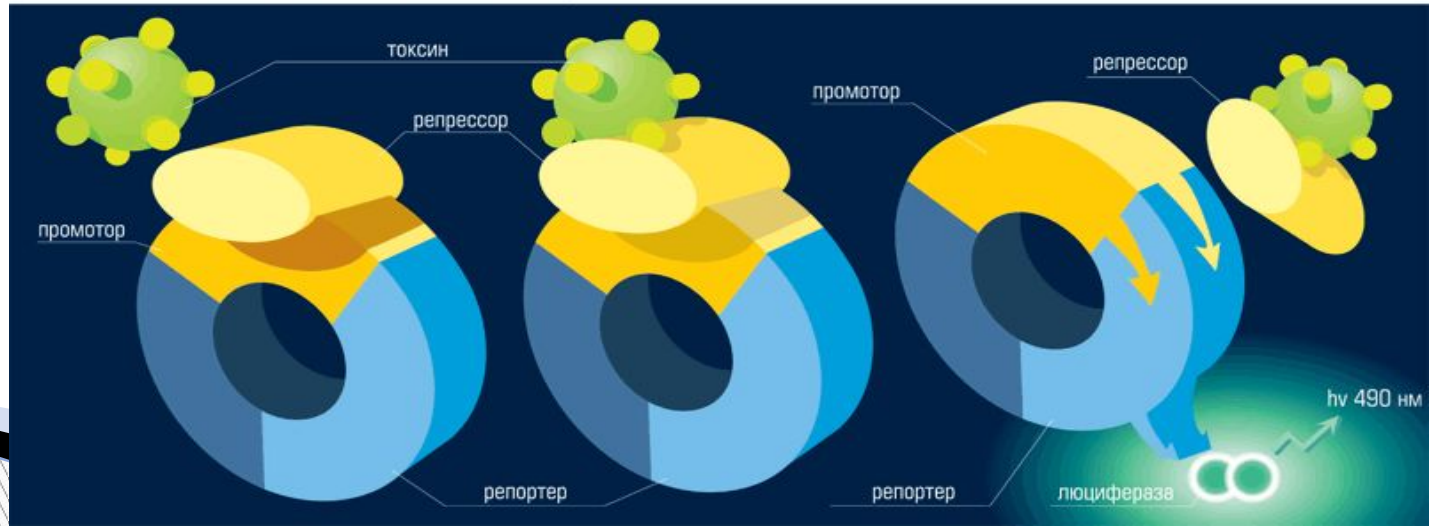
Метод скрининга на протекторную активность: биосенсорный тест

Рекомбинантные штаммы *E. coli*:

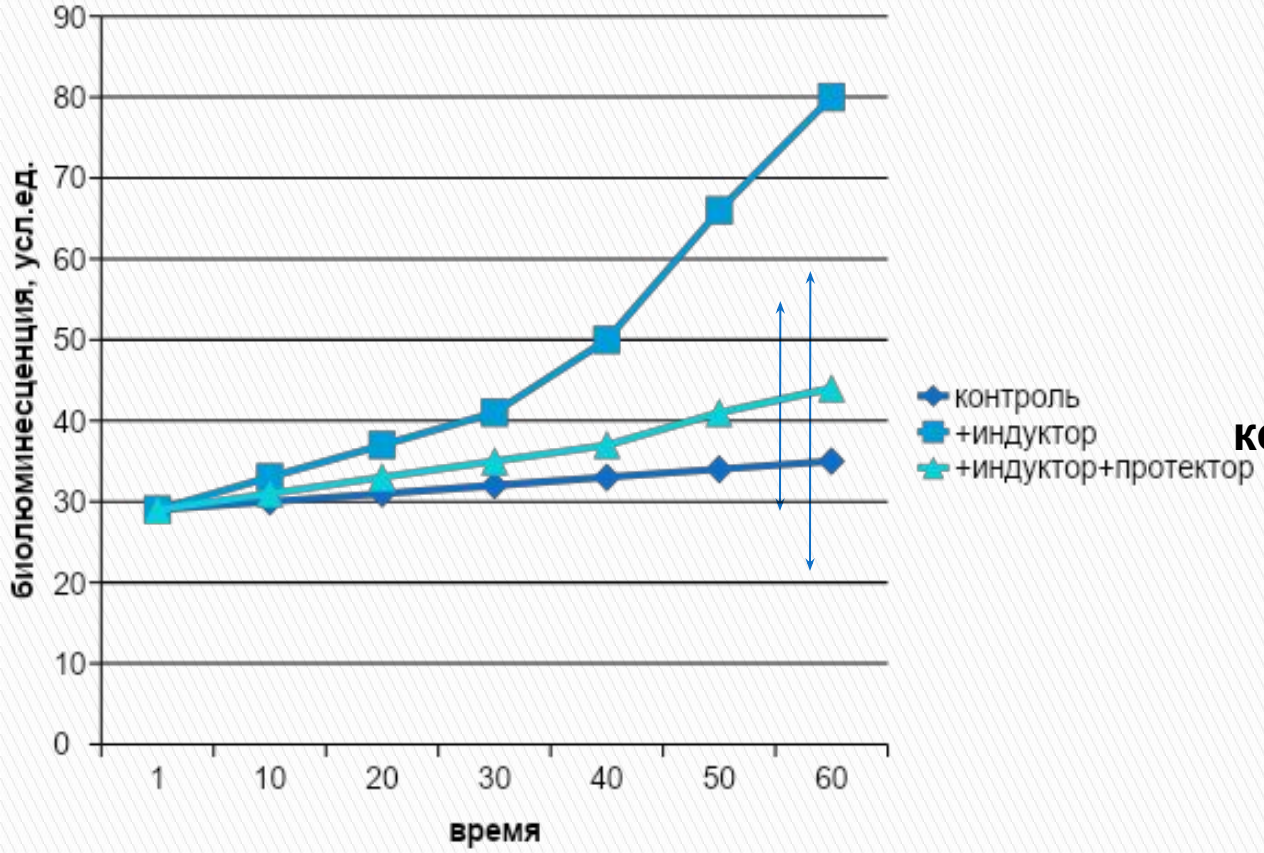
- **MG1655 pRecA-lux** - реагирует на разрывы ДНК (индикатор генотоксичности);
- **MG1655 pKatG-lux** – реагирует на внутриклеточную генерацию перекиси водорода.



Токсин заявляет о себе свечением биосенсора



Принцип теста



Индукция

$$I^S = \frac{L_e}{L_k} - 1$$

L_k – свечение в контроле

L_e – свечение в опыте

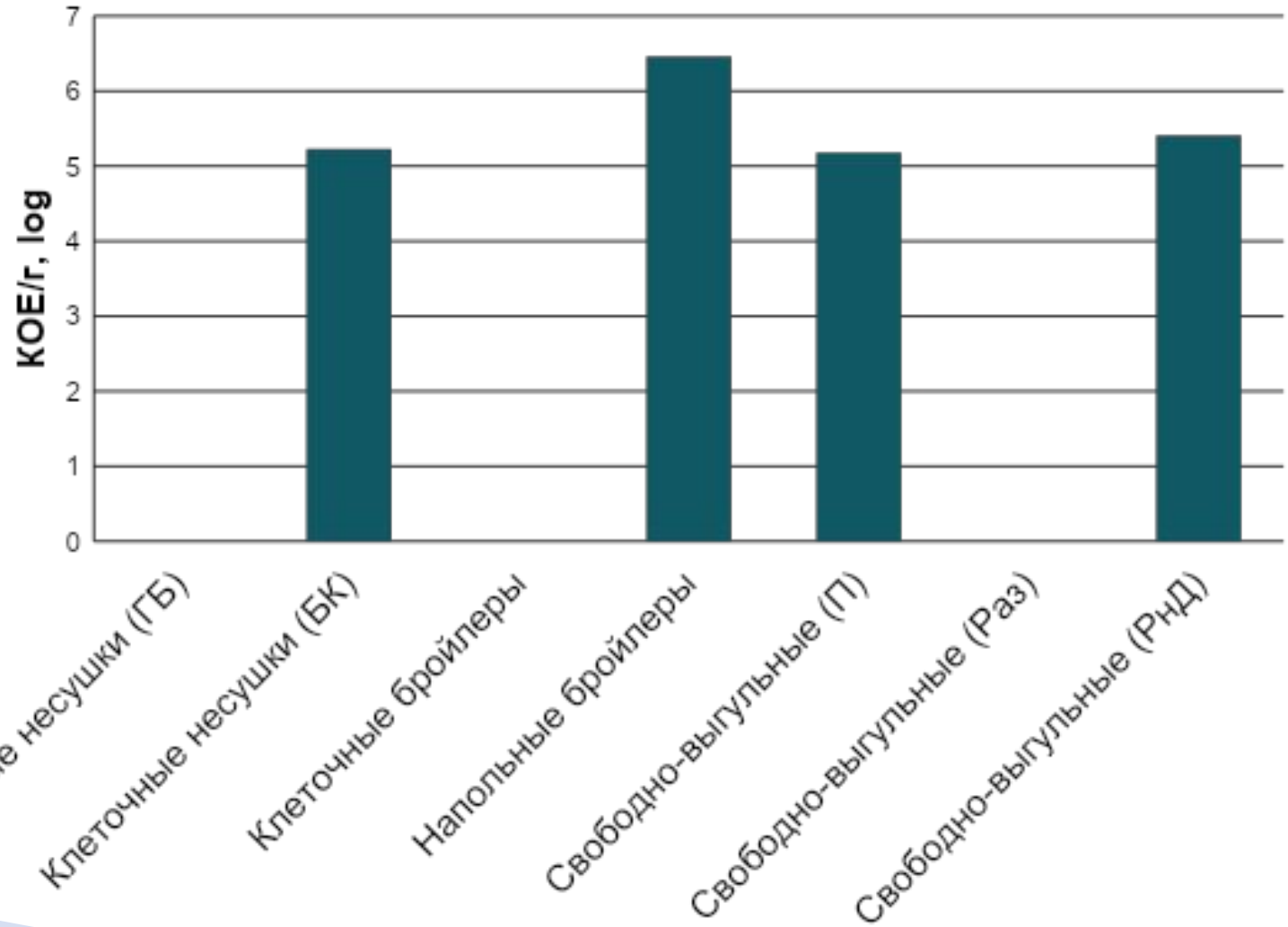
Протекторная активность

$$A = (1 - \frac{I_a}{Ip})100\%$$

I_a - индукция

I_p - индукция в присутствии протектора

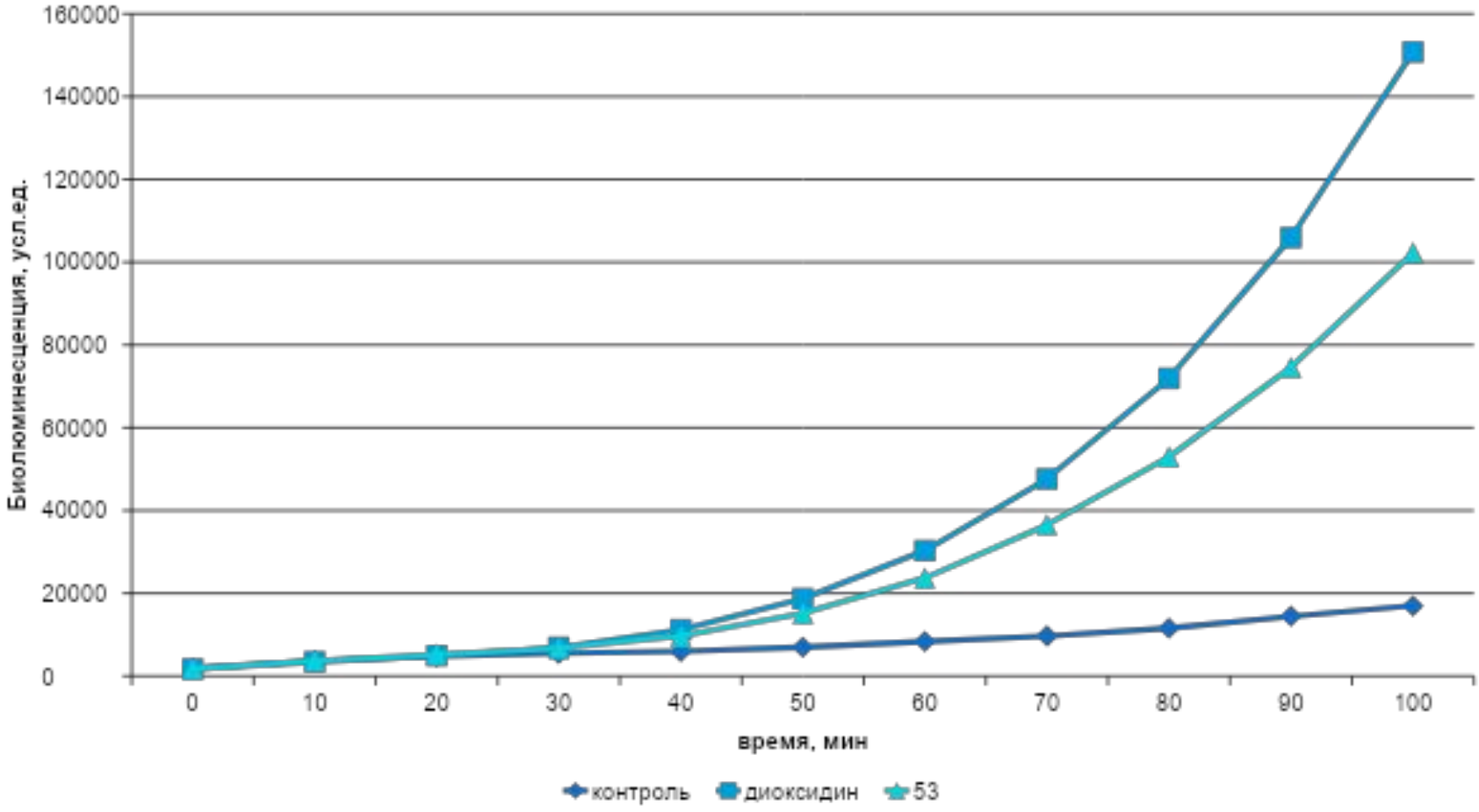
Количество бактерий *Bacillus spp.*, выделенных у кур, содержавшихся в разных условиях, КОЕ/г, log:



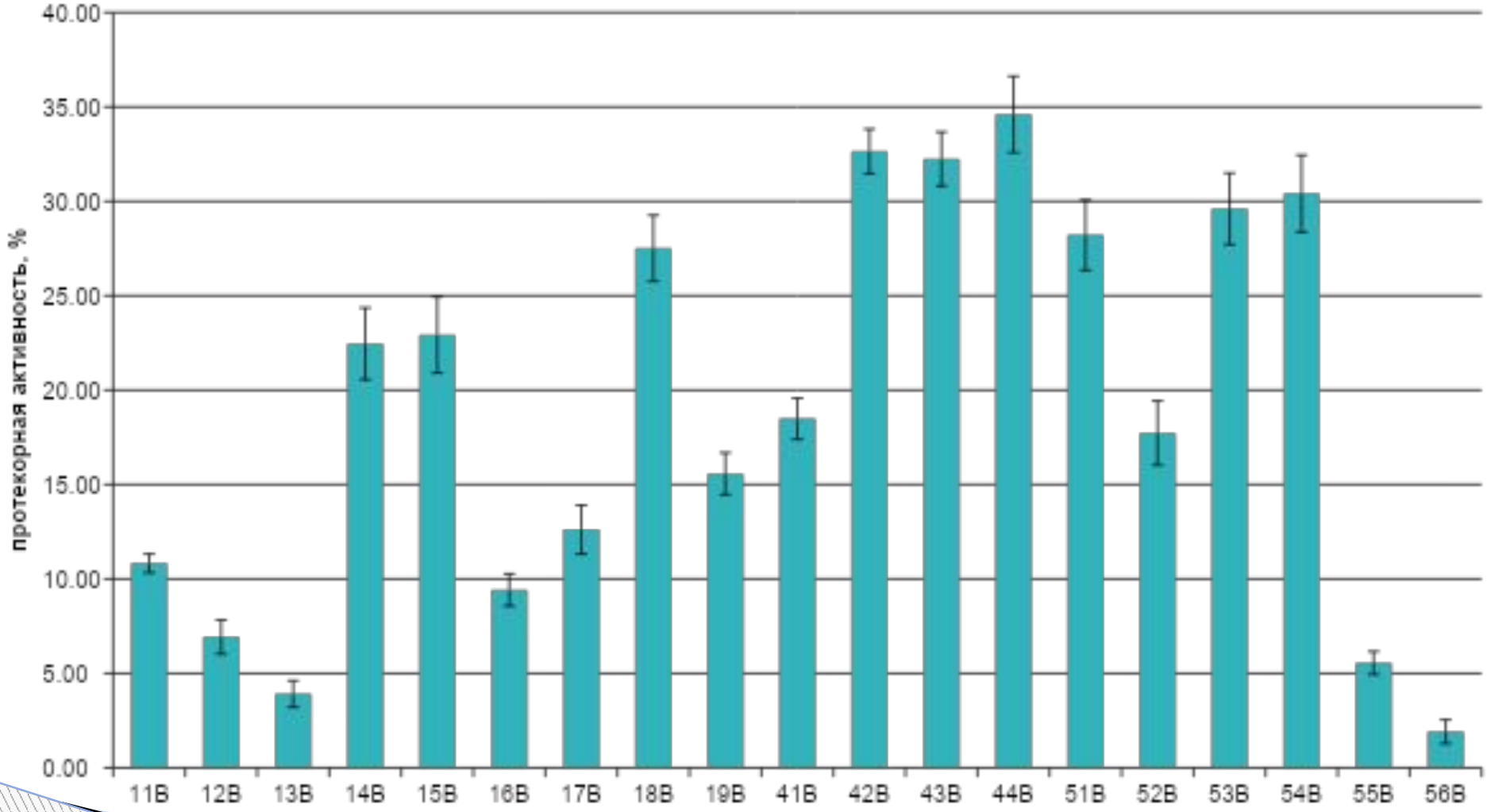
Отобранные штаммы *Bacillus spp.* и их источники:

Штамм *Bacillus spp.*	Получен
КВ11, КВ12, КВ13, КВ14, КВ15	свободновыгульное содержание (П), помёт
КВ16, КВ17, КВ18, КВ19	напольное содержание, бройлеры, помёт
КВ41, КВ42, КВ43, КВ44	клеточное содержание, несушки (ГБ), помёт
КВ51, КВ52, КВ53, КВ54, КВ55, КВ56	свободновыгульное содержание (РнД), помёт

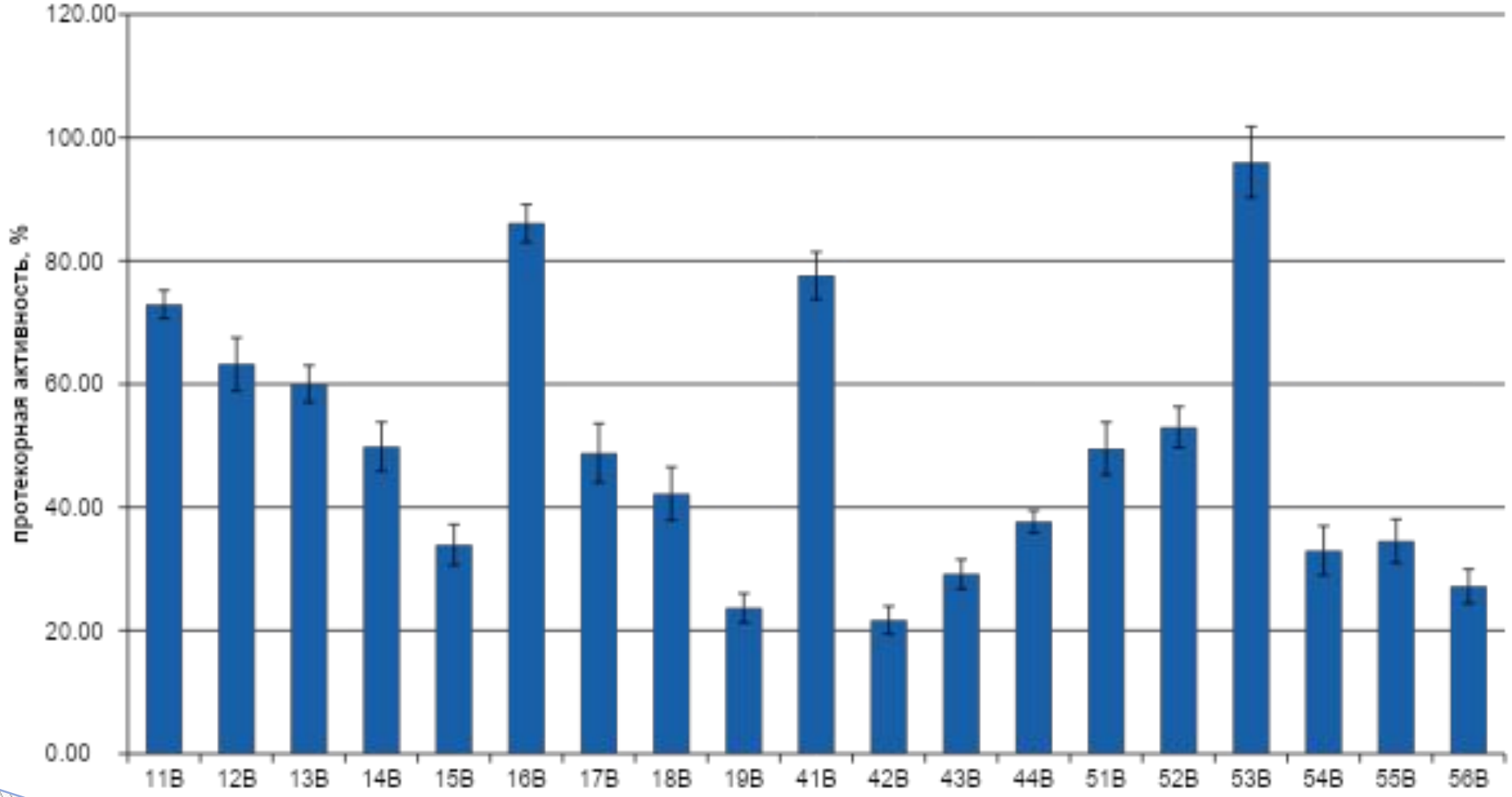
Протекторная активность *Bacillus spp.* КВ53



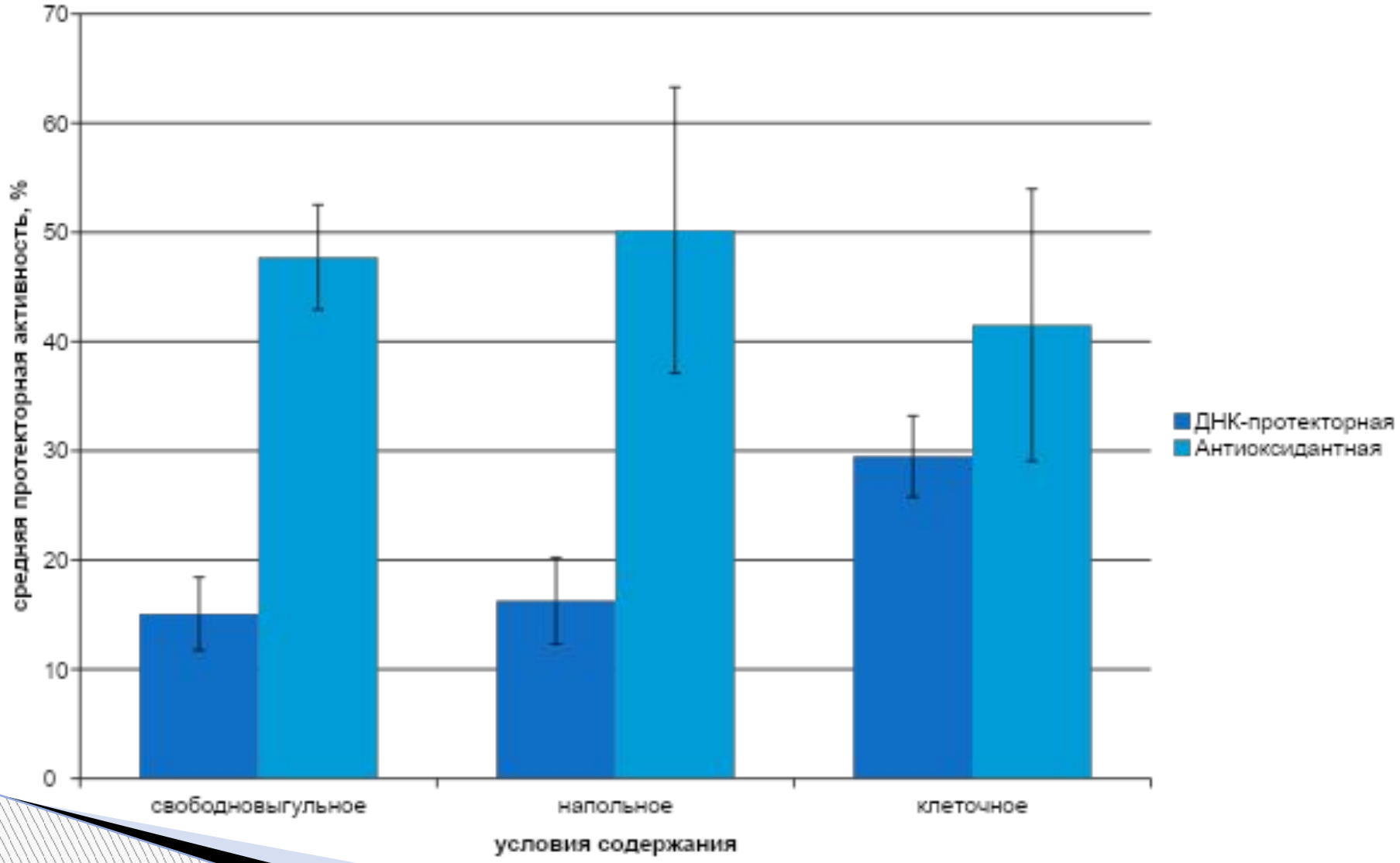
ДНК-протекторная активность



Антиоксидантная активность



Активность штаммов *Bacillus spp.* из микробиоты кур разных условий содержания



Выводы

- Отобран ряд перспективных штаммов, обладающих антиоксидантной и ДНК-протекторной активностями, которые можно использовать для создания пробиотических биопрепаратов;

- В микробиоте кур клеточного содержания присутствует больше бактерий-продуцентов антимутагенных соединений.

Спасибо за внимание!

ЦЕНТР АГРОБИОТЕХНОЛОГИИ ДГТУ