

**НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ НАУК УКРАЇНИ
ІНСТИТУТ МІКРОБІОЛОГІЇ І ВІРУСОЛОГІЇ
імені Д.К. ЗАБОЛОТНОГО**

На правах рукопису

НЕМІРОВСЬКА Людмила Миколаївна

***Особливості біології молочнокислих
бактерій травного тракту телят***

03.00.07 - мікробіологія

А в т о р е ф е р а т
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата біологічних наук

Київ - 1997



549
Дисертація є рукописом.

Робота виконана у відділі фізіології промислових мікроорганізмів Інституту мікробіології та вірусології ім.Д.К.Заболотного НАН України

Науковий керівник: доктор біологічних наук
КОВАЛЕНКО НАДІЯ КОСТЯНТИНІВНА

О ф і ц і й н і о п о н е н т и :

Доктор біологічних наук ХАРЧЕНКО СВІТЛАНА МИКОЛАЇВНА

Кандидат біологічних наук СОРОКУЛОВА ІРИНА БОРИСІВНА

Провідна установа: Київський університет ім. Т.Г.Шевченка

Захист відбудеться "19" _____ лютого _____ 1997 р.
о _____ 10 _____ год. на засіданні спеціалізованої Вченої ради
Д 01.81.01 при Інституті мікробіології та вірусології ім.
Д.К.Заболотного НАН України / 252143, Київ - 143, вул.Заболотного 154, Інститут мікробіології та вірусології НАН
України, зал засідань /.

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Інституту мікробіології та вірусології НАН України.

Автореферат розісланий " _____ " _____ 1997 р.

Вчений секретар
спеціалізованої Ради
кандидат біологічних наук

L.M. Purish

Л.М.Пуріш

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Молочнокислі бактерії відіграють важливу роль в житті людини і тварин. Фізіологічні особливості цієї групи мікроорганізмів сприяють швидкій адаптації та розповсюдженню їх в природі. Екологія молочнокислих бактерій відображена у ряді наукових досліджень [И.Г.Пивняк, 1976; Б.В.Тараканов, 1981; Е.И.Квасников, О.А.Нестеренко, 1989; М.А.Тимошко, 1990; Н.К.Коваленко и др., 1990]. Однак у цих дослідженнях відсутні дані про склад мікрофлори травного тракту в цілому, як єдиної системи, життєво важливої для нормального функціонування макроорганізму. В літературі представлені лише поодинокі роботи щодо вивчення видового складу та властивостей лактофлори травного тракту телят. Разом з тим, в умовах вирощування телят у великих господарствах дуже велике значення має процес формування складу мікрофлори та динаміка її становлення в процесі розвитку організму.

Відомо, що довкілля впливає на фізіологічні властивості молочнокислих бактерій [Т.Н.Головач и др., 1990; Н.К.Коваленко и др., 1994]. В процесі вивчення систематики молочнокислих бактерій їх номенклатура постійно уточнювалась. На цей час не з'ясовані причини мінливості фенотипових ознак цієї групи мікроорганізмів, а одержані дані суперечливі. В цьому аспекті лактофлора травного тракту телят практично не вивчена. Наукове значення мають дослідження фізіолого-біохімічних властивостей молочнокислих бактерій, що мешкають у травному тракті тварин в процесі онтогенезу, тому що у телят особливо чітко виражені зміни фізіології травлення у зв'язку з ростом та розвитком.

Згідно з даними літератури, молочна кислота - основний продукт метаболізму молочнокислих бактерій, є бактерицидним фактором для



патогенних мікроорганізмів [Н.К.Коваленко, 1991; Е.И.Квасников, 1996]. В останні роки з'явилися поодинокі дані про здатність молочнокислих бактерій продукувати інші біологічно активні речовини, що відіграють роль захисного бар'єру при втручанні шкідливих бактерій у макроорганізм. В цьому плані особливої важливості набувають дослідження міжвидового та внутрішньовидового антагонізму серед цієї групи бактерій, що дає можливість обгрунтовано підбирати культури для створення препаратів - пробіотиків та направлено формувати склад нормальної мікрофлори травного тракту новонароджених телят. Актуальними є питання щодо впливу антибіотиків на лактофлору, що заселяє травний тракт телят з перших днів життя. Вивчення цих питань дозволить науково обгрунтувати і визначити критерії добору культур для пробіотика, розробити біотехнологію одержання бактеріального сухого концентрату живих клітин молочнокислих бактерій, розробити та впровадити пробіотик для телят. Науковий підхід щодо оздоровлення організму тварин, заснований на комплексному використанні живих культур молочнокислих бактерій у складі препаратів і кормів, є новим перспективним напрямком у біології.

Мета та завдання роботи. Метою даної роботи було дослідження особливостей біології молочнокислих бактерій, що мешкають в травному тракті телят; вивчення їх взаємовідносин з іншими представниками мікробного ценозу кишечника; направлений пошук біологічно активних штамів та розробка пробіотика для молоді великої рогатої худоби.

Для виконання роботи необхідно було вирішити такі завдання:

1. Дослідити динаміку формування мікробіоценозу травного тракту телят та створити колекцію молочнокислих бактерій, що мешкають у даній екологічній ніші.

2. Вивчити морфолого-культуральні, фізіолого-біохімічні властивості та диференціювати види кокових і паличковидних форм молочнокислих бактерій на підставі методу нумеричного аналізу.

3. Визначити біологічно активні властивості культур молочнокислих бактерій та характер їх взаємовідносин як внутрішньовидових, так і з представниками різних таксономічних груп бактерій.

4. Оптимізувати компонентний склад поживного середовища для культивування селекціонованих штамів у дослідно-промислових умовах. Розробити технологію одержання в промислових умовах пробіотика для телят.

5. Провести експериментальну оцінку біологічної дії пробіотика з аналітичними розрахунками його ефективності у тваринництві.

Наукова новизна роботи. Всебічно досліджено видовий та кількісний склад молочнокислих бактерій травного тракту телят у процесі розвитку тварин. Виявлено особливості біології лактофлори даної екологічної ніші. Вперше визначено гетерогенність властивостей ентерококів і лактобацил, що домінують у мікробіоценозі кишечника телят, залежно від впливу умов оточуючого середовища, уточнено їх систематичне положення, обґрунтовано урахування деяких нових ознак видової диференціації молочнокислих бактерій. Вивчено характер взаємовідносин цієї групи мікроорганізмів з умовно патогенною мікрофлорою. Виявлено високу біологічну активність культур, які ізольовані від новонароджених телят. Вперше вивчено явище бактеріоциногенії серед великої колекції культур, що ізольовані із різних природних джерел, та у штамів, які заселяють травний тракт телят. Проведено скринінг бактеріоциногенних штамів у лактобактерій. Показано, що бактеріоциногенні штами рідко зустрічаються серед лактофлори травного тракту телят. Встановлено, що видовий та кількісний склад молочнокислих бактерій корелює з фізіологічними особ-

ливостями розвитку тварин.

Практичне значення. Результати роботи покладено в основу створення пробіотика для телят. Розроблено технологію його одержання, налагоджено випуск на Іваньківському дріжджовому заводі та Ладжинському АТ "Енаїфарм". Затверджено нормативно-технічну документацію. Пробіотик "Бовілакт" для телят захищено Патентом України [N 764, 1992].

Конкретна особиста участь автора в одержаних результатах. Робота виконана автором особисто під керівництвом д.б.н. Н.К.Коваленко. Дослідження, що були виконані в Інституті мікробіології і вірусології НАН України сумісно: із адресії культур - з к.б.н. С.О.Касумовою; із визначення складу ДНК у лактобактерій - з к.б.н. Н.В.Нестеровою; із відпрацювання технологічних параметрів культивування - з к.б.н. Т.М.Головач та к.б.н. М.М.Гавриленко. Виробничі випробування у тваринницьких господарствах виконані сумісно з к.б.н. В.М.Мацюком. Дослідження із скринінгу плазмід лактобактерій виконані в Інституті біохімії та фізіології мікроорганізмів РАН - сумісно з к.б.н. О.В.Коаловою; гістологічні дослідження - в Національному аграрному університеті - з к.б.н. Л.В.Яцую.

Апробація роботи. Матеріали дисертації доповідалися на звітній науковій конференції Інституту мікробіології і вірусології НАН України за 1994 р., VI з'їзді Українського мікробіологічного товариства (Донецьк, 1984р.); на Міжнародних конференціях: "Микроорганизмы - стимуляторы и ингибиторы роста растений и животных" (Ташкент, 1989 р.); "Микробиологические и биотехнологические основы интенсификации и кормопроизводства" (Алма-Ата, 1990 р.); VII-th International Symposium on the Genetic of Industrial Microorganisms (Monreal, 1994).

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 12 науко-

вих праць (з яких 2 - за кордоном), одержано Патент України.

Структура та об'єм дисертації. Дисертація складається з вступу, огляду літератури (2 розділи), експериментальної частини з 6-ти розділів власних досліджень, заключення, висновків і списку цитованої літератури, що містить 140 робіт. Робота викладена на 175 сторінках машинопису, ілюстрована 38 таблицями, 19 малюнками, 4 фотокартками.

Положення, що виносяться на захист.

1. Результати вивчення особливостей біології молочнокислих бактерій травного тракту телят та встановлення їх систематичного положення.
2. Результати досліджень динаміки формування мікрофлори в даній екологічній ніші, зокрема групи молочнокислих бактерій, що домінують у шлунково-кишковому тракті телят.
3. Принципи групування штамів молочнокислих бактерій на підставі нумеричного аналізу фенотипових ознак, що виявляють ряд кореляцій їх видового та кількісного складу з фізіологічними особливостями розвитку тварин.
4. Обґрунтування експериментальних даних високої біологічної активності штамів, що ізольовані від новонароджених телят, та особливості їх антагоністичної дії.
5. Розробка критеріїв конструювання пробіотика для телят на основі молочнокислих бактерій, обґрунтування синергієму дії штамів препарату.
6. Експериментальна оцінка ефективності препарату у тваринництві.

З М І С Т Р О Б О Т И

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Зібрано колекцію штамів молочнокислих бактерій, що містить

102 культури, які були ізолювані із травного тракту телят різного віку. Також досліджено колекцію культур лактобацил та кокових форм молочнокислих бактерій (296 штамів), що були виділені нами раніше із різних екологічних ніш, з метою виявлення у них частоти утворення бактериоцинів.

Середовища та умови культивування молочнокислих бактерій та мікроорганізмів інших таксономічних груп підбирали відповідно до завдань експерименту, враховуючи їх потреби, та згідно існуючих схем їх виділення. Ідентифікацію культур молочнокислих бактерій проводили за Bergey's Manual [1986]; K.Schleifer and R. Kilpper-Balz [1987]. Таксономічний аналіз - з використанням методу [Т.М.Ногина и др., 1991].

Антагоністичні властивості вивчали за методом відстроченого антагонізму [Н.С.Егоров, 1986]. Бактеріоциногенну активність - за методом перехресної чутливості штамів [P.Fredericq, 1957] в нашій модифікації. Властивості бактериоцинів та динаміку їх накопичення - згідно до робіт [Т.А.Додатко и др., 1989; С.И.Похил, Л.А.Косо-буцкий, 1991].

Чутливість культур щодо впливу антибіотиків досліджували за методом М.О.Биргер [1982]. Визначення мінімальної інгібуючої концентрації антибіотиків проводили за методом [Е.В.Козлова, 1991].

Адгезивні властивості молочнокислих бактерій визначали згідно з [Н.К.Коваленко, С.А.Касумова, 1989]. Плазмідну ДНК із клітин лактобацил виділяли за методом Бірнбойма-Долі [цит. Клонирование ДНК, 1988]. При визначенні складу ДНК у лактобацил використовували модифікований метод Мармур [J.Marmur, 1962].

Технологічні параметри росту культур - згідно робіт [И.А.Работнова, И.Н.Позмогова, 1979; Т.Н.Головач и др., 1985].

Вплив препарату на організм тварин в умовах тваринницьких

господарств - за методом, розробленим А.В.Шатько [1991].

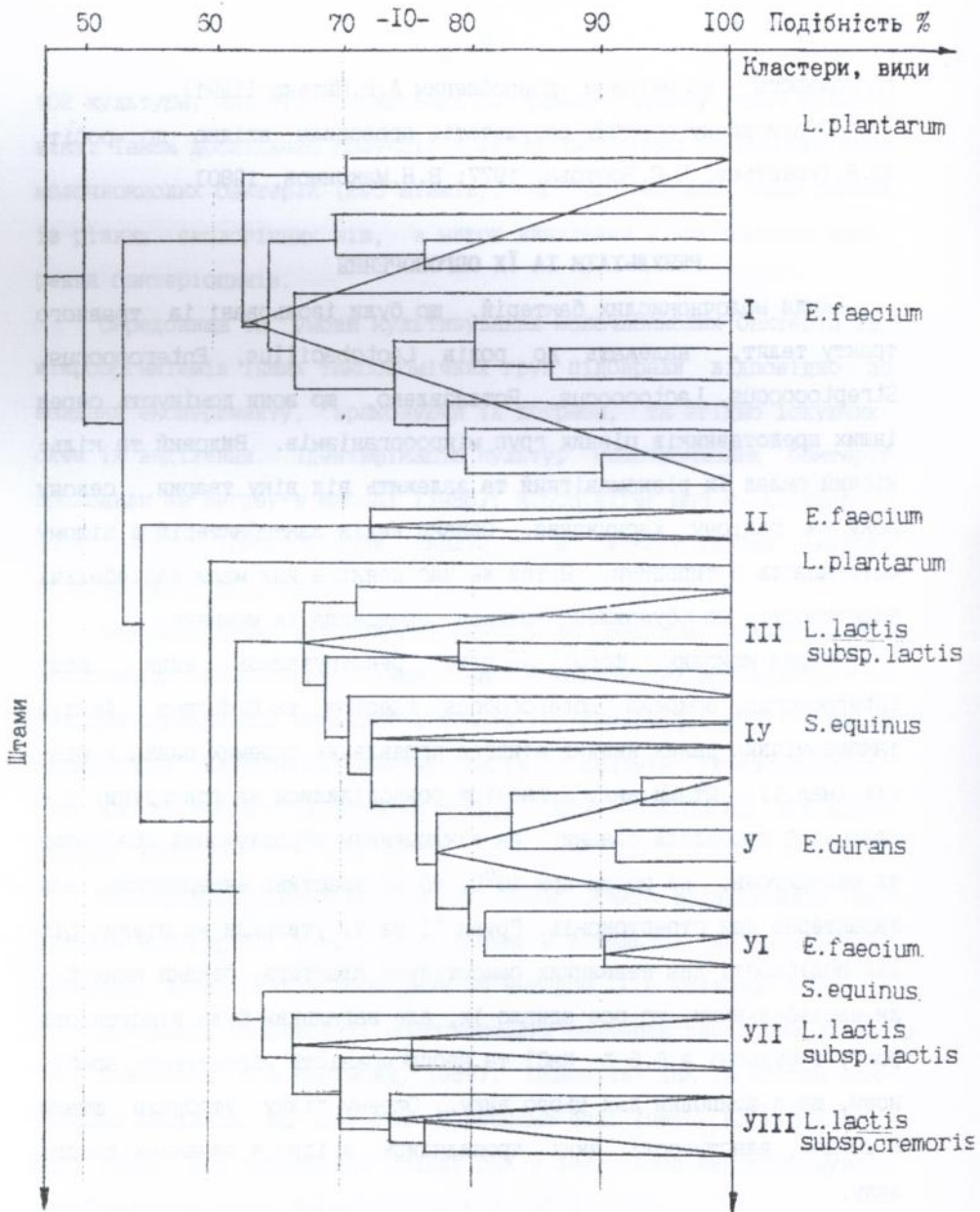
Статистичну обробку результатів проводили згідно до робіт [П.В.Терентьев, Н.С.Ростова, 1977; В.Н.Максимов, 1980].

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Види молочнокислих бактерій, що були ізольовані із травного тракту телят, належать до родів *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Lactococcus*. Встановлено, що вони домінують серед інших представників різних груп мікроорганізмів. Видовий та кількісний склад їх різноманітний та залежить від віку тварин, сезону року та раціону харчування. Ознаки видів лактобактерій в цілому співпадають з типовими. В той же час деякі з них мали варіабельні властивості, що обумовлено впливом середовища їх мешкання.

Серед кокових форм частіше реєструвались види роду *Enterococcus*, зокрема *Enterococcus faecium* та *E.durans*. Аналіз таксономічних даних виявив атипове проявлення окремих ознак у штамів (мал.1). Штами виду *E.faecium* розподілилися на три групи: I - однорідно проявляли ознаки, за виключенням зброджування арабінози та меллицитози, не росли при 10°C, що не властиво ентерококам, але характерно для стрептококів. Групи II та VI утворили на різних рівнях подібності два невеликих самостійних кластера, ознаки яких були варіабельними, що роз'єднало їх, але загальним була відсутність росту в бульоні з 6,5 % NaCl та неспроможність зброджувати арабінозу, що є атиповим для цього виду. Окрему гілку утворили штамми *E.durans*, властивості яких проявлялись згідно з ознаками даного виду.

Стрептококи рідко реєструвались серед лактофлори кишечника телят і були представлені єдиним видом *Streptococcus equinus*, який щодо зброджування деяких вуглеводів був близьким до *S.bovis*.



Мал. I. Дендрограма подібності ознак кокових форм молочнокислих бактерій, що були ізольовані із травного тракту телят

Із травного тракту телят часто ізолюються молочні стрептококи. Це, з одного боку, типові представники молока - *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *L.lactis* subsp. *cremoris*, а з другого, рослинних кормів - *L.plantarum*. Визначено високий рівень подібності фенотипових ознак у лактококів, що підтверджує незначну варіабельність властивостей.

Паличковидні форми молочнокислих бактерій роду *Lactobacillus*, що були ізолювані із травного тракту телят, розподілилися на три групи, які відповідають підродам (табл.1). Підрид *Thermobacterium* (1 група) представлений типовими для даної екониші видами, серед яких штами *Lactobacillus salivarius* subsp.*salivarius* на високому рівні подібності утворили кластер.

Найбільш численною була група II (підрид *Streptobacterium*). Цікавим був той факт, що різноманітність видів була характерною для лактофлори кишечника новонароджених та 10-тиденних телят (табл.2). На фоні ідентичних для відповідних видів фізіолого-біохімічних ознак відзначено і варіабельність окремих із них: гідроліз ескуліну, відсутність росту окремих штамів при температурі 45°C, інтенсивне зброджування целобіози, фруктози, галактози, що є нетиповим для видів стрептобактерій. Однак відзначено високий рівень подібності сформованих ними груп (мал.2).

Другою за численністю видів була група III (підрид *Betabacterium*), в яку увійшли види, які є типовими для даного середовища. В той же час виявлені два види, що, за даними літератури, рідко зустрічаються в кишечнику телят. Це - *L.fructosus* та *L.fructivorans*.

При вивченні взаємовідносин молочнокислих бактерій, що були ізолювані із дистального відділу кишечника телят, виявлено їх антагоністичну дію на умовно патогенні види мікроорганізмів. Антаго-

Таблиця 1

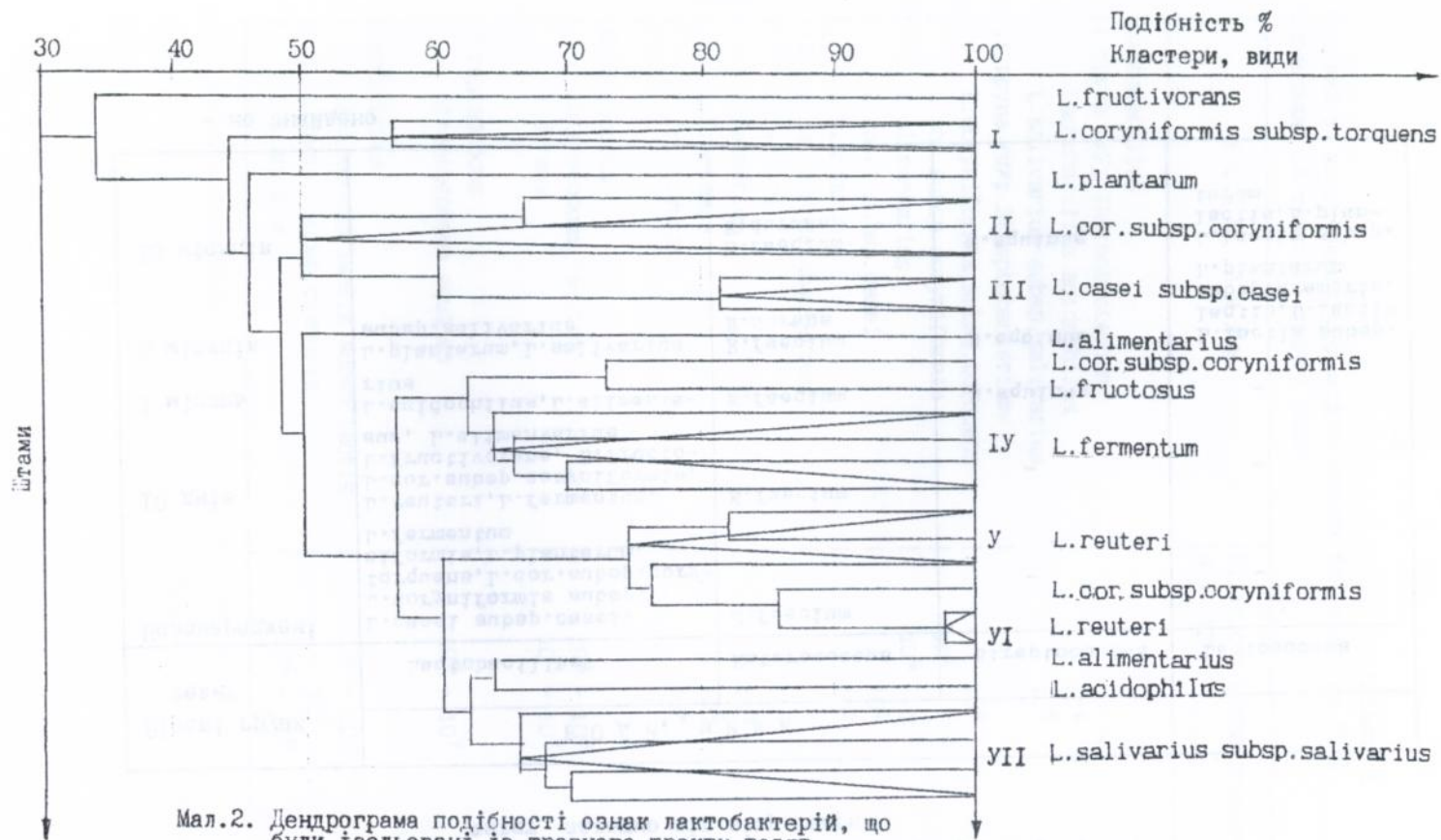
Видовий та кількісний склад молочнокислих бактерій, що були ізольовані із травного тракту телят

Р О Д И, в и д и	Кількість мікроорганізмів /КУО/г/
Lactobacillus	
I група /п/р Thermobacterium/	
Lactobacillus acidophilus	10^4
L.salivarius subsp.salivarius	10^6
II група /п/р Streptobacterium/	
L.coryniformis subsp.torquens	10^4
L.cor.subsp.coryniformis	$10^2 - 10^4$
L.alimentarius	$10^4 - 10^5$
L.casei subsp.casei	10^1
L.plantarum	10^1
III група /п/р Betabacterium/	
L.reuteri	10^3
L.fermentum	10^4
L.fructosus	10^4
L.fructivorans	10^4
Enterococcus	
Enterococcus faecium	$10^4 - 10^8$
E.durans	$10^3 - 10^7$
Streptococcus	
Streptococcus equinus	$10^5 - 10^7$
Lactococcus	
Lactococcus lactis subsp.lactis	$10^5 - 10^7$
L.lactis subsp.cremoris	10^5
L.plantarum	$10^4 - 10^5$

Динаміка формування видового складу лактофлори у травному тракті
телят залежно від віку тварин

Вікові групи телят	Р О Д И, в и д и			
	Lactobacillus	Enterococcus	Streptococcus	Lactococcus
Новонароджені	L.casei subsp.casei, L.coryniformis subsp. torquens, L.cor.subsp.cory- niformis, L.plantarum, L.fermentum	E.faecium	-	-
10 днів	L.reuteri, L.fermentum, L.cor.subsp.coryniformis, L.fructivorans, L.fructo- sus, L.alimentarius	E.faecium	-	-
1 місяць	L.acidophilus, L.alimenta- rius	E.faecium	S.equinus	-
6 місяців	L.plantarum, L.salivarius subsp.salivarius	E.faecium E.durans	S.equinus	L.lactis subsp. lactis, L.lactis subsp.cremoris, L.plantarum
18 місяців	-	E.faecium E.durans	S.equinus	L.lactis subsp. lactis, L.plan- tarum

- не знайдено

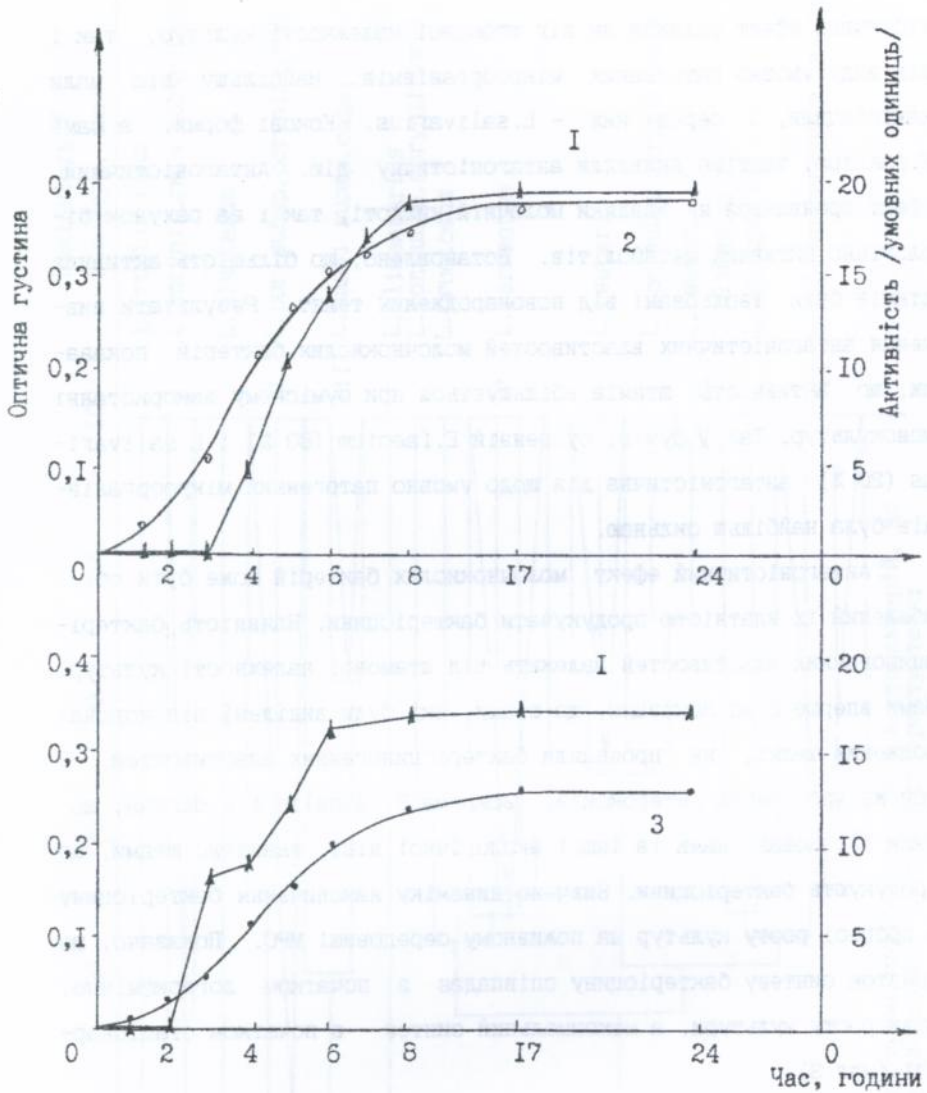


Мал.2. Дендрограма подібності ознак лактобактерій, що були ізольовані із травного тракту телят

ніотичний ефект залежав як від штамової належності культур, так і від виду умовно патогенних мікроорганізмів. Найбільшу дію мали лактобацили, а серед них - *L.salivarius*. Кокові форми, а саме *E.faecium*, частіше виявляли антагоністичну дію. Антагоністичний ефект проявлявся як завдяки молочній кислоті, так і за рахунок біологічно активних метаболітів. Встановлено, що більшість активних штамів були ізольовані від новонароджених телят. Результати вивчення антагоністичних властивостей молочнокислих бактерій показали, що активність штамів збільшується при сумісному використанні монокультур. Так, у суміші суспензій *E.faecium* (80 %) і *L.salivarius* (20 %) антагоністична дія щодо умовно патогенних мікроорганізмів була найбільш сильною.

Антагоністичний ефект молочнокислих бактерій може бути обумовлений їх здатністю продукувати бактеріоцини. Наявність бактеріоциногенних властивостей залежить від штамової належності культур. Нами вперше було показано, що штами, які були виділені від новонароджених телят, не проявляли бактеріоциногенних властивостей. В той же час серед ентерококів, зокрема *E.faecalis* і *E.durans*, що були ізольовані нами із іншої екологічної ніші, знайдено штами, що продукують бактеріоцини. Вивчено динаміку накопичення бактеріоцину в процесі росту культур на поживному середовищі МРС. Показано, що початок синтезу бактеріоцину співпадає з початком логарифмічної фази росту культури, а максимальний синтез - з початком стаціонарної (мал.3).

Практичну мету мало вивчення антибіотикорезистентності культур, що ізольовані від телят. Це дозволяє науково обґрунтувати включення штамів до складу пробіотика, що дає можливість коригувати мікрофлору травного тракту новонароджених телят. Показано, що найбільш стійкими до впливу антибіотиків були види *E.faecium* та



Мал.3. Динаміка утворення бактеріоцину / I / культурами ентерококів в процесі росту на поживному середовищі МРС:

2 - *Enterococcus durans*;

3 - *E. faecalis*.

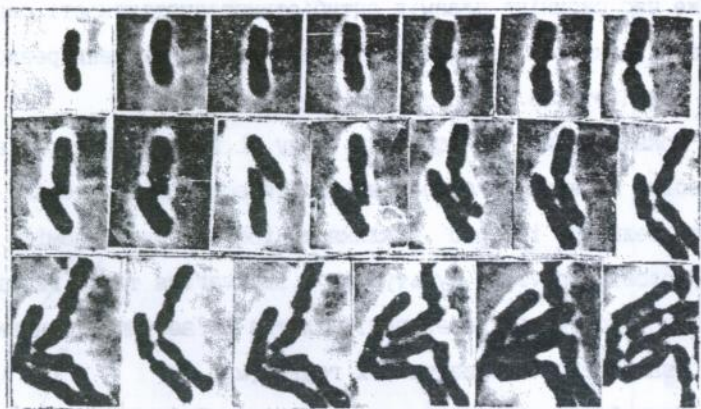
L.salivarius. Ці штами росли в присутності стрептоміцину, тетрацикліну, лінкоміцину, неомицину, еритроміцину та олеандоміцину. В той же час скринінг плазмід антибіотикорезистентності серед молочнокислих бактерій не виявив штамів, які б мали гени резистентності щодо антибіотиків.

Показано, що лактобацили виду *L.salivarius* та ентерококи *E.faecium* проявляють адгезивні властивості до епітелію кишечника телят. Великий інтерес викликають дослідження динаміки утворення мікроколоній *in vitro* культурами *L.salivarius* та *E.faecium*. Було показано, що термін регенерації клітин *E.faecium* - близько 1 години, *L.salivarius* - близько 3-х годин (мал.4).

Нами було визначено, що культури *E.faecium* та *L.salivarius* найбільш повно відповідають критеріям оцінки біологічної активності штамів, тому вони були відібрані до складу пробіотика для телят.

З метою одержання активних штамів для пробіотика були відпрацьовані умови їх культивування. Розроблено промислове поживне середовище для вирощування монокультур з оптимальними параметрами для *E.faecium* та *L.salivarius*, відповідно: вміст амінного азоту - 60 та 80 мг%; редукуючих речовин за вуглеводним компонентом - 1,4 - 2,4 % та 1,5-2,2 %; рН - 6,5-6,7 та 5,7-6,1; температурний режим - $38^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$. Технологію культивування монокультур апробовано в промислових умовах.

Досліджено в динаміці процес формування видового і кількісного складу мікрофлори травного тракту телят у дослідних та контрольних групах. Показано, що молочнокислі бактерії домінують серед мікроорганізмів різних таксономічних груп мікробіоценозу. Видовий склад лактофлори різноманітний у перші 10 днів життя тварин, кількісний - залежить від віку тварин (мал.5). У телят після 20 днів від народження лактобактерії змінюються коковими формами, з'явля-



Мал.4. Динаміка утворення мікроколоній культурою *Lactobacillus salivarius* на поверхні твердого поживного середовища МРС /x6000/

ються види, що є характерними для мікрофлори кормів. Застосування препарату з перших годин життя тварин сприяє їх росту та розвитку.

В И С Н О В К И

1. Молочнокислі бактерії є обов'язковими представниками мікробіоценозу травного тракту телят. Видовий та кількісний склад їх залежить від віку тварин, сезону року та трофічного фактору. Лактофлора найбільш різноманітна у новонароджених телят. Вона представлена видами лактобацил: *Lactobacillus coryniformis* subsp. *coryniformis*, *L. coryniformis* subsp. *torquens*, *L. fermentum*, *L. reuteri*, *L. alimentarius*, *L. plantarum*, *L. casei* subsp. *casei*. Знайдено види - *L. fructosus* та *L. fructivorans*, що рідко зустрічаються в даній екологічній ніші. Кокові форми у новонароджених телят були представлені єдиним видом - *Enterococcus faecium*. У дорослих тварин переважає кокова мікрофлора.

2. При дослідженні динаміки формування мікрофлори травного тракту телят встановлено, що група молочнокислих бактерій домінує серед обов'язкових представників інших таксономічних груп. Показано, що в періоди зміни раціону харчування (у віці 2-х та 6-и місяців) у кількісному складі мікрофлори відбувається зниження кількості мікроорганізмів, зокрема, молочнокислих, пропіоновокислих, амілолітичних, целюлозолітичних бактерій, кишкової палички, дріжджів та грибів. Кількість бактерій групи протею практично не зменшується.

3. Антагоністична дія у штамів молочнокислих бактерій, що ізольовані від телят, проявляється у відношенні до умовно патогенних тест-культур: *Pseudomonas aeruginosae*, *Mycobacterium smegmatis*, *Nocardia asteroides*, *Escherichia coli* 0127, *Proteus vulgaris*, *Staphylococcus aureus* 209. Антагоністична активність залежить від

штамової належності культур. Частіше вона проявляється у лактобацил (7,8 %), рідше - у кокових форм (4,5 %). Суміш монокультур *E.faecium* (80 %) та *L.salivarius* (20 %) проявляє синергізм антагоністичної дії у відношенні до наведених тест-культур.

4. Серед досліджених культур молочнокислих бактерій 80 % штамів *L.salivarius* ростуть у присутності стрептоміцину, тетрацикліну, олеандоміцину, неоміцину, еритроміцину; серед кокових форм - стійкими є штами *E.faecium*: 100 % - до стрептоміцину, 67 % - до лінкоміцину, 47 % - до тетрацикліну, 41 % - до неоміцину, 17,6 % - до олеандоміцину.

5. Культури *E.faecium* та *L.salivarius*, що відібрані до складу пробіотика, здатні *in vitro* утворювати мікроколонії на поверхні твердого поживного середовища МРС. Визначено, що термін регенерації *E. faecium* - близько 1 години, *L.salivarius* - близько 3-х годин.

6. Розроблено технологію одержання пробіотичного препарату "Бовілакт" для телят, який захищено Патентом України; методику його використання. Затверджено "Настанову про застосування "Бовілакту". Проведено експериментальну оцінку дії препарату та його ефективності у тваринництві.

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Квасников Е.И., Коваленко Н.К., Немировская Л.Н. Молочнокислые бактерии и стрептококки желудка человека в норме и при некоторых патологических процессах // Журн.микробиол., эпидемиол. и иммунологии, 1979. - N 3. -С.73-76.
2. Коваленко Н.К., Мацюк В.М., Немировская Л.Н. и др. Использование литосила для силосования высоковлажного растительного сырья // В кн.: Микроорганизмы в кормопроизводстве. Кишинев, 1990. -С.49-58.

3. Коваленко Н.К., Касумова С.А., Немировская Л.Н. и др. Влияние биоконсерванта литосил на микробиологические процессы в силосе // Известия АН ССР Молдова. Биологические и химические науки, 1990. - N 6/248/. - С.25-30.
4. Подгорский В.С., Коваленко Н.К., Немировская Л.Н. и др. Способ получения препарата для профилактики и лечения желудочно-кишечных заболеваний животных // Патент Украины N 764, 1992.
5. Немировская Л.Н., Яцута Л.В. Влияние молочнокислых бактерий на гистологическую структуру органов пищеварительного тракта телят // Микробиол. журн., 1994. - 56.-2. - С.88.
6. Квасников Е.И., Коваленко Н.К., Немировская Л.Н. и др. Применение молочнокислых бактерий в кормлении сельскохозяйственных животных // Тез. VI Учредительного съезда УМО, Донецк, 1984. - С.98.
7. Богуславский В.М., Бурцева С.А., Немировская Л.Н. и др. Антимикробные свойства молочнокислых бактерий // Тез. Международ. конф. "Микроорганизмы - стимуляторы и ингибиторы роста растений и животных", Ташкент, 1989. - С.28.
8. Коваленко Н.К., Касумова С.А., Немировская Л.Н. Влияние продуктов метаболизма молочнокислых бактерий на организм сельскохозяйственных животных // Тез. Международ. конф. "Микроорганизмы - стимуляторы и ингибиторы роста растений и животных", Ташкент, 1989. - С.94.
9. Коваленко Н.К., Немировская Л.Н., Касумова С.А. и др. Направленное формирование биоценоза пищеварительного тракта телят // Тез. Международ. конф. "Микробиологические и биотехнологические основы интенсификации растениеводства и кормопроизводства", Алма-Ата, 1990. - С.43.
10. Коваленко Н.К., Немировская Л.Н. Бактериоцины молочнокислых бактерий // Тез. Международ. конф. "Микроорганизмы в сельском хозяйстве", Пушкино, 1992. - С.93.

11. Коваленко Н.К., Головач Т.Н., Немировская Л.Н. Коллекция молочнокислых бактерий и перспективы ее практического использования //Микробиол.журн., 1994. -56.-С.67.
12. Kovalenko N.K., Pyvovarenko T.V., Nemirovskaya L.N. Genetic Systems in Lactic Acid Bacteria //VII-th International Symposium on the Industrial Microorganisms, Monreal, 1994.- P.27.
13. Kovalenko N.K., Golovach T.N., Nemirovskaya L.N. et al. Collection of Lactic and Acetic Bacteria in Institute of Microbiology and Virology of Ukraine Academy of Science//Abstracts of VI-th Intern. Congress of Culture Collection, Washington, 1988.-P. 69.

А Н Н О Т А Ц И Я

Немировская Л.Н. Особенности биологии молочнокислых бактерий пищеварительного тракта телят

Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.00.07 - микробиология.

Институт микробиологии и вирусологии им.Д.К.Заболотного НАН Украины, Киев, 1996.

Защищается рукопись кандидатской диссертации, которая содержит результаты экспериментальных исследований особенностей биологии молочнокислых бактерий пищеварительного тракта телят. Создана коллекция молочнокислых бактерий. Показана гетерогенность проявления свойств отдельными видами родов *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Lactococcus*. Таксономический анализ фенотипических признаков выявил влияние среды обитания на свойства молочнокислых бактерий. Обнаружены доминирующие и редко встречающиеся виды в данной экологической нише. Предложены критерии отбора культур, перспективных для создания пробиотических препаратов. Разработан пробиотик "Бовилакт" для телят. Показана его эффективность.

A N N O T A T I O N

Nemirovskaya L.N. Peculiarities of Lactic Acid Bacteria Biology of Calves Digestive Tract.

The Thesis for obtaining candidate degree in biological sciences on speciality 03.00.07 - microbiology. The Institute of Microbiology and Virology nm. D.K.Zabolotny of the NAS of Ukraine, Kiev, 1996.

The typescript, containing the experimental study results of peculiarities of lactic acid bacteria biology of calves digestive tract, is being defended. The collection of lactic acid bacteria cultures has been created. Heterogeneity of properties manifestation by some species of *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Streptococcus* and *Lactococcus* genus has been shown. Taxonomic analysis of phenotypic characters revealed environmental effect on lactic acid bacteria peculiarities. Dominating and rarely met species in this ecological niche have been brought to light. Some selection criteria of cultures that are perspective for probiotic products creation have been proposed. Probiotic "Bovilact" for calves has been elaborated. Its efficacy has been demonstrated.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: мікробіоценоз, молочнокислі бактерії, травний тракт телят, біологічно активні властивості, критерії підбору культур, пробіотик.

fitz

Підписано до друку 27.12.96р. Формат 60x84/16.
Ум. друк. арк. 1,0. Обл.-вид. арк. 1,0.
Тираж 100. Зам. 108.

Відділ оперативної поліграфії
Центру "Міжнародна освіта"
227-12-75, 227-37-86

441798

AB 36.818