

**ВЛАСТИВОСТІ ШТАМІВ МІКРООРГАНІЗМІВ  
*LACTOBACILLUS PLANTARUM* L5 І *BACILLUS*  
*SUBTILIS* В3 ТА ПЕРСПЕКТИВИ ЇХ  
ЗАСТОСУВАННЯ У ТВАРИННИЦТВІ**

**Сорока В.І., Божок Л.В., Дерев'янка С.В., Дяченко Г.М.,  
Прокопенко О.І., Агєєв В.О.**

Інститут сільськогосподарської мікробіології УААН,  
вул. Шевченка, 97, м. Чернігів, 14027, Україна  
E-mail: biopreparat@mail.ru

*Вивчено культурально-морфологічні та фізіолого-біохімічні властивості штамів мікроорганізмів *Bacillus subtilis* В3 і *Lactobacillus plantarum* L5, які можуть бути використані як основа препаратів для підвищення продуктивності тварин та консервування кормів.*

*Ключові слова: лактобацили, аеробні бацили, *Lactobacillus plantarum*, *Bacillus subtilis**

Сьогодні молочнокислі мікроорганізми, зокрема лактобацили, широко застосовуються при виготовленні пробіотичних препаратів як для людини, так і для тварин, а також входять до складу мікробних заквасок, які використовують у харчовій промисловості та кормовиробництві [1-8]. Практичне використання лактобацил обумовлено їх високою антагоністичною активністю до патогенних і умовно-патогенних мікроорганізмів, здатністю продукувати вітаміни та інші біологічно активні речовини, стимулювати імунну відповідь макроорганізму [3, 4, 6, 8, 9].

Окрім лактобацил, набули широкого практичного застосування бактерії роду *Bacillus*. Ці бактерії характеризуються більш вираженою і різноманітною антимікробною активністю за рахунок продукування ними антибіотичних речовин, з яких близько 200 на сьогодні вже вивчено. Аеробні бацили володіють високою ферментативною активністю (амілолітичною, ліполітичною, целюлозолітичною, протеолітичною), продукують амінокислоти, в тому числі незамінні, та вітаміни, здатні активізувати макрофаги та індукцію інтерферонів [10-14]. На основі бактерій роду *Bacillus* розроблено низку пробіотичних препаратів, які застосовують для лікування та профілактики інфекційних хвороб шлунково-

кишкового тракту, підвищення продуктивності молодняку сільськогосподарських тварин і птиці, корекції імунного й антиоксидантного статусу макроорганізму [6, 11-16]. Крім того, препарати на основі аеробних бацил з успіхом використовуються при заготівлі консервованих кормів [15].

Не зважаючи на значні досягнення мікробіологів, і нині триває пошук нових високоактивних штамів мікроорганізмів, перспективних для створення на їх основі пробіотиків та препаратів для консервування кормів.

Метою досліджень було вивчити властивості мікроорганізмів *Lactobacillus plantarum* L5 і *Bacillus subtilis* B3, їх вплив на продуктивність молодняку великої рогатої худоби та поживну цінність і якість силосу.

**Матеріали і методи.** У дослідях використано культури мікроорганізмів, попередньо ідентифіковані як *Lactobacillus plantarum* L5 і *Bacillus subtilis* B3, виділені із вмістимого рубця великої рогатої худоби. Властивості цих ізолятів оцінювали за такими показниками: морфологія росту на щільних та рідких живильних середовищах [17, 18], морфологія клітин з визначенням тинкторіальних властивостей методом мікроскопії [19], здатність до спороутворення [20], рухливість [17, 19], каталазна активність [17, 18], лецитиназна активність [18], здатність продукувати ацетилметилкарбінол за реакцією Фогес-Проскауера [19], уреазна [11], нітратредуктазна [17, 21], желатиназна [22], амілазна та казеїназна [18] активності, толерантність до різних концентрацій NaCl [17], здатність рости при різних температурах [17], здатність викликати зсідання молока [19], відновлювати метиленовий синій [17], особливість росту на лакмусовому молоці [17, 18], здатність продукувати індол і сірководень [18, 19], зброджувати вуглеводи ряду Гісса [17, 22], антагоністична активність [23], нешкідливість для лабораторних тварин (білих мишей) [24], антибіотико-резистентність [23]. Для вивчення антагоністичної активності вище вказаних ізолятів використано тест-культури *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium*, *Shigella dysenteriae*, *Shigella sonnei*, одержані з Чернігівської обласної державної санітарно-епідеміологічної станції та з колекції штамів мікроорганізмів Державного науково-контрольного інституту біотехнології і штамів мікроорганізмів.

З метою вивчення рістстимулювального ефекту пробіотич-

них бактерій *Lactobacillus plantarum* L5 і *Bacillus subtilis* B3 проведено дослід на молодняку ВРХ віком 4-6 міс. Методом аналогів було сформовано дві дослідні та одну контрольну групи тварин по 10 голів у кожній. Телятам дослідної групи 1 з кормом вводили культуральну суспензію *Lactobacillus plantarum* L5, дослідної групи 2 – *Bacillus subtilis* B3 у добових дозах 20 млрд життєздатних клітин на голову упродовж 7 днів поспіль з наступною 7-денною перервою. На початку та у кінці досліді проводили зважування тварин.

Вивчення впливу *Lactobacillus plantarum* L5 і *Bacillus subtilis* B3 на поживну цінність та показники якості силосу проводили у досліді в лабораторних умовах. Культуральну суспензію досліджуваних бактерій (варіант силосу дослідний 1 – штамп *Lactobacillus plantarum* L5, дослідний 2 – *Bacillus subtilis* B3) вносили у силосовану масу з розрахунку 25 млн життєздатних клітин на 1 кг зеленої маси. Через 120 діб зберігання силосу визначали його органолептичні та мікробіологічні показники, рН, вміст органічних кислот за ГОСТ 23638-90 та вміст протеїну за ГОСТ 13496.4-93.

Математичну обробку результатів здійснювали стандартними статистичними методами [25].

**Результати та їх обговорення.** В ході лабораторних досліджень встановлено, що клітини *Lactobacillus plantarum* L5 – це грампозитивні палички правильної форми, нерухливі, спор не утворюють. При глибинному культивуванні в капустианому агарі на 24-ту годину росту утворюють колонії білого кольору, округлої форми, діаметром до 1,0 мм з вираженою зоною розчинення крейди, через 48-72 годин росту колонії зірчасті, білого кольору, діаметром 2,0-3,0 мм, з добре вираженою зоною розчинення крейди в агарі. При культивуванні у рідких середовищах МПБ та MRS утворюють осад, який легко збовтується.

Вищезазначені мікроорганізми ферментують арабінозу, глюкозу, мальтозу, цукрозу, маннозу, манніт, галактозу, лактозу, раффінозу, целобіозу, сорбіт. Не ферментують ксилозу, рамнозу, інулін, інозит, гліцерин, галактит.

Досліджувана бактерія *Lactobacillus plantarum* L5 каталазу не продукує, нітратредуктазною, уреазною та желатиназною активностями не володіє, газ з глюкози не утворює, індол і сірководень не продукує. Має казеїназну активність, викликає зсідання молока, метиленовий синій не відновлює. При рості у

молоці з лакмусом підкислює середовище. Толерантна до дії 2 та 4 % NaCl, а концентрація NaCl 6 % пригнічує ріст культури.

При вивченні культурально-морфологічних властивостей бактерії *Bacillus subtilis* В3 встановлено, що це грампозитивні спороутворювальні палички із закругленими кінцями, рухливі, на агаризованому картопляно-мінеральному середовищі при температурі 37 °С через 18-20 годин утворюють слизисті, блискучі колонії, підвищені, округлої форми, діаметром 1,0-3,0 мм, а на 24-48 годину культивування – складчасті, матові, з підвищеним центром і зазубреними краями, безбарвні чи білуватого кольору. На поверхні рідких середовищ досліджувані аеробні бацили утворюють тонку плівку, під якою стовпчик середовища прозорий, здатні до глибинного росту.

Бактерія ферментує арабінозу, ксилозу, глюкозу, мальтозу, цукрозу і манніт, а рамнозу, маннозу, лактозу, мальтозу, галактит, раффінозу, інулін, целобіозу, сорбіт, інозит, гліцерин не зброджує.

Активно продукує каталазу. Ацетилметилкарбінол, індол і сірководень не утворює. Володіє амілазною, казеїназною, нітратредуктазною, уреазною та желатиназною активностями, а лецитиназної – не має. При рості культури у молоці з лакмусом відбувається відновлення лакмусу. Бактерії толерантні до дії 4 та 7 % NaCl, концентрація NaCl 10 % пригнічує ріст.

Обидві досліджувані бактерії чутливі до дії антибіотиків: колексину, енрофлоксацину, колістину, окситетрацикліну, норфлоксацину, доксіну, доксицикліну, амоксициліну, інтертриму.

Встановлено, що ізоляти володіють антагоністичною активністю до патогенних та умовно-патогенних мікроорганізмів *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium*, *Shigella dysenteriae*, *Shigella sonnei* (табл. 1).

Штами мікроорганізмів *Lactobacillus plantarum* L5 та *Bacillus subtilis* В3 не токсичні та не патогенні для лабораторних тварин при застосуванні всередину у дозі  $3 \cdot 10^8$  КУО.

Досліджені властивості підтверджують правильність попередньої ідентифікації ізолятів.

На підставі одержаних даних підготовлено паспорти на штами мікроорганізмів *Bacillus subtilis* В3 та *Lactobacillus plantarum* L5, проведено комісійне вивчення їх властивостей, під час якого були підтверджені паспортні характеристики культур. Штами мікроорганізмів *Lactobacillus plantarum* L5 та *Bacillus subtilis*

ВЗ задепоновані в Державному науково-контрольному інституті біотехнології і штамів мікроорганізмів за номерами 479 та 480, відповідно.

**Таблиця 1. Антагоністична активність досліджуваних пробіотичних мікроорганізмів**

Ізоляти	Живильне середовище	Тест-культури, зона відсутності росту, мм			
		<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>	<i>Shigella sonnei</i>
<i>Lactobacillus plantarum</i> L5	МПА з 2 % глюкози	14,8±1,1	14,5±0,9	18,6±1,2	16,1±1,0
<i>Bacillus subtilis</i> В3	МПА	6,7±0,3	5,1±0,2	7,5±0,7	10,2±0,9

У досліді на молодняку великої рогатої худоби встановлено, що за дії *Lactobacillus plantarum* L5 середньодобові прирости маси тварин підвищуються на 11,3 %, а за впливу *Bacillus subtilis* В3 – на 11,6 % у порівнянні з контролем (табл. 2).

**Таблиця 2. Вплив *Bacillus subtilis* В3 та *Lactobacillus plantarum* L5 на продуктивність телят**

Група тварин	Кількість тварин у групі, голів	Вік тварин, міс.	Середня маса тварин, кг		Середньодобовий приріст маси тварин		Тривалість досліду, міс.	Збереженість тварин, %
			на початку досліду	у кінці досліду	г	%		
Контрольна	10	4-6	82,0	89,2	240	–	1	100
Дослідна 1	10	4-6	84,5	92,5	267	111,3	1	100
Дослідна 2	10	4-6	79,0	87,4	280	116,6	1	100

Застосування *Lactobacillus plantarum* L5 та *Bacillus subtilis*

ВЗ для силосування зеленої маси дозволяє одержати корм високої якості. У силосі, закладеному з використанням вище зазначених штамів, вміст протеїну вищий у порівнянні з контролем на 0,73-1,07 %, що свідчить про його високу поживну цінність. Вміст молочної кислоти у дослідних варіантах силосу перевищує контрольні значення на 31-51 %, знижується вміст оцтової та відсутня масляна кислоти, що вказує на відсутність бродильних процесів, які погіршують якість корму (табл. 3).

*Таблиця 3. Біохімічні та мікробіологічні показники силосів, оброблених Lactobacillus plantarum L5 та Bacillus subtilis B3*

Варіанти силосу	Вміст сирого протеїну, %	Вміст кислот, абс. %			Сума кислот, абс. %	Молочна кислота, відн. %	рН	Кількість мікроорганізмів в 1 г силосу	
		оцтової	масляної	молочної				роду <i>Bacillus</i>	роду <i>Lactobacillus</i>
Дослідний 1	3,57	0,59	0,00	2,36	2,95	80	4,3	$2,7 \cdot 10^5$	$1,2 \cdot 10^7$
Дослідний 2	3,91	0,65	0,00	2,05	2,70	76	4,3	$2,5 \cdot 10^6$	$4,6 \cdot 10^6$
Контрольний	2,84	0,72	0,02	1,56	2,30	68	4,1	$2,8 \cdot 10^5$	$4,8 \cdot 10^6$

Таким чином, нові штами мікроорганізмів *Lactobacillus plantarum* L5 та *Bacillus subtilis* B3 позитивно впливають на продуктивність молодняка великої рогатої худоби при введенні їх до основного раціону та поживну цінність і якість силосу. Високі ферментативна (амілазна і протеазна) й антагоністична активності та нешкідливість для тварин досліджуваних штамів бактерій дозволяють розглядати їх як основу препаратів для підвищення продуктивності тварин та консервування кормів.

1. Suvarna V.C. Probiotics in human health: a current assessment /V.S. Suvarna and V.U. Boby //Current science. – 2005. – Vol. 88, № 11. – P. 1744-1748.

2. Гноевой В.И. Этот необъятный невидимый живой мир /В.И. Гноевой //Альтернативная медицина Украины [Электронный ресурс]. – Режим доступа : [http://altermed.com.ua/comment\\_7311.html](http://altermed.com.ua/comment_7311.html).

3. Денисенко В.В. Молочнокислые бактерии – основа препаратов пробиотического действия /Денисенко В.В., Найдено И.А. //Микробные биотехнологии: фундаментальные и прикладные аспекты: сб. научн. тр. – Минск: изд. И.П. Логвинов, 2007. – Т. 1. – С. 233-241.

4. Глушанова Н.А. Биологические свойства лактобацилл /Глушанова Н.А. //Бюл. сибирской медицины. – 2003. – № 4. – С. 50-58.

5. Дидык Т.Б. Использование лактобактерий в приготовлении силосных заквасок (обзор) /Дидык Т.Б., Бочаров А.А. //Ветеринарна медицина: міжвід. темат. наук. зб. – Харків: ІЕКВМ УААН, НТМТ, 2002. – Вип. 80. – С. 205-209.

6. Пробиотики на основе живых культур микроорганизмов /В.В. Смирнов, Н.К. Коваленко, В.С. Подгорский, И.Б. Сорокулова //Мікробіол. журн. – 2002. – Т. 64, № 4. – С. 62-80.

7. Акименко Л. Пробиотики у ветеринарній медицині /Л. Акименко //Ветеринарна медицина України. – 2005. – № 5. – С. 37-38.

8. Мосюк М.П. Порівняльна мікробіологічна і біохімічна характеристика деяких штамів молочнокислих бактерій, що застосовуються для виготовлення силосних заквасок в СРСР /М.П. Мосюк, М.Х. Справцев, Г.М. Горобець //Мікробіол. журн. – 1971. – Т. 33, № 6. – С. 682-683.

9. Квасников Е.И. Место и значение молочнокислых бактерий в биосфере. Эскиз /Е.И. Квасников //Микробиол. журн. – 1992. – Т. 54, № 5. – С. 3-10.

10. Смирнов В.В. Бактерии рода *Bacillus* – перспективный источник биологически активных веществ //Мікробіол. журн. – 2001. – Т. 63, № 1. – С. 72-79.

11. Смирнов В.В. Спорообразующие аэробные бактерии – продуценты биологически активных веществ /В.В. Смирнов, С.Р. Резник, И.А. Василевская. – К.: Наук. думка, 1982. – 280 с.

12. Современные представления о механизмах лечебно-профилактического действия пробиотиков из бактерий рода *Bacillus* /В.В. Смирнов, С.Р. Резник, В.А. Вьюницкая [и др.] //Мікробіол. журн. – 1993. – Т. 55, № 4. – С. 92-112.

13. Похиленко В.Д. Пробиотики на основе спорообразующих бактерий и их безопасность /В.Д. Похиленко, В.В. Перелыгин //Химическая и биологическая безопасность. – 2007. – № 2-3. – С. 20-41.

14. Пробиотичні препарати для профілактики і лікування хвороб та стимуляції росту сільськогосподарських тварин і птиці /Дерев'яно С.В., Дяченко Г.М., Божок Л.В., Прокопенко О.І. //Ветеринарна медицина: міжвід. темат. наук. зб. – Харків: ІЕіКВМ УААН, 2004. – Вип. 84. – С. 819-822.

15. Ефективність пробиотичного препарату БПС-44 /Дерев'яно С.В., Дяченко Г.М., Божок Л.В. [та ін.] //С.-г. мікробіологія: міжвід.

темат. наук. зб. – Чернігів: ЦНТЕІ, 2005. – Вип. 1-2. – С. 128-135.

16. Пробиотичні препарати БПС-44 та БПС-Л – стимулятори імунної та антиоксидантної систем молодняка сільськогосподарських тварин /Агєєв В.О., Дяченко Г.М., Дерев'яно С.В. [та ін.] //Аграрна наука – виробництву. – 2009. – № 1. – С. 25.

17. Квасников Е.И. Молочнокислые бактерии и пути их использования /Е.И. Квасников, О.А. Нестеренко. – М.: Наука, 1975. – 392 с.

18. Методы общей бактериологии /под ред. Ф. Герхардта и др.; пер. с англ.: в 3 т. – М.: Мир, 1983 – Т. 3. – 1984. – 264 с.

19. Ашмарин И.И. Практическая медицинская микробиология (руководство) /И.И. Ашмарин. – [2-е изд., испр. и доп.]. – Ташкент: Медицина, 1966. – 324 с.

20. Методы общей бактериологии /под ред. Ф. Герхардта и др.; пер. с англ.: в 3 т. – М.: Мир, 1983. –Т. 1. – 1983. – 536 с.

21. Методические рекомендации по выделению и идентификации бактерий группы *Bacillus subtilis-mesentericus* из организма человека и животных /сост. В.В. Смирнов, С.Р. Резник, И.Б. Сорокулова. – К.: Наук. думка, 1980. – 28 с.

22. Руководство к практическим занятиям по микробиологии: учеб. пособие /под ред. Н.С. Егорова. – [3-е изд., испр. и доп.]. – М.: МГУ, 1995. – 224 с.

23. Егоров Н.С. Основы учения об антибиотиках: учеб. для студ. биол. спец. ун-тов /Н.С. Егоров. – [4-е изд., испр. и доп.]. – М.: Высш. шк., 1986. – 448 с.

24. Препарат бацилярний субтиліс (БПС-44): ТУ У 24.4-00497360-691-2003. – Зміна № 1. – [Чинні від 2006-09-05]. – К.: Міністерство аграрної політики, 2006. – 2 с.

25. Лакин Г.Ф. Биометрия: учеб. пособие для биол. спец. вузов /Г.Ф. Лакин. – [4-е изд., испр. и доп.]. – М.: Высш. шк., 1990. – 352 с.



**СВОЙСТВА ШТАММОВ МИКРООРГАНИЗМОВ  
LACTOBACILLUS PLANTARUM L5 И BACILLUS  
SUBTILIS B3 И ПЕРСПЕКТИВЫ ИХ  
ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В ЖИВОТНОВОДСТВЕ**

**Сорока В.И., Божок Л.В., Деревянко С.В., Дяченко А.М.,  
Прокопенко Е.И., Агеев В.А.**

Институт сельскохозяйственной микробиологии УААН,  
г. Чернигов

*Изучены культурально-морфологические и физиолого-биохимические свойства микроорганизмов Bacillus subtilis B3 и Lactobacillus plantarum L5, которые могут быть использованы как основа препаратов для повышения продуктивности животных и консервирования кормов.*

Ключевые слова: лактобациллы, аэробные бациллы, *Lactobacillus plantarum*, *Bacillus subtilis*

**PROPERTIES OF MICROORGANISMS STRAINS  
LACTOBACILLUS PLANTARUM L5 AND BACILLUS  
SUBTILIS B3 AND PROSPECTS OF THEIR USE IN  
CATTLE BREEDING**

**Soroka V.I., Bozhok L.V., Derevyanko S.V., Dyachenko G.M.,  
Prokopenko O.I., Aheyev V.O.**

Institute of Agricultural Microbiology, UAAS, Chernihiv

*Cultural-morphological and physiology-biochemical properties of microorganisms Bacillus subtilis B3 and Lactobacillus plantarum L5 which can be used as a basis of preparations for increase of animal productivity and forages conservation were studied.*

Keywords: lactobacilli, aerobic bacilli, *Lactobacillus plantarum*, *Bacillus subtilis*, microorganisms.