/ М. П. Семененко, Е. В. Кузьминова, М. Н. Соколов [и др.] // Ветеринария Кубани. – 2015. – № 2. – С. 4–6.

2. Гусева О. С. Влияние пробиотических препаратов различного ряда на морфологические показатели крови поросят при гипотрофии в период отъёма / О. С. Гусева, А. В. Савинков, М. П. Семененко // Ветеринарная патология. – 2013. – № 1(43). – С. 104–106.

3. Кощаев А. Г. Влияние кормовой добавки бацелл на обмен веществ у цыплят-бройлеров / А. Г. Кощаев, И. С. Жолобова, Г. В. Фисенко, М. Н. Калошина // Труды Кубанского государственного аграрного университета. – 2012. – № 36. – С. 235–239.

4. Семененко М. Влияние природных алюмосиликатов на организм птицы / М. Семененко, В. Антипов // Птицеводство. – 2006. – № 12. – С. 11.

5. Фисинин В. Современные подходы к кормлению птицы / В. Фисинин, И. Егоров // Птицеводство. – 2011. – № 3. – С. 7–9.

DOI: 10.48612/sbornik-2026-1-141
УДК 57.083:579.62:638.12

ПРОБИОТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ШТАММА *APILACTOBACILLUS KUNKEEI*

Седашев Артем Петрович
ФГБОУ ВО «Кубанский государственный аграрный университет имени И.Т. Трубилина», г. Краснодар, Российская Федерация

В настоящее время для устранения негативного влияния дисбиотических нарушений в кишечной трубке медоносной пчелы всё активнее используются пробиотические препараты. Для создания эффективных препаратов задачей научных изысканий служит поиск новых штаммов и исследование их свойств. В данной статье освещены исследования пробиотического потенциала аутоштамма *Apilactobacillus kunkeei*, выделенного из медового желудочка *Apis mellifera*.

Ключевые слова: медоносная пчела; пробиотики; антагонистическая активность; индигенные штаммы; микроорганизмы; антибиотикорезистентность

PROBIOTIC PROPERTIES OF THE *APILACTOBACILLUS KUNKEEI STRAIN*

Sedashev Artem Petrovich
Kuban State Agrarian University named after I.T. Trubilin, Krasnodar, Russian Federation

Currently, probiotic preparations are increasingly used to eliminate the negative effects of dysbiotic disorders in the intestinal tube of the honey bee. To create effective drugs, the task of scientific research is to search for new strains and study their properties. This article highlights the research on the probiotic potential of the *Apilactobacillus kunkeei* autostrain isolated from the honey stomach of *Apis mellifera*.

Keywords: honey bee; probiotics; antagonistic activity; indigenous strains; microorganisms

На пчеловодство, как и на другие отрасли животноводства негативно влияет интенсификация, в частности применение химических соединений в растениеводстве и антибиотиков в животноводстве. Данные группы химических соединений попадая в организм медоносной пчелы через окружающую среду вызывают дисбиотический сдвиг в сторону условно-патогенной микрофлоры. Что обуславливает не только снижение иммунитета, падение продуктивности, распространение некоторых бактериальных заболеваний, таких как парагнилец, гнильцовые заболевания, гафниоз, но и в ряде случаев приводит к гибели пчелосемей. Для снижения негативных явлений целесообразным является применение

пробиотиков.

Перспективами их применения являются безопасность для окружающей среды. Они способствуют обогащению микрофлоры желудочно-кишечного тракта полезными видами микроорганизмов, которые подавляют рост условно-патогенных бактерий, являющихся этиологическим фактором бактериозов пчел. Пробиотики также улучшают пищеварительные процессы, посредством продукции ряда ферментов, катализирующих ряд сложных углеводов, непереваривaемых пчелой [2].

По мере пополнения знаний о видовом составе и функциях микробиоты кишечного тракта пчел, её влияние на иммунологические, физиологические и продуктивные показатели способствовало развитию научных изысканий по использованию микроорганизмов симбионтов для улучшения микробиома пчел и как следствие повышения продуктивности [3].

При отборе производственных культур микроорганизмов обращают внимание на их технологичность, устойчивость к антибактериальным препаратам, безопасность для конечного потребителя и экосистемы, а также спектр и уровень антагонистических свойств.

Важным для создания эффективного пробиотического препарата является подбор штаммов, проявляющие антогоностические свойства по отношению к условно-патогенным представителям индигенной микрофлоры желудочно-кишечного тракта пчел [1].

Методика исследований. Работа выполнена на базе лаборатории микробиологии центра биотехнологий ФГБОУ ВО Кубанский ГАУ имени И.Т. Трубилина.

Изыскание нового пробиотического штамма осуществляли из желудочно-кишечного тракта медоносной пчелы. Пчелы отбирались с благополучного в эпизоотологическом отношении хозяйстве.

С одной пчелосемьи отбиралось около 20–35 пчел, всего было отобрано 30 проб с пасеки.

Живых пчел, поступивших в лабораторию, усыпляли путём помещения в морозильную камеру с температурой минус 70°С. Поверхность насекомых обрабатывалась 70 % этанолом. Извлечение кишечного тракта осуществляли в асептических условиях стерильными инструментами. В дальнейшем производили классические методики по выделению пробиотических микроорганизмов. В качестве питательных сред использовались среды Блаурокка, MRS, Бликфельдта.

В конечном отделе в качестве пробиотических штаммов были представлены представители лактобактерий и бифидобактерий. В среднем отделе трофической трубки было обнаружено в среднем 4 вида лактобактерий. В переднем отделе (медовом зобике) был обнаружен единственный представитель, относящийся к группе фруктофильных молочнокислых бактерий.

Идентифицирован до вида методом время пролетной масс-спектрофотометрией как *Apilactobacillus kunkeei.* Единичное видовое разнообразие побудило к дальнейшему изучению свойств изолята.

Для оценки пробиотического потенциала штамма использовали изучение антагонистической активности, по отношению к, выделенным из пчел, штаммов: *Buttiaxella saviniae; Citrobacter froundlii; Enterococcus faecialis; Esherichia coli; Hafnia alvei; Klebsiella aerogenosa; Klebsiella oxytoca; Klebsiella pneumonae; Pantea aglomerans; Pseudomonas aeruginosa; Salmonella sp.; Staphyloccocus epidermidis; Staphylococcus capitis; Staphylococcus warneri; Staphylococcus aureus,* являющихся индигенными условными патогенами для данного вида насекомых.

Исследование проводили методом отсроченного антагонизма. Для этих целей использовали 30 часовую культуру исследуемого штамма, которую высевали на плотную агаризированную питательную Бифидум среду (Оболенск), посевом в виде штриха. Культивировали при температуре 37±1°С, с содержанием углексилоты в атмосфере 5±0,5%, 24 часа.

Затем к культуре были подсеяны суточные штаммы, указанных выше условно-патогенных микроорганизмов, оптической плотностью бактериальной суспензии денсиометрически соответствующей 0,5 по МакФаранду, методом параллельных штрихов, с последующей инкубацией при температуре 37±1°С в аэробных условиях.

Для оценки уровня антропогенной нагрузки была исследована устойчивость изучаемого штамма на антибактериальные препараты.

Для приготовления инокулята используется метод прямого суспендирования су-

точных колоний в стерильном изотоническом растворе до плотности 0,5 по стандарту мутности МакФарланда, что приблизительно соответствует нагрузке 1-2 х 10^8 КОЕ/мл (для *Escherichia coli*).

Необходимо довести плотность бактериальной суспензии строго до плотности 0,5 по стандарту мутности МакФарланда путем добавления изотонического раствора или бактериальной массы. Использование суспензии более высокой или низкой плотности может приводить к формированию зоны подавления роста меньшего или большего диаметра, соответственно.

Инокуляция чашек с Бифидум средой с добавлением фруктозы 30 г/л осуществлялось стерильным ватным тампоном равномерно штриховыми движениями на всю поверхность агара таким образом, чтобы штрихи плотно прилегали друг к другу.

Диски с антибиотиками наносились на поверхность инокулированного исследуемой культурой и подсушенного агара, в течении 10 минут после иногуляции.

Инкубирование при 35±1°С, 4-6 % CO_2 в атмосфере 20 часов, после чего провели учет результатов диаметра зоны задержки роста, установленное как среднее арифметическое значение результатов, проведенное в двух повторностях.

Результаты исследований и их обсуждение. После инкубации происходил учет результатов методом замера задержки роста условно-патогенной флоры по отношению к исследуемому пробиотическому штамму.

Исследования антагонистической активности штамма *Apilactobacillus kunkeei* в отношении изучаемых культур показали их достаточную активность, результаты представлены в таблице 1.

Результат антибиотикограммы исследуемого пробиотического штамма приведен в таблице 2.

Таблица 1 – Антагонистическая активность штамма *Apilactobacillus kunkeei* в отношении индигенных условно-патогенных микроорганизмов

Условно-патогенный микроорганизм	Величина зоны задержки роста (мм)	Активность
Buttiaxella saviniae	20	высокая
Citrobacter froundlii	4	низкая
Enterococcus faecialis	7	низкая
Esherichia coli	12	средняя
Klebsiella aerogenosa	4	низкая
Klebsiella oxytoca	2	низкая
Klebsiella pneumonae	4	низкая
Pantea aglomerans	11	средняя
Pseudomonas aeruginosa	10	средняя
Salmonella sp.	8	низкая
Staphyloccocus epidermidis	10	средняя
Staphylococcus capitis	11	средняя
Staphylococcus warneri	14	средняя
Staphylococcus aureus	7	низкая
Hafnia alvei	10	средняя

Таблица 2 – Устойчивость *Apilactobacillus kunkeei* к антибактериальным препаратам

Антибактериальные препараты	Содержание в диске (мкг)	Диаметр зон подавления роста (мм)			Результат
		Резистентный	Промежуточная чувствительность	Чувствительный	
БЕТА-ЛАКТАМЫ					
Бензилпенициллин	10 ЕД	≤ 20	21-22	≥ 23	27
Стрептомицин	300 мкг	≤ 15	16—18	≥ 19	11

Продолжение таблицы 2

Ампициллин	10 мкг	≤ 13	14—16	≥ 17	18
Амоксицил-лин/клавуланат	20/10 мкг	≤ 13	14—17	≥ 18	27
Цефиксим	5 мкг	≤ 15	16—18	≥ 19	9
Гентамицин	5 мкг	≤ 12	13—14	≥ 15	14
Амикацин	30 мкг	≤ 14	15—16	≥ 17	3
ХИНОЛОНЫ					
Офлоксацин	5 мкг	≤ 12	13—15	≥ 16	4
Ципрофлоксацин	5 мкг	≤ 15	16—20	≥ 21	4
Левофлоксацин	5 мкг	≤ 13	14—16	≥ 17	5
ТЕТРАЦИКЛИНЫ					
Тетрациклин	30 мкг	≤ 14	15—18	≥ 19	6
Доксициклин	30 мкг	≤ 12	13—15	≥ 16	10
ДРУГИЕ ПРЕПАРАТЫ					
Хлорамфеникол	30 мкг	≤ 12	13—17	≥ 18	22
Фурадонин	300 мкг	≤ 14	15—16	≥ 17	17
Эритромицин	15 мкг	≤ 15	16—18	≥ 19	21

Выводы. Результаты изучения антагонистической активности исследуемого штамма показывает, что молочнокислая бактерия *Apilactobacillus kunkeei* по отношению к исследуемым условно-патогенным микроорганизмам проявляет среднюю антагонистическую активность, которая в процентом соотношении составляет 54,8 %. Данные свойства являются значимыми для потенциального использования, выделенного штамма в качестве пробиотического препарата.

Исходя из данных таблицы 2, штамм проявляет резистентность к антибактериальным препаратам группы хинолонов и тетрациклинов, а также частично к препаратам, относящимся к бета-лактамам (Стрептомицин, Цефиксим, Амикацин). Индекс множественной антибиотикорезистентности равен 1,87.

Данные характеристики штамма позволяют отнести его к производственным штаммам для конструкций пробиотических композиций.

Список литературы

1. Домацкая Т. Ф. Возможность применения пробиотиков для лечения аскосфероза / Т. Ф. Домацкая // Пчеловодство. – 2017. – № 1. – С. 32–34.

2. Заболоцкая Т. В. Применение пробиотиков на основе Lactobacillus casei в пчеловодстве / Т. В. Заболоцкая, А. В. Штауфен, Е. Е. Миронова // Международный научно-исследовательский журнал. – 2021. – № 8–2 (110). – С. 24–27.

3. Стрельбицкая О. В. Бактериальное сообщество в кишечном канале медоносных пчел / О. В. Стрельбицкая, А. С. Тищенко, А. П. Седашев [и др.] // Ветеринария Кубани. – 2023. – № 5. – С. 40–42.