

УДК 663.087.8:638.1:602(476)

## ОСОБЕННОСТИ МИКРОБИОЦЕНОЗА КИШЕЧНОГО ТРАКТА ПЧЕЛ ПОСЛЕ ЗИМОВКИ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ ПРОБИОТИКОВ

И. М. Лойко<sup>1</sup>, А. Г. Щепеткова<sup>1</sup>, Т. М. Скудная<sup>1</sup>, И. И. Гапонова<sup>2</sup>,  
М. В. Романова<sup>2</sup>

<sup>1</sup> – УО «Гродненский государственный аграрный университет»

г. Гродно, Республика Беларусь

(Республика Беларусь, 230008, г. Гродно, ул. Терешковой, 28; e-mail: [ggau@ggau.by](mailto:ggau@ggau.by));

<sup>2</sup> – Институт микробиологии НАН Беларуси

г. Минск, Республика Беларусь

(Республика Беларусь, 220114, г. Минск, ул. Купревича, 2; e-mail: [microbio@mbio.bas-net.by](mailto:microbio@mbio.bas-net.by))

**Ключевые слова:** пробиотическая культура *Bacillus subtilis*, медоносные пчелы, микробиоценоз, зимовка.

**Аннотация.** В ходе исследований установлено, что использование в составе углеводной подкормки канди для медоносных пчел в зимовку экспериментальной пробиотической добавки «Споробакт» обеспечивает более интенсивное формирование микробиоценоза кишечного тракта пчелиных особей в сторону снижения условно-патогенной микрофлоры и повышения лакто-бифидобактерий.

## PECULIARITIES OF MICROBIOCENOSIS OF THE INTESTINAL TRACT OF BEES AFTER WINTERING FOR USING OF PROBIOTICS

I. M. Loiko<sup>1</sup>, A. G. Shchapiatkova<sup>1</sup>, T. M. Skudnaya<sup>1</sup>, I. I. Gaponova<sup>2</sup>,  
M. V. Romanova<sup>2</sup>

<sup>1</sup> – EI «Grodno state agrarian university»

Grodno, Republic of Belarus

(Republic of Belarus, 230008, Grodno, 28 Tereshkova st.; e-mail: [ggau@ggau.by](mailto:ggau@ggau.by));

<sup>2</sup> – Institute of Microbiology National Academy of Sciences

Minsk, Republic of Belarus

(Republic of Belarus, 220114, Minsk, 2 Kuprevicha st.; e-mail: [microbio@mbio.bas-net.by](mailto:microbio@mbio.bas-net.by))

**Key words:** probiotic culture of *Bacillus subtilis*, honeybees, microbiocenosis, wintering.

**Summary.** In the course of research, it was found that the use of candi for honey bees in the composition of carbohydrate supplements during the wintering of

*the experimental probiotic additive Sporobact provides a more intensive formation of the microbiocenosis of the intestinal tract of bee individuals in the direction of reducing opportunistic microflora and increasing lacto- and bifidobacteria.*

*(Поступила в редакцию 30.05.2019 г.)*

**Введение.** Физиологические функции нормальной микрофлоры весьма разнообразны, но одной из основных является обеспечение колонизационной резистентности – совокупности механизмов, придающих стабильность нормальной микрофлоре и предотвращающих заселение организма патогенными микроорганизмами [5].

Для жизнедеятельности пчел симбионтная микрофлора кишечника имеет важное значение, т. к. за счет бактериальных ферментов осуществляется расщепление углеводов и превращение нектара в мед, усваиваются белковые компоненты корма. От того, какой состав микрофлоры сложится у взрослых и молодых пчел к зимовке, будет зависеть не только состояние здоровья семьи, но и хозяйственно полезные признаки, связанные с ее продуктивностью. Микробиоценоз пчел во многом определяется средой обитания насекомых, а поэтому его членами бывают не только сапрофитные, но и потенциально патогенные микроорганизмы, которые обуславливают развитие таких болезней, как эшерихиоз, гафниоз, цитробактериоз, сальмонеллез и др. [4, 5]. Наличие у медоносных пчел такой биологической особенности, как отсутствие опорожнения толстой кишки в зимний период обеспечивает риск развития у них той или иной инфекционной болезни во время или к концу зимовки [2,3].

**Целью наших исследований** явилось определение влияния пробиотического препарата «Споробакт» на микробиоценоз кишечного тракта пчел после зимовки.

**Материал и методика исследований.** Исследования проводили в период с 2017 по 2018 гг. в условиях учебно-опытной пасеки и лаборатории кафедры микробиологии и эпизоотологии УО «Гродненский государственный аграрный университет». Объектом исследований служили пчелы серой горной кавказской породы, а также штаммы спорообразующих микроорганизмов (*Bacillus subtilis*), полученные из рабочей коллекции Института микробиологии НАН Беларуси, – основа пробиотического препарата «Споробакт».

Для подготовки пчелиных семей к зимовке в условиях учебно-опытной пасеки УО «ГГАУ» было сформировано 2 группы пчелосемей (контрольная и опытная) по 12 пчелосемей в каждой, равные по силе, количеству расплода, качеству кормовых запасов, происхождению и возрасту маток. Формирование групп проводили в соответствии с «Методическими указаниями к постановке экспериментов в пчеловодстве»

[1]. Пчелиные семьи контрольной группы собирались в зимовку с углеводной подкормкой канди, пчелосемьям опытной группы на зимовку задавали канди, обогащенную пробиотической добавкой «Споробакт». Пробиотический препарат вводили в канди (1 кг) на одну подкормку в дозе 4 мл на пчелиную семью 6 раз с интервалом в 5 дней. Подготовку пчелиных семей к зимовке проводили с третьей декады июля по начало сентября. Пчелиные семьи на зимовку были установлены в одно и то же время – 8 ноября 2017 г., а выставку из зимовника провели 14 марта 2018 г. Для получения канди сахарный песок и мед смешивали в соотношении 3:1. Полученную тестообразную массу месили 20-25 мин до получения гомогенной смеси.

Микробиологические исследования проводились на базе кафедры микробиологии и эпизоотологии УО «Гродненский государственный аграрный университет». Для определения влияния пробиотического препарата на количественный и качественный состав микрофлоры кишечного тракта пчел живых насекомых усыпляли и от 10 особей контрольной и опытной групп извлекали кишечник, который помещали в стерильный бюкс, взвешивали, после чего тщательно гомогенизировали в стерильной фарфоровой ступке в физрастворе в соотношении 1:100 и готовили ряд последовательных 10-кратных разведений на 0,9%-м хлорида натрия. Из полученных разведений, с помощью градуированной пипетки на поверхность хорошо подсушенных селективных питательных сред, делали посеы в объеме 0,1 мл. Посев производили на соответствующие агаризированные питательные среды в чашках Петри в объеме 0,1 мл суспензии содержимого кишечника различных разведений, в зависимости от предполагаемого количества тех или иных микроорганизмов. Для выделения лактобактерий использовали лактобакагар, стафилококков – стафилококкагар, энтеробактерий – агар Эндо-ГРМ, бифидобактерий – бифидум-среду. С целью выделения плесневых грибов использовали среду Сабуро. Учет результатов посева осуществлялся через 24, 48 ч. Оценка результатов высева проб на плотные питательные среды проводили после появления учитываемых колониеобразующих единиц (КОЕ) по всей площади поверхности чашки Петри. Подсчет КОЕ и их дифференциацию проводили с учетом особенностей культуральных свойств микроорганизмов (форма, цвет колонии и т. п.). Количество бактерий в 1 г экскрементов определяли по числу колоний, выросших на соответствующей питательной среде с пересчетом на количество посеянного материала и степень его разведения. Ориентировочную идентификацию лактобактерий проводили микроскопическим методом (окраска мазка по Граму), который позволяет оценить морфологию клеток. Для родовой идентификации энте-

робактерий использовали питательные среды Гисса с глюкозой, Гиса с сахарозой, Гиса с лактозой, Гиса с маннитом, Гиса с мальтозой, цитратный агар Симмонса. Родовую принадлежность плесневых грибов определяли с учетом их морфологических и культуральных особенностей. В ходе опыта определяли количество лактобацилл, энтеробактерий, бифидобактерий, плесневых грибов в содержимом кишечного тракта пчел. При исследовании микроскопических препаратов бактерий использовали приборы БИОСКАН (Республика Беларусь) на базе микроскопа ЛОМО МИКМЕД-2 и цветную цифровую видеокамеру НР -7830 с прикладной компьютерной программой БИОСКАН 1,5 и программным приложением MS OFFICE.

В ходе проведения микробиологического исследования нами установлено, что у медоносных пчел первого-второго поколений (генерации) серой горной кавказской породы в условиях учебно-опытной пасеки УО «ГГАУ» основными представителями микробиоценоза кишечного тракта являются энтеробактерии, плесневые грибы, лакто- и бифидобактерии.

**Результаты исследований и их обсуждение.** Результаты бактериологических исследований (таблица) показали, что у пчелиных особей контрольной группы, получавших только углеводную подкормку канди, в содержимом кишечного тракта доминировали энтеробактерии и плесневые грибы, уровень которых составил в среднем  $\sim 10^{10}$  и  $\sim 10^9$  КОЕ/г соответственно, на что указывает морфология колоний, результаты исследования микроскопических препаратов. При этом установлено, что энтеробактерии, изолированные нами из кишечного тракта пчел, представлены родами *Providencia*, *Serratia*, *Hafnia*, *Proteus*.

Таблица – Результаты бактериологического исследования кишечного тракта пчел при использовании пробиотического препарата в составе канди

Микроорганизмы	Группы насекомых	Количество микроорганизмов, содержащихся в 1г кишечного содержимого пчел, КОЕ/г
Молочнокислые бактерии	Контрольная	$0,9 \times 10^5$
	Опытная	$4,9 \times 10^6$
Бифидобактерии	Контрольная	$1,0 \times 10^4$
	Опытная	$2,0 \times 10^7$
Энтеробактерии	Контрольная	$2,0 \times 10^{10}$
	Опытная	$2,5 \times 10^9$
Плесневые грибы	Контрольная	$6,0 \times 10^9$
	Опытная	$2,2 \times 10^8$

Наиболее малочисленными в кишечном тракте медоносных пчел контрольной группы были лакто- и бифидобактерии, уровень которых составил соответственно  $\sim 10^5$  и  $\sim 10^4$  КОЕ/г. Стафилококки в кишечном

тракте пчелиных особей контрольной группы не выделялись. По-видимому, формирование кишечного микробиоценоза медоносных пчел может осуществляться и за счет микрофлоры медоносных растений, и за счет той микрофлоры, которая обитает на различных компонентах внутреннего содержимого улья, а также за счет микрофлоры воды, которую взрослые пчелы доставляют в улей с целью питья и охлаждения.

Введение в состав углеводной подкормки для медоносных пчел пробиотических компонентов способствовало значительному улучшению микробиологической структуры их кишечного биоценоза. Использование экспериментального микробиологического препарата на основе *B. subtilis* обеспечивало более интенсивное формирование микробиоценоза кишечного тракта пчелиных особей в сторону снижения условно-патогенной микрофлоры и повышения лакто- и бифидобактерий. При введении пробиотической добавки в рацион медоносных пчел уровень энтеробактерий и плесневых грибов в кишечном тракте пчелиных особей составил в среднем  $\sim 10^9$  и  $\sim 10^8$  КОЕ/г соответственно и был ниже по сравнению с контрольной группой. На наш взгляд, эффективность использования пробиотического препарата в составе канди обусловлена высокой антагонистической активностью бацилл в отношении патогенных и условно-патогенных бактерий и грибов.

Бактериологический анализ содержимого кишечного тракта пчел показал, что к концу эксперимента концентрация лакто- и бифидобактерий на фоне введения микробиологического препарата на основе *B. subtilis*, составила в среднем  $\sim 10^6$  и  $\sim 10^7$  КОЕ/г соответственно, что значительно превысило аналогичный показатель у пчелиных особей контрольной группы, получавших только углеводную подкормку ( $\sim 10^5$  и  $\sim 10^4$  КОЕ/г соответственно). Вероятно, что стимулирующее действие экспериментального бациллярного пробиотика на рост молочнокислых бактерий и бифидобактерий связано как с подавлением некоторых метаболических реакций в кишечном тракте насекомых, так и со снижением активности отдельных редуцирующих ферментов. Стафилококки в кишечном тракте пчелиных особей, получавших в составе сахарного сиропа пробиотический препарат, также не выделялись. Следует отметить, что и после подкормки пчелиных особей канди с пробиотиком в кишечном тракте пчел наиболее многочисленной группой микроорганизмов были энтеробактерии. По-видимому, преобладающее положение энтеробактерий связано с их функциями в кишечнике пчел, а именно с их высокой ферментативной активностью.

**Заключение.** Таким образом, введение в состав углеводной подкормки канди для медоносных пчел в зимовку экспериментальной

пробиотической добавки «Споробакт» обеспечивает более интенсивное формирование микробиоценоза кишечного тракта пчелиных особей в сторону снижения условно-патогенной микрофлоры и повышения лакто- и бифидобактерий.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Билаш, Н. Г. Селекция пчел / Г. Д. Билаш, Н. И. Кривцов. – М.: Агропромиздат, 1991. – 304 с.
2. Зайцев, И. А. Влияние пробиотиков апилайф, апиник и тканевого препарата тестим на рост силы пчелиных семей / И. А. Зайцев, А. Г. Маннапов // Пчеловодство холодного и умеренного климата: Материалы III Международной научно-практической конференции. – Псков 14-16 августа 2012. – М., 2012. – С. 58-60.
3. Лойко, И. М. Влияние пробиотических добавок на микробиоценоз кишечного тракта медоносных пчел / И. М. Лойко, А. Г. Щепеткова, Т. М. Скудная, Н. В. Халько, Е. Г. Смолей, Е. В. Болотник // Современные технологии сельскохозяйственного производства: сборник научных статей по материалам XXI международной научно-практической конференции. – Гродно, 2018. – С. 56-58.
4. Rada, V. Microflora in the honeybee digestive tract: counts, characteristics and sensitivity to veterinary drugs / V. Rada, M. Machova, J. Huk et al // Apidologie. – 1997. – V. 28. – P. 357-365.
5. Kacaniová, M. Microflora of the Honeybee Gastrointestinal Tract / M. Kacaniová, R. Chlebo, M. Kopernický, A. Trakovická // Folia Microbiol. -2004. – FOMIAZ 49 (2). – P. 169-171.

УДК 619:618.19-002:615.256.58:636.22/28

### **ВЕТЕРИНАРНО-САНИТАРНАЯ ОЦЕНКА МОЛОКА И ПРОДУКТОВ УБОЯ ПОСЛЕ ПРИМЕНЕНИЯ ПРОТИВОМАСТИТНОГО ПРЕПАРАТА «БЕЛМАСТ»**

**И. Т. Лучко**

УО «Гродненский государственный аграрный университет»

г. Гродно, Республика Беларусь

(Республика Беларусь, 230008, г. Гродно, ул. Терешковой, 28; e-mail: ggau@ggau.by)

***Ключевые слова:** мастит, молоко, мясо, качество продукции, Белмаст.*

***Аннотация.** При изучении физико-химических свойств и биологической ценности молока и мяса после применения противомаститного препарата «Белмаст» установлено, что он не оказывает отрицательного влияния на физико-химические и биологические свойства молока и мяса и безвреден для простейших организмов инфузорий Тетрахимена Пириформис. Остаточные количества диоксидина и хлоргексидина биглюконата регистрируются в молоке через 24 ч и в мясе через 48 ч после применения препарата, что дает возможность использования молока в пищу через 36 ч и мяса через 72 ч после последнего введения препарата.*