



- тирования нитрила, способ очистки полимера / Арм-тэйдж И. К. Хьюс Д., Вебстер Н. Э.
19. Pat. 6162624 US, Int.Cl C12 P007/40. Production of ammonium acrylate /Symes K. Ch., Hughes J.
20. Pat. 6361981 US, Int.Cl<sup>6</sup> C12 P007/62. Production of ammonium acrylate /Symes K. Ch., Hughes J.

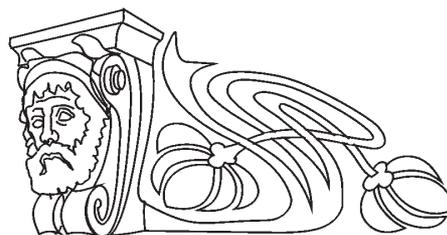
21. Пат. 2182928 RU, МПК<sup>7</sup> C12 P7/40, C12 R1:01. Способ получения водного раствора (мет)акриловой кислоты или ее соли / Саймс К. Ч., Хьюс Д.
22. Pat. 1-132392 JP, Int. Cl<sup>4</sup> C12p 7/40, C12 R1:05. Microbiological production of monocarboxylic acid / Kawakami K., Tanabe T., Inoue Sh.

УДК 636.087.7/8:636.5.084

## ВЛИЯНИЕ НОВОГО КОМБИНИРОВАННОГО СИНБИОТИЧЕСКОГО ПРЕПАРАТА НА МИКРОБОЦЕНОЗ КИШЕЧНИКА ЦЫПЛЯТ-БРОЙЛЕРОВ

Е. С. Красникова, В. В. Ситников, О. Н. Фомичева,  
А. А. Щербаков, А. В. Красников

Саратовский государственный аграрный университет  
E-mail: krasnikova\_es@mail.ru



Выяснено влияние разработанного авторами препарата-синбиотика на микроценоз кишечника цыплят-бройлеров. Показано, что препарат стимулирует развитие лактобацилл и энтерококков в толстом кишечнике. Определено, что применение препарата-синбиотика более эффективно, чем введение в рацион пробиотика и пребиотика в отдельности. Доказано, что синбиотик обладает антагонистическим действием против энтеропатогенных штаммов *Escherichia coli* 01 и *Salmonella pullorum* P, значительно облегчает течение сальмонеллеза и колибактериоза и может использоваться как вспомогательный элемент при лечении данной инфекции.

**Ключевые слова:** цыплята-бройлеры, препарат-синбиотик, пробиотики, пребиотики, *Salmonella pullorum*, *Escherichia coli*, *Lactobacillus acidophilus*, *Enterococcus faecium*, антагонизм.

### Influence of the New Combined Sinbiotic Preparation on Ntestinal Microbial of Chickens-Broilers

E. S. Krasnikova, V. V. Sitnikov, O. N. Fomicheva,  
A. A. Scherbakov, A. V. Krasnikov

Influence of the sinbiotik, developed by the authors, on ntestinal microbial of chickens-broilers is found out. It is shown that the preparation stimulates the development of lactobacilli and enterococci in the colon. It is determined that use of the synbiotics more effective than the introduction into the diet of probiotic and prebiotic separately. It is proved that synbiotics have antagonistic activity against enteropathogenic strains of *Escherichia coli* 01 and *Salmonella pullorum* P, much easier for salmonellosis and colibacillosis and can be used as a supporting element in the treatment of this infection.

**Key words:** chicken-broilers, synbiotics preparation, probiotics, prebiotics, *Salmonella pullorum*, *Escherichia coli*, *Lactobacillus acidophilus*, *Enterococcus faecium*, antagonism.

Существенная роль кишечной микрофлоры в процессе пищеварения и формирования гомеостаза является научно доказанным фактом. Поэтому препараты, содержащие представителей

нормальной микрофлоры кишечника (пробиотики), или вещества, стимулирующие развитие нормофлоры (пребиотики), широко применяются для профилактики и лечения многих болезней как в комплексе с препаратами других механизмов действия, так и отдельно [1, 2]

Часто причиной возникновения кишечных инфекций являются условно патогенные микроорганизмы (сальмонеллы, кампилобактеры, кишечные палочки и др.) [3]. Формированию нормального кишечного микроценоза способствуют пробиотические добавки и препараты, в состав которых входят живые бактерии из числа основных ее представителей, такие как лактобациллы и энтерококки. Кроме того, следствием деятельности нормальной микрофлоры кишечника является продукция всех витаминов группы В и витамина К, а также образование кислот, ингибирующих развитие гнилостных процессов [4, 5, 2].

Кроме пробиотиков одним из регуляторов пищеварительной системы являются пребиотики и среди них полисахариды, относящиеся к классу  $\beta$ -гликанов, веществ, не гидролизующих собственными пищеварительными ферментами организма и являющихся промоторами нормальной микрофлоры кишечника. Особого внимания заслуживает инулин, так как этот пребиотик в достаточном количестве содержится в клубнях и корнях растений (топинамбур, цикорий, чеснок и др.) и, следовательно, его получение не требует больших экономических затрат. Известно, что инулин влияет на обмен веществ, способствует усвоению витаминов и минералов в организме (особенно Ca, Mg, Zn, Cu, Fe и P), укрепляет иммунную систему организма [6, 7].



Немаловажную роль в повышении резистентности и поддержании гомеостаза играют микронутриенты, среди них такие элементы, как кальций и фосфор, а также жирорастворимые витамины А, Д и Е. Сбалансированное соотношение Са–Р–витамин D<sub>3</sub> способствует наиболее полному усвоению кальция, являющегося одним из основных микроэлементов, входящих в состав скелета, а также играющего роль в нервно-мышечной проводимости. Показано, что витамин А способствует росту и репродукции тканей и имеет важное значение для нормального функционирования кожи и слизистых оболочек, органов зрения и слуха. Витамин Е является мощным антиоксидантом [1, 2]. Пищевая добавка, фосфат калия (Е340), применяется в пищевой промышленности как регулятор кислотности, эмульгатор, стабилизатор, усиливающий действие антиоксидантов [2].

В то же время применение пробиотических препаратов, пребиотиков и микронутриентов в отдельности имеет определенные недостатки, связанные с неудобством их приема и сложностью усвоения. Для решения этой проблемы целесообразно применение поли-компонентных комбинированных препаратов-синбиотиков [2].

Целью нашего исследования явилось выяснение роли разработанного нами препарата-синбиотика на микробиоценоз кишечника, а также определение протективных свойств препарата при кишечных инфекциях.

#### Материалы и методы исследований

Предметом для исследования послужил разработанный нами комбинированный препарат синбиотического действия, содержащий закваску живых микроорганизмов *Lactobacillus acidophilus* ( $8 \times 10^7$  КОЕ/мл), *Enterococcus faecium* ( $4 \times 10^8$  КОЕ/мл), приготовленную на обезжиренном молоке, инулин, монокальцийфосфат, калий фосфорно-кислый, витамин Е, витамин D<sub>3</sub> и витамин А. Пробиотические штаммы *L. acidophilus*, *E. faecium* были выделены сотрудниками НИЛ «Геном» из фекалий клинически здоровых кур. В качестве питательной среды для выращивания пробиотических штаммов использовали молочную сыворотку, приготовленную по оригинальной технологии, разработанной В. В. Ситниковым [4]. На выделенные штаммы имеются паспорта, а на сам препарат – патент №2405629 (бюл. № 3 «Изобретение полезной модели» от 27.01.2011 г.).

Объектом исследования явились цыплята-бройлеры Михайловской птицефабрики Саратовского района в количестве 100 голов в возрасте 10 дней. Птица является удобной лабораторной моделью, что связано с высоким уровнем об-

менных процессов, а следовательно, быстротой получения и наглядностью результатов, а также с экономической целесообразностью и удобством содержания. Цыплята содержались с 10 до 30 сут в соответствующих зоогигиеническим требованиям условиях, со свободным доступом к воде и нормированным кормлением концентрированными кормами, предназначенными для данной возрастной группы птицы.

Для моделирования инфекции у цыплят использовались культуры *Salmonella pullorum* P и *Escherichia coli* 01 из музея кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии факультета ветеринарной медицины и биотехнологии ФГБОУ ВПО «Саратовский ГАУ».

Эксперименты проводились в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» (приложение к приказу Министерства здравоохранения СССР от 12.08.1977г. № 755).

#### Результаты и их обсуждение

Для установления влияния препарата на продуктивность цыплята были разделены на 3 группы. Цыплята-бройлеры группы А получали синбиотик, группы В – суспензию симбиотических штаммов и 1%-ный раствор инулина, а группы С – стандартный рацион. Препарат тщательно смешивали с кормом из расчета в суточной потребности цыплят-бройлеров в витаминах, микроэлементах в рационе в возрасте 10 сут – 150 мл/кг корма; 20 сут и более – 330 мл/кг корма. В возрасте 10, 12, 14, 21, 25 и 30 сут определяли количество лактобацилл и энтерококков в кишечнике цыплят путем высева фекалий в разведениях от  $1 \times 10^3$  до  $1 \times 10^7$  на лактобакагар и энтерококкагар.

На рис. 1, 2 приведены данные о динамике формирования нормального микробиоценоза кишечника цыплят-бройлеров под влиянием препарата-синбиотика.

Как показано, в опытных группах колонизация эпителия желудочно-кишечного тракта пробиотическими штаммами осуществлялась довольно интенсивно, и содержание *L. acidophilus* и *E. faecium* было выше, чем в микробиоценозе нормальной микрофлоры контрольной группы цыплят. В группе А, получавшей разработанный препарат, количество *L. acidophilus* к концу срока наблюдения составило  $9.6 \times 10^8$  КОЕ/г, что на порядок превышало показатели группы В ( $7.9 \times 10^7$ ) и на три порядка группы С ( $5.9 \times 10^5$ ). Количество *E. faecium* на момент окончания опыта в группе А составило  $9.1 \times 10^9$  КОЕ/г, что практически на порядок больше, чем в группе В ( $1 \times 10^9$ ) и на два порядка выше, чем в группе С ( $7.5 \times 10^7$ ).

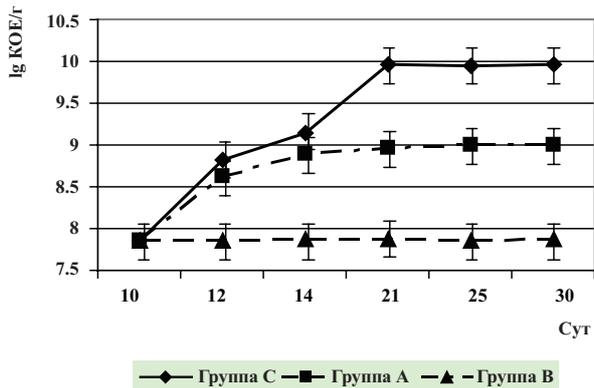


Рис. 1. Динамика изменения количества лактобацилл в кишечнике цыплят-бройлеров,  $p < 0.01$

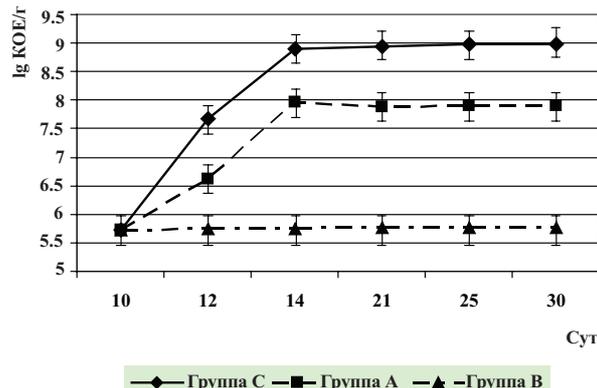


Рис. 2. Динамика изменения количества энтерококков в кишечнике цыплят-бройлеров,  $p < 0.01$

Для выяснения антагонистической активности препарата в отношении сальмонелл и энтеропатогенных кишечных палочек часть цыплят в каждой из групп были подвергнуты пероральному заражению культурами *S. pullorum* P или *E. coli* 01 в дозе  $1 \times 10^9$  КОЕ/мл, 2 мл на голову. Для лечения сальмонеллеза и колибактериоза препарат нормировали из расчета на 1 голову и задавали, смешивая с питьем, для цыплят в возрасте 10 сут – 3.5–4 мл; 21 сут, и более – 10–11 мл. В возрасте 12, 14, 21, 25 и 30-ти дней фециесы цыплят высевали

в разведениях от  $1 \times 10^1$  до  $1 \times 10^7$  на лактобаккагар, энтерококкагар, среду Эндо и ВСА. Биотипирование культур проводили с использованием тест-системы «ЭНТЕРОтест 24» производства ЗАО «Детстом-1» (Москва), а для серотипирования использовали сыворотки, приобретенные в ОАО «Биомед» (Московская область).

Состояние микробоценоза кишечника цыплят-бройлеров при сальмонеллеза и колибактериозе на фоне приема препарата-синбиотика и без него отражены на рис. 3–5.

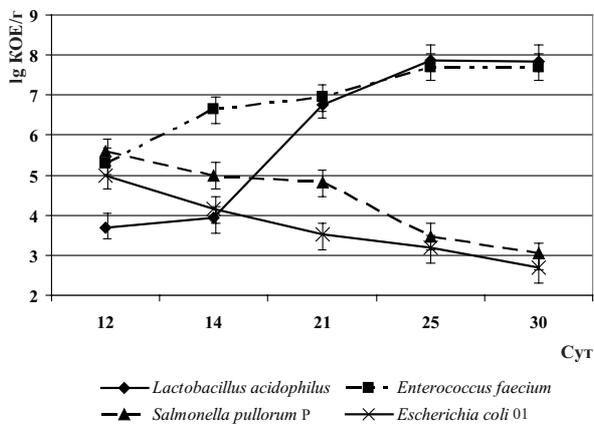


Рис. 3. Динамика восстановления микроценоза кишечника цыплят-бройлеров, получавших препарат-синбиотик,  $p < 0.01$

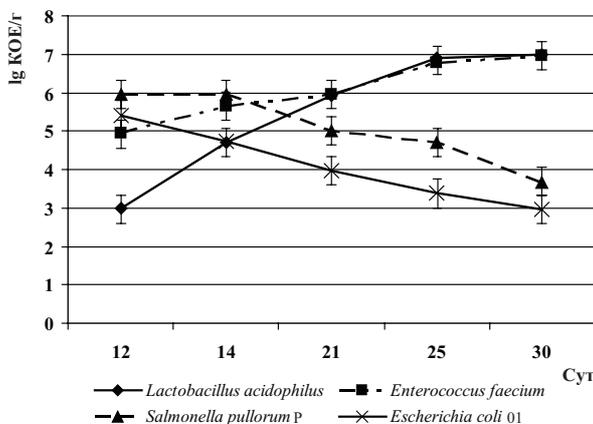


Рис. 4. Динамика восстановления микроценоза кишечника цыплят-бройлеров, получавших пробиотик и пребиотик,  $p < 0.01$

Видно, что динамика восстановления микроценоза кишечника цыплят при питье ими синбиотического препарата имеет положительную тенденцию при заражении их как сальмонеллами, так и кишечной палочкой. Если на начало опыта количество лактобактерий и энтерококков было резко снижено до  $5 \times 10^3$  и  $2 \times 10^5$  КОЕ/г соответственно, то к 30-ти сут их содержание в грамме фециес восстановилось до нормального уровня –  $7 \times 10^7$  и  $5.1 \times 10^7$  КОЕ соответственно. Тогда как количество условно-патогенных микроорганиз-

мов неуклонно снижалось: сальмонеллы с  $4 \times 10^5$  до  $1.1 \times 10^3$  КОЕ/г, а кишечной палочки с  $1 \times 10^5$  до  $5 \times 10^2$  КОЕ/г на конец опыта.

Как показано на рис. 4, положительная тенденция отмечалась также и при восстановлении микроценоза у цыплят, получавших пребиотический и пробиотический препараты. Количество лактобактерий и энтерококков у них увеличилось с  $1 \times 10^3$  и  $9 \times 10^4$  до  $1 \times 10^7$  и  $9 \times 10^6$  КОЕ/г соответственно на момент завершения опыта. Что касается содержания сальмонеллы и кишечной

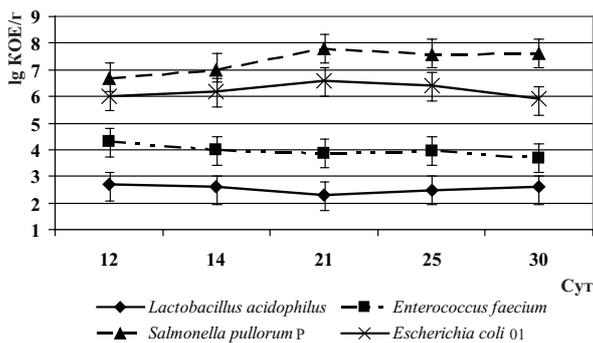


Рис. 5. Динамика восстановления микроценоза кишечника цыплят-бройлеров, находящихся на основном рационе,  $p < 0.01$

палочки, то их концентрация снизилась с  $8.7 \times 10^5$  и  $2.5 \times 10^5$  до  $4.5 \times 10^3$  и  $9 \times 10^2$  КОЕ/г соответственно.

Как показано на рис. 5, при экспериментальном течении сальмонеллеза и колибактериоза в группе С отмечалось прогрессирование инфекции на фоне заметного снижения количества высеваемых лактобактерий и энтерококков из содержимого кишечника. Если на начальном этапе инфицирования сальмонеллы и кишечные палочки высевались в количестве  $4.7 \times 10^6$  и  $1 \times 10^6$  КОЕ/г, то к концу срока наблюдения концентрация сальмонеллы возросла до  $4.1 \times 10^7$ , а кишечных палочек незначительно снизилась до  $8 \times 10^5$  КОЕ/г. При этом количество лактобацилл в течение срока наблюдения снизилось с  $5 \times 10^2$  до  $4 \times 10^2$ , энтерококков с  $2 \times 10^4$  до  $5 \times 10^3$  КОЕ/г. По нашему мнению, снижение количества лактобацилл и энтерококков связано с замещением нормальной микрофлоры условно-патогенными микроорганизмами. У цыплят при развитии сальмонеллезной инфекции отмечался цианоз слизистых и гребня, снижение аппетита, диарея, вялость и взъерошенность оперения. К концу наблюдения падеж в группе составил 30%.

В итоге из рис. 3–5 экспериментальное течение сальмонеллеза у цыплят характеризовалось прогрессированием инфекции в контрольной группе и тенденцией к выздоровлению в группах А и В. Количество сальмонелл в группе А на конец опыта было ниже, чем в группе В в 4 раза, в то время как в контрольной группе С их концентрация возросла более чем на порядок. При экспериментальном течении колибактериоза содержание энтеропатогенных кишечных палочек к концу срока наблюдения снижалось как в опытных, так и контрольной группах. Но тенденция к сокращению высеваемых энтеропатогенных эшерихий наиболее ярко проявилась в группе А. Так к концу срока наблюдения содержание *E. coli* у цыплят группы А было меньше, чем в группе В почти в 2 раза, а по сравнению

с контрольной, более чем на 3 порядка. При этом содержание ацидофильной палочки в группе А было выше в 7 раза, чем в группе В и на 5 порядков больше, чем в контрольной группе, а содержание *E. faecium* в группе А было выше, чем в группе В почти в 2 раза, а по сравнению с контрольной на 4 порядка.

Таким образом, проведенные исследования показали, что биологическое действие препарата основано на антагонистической активности пробиотических штаммов и стимулирующем воздействии инулина на нормальную микрофлору кишечника птицы. Препарат опосредованно влияет на резистентность организма птицы, так как витаминно-минеральный комплекс препарата стимулирует минеральный обмен, синтез липидов и белков, гемсодержащих ферментов, ингибирует окисление мембран клеток, дистрофию скелетной мускулатуры [9].

### Выводы

Синбиотический препарат стимулирует развитие лактобацилл, энтерококков и их колонизацию толстого кишечника.

Применение препарата-синбиотика более эффективно по сравнению с введением в рацион пробиотика и пребиотика в отдельности.

Синбиотик обладает антагонистическим действием против энтеропатогенных штаммов *E. coli*, *S. pullorum* и обеспечивает более быстрое восстановление кишечного микроценоза.

Препарат-синбиотик значительно облегчает течение сальмонеллеза и колибактериоза и может использоваться как вспомогательный элемент при лечении данной инфекции.

### Список литературы

1. Глушанова Н. А., Блинов А. И. О взаимоотношениях резидентной микрофлоры с микроорганизмами пищевых добавок и продуктов функционального питания // Федеральный и региональный аспекты государственной политики в области здорового питания : тез. междунар. симп. : в 2 т. Кемерово, 2002. Т. 2. С. 25–28.
2. Гусев В. С., Светоч Э. К., Глазков Н. И. Мониторинг возбудителей бактериальных инфекций // Птицеводство. 2003. № 2. С. 8–10.
3. Залашко М. В., Залашко Л. С. Микробный синтез на молочной сыворотке. Минск, 1976. 157 с.
4. Остроумов Л. А., Гаврилов Г. Б. Биохимические аспекты использования кормовой добавки «Лазет-Вита» в питании цыплят-бройлеров (Влияние пребиотической добавки с лактулозой на продуктивность и биохимию тканей) // Хранение и переработка сельхозсырья. 2007. № 8. С. 32.
5. Ситников В. В. Разработка пробиотической кормовой добавки на основе молочной сыворотки и ее приме-



- нение при выращивании цыплят-бройлеров : автореф. дис. ... канд. биол. наук. Саратов, 2004. 17 с.
6. Fuller R. Microbial activity in the alimentary tract of birds // The Proceedings of the Nutrition Society. 1984. Vol. 43, № 3. P. 55–60.
  7. Fuller R. Probiotics in man and animals. A review // J. Appl. Bacteriol. 1989. Vol. 8, № 5. P. 365–378.
  8. Fuller R., Gibson G.R. Probiotics and prebiotics: microflora management for improved gut health// Clin. Microbiol. Infect. 1998. Vol. 4, № 2. P. 477-480.
  9. Токарев В. С., Лисунова Л. И. Кормление сельскохозяйственных животных // Электронный учебник. 2007–2008 гг. URL: <http://www.kormbiti.narod.ru> (дата обращения: 10.01.2012).

УДК 504.06.(571.17)

## ВЛИЯНИЕ СТРЕССА НА МОРФОЛОГИЧЕСКУЮ ИНТЕГРАЦИЮ В РАЗВИТИИ ПРИЗНАКОВ *SALIX ALBA* L. (1753)

А. Ю. Кулагин, А. А. Мокин

Башкирский государственный педагогический университет им. М. Акмуллы, Уфа  
E-mail: coolagin@list.ru  
E-mail: alexmokin@mail.ru



В работе представлены результаты изучения биоиндикационного потенциала *S. alba* (L.), а именно проявление адаптационной изменчивости на морфологическом уровне под воздействием различных факторов стресса (загрязнение, увлажнение). В зависимости от условий произрастания выявлены различные онтогенетические стратегии (стрессово-защитная, защитная, стрессовая, защитно-стрессовая).

**Ключевые слова:** онтогенетическая стратегия, адаптация, *S. alba* (L.), стресс-фактор.

### The Effect of Stress on the Morphological Integration in the Development Signs of *Salix Alba* L. (1753)

A. Yu. Kulagin, A. A. Mokin

The results of the study bioindikatsionnogo building *S. alba* (L.), namely a manifestation of adaptive variation at the morphological level under various stress factors (dirt, moisture). Depending on growth conditions revealed a variety of ontogenetic strategies (stress-protective, protective, stress, stress-protective).

**Key words:** ontogenetic strategy, adaptation, *S. alba* (L.), stress factor.

С увеличением техногенной нагрузки на биосферу первостепенными становятся вопросы биологической индикации. Изменение стабильности развития является первой реакцией организма на любое стрессовое воздействие. Поэтому методы оценки здоровья среды, основанные на характеристике стабильности организма, выступают как системы раннего предупреждения, позволяющие выявлять даже начальные изменения в состоянии живых существ [1, 2].

Наиболее перспективным для этого видом в дендрофлоре средней полосы европейской части России является *S. alba* L., обладающий широкой экологической валентностью. Этими

обстоятельствами и обусловлен выбор объекта исследования. Произрастает *S. alba* как в пойменных местообитаниях, так и в местах с недостаточным увлажнением.

Немало работ [3, 4, 5, 6] посвящено изучению экологии и биологии *S. alba*. Однако вопросу влияния стресс-факторов на морфологическую интеграцию признаков уделяется недостаточно внимания.

Целью исследования было изучение морфологической интеграции *S. alba* (L.) в различных условиях, в том числе условиях сильного стресса.

*S. alba* имеет S стратегию жизни [7]. Элементы S стратегии у вида проявляются доминированием вида в условиях экологического оптимума.

Стратегия жизни понимается как комплекс эволюционно возникших адаптаций к изменениям абиотических и биотических условий. Как результирующий эволюционный эффект можно рассматривать возникновение различных типов эколого-фитоценотической стратегии (рудералы, экотопические, стресс-толеранты фитоценотические, конкуренты); возникновение различных типов онтогенетических стратегий (стрессовая, защитная, стрессово-защитная, защитно-стрессовая) [8].

Одним из направлений изучения механизмов адаптации растений к стрессу является выявление морфологических реакций на стресс-онтогенетической стратегии [9]. Методика основана на выявлении определённого типа морфологической реакции вида, оцениваемой по уровню морфологической интеграции растений ( $r^2$ ), на экоклин. Экоклин устанавливался по показателям виталитета растений (IVC) в выборках по размерному спектру особей [8, 9].