

**ФЕРМЕНТАТИВНАЯ АКТИВНОСТЬ МОЛОЧНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ,
ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ РЫБЫ И КРЕВЕТОК****Хидирова М.А.****Хушвақтов Э.М.****Маматраимова Ш.М.****Махсумханова М.А.****Миралимова Ш.М.**

Институт Микробиологии АНРУз город Ташкент, республика Узбекистан

<https://doi.org/10.5281/zenodo.7443158>

Аннотация. Из здоровых представителей объектов аквакультуры было выделено 32 изолята молочнокислых бактерий. Охарактеризована их ферментативная активность (амилаза, протеаза, липаза, желатиназа, каталаза, гемолиз) для оценки их безопасности и ценности в качестве кормовых добавок. В результате в нашем исследовании отобраны 31 наиболее безопасных штаммов лактобацилл из 32 штамма для дальнейших исследований.

Ключевые слова: аквакультура, молочнокислые бактерии, ферментативная активность, вирулентность, кормовые добавки.

ENZYMATIC ACTIVITY OF LACTIC BACTERIA ISOLATED FROM FISH AND SHRIMP

Abstract. From healthy representatives of aquaculture objects, 32 isolates of lactic acid bacteria were isolated. Their enzymatic activity (amylase, protease, lipase, gelatinase, catalase, hemolysis) has been characterized to assess their safety and value as feed additives. As a result, 31 of the safest strains of lactobacilli from 32 strains were selected in our study for further research.

Keywords: aquaculture, lactic acid bacteria, enzymatic activity, virulence, feed additives.

Введение

Пробиотики – бактериальные штаммы, которые являются непатогенными для живого организма и в частности для рыб (1) и при употреблении в адекватном количестве приносят пользу организму хозяина. После введения в организм они размножаются и заселяют кишечник рыб, тем самым способствуя поддержанию микробного баланса в организме хозяина (2). Существует несколько критериев для отбора подходящих пробиотических штаммов. Эти характеристики включают следующие: происхождение (из какого организма выделен), безопасность штамма, продукция антимикробных веществ, способность стимулировать иммунный ответ хозяина, конкурентное преимущество перед патогенами за адгезию (3).

Кроме того, пробиотики имеют благоприятное влияние на процессы пищеварения гидробионтов в связи с тем, что они синтезируют внеклеточные ферменты, такие как протеазы, амилазы, липазы и обеспечивают факторами роста, такими как витамины, жирные кислоты и аминокислоты (4). Поэтому, питательные вещества абсорбируются более эффективно, когда питание сопровождается пробиотиками (5). Амилазы и липазы, будучи основными ферментами, ассоциированными с углеводами и расщеплением жира, увеличивают перевариваемость питательных веществ и состояние здоровья (6).

Целью данной работы является характеристика лактобактерий по ферментативной активности для отбора безопасных и наиболее перспективных для использования в качестве кормовых добавок изолятов.

Материалы и методы

Из здоровых представителей объектов аквакультуры (рыб и креветок) было выделено 32 изолята молочнокислых бактерий. Было изучено их ферментативная активность относящиеся к факторам патогенности (*липаза, желатиназа, каталаза, гемолиз*) и ферментативная активность участвующие в обмене веществ (*амилаза, протеаза*). Каталазная, амилазная, липазная, протеазная активность было проведено согласно учебным пособием Егоров Н.С.(7) Желатиназная активность и тест на гемолизин было проведено с помощью МУК-4,2,26,02-10 (8)

Все выделенные штаммы хранятся в лаборатории «Микробиология и биотехнология пробиотиков» института Микробиологии АНРУз в замороженном состоянии при -80°C

Результаты и их обсуждение

Ферментативная активность изучалась у молочнокислых бактерий чтобы оценить их участие в улучшении разложения кормовых ингредиентов. Показано, что небольшое количество МКБ способны синтезировать амилолитические и протеолитические ферменты, однако жта активность обнаружена у некоторых из них. Так, *L. delbrueckii R1* проявил амилолитическую активность, , а *L.plantarum Kr2*, *L.plantarum Kr3*, *L.plantarum Kr4* – показали продукцию протеолитических ферментов. (Табл. 1, рис. 1).

Амилолитические молочнокислые бактерии (АМКБ) способны утилизировать крахмал в качестве единственного источника углеводов и могут превращать его в различные продукты, (в основном – в молочную кислоту) за один этап ферментации. Обычно АМКБ выделяются из ферментированных продуктов и напитков из маниоки, рыбных продуктов и риса, кукурузной закваски и ржаной закваски. АМКБ используются в течение многих лет для консервирования пищи, а также другую роль в производстве пищевых продуктов: они частично гидролизуют крахмал, облегчая перевариваемость продукта и используются для улучшения вкуса и запаха в более чем 90 видов ферментированных продуктов (9).

Лактобактерии не проявили гемолитическую и липазную активность, но *L.plantarum Kr2* проявил желатиназную активность а *L.plantarum Kr4* проявил и желатиназную и каталазную активность.

Таблица 1.

Ферментативная активность лактобактерий.

№	Молочнокислые Бактерии	Амилаза	Протеаза	Липаза	Желатиназа	Каталаза	Гемолиз
1	<i>L. delbrueckii R1</i>	+(26мм)	-	-	-	-	-
2	<i>L. delbrueckii R2</i>	-	-	-	-	-	-
3	<i>L. delbrueckii R3</i>	-	-	-	-	-	-
4	<i>L. delbrueckii R4</i>	-	-	-	-	-	-

5	<i>E. faecium R3</i>	-	-	-	-	-	-
6	<i>E. hirae R1</i>	-	-	-	-	-	-
7	<i>E. casse R1</i>	-	-	-	-	-	-
8	<i>E. faecium R2</i>	-	-	-	-	-	-
9	<i>E. casse R2</i>	-	-	-	-	-	-
10	<i>E. hirae R2</i>	-	-	-	-	-	-
11	<i>E. mundtii R</i>	-	-	-	-	-	-
12	<i>E. faecium R1</i>	-	-	-	-	-	-
13	<i>E. faecium K2</i>	-	-	-	-	-	-
14	<i>L. plantarum Kr1</i>	-	-	-	-	-	-
15	<i>L. plantarum Kr2</i>	-	+(6мм)	-	+	-	-
16	<i>L. plantarum Kr3</i>	-	+(6мм)	-	-	-	-
17	<i>L. plantarum Kr5</i>	-	-	-	-	-	-
18	<i>P. acidolactis B</i>	-	-	-	-	-	-
19	<i>P. acidolactis S</i>	-	-	-	-	-	-
20	<i>L. plantarum Kr4</i>	-	+(6мм)	-	+	+	-
21	<i>E. faecalis R8</i>	-	-	-	-	-	-
22	<i>L. brevis R1</i>	-	-	-	-	-	-
23	<i>W. cibaria R1</i>	-	-	-	-	-	-
24	<i>P. pentosacase</i>	-	-	-	-	-	-
25	<i>L. plantarum R1</i>	-	-	-	-	-	-
26	<i>L. plantarum R2</i>	-	-	-	-	-	-
27	<i>L. plantarum R3</i>	-	-	-	-	-	-
28	<i>L. plantarum R4</i>	-	-	-	-	-	-
29	<i>L. sakei R1</i>	-	-	-	-	-	-
30	<i>E. hirae R3</i>	-	-	-	-	-	-
31	<i>E. hirae R4</i>	-	-	-	-	-	-
32	<i>E. faecium R4</i>	-	-	-	-	-	-

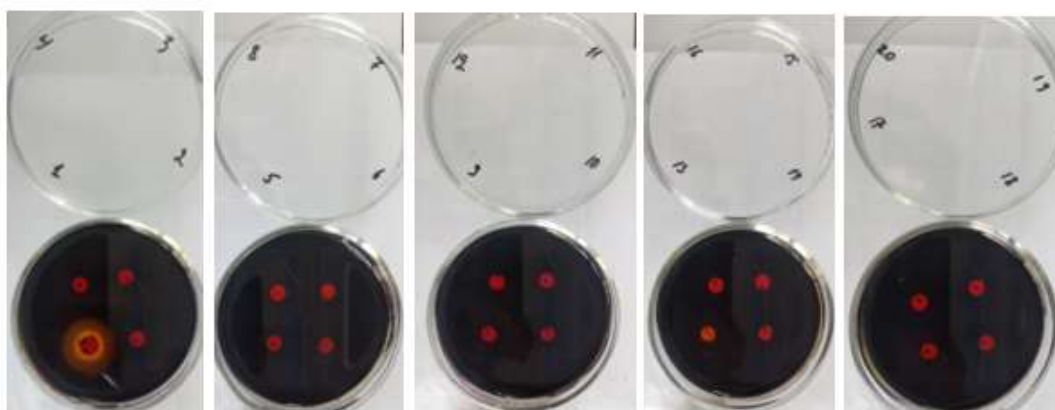


Рисунок 1. Продукция амилолитического фермента бактериями рода *Lactobacillus*

Вывод

Из здоровых представителей объектов аквакультуры было выделено 32 изолята молочнокислых бактерий. Охарактеризована их ферментативная активность (амилаза, протеаза, липаза, желатиназа, каталаза, гемолиз) для оценки их безопасности и ценности в качестве кормовых добавок. Они могут быть использованы для рыб и других культивируемых животных для профилактики заболеваний и обеспечения набор веса. Пробиотики можно добавлять к корму, либо добавлять непосредственно в воду. В результате в нашем исследовании отобраны 31 наиболее безопасных штаммов лактобацилл из 32 штамма для дальнейших исследований.

REFERENCES

1. Sharifuzzaman, S.M.; Rahman, H.; Austin, D.A.; Austin, B.// Properties of Probiotics *Kocuria SM1 and Rhodococcus SM2 Isolated from Fish Guts*// Probiotics and Antimicrobial Proteins 2018. DOI: 10.1007/s12602-017-9290-x
2. Mastan, A., Rane, D., Dastager, S.G. and Vivek Babu, C.S. (2019) Development of Low-Cost Plant Probiotic Formulations of Functional Endophytes for Sustainable Cultivation of *Coleus Forskohlii*. *Microbiological Research*, 227, 126310.
3. Ravinder Nagpal, Ashwani Kumar, Manoj Kumar, Pradip V. Behare, Shalini Jain, Hariom Yadav//Probiotics, their health benefits and applications for developing healthier foods: a review// *FEMS Microbiology Letters*, Volume 334, Issue 1, September 2012, Pages 1–15, <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2012.02593.x>
4. Balcázar JL, Blas ID, Ruiz-Z I, Cunningham D, Vendrell D, Múzquiz JL. The role of probiotics in aquaculture. *Veterinary Microbiology*.2006;114(3-4):173–186. PubMed Google Scholar.
5. El-Haroun, E.R., A.M.A.-S. Goda & M.A. Kabir Chowdury. 2006. Effect of dietary probiotic Biogen supplementation as a growth promoter on growth performance and feed utilization of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (L.). *Aquacult. Res.*, 37:1473-1480.
6. Lara-Flores, M. & G. Aguirre-Guzmán. 2009. The use of probiotic in fish and shrimp aquaculture. A review. In: N. Pérez-Guerra & L. Pastrana-Castro (eds.). *Probiotics: production, evaluation and uses in animal feed*. Research Signpost, Kerala, pp. 75-89.
7. Егоров Н.С. Руководство к практическим знаниям по микробиологии: Р 85 Учеб. пособие / 3-е изд., перераб. и доп. – М.: Изд-во МГУ, 1995. – 165-166 с.
8. МУК 4.2.2602-10 Система предрегистрационного доклинического изучения безопасности препаратов. Отбор, проверка и хранение производственных штаммов, используемых при производстве пробиотиков.
9. Blandino, A., et al. (2003) Cereal-Based Fermented Foods and Beverages. *Food Research International*, 36, 527-543. [https://doi.org/10.1016/S0963-9969\(03\)00009-7](https://doi.org/10.1016/S0963-9969(03)00009-7)