

ОГЛАВЛЕНИЕ

ПРЕДИСЛОВИЕ.....	9
ГЛАВА 1	
ТЕХНИКА ВЗЯТИЯ ПРОБ СОДЕРЖИМОГО РУБЦА У ЖВАЧНЫХ ЖИВОТНЫХ ДЛЯ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ТРАНСПОРТИРОВКА В ЛАБОРАТОРИЮ.....	11
ЛИТЕРАТУРА.....	13
ГЛАВА 2	
ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕТОДОВ IN VITRO ПРИ ИЗУЧЕНИИ СМЕШАННЫХ АССОЦИАЦИЙ МИКРООРГАНИЗМОВ РУБЦА ЖВАЧНЫХ.....	15
2.1. СИСТЕМА НЕПРЕРЫВНОЙ ФЕРМЕНТАЦИИ.....	16
2.2. ЗАМКНУТАЯ СИСТЕМА ФЕРМЕНТАЦИИ.....	18
2.3. ТЕХНИКА ПРОВЕДЕНИЯ ИССЛЕДОВАНИЙ МЕТОДОМ IN VITRO.....	18
2.3.1. Буферные растворы и питательные среды.....	19
2.3.2. Подготовка материала для исследований.....	22
2.3.3. Сосуды для ферментации и отбор проб.....	25
2.3.4. Создание анаэробноза и перемешивание инкубационной среды.....	26
2.3.5. Температура и продолжительность инкубации.....	27
2.3.6. Регулирование рН и прекращение ферментации.....	28
ЛИТЕРАТУРА.....	30

ГЛАВА 3

ПРОСТЕЙШИЕ РУБЦА И МЕТОДЫ ИХ ИЗУЧЕНИЯ.....	33
3.1. СТРОЕНИЕ И КЛАССИФИКАЦИЯ ПРОСТЕЙШИХ.....	33
3.1.1. Голотрихи рубца.....	35
3.1.2. Энтодиниоморфы рубца.....	36
3.1.2.1. Род <i>Entodinium</i>	36
3.1.2.2. Род <i>Diplodinium</i>	37
3.1.2.3. Род <i>Epidinium</i>	38
3.1.2.4. Род <i>Ophryoscolex</i> (Штейн, 1858).....	38
3.2. МЕТОДЫ ФИКСАЦИИ И ОКРАШИВАНИЯ ПРОСТЕЙШИХ ДЛЯ СВЕТОВОЙ МИКРОСКОПИИ.....	39
3.2.1. Фиксация формалином.....	39
3.2.2. Формализированный солевой раствор метилового зеленого.....	39
3.2.3. Формализированный солевой раствор трипанового синего.....	40
3.2.4. Железо-гематоксилиновое окрашивание по Гейденгайну (Heidenhein's).....	40
3.2.5. Импрегнация инфузорий серебром.....	42
3.2.6. Витальные методы окрашивания.....	43
3.3. ПОДСЧЕТ ПРОСТЕЙШИХ.....	44
3.4. ВЫДЕЛЕНИЕ ФРАКЦИЙ ИНFUЗОРИЙ ИЗ СОДЕРЖИМОГО РУБЦА.....	45
3.5. КУЛЬТИВИРОВАНИЕ ПРОСТЕЙШИХ.....	47
3.5.1. Метод культивирования смешанной популяции простейших по Имаи с соавт.....	48
3.5.2. Культивирование отдельных видов энтодиниоморфных инфузорий по Колеману.....	49
3.5.3. Культивирование <i>Dasytricha</i> по Кларку и Хангейту.....	52
3.5.4. Культивирование других видов простейших.....	53
ЛИТЕРАТУРА.....	55

ГЛАВА 4

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ МИКРОФЛОРЫ ПРЕДЖЕЛУДКОВ ЖВАЧНЫХ ЖИВОТНЫХ.....	57
4.1. МИКРОСКОПИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	57

4.1.1 Прямой микроскопический подсчет общего количества микроорганизмов.....	57
4.1.2. Приготовление электронномикроскопических препаратов микроорганизмов из содержимого рубца жвачных.....	60
4.2. ОБЩИЕ ПРИНЦИПЫ И КУЛЬТУРАЛЬНЫЕ МЕТОДЫ РАБОТЫ СО СТРОГО АНАЭРОБНЫМИ МИКРООРГАНИЗМАМИ РУБЦА ЖВАЧНЫХ.....	62
4.2.1. Газовые смеси и их очистка.....	63
4.2.2. Редуцирующие агенты.....	65
4.2.3. Контроль окислительно-восстановительного потенциала.....	66
4.2.4. Приготовление питательных сред и растворов.....	66
4.2.5. Приготовление разведений и посев методом ролл-тюб (roll tube culture).....	70
4.3. РЕЦЕПТЫ ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕД ДЛЯ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ РАЗЛИЧНЫХ БАКТЕРИЙ РУБЦА.....	71
4.3.1. Среды для лактобацилл.....	71
4.3.2. Среды для бифидобактерий.....	73
4.3.3. Среды для стрептококков.....	73
4.3.4. Среды для целлюлозолитических бактерий.....	74
4.3.5. Среды для метаногенных бактерий.....	75
4.3.6. Среды для <i>Vibrio succinogenes</i>	75
4.3.7. Среды для сульфатредуцирующих бактерий.....	76
4.3.8. Среды для <i>Megasphaera</i>	76
4.3.9. Среда для <i>Selenomonas</i>	77
4.3.10. Среда для <i>Anaerovibrio</i>	77
4.3.11. Среда для липолитических бактерий.....	77
4.3.12. Среда для <i>Veillonella</i>	78
4.3.13. Среда для <i>Lampropedia</i>	78
4.3.14. Среда для субкультивирования.....	78
4.4. ИССЛЕДОВАНИЕ ЦЕЛЛЮЛОЗОЛИТИЧЕСКИХ МИКРООРГАНИЗМОВ РУБЦА ЖВАЧНЫХ.....	79
4.4.1. Метод in vitro.....	79
4.4.2. Метод in vivo.....	81
4.4.3. Определение численности целлюлозолитических бактерий в содержимом рубца.....	83

4.4.4. Методы определения активности целлюлаз.....	84
4.4.4.1. Определение целлюлозолитической активности смешанной микрофлоры преджелудков по методу Хендерсона, Хорвата и Блока в модификации Чюрлиса.....	86
4.4.4.2. Определение целлюлазной активности по фильтровальной бумаге.....	88
4.4.4.3. Определение активности целлюлазного комплекса по аморфной целлюлозе или авицелу (авицелазная активность).....	90
4.4.4.4. Определение карбоксиметилцеллюлазной (КМЦ-азной) активности.....	91
4.4.4.5. Определение экзоглюкозидазной активности целлюлазного комплекса.....	92
4.4.5. Методы определения восстанавливающих сахаров.....	93
4.4.5.1. Определение сахаров по методу Сомоджи-Нельсона.....	94
4.4.5.2. Динитросалициловый метод определения сахаров.....	95
4.4.5.3. Феррицианидный метод определения сахаров.....	96
4.4.5.4. Фенолсерноокислый метод определения сахаров.....	96
4.4.6. Исследование анаэробных целлюлозолитических грибов пищеварительного тракта жвачных.....	97
4.4.6.1. Определение концентрации зооспор в содержимом рубца.....	97
4.4.6.2. Исследование колонизации субстратов анаэробными грибами <i>in situ</i>	98
4.4.6.3. Первичное выделение анаэробных целлюлозолитических грибов.....	98
4.4.6.4. Поддержание чистых культур анаэробных целлюлозолитических грибов в коллекции.....	101
4.5. ИЗУЧЕНИЕ АМИЛОЛИТИЧЕСКИХ БАКТЕРИЙ ПРЕДЖЕЛУДКОВ ЖВАЧНЫХ ЖИВОТНЫХ.....	102
4.5.1. Выделение и культивирование крахмалгидролизующих бактерий.....	103
4.5.2. Определение амилазной активности крахмалгидролизующих микроорганизмов фотометрическим методом.....	107

4.6. ВЫДЕЛЕНИЕ ЛИПОЛИТИЧЕСКИХ МИКРООРГАНИЗМОВ ИЗ РУБЦА ЖВАЧНЫХ ЖИВОТНЫХ.....	108
4.7. МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ФИЗИОЛОГО- БИОХИМИЧЕСКИХ СВОЙСТВ У ЧИСТЫХ КУЛЬТУР БАКТЕРИЙ РУБЦА.....	110
4.7.1. Образование кислот и газов из углеводов.....	111
4.7.2. Гидролиз эскулина.....	114
4.7.3. Гидролиз крахмала.....	115
4.7.4. Гидролиз гиппурата.....	115
4.7.5. Гидролиз желатины.....	115
4.7.6. Гидролиз казеина.....	116
4.7.7. Образование аммиака из аргинина.....	117
4.7.8. Образование сероводорода.....	118
4.7.9. Образование индола.....	119
4.7.10. Воздействие на лакмусовое молоко.....	121
4.7.11. Редукция нитратов и денитрификация.....	122
4.7.12. Исследование гемолитических свойств.....	125
4.7.13. Потребление цитрата.....	126
4.7.14. Потребность в формиате и фумарате.....	127
4.7.15. Определение образования каталазы.....	128
4.7.16. Определение коагулазы.....	129
4.7.17. Определение оксидазы.....	129
4.7.18. Определение липазы.....	130
4.7.19. Определение уреазы.....	132
4.7.20. Определение фосфатаз.....	134
4.7.21. Определение ацетилметилкарбинола.....	135
4.7.22. Толерантность к желчи.....	136
4.8. ХАРАКТЕРИСТИКА ОСНОВНЫХ АНАЭРОБНЫХ БАКТЕРИЙ РУБЦА ЖВАЧНЫХ.....	137
4.8.1. Целлюлозолитические микроорганизмы рубца жвачных.....	138
4.8.1.1. Род <i>Ruminococcus</i>	138
4.8.1.1.1. <i>Ruminococcus flavefaciens</i>	140
4.8.1.1.2. <i>Ruminococcus albus</i>	141
4.8.1.2. <i>Bacteroides (Fibrobacter) succinogenes</i>	142
4.8.1.3. Род <i>Butyrivibrio</i>	144

4.8.1.3.1. <i>Butyrivibrio fibrisolvens</i>	145
4.8.1.4. <i>Cillobacterium cellulosolvens</i> , <i>Eubacterium cellulosolvens</i>	146
4.8.1.5. Спорообразующие целлюлозолитические палочки.....	147
4.8.1.5.1. <i>Clostridium cellobioparum</i>	147
4.8.1.5.2. <i>Clostridium lochheadii</i>	148
4.8.1.5.3. <i>Clostridium longisporum</i>	150
4.8.2. Бактерии рубца, гидролизующие гемицеллюлозу и пектин.....	150
4.8.2.1. <i>Bacteroides rumenicola</i>	151
4.8.2.2. <i>Lachnospira multiparis</i>	153
4.8.3. Бактерии рубца, гидролизующие крахмал и декстрины.....	154
4.8.3.1. <i>Streptococcus bovis</i>	155
4.8.3.2. <i>Bacteroides amylophilus</i>	156
4.8.3.3. <i>Succinimonas amylolytica</i>	157
4.8.3.4. <i>Selenomonas ruminantium</i>	159
4.8.3.5. <i>Succinivibrio dextrinosolvens</i>	161
4.8.4. Бактерии рубца, использующие органические кислоты.....	162
4.8.4.1. <i>Selenomonas ruminantium subsp. lactilytica</i>	163
4.8.4.2. <i>Veillonella alcalescens</i>	163
4.8.4.3. <i>Megasphaera elsdenii</i>	164
4.8.4.4. <i>Vibrio succinogenes</i>	165
4.8.5. Метаногенные бактерии рубца жвачных.....	166
4.8.5.1. <i>Methanobacterium ruminantium</i>	167
4.8.5.2. <i>Methanobacterium mobile</i>	169
4.9. ОСОБЕННОСТИ ИССЛЕДОВАНИЯ МИКРОФЛОРЫ ПИЩЕВАРИТЕЛЬНОГО ТРАКТА МОНОГАСТРИЧНЫХ ЖИВОТНЫХ И ПТИЦЫ.....	170
ЛИТЕРАТУРА.....	173