

УДК 579.62:612.015.3

<https://doi.org/10.32634/0869-8155-2022-359-5-137-142>

исследования / research

**Попов В.С.,
Свазлян Г.А.,
Наумов Н.М.**

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Курский федеральный аграрный научный центр», г. Курск, Российская Федерация, 305021, ул. Карла Маркса, 70Б
E-mail: manukyang@yandex.ru

Ключевые слова: питательная среда, пробиотики, метабиотики, поросы, микробиоценоз, метаболизм

Для цитирования: Попов В. С., Свазлян Г.А., Наумов Н.М. Биологические аспекты культивирования и применения активных метаболитов пробиотика *B. subtilis*. Аграрная наука. 2022; 359 (5): 137–142.

<https://doi.org/10.32634/0869-8155-2022-359-5-137-142>

Авторы в равной степени принимали участие в написании рукописи, несут равную ответственность за плагиат и представленные данные.

Авторы объявили, что нет никаких конфликтов интересов.

**Victor S. Popov,
Gayane A. Svazlyan,
Nikolai M. Naumov**

*Federal Agricultural Kursk Research Center, 70B,
Karl Marx st., Kursk, 305021, Russian Federation*
E-mail: manukyang@yandex.ru

Key words: nutrient medium, probiotics, metabiotics, piglets, microbiocenosis, metabolism

For citation: Popov V.S., Svazlyan G.A., Naumov N.M. Biological aspects of cultivation and application of active metabolites of *B. subtilis* probiotic. Agrarian Science. 2022; 359 (5): 137–142. (In Russ.)

<https://doi.org/10.32634/0869-8155-2022-359-5-137-142>

The authors were equally involved in writing the manuscript and bear the equal responsibility for plagiarism and presented data.

The authors declare no conflict of interest.

Биологические аспекты культивирования и применения активных метаболитов пробиотика *B. subtilis*

РЕЗЮМЕ

Актуальность. В современных исследованиях тема метабиотиков рассматривается в качестве одного из актуальных направлений развития пробиотиков, в будущем — как новый класс метабиотиков. В статье приведены результаты исследований при культивировании пробиотического микроорганизма *B. subtilis* в зерновой питательной среде из овса голозерного, научно-практическое обоснование использования экспериментальной пробиотической супензии при формировании микробиоценоза и метаболизма желудочно-кишечного тракта у поросят раннего отъема.

Методы. Как основу питательных сред для получения метаболитов пробиотической культуры *Bacillus subtilis* использовали пророщенное и непророщенное зерно овса голозерного сорта Немчиновский из расчета 100 г измельченного сырья на 3 л воды. Массовая доля протеиногенных аминокислот в экспериментальных пробиотических супензиях (ЭПС) исследовалась методом капиллярного электрофореза. Научно-хозяйственный опыт проведен по методике А.И. Овсяникова, 1976.

Результаты. В питательных средах на основе овса (О, ОП) численность КОЕ пробиотических микроорганизмов имеет определенную вариабельность. Увеличение численности КОЕ *B. subtilis* продолжалось до 6-х суток, в образце ОП она достигала $5,8 \cdot 10^7$ КОЕ/см³, что на 15,5% выше, чем в образце на основе непророщенного овса, после чего наблюдался спад до 8-х суток в среде на основе ОП до $15,5 \cdot 10^6$ КОЕ/см³. При этом синтез аминокислот установлен выше по сравнению с контролем (пророщенное зерно): лизина — в пределах 7,85–10,53 г/л, метионина — 2,03–2,35 г/л, лейцина + изолейцина — в пределах 5,79–9,7 г/л. Показатели белкового обмена находятся в пределах физиологической нормы у поросят опытных групп. У поросят, получавших экспериментальную пробиотическую супензию, более выраженный антагонистический эффект при формировании микробиоценоза к условно-патогенным бактериям был проявлен при выпаивании культуры *B. subtilis*, выращенной на среде, основой которой служил овес пророщенный.

Biological aspects of cultivation and application of active metabolites of *B. subtilis* probiotic

ABSTRACT

Relevance. In modern research, the topic of metabiotics is considered as one of the current directions in the development of probiotics, in the future — as a new class of metabiotics. The article presents the results of studies during the cultivation of the probiotic microorganism *B. subtilis* in a grain nutrient medium from naked oats, and a scientific and practical substantiation of an experimental probiotic suspension during the formation of microbiocenosis and metabolism of the gastrointestinal tract in early weaning piglets.

Methods. As the basis of nutrient media for obtaining metabolites of the probiotic culture of *Bacillus subtilis*, sprouted and non-sprouted oat grains of the naked variety Nemchinovsky were used at the rate of 100 g of crushed raw material per 3 l of water. The mass fraction of proteinogenic amino acids in experimental probiotic suspensions (EPS) was studied by capillary electrophoresis. The scientific and economic experiment was carried out according to the method of A.I. Ovsvyanikov, 1976.

Results. In nutrient media based on oats (O, OP), the number of CFU of probiotic microorganisms has a certain variability. The increase in the abundance of *B. subtilis* CFU continued up to 6 days, in the OP sample it reached $5.8 \cdot 10^7$ CFU/cm³, after what it decreased until 8th day down to $15.5 \cdot 10^6$ CFU/cm³. At the same time, the synthesis of amino acids is higher compared to control (germinated grain): lysine — in the range of 7.85–10.53 g/l, methionine — 2.03–2.35 g/l, leucine + isoleucine — in the range 5.79–9.7 g/l. Indicators of protein metabolism are within the physiological norm in piglets of experimental groups. In piglets that received an experimental probiotic suspension, a more pronounced antagonistic effect, during the formation of microbiocenosis, was manifested to conditionally pathogenic bacteria if they were given *B. subtilis*, obtained on a medium based on sprouted oats.

Поступила: 21 апреля 2022
Принята к публикации: 20 мая 2022

Received: 21 April 2022
Accepted: 20 May 2022

Введение

Проблема снижения генетического потенциала продуктивности животных и сохранности молодняка приводит к поиску новых технологических и профилактических решений в области кормления и неспецифической профилактики организма животных. Высококонцентрированный тип кормления свиней, применяемый в настоящее время на свиноводческих комплексах, в условиях гиподинамии, особенно супоросных свиноматок, часто приводит к нарушению обмена веществ, что вызывает агалактию свиноматок и рождение низкорезистентного молодняка. Вместе с тем, достаточно большой арсенал импортных и отечественных антибиотиков, фармакологических средств и витаминных препаратов в ветеринарной медицине не ведет к снижению тенденции к заболеваемости животных [1]. Эти и другие факторы явились одной из причин возросшего в последние десятилетия интереса ученых к роли микроорганизмов, обитающих в организме животных и человека, в поддержании их здоровья и сохранения продуктивных качеств [2, 3, 4]. Пробиотическая концепция, зародившаяся на рубеже XX–XXI столетий и интенсивно развивающаяся современной наукой — микробной экологией человека и животных — способствовала появлению принципиально новых «микробных» лечебно-профилактических препаратов, получивших название «пробиотики».

Способ получения активных метаболитов пробиотиков базируется на использовании технологической схемы, которая включает в качестве основных стадий: процесс культивирования штаммов; стабилизацию бактериальной культуры; изготовление определенной формы препарата или биологически активной добавки. В пробиотическом производстве для накопления биомассы бактерий чаще всего используется глубинное культивирование, являющееся необходимой технологической стадией. Эффективность этого процесса зависит от качества питательной среды, маточной культуры и параметров режима культивирования, которые определяются техническим уровнем оборудования. Поскольку правильный подбор питательной среды в значительной степени определяет качество и успех эксперимента, исследования в данном направлении продолжаются [5, 6].

Следует отметить, что наряду с поиском более эффективных пробиотических микроорганизмов мы разрабатываем научное обоснование метаболитов как продолжение пробиотической концепции. При этом в наших исследованиях положение пробиотической концепции реализуется в изучении и применении метаболитов пробиотических микроорганизмов для разработки новых биологически активных добавок и способов их применения в животноводстве [7, 8, 9].

Метабиотики — это группа препаратов, которые содержат в себе активные метаболиты (продукты жизнедеятельности) пробиотических культур, среди которых можно назвать лизоцим, бактериоцины, каталазы, ферменты, органические и аминокислоты, полипептиды и другие соединения [10, 11]. Помимо биологически активного воздействия на макроорганизм, они в значительной степени оказывают влияние на антагонистическую активность продуцирующего пробиотика, тем самым создавая благоприятные условия для его жизнедеятельности и интеграции в микробиомное сообщество желудочно-кишечного тракта [12, 13].

Отмечается, что одним из проявлений взаимоотношений микроорганизмов в природе является их антагонизм, заключающийся в том, что при совместном развитии бактерии одного вида угнетают жизнедея-

тельность бактерий другого вида [14, 15, 16]. Данное свойство бактерий получило практическое применение в ветеринарии за счет их использования в качестве пробиотиков. Установлено, что широкое использование в ветеринарной и медицинской практике последних десятилетий различных пробиотических препаратов из живых лакто- и бифидобактерий привело к снижению их лечебного действия и подтолкнуло ученых к поиску новых, более эффективных микроорганизмов с пробиотическими свойствами.

Установлено, что *Bacillus subtilis* — пробиотический микроорганизм. Количество бацилл в кишечнике может достигать 10^7 КОЕ/г, что сравнимо с аналогичным показателем *Lactobacillus*. В связи с этим ряд исследователей рассматривают бактерии рода *Bacillus* как один из компонентов нормальной микрофлоры кишечника животных [17, 18].

Следует отметить отсутствие патогенности для поросят пробиотических штаммов *Bacillus subtilis* и их метаболитов, что позволяет считать их наиболее перспективными в качестве пробиотиков нового поколения [19, 20].

Таким образом, разработка пробиотической концепции метаболитных пробиотиков, научно-практическое обоснование возможности их использования в качестве биологически активных добавок с определением закономерностей изменения состава кишечного микробиоценоза поросят в отъемный период позволят выявить важное звено в патогенезе возникновения и развития гастроэнтеритов поросят. Разработка биологически активных добавок метаболитного типа, обогащенных клеточными компонентами бактерий-продуцентов, представляется актуальным направлением в области биотехнологии и кормления животных.

Цель исследований — определение количественного и качественного состава метаболитов у пробиотика — продуцента *B. subtilis* при культивировании на зерновой питательной среде из овса и изучение возможности применения метаболитов в качестве жидкой биологически активной добавки для коррекции метabolизма и микробиоценоза желудочно-кишечного тракта у поросят раннего отъема.

Для достижения поставленной цели решали следующие задачи:

- 1) обосновать возможность использования овса голозерного в качестве питательной среды для получения метаболитов при культивировании пробиотического микроорганизма *B. subtilis*, штамм DSM-32424;

- 2) изучить влияние экспериментальной пробиотической супензии на формирование метabolизма и микробиоценоза желудочно-кишечного тракта поросят.

Методика

Исследования выполнены в лаборатории ветеринарной медицины и биотехнологий Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Курский федеральный аграрный научный Центр» (ФГБНУ «Курский ФАНЦ»), г. Курск, Российская Федерация (РФ). Как основу питательных сред для получения метаболитов пробиотической культуры *Bacillus subtilis*, штамм DSM-32424, использовали пророщенное и непророщенное зерно овса голозерного сорта Немчиновский из расчета 100 г измельченного сырья на 3 л воды. Субстрат плавно нагревали от 25 до 90 °C в течение 6 часов, после чего давали остить естественным образом. Под контролем pH-метра доводили pH до 7,5 с помощью 20%-го водного раствора NaOH. Посев *B. subtilis* проводили предва-

рительно стандартизированной в лабораторных условиях культурой до $1 \cdot 10^6$ КОЕ/см³ из расчета 4 мл на литр подготовленной питательной среды.

Культивирование проводили в течение 14 дней в термостате «KBCG 100/250» при температуре 37 ± 1 °C, ежедневно отслеживали количество КОЕ *B. subtilis* в культуральной жидкости при применении микроскопа «Levenhuk 740T» с цифровой камерой «Levenhuk M1400 PLUS» и pH-метра «Kelinlong pH-013».

Массовая доля протеиногенных аминокислот в экспериментальных пробиотических супензиях (ЭПС) исследовалась методом капиллярного электрофореза по методикам в соответствии с ГОСТ Р 55569-2013, сырого протеина в г/л — по ГОСТ 32044.1-2012. Научно-хозяйственный опыт по изучению влияния экспериментальной пробиотической супензии на формирование метаболизма и микробиоценоза желудочно-кишечного тракта поросят проводили в условиях свинокомплекса ООО «Агроника» Курской области, при выращивании поросят-отъемышей до 75-суточного возраста. Было сформировано 3 группы поросят по 15 голов в возрасте 10 дней, первая группа получала ЭПС на основе овса пророщенного, вторая группа получала ЭПС на основе овса непророщенного, третья являлась контрольной. Экспериментальный образец биологически активной добавки выпаивали в количестве не менее $2 \cdot 10^9$ КОЕ/мл *Bacillus subtilis*, штамм DSM-32424. Анализ состава микрофлоры в среде *faecalis* проводили на 25-е сутки и 40-е сутки методом количественного группового анализа содержимого толстого отдела кишечника по общепринятым методикам [21].

Кровь исследовали в 25- и 40-суточном возрасте на биохимическом анализаторе «Automated Veterinary Hematology Analyzer PCE-90 VET». Статистическую обработку показателей проводили с применением методики вариационной статистики для «Microsoft Excel». Оценку значимости различий средних арифметических проводили с использованием *t*-критерия Стьюдента, различия считали статистически значимыми при $P \leq 0,05$.

Результаты

Культивирование пробиотического микроорганизма *B. subtilis*, штамм DSM-32424, в зерновой питательной среде на основе овса голозерного позволяет установить определенные особенности роста его численности. При определении метаболической активности пробиотического микроорганизма установлено, что максимальный показатель численности микроорганизма составил $58 \cdot 10^6$ КОЕ/см³ на 6-е сутки культивирования в среде из

Рис. 1. Динамика количества КОЕ при культивировании *B. subtilis* на зерновых питательных средах: ОП — овес пророщенный, О — овес непророщенный

Fig. 1. Dynamics of the number of CFU during the cultivation of *B. subtilis* on grain nutrient media: OP — sprouted oats, O — not sprouted oats



Таблица 1. Показатели аминокислотного состава пробиотической супензии

Table 1. Indicators of the amino acid composition of the probiotic suspension

Наименование показателей	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт
	Овес	Овес <i>B. subtilis</i>	Пророщенный овес	Пророщенный овес <i>B. subtilis</i>
Массовая доля сырого протеина, г/л	0,80±0,23	0,73±0,31	0,79±0,29	0,70±0,37
Аргинин	14,61±0,42	14,40±1,51	6,55±0,11	3,87±1,25*
Лизин	6,91±0,52	9,80±1,82*	5,18±0,25	7,67±1,97
Тирозин	10,31±1,11	12,00±0,90	6,71±1,12	8,93±1,87
Фенилаланин	8,70±0,91	9,12±0,73	4,38±1,35	5,60±1,21
Гистидин	5,09±1,32	4,30±1,91	3,45±1,21	2,49±1,37
Лейцин + изолейцин	24,94±0,90	25,19±0,32	19,04±0,91	15,49±0,51*
Метионин	3,65±1,71	5,81±1,91	3,78±1,25	3,46±1,37
Валин	11,65±0,75	12,68±0,81	13,40±0,70	8,72±1,29*
Пролин	19,27±0,17	22,37±0,32	22,34±0,93	19,97±0,30
Тreonонин	14,97±0,92	10,06±1,71*	15,59±0,24	7,89±1,33*
Серин	20,61±0,90	17,68±1,21*	19,81±0,81	10,83±0,17*
Аланин	15,13±0,51	20,50±1,41*	23,13±0,41	20,49±0,81
Глицин	10,32±0,54	18,20±1,61*	7,84±1,18	8,66±1,33

Примечание: * — при $P \leq 0,05$ достоверность различий показателей О и ОП к контролю на 14-й день эксперимента.

овса пророщенного. На 10–11-е сутки численность КОЕ стабилизировалась на уровне $28 \cdot 10^6$ КОЕ/см³ (рис. 1).

В средах на основе овса (О, ОП) численность КОЕ пробиотических микроорганизмов имеет определенную вариабельность. Увеличение численности КОЕ *B. subtilis* продолжалось до 6-х суток, в образце ОП он достигал $58 \cdot 10^6$ КОЕ/см³, что на 15,5% выше, чем в образце на основе непророщенного овса, после чего наблюдался спад до 8-х суток в среде на основе ОП до $15,5 \cdot 10^6$ КОЕ/см³. К 10-м суткам численность поднималась до $30 \cdot 10^6$ КОЕ/см³ и далее до конца эксперимента не опускалась ниже $28 \cdot 10^6$ КОЕ/см³. В среде на основе непророщенного овса спад продолжался до 9-х суток и достигал $9,5 \cdot 10^6$ КОЕ/см³. К 10-м суткам наблюдался подъем до $20 \cdot 10^6$ КОЕ/см³ и до конца эксперимента численность не опускалась ниже $12,5 \cdot 10^6$ КОЕ/см³.

Анализ количественных и качественных показателей метаболитов в виде протеиногенных аминокислот (таблица 1) позволяет характеризовать культуральную жидкость как биологически активную добавку.

Следует отметить, что снижение показателя сырого протеина возможно за счет ферментации зерновок овса при прорастании. Качественный и количественный состав пробиотической супензии отражает белковую полноценность супензии, обогащенную органическими кислотами. При этом синтез аминокислот имеет определенную вариабельность в опытных и контрольных образцах (таблица 1).

В образцах зерна овса не пророщенного с пробиотиком *B. subtilis* по сравнению с контролем, при практически равных показателях аргинина, фенилаланина, гистидина, лейцина + изолейцина и валина, установлено достоверное увеличение лизина, аланина и глицина на 41,8%, 35,5% и 76,4% соответственно и снижение серина и треонина до 32,8–14,2% соответственно. Вместе с тем в образцах с пророщенным зерном овса с *B. subtilis* по сравнению с контролем установлено достоверное уменьшение аргинина, лейцина + изолейцина, валина, треонина и серина в среднем на 37,8%, что связано с активностью биохимических процессов в зерновке овса для формирования ростков, что согласуется с общим содержанием протеина в образцах.

Экспериментальная пробиотическая супензия представляет собой биологически активную добавку, включающую КОЕ пробиотических микроорганизмов не менее $28 \cdot 10^6$ КОЕ/мл с содержанием сырого протеина в пределах 0,7–08 г/л, протеиногенными аминокислотами.

Известно, что поросы на ранних стадиях развития впадают в состояние физиологического иммунодефицита, в этой связи изучение метаболического статуса поросят в неонатальном периоде является особенно актуальным с точки зрения применения биологически активных добавок.

Следует отметить, что показатели белкового обмена находятся в пределах физиологической нормы у поросят опытных групп. Вместе с тем, содержание общего белка в первой опытной группе достоверно выше по отношению к контрольной (в пределах 7,9–7,2% соответственно периодам исследований), аналогичная тенденция установлена и по альбуминовой фракции (18,2–15,4%). При этом показатели мочевины не имеют достоверных различий по группам поросят. Показатели креатинина в опытных группах достоверно снижены по периодам исследований: в пределах 19,3–7,4% в первой опытной группе и 11,7–12,9% — во второй опытной группе по сравнению с контрольной. Относительно низкие показатели мочевины и креатинина дают основание предположить повышенную активность обмена белка, что подтверждается высоким уровнем активности АлАТ: 23,3–35,7% в первой опытной группе и 21,3–28,8% — во второй по сравнению с контрольной, и АсАТ — 51,4%–48,1% и 47,4–44,6%

соответственно. Вместе с тем показатели липидного и углеводного обмена находились в пределах физиологической нормы у поросят опытных и контрольной группы. Следует отметить, что применение биологически активной добавки наиболее существенное влияние оказало на формирование микробиоценоза желудочно-кишечного тракта поросят.

В опыте на поросятах-сосунках установлены фоновые показатели микробиоценоза желудочно-кишечного тракта на 10-е сутки жизни. Микробный фон в фекалиях был на 96% представлен бифидум- и лактобактериями в равном соотношении, в среднем $0,2 \cdot 10^8$ КОЕ/г, эшерихии занимали 1,87%, что составляло $0,27 \cdot 10^6$ КОЕ/г. В первой и второй группах на 25-е сутки отмечается рост численности *B. bifidum*. Во второй группе в фекалиях поросят количество бифидобактерий составляло $0,25 \cdot 10^9$ КОЕ/г, что выше на 8%, чем в первой группе, и на 89,2%, чем в контроле. Количество лактобактерий в фекалиях животных второй группы составляло $0,82 \cdot 10^8$ КОЕ/г, что на 14% выше, чем в первой группе, и на 36% выше, чем в контроле.

Необходимо отметить, что на 25-е сутки в фекалиях поросят всех трех групп обнаруживаются сальмонеллы, наибольшее количество ($0,11 \cdot 10^5$ КОЕ/г) регистрировали в контроле, а наименьшее — во второй группе ($0,2 \cdot 10^2$ КОЕ/г, что на 26% ниже, чем в первой).

У поросят на 40-е сутки (рис. 2) в первой и второй группах большую часть микроорганизмов составляли *B. bifidum* — 79% и 80,73%. Лактобактерии в фекалиях составляли: в первой группе — 20,4%, во второй — 18,83%. В контроле преобладали стафилококки, их количество достигает 44,28%, 38,38% занимают лактобактерии и лишь третьими в соотношении являются бифидобактерии (14,76%), следующим по массовости (1,47%) является протей и 1,1% суммарно занимают остальные виды микроорганизмов.

В исследованиях установлено, что более эффективно интегрировались в микробиом желудочно-кишечно-

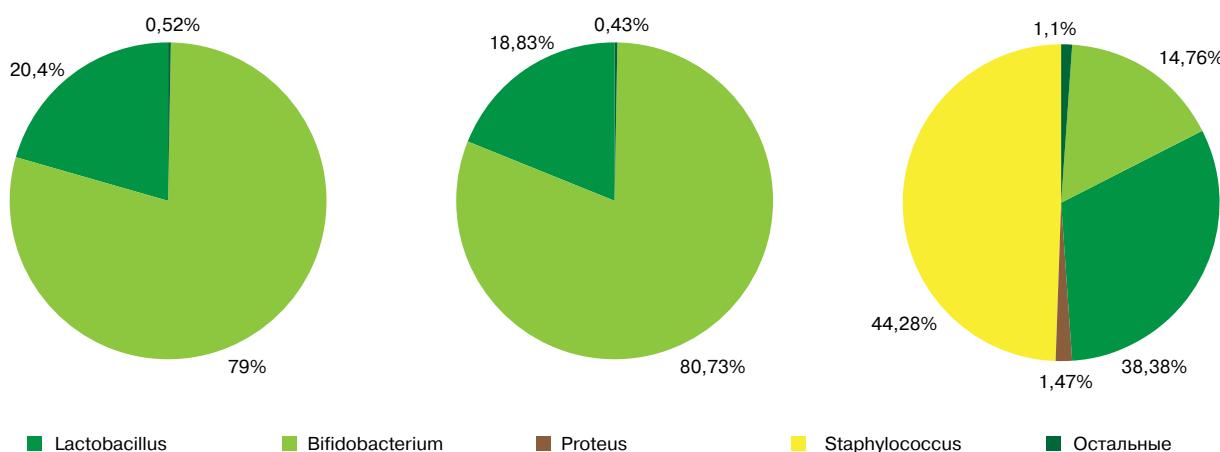
Таблица 2. Биохимические показатели крови поросят, $n = 15$

Table 2. Biochemical parameters of piglets blood, $n = 15$

Показатели	1-я группа (опыт), 25/40-е сут.	2-я группа (опыт), 25/40-е сут.	3-я группа (контроль), 25/40-е сут.
Общий белок, г/л	$59,49 \pm 0,57^*$ $57,84 \pm 1,21^*$	$57,82 \pm 0,41$ $56,21 \pm 0,31$	$55,14 \pm 0,01$ $53,97 \pm 0,11$
Альбумины, г/л	$41,27 \pm 0,34^*$ $39,05 \pm 0,21^*$	$40,85 \pm 0,31$ $39,42 \pm 0,27^*$	$34,91 \pm 0,54$ $33,85 \pm 0,12$
Мочевина, мМ/л	$2,83 \pm 0,42$ $3,81 \pm 0,60$	$3,29 \pm 0,32$ $4,21 \pm 0,23$	$4,17 \pm 1,01$ $4,73 \pm 0,78$
Креатинин, мкМ/л	$57,41 \pm 1,23^*$ $69,38 \pm 1,01^*$	$63,25 \pm 1,51^*$ $65,24 \pm 1,32^*$	$71,12 \pm 0,61$ $74,91 \pm 0,19$
Холестерин, мМ/л	$1,87 \pm 0,23$ $1,69 \pm 0,41$	$2,01 \pm 0,49$ $1,96 \pm 0,21$	$1,71 \pm 0,15$ $1,64 \pm 0,19$
Общие липиды, г/л	$3,24 \pm 0,23$ $2,91 \pm 0,41$	$3,01 \pm 0,61$ $2,89 \pm 0,17$	$2,75 \pm 0,34$ $2,62 \pm 0,22$
Триглицериды, мМ/л	$0,61 \pm 0,31$ $0,72 \pm 0,46$	$0,58 \pm 0,07$ $0,70 \pm 0,11$	$0,51 \pm 0,41$ $0,57 \pm 0,14$
Глюкоза, мМ/л	$5,83 \pm 0,42$ $5,89 \pm 0,35$	$5,79 \pm 0,24$ $5,86 \pm 0,74$	$5,71 \pm 0,47$ $6,19 \pm 0,34$
АлАТ, Е/л	$39,41 \pm 1,12^*$ $43,45 \pm 1,28^*$	$38,78 \pm 1,24^*$ $41,23 \pm 1,32^*$	$31,97 \pm 1,14$ $32,01 \pm 1,31$
АсАТ, Е/л	$57,01 \pm 1,14^*$ $59,07 \pm 1,41^*$	$55,49 \pm 1,05^*$ $57,68 \pm 1,25^*$	$37,65 \pm 0,71$ $39,89 \pm 1,12$

Примечание: * — достоверно по отношению к контрольной группе при $P \leq 0,05$.

Рис. 2. Процентное соотношение показателей микробиоценоза у поросят на 40-е сутки
Fig. 2. The percentage of indicators of microbiocenosis in piglets on the 40th day



го тракта поросят *B. bifidum* во второй группе, которой выпаивалась супензия пробиотических микроорганизмов, выращенная на среде из проросшего овса. Установлено, что количество бифидобактерий в фекалиях поросят в ней было на 13,9% больше, чем в первой. В контроле количество бифидобактерий было на 91,7% меньше, чем во второй группе, что подтверждает факт активного формирования микробиоценоза желудочно-кишечного тракта у поросят за счет активного заселения кишечника *B. bifidum*. При этом экспериментальная пробиотическая супензия на основе пробиотического микроорганизма *B. subtilis* способствует колонизации в кишечнике микробами нормальной микрофлоры.

Выводы

В исследованиях обоснована возможность использования овса голозерного в качестве питательной среды для получения метаболитов при культивировании пробиотического микроорганизма *B. subtilis*, штамм DSM-32424.

Экспериментальная пробиотическая супензия представляет собой биологически активную добавку, включающую КОЕ пробиотических микроорганизмов не менее $28 \cdot 10^6$ КОЕ/мл с содержанием сырого протеина в пределах 0,7–0,8 г/л. Качественный и количественный

состав пробиотической супензии отражает белковую полноценность супензии, обогащенной органическими кислотами.

При определении метаболической активности пробиотического микроорганизма установлено, что максимальный показатель численности микроорганизма составил $58 \cdot 10^6$ КОЕ/см³ на 6-е сутки культивирования в среде из овса пророщенного. На 10–11-е сутки численность КОЕ стабилизировалась на уровне $28 \cdot 10^6$ КОЕ/см³.

Установлено влияние экспериментальной пробиотической супензии на формирование микробиоценоза желудочно-кишечного тракта поросят. Содержание общего белка сыворотки крови в первой опытной группе достоверно выше по отношению к контрольной (в пределах 7, 9–7,2% соответственно периодам исследований), аналогичная тенденция установлена и по альбуминовой фракции (в пределах 18,2–15,4%).

У поросят, получавших экспериментальную пробиотическую супензию, содержание *B. bifidum* в фекалиях существенно выше, чем в контроле, микробиом был в основном представлен бифидум- и лактобактериями, другая микрофлора составляла менее 1%. Более выраженный антагонистический эффект был проявлен *B. subtilis* на среде, основой которой служил овес пророщенный.

ЛИТЕРАТУРА

- Магомедалиев И. М., Некрасов Р. В., Чабаев М. Г., Джавахия В. В., Глаголова Е. В., Карташов М. И. Влияние пробиотического комплекса на продуктивные качества и обменные процессы у растущего откармливаемого молодняка свиней // Аграрная наука. 2020; 1:22–26.
- Ардатская М. Д., Столярова Л. Г., Архипова Е. В., Филимонова О. Ю. Метабиотики как естественное развитие пробиотической концепции Трудный пациент. 2017. 6–7(15): 35–39.
- Несчисляев В. А., Мокин, П. А., Федорова Т. В. К вопросу разработки высокоэффективных метаболитных пробиотиков. Актуальные направления научных исследований: от теории к практике. 2016; 2(8): 15–17.
- Aarti Singh, Vishakha Vishwakarma, Barkha Singhal Metabiotics: The Functional Metabolic Signatures of Probiotics: Current State-of-Art and Future Research Priorities – Metabiotics: Probiotics Effector Molecules. Advances in Bioscience and Biotechnology, 2018; 9:147–189.
- Питайкина А. О., Яценко Е. С., Ильина Е. Г., Ширманов М. В., Евдакимов И.Ю. Питательная среда для культивирования *Bacillus subtilis* ВКПМ В-12079. RU 2680702 патентообладатель Алтайский государственный университет. 2019.
- Ширшиков Н.В., Редикульцев Ю.В., Музрафов Е.Н., Гаврилов А.Б., Шевелев Д.А. Культивирование *bacillus subtilis* в структуре безотходной технологии получения пробиотического препарата ветеринарного назначения. Известия Тульского государственного университета. Естественные науки. 2016; 1: 99–107.
- Плотникова Е.Ю. Эффекты активных метаболитов *Bacillus subtilis* в пробиотическом продукте нового поколения. РМЖ. Медицинское обозрение. 2018; 3; 39–44.
- Hansen Ch. Focusing on early life piglet performance is critical for success. International Pig Topics. 2018;33(2): 6–7.
- Федорова, О.В., Назмиева А.И., Нурутдинова Э.И., Валеева Р.Т. Пробиотические препараты на основе микроорганизмов рода *bacillus*. Вестник Технологического университета. 2016; 15(19): 170-174.
- Sánchez B., Delgado S., Blanco-Míquez A., Lourenço A., Guimond M., Margolles A. Probiotics, gut microbiota, and their influence on host health and disease. Mol. Nutr. Food Res. 2017; 61(1): 23–27
- Fisinin V. I., Artem'eva E. A., Chebotarev I. I., Laptev G. Yu, Nikonov I. N., Il'ina L. A., Mashentseva N. G., Savinov A. V., Klabikova D. L., Yildirim E. A., Novikova N. I. Dietary probiotic *Lactobacillus plantarum* L-211 for farm animals. II. The additive for piglets. Sel'skokhozyaistvennaya biologiya. 2017; 52, (2): 418–424.

12. Ушакова Н. А., Некрасов Р. В., Правдин И. В., Сверчкова Н. В., Коломеиц Э. И., Павлов Д. С. Механизмы влияния пробиотиков на симбионтное пищеварение. Известия Российской академии наук. Серия биологическая. 2015; 5: 468–476.
13. Lebeer S., Bron P. A., Marco M. L., Van Pijkeren J.-P., O'Connell Motherway M., Hill C., Pot B., Roos S., Klaenhammer T. Identification of probiotic effector molecules: present state and future perspectives. Current Opinion in Biotechnology. 2018; 49: 217 – 223.
14. Русалеев В.С., Прунтова О.В., Васильева Д.А. Культурально-морфологические и биохимические свойства штаммов *Bacillus subtilis*. Ветеринария сегодня. 2019; 1 (28): 58–62.
15. Patel R., Dupont H. L. New approaches to bacteriotherapy: Prebiotics, probiotics of the new generation and synbiotics. Klin. Infect. Dis. 2015; 60(2): P. 108–121.
16. Bai K., Huang Q., He J., Zhang L., Wang T. Supplemental effects of the probiotic *Bacillus subtilis* fmbJ on the growth performance, antioxidant capacity, and meat quality of broiler chickens. Poultry Science. 2017; 96 (1): 74–82.

REFERENCES

1. Magomedaliev I. M., Nekrasov R. V., Chabaev M. G., Dzhavakhia V. V., Glagoleva E. V., Kartashov M. I. Influence of the probiotic complex on productive qualities and metabolic processes in growing fattened young animals pigs Agricultural science. 2020; 1:22–26. (In Russ.)
2. Ardatskaya M. D., Stolyarova L. G., Arkhipova E. V., Filimonova O. Yu. Metabiomics as a natural development of the probiotic concept Difficult patient. 2017. 6–7(15): 35–39 (In Russ.).
3. Neschislyayev V.A., Mokin, P.A., Fedorova T.V. On the development of highly effective metabolite probiotics. Actual directions of scientific research: from theory to practice. 2016; 2(8): 15–17. (In Russ.).
4. Aarti Singh, Vishakha Vishwakarma, Barkha Singhal Metabiomics: The Functional Metabolic Signatures of Probiotics: Current State-of-Art and Future Research Priorities – Metabiomics: Probiotics Effector Molecules. Advances in Bioscience and Biotechnology, 2018; 9:147–189.
5. Pitaikina A. O., Yatsenko E. S., Ilyina E. G., Shirmanov M. V., Evdakov I. Yu. Nutrient medium for cultivation of *Bacillus subtilis* VKPM V-12079. RU 2680702 Patent holder Altai State University. 2019. (In Russ.).
6. Shirshikov N.V., Redikultsev Yu.V., Muzaferov E.N., Gavrilov A.B., Shevelev D.A. Cultivation of *bacillus subtilis* in the structure of a waste-free technology for obtaining a probiotic preparation for veterinary purposes. News of the Tula State University. Natural Sciences. 2016; 1:99–107 (In Russ.).
7. Plotnikova E.Yu. Effects of active metabolites of *Bacillus subtilis* in a new generation probiotic product. breast cancer. Medical review. 2018; 3; 39–44. (In Russ.).
8. Hansen Ch. Focusing on early life piglet performance is critical for success. International Pig Topics. 2018;33(2): 6–7.
9. Fedorova O.V., Nazmieva A.I., Nuretdinova E.I., Valeeva R.T. Probiotic preparations based on microorganisms of the genus *bacillus*. Bulletin of the Technological University. 2016; 15(19): 170–174. (In Russ.).
10. Sánchez B., Delgado S., Blanco-Míquez A., Lourenço A., Guimond M., Margolles A. Probiotics, gut microbiota, and their influence on host health and disease. Mol. Nutr. Food Res. 2017; 61(1): 23–27
11. Fisinin V.I., Artem'eva E.A., Chebotarev I.I., Laptev G. Yu, Nikonorov I. N., Il'ina L. A., Mashentseva N. G., Savinov A. V., Klabukova D. L., Yildirim E. A., Novikova N. I. Dietary probiotic *Lactobacillus plantarum* L-211 for farm animals. II. The additive for piglets. Sel'skokhozyaistvennaya biologiya. 2017; 52, (2): 418–424.
12. Ushakova N. A., Nekrasov R. V., Pravdin I. V., Sverchkova N. V., Kolomeits E. I., Pavlov D. S. Mechanisms of the effect of probiotics on symbiotic digestion. News of the Russian Academy of Sciences. Biological series. 2015; 5:468–476. (In Russ.).
13. Lebeer S., Bron P. A., Marco M. L., Van Pijkeren J.-P., O'Connell Motherway M., Hill C., Pot B., Roos S., Klaenhammer T. Identification of probiotic effector molecules: present state and future perspectives. Current Opinion in Biotechnology. 2018; 49: 217 – 223.
14. Rusaleev V.S., Pruntova O.V., Vasil'eva D.A. Cultural-morphological and biochemical properties of *Bacillus subtilis* strains. Veterinary today. 2019;1(28):58–62. (In Russ.).
15. Patel R., Dupont H. L. New approaches to bacteriotherapy: Prebiotics, probiotics of the new generation and synbiotics. Klin. Infect. Dis. 2015; 60(2): P. 108–121.
16. Bai K., Huang Q., He J., Zhang L., Wang T. Supplemental effects of the probiotic *Bacillus subtilis* fmbJ on the growth performance, antioxidant capacity, and meat quality of broiler chickens. Poultry Science. 2017; 96 (1): 74–82.
17. Roselli M., Pieper R., Rogel-Gaillard C., Vries H., Bailey M., Smidt H., Lauridsen C. Immunomodulating effects of probiotics for microbiota modulation, gut health and disease resistance in pigs. Animal Feed Science and Technology. 2017; 233: 104–119.
18. Стрекаловских А.В., Белоусов А.И. Научное обоснование применения пробиотиков и метабиотиков для профилактики желудочно-кишечных заболеваний. Молодежь и наука. 2018; 3: 30.
19. Nguyen H-T., Truong D-H., Kouhonde S., Ly S., Razafindralambo H., Delvigne F. Biochemical engineering approaches for increasing viability and functionality of probiotic bacteria. Int J Mol Sci. 2016; 17(6):867.
20. Lin L., Zhang J. Role of intestinal microbiota and metabolites on gut homeostasis and human diseases BMC Immunol 2017; 18(2): 2-25
21. Кондрахина И.П., Архипова А.В., Левченко В.И., Талангов Г.А., Новиков В.Э. Методы ветеринарной клинической лабораторной диагностики - справочник М.: «КолосС». 2004.520с.

ОБ АВТОРАХ:

Попов Виктор Сергеевич, доктор ветеринарных наук, ведущий научный сотрудник, заведующий лабораторией ветеринарной медицины и биотехнологий Курского федерального аграрного научного центра
ORCID: 0000-0003-3404-1591

Свазлян Гаяне Агасовна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории ветеринарной медицины и биотехнологий Курского федерального аграрного научного центра
ORCID: 0000-0001-9119-1217

Наумов Николай Михайлович, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории ветеринарной медицины и биотехнологий Курского федерального аграрного научного центра
ORCID: 0000-0002-2149-4711

ABOUT THE AUTHORS:

Popov Viktor Sergeevich, Doctor of Veterinary Sciences, Leading Researcher, Head of the Laboratory of Veterinary Medicine and Biotechnology of the Federal Agricultural Kursk Research Center ORCID: 0000-0003-3404-1591

Svazlyan Gayane Agasovna, Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher of the Laboratory of Veterinary Medicine and Biotechnology of the Federal Agricultural Kursk Research Center ORCID: 0000-0001-9119-1217

Naumov Nikolai Mihailovich, Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher of the Laboratory of Veterinary Medicine and Biotechnology of the Federal Agricultural Kursk Research Center ORCID: 0000-0002-2149-4711