

С. Сейфуллиннің 125 жылдығына арналған «Сейфуллин окулары – 15: Жастар, ғылым, технологиялар: жаңа идеялар мен перспективалар» атты халықаралық ғылыми-теориялық конференциясының материалдары = Материалы Международной научно-теоретической конференции «Сейфуллинские чтения – 15: Молодежь, наука, технологии - новые идеи и перспективы», приуроченной к 125 летию С. Сейфуллина. - 2019. - Т.І, Ч.1 - С.116-119

АНАЛИЗ МИКРООРГАНИЗМОВ РОДА *BACILLUS*, ВХОДЯЩИХ В СОСТАВ ПРОБИОТИЧЕСКОГО ПРЕПАРАТА «СУБТИЛИС-С»

*Жамантаев Р. М., Байлина Г. Е.,
Кухар Е. В.*

Одним из вариантов повышения использования питательных веществ в рационах, может быть применение пробиотических микроорганизмов, не оказывающих отрицательного воздействия на микрофлору кишечника и не вызывающих аллергических реакций у животных и человека. Хотя большинство бактерий, обладающих пробиотическими свойствами, являются представителями семейств *Lactobacillus* и *Bifidobacterium*, все чаще в таком качестве стали использоваться и спорообразующие бактерии, в особенности из рода *Bacillus*.

Вариантом повышения питательности кормов и нормализации обменных процессов у животных могут быть препараты, изготовленные на основе гуматов. Они содержат органические и аминокислоты, полисахариды, углеводы, витамины, макро- и микроэлементы, гормоноподобные вещества. Примечательно, что использование гуминовых препаратов способствует улучшению сохранности молодняка животных. При этом различные препараты обладают разной степени выраженным действием. Кроме того, их эффективность зависит от вида, возраста и физиологического состояния животных [1].

Нередко разрабатываются комплексные препараты с введением в состав эффективных микроорганизмов и биологически активных веществ. Изучается эффективность использования различных стимуляторов роста животных, в том числе ферментных препаратов, пробиотиков и гуматов, предназначенных для продуктивного действия комбикормов с высоким содержанием ячменя, овса, подсолнечного жмыха и пшеничных отрубей и повышения резистентности организма животных.

Сообщается о совместном производстве γ -аминомасляной кислоты и живых пробиотиков. Шесть пробиотических бактерий, которые вошли в состав препарата, были подвергнуты скринингу, и *Bacillus subtilis* ATCC 6051 показал самую высокую продуцирующую способность [2].

Пробиотики на основе штаммов бацилл все чаще предлагаются для профилактического и терапевтического применения против ряда желудочно-кишечных заболеваний. Было изучена безопасность штаммов *Bacillus subtilis* и *Bacillus licheniformis*. Исследования хронической токсичности

проводились на мышах, кроликах и свиньях и не выявили признаков токсичности или гистологических изменений ни в органах, ни в тканях. Показано, что для штамма *B.licheniformis* могут существовать определенные риски с учетом устойчивости к антибиотикам, а штамм *B.subtilis* можно рассматривать как непатогенный и безопасный штамм [3].

В этой связи актуальными являются исследования по изучению эффективности использования различных стимуляторов роста животных, в том числе ферментных препаратов, пробиотиков и гуматов.

Перед нами была поставлена задача разработать пробиотический препарат для лечения и профилактики нарушений желудочно-кишечного тракта на основе отечественных штаммов с использованием в качестве стимулятора роста животных отечественного гумата калия.

Целью первого этапа нашей работы является анализ пробиотических микроорганизмов с высокой антагонистической активностью, выделенных из пробиотического препарата «Субтилис-С», и адаптация их к росту на питательных средах в присутствии гумата калия.

Исследования проводились в лаборатории биотехнологии микроорганизмов КазАТУ им. С. Сейфуллина. В качестве исходного материала были использованы штаммы микроорганизмов рода *Bacillus*, выделенные из пробиотического препарата, и гумат калия, любезно предоставленный сотрудниками лаборатории ТОО «Институт химии угля и технологий» РК.

Первоначально была проведена работа по выделению и идентификации микроорганизмов рода *Bacillus*, выделенных из пробиотического препарата (рисунок 1).



а



б

Рисунок 1. Выделение культуры: а – посев культуры методом разведения; б – микроскопия культуры

Из рисунка 1 видно, что форма колоний округлая, d- 2-3мм, гладкая, выпуклая, серо-белого цвета, структура однородная, консистенция мягкая, слегка слизистая. Бациллы грамположительные, представлены крупными палочками, расположение спор – центральное.

Генетическая идентификация микроорганизмов, входящих в состав пробиотического препарата, методом сиквенс-типирования по Сэнгеру показала следующее (таблица 1):

Таблица 1 – Результаты генетической идентификации образцов ДНК из пробиотического препарата «Субтилис-С»

№	Description	Accession	Per.ident
1	<i>Bacillus sp.</i> Anaero2 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	JX537793.1	82.86%
2	<i>Bacillus amuloliquefaciens</i> strain OM46 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	MG458980.1	82.91%
3	<i>Bacillus subtilis</i> strain CYBS-7 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	JQ361056.1	82.91%

Как видно из таблицы ..., в состав препарата «Субтилис-С» входит консорциум микроорганизмов рода *Bacillus*.

Таким образом, в результате исследований было идентифицированы штаммы микроорганизмов, которые содержатся в пробиотическом препарате «Субтилис-С».

На следующем этапе проведен анализ роста пробиотических микроорганизмов в присутствии гумата калия. Для этого нами было приготовлен градиент концентрации гумата калия от 1% до 100%.

Для получения равномерного распределения концентрации гумата калия нижняя половина чашки было заполнена 100% гуматом калия, а верхняя половина – питательной средой MRS.

Характер роста пробиотических микроорганизмов в градиенте гумата калия представлен на рисунке 2.

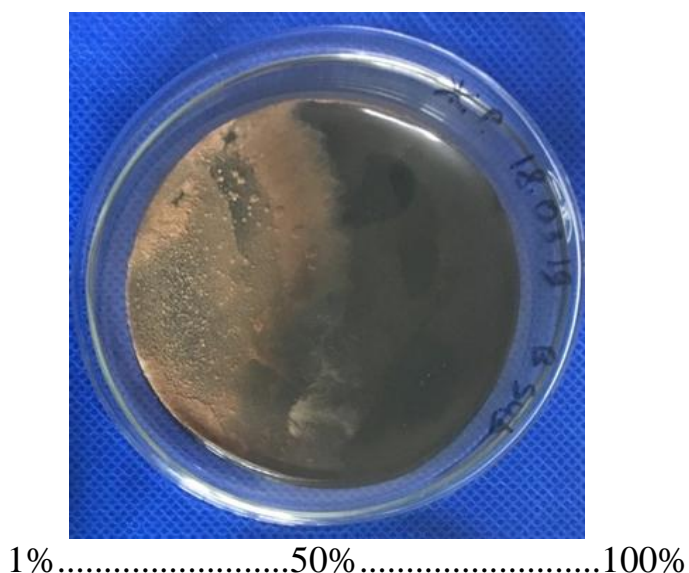


Рисунок 2. Рост пробиотических микроорганизмов в присутствии гумата калия

Как видно из рисунка 2, пробиотические микроорганизмы отлично растут в присутствии гумата калия, при этом отмечено, что они выдерживают

концентрации от 1% до 50%. Следует отметить, что оптимальными для пробиотических микроорганизмов рода *Bacillus* являются концентрации гумата калия от 1 до 10% и 40-50%.

Список литературы

1 Н.Белова, О.Ежова, В.Карнилова, М.Маслов. Влияние пробиотиков и витамина С на использование питательных веществ корма // Птицеводство. – 2009. - №5. – С – 16-17.

2 Wang H, Huang J, Sun L, Xu F, Zhang W, Zhan J. An efficient process for co-production of γ -aminobutyric acid and probiotic *Bacillus subtilis* cells // Food Science and Biotechnology. Т. 28. – Вып. 1. – С. 155-163. / Опубликовано: Sep 3 2018.

3 Sorokulova B., Pinchuk V., Denayrolles M., Osipova G., Huang M. The Safety of Two Bacillus Probiotic Strains for Human Use // Digestive Diseases and Sciences. Т. 53. – Вып. 4. – С. 954-963. / Опубликовано: April 2008.