Опыт применения пробиотиков на основе Bacillus в птицеводстве

Анжелика Борисовна Брень - к.б.н., старшй научный сотрудник Академии биологии и биотехнологии им. Д.И. Ивановского, Южный федеральный университет, Ростов-на-Дону, Россия

e-mail brenanzhelika@yandex.ru

Michael Chikindas, Health Promoting Naturals Laboratory, SEBS and Center for Digestive Health, NJ Institute for Food, Nutrition and Health, Rutgers State University, New Brunswick, New Jersey, USA

Владимир Анатольевич Чистяков – д.б.н., главный научный сотрудник Академии биологии и биотехнологии им. Д.И. Ивановского, Южный WARRANDH BU федеральный университет, Ростов-на-Дону, Россия

e-mail vladimirchi@yandex.ru



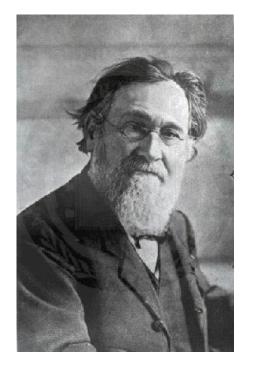


Пробиотики - определение



Published Definition	Reference
Substances produced by microorganisms which promote the growth of other	Lilly and Stillwell
Живые микроорганизмы, которы	е при
a	_
введении в достаточных количе	
приносят пользу здоровью хоз	яина
's	
<u></u>	
beneficial health effects	
Live microorganisms when administered in adequate amounts confer a health benefit	FAO/WHO report,







- Научные основы применения пробиотиков были созданы Ильей Ильичем Мечниковым.
- Пробиотический йогурт с его изображением продается в России.







- Основным фактором, ограничивающим широкое использование пробиотиков в сельском хозяйстве, является высокая стоимость производства, что определяется несколькими особенностями современной «западной» технологии.
- Одним из основных факторов, определяющих стоимость, является рост микроорганизмов в стерильной жидкой среде с последующей лиофилизацией.

Research team 2015







Russia



Georgia







Research team 2017









Russia









Georgia









USA



Все новое – это хорошо забытое старое

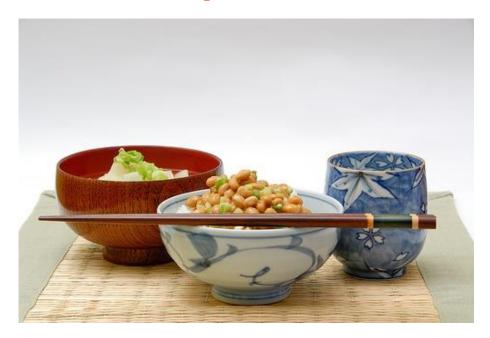




 Многовековой опыт «традиционной» биотехнологии Юго-Восточной Азии убеждает, что продукты с высокими титрами пробиотических микроорганизмов могут быть получены с помощью менее энергоемких и дорогостоящих технологических решений.

Все новое – это хорошо забытое старое



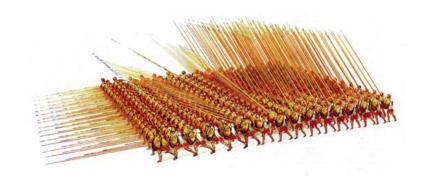


- В странах с более теплым и влажным климатом большинство продуктов содержат преимущественно грамположительные бактерии, такие как Bacillus subtilis и Bacillus licheniformis.
- Японский этнический продукт Natto, например, содержит монокультуру Bacillus subtilis.

Все новое – это хорошо забытое старое



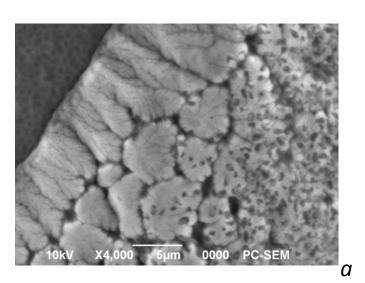


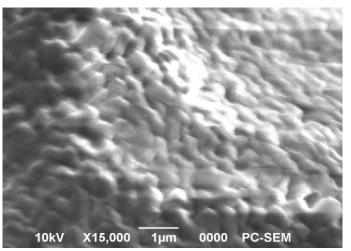


Использование роста в форме биопленки является ключевым биотехнологическим подходом, определяющим эффективность «традиционных» технологий, во многом игнорируемых современной промышленностью.



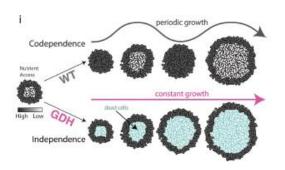






а - генерация грибовидных структур и каналов Vibrio fischeri NB15

b - упорядоченное расположение бактерий в биопленке



Published in final edited form as: Nature. 2015 July 30; 523(7562): 550–554. doi:10.1038/nature14660.

Metabolic codependence gives rise to collective oscillations within biofilms

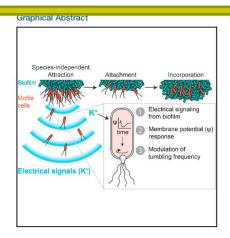
Jintao Liu¹, Arthur Prindle^{1,*}, Jacqueline Humphries^{1,*}, Marçal Gabalda-Sagarra^{2,*}, Munehiro Asally^{3,*}, Dong-yeon D. Lee¹, San Ly¹, Jordi Garcia-Ojalvo², and Gürol M. Süel¹



Nature. 2015 November 5; 527(7576): 59-63. doi:10.1038/nature15709.

Ion channels enable electrical communication within bacterial communities

Arthur Prindle¹, Jintao Liu^{1,*}, Munehiro Asally^{2,*}, San Ly¹, Jordi Garcia-Ojalvo³, and Gürol M. Süel^{1,#}



Highlights

- Electrical signaling within biofilms attracts distant motile cells
- Attraction is caused by membrane-potential-dependent modulation of tumbling frequency
- Electrical signaling is generic, resulting in speciesindependent attraction
- Attraction leads to incorporation of diverse species into a pre-existing biofilm

Con 100, 200-200, vanually 12, 2017



Jacqueline Humphries, Liyang Xiong, Jintao Liu, Arthur Prindle, Fang Yuan, Heidi A. Arjes, 4 Lev Tsimring, 5,6 and Gürol M. Süel, 5,6,7,8,*

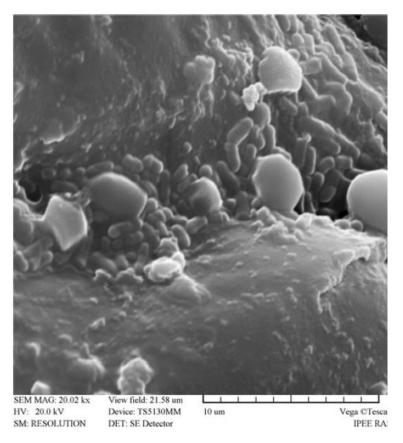
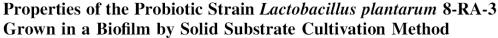


Fig. 4 Inoculated wheat bran, 48-h cultivation, ×20,000. Visible biofilm of *Lact. plantarum* 8-RA-3

Probiotics & Antimicro. Prot. DOI 10.1007/s12602-012-9106-y

Формирование биопленки патогенными бактериями является серьезной проблемой.

Однако, как показали исследования, проведенные Вячеславом Мельниковым и его коллегами, пробиотические микроорганизмы, объединенные в биопленку, способны более эффективно бороться с патогенами по сравнению с пробиотиками, выращенными в жидкой культуре.



Nina A. Ushakova · Vyacheslav M. Abramov · Valentin S. Khlebnikov · Alexandr M. Semenov · Boris B. Kuznetsov · Anna A. Kozlova · Alexey V. Nifatov · Vadim K. Sakulin · Igor V. Kosarev · Raisa N. Vasilenko · Marina V. Sukhacheva · Vyacheslav Melnikov



Виды пробиотических бактерий

Lactobacillus species

- Lb. acidophilus
- Lb. amylovorus
- Lb. brevis
- Lb. casei
- Lb. casei ssp. rhamnosus
- Lb. crispatus
- Lb. delbrueckii ssp. bulgaricus
- Lb. fermentum
- Lb. gasseri
- Lb. helveticus
- Lb. johnsonii
- Lb. lactis
- Lb. paracasei
- Lb. plantarum
- Lb. reuteri

Bifidobacterium species

- Bf. adolescentis
- Bf. animalis
- Bf. bifidum
- Bf. breve
- Bf. infantis
- Bf. lactis
- Bf. longum

Other species

- Bacillus cereus
- Clostridium botyricum
- Enterococcus faecalis
- Enterococcus faecium
- Escherichia coli
- Lactococcus lactis ssp. cremoris
- Lactococcus lactis ssp. lactis
- Leuconostoc mesenteroides ssp. dextranicum
- Pediococcus acidilactici
- Propionibacterium freudenreichii
- Saccharomyces boulardii
- Streptococcus salivarius ssp.
 thermophilus

Почему Bacilli?



- Возможность адаптации к различным условиям
- Длительный срок хранения
- Найдены в нормальной кишечной флоре 1, 2, 3
- Способность прорастания и повторного спорообразования в желудочно-кишечном тракте
- Становятся все более распространенными в животноводстве, особенно в птицеводстве 2, 4, 5

¹Barbosa et al., 2005. Appl Environ Microbiol 71:968–978 ²Cartman et al., 2008. Appl Environ Microbiol 74:5254–5258 ³Tam et al., 2006. Bacteriol 188:2692–2700 ⁴Cutting, 2011. Food Microbiol 28:214-220

May/June 2014 Volume 2 Issue 3 e00633-14





Draft Genome Sequence of Bacillus amyloliquefaciens B-1895

Andrey V. Karlyshev,* Vyacheslav G. Meinikov,b Vladimir A. Chistyakov^c

School of Life Sciences, Faculty of Science, Engineering and Computing, Kingston University, Kingston upon Thames, United Kingdom*; International Science and Technology Center, Moscow, Russia*; Genome Variability Department, Research Institute of Biology, Southern Federal University, Research Institute of Biology, Southern Federal University, Research

May/June 2014 Volume 2 Issue 3 e00619-14

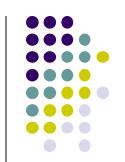
Genome Announcements

Draft Genome Sequence of Bacillus subtilis strain KATMIRA1933

Andrey V. Karlyshev,* Vyacheslav G. Meinikov,b Michael L. Chikindas<.d

School of Life Sciences, Faculty of Science, Engineering and Computing, Kingston University, Kingston upon Thames, United Kingdom*; International Science and Technology Center, Moscow, Russia*; School of Environmental and Biological Sciences, Rusgen State University, New Brunswick, New Jersey, USA*; Astrabiol LLC, Highland Park, New Jersey, USA*

Твердофазное культивирование пробиотических бактерий





• Соевые бобы, покрытые биопленкой Bacillus amyloliquefaciens B-1895.

Достоинство простоты





Простой процесс инокуляции и роста

Соевые бобы, покрытые биопленкой В-1896









Готовый продукт

Эксперимент в Тбилиси, Грузия



Изучение эффективности препарата

Note

Bioscience of Microbiota, Food and Health Vol. 34 (1), 25-28, 2015

Poultry-beneficial solid-state *Bacillus amyloliquefaciens* B-1895 fermented soybean formulation

Vladimir CHISTYAKOV¹, Vyacheslav MELNIKOV², Michael L. CHIKINDAS^{3, 4}, Maiko KHUTSISHVILI⁵, Avtandil CHAGELISHVILI⁵, Angelika BREN¹, Natalia KOSTINA¹, Veronica CAVERA⁶ and Vladimir ELISASHVILI⁵

33 цыплят-бройлеров (11 птиц в группе), 28 дней

Группа 1: контроль (антибиотик клоксациллин, SYVA, Леон, Испания);

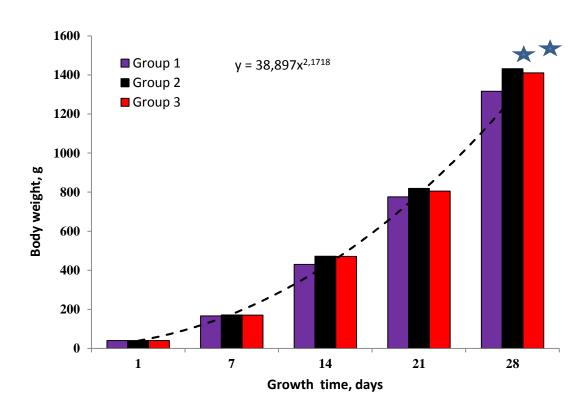
Группа 2: антибиотик + пробиотик В. amyloliquefaciens B-1895;

Группа 3: пробиотик В. amyloliquefaciens B-1895.

Эксперимент в Тбилиси, Грузия







Group 1 – control (antibiotic); group 2 – antibiotic + probiotic; group 3 - probiotic.

- Statistical significance of differences from group 1, P<0,05

Эксперимент в Тбилиси, Грузия



Конверсия корма у цыплятбройлеров

Index	Unit	Group		
		1	2	3
Feed flow rate on 1 bird	kg	2.60	2.60	2.65
Feed flow rate for 1 kg growth	kg	1.97	1.81	1.87

Эксперимент в Волгограде, Россия

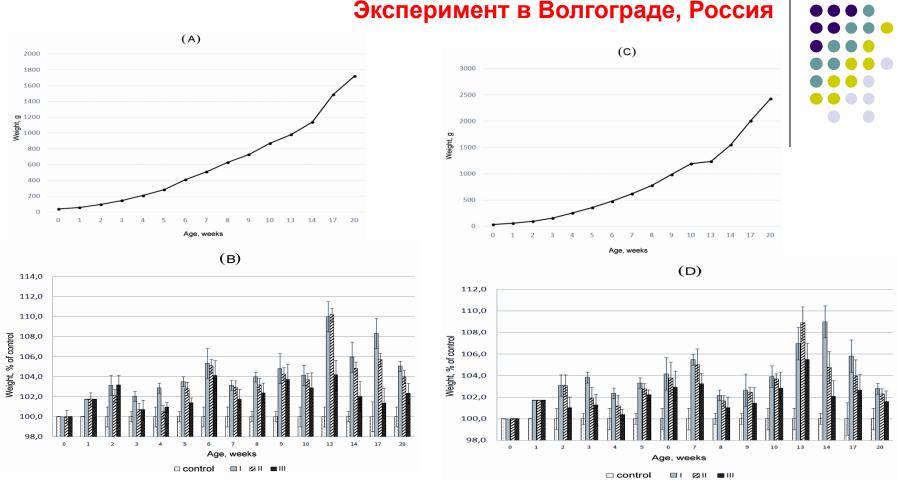
Изучение эффективности препарата 2016 – 2017



308 птиц, коммерческие гибриды «Highsex brown» (70 курочек и 7 петушков в группе) 36 месяцев, работы не завершены

Контроль - корм без антибиотиков

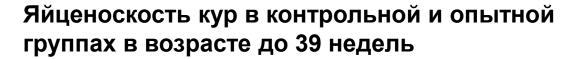
- 1. Пробиотический препарат на основе Bacillus subtilis KATMIRA 1933;
- 2. Пробиотический препарат на основе Bacillus amyloliquefaciens B-1895;
- 3. Пробиотический препарат на основе *Bacillus subtilis* KATMIRA1933 и *Bacillus amyloliquefaciens* B-1895



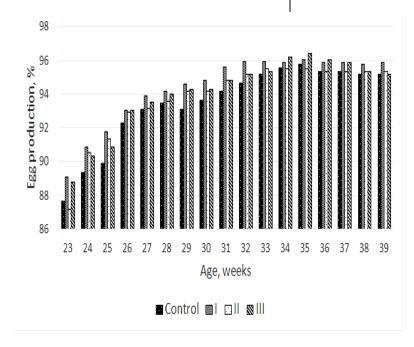
Прирост живой массы кур. A - Контроль, курочки; B - экспериментальные группы, курочки; C – контроль, петушки; D - экспериментальные группы, петушки

- 1. Пробиотический препарат на основе Bacillus subtilis KATMIRA 1933;
- 2. Пробиотический препарат на основе Bacillus amyloliquefaciens B-1895;
- 3. Пробиотический препарат на основе *Bacillus subtilis* KATMIRA1933 и *Bacillus amyloliquefaciens* B-1895

Эксперимент в Волгограде, Россия



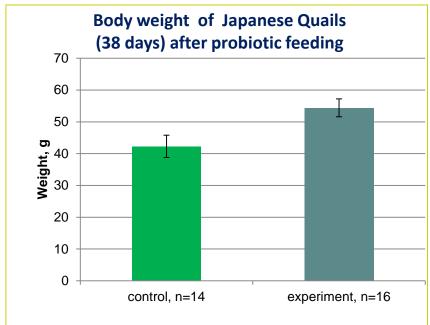
	Control	I	II	III
Number of hens from weeks 19* to 21	64	64	64	64
Number of hens from weeks 21 to 39	61	61	61	61
Number of eggs, pieces.	7419	7538**	7469**	7482**
Difference from control, pieces	-	119	50	63
Difference from control, %	-	1,6	0,7	0,8



- 1. Пробиотический препарат на основе Bacillus subtilis KATMIRA 1933;
- 2. Пробиотический препарат на основе Bacillus amyloliquefaciens B-1895;
- 3. Пробиотический препарат на основе *Bacillus subtilis* KATMIRA1933 и *Bacillus amyloliquefaciens* B-1895

^{* -} начало кладки яиц

^{**} Различия статистически значимы, парный t-тест (www.r-project.org), p <0,01





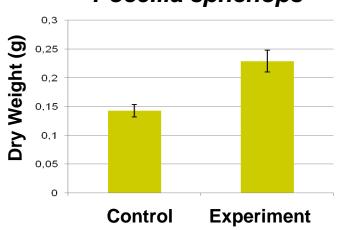


Цыплята японского перепела (*Coturnix japonica*) (38 дней) получали в эксперименте корм с добавлением пробиотического препарата на основе В-1895. Разница между контрольной и экспериментальной группами составила 26%. Кроме того, в экспериментальной группе наблюдалось улучшение качества перьев.

Стимуляция роста аквариумных рыб









Barbus 1,2 0,8 0,6 0,4 0,2 0 Control Experiment



Применение пробиотиков на основе Bacillus в аквакультуре





Использование пробиотического препарата при разведении Chalburnus chalcoides (Каспийская шемая) и Acipenser gueldenstaedtii (Русский осетр) помогает контролировать патогенные бактерии, такие как Salmonella sp., Klebsiella sp. и Citrobacter freundii в пищеварительном тракте.

Когда в качестве кормовой добавки используются пробиотические препараты, производительность рыбных хозяйств увеличивается на 30-40%.





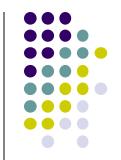
В настоящее время мы инициировали международный проект (Армения, Россия, Грузия и США), направленный на использование пробиотиков для восстановления и роста популяции армянской форели.

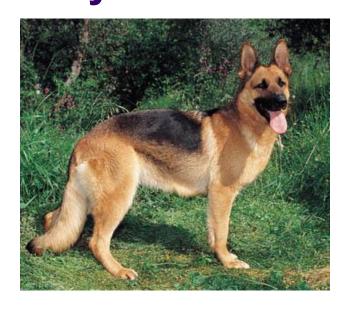
Не только аквакультуре и птицеводстве...





Использование спорообразующих пробиотических добавок в служебном собаководстве





Использование синбиотического препарата (1 г на 100 г ежедневного рациона) оказывало терапевтическое воздействие на дисбиоз кишечника у немецких овчарок.



- Спонсоры исследований:
 - > American Councils

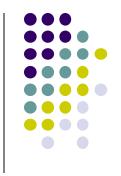




> Российский научный фонд Грант № 16-16-04032



 Команды исследователей из России, Грузии, США.



БЛАГОДАРИМ ЗА ВНИМАНИЕ!