

Специфичность штамма *Bacillus subtilis*

и продуктивность бройлеров

Сегодня во всем мире общепризнанным является фактор, определяющий продуктивность животных, а именно здоровье кишечника. Термин «здоровье кишечника» — комплексное и емкое понятие. Исследователь Р. Конвей считает, что здоровье кишечника бройлеров основано на динамическом равновесии трех компонентов — рациона, слизистой оболочки пищеварительного тракта и кишечной микробиоты. Грамотное управление здоровьем кишечника позволяет снизить частоту возникновения инфекционных заболеваний, служит профилактикой нарушений со стороны пищеварительной системы (влажный, водянистый и липкий помёт, а также мальабсорбция — потеря одного или нескольких поступающих в организм питательных веществ вследствие недостаточного их всасывания в тонкой кишке) и помогает избежать экономических потерь при выращивании бройлеров.

В странах Евросоюза, где в 2006 г. ввели запрет на использование антибиотиков — стимуляторов роста, возросла заболеваемость животных, в том числе птицы, инфекционными заболеваниями, такими как некротический энтерит (Choct M., 2009; Wierup M., 2001; van Immerseel F. et al., 2004). Как показала практика, наибольшие экономические потери понесли бройлерные и яичные предприятия. Следовательно, поиск средств, которые можно включать в рационы в качестве альтернативы антибиотикам, остается актуальным (Dibner J.J., Richards J.D., 2005; Gaucher M.L. et al., 2015; M'Sadeq S.A. et al., 2015).

К числу таких препаратов относят пробиотики. Это — живые бактерии. Попадая в организм в достаточном количестве, они положительно влияют на здоровье хозяина (FAO/WHO, 2002). Данные исследований свидетельствуют о том, что пробиотики восстанавливают баланс кишечной микробиоты бройлеров, благодаря чему их продуктивность заметно повышается. Это объясняется тем, что при включении пробиотиков в рацион существенно улучшается конверсия кор-

ма (Ahmad I., 2006; Mountzouris K.C. et al., 2007; Awad W.A. et al., 2009).

В научной литературе есть информация о том, что эффективность пробиотиков может варьировать в зависимости от вида пробиотических бактерий, их штамма и его стабильности, среды разведения и управления пробиотиком (способ ввода в рацион, время и дозировка), от породы, возраста и состояния здоровья животных, в том числе птицы (Otutumi L.K. et al., 2012).

К широкому спектру пробиотиков, используемых в птицеводстве, относятся штаммы бактерий, принадлежащих к родам *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Bifidobacterium*, *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Pedococcus* и *Bacillus*, а также *Escherichia coli* и дрожжи (Patterson J.A., Burkholder K.M., 2003; Mountzouris K.C. et al., 2007; Lutful Kabir S.M., 2009). Способность микроорганизмов рода *Bacillus* образовывать эндоспores, устойчивые к желудочным кислотам, желчным солям, химическому и физическому воздействию (гранулирование кормов и их хранение в течение длительного периода), делает эти микроорганизмы пригодными для использования в кормлении.

В комбикорма для птицы вводят добавки на основе пробиотических штаммов *B. subtilis*, *B. amyloliquefaciens* и *B. licheniformis* (Cutting S.M., 2011). Активность штаммов бактерий рода *Bacillus* различается, поэтому важно вести поиск новых штаммов и отбирать те, эффективность которых доказана по результатам исследований, проводившихся в разных условиях.

Недавно был выделен штамм *B. subtilis*, филогенетически не связанный с ранее

Референтные штаммы *Bacillus*

Таблица 1

Штамм	Депозитный номер
<i>Bacillus licheniformis</i>	DSM13T
<i>Bacillus pumilus</i>	DSM27T
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	DSM7T
<i>Bacillus subtilis</i> 168	DSM23778
<i>Bacillus cereus</i>	DSM31T
<i>Bacillus vallismortis</i>	DSM11031T
<i>Bacillus mojavensis</i>	DSM9205T
<i>Bacillus atrophaeus</i>	DSM7264T
<i>Bacillus sonorensis</i>	DSM13779T
<i>Bacillus subtilis</i> subsp. <i>subtilis</i>	DSM10T
<i>Bacillus subtilis</i> subsp. <i>spizizenii</i>	DSM15029T
<i>Bacillus subtilis</i> subsp. <i>inaquosorum</i>	DSM22148T

Примечание. Депозитный номер в немецкой коллекции микроорганизмов и коллекции микроорганизмов и клеточных культур (DSM).

описанными штаммами *B. subtilis*. Данные экспериментов свидетельствуют о том, что новый пробиотик положительно влияет на зоотехнические показатели бройлеров, выращиваемых по той или иной технологии. Референтные штаммы *Bacillus*, использованные в исследовании, представлены в **таблице 1**.

Показатели, характеризующие состав и содержание питательных веществ в основном рационе для бройлеров, представлены в **таблицах 2 и 3**.

В трех независимых исследовательских центрах провели три исследования, по результатам которых оценили продуктивность бройлеров, получавших разные экспериментальные комбикорма. Условия содержания и кормления поголовья были одинаковыми. Различия в кормлении заключались в том, что в кормосмесь для птицы опытных групп с 1-го по 35-й день включали пробиотические микроорганизмы: первой (группа А) — коммерческий штамм *B. subtilis* (8×10^8 КОЕ/кг корма), второй (группа В) — коммерческий штамм *B. subtilis* DSM29784 (5×10^8 КОЕ/кг корма). Аналоги контрольной группы получали основной рацион с эталонными штаммами *B. subtilis*.

Кормосмеси балансировали таким образом, чтобы удовлетворить (или превысить) потребность бройлеров в питательных веществах согласно рекомендациям селекционеров (см. табл. 3). В состав всех экспериментальных рационов вводили витаминно-минеральные премиксы, но не включали кокцидиостатики, фитазу и антибиотики — стимуляторы роста. На протяжении всего периода выращивания птица имела свободный доступ к корму и воде.

В исследованиях задействовали бройлеров разных кроссов, в кормосмеси вводили либо не вводили субпродукты животного происхождения (жиры) и фитазу. Схемы исследований также различались (**табл. 4**).

Показатели, характеризующие активность пробиотических бактерий штамма *B. subtilis* DSM29784 С в отношении *C. perfringens* при выращивании петушков кросса «Кобб 500» с 1-го по 28-й день, представлены в **таблице 5**.

Независимо друг от друга в трех исследовательских центрах провели три исследования по изучению специфичности коммерческих штаммов *B. subtilis* и *B. subtilis* DSM29784 и оценили их влияние на продуктивность бройлеров, выращенных

Таблица 2

Состав основного рациона для бройлеров	
Ингредиент	Доля в кормосмеси, %
Дробленое зерно кукурузы	56,12
Соевая мука (48)	37,5
Жир животного происхождения	3
Дикальцийфосфат	1,75
Известняк	0,8
Соль поваренная	0,3
Премикс:	
витаминный*	0,25
минеральный**	0,08
DL-метионин	0,2

* Витаминный премикс обеспечивает следующее содержание витаминов в 1 кг кормосмеси: тиамин мононитрата — 2,4 мг, никотиновой кислоты — 44 мг, рибофлавина — 4,4 мг, кальция D-пантотената — 12 мг, витамина B_{12} (кобаламин) — 12 мкг; пиридоксина гидрохлорида — 4,7 мг, D-биотина (витамин B_7) — 0,11 мг, фолиевой кислоты (витамин B_9) — 5,5 мг, менадиона натрия бисульфата — 3,34 мг, холина хлорида (витамин B_{12}) — 220 мг, холекальциферола (витамин D_3) — 27,5 мкг, транс-ретинолацетата — 1892 мкг; токоферилацетата (витамин E) — 11 мг и этоксихина — 125 мг.

** Минеральная смесь обеспечивает следующее содержание микроэлементов в 1 кг кормосмеси: марганца ($MnSO_4 \cdot H_2O$) — 60 мг, железа ($FeSO_4 \cdot 7H_2O$) — 30 мг, цинка (ZnO) — 50 мг, меди ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$) — 5 мг, йода (этилендиаминдигидриодид) — 0,15 мг и селена ($NaSeO_3$) — 0,3 мг.

Таблица 3

Энергетическая и протеиновая питательность рациона для бройлеров	
Компонент	Содержание
Обменная энергия (ОЭ), ккал/кг	3,096
Протеин, %	22,3
Аминокислота, %:	
лизин	1,18
метионин	0,53
метионин + цистин	0,89

Таблица 4

Показатель	Схемы исследований		
	Исследование		
	первое	второе	третье
Страна	США	Франция	США
Кросс	«Росс 708»	«Росс ПМ3»	«Кобб 500»
Пол	Петушки	Петушки	Петушки
Основной рацион	Дробленое зерно кукурузы + соевая мука	Дробленое зерно кукурузы + соевая мука	Дробленое зерно кукурузы + соевая мука
Наличие жиров животного происхождения	Да	Нет	Да
Фитаза	Нет	Нет	Да
Количество загонov для репликации и количество бройлеров в каждом загоне	12 × 15	12 × 18	8 × 50
Подстилочный материал	Древесная стружка	Древесная стружка	Древесные опилки
Продолжительность исследования, дни	35	35	35
Измеряемые показатели в 21 и 35 дней	Потребление корма, живая масса и конверсия корма	Потребление корма, живая масса и конверсия корма	Потребление корма, живая масса и конверсия корма

в разных условиях. Результаты эксперимента представлены в **таблице 6**.

В разных экспериментах уровень падежа был разным, но в первом и во втором опытах уровень падежа оказался высоким. Вероятно, это объясняется отсутствием в кормосмеси антибиотиков, а именно

кокцидиостатиков. Примечательно, что влияние двух пробиотических штаммов *B. subtilis* на сохранность поголовья было неодинаковым. Так, в первом испытании в группе, где бройлеры получали рацион с коммерческой пробиотической добавкой на основе *B. subtilis* DSM29784, с 22-го по

Таблица 5

Активность *B. subtilis* DSM29784 в отношении *C. perfringens* при выращивании бройлеров кросса «Кобб 500»

Показатель	Эффективность пробиотиков			
	Бройлеры, не инфицированные <i>C. perfringens</i> . Стандартный рацион с эталонным пробиотиком	Бройлеры, инфицированные <i>C. perfringens</i> . Стандартный рацион без пробиотика	Бройлеры, инфицированные <i>C. perfringens</i> . Стандартный рацион с пробиотиком на основе <i>B. subtilis</i> DSM29784 из расчета 55 частей на миллион частей корма	Бройлеры, инфицированные <i>C. perfringens</i> . Стандартный рацион с пробиотиком на основе <i>B. subtilis</i> DSM29784 в дозе 5×10^8 КОЕ/кг корма
Особенности кормления				
Живая масса в возрасте 28 дней	927 ^a	778 ^b	863 ^{ab}	896 ^a
Конверсия корма	1,665 ^c	1,984 ^a	1,809 ^b	1,772 ^{bc}
Падеж с 1-го по 28-й день выращивания	0 ^c	42,5 ^a	12,5 ^{bc}	30 ^{ab}

Показатели, обозначенные буквами a, b, c в пределах ряда, в котором отсутствует общий верхний индекс, различаются ($p < 0,05$).

Таблица 6

Специфичность штаммов *B. subtilis* и их влияние на продуктивность бройлеров

Показатель	Исследовательский центр 1					Исследовательский центр 2					Исследовательский центр 3				
	Контрольная группа	Опытная группа А	Опытная группа В	Среднее значение*	p-значение	Контрольная группа	Опытная группа А	Опытная группа В	Среднее значение**	p-значение	Контрольная группа	Опытная группа А	Опытная группа В	Среднее значение***	p-значение
<i>Живая масса, г</i>															
С 1-го по 21-й день	1074	1078	1078	25	0,911	886	894	896	47	0,873	802	789	819	23	0,057
С 22-го по 35-й день	1292 ^b	1323 ^{ab}	1338 ^a	42	0,037	1166	1209	1273	102	0,08	1181	1185	1207	41	0,405
С 1-го по 35-й день	2361 ^b	2398 ^{ab}	2416 ^a	52	0,048	2019	2103	2162	134	0,061	1984	1973	2026	48	0,094
<i>Потребление корма, г/гол.</i>															
С 1-го по 21-й день	1479	1495	1489	36	0,597	1158	1160	1165	64	0,965	1197	1160	1185	29	0,058
С 22-го по 35-й день	2095	2048	2053	131	0,633	2091	2085	2131	112	0,601	2045	2043	2071	51	0,477
С 1-го по 35-й день	3573	3541	3542	143	0,83	3217	3246	3288	172	0,644	3242	3203	3256	60	0,217
<i>Конверсия корма</i>															
С 1-го по 21-й день	1,377	1,386	1,381	0,025	0,687	1,307	1,298	1,301	0,024	0,638	1,492 ^a	1,473 ^{ab}	1,447 ^b	0,033	0,04
С 22-го по 35-й день	1,622	1,548	1,537	0,095	0,073	1,805 ^a	1,729 ^{ab}	1,677 ^b	0,102	0,03	1,731	1,727	1,71 ^b	0,038	0,715
С 1-го по 35-й день	1,513	1,477	1,647	0,053	0,093	1,598 ^a	1,544 ^b	1,521 ^b	0,055	0,009	1,635 ^{ab}	1,624 ^{ab}	1,607 ^b	0,017	0,014
<i>Падеж, %</i>															
С 1-го по 21-й день	3,3	3,3	3,3	—	1	7,1	5,6	3,5	—	0,295	2 ^b	5,5 ^a	2,8 ^{ab}	—	0,016
С 22-го по 35-й день	12,6 ^a	6,9 ^{ab}	4,6 ^b	—	0,018	3,8	2	5,8	—	0,523	1	0,5	0,5	—	0,059
С 1-го по 35-й день	15,6	10	7,8	—	0,054	10,6	7,4	9,1	—	0,143	3	6	3,3	—	0,624

Примечание. Значения a, b, c в пределах ряда, в котором отсутствует общий верхний индекс, различаются ($p < 0,05$). Контрольная группа — основной рацион; опытная группа А — основной рацион с добавлением коммерческого штамма *B. subtilis* в дозе 8×10^8 КОЕ/кг корма; опытная группа В — основной рацион с добавлением коммерческого штамма *B. subtilis* DSM29784 в дозе 5×10^8 КОЕ/кг корма.

* Среднее значение, полученное в первом исследовательском центре (12 загонов для репликации по 15 голов в каждой).

** Среднее значение, полученное во втором исследовательском центре (12 загонов для репликации по 18 голов в каждом).

*** Среднее значение, полученное в третьем исследовательском центре (8 загонов для репликации по 50 голов в каждом).

Исходные данные были проанализированы с использованием дисперсионного анализа с блокированием и лечением в качестве фиксированного эффекта для таких показателей, как потребление корма, живая масса и конверсия корма, а также с использованием критерия хи-квадрата для определения уровня падежа.

35-й день уровень падежа заметно снизился, в то время как ввод пробиотических микроорганизмов *B. subtilis* не оказывал никакого воздействия.

Результаты третьего исследования свидетельствуют о том, что при включении в кормосмесь коммерческого штамма *B. subtilis* DSM29784 с 1-го по 21-й день периода выращивания уровень падежа не изменился, а при вводе пробиотических бактерий *B. subtilis* даже возрос. При скормливании стартерных комбикормов с пробиотическими бактериями *B. subtilis* продуктивность птицы была стабильной как в первом, так во втором эксперименте. Данные третьего эксперимента свидетельствуют о том, что при добав-

лении коммерческого штамма *B. subtilis* DSM29784 конверсия корма улучшилась: разница между аналогичными показателями, зафиксированными в контрольной группе и опытной группе В, составила 3% ($p < 0,05$).

При скормливании ростового комбикорма с коммерческим штаммом *B. subtilis* DSM29784 продуктивность бройлеров заметно возросла: в первом испытании прирост живой массы увеличился на 3,6% по сравнению с приростом живой массы аналогов контрольной группы ($p < 0,05$). Результаты второго эксперимента показали, что в группе, где петушки получали кормосмесь с коммерческим пробиотическим штаммом *B. subtilis* DSM29784,

значительно улучшилась конверсия корма. Разница между этими показателями, зафиксированными в контрольной группе и опытной группе В, составила 7,1%.

Было отмечено, что коммерческий штамм *B. subtilis* DSM29784 оказал положительное влияние на продуктивность поголовья только в одном исследовании из трех: по результатам второго исследования установили, что при вводе пробиотических микроорганизмов конверсия корма улучшилась на 3,4% ($p < 0,05$). В среднем, по данным трех испытаний, при использовании коммерческого штамма *B. subtilis* DSM29784 прирост живой массы бройлеров увеличился на 1,7%, а коэффициент конверсии корма снизился на 2,1%.

Отмечено, что в период исследования (с 1-го по 35-й день выращивания) при скармливании бройлерам комбикормов с коммерческим пробиотическим штаммом *B. subtilis* DSM29784 повысились зоотехнические показатели. Согласно данным первого исследования, прирост живой массы петушков был выше на 2,3% ($p < 0,05$), а коэффициент конверсии корма, согласно данным второго и третьего исследований, ниже соответственно на 4,8 и 1,7%. Полученные результаты указывают на то, что при выращивании бройлеров в разных условиях эффективность коммерческого штамма *B. subtilis* DSM29784 выше, чем эффективность эталонных пробиотических микроорганизмов *B. subtilis* (живая масса петушков увеличилась в среднем на 3,8%, а коэффициент конверсии корма снизился на 3,2%).

Данные филогенетического исследования свидетельствуют о том, что штамм *B. subtilis* DSM29784 относится к виду *B. subtilis*, но не является «близким родственником» трех хорошо изученных подвидов *B. subtilis*. Так, *B. subtilis* DSM29784 и три типовые штамма существующих видов *B. subtilis* идентичны на 93,1–94,7%. Коммерциализованный штамм *B. subtilis* на 98,7% идентичен *B. subtilis*. Степень сходства между типовыми штаммами *B. subtilis* subsps. — *inaquosorum*, *spizzenii* и *subtilis* варьирует от 94 до 96%. Такой же уровень различий (94,1% идентичности) установили между штаммом *B. subtilis* DSM29784 и коммерческим штаммом *B. subtilis* (опытная группа А). Это говорит о том, что оба штамма существенно различаются филогенетически.

Механизм действия пробиотиков досконально не изучен, тем не менее ученые признают тот факт, что полезные бактерии оказывают прямое и косвенное влияние на состав кишечной микробиоты, поскольку обладают иммуномодулирующим свойством. Стресс — основная причина нарушения баланса микробного сообщества пищеварительного тракта. Например, при ухудшении условий содержания или при смене рациона в кишечнике бройлеров патогенные бактерии доминируют над полезной микрофлорой, что приводит к иммунному дисбалансу и (или) возникновению воспалительной реакции (Onrust L. et al., 2015).

Доказано, что даже незначительные изменения во взаимодействии между хозяином и микробиотой приводят к нарушению здоровья кишечника и развитию энтеральных заболеваний, влияю-

щих на общую продуктивность поголовья (M'Sadeq S.A. et al., 2015). Поэтому была проведена оценка эффективности бактерии *B. subtilis* DSM29784 путем сравнения показателей, характеризующих продуктивность птицы (живая масса и конверсия корма) при выращивании в разных условиях. Результаты анализа подтвердили, что при включении пробиотического штамма *B. subtilis* DSM29784 в рацион продуктивность бройлеров, инфицированных *C. perfringens*, восстанавливалась. Был сделан вывод о том, что по эффективности бактерии *B. subtilis* DSM29784 не уступают антибиотикам — стимуляторам роста.

Также было проведено три исследования, по результатам которых оценили интенсивность роста бройлеров в разных условиях — при скармливании стандартных комбикормов, не содержащих субпродуктов животного происхождения, при скармливании кормосмесей, содержащих субпродукты животного происхождения, а также при разной плотности посадки поголовья и состояния подстилки.

Источник белка, содержание и соотношение в нем аминокислот скорректировали таким образом, чтобы спровоцировать развитие энтеральных заболеваний или вызвать нарушение пищеварения. Доступность непереваримых белков для протеолитических бактерий, населяющих нижний отдел пищеварительного тракта, и последующая выработка вредных метаболитов приводят к размножению патогенных микроорганизмов, таких как *Clostridium* (Lan Y. et al., 2005; Timbermont L. et al., 2011).

Здоровье кишечника птицы и, как следствие, ее продуктивность зависят от состояния подстилки. Помёт является резервуаром экзогенных бактерий, а значит, кишечная микробиота бройлеров может изменяться (Lu J. et al., 2003; Wang L. et al., 2016). Согласно данным второго исследования, оба штамма *B. subtilis* проявляли активность в отношении *C. perfringens* при скармливании цыплятам кормосмесей без побочных продуктов животного происхождения. Это говорит о том, что эффективность пробиотических микроорганизмов зависит от состава рациона.

В отличие от другого коммерческого штамма, пробиотик *B. subtilis* DSM29784 значительно улучшил зоотехнические показатели, полученные при проведении первого и третьего исследований. Эффективность штамма *B. subtilis* DSM29784 была подтверждена данными трех разных испытаний. В конце периода выращивания живая масса бройлеров контрольной груп-

пы, не обладавших высокой скоростью роста, достигала 1984 г (данные третьего исследования). При этом живая масса птицы, потреблявшей комбикорм с пробиотиком, к концу учетного периода заметно увеличилась: у особей, характеризовавшихся высокой интенсивностью роста, — на 2,3%, у аналогов, отличавшихся менее интенсивным ростом, — на 2,1% ($p < 0,05$).

Был сделан вывод о том, что новый штамм *B. subtilis* DSM29784 активен в отношении патогенов независимо от микробного статуса кишечника и здоровья бройлеров. Для подтверждения эффективности штамма *B. subtilis* DSM29784 необходимо провести дополнительные исследования, детально изучить состав микробиоты кишечника птицы и на основе полученных данных определить механизм действия пробиотика.

Данное исследование показало, что пробиотические штаммы *B. subtilis* положительно влияют на здоровье бройлеров, выращиваемых в разных условиях. Даже если два штамма *B. subtilis* принадлежат к одному и тому же виду, их эффективность различается. Специфичность штаммов *Lactobacillus* и *Bifidobacterium*, обладающих пробиотическими свойствами, была подтверждена при лечении людей (Rowland I. et al., 2010; Million M., Raoult D., 2013). Существует множество отчетов, например, данные исследований R.E. Wolfenden и соавт. (2010) и S. Shivaramaiah и соавт. (2011) о видовой специфичности *B. subtilis* разных видов и об их влиянии на продуктивность птицы. Однако в этих отчетах отсутствует идентификация бактерий на уровне штамма.

Таким образом, было установлено, что термин «штаммовая специфичность» пробиотических бактерий должен включать не только идентичность штамма, но и специфичность его действия, ведь это — ключевое условие достижения высоких зоотехнических показателей при выращивании бройлеров. ЖР

Статья предоставлена
ООО «Адиссео Евразия».
Перевел Сергей Рыбников

ADISSEO
A Bluestar Company

ООО «Адиссео Евразия»
129110, Москва, ул. Щепкина, д. 42,
стр. 2а, этаж 2, пом. 1, комн. 1
Тел.: +7 (495) 268-04-75
www.adisseo.com
www.animal-nutrition.ru



Selisseo®

СЕЛИССЕО® ИННОВАЦИОННЫЙ АНТИОКСИДАНТ НА ОСНОВЕ ОРГАНИЧЕСКОГО СЕЛЕНА

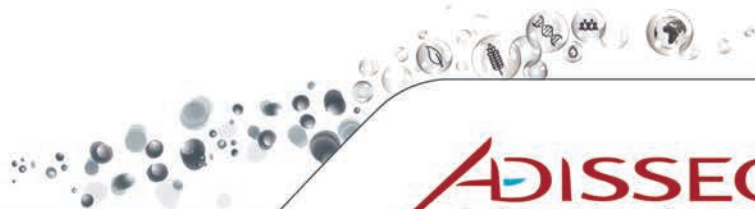
ДАЖЕ В УСЛОВИЯХ СТРЕССА...



... ПРОДУКТИВНОСТЬ БУДЕТ СОХРАНЕНА



Селиссео® позволяет животным справляться с оксидативным стрессом
Единственный гидроксиселенометионин на рынке, обладающий всеми преимуществами органического селена для повышения стрессоустойчивости, улучшения иммунитета и поддержания оптимального уровня роста; улучшает воспроизводство и повышает качество конечной продукции.



www.adisseo.com | www.animal-nutrition.ru

129110, Москва, ул. Щепкина, д. 42, стр. 2А | Тел.: +7 (495) 268-04-75

ADISSEO
A Bluestar Company