

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ  
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ  
«ВОЛГОГРАДСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ  
АГРАРНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

*На правах рукописи*

Бражник Евгений Александрович

**МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ КОРМОВЫЕ ДОБАВКИ ПРИ  
ВЫРАЩИВАНИИ ЦЫПЛЯТ-БРОЙЛЕРОВ**

4.2.4 – Частная зоотехния, кормление, технологии приготовления кормов и  
производства продукции животноводства

**ДИССЕРТАЦИЯ**

на соискание ученой степени  
кандидата сельскохозяйственных наук

Научный руководитель:  
доктор биологических наук  
Лаптев Георгий Юрьевич

Волгоград – 2023

## ОГЛАВЛЕНИЕ

1. ВВЕДЕНИЕ.....	4
2. ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ.....	12
2.1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	12
2.1.1. Антимикробная резистентность и ее предотвращение .....	12
2.1.2. Спектр современных кормовых добавок .....	14
2.1.3. Роль биоразнообразия микрофлоры желудочно-кишечного тракта в здоровье и продуктивности птицы .....	18
2.1.4. Микроорганизмы пищеварительного тракта птицы.....	24
2.1.5. Вторичные метаболиты пробиотических микроорганизмов .....	27
2.1.6. Опыт использования кормовых добавок в птицеводстве .....	41
2.1.7. Характеристики отечественных пробиотиков.....	46
2.1.8. Влияние кормовых добавок на функциональное состояние кишечника цыплят-бройлеров .....	49
2.1.9. Особенности современных кроссов кур мясного направления продуктивности.....	52
2.1.10. Использование информационных технологий для достижения эффективного производства .....	55
2.2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	58
2.2.1. Статистический анализ.....	61
2.2.2. Изучение антагонистической активности штаммов методом классической микробиологии .....	61
2.2.3. Биоинформатический анализ геномов пробиотических штаммов.....	62
2.2.4. Исследования микробиома слепых отростков кишечника .....	63
2.2.5. Методы исследования научно-хозяйственного и производственного опытов ..	65
2.3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	67
2.3.1. Результаты анализа полногеномного секвенирования бактерий в составе кормовых добавок .....	67
2.3.1.1. Функциональная оценка бактерий.....	67
2.3.1.2. Антимикробная активность бактерий .....	73
2.3.1.3. Оценка потенциала синтеза метаболитов при помощи веб-сервиса antiSMASH 6.0 .....	75
2.3.2. Результаты производственных испытаний добавок .....	82
2.3.2.1. Результаты научно-хозяйственного опыта по испытанию добавки Профорт® .....	82
2.3.2.2. Результаты научно-хозяйственного опыта по испытанию добавки Пробиоцид®-Ультра.....	84
2.3.2.3. Результаты производственного опыта по скормливанию добавки Пробиоцид®-Ультра.....	89

2.3.2.4. Результаты производственного опыта по скармливанию добавки Пробиоцид®-Ультра и Профорт® .....	94
2.3.3. Обсуждение полученных результатов .....	96
3. ЗАКЛЮЧЕНИЕ .....	100
3.1. ОБЩИЕ ВЫВОДЫ И ПРЕДЛОЖЕНИЯ .....	100
3.2. ПРЕДЛОЖЕНИЕ ПРОИЗВОДСТВУ .....	102
3.3. ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ.....	102
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ .....	103
СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ.....	105
ПРИЛОЖЕНИЯ.....	148
Приложение А. Рецепт и качественные показатели комбикормов «Старт» для цыплят-бройлеров кросса «Кобб-500» (ФГБУ СГЦ «Загорское ЭПХ» ВНИТИП).....	149
Приложение Б. Рецепт и качественные показатели комбикормов «Финиш» для цыплят-бройлеров кросса «Кобб-500» (ФГБУ СГЦ «Загорское ЭПХ» ВНИТИП).....	150
Приложение В. Рецепт и качественные показатели комбикормов «Старт» для цыплят-бройлеров кросса «Смена 8» (ФНЦ ВНИТИП РАН).....	151
Приложение Г. Рецепт и качественные показатели комбикормов «Финиш» для цыплят-бройлеров кросса «Смена 8» (ФНЦ ВНИТИП РАН).....	153
Приложение Д. Качественные показатели комбикормов для цыплят-бройлеров кросса «Кобб-500» (ОАО «Птицефабрика Зеленецкая») .....	154

## 1. ВВЕДЕНИЕ

**Актуальность исследования.** Птицеводство является одной из наиболее развитых и прибыльных отраслей сельского хозяйства. Производство мяса птицы в России достигает высоких темпов развития. Успех данной отрасли зависит от сбалансированных по составу аминокислот и обменной энергии кормов (Фисинин В.И. и др., 2003). В настоящее время существует потребность в поиске способов приготовления кормов, позволяющих решить проблему сбережения ресурсов (Сысоев Д.П., 2019). Увеличение уровня интенсификации и повышения рентабельности производства может быть достигнуто за счет оптимизации рационов. По мнению Франсуа Кенэ, сельское хозяйство является наиболее важной и единственной производительной сферой деятельности человека, которая создает излишек валового дохода над издержками производства (Клюкин П.Н., 2008).

При выращивании сельскохозяйственных животных сохранение их здоровья является одной из главных задач. Это может быть достигнуто при использовании кормовых антибиотиков, но с 2017 г. в Российской Федерации определена стратегия по предупреждению распространения антимикробной резистентности (Бражник Е.А. и др., 2020). Поиск альтернативных решений является актуальной задачей для сельского хозяйства. Несистемное и постоянное применение антибиотиков в животноводстве и птицеводстве приводит к снижению их эффективности (Дубровин А.В. и др., 2023; Тюрина Д.Г. и др., 2022; Йылдырым Е.А. и др., 2020; Лаптев Г.Ю. и др., 2020). Патогенные микроорганизмы в таком случае достаточно быстро приобретают антибиотикорезистентность – устойчивость к лекарственным веществам, ранее оказывающим на них губительное воздействие (Сазыкин И.С. и др., 2021). Биопрепараты, выпускаемые для сельского хозяйства на основе натуральных растительных компонентов, такие как эфирные масла, по эффективности могут не уступать антибиотикам и вместе с тем не иметь негативных последствий от их применения (Маркелова Н.Н. и др., 2014). Известно, что фитобиотик, в основе

которого имеются эфирные масла, может стимулировать активный иммунный ответ у бройлеров, что находит отражение в увеличении продуктивности (Йылдырым Е.А. и др., 2020; Ильина Л.А. и др., 2020). Таким образом, минимизировать применение антибиотиков без ущерба для производителя птицепродукции можно и на крупных промышленных предприятиях.

Каждый класс антибиотиков имеет общую основную структуру или каркас. Большинство химических каркасов, из которых получают современные антибиотики, были внедрены в период с середины 1930-х до начала 1960-х годов. Широко распространены всего четыре таких каркаса – цефалоспорины, пенициллины, хинолоны и макролиды, которые составляют 73% новых антибактериальных химических соединений, зарегистрированных в период с 1981 по 2005 год (Fischbach M.A., 2009).

Огромную роль в повышении адаптационных возможностей организма животных и птиц играет симбиотическая кишечная микробиота, которую давно принято называть отдельным многофункциональным «органом», оказывающим влияние на работу всего организма, в том числе на иммунный статус, состояние здоровья и уровень продуктивности (Сыромятников М.Ю. и др., 2019; Йылдырым Е.А. и др., 2019; Юдина Ю.В. и др., 2019). Кишечник только что вылупившегося цыпленка обычно стерилен, но быстро заселяется микробами из окружающей среды, таким образом принимая участие в развитие цыпленка (Йылдырым Е.А. и др., 2019). Несколько факторов, таких как диета, состояние желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), условия содержания, окружающая среда и генетика, могут влиять на микробный статус отдельной птицы (Фисинин В.И. и др., 2018). Микробный состав можно изменить путем использования пробиотиков, пребиотиков или синбиотиков. Использование этих добавок может предотвратить дисбактериоз, вызванный такими факторами, как стресс или инфекция. Механизм действия и полезные эффекты пробиотиков варьируют в зависимости от используемых штаммов (Щепеткина С.В., 2018). Тем не менее установить связь между микробиомом кишечника и здоровьем достаточно трудно ввиду высокой изменчивости между группами, влиянием факторов

окружающей среды и питанием (Тюрина Д.Г. и др., 2019; Лаптев Г.Ю. и др., 2020).

Таким образом, введение ограничений на использование антибиотиков заставляет по-новому взглянуть на проблему безопасного выпуска пищевой продукции отрасли птицеводства. Снижение использования антибиотиков-стимуляторов роста с целью их полной отмены и уменьшение распространенности инфекционных заболеваний может быть достигнуто благодаря уже накопленным знаниям и внедрению новых технологических решений.

**Степень разработанности темы исследования.** До недавнего времени с помощью кормовых антибиотиков решались многие вопросы, связанные с сохранением здоровья птицы и повышением продуктивности при промышленном выращивании (Лаптев Г.Ю. и др., 2020). Исследования последних лет доказали, что использование антибиотиков должно быть лимитировано, а возможной заменой их могут стать кормовые добавки, имеющие в своем составе пробиотические микроорганизмы, эфирные масла или подкислители на основе органических кислот (Меднова В.В., 2021). Решения, связанные с заменой антибиотиков, могут иметь решающую роль в формировании новых практических методов ведения хозяйственной деятельности (Cook M.A. et al., 2022). Таким образом, использование альтернативных добавок Профорт® и Пробиоцид®-Ультра является актуальной задачей и имеет высокий приоритет практической значимости в птицеводстве, при изучении проблемы, связанной с ограничением использования кормовых антибиотиков (Бражник Е.А. и др., 2020).

Современные молекулярно-генетические методы исследований ЖКТ животных и птиц, а также понимание потенциальных возможностей пробиотических штаммов позволяет конструировать кормовые добавки для решения определенных задач в птицеводстве (Ильина Л.А. и др., 2020).

Применение добавок Пробиоцид®-Ультра и Профорт®, как по отдельности, так и вместе, позволяет получать более безопасную продукцию. Поставленные

цели можно реализовать через процессы нормализации системы пищеварения, снижения уровня нежелательных микроорганизмов, что приведет к повышению сохранности и улучшению показателей продуктивности у цыплят-бройлеров (Фисинин В.И. и др., 2003; Йылдырым Е.А. и др., 2020; Wickramasuriya S.S. et al., 2022).

Выполненные научно-хозяйственные испытания подтверждают целесообразность применения добавок в бройлерном птицеводстве, которые могут быть применены в рамках практических рекомендаций к руководству при совершенствовании технологии выращивания промышленного стада цыплят-бройлеров.

**Цели и задачи исследований.** Целью работы является научно-производственное обоснование использования добавок Профорт® и Пробиоцид®-Ультра в рационах цыплят бройлеров промышленного стада.

Для достижения поставленной цели были обозначены следующие задачи:

- изучить входящие в состав добавок Профорт® и Пробиоцид®-Ультра пробиотические микроорганизмы, их биологический потенциал и безопасность с использованием метода полногеномного секвенирования NGS (next generation sequencing – секвенирования нового поколения) и биоинформатических подходов;
- исследовать влияние добавки Профорт® и Пробиоцид®-Ультра на показатели продуктивности цыплят-бройлеров в условиях вивария;
- исследовать влияние добавки Пробиоцид®-Ультра на показатели продуктивности цыплят-бройлеров в условиях промышленного выращивания при отмене кормового антибиотика;
- исследовать влияние комбинации добавок Профорт® и Пробиоцид®-Ультра на показатели продуктивности цыплят-бройлеров в условиях промышленного выращивания при отмене кормового антибиотика;
- дать экономическую оценку эффективности, целесообразности применения комбинации кормовых добавок для цыплят-бройлеров и разработать рекомендации по их практическому использованию.

**Научная новизна исследований.** В результате проведенных работ были изучены пробиотические микроорганизмы, входящие в состав кормовых добавок, их потенциальная роль и безопасность в обеспечении благополучия здоровья и оптимизации процессов пищеварения при выращивании кур мясного направления продуктивности. Исследована практическая значимость добавок Профорт® и Пробиоцид®-Ультра и возможность их применения вместо кормовых антибиотиков. Автором доказана целесообразность совместного использования добавок Профорт® и Пробиоцид®-Ультра. Применение добавок позволяет отказаться от использования кормовых антибиотиков при сохранении продуктивности и показателей здоровья птицы и вместе с тем повысить эффективность использования кормовых ресурсов.

**Теоретическая и практическая значимость.** Введение в состав рациона при промышленном выращивании бройлерных-цыплят кросса «Кобб-500», добавок Профорт® и Пробиоцид®-Ультра в дозировке 0,5 кг и 1,0 кг на 1 т комбикорма, соответственно, позволило увеличить сохранность на 2,5% в абсолютном выражении, снизить конверсию на 1,2% (19 г), повысить индекс продуктивности на 6,6% и увеличить массу одной головы при убое на 2,6%.

Таким образом, внедрение в цикл производства данной технологии позволит получать более безопасную продукцию при сбережении ресурсов.

**Методология и методы исследований.** При выполнении поставленной задачи были собраны и проанализированы обширные научные труды отечественных и зарубежных ученых в области кормления, генетики и микробиологии сельскохозяйственной птицы. На базе этого анализа была разработана собственная научная концепция, для подтверждения которой проведен ряд научных изысканий, затрагивающих разные дисциплины науки.

Полученные в ходе исследований данные обрабатывали с помощью различных биоинформатических программ и с использованием открытых валидированных баз данных. Статистический анализ и визуализацию выполняли с помощью специализированного программного обеспечения. Теоретические и практические исследования проведены согласно общепринятым стандартным

методам по действующим нормам и правилам. Статистический анализ проводили с использованием актуальных версий таких программ, как RStudio и Microsoft Excel согласно общепринятому протоколу анализа. Используемые цифровые данные проходили многократную проверку путем визуализации и повторных расчетов.

#### **Основные положения, выносимые на защиту:**

1. установлен биологический потенциал и безопасность бактерий, входящих в состав добавок Профорт<sup>®</sup> и Пробиоцид<sup>®</sup>-Ультра;
2. использование добавки Профорт<sup>®</sup> или Пробиоцид<sup>®</sup>-Ультра в рационе цыплят-бройлеров способствует повышению продуктивности и снижению расхода кормов на единицу получаемой продукции;
3. применение добавки Пробиоцид<sup>®</sup>-Ультра при выращивании цыплят-бройлеров в промышленных условиях позволяет отказаться от использования кормовых антибиотиков, при этом сохранить показатели продуктивности и повысить эффективность выращивания;
4. использование комбинации кормовых добавок Профорт<sup>®</sup> и Пробиоцид<sup>®</sup>-Ультра при выращивании цыплят-бройлеров может стать альтернативой при ограниченном использовании кормовых антибиотиков, имеет экономическую целесообразность и позволяет получить более безопасную продукцию.

#### **Степень достоверности и апробация результатов работы.**

Первоначальные исследования, проведенные в 2019 г., позволили оценить состояние ЖКТ бройлеров кросса «Кобб-500» под действием кормовой добавки Профорт<sup>®</sup> (Бражник Е.А. и др., 2019). В тот же год была доказана эффективность использования эфирных масел в борьбе с сальмонеллезом в бройлерном птицеводстве (Laptev G.Y. et al., 2019). С 2020 года уже целенаправленно проводился поиск возможных альтернативных решений для замены антибиотиков в птицеводстве (Бражник Е.А. и др., 2020; Ыылдырым Е.А. и др., 2020).

Практическая значимость и достоверность работы подтверждены актами и протоколами производственных испытаний на агропромышленных комплексах. Материалы диссертации были озвучены и рассмотрены на следующих международных и научно-практических конференциях, где получили положительную оценку:

- Влияние кормовой добавки «Профорт®» на морфологию кишечника кур / Е. А. Бражник, В. С. Иванов, Г. Ю. Лаптев, Н. И. Новикова // Научное обеспечение развития АПК в условиях импортозамещения : сборник научных трудов по материалам международной научно-практической конференции, посвящается 115-летию Санкт-Петербургского государственного аграрного университета, Санкт-Петербург – Пушкин, 24–26 января 2019 года. Том Часть I. – Санкт-Петербург - Пушкин: Санкт-Петербургский государственный аграрный университет, 2019. – С. 159-162;
- Кормовые добавки для животных и птицы в России в связи с ограничением использования антибиотиков / Е. А. Бражник, Д. Г. Тюрина, Г. Ю. Лаптев // Экология и общество: баланс интересов: Сборник тезисов докладов участников Российского научного форума, Вологда, 16–20 ноября 2020 года / Отв. редактор А.А. Шабунова. – Вологда: Вологодский научный центр Российской академии наук, 2020. – С. 272-275;
- Микробиологические кормовые добавки для обеспечения ресурсосберегающего производства в птицеводстве / Е. А. Бражник, В. Х. Меликиди, Н. В. Тарлавин [и др.] // Селекционные и технологические аспекты интенсификации производства продуктов животноводства : по материалам Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, посвященной 150-летию со дня рождения академика М.Ф. Иванова, Москва, 3 – 4 марта 2022 года. Том ЧАСТЬ II. – Москва: Российский государственный аграрный университет - МСХА им. К.А. Тимирязева, 2022. – С. 199-203.

**Личный вклад автора.** В выполненных научных исследованиях, представляющих диссертационную работу, автору принадлежит основная роль разработчика методологии, в сборе, обработке и осмыслении результатов, отборе проб для зоотехнического анализа, микробиологических исследований, в проведении биоинформатического и статистического анализа. За участие в подготовке публикаций, написании диссертации и внедрении нового продукта в производство также ответственен автор.

**Публикация результатов исследований (Апробация работы и публикации).** Основные положения и результаты работы доложены на 3 международных конференциях. По проблемам, поднимаемым в диссертации, опубликовано 10 работ, в том числе один патент, 5 статей в рецензируемых журналах, из них – 3 публикации, рекомендованных ВАК и 2 работы в изданиях, индексируемых базами Web of Science и Scopus.

**Объем и структура диссертации.** Диссертационная работа изложена на 154 страницах, иллюстрирована 18 таблицами и 18 рисунками, состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследований, результатов исследований и их обсуждения, выводов и предложений производству, библиографического списка, включающего 314 источника.

**Благодарности.** Автор выражает сердечную благодарность своему научному руководителю Георгию Юрьевичу Лаптеву и финансовому директору Наталье Ивановне Новиковой, руководителям компании «БИОТРОФ», за оказанную помощь и поддержку при проверке научных гипотез.

## **2. ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ**

### **2.1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ**

#### **2.1.1. Антимикробная резистентность и ее предотвращение**

Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ), Всемирная организация по охране здоровья животных (МЭБ) и Продовольственная и сельскохозяйственная организация ООН (ФАО) с 2015 года объединили свои силы по борьбе с антибиотикорезистентностью микроорганизмов (Бражник Е.А. и др., 2020). Излишнее применение антибиотиков приводит к резистентности микроорганизмов, что рассматривается как новая серьезная угроза здоровью и продовольственной безопасности (Бражник Е.А. и др., 2020).

Правительством РФ определена Стратегия по недопущению антимикробной устойчивости к антибиотикам, которая была доведена до сведения 25 сентября 2017 года №2045-р. Программа стратегии запланирована на период до 2030 года (Распоряжение №2045-р, 2017). Проект предусматривает совершенствование мер по контролю и учету кормовых добавок для животных, биологических средств и лиц, осуществляющих производство и использование этой продукции (Бражник Е.А. и др., 2020).

Гармонизацию российских нормативных актов с европейским законодательством обеспечивает единство норм по продовольственной безопасности. Примером может служить Евразийский экономический союз, предназначенный для облегчения движения товаров, а также услуг, капитала и рабочей силы, и проведение скоординированной, согласованной или единой политики в отраслях экономики (Доржиева В.В., 2019). Единые нормы безопасности для кормов и кормовых добавок предоставляет возможность участникам союза взаимовыгодно строить отношения и совместно использовать ресурсы (Ронжина Н.А. и др., 2023).

Независимые консультации и информацию по существующим и возможным рискам, связанными с пищевыми продуктами, предоставляет Европейское агентство по безопасности продуктов питания (EFSA)<sup>1</sup>. В обязанности агентства входит решение задач, связанных с влиянием среды обитания на безопасность кормов для животных и пищевых продуктов, в том числе защита растений и здоровья животных<sup>2</sup> (EFSA, 2023).

Регулирование использования антибиотиков потребовало поиска потенциальных альтернатив для замены антибиотиков-стимуляторов роста и снижения распространенности бактериальных заболеваний в органическом животноводстве. Сейчас в мировой науке происходит повторное исследование антибактериальных веществ. Альтернативой антибиотикам в отрасли птицеводства, являются пробиотики, пребиотики, постбиотики, органические кислоты и растительные экстракты, действие которых основывается на естественных природных процессах свойственных живым организмам. Крайне важным для сохранения и защиты общественного здоровья человека и животных является разработка альтернативы антибиотикам (МБОУА Е.А. et al., 2018; Уейка Е.В. et al., 2021).

Считается, что от инфекций, вызванных несколькими устойчивыми штаммами бактерий в Европе ежегодно умирают до 25000 человек (ECDC, 2017), а в Соединенных Штатах эта цифра достигает 23000. При этом, еще более значительная часть населения, также имеет проблемы, связанные с антибиотикоустойчивыми патогенами (Davis M.E. et al., 2017). Таким образом, наиболее важным становится поиск и разработка антимикробных веществ с принципиально новыми механизмами действия, а также новых методов лечения и профилактики инфекционных заболеваний. Преодоление кризиса с антибиотиками будет таким же революционным решением, как и их прошлое внедрение в современную медицину (Cook M.A. et al., 2022). Поиск новых антибиотиков является дорогостоящей и трудной задачей. Так, открытие и

---

<sup>1</sup> <https://www.efsa.europa.eu/en/data/data-reports>

<sup>2</sup> <https://www.efsa.europa.eu/en>

разработка новых антибиотиков занимает не менее десяти лет и стоит более 1 миллиарда долларов США (Iskandar K. et al., 2022).

Изучение геномов бактерий с применением биоинформатических методов, позволяет обнаружить пути биосинтеза биоактивных природных соединений, а также исследовать их функциональное и химическое действие. С помощью этих методов можно проверить возможность продуцирования новых химических структур бактериями, которые могут быть альтернативой антибиотикам (Caffrey P. et al., 2022). Например, с помощью биоинформатических методов, при анализе генома, ассоциированного с лишайником *Streptomyces sp.* YIM 130001 удалось идентифицировать новый тиопептидный антибиотик генинтийоцин В, обладающий биологической активностью в отношении *Bacillus subtilis* (Schneider O. et al., 2018). Наряду с этим традиционные методы и подходы также являются основой для успешного будущего развития инноваций в области антибиотиков. Компьютерное моделирование биологических систем позволяет по-новому взглянуть на проблему безопасного применения биологических средств.

### 2.1.2. Спектр современных кормовых добавок

Анализ Государственного реестра Россельхознадзора<sup>3</sup> (Россельхознадзор, 2022) показал, что первые записи о регистрации появились в мае 2010 г. В 2014 году было зарегистрировано наибольшее количество добавок (Бражник Е.А. и др., 2020). После этого наблюдается снижение тренда, который стабилен по настоящее время. В 2022 году в реестре зарегистрировано всего 266 добавок, из них отечественных только 91. При этом соотношение зарубежных к отечественным постепенно снижается с 2019 по 2020, 2021 и декабрь 2022 года с 7,4 до 6,3, 2,5 и 1,9, соответственно (рисунок 1).

---

<sup>3</sup> <https://galen.vetrif.ru/#/registry/feed/registry?page=1>

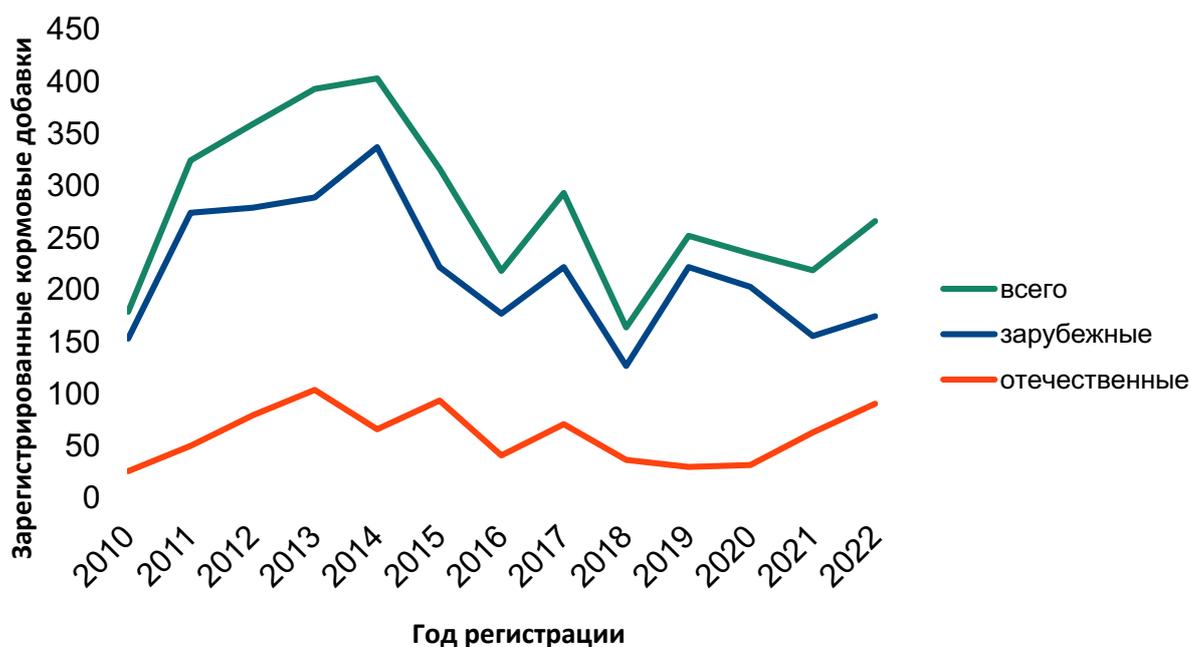


Рисунок 1 – Анализ динамики регистрации кормовых добавок (с изменениями, Бражник Е.А. и др., 2020)

Уменьшение числа зарегистрированных новых кормовых добавок объясняется ростом курса иностранных валют по отношению к рублю, что мешает расширению ассортимента как импортерами, так и российскими производителями (Бражник Е.А. и др., 2020). Использование единого рынка Таможенного союза, также способствует снижению числа регистрации добавок, так как имеется возможность регистрировать кормовые добавки в Беларуси, Казахстане и Армении (Бражник Е.А. и др., 2020). В дополнение, российский рынок продукции животноводства близок к насыщению по многим видам продукции, поэтому в краткосрочной перспективе не прогнозируется лавинообразного роста (при условии, если не будут открыты новые рынки для сельхозпроизводителей России). Исходя из этого объяснения, производители кормовых добавок могут перестать расширять ассортимент товаров (Бражник Е.А. и др., 2020).

В современных условиях сокращение использования антибиотиков в животноводстве и птицеводстве представляет большую проблему (Руин В.А. и др., 2022). Специализированные добавки для сельскохозяйственных животных



Представленные наиболее известными компаниями: Lallemand SAS, DSM Nutritional Products, Cargill, Chr. Hansen Czech A/S, Calpis America и Kemin Cavriago s.r.l. Среди отечественных производителей пробиотиков наиболее известны: ООО «Сиббиофарм» (Новосибирская область), ООО «БИОТРОФ» (Санкт-Петербург), ООО «НИИ Пробиотиков» (Москва), ООО НВП «БашИнком» (Уфа), ООО «Биотехагро» (Краснодар) и другие (Мурленков Н.В., 2019).

Специфичной характеристикой для добавок является используемый вид и штамм бактерий. Чаще всего в состав пробиотиков входят один или два штамма, реже больше. В последние десятилетия наиболее изученными бактериями являются *Bacillus subtilis*, на их основе пробиотики являются наиболее перспективными (Хадиева Г.Ф. и др., 2019). Их пробиотический эффект связан прежде всего со способностью образовывать противомикробные вещества, ферменты, а также со свойством усиливать неспецифический и специфический иммунитет, стимулировать рост нормальной микрофлоры кишечника и угнетать патогенную микрофлору (Новик Я.В. и др., 2021; Цыханская О.В. и др., 2022). Для бактерий *Bacillus subtilis* свойственны способности секретировать рибосомально синтезируемые пептиды, а также и нерибосомально синтезируемые пептиды и непептидные вещества, обладающие противомикробной активностью в отношении широкого спектра бактерий, вирусов и грибов (Похиленко В.Д. и др., 2022). В качестве пробиотических добавок в кормах животных и птицы, а также как пищевые добавки и лекарственные средства для человека используют следующие известные штаммы бактерий: *Bacillus subtilis* R-179, *Bacillus subtilis* БИМ В-454 Д, *Bacillus subtilis* LF11 (Сверчкова Н.В., 2020; Zhang R. et al., 2022).

Микроорганизмы, используемые в качестве основы для пробиотиков, должны соответствовать определенным требованиям безопасности – являться непатогенными и нетоксичными. Также они должны быть технологичными, что заключается в способности сохранять жизнеспособность в процессе получения лиофилизированных препаратов, длительном сроке хранения и легком

процессе производства (Каблучеева-Пашник Т.И. и др., 2016). Кроме того, микроорганизмы должны быть устойчивы к низкому рН и ферментам, способными сохранять жизнеспособность при прохождении желудочно-кишечного тракта. Преимуществом для пробиотических микроорганизмов также является способность колонизировать и удерживаться на поверхности кишечника (González-Rodríguez I. et al., 2013). Внедрение концепции природных решений позволяет сохранить экологическое равновесие и снизить антропогенный фактор в хозяйственной деятельности.

### **2.1.3. Роль биоразнообразия микрофлоры желудочно-кишечного тракта в здоровье и продуктивности птицы**

Разнообразие микроорганизмов системы пищеварения сельскохозяйственных животных и птицы является важным фактором сохранения их здоровья и достижения наилучшей продуктивности. Богатство кишечной микрофлоры варьируется в разных отделах кишечника. Для птицы свойственным является высокое разнообразие и численность микроорганизмов в слепых отростках кишечника (Arajalahti J. et al., 2004; Misiukiewicz A. et al., 2021).

Классические микробиологические методы исследований с помощью высева на питательные среды в чашка Петри, позволяют изучить лишь незначительную часть от реального количества микроорганизмов. Не для всех микроорганизмов удастся подобрать условия и питательную среду для их успешного культивирования. Также невозможно воспроизвести экологические ниши и симбиотические отношения, которые встречаются в сложных природных средах. Некультивируемые микроорганизмы представляют подавляющее большинство микробного мира для изучения которых требуется другие методологические подходы (Nocker A. et al., 2007).

Впервые в 1985 году Пэйсом с соавторами было предложено для полного описания таксономического (филогенетического) состава природных

микробных сообществ прокариот использовать ген 16S рРНК. Таким образом, для изучения сообществ микроорганизмов все чаще стали прибегать к методу метагеномных исследований. Термин «метагеномика» или «экологическая геномика» (от английского *metagenomics*) в последующем использовал Джо Хандельсманом с соавторами в публикации 1998 года (Handelsman J. et al., 1998).

Желудочно-кишечный тракт птиц намного короче по сравнению с желудочно-кишечным трактом млекопитающих, а среднее время переваривания корма составляет менее 3,5 часов (Hughes R.J. 2008). Внутренняя оболочка кишечника имеет наибольшую площадь соприкосновения с внешней средой для наилучшего всасывания питательных веществ, но в то же время представляет собой ворота для возможного проникновения чужеродных агентов. Возникающие на этой почве дискуссии в научных кругах, занимающихся аспектами кормления птицы, демонстрируют актуальность данного вопроса. Здоровье кишечника характеризуется физическим состоянием различных частей желудочно-кишечного тракта, их физиологией и гомеостазом. Структура корма, состояние слизистой оболочки, микробиом кишечника и иммунная система являются критериями, определяющими здоровье кишечника (Wickramasuriya S.S. et al., 2022). Слепые отростки кишечника птицы (лат. *Caecum*), в просвете которых содержится огромная популяция бактерий, является динамической средой, которая влияет и на гомеостаз хозяина. Кроме того, микробное сообщество кишечника позволяет вытеснить патогенные микроорганизмы, участвует в ферментации сложных полисахаридов и обеспечивает хозяина энергией в виде летучих жирных кислот (Deng Pan et al., 2014). Понимание многофакторной системы взаимодействия хозяина и микробиоты кишечника может положительно влиять на исход инфекционных заболеваний птицы (Landim de Barros T. et al., 2022).

Микробиота цыплят при разных условиях эксперимента может отличаться высокой изменчивостью. Обычно с целью снижения распространения кишечных патогенов в рацион птицы включают различные антибиотики. Альтернативным решением может стать применение фитобиотиков. *Salmonella enterica serovar*

*Enteritidis* вызывает одно из наиболее важных зоонозных заболеваний как сальмонеллез, которое передается человеку через сырые, либо недостаточно обработанные термически продукты животного происхождения, включая яйца и мясо птицы (Mughini-Gras L. et al., 2014). Использование модулирующих кормовых добавок на основе эфирных масел может способствовать активации иммунитета и нормализации состава микрофлоры при заражении *Salmonella enterica* у птицы, что в конечном итоге приводит к поддержанию продуктивности (Laptev G.Y. et al., 2019). Исследование действия фитобиотика на курах – несушках продемонстрировало активацию генов иммунитета, уже через сутки после инфицирования патогенным штаммом *Salmonella enterica* (SE). В месте с тем наблюдалось и изменение в бета биоразнообразия микрофлоры слепых отростков кишечника (рисунок 3) (Laptev G.Y. et al., 2021).

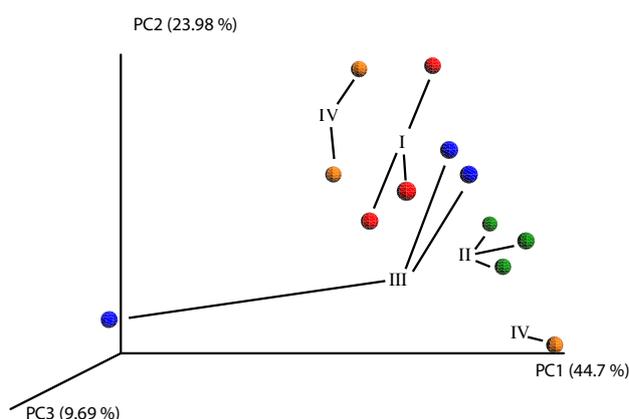


Рисунок 3 – Микробное разнообразие слепых отростков кур-несушек на 7 сутки опыта методом главных компонент в виде трехмерного графика PCoA EMPeror (Vázquez-Baeza Y. et al., 2013) с использованием метрики Weighted UniFrac (одна точка соответствует одной несушке) в подгруппах: I - контроль без заражения, II - заражение SE и без введения фитобиотика, III – с фитобиотиком и без заражения, IV – с фитобиотиком и с заражением SE (Laptev G.Y. et al., 2021)

Основным инструментом анализа биоразнообразия, основанным на зависимости от факторов окружающей среды является метод иерархической

декомпозиции на  $\alpha$ -,  $\beta$ - и  $\gamma$ -разнообразии. С помощью  $\alpha$ -разнообразия можно дать описание разнообразию внутри сообщества,  $\beta$ -разнообразие позволяет установить разнообразие между сообществами,  $\gamma$ -разнообразия – показатель объединяющий  $\alpha$ - и  $\beta$ - разнообразие и является надценотической системой по градиентам среды (Whittaker, 1972). Бета-разнообразие объединяет информацию о степени функциональных различий между несколькими популяциями и рассчитывается как индекс подобия (например, Bray-Curtis), который показывает общие популяции между микробными профилями нескольких сообществ (Martiny J.B. et al., 2011). При инфицировании кур-несушек патогенным штаммом *Salmonella enterica* изменение в составе микрофлоры кишечника зафиксировано уже на первые сутки после заражения (Laptev G.Y. et al., 2021). Стало заметным отличие  $\beta$  – разнообразия микробиома слепых отростков между здоровой и зараженной птицей. Непараметрический анализ сходства показал достоверные отличия между группами (рисунок 4) (Бражник Е.А. и др., 2019).

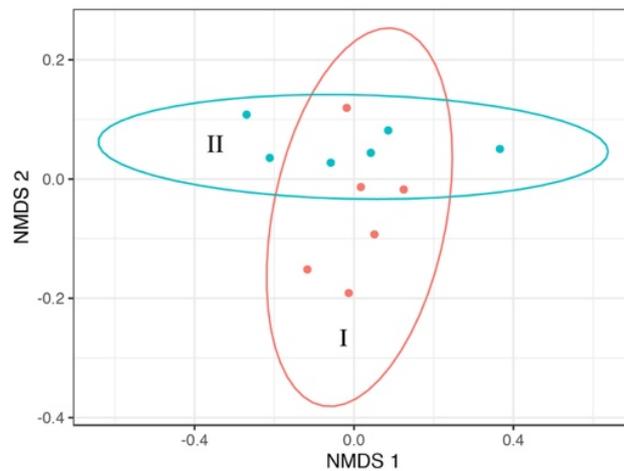


Рисунок 4 – Анализ сходства микробиома слепых отростков кишечника птицы методом NMDS: I - контрольная группа, II — с зараженная SE, NMDS1 и NMDS2 – оси многомерного шкалирования. Статистическая значимость теста определялась при помощи 999 перестановок,  $R = 0,1833$ ,  $p = 0,048$  (Бражник Е.А. и др., 2019)

Анализ оценки видов, биоразнообразия в метагеномике сводится к тому, что схожие нуклеотидные последовательности (сиквенсы) гена 16S рРНК,

объединяются в операционные таксономические единицы (OTU, англ., operational taxonomic unit), которые в последствии сравниваются с филогенетическими таксонами назначенного уровня. Таким образом, OTU представляется альтернативой для разных таксономических уровней при отсутствии принятых систем классификации. Сиквенсы могут быть объединены на основе порога сходства друг с другом, обычно принятым значением является 97%, реже 100%, которые определяются исходя из метода кластеризации и сложности выборки (рисунок 5) (Chen W. et al., 2013). В отсутствие актуалистических видов они являются информационными суррогатами, что является особенностью для метагеномики (Скопина М.Ю. и др., 2016).

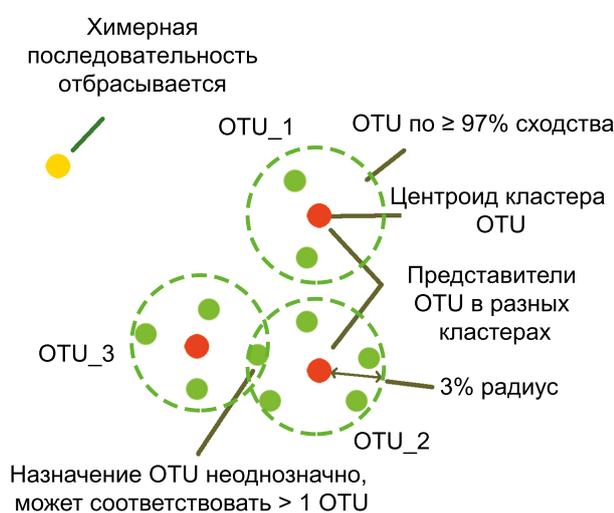


Рисунок 5 – Информационные суррогаты – OTU (последовательности гена 16S рРНК высокого уровня близкого сходства) (измененный рисунок<sup>5</sup>; Chen W. et al., 2013)

Достижения в области анализа данных последовательностей ампликонов привели к изменению методологии от кластеризации OTU к использованию метода шумоподавления и с получением новой единицы – вариантов последовательностей ампликона (ASV, англ., amplicon sequence variants). Методы шумоподавления создают модель ошибки, основанную на качестве запуска секвенирования, и используют эту модель, чтобы отличить

<sup>5</sup> <https://thejacksonlaboratory.github.io/microbiome-workshop/jekyll/update/2017/11/16/Analysing-16S-data-part-1.html>

предсказанную «истинную» биологическую вариацию от той, которая вероятно, вызвана ошибкой секвенирования (Callahan B.J. et al., 2017). Считается, что использование ASV позволяет проводить более тонкое различие между последовательностями. Однако, при проведении сравнительного анализа для  $\alpha$  и  $\beta$  – разнообразия бактериальных сообществ, эти два подхода демонстрируют схожие результаты. Кроме того, ASV лишь незначительно увеличивают генетическое разрешение грибкового и бактериального разнообразия по сравнению с OTU (в 1,3 и 2,1 раза, соответственно). Таким образом, результаты полученные одним из методов, с равной степенью являются достоверными (Glassman S.I. et al., 2018).

Обилие видов внутри сообществ (выборки) принято определять по их альфа-разнообразию, которое можно охарактеризовать с использованием индексов, получивших наибольшее распространение: Шеннона, Симпсона и других. Индекс Шеннона можно интерпретировать как меру энтропии и отражение сложности сообщества. Этот индекс основан на мысли о том, что информацию или разнообразие, в естественной системе можно измерить (Мэгарран Э., 1992), который рассчитывается по формуле:

$$H = - \sum_{i=1}^S p_i \cdot \ln p_i, \quad (1)$$

где  $H$  – индекс Шеннона,  $S$  – число обнаруженных видов,  $p_i$  – доля особей  $i$  – го вида. Истинное значение  $p_i$  неизвестно и оценивается как:

$$p_i = n_i/N. \quad (2)$$

где  $n_i$  – число особей  $i$  – го образца в пробе,  $N$  – общее число особей в пробе.

Индекс Симпсона относится к мере доминирования и демонстрирует обилие самых обычных видов, а не видовое богатство. Индекс имеет наибольшую чувствительность к наличию в выборке наиболее обильных видов и слабо зависит он видового обилия. Этот индекс часто используют как «обратный индекс Симпсона» ( $1/D$ ):

$$D_s = 1 / \sum_{i=1}^S p_i^2. \quad (3)$$

где  $D_s$  – индекс Симпсона,  $S$  – число видов,  $p_i$  – доля особей  $i$  – го вида.

Формула Симпсона описывает вероятность принадлежности любых двух особей к разным видам, случайно отобранных из неопределенно большого сообщества (Simpson E.H., 1949). С увеличением разнообразия (выравненности обилия видов) индекс возрастает.

Для оценки филогенетического разнообразия А. Чао с соавторами предложил индекс, представленный взвешенной суммой ветвей филогенетического дерева по всем видам для определенного сообщества. Индекс Чао понимается как эффективная суммарная длина филогенетических ветвей (Chao A. et al., 2010).

$$S_{Chao1} = S_{obs} + \frac{f_1^2}{2 f_2}, \quad (4)$$

где  $S_{Chao1}$  – индекс Chao1,  $S_{obs}$  – обнаруженное количество таксонов (видов),  $f_1$  – число таксонов, содержащих в одном сиквенсе (singletons),  $f_2$  – число таксонов, представленных двумя сиквенсами (doubletons). Скорректированная формула, которая применяется при нулевом количестве  $f_2 = 0$  (нет doubletons):

$$S_{Chao1} = S_{obs} + \frac{f_1 (f_1 - 1)}{2 (f_2 + 1)}. \quad (5)$$

С помощью рассмотренных метрик можно дать количественную оценку роли микроорганизмов в системе пищеварения и оказанного влияния на продуктивность сельскохозяйственных животных (Лаптев Г.Ю. и др., 2021).

#### 2.1.4. Микроорганизмы пищеварительного тракта птицы

В птицеводстве основными компонентами комбикормов является растительное сырье (пшеница, фуражный ячмень, рожь, кукуруза, а также зерно бобовых и масличных культур). Углеводы которых представлены в основном целлюлозой, гемицеллюлозой, пектиновыми веществами и лигнином,

представляющиеся некрахмалистыми полисахаридами (НПС) (Лаврентьев А.Ю. и др., 2020). Некрахмалистые полисахариды представляют основную часть антипитательных веществ, труднопереваримых для организма птицы. Сотрудниками ООО «БИОТРОФ» было продемонстрировано, что бактерии населяющие слепые отростки кур в большей степени ответственны за процессы пищеварения и состояние здоровья птицы (Лаптев Г.Ю. и др., 2020). В слепых отростках содержится наибольшее количество целлюлозолитических микроорганизмов – это клостридии, флавобактерии, превотеллы, лахноспиры, зубактерии, руминококки и другие. Помимо них в слепых отростках может содержаться от 1 до 10% бацилл, способных угнетать патогенные микроорганизмы, а также синтезировать некоторые витамины. Кроме бацилл антимикробной активностью обладают бифидобактерии и лактобактерии, содержащихся в количестве 0,5 – 24% и 0,5 – 8%, соответственно (Лаптев Г.Ю. и др., 2020).

подавляющее большинство исследователей сосредотачивают свое внимание на слепых отростках толстого отдела кишечника, поскольку именно там можно обнаружить наибольшую концентрацию микроорганизмов. Существует устоявшееся предположение, что микробиота слепой кишки играет важную роль в питании за счет производства короткоцепочечных жирных кислот, рециркуляции азота и производства аминокислот (Józefiak D. et al., 2004; Sergeant M.J. et al., 2014).

Лаура Глендиннинг вместе с соавторами провели наблюдение за изменением состава микрофлоры двенадцатиперстной, тощей, подвздошной и слепой кишки цыплят от момента вылупления до 5 – недельного возраста бройлерных цыплят кросса «Росс 308». В результате было установлено, что изменение состава, разнообразия и богатства микробного сообщества происходило в течении всего времени во всех отделах кишечника. Микробные сообщества в кишечнике цыплят в первые дни жизни имеют небольшое разнообразие и обычно доминируют либо представители *Enterobacteriaceae*, либо *Clostridiaceae* (Schokker D. et al., 2015). С 3-го дня во всех отделах тонкого

кишечника уже преобладали бактерии двух родов: *Lactobacillus* и *Enterococcus*, а слепых кишках кроме них также обнаруживались *Escherichia-Shigella* и неклассифицированные представители *Enterobacteriaceae* и *Lachnospiraceae*. В дальнейшем состав микробного сообщества слепой кишки окончательно формируется лишь к 5-й недели жизни и имеет значительное отличие от других отделов кишечника (Glendinning L. et al., 2019).

При выращивании цыплят в естественных условиях оплодотворенные яйца находятся в тесном контакте со взрослой курицей в течение 21 дня эмбрионального развития, то же самое происходит и с только что вылупившимися цыплятами, которые контактируют со взрослой курицей с первых минут жизни. Благодаря этому естественным образом формируется и микрофлора пищеварительного тракта цыплят (Горфункель Е.П. и др., 2021). Однако при коммерческом подходе при выращивании цыплят с использованием инкубаторов и стремлении к стерильным условиям, развитие микробиоты происходит полностью искусственным образом и не имеет ничего общего с биологией кур. Ученые Чехии в своем обзоре предположили, что желудочно-кишечный тракт коммерческих бройлерных кроссов, экспериментально заселенный микробиотой от взрослой курицы, может быть колонизирован микробиотой взрослого типа с первых дней жизни, что позволяет быть устойчивым к инфекциям, вызванным патогенными *Escherichia coli*, *Clostridium perfringens* или *Salmonella* (Rychlik I. 2020). Ранее Марьятта Рантала и Нурми успешно предотвратили колонизацию кишки цыплят при заражении *Salmonella infantis* с использованием предварительно обработанной культивированной микрофлорой пищеварительного тракта взрослой курицы (Rantala M. et al., 1973). Таким образом, своевременное формирование микрофлоры желудочно-кишечного тракта с использованием пробиотиков может оказать положительное влияние на повышение эффективности при промышленном выращивании цыплят-бройлеров.

### 2.1.5. Вторичные метаболиты пробиотических микроорганизмов

Большинство бактериальных вторичных метаболитов (также называемых специализированными метаболитами) – это структурно сложные биомолекулы, которые могут соответствовать химически разным структурным классам. Роль этих биомолекул не связана с жизненно необходимыми функциями, а скорее добавляет определенные экологические или физиологические преимущества, позволяя их представителям процветать в определенных экологических нишах. Некоторые из этих соединений были идентифицированы как коммуникационные сигналы бактерий – quorum sensing (Majumdar S. et al., 2017; Abisado R.G. et al., 2018).

Благодаря развитию геномики бактерий, стало очевидно потенциальное разнообразие вторичных метаболитов. Было обнаружено, что бактериальные гены, кодирующие их биосинтез, обычно располагаются в непосредственной близости друг от друга, образуя легко детектируемые биосинтетические кластеры генов (BGC, англ., biosynthetic gene clusters) (Gavriilidou A. et al., 2022). Между определенным классом метаболита и его генной сигнатурой существует определенная связь, позволяющая предсказывать биосинтетические кластеры генов, что увеличивает скорость открытия специализированных метаболитов по сравнению с традиционными методами, основанными на выделении отдельных соединений. Эволюция инструментов геномики и биоинформатики расширяет поле зрения при изучении бактериальных геномов, результаты которых можно использовать для обнаружения биологически активных соединений (Albarano, L., et al., 2020).

С 1950-х по 1970-е годы около 60% новых антибиотиков было выделено из актинобактерий, и почти исключительно из *Streptomyces*. Кормовой антибиотик нозигептид является продуктом гриба *Streptomyces actuosus* и относится к группе тиопептидных антибиотиков (Houck D.R. et al., 1988; Yu Y. et al., 2009). В настоящее время произошло снижение выделения актинобактериальных продуктов до 28,5% из-за возросшего интереса к эндофитным грибам – 61%

(Bérdu J., 2012). Полногеномное секвенирование позволило взглянуть по-новому на актинобактерии: как оказалось, они содержат большое количество BGC, а именно *Streptomyces clavuligerus* содержит 58 BGC, *Streptomyces bottropensis* — 21 BGC, и *Streptomyces avermitilis* — 30 BGC, что несомненно воодушевляет на продолжение работы в этом направлении (Singh T.A. et al., 2021).

Полногеномное секвенирование с использованием высокопроизводительной технологии (NGS) является революционным методом, позволяющим ускорить исследования в области биохимии, молекулярной биологии и бактериальной генетики. Секвенирование генома совместно с применением биоинформатических методов исследования позволяет узнать функциональное разнообразие пробиотических бактерий, раскрыть важную информацию об их биохимических особенностях и потенциальных возможностях (Ребриков Д.В. и др., 2014).

Бактерии рода *Enterococcus* – грамположительные, не спорообразующие факультативно анаэробные, каталазоотрицательные фирмикуты, относящиеся к семейству *Enterococcaceae* (порядок *Lactobacillales*, класс *Bacilli*) (Bowler P.G. et al., 2001). Способность выживать в широком диапазоне температуры (5 - 65 °C), pH (4,5 - 10) и при высокой концентрации NaCl, обуславливает их широкое распространение. Обнаружить их можно повсеместно, они составляют большую часть микробиоты животных и человека. Также могут быть обнаружены в ферментированных продуктах питания: в колбасах, в сырах, в которых придают специфический аромат и вкус (Gilmore M.S. et al., 2014).

Для энтерококков характерным полезным свойством является продуцирование бактериальных пептидов, синтезированных на рибосомах, с антимикробным действием – бактериоцинов. Данные пептиды оцениваются как факторы, способствующие нормализации кишечного гомеостаза и резистентности организма животного и птицы к патогенным микроорганизмам, и всасывание клетками кишечника питательных веществ (Стоянов И.А., 2021). Вероятно, что антимикробные пептиды вносят существенный вклад как один из способов формирования экологической ниши (Gillor O. et al., 2009). По своим

свойствам бактериоцины способны выдерживать высокие температуры и обладают биологической активностью в широком диапазоне pH. Другим полезным их свойством является отсутствие специфического запаха, цвета и вкуса, которое весьма немаловажно при консервировании продуктов. Из-за их белковой природы они также легко разлагаются протеолитическими ферментами, которые недолго существуют в организме животного или в окружающей среде, что сводит к минимуму вероятность взаимодействия штаммов-мишеней с разрушенными фрагментами антибиотика (Negash A.W. et al., 2020).

Классификация бактериоцинов претерпевает постоянные изменения по мере изучения их структур. В литературе условно их разделяют на три класса, в зависимости от их структурных и физико-химических свойств. К I классу относятся бактериоцины (лантибиотики) небольшие (<5 кДа) термостабильные пептиды, которые подверглись сильной посттрансляционной модификации и содержат характерные полициклические тиоэфирные аминокислоты. Бактериоцины II класса – это небольшие пептиды (<10 кДа), термостабильные, не содержащие лантионина, которые после трансляции не модифицируются за исключением элиминации лидерного пептида и образования консервативного N-концевого дисульфидного мостика. К бактериоцинам III класса относятся термолабильные белки с высокой молекулярной массой (>30 кДа) (Zimina M. et al., 2020). Вместе с тем также принято, что продуцируемые *Enterobacteriaceae* большие модульные антимикробные белки >10 кДа, называют колицинами (Cascales E. et al., 2007), а с относительно низкой молекулярной массой <10 кДа, обычно называют микроцинами (Heng N.C.K. et al., 2006).

Бактерии *Enterococcus faecalis* и *Enterococcus faecium*, применяют для консервирования пищевых продуктов и кормов для животных. Образуемые ими большое разнообразие бактериоцинов, часто называют энтероцинами (Nanchi H. et al., 2018). Энтерококки могут продуцировать энтероцины с антимикробной активностью по отношению к *Clostridium sp.*, *L. monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* и *Vibrio cholerae* (Javed A. et al., 2011). Использование штаммов *E. faecium*

имеют большую историю безопасного применения в промышленных и сельскохозяйственных целях. Продукты на основе *E. faecium* используются для стимуляции роста и улучшения работы кишечника и здоровья свиней, коров и птицы. Первое описание использования пробиотика на основе *E. faecalis* рекомендовано после антибактериальной терапии, было описано Heinz Kolb в 1955 г (Rusch K. et al., 2001). В дальнейшем широкое распространение получили следующие штаммы *E. faecium*, используемые как пищевые добавки для человека, а в некоторых случаях и для животных – *E. faecium* R-026, *E. faecium* SF68, *E. faecium* OV3-6, *E. faecium* L3, *E. faecium* NCIMB10415 (Ghazisaeedi F. et al., 2022; Pi X. et al., 2022; Choeisoongnern T. et al., 2021; Bakulina N.V. et al., 2022; Vahjen W. et al., 2007).

Бактерии *E. faecium* являются наиболее популярными из бактерий, используемых в качестве пробиотика у животных. Хотя эти микроорганизмы являются обычными обитателями кишечника животных и человека, они также могут вызвать спорадические инфекции у животных. Возможная множественная резистентность к антибиотикам *Enterococcus spp.* может быть осложнена несколькими факторами вирулентности. Факторы вирулентности энтерококков, определяющие способность вызывать заболевание разделяют по классам: поверхностные белки, например, адгезины Acm/Ace, пили Ebp и внеклеточный поверхностный белок Esp (ESP, англ., extracellular surface protein); секретируемые извне, например, цитолизин, желатиназа (Gel) и сериновая протеаза); другие факторы вирулентности – гиалуронидаза (Gilmore M.S. et al., 2002). Считается, что вид, *Enterococcus cecorum* может является причиной заболевания домашней птицы. Так, проведенные исследования тушек птицы показали, что почти во всех выделенных изолятах был определен ген адгезина efaAfm, являющийся детерминантом вирулентности (Jackson C.R. et al., 2015).

Гены колицина находятся на колициногенных плаزمидах и являются частью оперонов колицина, которые включают также гены белков иммунитета и белков лизиса. Белки иммунитета защищают клетки, продуцирующие колицин, от цитотоксической активности накопленного колицина. Ген белка иммунитета

экспрессируется конститутивно (Lloubes R. et al., 1986). По механизму действия колицины делятся на две группы в зависимости от способа захвата, на который они нацелены. Колицины группы А используют систему Tol для связывания и проникновения в клетку-мишень, а группы В используют систему Ton. Колицин V относящийся к группе В и обладает порообразующей активностью, благодаря чему он встраивается в мембрану клетки-мишени из цитоплазмы и образует пору. Это вызывает деполяризацию мембраны, которая необходима клетке для синтеза АТФ. Как только этот процесс остановлен, клетка не может выжить и умирает (Waters V.L. et al., 1991).

Колицин V (ColV) представляет собой пептидный антибиотик, секретируемый некоторыми представителями семейства *Enterobacteriaceae* для уничтожения близкородственных бактериальных клеток, тем самым снижая конкуренцию за необходимые питательные вещества, путем нарушения потенциала мембраны (Gilson L. et al., 1990). Бактерицидное действие оказывается только тогда, когда предоставлен доступ к внутренней мембране с периплазматической стороны. Летальное действие колицины оказывают поэтапно, сначала связываясь со специфическими рецепторами, которые представляют собой белки наружной мембраны, используемые для поступления определенных питательных веществ. Затем они перемещаются через наружную мембрану и проходят через периплазму с помощью системы Tol или TonB. Затем колицины достигают своей летальной цели и действуют путем формирования потенциал-зависимого канала во внутренней мембране, либо используя свою эндонуклеазную активность на ДНК, рРНК или тРНК. (Cascales E. et al., 2007).

Антимикробное действие бактериоцинов обычно связано с нарушением целостности бактериальной мембраны, что приводит к гибели клеток. Из-за сложных процессов формирования защиты к бактериоцинам приобретенная устойчивость к ним все же может сформироваться, хотя и с меньшей скоростью и вероятностью (Simons A. et al., 2020). Совместное же применение бактериоцинов и антибиотиков позволяет сохранить бактерицидный эффект при меньшей концентрации антибиотика, тем самым обеспечивается снижение

нежелательных побочных эффектов. Данный подход может быть применен для обеспечения надлежащего качества и безопасности пищевых продуктов (Liu G. et al., 2022). Таким образом, использование смеси из противомикробных веществ для лечения различных бактериальных инфекций может способствовать уменьшению появления резистентных штаммов бактерий (LeBel G. et al., 2013).

Бактерии рода *Bacillus*. Бактерии *Bacillus subtilis* — это аэробные грамположительные почвенные бактерии, которые обладают значительным биосинтетическим потенциалом, изучение которого вызывает большой интерес. Они могут выделять многочисленные ферменты для деградации различных субстратов, что позволяет бактериям выживать в сложных условиях. Благодаря своей высокоэффективной системе секреции активных веществ, генетической стабильности, а также высокой технологичности при культивировании, они широко применяются с целью промышленного синтеза антимикробных соединений и ферментов, предназначенных для промышленности, сельского хозяйства и медицины. Цикл их ферментации обычно составляет 48 часов, что несомненно является преимуществом, позволяя за более короткое время получить больше биомассы по сравнению с *Saccharomyces cerevisiae*, цикл которых составляет около 180 часов (Su Y. et al., 2020).

Совсем недавно было показано, что группа рибосомно синтезированных и посттрансляционно модифицированных пептидов (RiPP, англ., ribosomally synthesized and post-translationally modified peptide), производимых *B. cereus*, известных как тиоциллины, индуцирует экспрессию генов матрикса биопленки у *B. subtilis*. Однако, антибиотико-опосредованное образование биопленок не является новым явлением, и во многих случаях считалось, что это неспецифический ответ на введение антибиотиков. Авторы отмечают, что активность тиоциллина при активации биопленки не зависит от его антибиотической активности. Таким образом было продемонстрировано, что специализированные метаболиты являются важным инструментом, с помощью которого бациллы взаимодействуют сами с собой и своим окружением, а также выполняют роль вторичных метаболитов, первоначально идентифицированных

как антибиотики, и имеют более одного биологического действия (Bleich R. et al., 2015; Arnaouteli S. et al., 2021).

Рибосомный синтез является фундаментальным процессом синтеза пептидов. Однако, за последние 50 лет исследователи установили еще одно альтернативное решение от природы, а именно синтез нерибосомных пептидов с использованием нерибосомных пептидных синтетаз, которые как оказалось в основном имеются у бактерий и грибов. Нерибосомными пептидами (NRP, англ., Nonribosomal peptides) называют продуцируемые бактериями и грибами вторичные метаболиты, которые обладают разнообразной биологической активностью (антибиотики, противоопухолевые средства, иммуносупрессоры), например, бацитрацин, циклоспорин и др. Нерибосомные пептиды синтезируются синтетазами нерибосомных пептидов (NRPS, англ., nonribosomal peptide-synthetase), которые не нуждаются в мРНК (Орлова Т.И. и др., 2012). Среди них есть клинически значимые соединения, например антибиотики – ванкомицин, противоопухолевые препараты – сибиромицин, блеомицин и др. (Гусева О.Е. и др., 2017; Leite V.M. et al., 2022).

За последние несколько десятилетий исследователям удалось получить представление о сложном механизме конвейерной сборки нерибосомных пептидов. Исследования в этом направлении основной импульс получили благодаря работе группы лауреата Нобелевской премии Фрица Липмана и Сёрена Лаланда (Fritz Lipmann и Søren Laland), которые определили основное представление о механизме работы NRPS. Было замечено, что синтез грамицидина S бактериями *B. brevis* проходит иначе, чем других белков (Berg T.L. et al., 1965).

В отличие от обычного синтеза пептидов на рибосомах, NRPS могут дополнительно включать в пептид различные непротеиногенные аминокислоты, которые могут извлекаться из пула клеточных продуктов основного метаболизма, так и дополнительно синтезироваться на небольших NRP синтетазах и включаться *in trans*, тем самым позволяя расширить разнообразие пептидов (Wenski S.L. et al., 2022). В синтезе NRP выделяют основные три

стадии: 1 – биосинтез субстрата; 2 – сборка пептидной цепи синтетазой; 3 – дополнительная модификация пептида после освобождения из синтетазы или еще в процессе синтеза. За интеграцию одной аминокислоты в конечный продукт отвечает определенная часть полипептидной цепи NRPS, которая называется модулем. Модули в свою очередь могут включать различные функциональные домены (адаптации, метилирования, окисления, гетероциклизации и др.). NRP синтетазы состоят из следующих основных модулей – аденилирующего домена (А) ответственного за специфичность распознавания аминокислоты и ее инициации; тиолирующего домена (Т), необходимого для переноски растущей пептидной цепи между модулями синтетазы и конденсирующего домена (С), для катализации образования пептидной связи. Модуль терминации имеет тиоэстеразный домен (ТЕ), ответственен за высвобождение пептида. Таким образом, прохождение ковалентно связанных последовательных модулей NRPS и определяет последовательность растущего пептида (Gnann A.D. et al., 2023; Süssmuth R.D. et al., 2017).

Особенностью синтеза нерибосомных пептидов (NRP) является сравнительно низкая эффективность их синтеза, обусловленная сложной координацией взаимодействия различных доменов. В следствии чего скорость удлинения пептида синтетазой на три порядка ниже, чем у рибосомы (Reimer J. M. et al., 2018).

Накопление информации в виде аннотированных баз данных геномов бактерий и грибов позволяет с помощью биоинформатического подхода осуществлять предопределение структур продуцируемого NRP по последовательности. Несмотря на то, что некоторые модули NRPS обладают релаксированной специфичностью, данный подход может быть применен для оценки биологического потенциала и безопасности микроорганизмов применяемых в народном хозяйстве (Blin K. et al., 2019; Narh Mensah D.L. et al., 2023).

АДЕП-1 (Ацил-де-пси-пептид) (ADEP-1) первоначально был идентифицирован у бактерий *Streptomyces hawaiiensis* (Patent № US4492650A,

1982), является представителем обособленного класса перспективных антибактериальных соединений, отличающихся способностью угнетать рост и вызывать гибель грамположительных патогенов, данные пептиды действуют путем дерегулирования протеазы ClpP (Kirstein J. et al., 2009).

Как член ацилдепсипептидных антибиотиков, действие ADEP-1 постулируется в прерывание белкового метаболизма в бактериальной клетке за счет сверхактивации внутриклеточных казеинолитических АТФ-зависимых протеаз. Таким образом, повреждение внутриклеточного белкового обмена приводит к нарушению клеточного деления, дифференцировке, нарушению спорообразования, что в конечном итоге приводит к гибели бактериальной клетки (Dhara A. et al., 2020). Также стало известно, что открытие боковых выходных пор ClpP связано со снижением уровня pH, вызванным накоплением пептида в протеолитической камере (Kim L. et al., 2022). Активации ClpP может быть наиболее эффективным решением против устойчивых к лекарствам бактерий (Culp E. et al., 2017).

Возможная роль ADEP-1 в борьбе с устойчивостью к антибиотикам обуславливается из-за нового механизма действия, который не используется другими антибиотиками, так без активации казеинолитической протеазы (ClpP), ClpP не может расщеплять длинные белковые цепи, потому что они больше, чем ее протеолитический канал и для этого требуется, чтобы АТФ разворачивала большие белки, позволяя им проходить через канал ClpP. Для ADEP-1 ( $C_{38}H_{50}N_6O_8$ ) полученному из *Streptococcus hawaiiensis* теоретический вес соответствует 737 Да (Lee M.E. et al., 2010).

Имея ввиду бактерицидную активность ADEP-1 относительно грамположительных бактерий, некоторые ученые предлагают применять ADEP-1 и другие ацилдепсипептидные противомикробные препараты для лечения заболеваний, вызванных *Clostridium difficile*, как отдельно, так и в сочетании с другими классами противомикробных препаратов (Petrosillo N. et al., 2018). В тоже время, другие ученые считают, что ацилдепсипептиды (ADEP) могут быть

эффективны для лечения и других заболеваний, включая туберкулез (Cobongela S.Z. et al., 2022).

Однако клиническое применение ADEP имеет ограничение из-за различных проблем, включая токсичность, растворимость, метаболическую нестабильность, неспецифичность и проницаемость мембран. Безопасность и целевая специфичность являются основными аспектами разработки лекарств. Для увеличения биодоступности и терапевтического эффекта применяется химическая модификация лекарств путем замены аминокислот (Anunthawan T. et al., 2015; Malanovic N. et al., 2016; Hollmann A. et al., 2018).

Для увеличения биодоступности и терапевтического индекса лекарств использовались такие стратегии, как химическая модификация лекарств, замена аминокислот. В настоящее время известно несколько модификаций исходных ADEP отличающихся по фармакодинамике и фармакокинетике. Исходный ADEP-1 (ADEP в комплексе с фактором А) представляет собой циклический пептид, состоящий из четырех природных аминокислот (пролин, аланин, серин и фенилаланин), двух метилированных аминокислот (4-метилпролин и N-метилированный аланин) и окта-2,4,6 -триеновой кислоты (рисунок 6). После первой модификации, связанной с удалением метильной группы из пролина, полученный таким образом (ADEP в комплексе с фактором В), также обладает антимикробной активностью по отношению к *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* и *Streptococcus pneumoniae* (Thomy D. et al., 2019).

В результате подобных модификаций, направленных на повышение жесткости ядра макролактона, осуществленное путем замены N-метилаланина в ядре макролактона на пипеколиновую кислоту, были образованы новые комплексы – ADEP2, ADEP4, ADEP14 (Cobongela S.Z. et al., 2022). Таким образом, существующую потребность в улучшенных природных пептидах можно восполнить путем их поиска среди уже известных пробиотических микроорганизмов, положительно зарекомендовавших себя на практике.

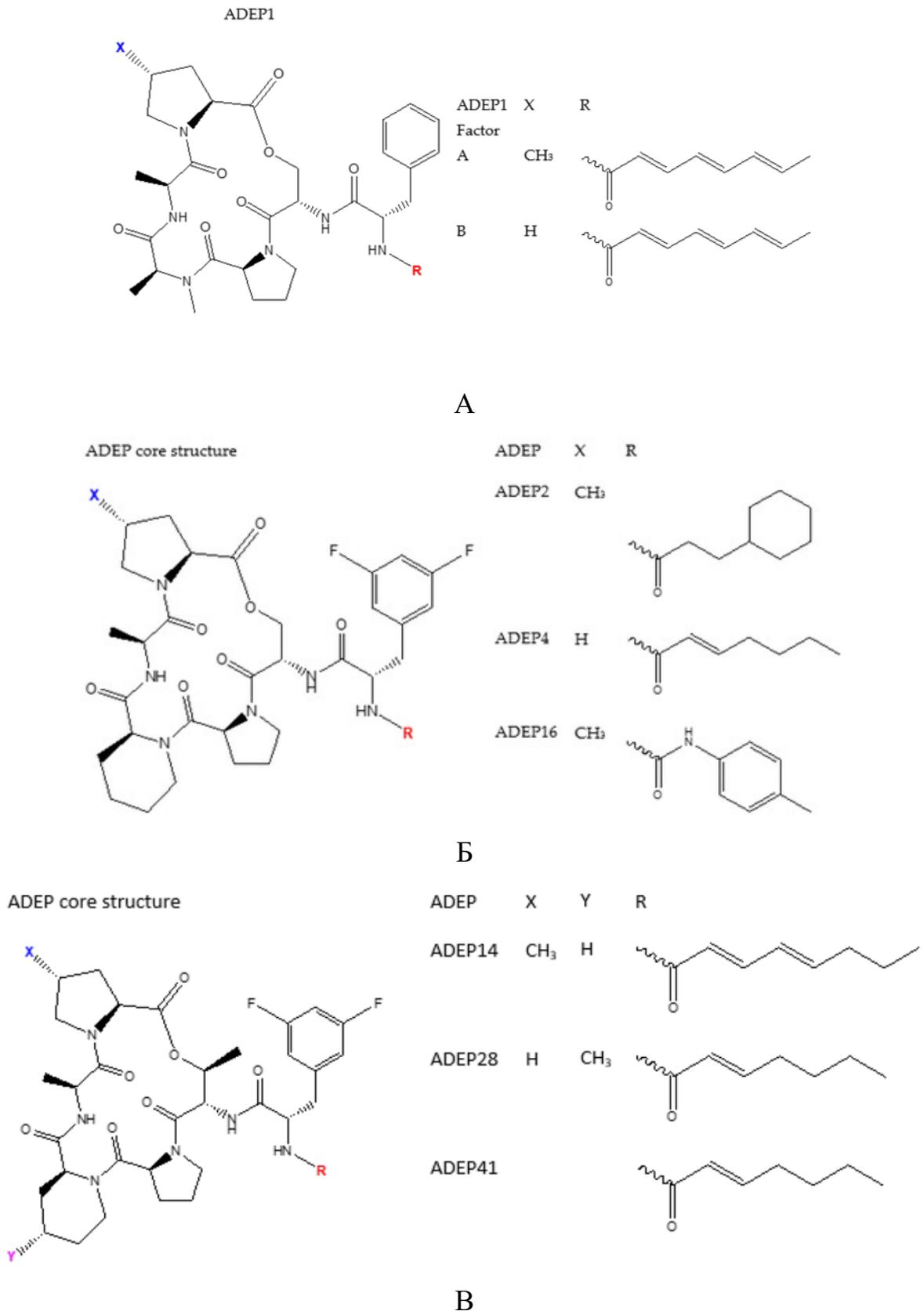


Рисунок 6 – Структуры аналогов ADEP: А – модификации базовой структуры ADEP, Б – структурные модификации основные на пипекотиновой кислоте; В – модификации, основанные на замене Ser на Thr (Cobongela S.Z. et al., 2022)

Рибосомно синтезированные посттрансляционно модифицированные пептиды (RiPP или РПП) – класс структурно и функционально разнообразных пептидов, к которым принадлежат антибиотики и различные сигнальные молекулы, а также соединения с неизвестной функцией. Гены биосинтеза RiPP, в бактериальных геномах, обычно собраны в компактные кластеры. Природные продукты чрезвычайно разнообразны в химическом отношении, их биосинтетические механизмы часто очень консервативны, что позволяет осуществлять их поиск и предсказание (Scherlach K. et al., 2021).

С появлением новых методов секвенирования и развития биоинформатических методов анализа количество проанализированных геномных последовательностей резко увеличилось. Это позволило, анализируя кластеры биосинтетических генов (BGC), предсказывать химическую природу метаболитов, но не собственно структуру конечного продукта. Ферменты, относящиеся к одному семейству, могут катализировать совсем не похожие реакции (Montalbán-López M. et al., 2021). Однако эти BGC часто не экспрессируются в лабораторных условиях, вероятнее всего из-за отсутствия сигналов окружающей среды, которые активируют их экспрессию в естественной среде обитания (Van der Meij A. et al., 2017).

Биосинтез RiPP начинается с синтеза пептида прекурсора. В его состав входит лидерная последовательность, которую узнают модифицирующие ферменты, и структурная последовательность, которая претерпевает последующие модификации. Завершающим этапом становится процессинг лидерной последовательности протеазами и экспорт зрелого RiPP во внеклеточную среду (Ortega M.A. et al., 2016).

Лантипептиды – это рибосомально синтезированные и посттрансляционно-модифицированные пептиды, для которых характерным является наличие тиоэфирных поперечных связей, необходимых для биологической активности и стабильности (Knerr P.J. et al., 2012). Лантибиотики могут быть использованы в качестве универсальной матрицы для создания молекул с запрограммированными биологическими функциями: от ингибиторов

белок-белковых взаимодействий до терапевтических препаратов и антибиотиков нового поколения (Пипия С.О., 2020).

*Bacillus megaterium* интересны своей физиологией, способностью синтезировать необычные и полезные ферменты. Они считаются почвенными микроорганизмами, но встретить можно в разных средах обитания – сушеных продуктах питания, морской воде и пчелином меде. Свое название они получили из-за большого размера вегетативных клеток и спор (Vary P.S., 1994). Бактерии рода *B. megaterium* широко используют в сельском хозяйстве для стимуляции роста растений и биовосстановления почвы (Guzmán-Moreno J. et al., 2022). Было продемонстрировано, что применение бактерий рода *B. megaterium* совместно с *Rhizophagus irregularis* привело к повышению урожайности сельскохозяйственных культур в климатических условиях при формировании засушливого и высокотемпературного стресса (Romero-Munar A. et al., 2023).

Желудочно-кишечный тракт птицы не способен самостоятельно переваривать некрахмальные полисахариды, в следствии отсутствия таковых ферментов. Переваривание этих компонентов происходит за счет деятельности микроорганизмов кишечника (Үақооб М.У. et al., 2021). Для улучшения использования энергии корма применяют различные ферменты. Известно, что добавление в корм для птицы ксиланазы позволяет увеличить концентрацию моно- и олигосахаридов в кишечнике. Искусственное введение фермента ксиланазы позволяет повысить основные показатели продуктивности при выращивании бройлеров (Лавриненко К.В. и др., 2022). Получение ксиланазы и алкалазы также возможно осуществить с помощью *B. megaterium* (Fasiku S.A. et al., 2023; Gicana R.G. et al., 2022).

Бактерии *B. megaterium* считаются одними из перспективных для безопасного производства L-аспарагиновой кислоты или β-аланина (Tadi S.R.R. et al., 2022). Благодаря некоторым особенностям метаболизма этих бактерий стало возможным использование их для биоферментации жмыха семян ятрофы куркас (сем. *Euphorbiaceae*), в результате которого снижается содержание токсичных и антипитательных веществ в кормах (Zhang Z. et al., 2022).

Секвенирование генома *B. megaterium* В-4801 и использование базы данных Kegg Pathway<sup>6</sup> позволило идентифицировать ключевые компоненты путей синтеза антимикробных веществ. Было определено, что в составе генома *B. megaterium* В-4801 идентифицирован кластер генов (FabF, FabD, FabG, FabZ, FabI и др.), отвечающий за воспроизведение ферментов принимающих участие в синтезе алифатических ненасыщенных карбоновых кислот с числом углеродных атомов от 3 до 18 (лауриновой, масляной, капроновой, каприловой, каприновой, миристиновой, пальмитиновой, олеиновой и стеариновой) (Лаптев Г.Ю. и др., 2020). Таким образом, результаты приведенных исследований, дают основание, что *B. megaterium* В-4801 может быть рассмотрен в качестве пробиотика. Антимикробная активность ненасыщенных карбоновых кислот может быть альтернативным решением при отказе от использования антибиотиков в птицеводстве (Yadav A.S. et al., 2016; Mohammadagheri N. et al., 2016; Khan R.U. et al., 2022).

По мнению многих авторов, микроорганизмы вносят существенный вклад в деградацию пестицидов, тем самым положительно влияют на плодородие почвы и безопасность растений (Wołejko E. et al., 2016). Биодegradация пентахлорфенола, который является весьма токсичным соединением, может быть осуществлена помощью бактерий *B. mucilaginosus* (Khalil O.A.A. et al., 2022). Данный вид бактерий также используют как солюбилизатор калия, что позволяет сократить использование удобрений без ущерба для производства сельскохозяйственных культур (Marsal J.I. et al., 2022). Внесение биологизированного (ферментированного бактериями пробиотиков) помета кур также позволяет более эффективно возделывать сельскохозяйственные культуры на малоплодородных землях (Щукин Н.Н. и др., 2023). Следовательно, обращая внимание на вторичные метаболиты изучаемых пробиотических микроорганизмов, можно конструировать биологические средства с заданным вектором действия для достижения необходимого эффекта.

---

<sup>6</sup> <http://www.genome.jp/kegg>

### 2.1.6. Опыт использования кормовых добавок в птицеводстве

Известно, что качество рациона для цыплят-бройлеров значительно влияет на микробный состав слепой и подвздошной кишки (Sun H. et al., 2013), в тоже время воздействуя на кишечную микробиоту можно улучшить показатели роста и продуктивности (Fathima S. et al., 2022). Между хозяином и микробиотой выстраиваются определенные симбиотические отношения. Питательные вещества, представленные в просвете кишечника хозяина, способствуют колонизации и размножению микробиоты. Хозяин микробиоты получает от нее стимуляцию иммунной системы и уже подготовленные питательные вещества, витамины и защиту от патогенной и нежелательной микрофлоры (Blajman J.E. et al., 2014). Возможность системного контролирования кишечной микробиоты, позволит ее модулировать с пользой для хозяина.

Официальный сайт Европейского Союза дает следующее определение для термина **кормовая добавка** — это продукт, используемый в кормлении животных с целью улучшения качества кормов и продуктов животного происхождения или для улучшения продуктивности и здоровья животных, например, обеспечение повышенной усвояемости кормового сырья. Кормовые добавки не могут размещаться на рынке, если не получено разрешение после научной оценки, демонстрирующей, что добавка не оказывает вредного воздействия на здоровье людей и животных и на окружающую среду<sup>7</sup>. В Российской Федерации Государственную регистрацию выполняет Россельхознадзор, на основании проведенных исследований на безопасность в Всероссийском государственном Центре качества и стандартизации лекарственных средств для животных и кормов (ФГБУ «ВГНКИ»). Процесс контроля качества готовой продукции, исполняемый производителем кормовых добавок, может быть оптимизирован до требуемого уровня для повышения конкурентоспособности и качества продукции (Бражник Е.А. и др., 2020).

---

<sup>7</sup> [https://food.ec.europa.eu/safety/animal-feed/feed-additives\\_en](https://food.ec.europa.eu/safety/animal-feed/feed-additives_en)

В области функциональных пищевых продуктов для человека согласно ГОСТ Р 52349-2005 определен термин **пребиотик** – это «физиологически функциональный пищевой ингредиент в виде вещества или комплекса веществ, обеспечивающий при систематическом употреблении в пищу человеком в составе пищевых продуктов благоприятное воздействие на организм человека в результате избирательной стимуляции роста и (или) повышения биологической активности нормальной микрофлоры кишечника» (ГОСТ Р 52349). Схожую формулировку дает и Гибсон, пребиотики – ферментированные ингредиенты избирательного действия, применение которых приводит к специфическим изменениям в составе и/или активности микробиоты желудочно-кишечного тракта, что благотворно влияет на здоровье хозяина (Gibson G. et al., 2004). Пребиотик должен: обладать устойчивостью к рН; не расщепляться ферментами, не всасываться в верхних отделах ЖКТ; обладать избирательным действием и стимулировать микробиоту; положительно влиять на здоровье и благополучие хозяина, способствовать формированию иммунитета против инвазий и патогенов (Abd El-Nack M.E. et al., 2020).

Обычно для птицы в качестве пребиотиков применяют фруктоолигосахариды, галактоолигосахариды и маннанолигосахариды, представляющие собой углеводы и родственные им соединения (Мухаммад Т.Х. и др., 2020; Al-Khalaifa H. et al., 2019). Эти соединения не используются хозяином, но могут служить субстратами для определенных бактерий, таких как бифидобактерии и молочнокислые бактерии (Mookiah S. et al., 2014). Такие источники неперевариваемых олигосахаридов, как отруби зерновых культур, изучаются на предмет совместного применения с инулином, потенциальное использование в птицеводстве которых основано на взаимном синергическом действии выраженным в улучшении – продуктивности, формировании микрофлоры и морфологии кишечника (Li B. et al., 2018).

В отличие от пребиотиков, **пробиотиком** называют: «функциональный пищевой ингредиент в виде полезных для человека (непатогенных и нетоксикогенных) *живых микроорганизмов*, обеспечивающий при

систематическом употреблении человеком в пищу непосредственно в виде препаратов или биологически активных добавок к пище, либо в составе пищевых продуктов благоприятное воздействие на организм человека в результате нормализации состава и (или) повышения биологической активности нормальной микрофлоры кишечника» (ГОСТ Р 52349).

В настоящее время из-за запрета антибиотиков-стимуляторов роста в птицеводстве, пробиотики приобрели популярность. Пробиотики, прежде всего, имеют множество преимуществ, среди которых стимуляция микрофлоры хозяина или иммуномодуляция (Сох С.М. et al., 2015). Чтобы пробиотики были эффективными, бактерии, входящие в их состав не должны быть чужеродными для микрофлоры кишечника, должны быть устойчивыми к кислой среде ЖКТ, иметь способность легко прикрепляться к эпителию кишечника (Abd El-Nack M.E. et al., 2020), поддерживать микрофлору ЖКТ на соответствующем физиологическом уровне. Механизм действия и полезные эффекты пробиотиков варьируются в зависимости от используемых бактерий и штаммов (Al-Surrayai T.I. et al., 2022). Некоторые пробиотики могут продуцировать короткие органические жирные кислоты и метаболиты с антимикробной активностью, которые способны включить рецепторы для активации иммунной системы (Cirilo E.H. et al., 2023; Tra C. et al., 2023).

Пробиотические штаммы с антагонистической активностью в отношении патогенных и условно-патогенных микроорганизмов могут являться решением при поиске альтернативы кормовым антибиотикам. Пробиотические бактерии угнетают патогенную микрофлору желудочно-кишечного тракта, путем воздействия антимикробных соединений и стимуляцией иммунной системы организма, тем самым оказывают благотворное влияние (Hong H.A. et al., 2005). В ходе мониторинга условно-патогенной и патогенной микрофлоры внутренних органов на промышленном стаде кур-несушек было показано, что выделение патогенов из паренхиматозных органов, голов и пазух головы птицы достоверно снизилось в группе, получавшей кормовую добавку на основе *Bacillus subtilis*, несмотря на исключение ее из рациона за 1 месяц до отбора проб (Бочкарева Е.В.

и др., 2020). Использование добавки в течение 30 дней способствовало значительному снижению числа установленных патогенов – *Staphylococcus gallinarum*, *Escherichia coli*, *Avibacterium gallinarum*, *Avibacterium paragallinarum* и *Gallibacterium anatis* (Бочкарева Е.В. и др., 2019, 2020).

Использование **органических кислот** является естественным способом борьбы с патогенными микроорганизмами, который веками использовали для борьбы с нежелательными микроорганизмами в пищевых продуктах при их консервировании. Интерес к ним возрос после введения ограничений на использование кормовых антибиотиков. Подкислители в виде органических кислот, в бройлерном птицеводстве применяют с целью защиты энтероцитов тонкого отдела кишечника от пагубного воздействия патогенной микрофлоры и нормализации ионного обмена (Матросова Ю.В. и др., 2022). Кислоты, представляющие интерес в качестве кормовых добавок для птицеводства: в форме жидкости – муравьиная, уксусная, пропионовая, масляная (содержащие от одного до семи атомов углерода с карбоксильной группы), молочная (содержащая гидроксильную группу); с более высокой молекулярной массой и менее растворимые в воде – фумаровая, сорбиновая и бензойная кислота. Антимикробный эффект органических кислот заключается в том, что недиссоциированная, незаряженная липофильная часть кислоты свободно диффундирует через мембрану микробной клетки. Попав в более нейтральный (более высокий) рН цитоплазмы клетки (т.е. более высокий рН, чем в химусе кишечника), кислота диссоциирует. Образовавшийся ион  $H^+$  подкисляет цитоплазму, нагружая механизмы регуляции рН клетки, в то время как анионная часть накапливается в клетке. За счет этого происходит денатурация, окислительное повреждение белков и ферментов, повышается расход энергии, наступает осмотический стресс и нарушается целостность и функция мембраны, что ведет к подавлению роста или гибели клеток (Theron M. M. et al., 2010; Gurtler J.V. et al., 2014).

Использование органических кислот позволяет уменьшить численность *Salmonella spp.* в тушке и кишечнике птицы. Наибольшей активностью к

подавлению *Salmonella typhimurium* обладает молочная кислота. Винная и уксусная кислота, оказывают среднее действие, и наименьшей активностью обладает лимонная кислота (El Waaboua A. et al., 2018). Также сообщалось, что комбинация защищенных органических кислот и смеси эфирных масел (4% карвакрол, 4% тимьян, 0,5% гексановая, 3,5% бензойная и 0,5% масляная кислота) в дозировке 200 мг/кг или 500 мг/кг может заменить антибиотик-стимулятор роста, при этом был продемонстрирован положительный эффект на структуру кишечника, а также на его микробиоту, что в конечном итоге положительно повлияло на эффективность выращивания цыплят-бройлеров (Pham V.H. et al., 2022). Также, был получен положительный эффект при использовании коммерческой добавки (смесь муравьиной кислоты 61% и ее натриевой соли 20,5%) в дозировке с наилучшим эффектом – 9 кг смеси органических кислот на 1 тонну корма (0,9%), что позволило поддерживать безопасность корма и предотвратить заражение сальмонеллой (Adhikari P. et al., 2020).

Однако, органические кислоты не всегда обеспечивают ожидаемый результат, и этому может быть множество причин. Условия проведения эксперимента, а также состоянии микрофлоры кишечника и выбор использованных кислот может не привести к желаемому повышению продуктивности (Broom L.J. 2015). В этом случае стоит полученные данные подвергнуть критическому анализу и пересмотреть план дальнейшего эксперимента. Так рацион с мясокостной мукой и дополнительно введенной органической кислотой (диформиат натрия) продемонстрировал отрицательное влияние на продуктивность бройлерных цыплят (Vinolya R.E. et al., 2021). К причинам ограничивающих использование органических кислот можно отнести наличие у некоторых кислот неприятного запаха и коррозионную активность. Возможным решением может стать производство в виде солей или в виде микрокапсул (Swaggerty C.L. et al., 2020; Galli G.M. et al., 2021).

Все чаще в бройлерном производстве кормовые добавки используют с альтернативной целью антибиотикам. Для этого предлагается ряд препаратов в

виде кормовых добавок – пробиотики, пребиотики подкислители и фитобиотики. Все они имеют отличный механизм действия и нацелены на увеличение потребление корма, стимуляцию пищеварения, улучшения эффективности корма, снижение заболеваемости и модуляции иммунной системы. Для всех них основной мишенью является кишечная микробиота, которая имеет наибольшее влияние на организм птицы (Ayalew H. et al., 2022). Но так как условия содержания птицы, кормовая база, ветеринарное благополучие и другие факторы влияют на конечную цель при выращивании птицы, то невозможно создать универсальную кормовую добавку. Кроме того, существует проблема, связанная с адаптацией патогенных микроорганизмов к некоторым методам борьбы с ними (Abdelhamid A.G. et al., 2020). Вероятным верным решением становится использование специфических добавок и их сочетание, способных удовлетворять основные потребности в соответствующих условиях. Это может быть использование только пробиотика с одним или несколькими микроорганизмами, либо сочетание пробиотика с подкислителем или фитобиотиком.

### **2.1.7. Характеристики отечественных пробиотиков**

Кормовую добавку Профорт<sup>®</sup>, отечественного производителя ООО «БИОТРОФ» г. Санкт-Петербург, применяют с целью регуляции состава и качества микробиоты желудочно-кишечного тракта, в результате чего достигается повышение сохранности и увеличение продуктивности свиней, крупного рогатого скота, яичных и мясных пород кур, а также лошадей и рыб. (ТУ 10.91.10-026-50932298-2017, регистрационный номер ПВР-2-7.17/03366 от 21.06.2017г). Добавка состоит из бактерии двух видов *Enterococcus faecium* 1-35 и *Bacillus megaterium* В-4801, а также наполнителя в виде отрубей пшеничных или шрота подсолнечного. При производстве добавки, качество и безопасность продукции достигается благодаря принятой системой мер по предупреждению появления несоответствующей продукции (Бражник Е.А. и др., 2023).

Особенность добавки заключается в том, что бактерии входящие в добавку способны синтезировать определенное количество незаменимых аминокислот – цистеин и метионин, а также непотеиногенную  $\gamma$ -аминомасляная кислоту, бутират и витамины, указанные соединения способны поддержать баланс микроорганизмов пищеварительной системы, сохранить целостность слизистой кишечника, способны защитить организм от патогенов и их токсинов, а также обладают противовоспалительным эффектом (Йылдырым Е.А. и др., 2019). При анализе генома *B. megaterium* было установлено, что в геноме бактерий присутствует высокое количество генов, связанных с синтезом ансамициновых бактерицинов, которые активны против многих грамотрицательных и грамположительных патогенов. Также в составе генома присутствуют гены, связанные с синтезом глутатиона — одного, который является главным компонентом антиоксидантной защиты. Набор специфических генов позволяет адаптироваться, выживать и увеличивать численность *B. megaterium* в условиях кишечника (Лаптев Г.Ю. и др., 2020).

В поиске замены кормовым антибиотикам в бройлерном птицеводстве кормовая добавка Профорт<sup>®</sup> оказалась перспективным компонентом. Проведенный эксперимент на цыплятах кросса «Кобб-500» продемонстрировал, что с помощью добавки удалось улучшить конверсию на 2,44%, и увеличить живую массу цыплят на 3,2% (Перепелкин Н.В. и др., 2022).

Исследования, проведенные на индейках, продемонстрировали, что в группе, получавшей кормовую добавку Профорт<sup>®</sup> качественно и количественно изменился состав микрофлоры слепых отростков. Концентрация лактобактерий, целлюлозолитиков и ЛЖК-синтезирующих бактерий по сравнению с контрольной группой выросло на 3,0 %, 31,3 % и 0,5 % соответственно (Котарев В.И. и др., 2022). Вместе с тем, оказалось целесообразным использовать добавку Профорт<sup>®</sup> в условиях интенсивного выращивания индюшат кросса «Hybrid Grade Maker», позволяющая повысить сохранность, снизить расходы корма при их выращивании (Гаглоева Т.Н. и др., 2023).

Испытания пробиотических штаммов *B. megaterium* совместно с *B. subtilis* на дойных коровах в период раздоя продемонстрировали увеличение молочной продуктивности и снижения содержания соматических клеток в молоке (Филатов А.В. и др., 2022).

Добавка Пробиоцид<sup>®</sup>-Ультра – это подкислитель с пробиотической активностью. В состав Пробиоцид<sup>®</sup>-Ультра вошли два штамма бактерий рода *B. megaterium* В-4801 и *B. mucilaginosus* 159, фумаровая и лимонная кислота и формиат кальция. Такой состав обеспечивает активацию пищеварительных ферментных систем и стимуляцию роста полезной микрофлоры кишечника. Благодаря бактериям, входящим в состав добавки, участвующих в формировании нормальной микрофлоры желудочно-кишечного тракта, усвоение питательных веществ корма улучшается. Препарат Пробиоцид<sup>®</sup>-Ультра благодаря пробиотическому эффекту положительно воздействует на организм птицы. При использовании данного комплекса в рационе бройлеров в условиях заражения *Clostridium perfringens* отмечалась заметно более высокая сохранность поголовья по сравнению с зараженным контролем. Проведенные исследования продемонстрировали, что применение комплекса дополнительного питания Пробиоцид<sup>®</sup>-Ультра может обеспечить высокую защиту птицы при неблагоприятных эпизоотологических условиях (Тарлавин Н.В. и др., 2021).

При испытании добавки Пробиоцид<sup>®</sup>-Ультра на курах мясного направления продуктивности кросса «Кобб-500», удалось полностью отказаться использования кормового антибиотика, при сохранении показателя сохранности на прежнем уровне и повышении индекса продуктивности на 1,41 единицу (Йылдырым Е.А. и др., 2020). К тому же, внедрение в рацион птицы добавки Пробиоцид<sup>®</sup>-Ультра приводит к уменьшению численности патогенной и условно-патогенной микрофлоры (Лаптев Г.Ю. и др., 2023). В другом исследовании, на курах-несушках было отмечено, что добавка привела к увеличению доли полезной микрофлоры в кишечнике (бактерий сем. *Lactobacillaceae* увеличилось на 86,2%, и бактерий сем. *Ruminococcaceae* на 30%,

а содержание нежелательной микрофлоры снизилось на 14,5%, вместе с тем экспрессии гена, овальбумина, ответственного за формирование белка возрос в 2,57 раза (Куванов Т.К. и др., 2021).

### **2.1.8. Влияние кормовых добавок на функциональное состояние кишечника цыплят-бройлеров**

Продуктивность птицы неразрывно связана со здоровьем пищеварительного тракта. Для поддержания его здоровья существуют защитные механизмы органов пищеварения. Оценка их состояния может быть использована для характеристики действия кормовых добавок. Секретируемый бокаловидными клетками слизистый секрет помогает предотвратить прикрепление к эпителиальной выстилке пищеварительного тракта микроорганизмов и их дальнейшее проникновение. Более кислая реакция среды в тонком отделе кишечника препятствует развитию патогенных микроорганизмов. Всасывание питательных веществ в желудочно-кишечном тракте происходит интенсивнее при увеличении размера и численности ворсинок.

Действие кормовой добавки Профорт® на кишечник цыплят-бройлеров было изучено на производственной площадке ОАО «Птицефабрика «Зеленецкая» (Республика Коми), в условиях вивария. Кормовая добавка использовалась в дозировке 0,5 кг/на тонну комбикорма в рационах опытной группы цыплят-бройлеров кросса «Кобб-500» в течении всего периода выращивания, на протяжении 38 суток. В результате было установлено, что добавка способствовала росту и восстановлению ворсинок кишечника по сравнению с контролем без добавки (Бражник, и др., 2019).

В опытной группе длина ворсинок двенадцатиперстной кишки была на 36% длиннее, чем в контрольной ( $p < 0,001$ ) (рисунок 7, 8).

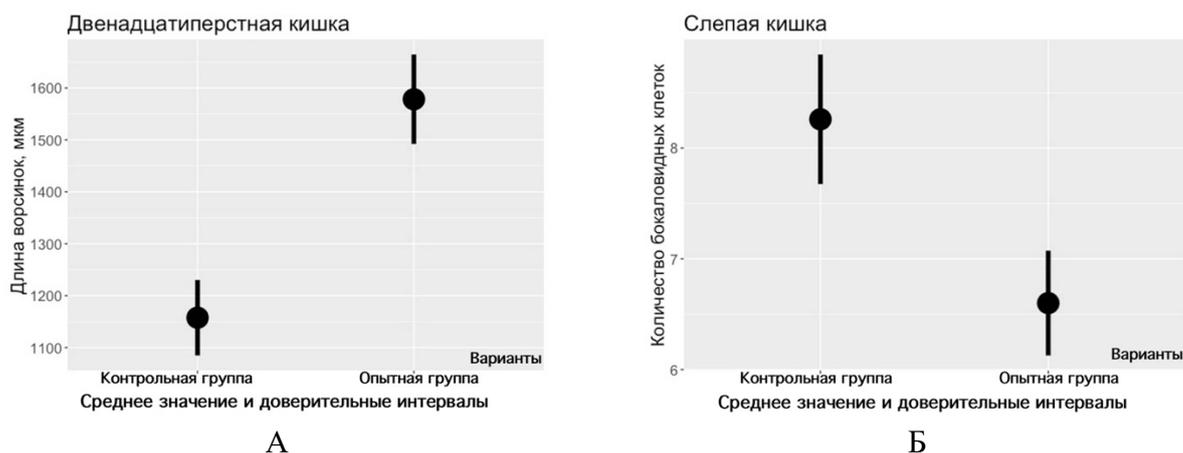


Рисунок 7 – А –Длина ворсинок двенадцатиперстной кишки; Б –Количество бокаловидных клеток в слепой кишке (Бражник Е.А. и др., 2019)

В дополнение, была изучена гистологическая структура слепых отростков кишечника. В опытной группе число бокаловидных клеток в слепых отростках было на 20 % меньше, чем в группе, не получавшей добавку. Все это дает основание предполагать уменьшение раздражающего действия корма вследствие того, что компоненты добавки способствуют активному перевариванию частиц корма в тонком отделе кишечника до поступления его в слепые отростки. Ускорение ферментации в свою очередь приводит к экономии расхода энергии при процессе пищеварения.

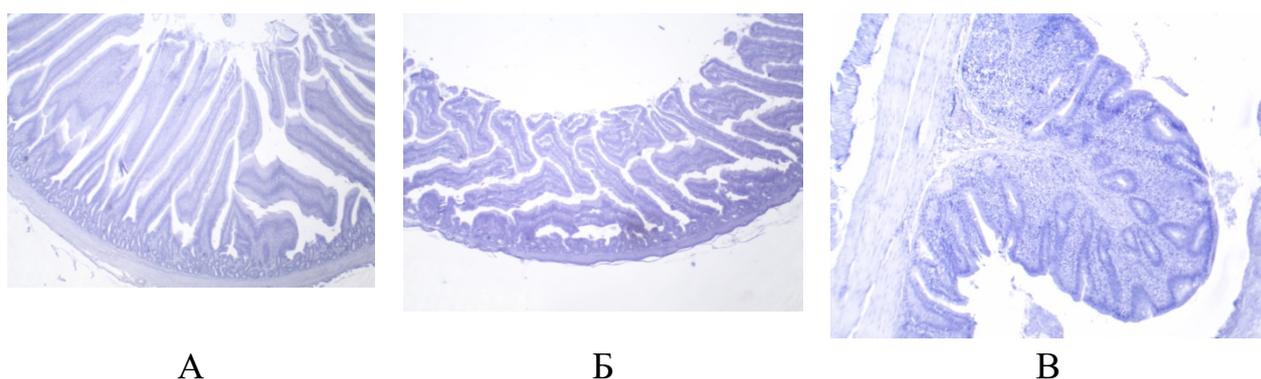


Рисунок 8 – А – Двенадцатиперстная кишка птицы опытной группы (окраска гематоксилин-эозином,  $\times 10$ ); Б - Двенадцатиперстная кишка птицы контрольной группы (окраска гематоксилин-эозином,  $\times 10$ ); В – Слепой отросток птицы опытной группы (окраска гематоксилин-эозином,  $\times 40$ ) (Бражник Е.А. и др., 2019)

Проведенное исследование демонстрирует, что кормовая добавка Профорт® положительно влияет на эпителий кишечника. Площадь всасывания питательных веществ увеличивается с увеличением длины ворсинок. Добавка не оказывает негативного влияния на морфологию кишечника цыплят. Сохранение целостности структуры стенки кишечника позволяет предотвратить инвазию патогенных микроорганизмов в кровоток, а также проникновение различных токсинов. Данное исследование свидетельствует о положительном влиянии добавки Профорт® на структуру и функциональное состояние кишечника цыплят-бройлеров (Бражник Е.А. и др., 2019; Йылдырым Е.А. и др., 2019).

В основании крипт Либеркюна тонкой кишки человека и различных животных обнаруживают клетки Панета, или как их еще называют экзокриноциты с ацидофильными гранулами, представляющие собой один из типов дифференцированных высокоспециализированных эпителиальных клеток. В гранулах клеток Панета накапливается широкий спектр антимикробных веществ, которые поступают в просвет тонкого кишечника (Быков В.Л., 2014). Антимикробные пептиды, секретируемые клетками Панета, играют решающую роль в защите от кишечных инфекций поддержания толерантности к кишечной микробиоте (Gubatan J. et al., 2021). Исследования последних лет показали, что в тонком кишечнике курицы также обнаруживаются клетки Панета (Wang L. et al., 2016), способные продуцировать антимикробные пептиды.

Антимикробные пептиды (AMPs, англ., Antimicrobial peptides) представляют собой небольшие молекулы, включающие 12–15 аминокислот, содержащие положительные заряды и амфипатические структуры, характеризующиеся обширным спектром антагонистической активности в отношении простейших, грибков, бактерий, а также обладающие определенным уровнем противовирусной активности (Brogden K.A., 2005). AMPs обладают широким спектром антимикробной активности и низкой склонностью к развитию бактериальной резистентности в следствие чего их часто рассматривают как альтернативу антибиотикам. Противомикробные пептиды

были идентифицированы в самых разных организмах, включая насекомых, ракообразных, человека и других млекопитающих (В Hadley E. et al., 2010).

Искусственное введение этих AMPs, показало возможным применение их в качестве альтернативы антибиотикам, обладающими полезными свойствами, продемонстрированном при модельном заражении *Escherichia coli*, такими как стимуляция роста, улучшение морфологии кишечника, нормализации микрофлоры у цыплят-бройлеров (Daneshmand A. et al., 2019). Аналогичные результаты получены при использовании AMPs – плектазина, применение которого позволило ингибировать *Escherichia coli*, улучшить структуру кишечника и биохимические показатели крови у кур (Zhang X. et al., 2021).

### **2.1.9. Особенности современных кроссов кур мясного направления продуктивности**

Домашняя курица (*Gallus gallus*) является самым распространенным видом сельскохозяйственной птицы. В процессе длительного одомашнивания птицы были сформированы породы, различающиеся как на генетическом, так и на фенотипическом уровне по окраске оперения, по живой массе, продуктивным качествам и многим другим признакам (Makarova A.V. et al., 2019; Wang M.S. et al., 2020). Разнообразие экстерьера кур отражает приобретенные биологические особенности птицы, которые тесно связаны с сформированным направлением продуктивности. Изучение взаимосвязей между генотипом и фенотипом, которые определяют ключевые черты домашней птицы, является актуальным вопросом для разработки стратегий генетической селекции и сохранения генофонда пород кур (Huang, X., et al., 2020; Larkina, T.A., et al., 2021).

Предположение Дарвина, что красная джунглевая курица (*Gallus gallus gallus*) была ближайшим предком домашней курицы (Darwin C., 1896) в дальнейшем получило подтверждение (Fumihito A. et al., 1994). По одной из распространенной версии считается, что куры были одомашнены в северном Китае, вероятно уже к 10000 г. до н.э. (Xiang H. et al., 2014), но существует и

альтернативная версия, что первыми одомашненными птицами были вовсе не куры, а скорее всего фазаны (*Phasianus spp*) (Barton L. et al., 2020). Для разных таксонов птицы свойственна геномная «изменчивость», специфичность и стабильность хромосомных перестроек, что связано с их эволюционными предками (Kiazim L.G. et al., 2021). Наибольший коммерческий интерес в настоящее время представляют в основном две группы кур, которые были сформированы на протяжении веков: несушки и бройлеры.

Российские птицефабрики работают в основном с кроссами: «Смена-9», «Кобб-500», «Росс-308», «Иза-Ф-15», «Конкурент-3» и др. Кросс «Кобб-500» создан на базе породы плимутрок, корнуэльской породы, нью-гемпшир и род-айленд. Для бройлеров кросса «Кобб-500» характерным является мощное телосложение с развитыми лапами и сильным клювом. Цвет оперения белый, а цвет кожи тушки желтый (Марусич А.Г. и др., 2021). Это свойство привлекательно для розничной торговли, и значит, что при кормлении можно не использовать желтый пигмент, кожа в любом случае будет иметь желтый оттенок. Считается, что данный кросс самый эффективный бройлер в мире.

История отечественных мясных кроссов селекции СГЦ «Смена» берет свое начало в 1982 году с кросса «Бройлер-6», после него были созданы кроссы «Смена» – 1998 г; «Смена 2» – 1999 г; «Смена 4» – 2002 г; «Смена 7» – 2006 г; «Смена 8» – 2011г. и в 2020 г. был представлен новый современный кросс «Смена 9» (СГЦ «Смена», 2023). Основным методом селекции линии «Смена» - комбинация по показателям семейного и индивидуального отбора. В процессе селекции уделяется внимание качеству потомства (Ефимов Д.Н. и др., 2022). Успех селекционной работы зависит от уделенного внимания уже существующим породам и кроссам. Совершенствование существующих кроссов обеспечивает поддержание отрасли птицеводства на необходимом уровне. Основным фактором сохранения и улучшения генетического потенциала новых кроссов является выполнение работ методом геномной селекции, в частности при работе с кроссом «Смена 9». С целью сексирования материнской родительской формы отбор птицы проводили в том числе и по скорости

оперяемости в суточном возрасте (Емануйлова Ж.В. и др., 2022). Основные технологические параметры, температурно-влажностный и световой режимы, программы кормления и ожидаемый генетический потенциал бройлеров кросса «Смена 9» регламентированы руководством по работе с птицей данного кросса (таблица 1) (Ефимов Д.Н. и др., 2021; Cobb, 2023).

В процессе селекции кросс «Смена 9» получил лучшие показатели по сохранности, живой массе, индексу продуктивности и конверсии корма по сравнению с кроссом «Смена 8» – 98,8%, 2262г, 385, 1,66 и 98,0%, 2050г, 330, 1,74, соответственно (Емануйлова Ж.В. и др., 2021). При этом, для создания кросса «Смена 8» использовали отечественный кросс «Смена 7» и кросс английской селекции «Росс 308» (Костиков А.Л. и др., 2014). Бройлеры кросса компании Aviagen «Росс 308» характеризуются белым оперением, высокой скоростью роста, однородностью птицы и высокой сохранностью до 96% (Бурдашкина В.Н. и др., 2018; Aviagen Group, 1998 - 2023).

Таблица 1 – Сравнительная характеристика кур мясного направления продуктивности в возрасте 35 дней для смешанного стада

Показатель	Смена 8	Смена 9	Кобб 500 <sup>8</sup>	Росс 308 <sup>9</sup>
Возраст убоя, дни	35	35	35	35
Живая масса в конце выращивания, г	2050	2262	2521	2296
Среднесуточный прирост живой массы, г/гол.	57,4	63,5	70,8	64
Затраты корма на 1 кг прироста живой массы, кг	1,74	1,66	1,441	1,399

Благодаря целенаправленной селекции и одомашниванию в настоящее время существует огромное генетическое разнообразие домашней птицы. Для каждой выведенной породы исторически был сформирован свой уникальный генотип с фенотипическими особенностями. В зависимости от хозяйственной

<sup>8</sup> <https://cobbrussia.ru/cobb>

<sup>9</sup> <https://aviagen.com/eu/brands/ross/products/ross-308>

ценности выделяют следующие типы пород: мясного типа, яичного, двойного назначения, бойцовые и декоративные (Larkina T.A. et al., 2021). Исследования, проведенные Иваном Ивановичем Кочишем с соавторами, показали, что гены, связанные с миогенезом, экспрессируются в мышцах груди и бедер скоординированным образом, демонстрируя породную специфичность как признак генетического разнообразия среди пород разной хозяйственной направленности. Авторами отмечено, что уже с ранней стадии развития наблюдалась специфичность в внутриэмбриональном миогенезе, метаболизма окиси азота и постнатальной модели роста у генетически разнообразных пород кур (Kochish I.I. et al., 2022; Romanov M.N. et al., 2022). В дальнейшем авторами была произведена оценка скоординированности работы генов миогенеза на стадиях эмбриогенеза, отражающая силу влияния дивергентного отбора (Kochish I.I. et al., 2023). Таким образом, понимание генетических и биохимических особенностей разных пород кур может помочь в осознанном кормлении в соответствии с физиологическими потребностями на разных стадиях жизненного цикла для достижения наилучшего эффекта при выращивании.

#### **2.1.10. Использование информационных технологий для достижения эффективного производства**

С бионженерией и биоинформатикой связан целый ряд философских проблем, особое место занимают проблемы генно-инженерной деятельности в ракурсе границ вмешательства в генетическую природу живых организмов. Голландский биолог Полина Хогеверг в 1970 году впервые вводит термин «биоинформатика» в своей работе «Биоинформатика: рабочее понятие» (Hesper V. et al., 1970), она обращает внимание на связь между жизнью и информацией. Генетический код становится центральной догмой в молекулярной биологии. В центре биоинформатики становятся не только базы данных, алгоритмы секвенирования, но и новый подход в биологии, заключающийся в понимании биологической «информации» (Волошин М., 2020).

Первые базы данных появились в период 1980-х – 1990-х годов в связи с появившейся потребностью в хранении последовательностей ДНК и белка. Наиболее популярная и одна из первых баз данных это – GenBank (Банк данных генетической последовательности)<sup>10</sup>, основанная в 1982 году. С ростом количества данных появляются и научные центры. В результате сотрудничества нескольких французских научных лабораторий в 2008 году создается база данных Norine, которая полностью посвящена нерибосомным пептидам (NRP). К базе данных предоставляется свободный доступ для ученых всего мира<sup>11</sup>. Вычислительный инструмент которой позволяет проводить систематическое изучения NRP для многих видов организмов. Все эти ресурсы направлены на получение более полного представления о продуктах метаболизма и лежащих в их основе биологических процессах, что в конечном итоге, добавляет свой вклад в разработку новых натуральных продуктов (Caboche S. et al., 2007). На момент первого сообщения о базе Norine она уже содержала информацию о 700 пептидах, в настоящее время содержит данные о 1744 пептидах (Flissi A. et al., 2020).

Поиск по базе может быть осуществлен по одному из подходящих способов — по особенностям состава мономеров или по структуре пептида. База Norine имеет интеграцию с биоинформатической веб-платформой для анализа геномов продуцентов вторичных метаболитов antiSMASH<sup>12</sup> (Blin K. et al., 2013). Сервис поиска и идентификации локусов биосинтеза вторичных метаболитов бактерий и грибов antiSMASH охватывающий весь спектр известных классов соединений, впервые был представлен 2011 году. Демонстрируя востребованность, сервис активно развивается. В 2021 году была представлена обновленная версия сервиса antiSMASH 6.0 (Blin K. et al., 2021). С целью быстрой и автоматической аннотации прокариот по всему филогенетическому дереву был создан ресурс RAST-Server<sup>13</sup> (Rapid Annotation using Subsystem

---

<sup>10</sup> <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank>

<sup>11</sup> <https://bioinfo.cristal.univ-lille.fr/norine>

<sup>12</sup> <https://antismash.secondarymetabolites.org/#!/start>

<sup>13</sup> <https://rast.nmpdr.org/rast.cgi>

Technology). Курируемая база данных сервиса позволяет точно идентифицировать гены кодирования белка, рРНК и тРНК, назначать функции генам, предсказывать, какие подсистемы представлены в геноме (Aziz R.K. et al., 2008).

Швейцарским институтом биоинформатики (SIB) в Женеве в 1986 году была организована база данных белковых последовательностей и знаний – SWISS-PROT, в виде биоинформатического веб-портала ExPASy<sup>14</sup>. С помощью этого портала и инструмента SwissADME (Daina A. et al., 2017) возможно выполнение задач связанных с фармакодинамикой, в частности для вычисления значений критериев правила Липински (Artimo P. et al., 2012). Портал ExPASy предоставляет доступ к программным средствам и к базам данных, использование которых может быть применено для исследований в области протеомики, геномики, системной биологии, популяционной генетики, транскриптомики, а также для создания новых лекарственных препаратов. Таким образом, биологические базы данных в современной науке являются необходимым инструментом, помогающим ученым изучать и объяснять биологические явления от структуры биомолекул до их взаимодействия.

В отрасли птицеводства для достижения новых более высоких целей также имеет успешное применение информационные технологии. Каждое технологическое решение может быть успешным или менее успешным в зависимости от вводных условий. Таким образом, основной задачей для предприятия становится выбор наиболее подходящего решения, способного наиболее полно удовлетворить по актуальным вопросам с минимальным уровнем риска. По уровню рисков принимаются те или иные управленческие решения. Правильно выбранная математическая модель по оценке рисков позволяет, управляя качеством продукции, достигнуть необходимого уровня сбережения ресурсов (Бражник Е.А. и др., 2023). Внедрение цифровых технологий на уровне процессов производства позволяет рационально использовать ресурсы и достигать высокого качества продукции.

---

<sup>14</sup> Swiss-Prot: <http://www.expasy.org>.

## 2.2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Научно-исследовательская работа по поиску лучшей комбинации бактерий в составе кормовой добавки была начата 1 августа 2016 года. Изучение влияния добавки Профорт® на цыплят-бройлеров кросса «Кобб-500» проводили на площадке ФГБУ СГЦ «Загорское ЭПХ» ВНИТИП (рисунок 9). Методом групп-аналогов были сформированы 2 группы цыплят (контрольная и опытная) по 1000 голов в каждой, которых выращивали в клеточных батареях «Big Dutchman». В сравнении участвовали птицы контрольной группы, получавшей полнорационный комбикорм, и опытной группы, дополнительно получавшей добавку Профорт® в дозировке 0,5 кг/т корма. Обе группы по рекомендованной схеме получали кормовой антибиотик нозигептид. Были произведены замеры живой массы птицы в 21-й и 37-ой день. Учтены такие показатели, как сохранность поголовья, затраты корма на 1 кг прироста живой массы и среднесуточный прирост живой массы. Полученные результаты подтвердили обоснованный выбор пробиотических микроорганизмов в добавке.

Дальнейшие исследования были сосредоточены на испытании нового пробиотика со свойствами подкислителя – Пробиоцид®-Ультра. Эксперимент был проведен в ФНЦ ВНИТИП РАН, в тех же условиях вивария, на кроссе «Смена 8». Этот эксперимент был начат 28 октября 2019 года. Для максимальной достоверности результатов были сформированы две группы пар-аналогов по 35 голов суточных цыплят в каждой. Опытная группа вместе с основным рационом получала экспериментальную добавку в количестве 1 кг/т корм, а контрольная – только основной рацион. Вместе с кормом обе группы, согласно рекомендациям, получали нозигептид. Учитывали следующие показатели: сохранность, расход корма на 1 кг привеса, живую массу птицы на 1, 3 неделю и в день завершения опыта (убоя) методом взвешивания всего поголовья и каждой птицы по отдельности, в том числе с подразделениями на петушков и курочек. Состояние уровня здоровья оценивали по клиническому и биохимическому анализу крови, индексу фагоцитарной активности, завершенности фагоцитоза. Также после

убоя произведена оценка качества мяса птицы: выход грудки, бедер, голеней, крыльев, сердца, мышечного желудка, печени, кишечника, доли абдоминального жира.

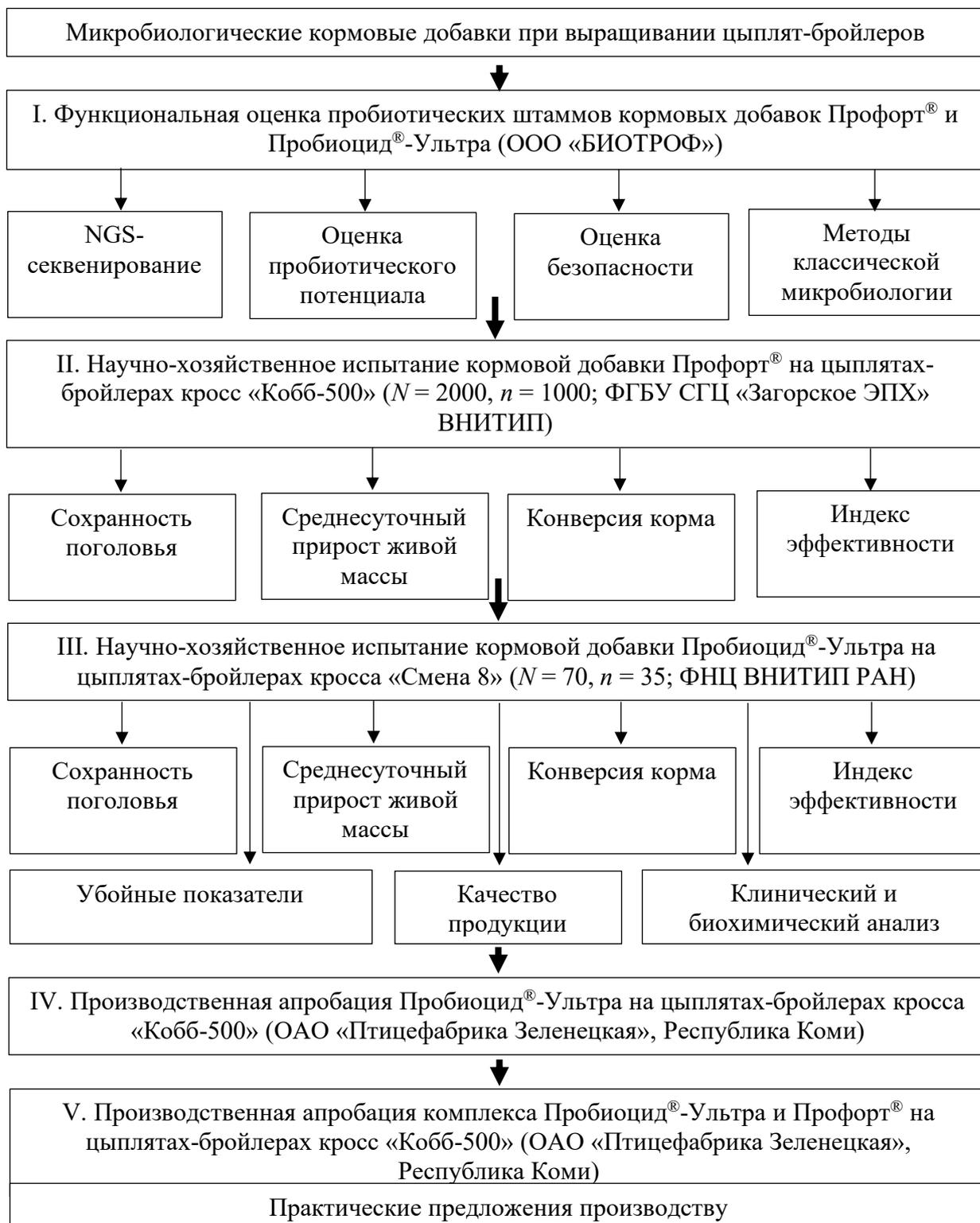


Рисунок 9 – Общая схема выполнения работы

В ходе экспериментов было выполнено полногеномное высокоэффективное секвенирование пробиотических штаммов: *B. megaterium* В-4801, *B. mucilagenosus* 159 и *E. faecium* 1-35. Биоинформатический анализ нуклеотидных последовательностей геномов позволил установить ряд особенностей, связанных с возможным синтезом вторичных метаболитов и безопасностью штаммов. С помощью методов классической микробиологии было получено подтверждение антимикробной активности по отношению к ряду патогенов, представляющих потенциальную опасность для птицы.

Уже в 2020 году, все ранее собранные свидетельства дали основание для запуска серии опытов в масштабе производства по испытанию добавок с целью поиска альтернативных решений по замене кормовых антибиотиков. Последующие испытания были проведены в Республике Коми в птичниках ОАО «Птицефабрика Зеленецкая». Опытная группа вместо кормового антибиотика получала Пробиоцид<sup>®</sup>-Ультра в дозе 1 кг/т комбикорма, а контрольная с основным рационом дополнительно получала кормовой антибиотик нозигептид, согласно рекомендациям. В данном исследовании наблюдалось свыше 100 000 цыплят кросса «Кобб-500» в каждой группе. Для оценки состояния ЖКТ содержимое слепых отростков кишечника опытных и контрольных групп исследовали в лаборатории ООО «БИОТРОФ». Для этого случайным образом от каждой группы на 1-е, 7-е и 30-е сутки с соблюдением правил асептики были отобраны образцы с последующим охлаждением и доставкой в лабораторию для проведения метагеномного анализа по ампликону гена 16S рРНК.

С целью поиска замены кормового антибиотика следующий эксперимент проводился на ОАО «Птицефабрика Зеленецкая» в рамках испытания действия комплекса добавок Профорт<sup>®</sup> и Пробиоцид<sup>®</sup>-Ультра. Контрольная и опытная группы включали два отделения птичника, содержавшие более 87 000 голов в каждом. Опытный птичник вместо кормового антибиотика с комбикормом получал добавку Профорт<sup>®</sup> и Пробиоцид<sup>®</sup>-Ультра в дозировке 0,5 и 1 кг на 1 т комбикорма, соответственно. Контрольные птицы дополнительно получали

нозигептид, согласно рекомендациям. Общая длительность откорма бройлеров составила в среднем 39,5 дней.

### **2.2.1. Статистический анализ**

Математико-статистическую обработку результатов проводили в программах Microsoft Excel версия 16.69.1 (17.01.2023) и RStudio версия 4.3.1 (2023-06-16). Результаты представлены в виде среднего (M) и стандартной ошибки среднего ( $\pm$  SEM). Достоверность различий устанавливали по t-критерию Стьюдента, различия считали статистически значимыми при  $p \leq 0,05$ .

### **2.2.2. Изучение антагонистической активности штаммов методом классической микробиологии**

Тест-культуры микроорганизмов, которые использовались в качестве объектов для исследования антагонистических свойств, были получены из Всероссийской коллекции непатогенных микроорганизмов сельскохозяйственного назначения Всероссийского НИИ сельскохозяйственной микробиологии (г. Санкт-Петербург—Пушкин). Антимикробную активность в отношении патогенных и условно-патогенных микроорганизмов (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Pseudomonas aeruginosa*) оценивали в соответствии с требованиями ГФ и изм. от 28.12.1998 г. *in vitro* методом отсроченного антагонизма (методом «колодцев») (Лаптев Г.Ю. и др., 2020). Тестирование выполняли в 3-х кратной повторности. Для этого взвесь культуры ( $10^7$  КОЕ/мл) помещали в лунку в центре чашки Петри с подсушенной в течение 12 ч агаризованной средой ГРМ (ФБУН ГНЦ прикладной микробиологии и биотехнологии, Россия) с добавлением глюкозы (7 г/л), на поверхность которой предварительно была нанесена культура условно-патогенных тест-штаммов (Хаджиева З.Д. и др., 2010). Через 48 ч инкубации при  $37 \pm 1$  °C учитывали наличие зоны угнетения роста тест-штаммов (Лаптев Г.Ю.

и др., 2020). Оценка результатов проводилась по радиусу зон задержки роста вокруг «колодца», исключая диаметр самого «колодца». Зоны задержки измерялись с точностью до 0,01 мм с использованием штангенциркуля. Среднее значение определяли по 3 повторным измерениям. По величине зоны угнетения роста делали заключение о активности пробиотических бактерий к тест-культурам. Были приняты следующие критерии активности: более 2 мм – активность присутствует; менее 2 мм – антимикробная активность отсутствует.

Для оценки ширины спектра и агрегации результатов антимикробной активности был использован критерий – процент антимикробной активности ( $A$ ).

Процент антимикробной активности ( $A$ , %) тестируемых штаммов определяли по формуле 6 (Rangasamy O. et al., 2007; Kosakowska O. et al., 2018):

$$A = \frac{N_i}{N} \times 100, \quad (6)$$

где  $A$  – процент антимикробной активности;  $N_i$  – количество штаммов, ингибируемых исследуемым препаратом (пробиотическим штаммом);  $N$  – общее количество протестированных патогенов.

Данный показатель демонстрирует потенциал, ширину спектра антимикробной активности, значение которого определяется числом патогенных видов, обладающих чувствительностью к рассматриваемому пробиотическому штамму. Он показывает количество видов, восприимчивых к одному определенному веществу.

### **2.2.3. Биоинформатический анализ геномов пробиотических штаммов**

Полногеномное определение нуклеотидной последовательности было исполнено в компании ООО «БИОТРОФ» на приборе MiSeq методом NGS. Библиотеку ДНК для полногеномного секвенирования подготавливали с использованием набора Nextera DNA Flex (Illumina, Inc., США). Нуклеотидные последовательности определяли с помощью прибора MiSeq (Illumina, Inc.,

США), с использованием комплекта реактивов MiSeq Reagent Kit v3 (300-cycle; США).

Оценку качества последовательностей выполняли с применением специализированного программного обеспечения FastQC (Andrews S., 2010). Недостоверные последовательности и адаптеры удаляли с помощью программы Trimmomatic-0.38 (Bolger A.M. et al., 2014). Отфильтрованные по длине не менее 50 пар нуклеотидов (п. н.) парноконцевые последовательности собирали *de novo* при помощи геномного сборщика SPAdes-3.11.1 (Nurk S. et al., 2013). Полученные таким образом контиги использовали для последующего анализа. Функциональную аннотацию геномных последовательностей выполняли с помощью веб-сервера RAST 2.0 (RAST, англ., rapid annotations using subsystems technology) (Aziz R.K. et al., 2008). Для поиска генных кластеров, вовлеченных в синтез вторичных метаболитов, использовали веб-сервис antiSMASH 6.0 (Blin K. et al., 2021) с последующими уточнениями в базе NCBI протеин. Для идентификации нерибосомных пептидов (NRP) использовали базу данных Norine (Flissi A. et al., 2015). Поиск профаговых последовательностей выполняли с использованием веб-сервера PHASTER<sup>15</sup> (Arndt D. et al., 2016). Вирулентность геномов анализировали при помощи программы VirulenceFinder<sup>16</sup> (Kleinheinz K.A. et al., 2014), при поддержке веб-сервиса Дании «Центр геномной эпидемиологии»<sup>17</sup>. Поиск и оценку детерминант устойчивости к антибиотикам выполняли при помощи программы ResFinder<sup>18</sup> (Bortolaia V. et al., 2020).

#### **2.2.4. Исследования микробиома слепых отростков кишечника**

Пробы содержимого слепых отростков кишечника для исследования микробиома отбирали ручным методом с соблюдением условий асептики в пластиковые пробирки с последующим замораживанием до температуры -20 °C

---

<sup>15</sup> <http://phaster.ca>

<sup>16</sup> <https://cge.food.dtu.dk/services/VirulenceFinder/>

<sup>17</sup> <https://cge.food.dtu.dk>

<sup>18</sup> <https://cge.food.dtu.dk/services/ResFinder/>

и отправкой в сухом льде в молекулярно-генетическую лабораторию компании ООО «БИОТРОФ».

Тотальную ДНК из исследуемых образцов выделяли с использованием набора «Genomic DNA Purification Kit» (Thermo Fisher Scientific Inc, США) согласно прилагаемым наставлениям. Метод основан на селективном детергентно-опосредованном осаждении ДНК из субстрата с применением растворов для лизиса клеточных стенок и осаждения ДНК, 1,2 М хлорида натрия и хлороформа.

Бактериальное сообщество оценивали методом NGS-секвенирования на платформе MiSeq (Illumina, Inc., США) с применением праймеров для V3-V4 региона 16S рРНК (Illumina, Inc., США). Прямой праймер: 5'-TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAGCCTACGGGNGGCWGCAG-3'; обратный праймер: 5'-GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGGACTACHVGGGTATCTAATCC-3'. ПЦР проводили при следующих условиях : 95 °С в течении 3 мин; 95 °С в течении 30 секунд, 55 °С в течении 30 секунд и 72 °С в течении 30 секунд (необходимо для удлинения последовательности); данный цикл повторялся 25 раз; и окончательное удлинение при 72 °С на протяжении 5 мин. Секвенирование проводили при помощи реагентов для подготовки библиотек Nextera® XT IndexKit (Illumina Inc., США), для очистки ПЦР-продуктов Agencourt AMPure XP (Beckman Coulter Inc., США) и для проведения секвенирования MiSeq® ReagentKit v2 (500 cycle) (Illumina Inc., США). Максимальная длина полученных последовательностей составила 2 × 250 п. н.

Дальнейший биоинформатический анализ данных выполнялся с помощью программного обеспечения QIIME2 ver. 2020.8<sup>19</sup> (Bolyen E. et al., 2019). После импорта исходных последовательностей в формате \*.fastq и создания необходимых для работы файлов сопоставления (содержащих метаданные изучаемых файлов) парные строки прочтений были выровнены. Далее последовательности фильтровали по качеству с использованием параметров

<sup>19</sup> <https://docs.qiime2.org/2020.8>

настроек по умолчанию. Фильтрация шумовых последовательностей выполнялась с помощью встроенного в пакет QIIME2 методом DADA2 (Prodan A. et al., 2020), при этом использовалась максимальная длина последовательности обрезки, равная 250 п. н.<sup>20</sup> Для построения филогении *de novo* использовался программный пакет MAFFT (от англ. Multiple Alignment using Fast Fourier Transform – множественное выравнивание с использованием быстрого преобразования Фурье) (Katoh K. et al., 2013) позволяющий выполнить множественное выравнивание последовательностей. Далее проводилось маскированное выравнивание последовательностей, чтобы удалить позиции, которые значительно различались. Для анализа таксономии использовалась справочная база данных Silva 138.1<sup>21</sup> (Glöckner F.O. et al., 2017).

На основании полученных данных обилия ASV (Amplicon Sequence Variants) с использованием плагинов программного пакета QIIME2 были рассчитаны индексы биоразнообразия (формулы 1 – 5).

### 2.2.5. Методы исследования научно-хозяйственного и производственного опытов

Прирост живой массы ( $C$ ) учитывали еженедельно, индивидуально и в группе, как разницу живой массы между концом и началом определенного периода выращивания (формула 7). Выживаемость определяли как выраженное в процентах отношение количества цыплят, выживших к концу выращивания, к исходному количеству цыплят. Коэффициент конверсии корма ( $FCR$ ) определяли как отношение общего количества корма к общему приросту живой массы.

Определение среднесуточного прироста ( $C$ ):

$$C = \frac{W_t - W_0}{PP}, \quad (7)$$

<sup>20</sup> <https://benjjneb.github.io/dada2/tutorial.html>

<sup>21</sup> <https://www.arb-silva.de/documentation/release-138.1>

где  $C$  – среднесуточный прирост;  $W_t$  – масса одной головы в конце периода выращивания;  $W_0$  – масса одной головы в начале выращивания;  $PP$  – продолжительность выращивания, дни.

Европейский индекс производительности ( $EPI$ ) рассчитывался по следующей формуле 8 (Attia Y.A. et al., 2014, 2020):

где  $BW$  – средняя живая масса, кг;  $SR$  – сохранность поголовья, %;  $PP$  – продолжительность выращивания, дни;  $FCR$  – затраты корма на 1 кг прироста, кг.

$$EPI = \frac{BW \times SR}{PP \times FCR} \times 100. \quad (8)$$

Исследования крови проводились в испытательной лаборатории ФНЦ ВНИТИП РАН на автоматическом гематологическом анализаторе MicoCC-20Plus (High Technology Inc, США) и биохимическом анализаторе HumaLyzer 2000 (Human GmbH, Германия). В цельной крови и ее сыворотке определяли следующие показатели: количество эритроцитов и лейкоцитов (в камере Горяева), гемоглобин (цианидным методом с ацетонциангидридом, кальций (комплексометрическим методом с индикатором флуфксидом по Вичеву, Каракашеву), фосфор (в безбелковом фильтре крови с ванадо-молибдатным методом по Пулсу в модификации В.Ф. Коромыслова и Л.И. Кудрявцевой, общий белок (биуретовым методом) (Кондрахин И.П., 2004). Оценку иммунного статуса организма птиц проводили путем изучения фагоцитарной активности клеток крови (Садовников Н.В. и др., 2009).

## 2.3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

### 2.3.1. Результаты анализа полногеномного секвенирования бактерий в составе кормовых добавок

#### 2.3.1.1. Функциональная оценка бактерий

Целью данной работы стало изучение особенностей генетического потенциала пробиотических штаммов бактерий. Анализируя полногеномные последовательности микроорганизмов можно дать предположительную функциональную оценку и определить их роль в кормовой добавке. Проведенный молекулярно-генетический анализ геномов бактерий *B. megaterium* В-4801, *E. faecium* 1-35 (входящие в состав кормовой добавки Профорт®), а также *B. mucilagenosus* 159 (вместе с *B. megaterium* В-4801 входят в состав Пробиоцид®-Ультра) позволил установить некоторые биологические особенности штаммов. Было установлено, что размер генома *B. megaterium* В-4801 имел наибольший размер, *B. mucilagenosus* 159 – средний, а *E. faecium* 1-35 – наименьший, составим при этом 6 113 972, 3 970 760 и 2 668 596 п. н. (таблица 2) (Лаптев Г.Ю. и др., 2020).

Таблица 2 – Основные характеристики геномов пробиотических штаммов, выполненный при помощи RAST 2.0

	<i>B. megaterium</i> В-4801	<i>B. mucilagenosus</i> 159	<i>E. faecium</i> 1-35
Г/Ц-состав, %	37,5	46,3	38,3
Размер сборки генома, п. н.	6 113 972	3 970 760	2 668 596
Количество открытых рамок для чтения (кодирующих последовательностей), шт	6324	4127	2585

Данные RAST-анализа геномов *B. megaterium* В-4801, *B. mucilagenosus* 159 и *E. faecium* 1-35 в сравнении между собой, показали, что в составе геномов

исследуемых бактерий содержалось большое количество генетических детерминант, определяющих метаболизм углеводов, белка и аминокислот (таблица 3) (Лаптев Г.Ю. и др., 2020).

Для бактерии рода *Bacillus* отличительной чертой стало наличие специфических детерминант: вторичного метаболизма и метаболизма азота. Они также отличаются большим числом генов, ответственных за метаболизм ароматических соединений, подвижность и хемотаксис, дыхание и споруляцию. Это прежде всего связано с их естественным местом обитания – растения и почва.

Для анализа системы метаболизма была также использована возможность анализа при помощи веб сервиса RAST 2.0. Бактерии *E. faecium*, прежде всего отличаются от бактерий рода *Bacillus*, относительно высоким числом генов ответственных за метаболизм углеводов. Их доля составляет 22,00% от общего числа всех детерминант *E. faecium*.

В хромосоме *E. faecium* 1-35 был идентифицирован ген *svrA* (синоним – *dedE*) (1), связанный с продуцированием одного из энтероцинов – колицином V. Размер кодирующей последовательности составил 549 н. п., 183 а. а. (рисунок 10).

По результату оценки ResFinder детерминант устойчивости к антибиотикам в геномах *B. megaterium* В-4801 и *B. mucilaginosus* 159, обнаружено не было. В геноме *E. faecium* 1-35 обнаружены два гена антимицробной устойчивости *msr(C)* и *aac(6')-Ii* с идентичностью 97,23% и 98,36%, соответственно.

Ген *msr(C)*, имеющий 1479 п. н., придает устойчивость к эритромицину и другим макролидам и антибиотикам группы стрептограмина Б (Portillo, et al., 2000; Mišić, et al., 2022). Данный ген является неотъемлемым компонентом геномов всех *E. faecium*, за исключением двух изолятов, полученных от животных (Werner G. et al., 2002). Считается, что этот ген, по-видимому, имеет эндогенное происхождение и не является геном приобретенной устойчивости, как, например, *msr(A)* (Roberts M.C. et al., 1999; Singh K.V. et al., 2001).

Таблица 3 – Сравнительный анализ систем клеточного метаболизма бактерий кормовых добавок, выполненный при помощи RAST 2.0

Системы метаболизма	Распределение числа генов по функциям систем метаболизма бактерий					
	<i>B. megaterium</i> B-4801		<i>B. mucilaginosus</i> 159		<i>E. faecium</i> 1-35	
	Всего	%	Всего	%	Всего	%
Метаболизм белка	285	7,6	183	11,1	222	12,4
Метаболизм углеводов	659	17,5	218	13,2	393	22,0
Метаболизм аминокислот и их производных	593	15,8	295	17,8	187	10,5
Метаболизм нуклеозидов и нуклеотидов	129	3,4	98	5,9	95	5,3
Метаболизм жирных кислот, липидов, изопреноидов	190	5,1	57	3,4	62	3,5
Метаболизм ароматических соединений	24	0,6	10	0,6	2	0,1
Метаболизм РНК	179	4,8	69	4,2	119	6,7
Метаболизм ДНК	140	3,7	60	3,6	129	7,2
Метаболизм серы	91	2,4	6	0,4	8	0,4
Метаболизм фосфора	53	1,4	18	1,1	29	1,6
Метаболизм азота	31	0,8	19	1,1	0	0,0
Системы, определяющие баланс калия	13	0,3	3	0,2	5	0,3
Поступление железа в клетку	42	1,1	25	1,5	22	1,2
Синтез кофакторов, витаминов, простетических групп, пигментов	340	9,0	149	9,0	83	4,6
Клеточное деление и клеточный цикл	48	1,3	6	0,4	42	2,4
Подвижность и хемотаксис	84	2,2	42	2,5	1	0,1
Регуляция и сигнальные системы	81	2,2	26	1,6	31	1,7
Вторичный метаболизм	7	0,2	6	0,4	0	0,0
Состояние покоя и споруляции	162	4,3	92	5,6	7	0,4
Процесс дыхания	78	2,1	41	2,5	16	0,9
Ответ на стрессовые факторы	163	4,3	46	2,8	73	4,1
Системы транспорта через клеточную мембрану	86	2,3	41	2,5	54	3,0
Клеточная стенка, синтез капсул	123	3,3	79	4,8	120	6,7
Клеточная защита	94	2,5	40	2,4	52	2,9
Остальные	65	1,7	27	1,6	34	1,9
Всего	3760	100	1629	100	1786	100

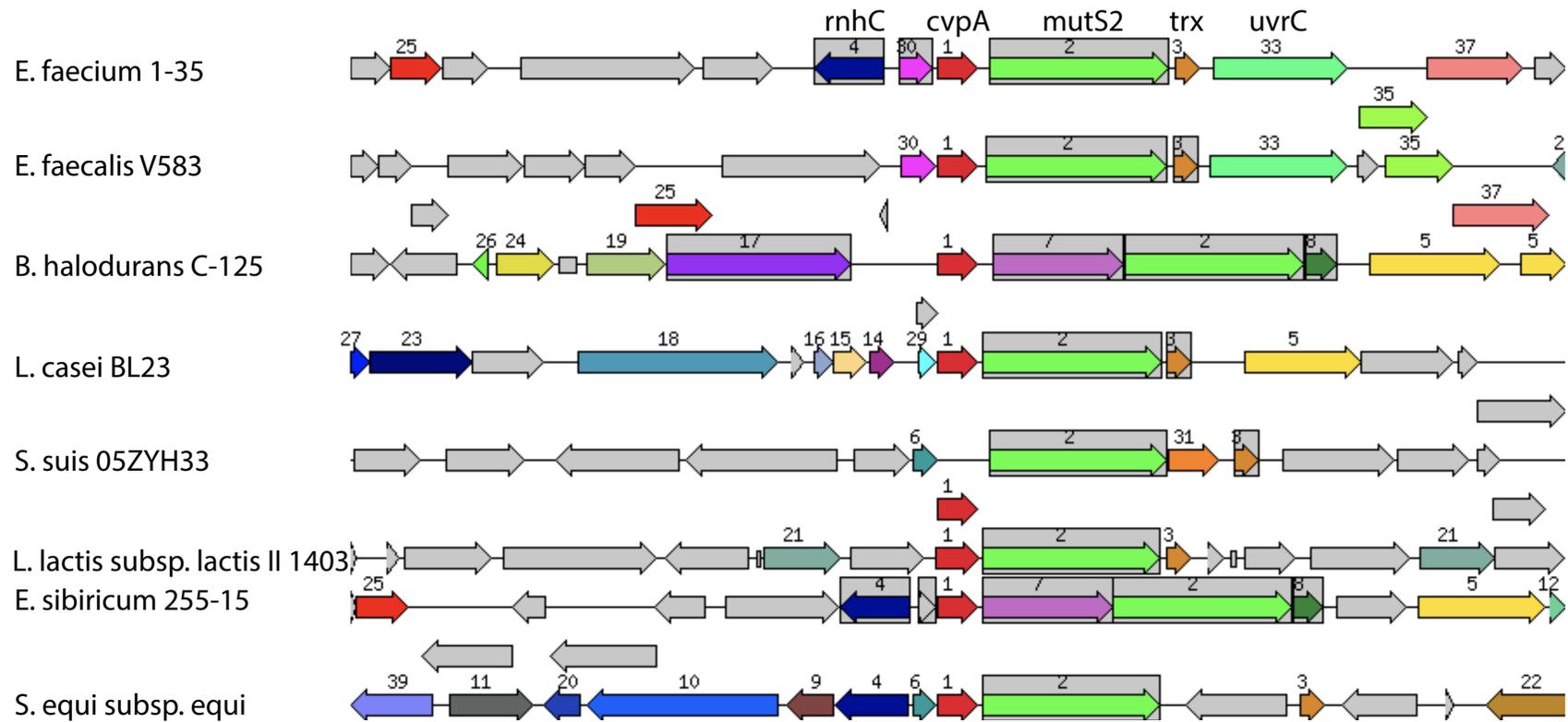


Рисунок 10 – Генетическая карта хромосомных локусов *E. faecium* 1-35 в сравнение с бактериями с похожими последовательностями. Участок фокусного гена *cvpA* (1) в сравнение с аналогичными организмами отмечен красным цветом, другими цветами и цифрами отмечены гены с похожей последовательностью. Гены, относительное положение которых сохраняется по крайней мере у четырех других видов, функционально связаны имеют общие прямоугольники серого фона. Направление стрелок соответствует направлению транскрипции

Второй детерминантной антимикробной устойчивости стал ген *aac(6')-Ii* размером 549 п. н. Он также является специфичным для этого вида и может быть использован для идентификации *E. faecium*, обуславливая при этом устойчивость к группе аминогликозидов (*tobramycin*, *gentamicin*, *sisomicin*, *dibekacin* и *netilmicin*) (Costa Y. et al., 1993).

Другим ученым удалось установить наличие генов *msr(C)* и *aac(6')-Ii* во всех рассмотренных ими *E. faecium*, но не в *E. faecalis* используемых с пробиотической или пищевой целью, что стало являться их характерной особенностью (Bonacina J. et al., 2017). В дополнение известно, что пробиотические штаммы *Lactobacillus* также помимо гена *aac(6')-Ii* могут содержать и другие детерминанты антимикробной устойчивости (Duche R.T. et al., 2023).

Стоит отметить, что установленные детерминанты антимикробной устойчивости в *E. faecium* 1-35 связаны с хромосомой и не относятся к мобильным элементам, вследствие чего представляют низкий риск их передачи. Бактерии *B. megaterium* В-4801 и *B. mucilaginosus* 159 не содержат таких генов, что также исключает их перенос и формирование антибиотикоустойчивой микрофлоры.

Особенностью организации генетического аппарата исследуемых пробиотических штаммов бактерий стало предсказание с помощью сервера PHASTER мобильных генетических элементов – профагов. В геноме бактерий *B. megaterium* В-4801 и *B. mucilaginosus* 159 обнаружены соответственно 1 и 4 дефектных профага с оценкой полноты представленности менее 70 (по версии PHASTER). В плазмидной части геномов бактерий рода *Bacillus* также представлены профаги в дефектном состоянии.

В геноме бактерий *E. faecium* 1-35 также обнаружены 3 дефектных профага и 2 полноразмерных (интактных). Первый из полноразмерных профагов размером 34 967 п. н., предположительно определен как *B. phage* phBC6A52. Последовательность встроенного фага содержит 36,91% Г/Ц-пар, что на 3,6% меньше, чем в хромосоме клетки хозяина. Вторым полноразмерным профагом,

предположительно был *Phage Lister 2389*, относящийся к нативному бактериофагу видов *Listeria* (Klumpp J. et al., 2013). Размер его генома составил 38 249 п. н., при содержании 35,23% Г/Ц-пар, что на 8,02% отличается от генома клетки хозяина. Бактериофаг *Lister 2389* можно выделить из бактерий *E. faecium*, используемых для приготовления ферментированных продуктов, таких как сыры и мясо (Bonacina J. et al., 2017). Плазмидная часть генома *E. faecium 1-35* содержит аналогичные последовательности профага, но все они не являются интактными.

Установленное низкое отличие Г/Ц-состава интактных вирусов от генома хозяина свидетельствует о том, что интеграция их произошла относительно давно (Pride D.T. et al., 2003; Lawrence J.G. et al., 1997; Reva O.N. et al., 2005). В хромосомах практически всех изученных бактерий имеются дефектные и полные вирусные геномы, присутствие которых свидетельствует о процессах горизонтального переноса. Наличие в бактериальной клетке фагов, включенных в бактериальную хромосому, имеет важное функциональное значение, выполняя защиту от проникновения других схожих вирусов.

Поиск генов, кодирующих предполагаемые факторы вирулентности программой *VirulenceFinder*, показал их отсутствие у *B. megaterium* B-4801 и *B. tucilaginosus* 159. Однако у *E. faecium 1-35* были обнаружены два фактора вирулентности – *efaAfm* и *astm* (ген адгезии и предшественника коллагенового адгезина) (Choeisoongnern T. et al., 2021; Singh K.V. et al., 1998). Геномный анализ показал, что *E. faecium 1-35* несет потенциальный ген фактора вирулентности *astm*, который кодирует коллаген-связывающий белок *Astm* и действует путем связывания коллагена типа I и типа IV (Zhang Y. et al., 2021). Ген *astm* обнаружен также в геноме пробиотика *E. faecium* SF68, обладающего крайне низкой способностью к адгезии эпителиальных клеток (Holzapfel W. et al., 2018).

Все установленные факторы вирулентности не являются агрессивными. В плазмидах не обнаружены гены, связанные с вирулентностью. Согласно рекомендациям Европейского агентства по безопасности пищевых продуктов (EFSA), когда штамм чувствителен к ампициллину и не имеет генов

вирулентности IS16, *esp* и *hyl* (генов элемента IS, белка поверхности и гиалуронидазы) (Su Y.A. et al., 1991; Sillanpää J. et al., 2008; Coburn P.S. et al., 2003), он может быть оценен как безопасный и может быть использован в качестве кормовой добавки. *E. faecium* 1-35 соответствует этим критериям (Rychen G. et al., 2017; Freitas A.R. et al., 2018). Таким образом, можно сделать вывод о том, что штаммы не являются инвазивными. Это является немаловажным фактором с точки зрения сохранения безопасности кормов (Korit L.M. et al., 2014).

Выводы. Анализ последовательности генома позволяет оценить потенциальные риски, связанные с патогенностью и антибиотикоустойчивостью бактериальных штаммов, применяемых в пробиотических кормовых добавках. Штаммы пробиотических бактерий, включенных в состав кормовых добавок Профорт® и Пробиоцид®-Ультра, можно считать безопасными для применения в сельском хозяйстве. Применяемые в сельском хозяйстве пробиотические кормовые добавки должны отвечать требованиям безопасности в отношении распространения и накопления генов устойчивости к антибиотикам. Наибольшая эффективность проводимых противоэпизоотических мероприятий с целью контроля распространения и накопления генов устойчивости к антибиотикам может быть достигнута только при подробном изучении свойств компонентов корма.

### 2.3.1.2. Антимикробная активность бактерий

Определение антагонистической активности к *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* и *Salmonella typhimurium* для *B. megaterium* В-4801, *B. mucilaginosus* 159 и *E. faecium* 1-35 определяли в соответствии с требованиями ГФ и изм. от 28.12.1998 г. *in vitro* методом диффузии в агар (Хаджиева З.Д. и др., 2010).

Исследуемый штамм бактерии *B. megaterium* В-4801 обладает антагонистической активностью по отношению к *Staphylococcus aureus* (Лаптев

Г.Ю. и др., 2020) и *Escherichia coli*. Антимикробные свойства также проявил и *B. mucilaginosus* 159 в отношении *P. aeruginosa*, *Escherichia coli* и *Salmonella typhimurium*. Штамм *E. faecium* 1-35 проявил антимикробную активность по отношению к *P. aeruginosa* и *Escherichia coli*. Это позволяет предположить, что пробиотические бактерии способны выделять антимикробные вещества в процессе своей жизнедеятельности (таблица 4) (Йылдырым Е.А. и др., 2019).

Таблица 4 – Угнетение роста тест-штаммов патогенов под действием пробиотических бактерий и их антимикробная активность ( $n = 3$ ,  $M \pm SEM$ )

Тест-объекты (патогенный микроорганизм)	<i>B. megaterium</i> В-4801, зоны задержки роста, мм / активность		<i>B. mucilaginosus</i> 159, зоны задержки роста, мм / активность		<i>E. faecium</i> 1-35, зоны задержки роста, мм / активность	
<i>Staphylococcus aureus</i>	3,48±0,16	+	1,25±0,06	–	0,01±0,00	–
<i>P. aeruginosa</i>	0,01±0,00	–	4,55±0,22	+	6,00±0,27	+
<i>Escherichia coli</i>	3,27±0,15	+	13,00±0,63	+	2,85±0,13	+
<i>Salmonella typhimurium</i>	0,01±0,00	–	9,90±0,45	+	0,01±0,00	–
A, %	25		75		50	

«+» отмечены штаммы, обладающие антимикробной активностью с зоной подавления  $\geq 2$  мм, A – процент антимикробной активности определялся по формуле 6

Таким образом, пробиотическими штаммами *B. megaterium* В-4801, *B. mucilaginosus* 159 и *E. faecium* 1-35 было ингибировано 25, 75 и 50% тест-штаммов, соответственно (тест-штаммы: *Staphylococcus aureus*, *P. aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*). Комбинируя методы классической микробиологии, совместно с молекулярно-генетическими методами и биоинформатики, ресурсами лаборатории компании ООО «БИОТРОФ» удалось установить специфические фенотипические и генетические особенности пробиотических штаммов бактерий.

### 2.3.1.3. Оценка потенциала синтеза метаболитов при помощи веб-сервиса antiSMASH 6.0

В хромосоме бактерий *E. faecium* 1-35 были обнаружены гены нерибосомных пептид-синтетаз (НРПС). Размер данного локуса составил 37 368 п. н. Прогнозируемая программой antiSMASH основная структура полимера представлена на рисунке 11. По результатам оценки в базе нерибосомных пептидов Norine, можно предположить, что данный продукт имеет определенную долю сходства с АДЕП-1 (Ацил-де-пси-пептид). Сравнение проводилось по 717 пептидами, и согласно оценке Norine доля сходства составила 0,329. Из свойственных для АДЕП-1 входящих в него четырех аминокислот (пролин, аланин, серин и фенилаланин), двух метилированных аминокислот (4-метилпролин и N-метилированный аланин) и окта-2,4,6 - триеновой кислоты в предсказанном полимере установлены следующие мономеры – пролин, аланин, фенилаланин и N-метилаланин (таблица 5, 6).

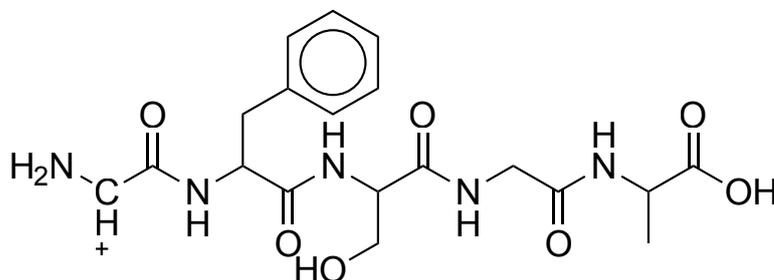


Рисунок 11 – Структурный вид предсказанного полимера

Таблица 5 – Физико-химические свойства предсказанного полимера

Свойства	Значения
Биологическое описание предсказанного полимера	(X - Phe - Ser) + (Gly) + (Ala)
Формула	$C_{19}H_{26}N_5O_7^+$
Формула в формате SMILES	<chem>O=C(C(NC([CH+]N)=O)Cc1ccccc1)NC(C(NC(C(NC(C(O)=O)C)=O)=O)CO</chem>
Молекулярный масса	436,44 г/моль
Число доноров водородной связи	7
Число акцепторов водородной связи	8
Коэффициент распределения октанол-вода (logP)	-1,75
Растворимость	Хорошо растворимый

Таблица 6 – Характеристика хромосомных локусов, определяющих синтез вторичных метаболитов

Штамм	Размер локуса, п.н.	Химическая природа метаболита, (метаболит)	Сходство с гомологичными локусами бактерий	
			Штамм	%
<i>B. mucilaginosus</i> 159	23189	Лантипептиды II класса (Мерсацидин)	<i>B. sp.</i> HIL-Y85/54728	100
	41419	НРП (Бацилизина дипептид)	<i>B. velezensis</i> FZB42	100
	51794	НРП, Сидерофор (Бациллибактин)	<i>B. subtilis subsp. subtilis str.</i> 168	100
	33917	Поликетид (Диффицидин)	<i>B. velezensis</i> FZB42	100
	88219	Поликетид (Макролактин)	<i>B. velezensis</i> FZB42	100
	20741	Терпен, Тетратерпеноид	<i>B. amyloliquefaciens</i>	100
	88315	Липопептиды (Бацилломицин Д)	<i>B. velezensis</i> FZB42	100
	35983	Поликетид (Бациллаен)	<i>B. velezensis</i> FZB42	71
	65408	НРП, Липопротеин (Сурфактин)	<i>B. velezensis</i> FZB42	82
	46526	НРП, Поликетид, (Диффицидин)	<i>B. velezensis</i> FZB42	53
	22702	НРП (Плипастатин)	<i>B. subtilis subsp. subtilis</i>	30
<i>B. megaterium</i> В-4801	15889	Сидерофор (Шизокинен)	<i>Leptolyngbya sp.</i> PCC 7376	62
	23141	Лантипептид (Цитолизин)	Кластер генов биосинтеза цитолизина <i>ClyI1</i> из плазмиды <i>pAD1</i>	40
<i>E. faecium</i> 1-35	37368	НРП (АДЕП-1)	<i>E. faecium</i> KACC16100	62
	9342	НРП	<i>Lactobacillus plantarum</i> B21	18

С целью оценки абсорбции или проникающей способности этого соединения руководствовались эмпирическим «правилом пяти» Липински (Pfizer's rule of five, или Rule of five) (Lipinski С.А., 2016), согласно которым плохая абсорбция или проникающая способность будет у соединений, если удовлетворяются два или более условий:

- Молекулярную массу >500;

- Доноров водородной связи >5;
- Акцепторов водородной связи >10;
- Коэффициент распределения октанол-вода ( $\log P$ ) >5.

Все числа кратны пяти, что объясняет происхождение названия правила. Стоит учесть, что не все лекарственные вещества удовлетворяют правилам пяти Липински и правило не дает оснований для утверждений, что соединение является фармакологически и перорально активным (Protti Í.F. et al., 2021).

Было установлено, что из четырех критериев есть несоответствие только по одному – числу доноров водородной связи. Таким образом, вероятно данное соединение обладает определенной фармакологической и биологической активностью при пероральном применении.

Серинпептидаза ClpP представляющая собой тетрадекамерную молекулярную машину деградации, участвующую во многих физиологических процессах связываясь с ADEP вызывает нарушение регуляции и активацию ClpP без участия АТФаз, что потенциально может быть использовано в качестве нового антибиотика. Таким образом, изучение уже известных соединений, оценка и поиск новых форм ADEP может быть использовано для улучшения их направленности и общих фармакокинетических свойств.

Второй локус генома (длиной 9 342 п. н.) *E. faecium* 1-35 также связан с НРПС, но продукт его синтеза идентифицировать не удалось, лишь незначительная его часть имеет сходство с гомологичными локусами с *Lactobacillus plantarum* B21 (Бражник Е.А. и др., 2020).

Для *B. megaterium* В-4801 свойственными стали кластеры, ответственные за синтез вторичных метаболитов – сидерофоров и лантипептидов. Все они являются характерными метаболитами для бактерий рода *Bacillus spp.* и имеют сходную организацию генных кластеров. Наибольший интерес представляют предсказанные метаболиты, относящиеся к наиболее полным генным кластерам (таблица 6).

Сидерофоры представляют собой железохелатирующие низкомолекулярные соединения, связывающие железо ( $Fe^{3+}$ ), образуют вне

клетки комплекс железо-сидерофор, который импортируется в бактериальный цитозоль (Kodani S. et al., 2013). Бактерии, способные к производству сидерофоров применяют для стимулирования роста растений, экологической биоремедиации и доставки лекарств. В микробной экологии сидерофоры усиливают рост микроорганизмов в естественных и искусственных средах и изменяют микробное сообщество (Saha M. et al., 2016). Синтез сидерофора при участии установленного генного кластера (длиной 15 889 п. н.), происходит непосредственно с участием белка семейства *IucA/IucC* и вовлечением всех генов этого кластера. Предполагаемый сидерофор – шизокинен, синтез которого имеет сходство с цианобактериями *Leptolyngbya sp.* PCC 7376 (Rehan M. et al., 2022).

Лантипептид (размер локуса, принимающего участие в его синтезе 23 141 п. н.), имеющий на 40% сходство с кластером биосинтеза цитолизина *ClyL1* плазмиды *pAD1* относится к рибосомально синтезированным пептидам (РПП). В хромосоме штамма *B. mucilaginosus* 159 идентифицировано 11 локусов, предположительно кодирующих гены синтеза веществ с антагонистической активностью различной химической природы: липопептидов (сурфактин и бацилломицин Д), поликетидов (бациллаен, макролактин и диффицидин), лантипептида (мерсацидин), бацилизина дипептид, сидерофора и др. (таблица 6). Эти 11 кластеров имеют наибольшее сходство с уже известными гомологичными локусами бактерий рода *Bacillus spp.* Суммарный размер этих локусов составляет 0,57% от размера всего генома. Детектированные генные кластеры оказались наиболее близкими к гомологичным локусам бактерий видов *B. velezensis*, *B. subtilis* и *B. amyloliquefaciens*. Установленные метаболиты (бациллибактин, диффицидин, макролактин и др.) активны в подавление развития грибов и бактерий.

Одними из важных биологически активных продуктов бактерий рода *Bacillus* являются циклические липопептиды, которые в зависимости от структуры можно выделить в следующие классы: сурфактины; итурины (итурин А, микосубтилин и бацилломицин); фенгицины (плипастантин). Для

липopeптидов свойственен широкий спектр бактерицидного, фунгицидного и инсектицидного действия (Fira D. et al., 2018). Бактериально синтезируемым липopeптидам характерен нерибосомальный синтез и присутствие в структуре необычных и D-аминокислот (Tran H. et al., 2007).

Бацилломицины (размер детектированного локуса 88 315 п. н.) характеризуются биоцидной активностью в отношении широкого спектра видов грибов (Jasim B. et al., 2016). Было показано подавление *Fusarium oxysporum* под действие бацилломицина Д продуцируемого штаммом *B. amyloliquefaciens* (Martín M.C. et al., 2021; Cao Y. et al., 2018). Также сообщалось, что *B. amyloliquefaciens* FZB42 проявляет антагонистическую активность в отношении к *Fusarium graminearum* – который угрожает производству и качеству злаковых культур во всем мире (Gu Q. et al., 2017). С молекулами циклических липopeптидов связывают снижение тяжести заболевания салата вызванного *Rhizoctonia solani* (Chowdhury S.P. et al., 2015).

Предполагаемый пептидный продукт для *B. mucilaginosus* 159 – мерсацидин (размер локуса 23 189 п. н.) относится к лантипептидам II класса, характеризуется более компактной глобулярной структурой (лантибиотики типа В), которые не способны образовывать трансмембранные комплексы. Антимикробная активность этих молекул зависит исключительно от их способности останавливать биосинтез пептидогликана (Brötz H. et al., 1998).

Прогнозируемый нерибосомно синтезируемый дипептид бацилизин (размер ответственного локуса 41 419 п. н.), состоящий из непротеиногенного L-антикапсина и N-концевого L-аланина, впервые был выделен Foster J. W., Woodruff H. B. из почвенной бактерии *B. subtilis* (Kenig M. et al., 1976). Антимикробная активность бацилизина продуцированного *B. subtilis* по отношению к *Staphylococcus aureus* вызывала большой интерес среди ученых (Abraham E.P. et al., 1946). Позже была установлена антимикробная активность и в отношении мицелиальных грибов, дрожжей и *E. coli* (Kenig M. et al., 1976; Özcengiz G. et al., 2015). Механизм антимикробной активности бацилизина основан на ингибировании глюкозамин-синтазы, вовлеченной в синтез нуклеотидов,

аминокислот и коферментов, что приводит к лизису микробных клеток (Савустьяненко А.В., 2016).

Поликетиды представляют самую большую группу бактериальных вторичных метаболитов. Поликетидсинтазы (ПКС) (PKS) собирают небольшие ацильные строительные блоки типа уксусной кислоты в поликетиды посредством связей С-С. Гибридные сборочные линии PKS-NRPS создают структурно сложные гибридные молекулы поликетид-аминокислота/пептид, которые включают в свои продукты как ацильные, так и аминокислотные строительные блоки. Их объединенные функциональные возможности расширяют биологическую активность этих молекул, смешивая их химические свойства (Miyanaga A. et al., 2018).

Такие поликетиды как бациллаен, макролактин и диффицидин имеют широкий спектр биологической активности – противобактериальной и противогрибковой. Так предполагаемый продукт бациллаен – антибиотик, ингибирующий синтез прокариотического белка, но не эукариотического (размер локуса составил 35 983 п. н.). Исследования, проведенные другими учеными, со штаммами кишечной палочки, показывают, что антибиотик обладает бактериостатическим эффектом (Patel P.S. et al., 1995).

Макролактин (длина детектированного локуса 88 219 п. н.) представляет собой большую группу макролидных антибиотиков с 24-членным лактоновым кольцом, впервые обнаруженным у глубоководных морских бактерий рода *Bacillus*. Макролактин обладает многочисленными биологическими свойствами, такими как: ингибирование пролиферации раковых клеток, проявление защитного действия на Т-лимфоциты от ВИЧ-инфекции путем ингибирования активности фосфатазы (Gustafson K. et al., 1989). Было показано, что макролактин, продуцируемый многими почвенными микробами, является эффективным антибактериальным средством против многих бактериальных патогенов. Постоянное применение макролактоина снижает  $\alpha$ -разнообразие бактериального сообщества почвы и приводит к изменению структуру бактериального сообщества (Yuan J. et al., 2016).

Привлекает внимание комплекс диффицидина (локус длиной 46 526 п. н.) и бацилизина проявляющий активность в отношении грамотрицательных бактерий (Jaruchoktaweechai C. et al., 2000). Антимикробные вещества бацилизин и диффицидин продуцируемые *B. amyloliquefaciens* позволяют реализовать биологический метод борьбы с патогенами растений. Сочетанное действие бацилизина и диффицидина может быть использовано для борьбы с заболеванием риса, вызванным патогенными *Xanthomonas oryzae* (Wu L. et al., 2015). Диффицидин был впервые обнаружен при культивирование *B. subtilis* ATCC 39320 (Wilson K.E. et al., 1987).

Терпеноиды – это вторичные метаболиты, в основном вырабатываемые растениями, а также и некоторыми бактериями и дрожжами. Сообщалось, что различные терпеноиды имеют противомикробные, противогрибковые, противовирусные, противопаразитарные, антигипергликемические, противоаллергенные, противовоспалительные, спазмолитические, свойства иммуномодулятора и химиотерапевтические свойства. Они также могут использоваться в качестве натуральных инсектицидов и защитных веществ при хранении сельскохозяйственной продукции (Thoppil R.J. et al., 2011). Один из определенных локусов ответственный за синтез терпенов (длиною 20 741 п. н.) относится к классу тетратерпеноидов, который представляет соединение, полученное из фитоена. Самой известной группой тетратерпеноидов являются каротиноидные пигменты. Каротиноиды выполняют важные биологические функции благодаря своей антиоксидантной активности, также их используют в качестве пищевых красителей (Abdallah I.I. et al., 2017).

Наличие локуса сурфактина (65 408 п. н.) может свидетельствовать о потенциальной способности *B. mucilaginosus* 159 диспергировать бактериальные и дрожжевые биопленки (Кисиль О.В. и др., 2023). Наличие локуса (51 794 п. н.) ответственного за продуцирование бациллибактина – сидерофора, способного подавлять развитие патогенов рода *Pseudomonas* (Dimoroulou A. et al., 2021) может также играть положительную роль в формировании здоровой микрофлоры пищеварительного тракта птицы.

Кормовые добавки с пробиотическими бактериями могут стать альтернативным решением при замене кормовых антибиотиков. Для бактерий *B. mucilaginosus* 159 определено наибольшее число генетических кластеров ответственных за синтез вторичных метаболитов как на рибосомах, так и без их участия.

### 2.3.2. Результаты производственных испытаний добавок

#### 2.3.2.1. Результаты научно-хозяйственного опыта по испытанию добавки Профорт®

Производственные испытания проводили в период с 1 августа 2016 года по 6 сентября 2016 года на цыплятах-бройлерах кросса «Кобб-500» с 1-го дня жизни по 37-й день в ФГБУ СГЦ «Загорское ЭПХ» ВНИТИП (рисунок 12). По методу групп – аналогов были подобраны 2 группы цыплят (контрольная и опытная) по 1000 голов в каждой, которых выращивали в клеточных батареях фирмы Big Dutchman в одинаковых условиях содержания и кормления согласно «Методическому руководству по кормлению сельскохозяйственной птицы» (2015). Плотность посадки, световой и температурный режимы установлены согласно «Методическим рекомендациям по технологическому проектированию птицеводческих предприятий» (2013).

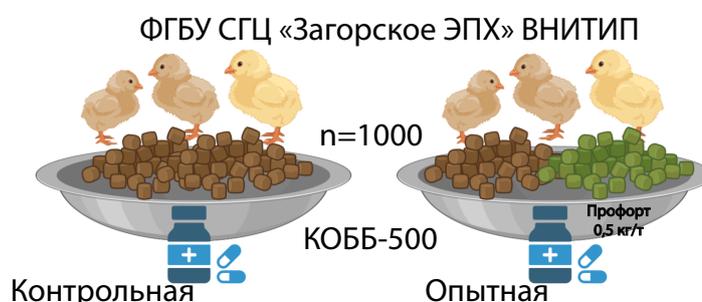


Рисунок 12 – Схема опыта. Рисунок создан с помощью BioRender.com

Птица обеих групп получала полнорационный комбикорм с кормовым антибиотиком. Кормовую добавку Профорт® вводили опытной группе в смеси с комбикормом из расчета 500 г/т. Кормление осуществлялось сухими рассыпными комбикормами, до 5-го дня Престартовой крошкой, далее с 6-го дня до 21-го дня по рецепту «Старт», с 22-го дня до убоя – по рецепту «Финиш». Состав и качественные показатели применяемых комбикормов представлены в Приложении А и Б.

За прошедший период эксперимента была собрана информация по основным зоотехническим показателям: сохранность, живая масса птицы в 21-ые и 37-ые сутки (методом взвешивания всего поголовья и по отдельности), среднесуточный прирост и расход корма на единицу прироста живой массы (Патент № RU2652836, 2017). Результаты опыта представлены в таблице 7.

Таблица 7 – Основные зоотехнические показатели при испытании Профорт®

Показатель	Группа		Отклонение к контролю, %	
	Контрольная	Опытная		
Сохранность, %	95,1	98,9	Δ 3,8	
Половое соотношение курочки: петушки	490/510	489/511	–	
Живая масса, г	Суточного цыпленка	42	42	100,0
	Цыпленка в 21 день ( <i>n</i> = 35, М±SEM)	830,8±13,7	845,7±12,6	101,8
	Петушков в 37 дней ( <i>n</i> = 35, М±SEM)	2242,2±48,2	2337,3±43,8	104,2
	Курочек в 37 дней ( <i>n</i> = 35, М±SEM)	2076,7±32,5	2072,4±30,3	99,8
	В среднем по всему поголовью	2159,5	2193,5	101,6
	В среднем, при соотношении 50/50 ( <i>n</i> = 35, М)	2159,5	2204,9	102,1
Расход корма на 1 голову за 34 дня выращивания, кг	3,32	3,30	99,4	
Затраты корма на 1 кг прироста живой массы за 37 дней выращивания, кг	1,57	1,53	97,5	
Среднесуточный прирост живой массы, г	57,2	58,5	102,3	
Индекс эффективности (ЕPI), ед.	353,5	385,2	109,0	

Δ – абсолютное изменение, разница между опытной и контрольной

При вводе кормовой добавки Профорт® в состав рациона цыплят-бройлеров на протяжении всего периода выращивания был зафиксирован рост живой массы опытной группы на 45,4 г (2,1%), при соотношения курочек и петушков 50/50. Кроме того, средняя живая масса всех цыплят опытной группы на 37-й день была выше контрольной на 34 г (1,6%). Положительный результат отмечен и по показателю сохранности, который в опытной группе достиг 98,9%, что превосходит показатель контрольной группы на 3,8% в абсолютном выражении. Применение кормовой добавки Профорт® привело к снижению затрат корма на 1 кг прироста живой массы на 40 г (2,5%) (Патент № RU2652836, 2017).

Опытная группа имела лучший показатель эффективности, чем контрольная на 31,7 ед. (9,0%). Таким образом, подтверждается повышение переваримости кормов и их усвояемость в рационе цыплят-бройлеров. Результаты производственных испытаний подтверждают целесообразность применения кормовой добавки Профорт® для повышения эффективности производства при выращивании бройлеров. Применение кормовой добавки с пробиотическими бактериями позволяет более эффективно использовать кормовые ресурсы. Учитывая, что затраты на корма составляют основную часть от общих затрат в бройлерном птицеводстве, то более эффективное использование кормовых ресурсов позволит получить больше готовой продукции при сохранении прежних затрат.

### **2.3.2.2. Результаты научно-хозяйственного опыта по испытанию добавки Пробиоцид®-Ультра**

Опыт проводился на цыплятах-бройлерах кросса «Смена 8» в условиях вивария № 17 подсобного хозяйства ФНЦ ВНИТИП РАН на двух группах, состоящих из 35 голов в каждой. Цыплята размещались в клетках фирмы Big Dutchman, плотность посадки, световой и температурный режимы были установлены согласно «Методическим рекомендациям по технологическому

проектированию птицеводческих предприятий» (2013). Продолжительность опыта с 1-го по 36-й день жизни (с 28 октября по 3 декабря 2019 года). Схема опыта представлена на рисунке 13. Основной рацион представлен полнорационным комбикормом с питательностью согласно рекомендациям ВНИТИП (2019).



Рисунок 13 – Схема опыта. Рисунок создан с помощью BioRender.com

Кормление осуществлялось сухими рассыпными комбикормами, до 5-го дня Престартовой крошкой, далее с 6-го дня до 21-го дня по рецепту «Старт», с 22-го дня до убоя – по рецепту «Финиш». В комбикорме контрольной группы кормовая добавка не использовалась, а для второй группы была использована добавка Пробиоцид<sup>®</sup>-Ультра в дозировке 1,0 кг/т комбикорма. Рецепты и питательные качества комбикормов представлены в Приложении В и Г. Результаты основных зоотехнических показателей эксперимента на цыплятах-бройлерах представлены в таблице 8.

Полученные данные свидетельствуют, что при включении добавки Пробиоцид<sup>®</sup>-Ультра в количестве 1,0 кг/т комбикорма сохранность цыплят была на одном уровне и составила 100%. По завершении опыта средняя живая масса птицы опытной группы превосходила контрольную на 3,0%, а среднесуточный прирост в опытной группе был также выше на 3,0%. Затраты корма на 1 голову в опытной группе были на 1,3% ниже, а конверсия корма в опытной группе улучшилась на 4,1%.

Таблица 8 – Основные зоотехнические показатели при испытании

Пробиоцид®-Ультра ( $n = 35$ ,  $M \pm SEM$ )

Показатель		Группа		Отклонение к контролю, %
		Контрольная	Опытная	
Поголовье, гол	на начало опыта	35	35	100,0
	на конец опыта	35	35	100,0
Сохранность, %		100,0	100,0	$\Delta$ 0,0
Живая масса на 7-й день, г		176,23 $\pm$ 1,76	179,26 $\pm$ 1,65	101,7
Живая масса на 21-й день, г		811,60 $\pm$ 17,15	862,31 $\pm$ 14,17	106,2
Живая масса на 36-й день, г		1957,60 $\pm$ 34,46	2015,89 $\pm$ 28,66	103,0
Живая масса петушков, г		2139,90 $\pm$ 21,99	2135 $\pm$ 18,09	99,8
Живая масса курочек, г		1804,10 $\pm$ 15,22	1856,80 $\pm$ 12,47	102,9
Среднесуточный прирост, г		54,79 $\pm$ 0,98	56,45 $\pm$ 0,82	103,0
Конверсия корма, кг		1,94	1,86	95,9
Затраты корма на 1 гол, кг		3,72	3,67	98,7
Индекс эффективности (EPI), ед.		280,30	301,06	107,4

$\Delta$  – абсолютное изменение, разница между опытной и контрольной группами

Полученные результаты разделки тушек свидетельствуют, что показатели структуры тушек находились на примерно одинаковом уровне. Убойный выход, для контрольной и опытной группы значительно не отличался и составил 74,7 $\pm$ 3,70 и 74,2 $\pm$ 3,65%, соответственно ( $p > 0,05$ ). Тем не менее, в опытной группе существенно (на 33,3%, или 1,3 раза) сократилась доля выхода абдоминального жира – с 1,8 $\pm$ 0,08% в контрольной до 1,2 $\pm$ 0,05% в опытной ( $p < 0,05$ ) (рисунок 14). Кроме того, доля выхода голени по отношению к потрошеной тушке, значительно возросла – в 1,2 раза: с 12,2 $\pm$ 0,59% в контрольной до 14,3 $\pm$ 0,70% в опытной группе ( $p < 0,05$ ). При этом зафиксировано незначительное увеличение доли массы кишечника в опытной группе (на 5,8%) по сравнению с контролем. Доля выхода кишечника по отношению к потрошенной тушке для контрольной и опытной групп находилась почти на одинаковом уровне и составила 5,2 $\pm$ 0,24 и 5,5 $\pm$ 0,27%, соответственно ( $p > 0,05$ ).

Данные по состоянию здоровья цыплят на основе общего и биохимического анализа крови представлены в таблицах 9, 10. При сравнении с нормативами для разных кроссов могут отмечаться некоторые различия. Они, по существу, не являются значительными и не выходят за рамки направления продуктивности и возраста птицы (Насонов И.В. и др., 2014). Полученные

результаты демонстрируют, что в опытной и контрольных группах показатели общего анализа крови были в пределах нормы.

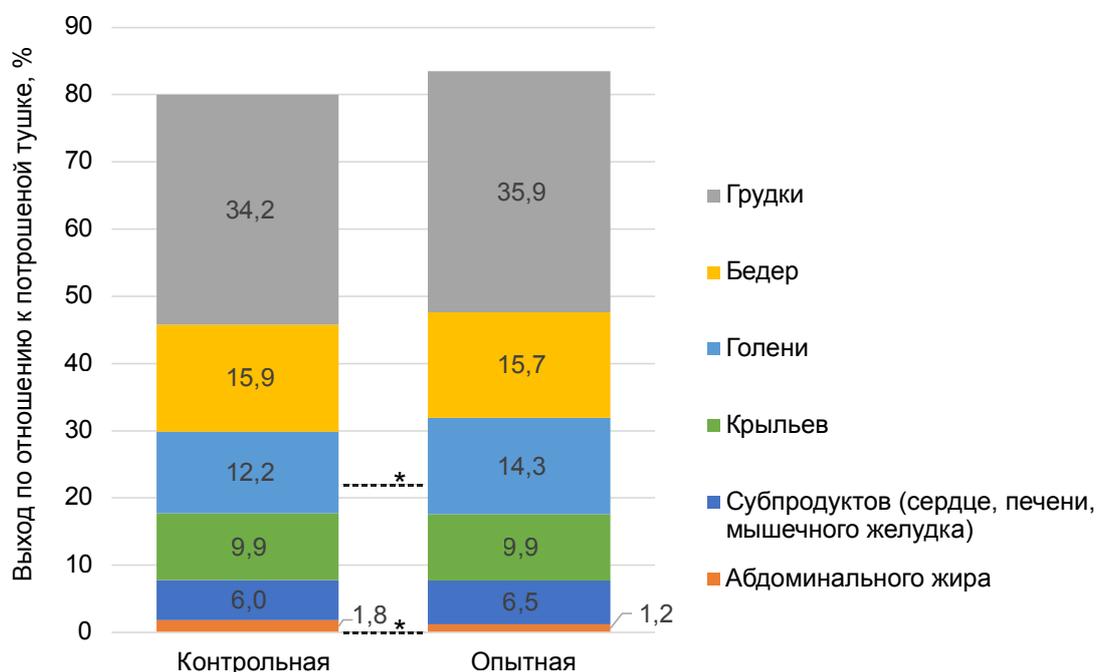


Рисунок 14 – Результаты разделки тушек ( $n = 35, M$ ), \*  $p \leq 0,05$

Показатели уровня общего белка в крови контрольной и опытной группы соответствуют физиологическим нормам. В месте с тем в опытной группе в 1,2 раза наблюдалось существенно более высокое содержание белка, что может свидетельствовать о более интенсивном обмене веществ ( $p < 0,05$ ).

Для здоровых цыплят характерен высокий уровень индекса фагоцитарной активности, как это было подтверждено в конце опыта. Для контрольной и опытной групп, индекс фагоцитарной активности составили  $12,20 \pm 0,65$  и  $12,82 \pm 0,70$  ед., соответственно ( $p > 0,05$ ). Данные значения свидетельствуют о высокой потенциальной активности фагоцитов к инактивации микроорганизмов. При сравнении индекса завершенности фагоцитоза существенных различий также не наблюдалось; при этом индекс для контрольной и опытной групп составил  $93,33 \pm 2,69$  и  $90,67 \pm 1,85\%$ , соответственно ( $p > 0,05$ ).

Таблица 9 – Общий анализ крови ( $n = 35$ ,  $M \pm SEM$ )

Показатель	Группа	
	Контрольная	Опытная
Гематокрит, %	27,30±1,56	26,59±1,31
Гемоглобин, г/мл	81,48±3,59	85,08±4,19
Эритроциты, $\times 10^{12}/л$	4,81±0,46	5,20±0,64
Цветовой показатель	0,46±0,07	0,41±0,04
Среднее содержание Hb в эритроците (MCH), пг	19,28±2,93	17,15±1,75
Средний объем эритроцита (MCV), фл	132,02±7,70	127,95±12,01
СОЭ, мм/ч	2,83±1,61	3,00±1,41
Лейкоциты (WBC), $\times 10^9/л$	5,68±0,33	6,44±0,65
Тромбоциты, %	62,33±10,37	55,00±9,28
Сегментоядерные нейтрофилы, %	6,67±0,78	7,17±1,40
Эозинофилы (EOS), %	13,33±3,17	9,17±1,00
Моноциты (MONO), %	12,83±2,16	11,67±1,57
Базофилы (BAS), %	2,00±1,55	1,83±0,96
Лимфоциты (LYM), %	65,67±4,41	70,17±1,93

Заключение. Применение добавки Пробиоцид®-Ультра в рационах для цыплят-бройлеров в количестве 1,0 кг/т комбикорма способствует интенсификации обменных процессов, активации пищеварения. Как результат, происходит снижение конверсии корма на 4,1%, увеличение среднесуточного прироста на 3,0%. Удорожание рациона в экспериментальной группе на 1% приводит к получению дополнительной продукции в живой массе на 3,0%, при сопоставлении с контрольной.

Применение подкислителя с пробиотическим эффектом благоприятно сказывается на физиолого-биохимическом статусе птицы, не оказывает отрицательного влияния на стимуляцию неспецифического иммунитета и не вызывает угнетения антимикробной активности крови, что безусловно влияет на фагоцитарную активность нейтрофилов, тем самым сохраняя комплексную защиту организма птицы от возникновения заболеваний бактериальной природы.

Таблица 10 – Биохимический анализ крови ( $n = 35$ ,  $M \pm SEM$ )

Показатель	Группа	
	Контрольная	Опытная
Билирубин общий, мкмоль/л	14,95±1,74	13,78±1,75
Билирубин прямой, мкмоль/л	3,35±0,79	3,37±0,77
АСТ, ед./л	227,17±13,03	236,50±11,72
АЛТ, ед./л	6,33±1,38	4,17±1,15
Коэффициент Ритиса	43,68±10,95	72,52±16,47
Мочевина, ммоль/л	1,80±0,08	1,49±0,08
Креатинин, мкмоль/л	7,67±1,19	6,67±2,07
Общий белок, г/л	32,67±1,12	38,17±1,95*
Альбумин, г/л	21,50±1,29	22,00±1,17
Щелочная фосфатаза, ед./л	1651,33±143,61	1652,83±98,26
Амилаза, ед./л	888,67±163,94	840,50±147,24
Глюкоза, ммоль/л	10,03±0,63	11,22±0,83
Лактатдегидрогеназа (ЛДГ), ед./л	758,67±85,14	782,17±86,63
Гамма-глутамилтранспептидаза (ГГТ), ед./л	35,97±3,99	41,72±4,06
Холестерин, ммоль/л	3,72±0,18	4,08±0,14
Триглицериды, ммоль/л	0,68±0,09	0,78±0,06
Креатинфосфокиназы (КФК), ед./л	1898,67±33,18	1639,17±101,34
Калий, ммоль/л	4,20±0,55	4,74±0,34
Натрий, ммоль/л	149,40±3,91	148,60±3,27
Фосфор, ммоль/л	2,81±0,14	2,67±0,11
Кальций, ммоль/л	2,76±0,19	2,83±0,17
Железо, мкмоль/л	119,54±0,33	120,66±0,88
Магний, ммоль/л	1,20±0,07	1,20±0,08
Хлор, ммоль/л	108,80±1,78	104,20±2,16
Кислотность, ед. рН	7,44±0,02	7,44±0,03

\*  $p \leq 0,05$ 

### 2.3.2.3. Результаты производственного опыта по скармливанию добавки Пробиоцид®-Ультра

Научно-производственный опыт по эффективности применения комплекса дополнительного питания Пробиоцид®-Ультра проводили при

участии Бражника Е.А. и Тюриной Д.Г. с 14 мая 2020 года в промышленных условиях ОАО «Птицефабрика Зеленецкая» Республики Коми. Исследование выполняли на птице кросса «Кобб-500», выращенной в клеточных батареях фирмы Big Dutchman, в период с суточного до 40,5-дневного возраста. Условия содержания (плотность посадки, световой, температурный и влажный режимы), поение, фронт и рацион кормления отвечали требованиям рекомендаций для кросса. Опытная группа получала дополнительно препарат Пробиоцид®-Ультра в дозировке 1 кг на 1 т комбикорма, а контрольная с основным рационом получала кормовой антибиотик нозигептид, согласно рекомендациям (рисунок 15). Качественные показатели рецептов комбикормов представлены в Приложении Д.

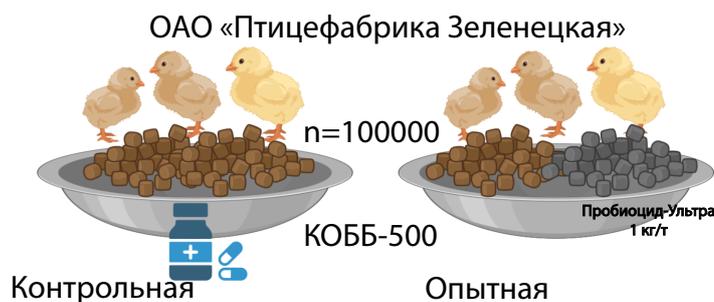


Рисунок 15 – Схема опыта. Рисунок создан с помощью BioRender.com

На конец опыта в экспериментальной группе, получавшей Пробиоцид®-Ультра (без кормового антибиотика), живая масса одной головы превосходила контрольную на 2,0%. Также, на 0,1% в абсолютном выражении, повысилась сохранность в опытной группе (таблица 11).

Среднесуточная прибавка живой массы опытных цыплят-бройлеров составил 57,84 г и была на 1,9% (1,1 г) выше контрольного молодняка. Птица, получавшая добавку, за весь период выращивания потребила комбикормов на 3,7% больше (в пересчете на 1 голову), чем контрольная. При этом его стоимость снизилась на 0,2%. Конверсия корма в опытной группе также незначительно выросла на 30 г (1,9%). Однако в опытной группе удалось получить больше на 3616 кг (1,6%) продукции в живом весе или дополнительные 6092 кг (3,9%) мяса для реализации.

Таблица 11 – Результаты испытаний Пробиоцид®-Ультра при промышленном выращивании цыплят-бройлеров

Показатели	Группа		Отклонение опыта к контролю, %
	Контрольная	Опытная	
Птичник	ЗПС-3, ЗПС-4	ЗПС-22, ЗПС-23	
Дата заселения	18,19.05.2020	14,15.05.2020	
Дата убоя	26,28.06.2020	22,24.06.2020	
Начальное поголовье	Голов	111 665	99,2
	Вес, кг	4554	105,1
	Вес 1 головы, г	40,77	106,0
Пало, гол	2416	2297	95,1
Сохранность (SR), %	97,83	97,92	Δ 0,1
Выборка (зообрак)	Голов	42 215	95,3
	Вес, кг	65 986	96,2
	Вес 1 головы, г	1562,97	101,0
	% выборки	37,80	Δ – 1,5
Убой	Голов	67 034	101,8
	Вес, кг	156 745	103,9
	Вес 1 головы, г	2339,16	102,0
Валовый прирост, кг	220 772	223 411	101,2
Всего кормодней	3 965 298	3 931 457	99,1
Среднесуточный прирост (С), г	56,74	57,84	101,9
Среднее поголовье, гол.	97 908,59	97 073,01	99,1
Расход к/корма, кг	355 630	366 260	103,0
Стоимость к/корма, руб.	8 886 379	9 131 862	102,8
Стоимость 1 кг к/корма, руб.	24,99	24,93	99,8
Конверсия корма (FCR), кг	1,61	1,64	101,9
Поедаемость 1 гол., г/день	89,69	93,18	103,9
Расход к/корма на 1 гол. за оборот, кг	3,64	3,77	103,7
Индекс эффективности (ЕPI), ед.	338,10	339,51	100,4
Всего получено мяса в живом весе, кг	222 731	226 347	101,6
Стоимость корма на 1 кг привеса, руб.	40,25	40,88	101,6
Выручка, руб.	16 458 225	17 097 885	Δ 407 925
Прибыль, руб. (при цене реализации 105 руб.)	7 571 846	7 966 023	Δ 394 177
Рентабельность (ROS), %	46,01	46,59	Δ 0,58

Δ – абсолютное изменение, разница между опытной и контрольной группами

Также отмечен незначительный рост индекса продуктивности на 1,41 ед. (0,4%) и рентабельности производства в абсолютном выражении на 0,58%. Из вышеизложенного можно сделать вывод, что на фоне исключения из рациона кормового антибиотика, применение комплекса дополнительного питания Пробиоцид®-Ультра обеспечивает улучшение показателей по сохранности,

живой массе и среднесуточному приросту, а также оптимизирует эффективность производства.

Дополнительно была произведена оценка качества и количества микроорганизмов в слепых отростках кишечника, опытной (с добавкой) и контрольной группы на 1-е, 7-е и 30-е сутки выращивания. Для этого использовали метод секвенирования гена 16S рРНК. В результате проведенной работы были установлены специфические особенности состояния микробиоты слепых отростков кишечника для разных групп цыплят. Так, при оценке разнообразия, индекс Шеннона, отражающий сложность сообщества и являющийся мерой энтропии, был выше в опытной группе на 30-е сутки выращивания (таблица 12). Вместе с тем опытная группа имела большее (в 1,3 раза) филогенетическое разнообразие микроорганизмов слепой кишки, о чем свидетельствует индекс Чао1 ( $p < 0,05$ ).

Известно, что слепую кишку кур в основном колонизируют представители *Lachnospiraceae* и *Ruminococcaceae*, за которыми в меньшем количестве следуют *Lactobacillaceae*, *Veillonellaceae* и *Erysipelotrichaceae* (Rychlik I., 2020). К концу опыта на 30-е сутки доля бактерий семейства *Ruminococcaceae* между группами выравнивается. Так, если на 7-е сутки их доля составляла  $33,82 \pm 13,279$  и  $20,72 \pm 3,549\%$ , то на 30-е сутки их численность уже снизилась до  $23,72 \pm 3,549$  и  $20,42 \pm 1,001\%$ , соответственно для контрольной и опытной группы (рисунок 16). Большинство *Ruminococcaceae* синтезируют бутират необходимый для сохранения здоровья кишечника, при ферментации углеводов путем превращения двух молекул ацетил-КоА в кротонил-КоА, (Medvecky M. et al., 2017).

Стоит отметить, что содержание бактерий рода *Lactobacillus* семейства *Lactobacillaceae* уже на 7-е сутки было выше в опытной группе, чем в контрольной в 3,4 раза. Их доля значительно изменилась с  $2,19 \pm 0,529$  до  $7,51 \pm 0,008\%$  ( $p < 0,05$ ).

Таблица 12 – Разнообразие микроорганизмов слепой кишки в разные периоды выращивания ( $N = 12$ ,  $M \pm SEM$ )

Время	Контрольная группа	Опытная группа
	Индекс Шеннона	
1 день	4,47±2,4	4,64±0,11
7 день	6,18±0,41	6,03±0,27
30 день	7,12±0,5	7,54±0,01
	Индекс Чао1	
1 день	61,50±60,1	53,50±6,4
7 день	116,00±9,9	102,00±7,1
30 день	203,53±89,8	256,03±17,0*
	Симпсона	
1 день	0,901±0,115	0,941±0,014
7 день	0,979±0,010	0,980±0,005
30 день	0,991±0,002	0,993±0,0005

\*  $p \leq 0,05$

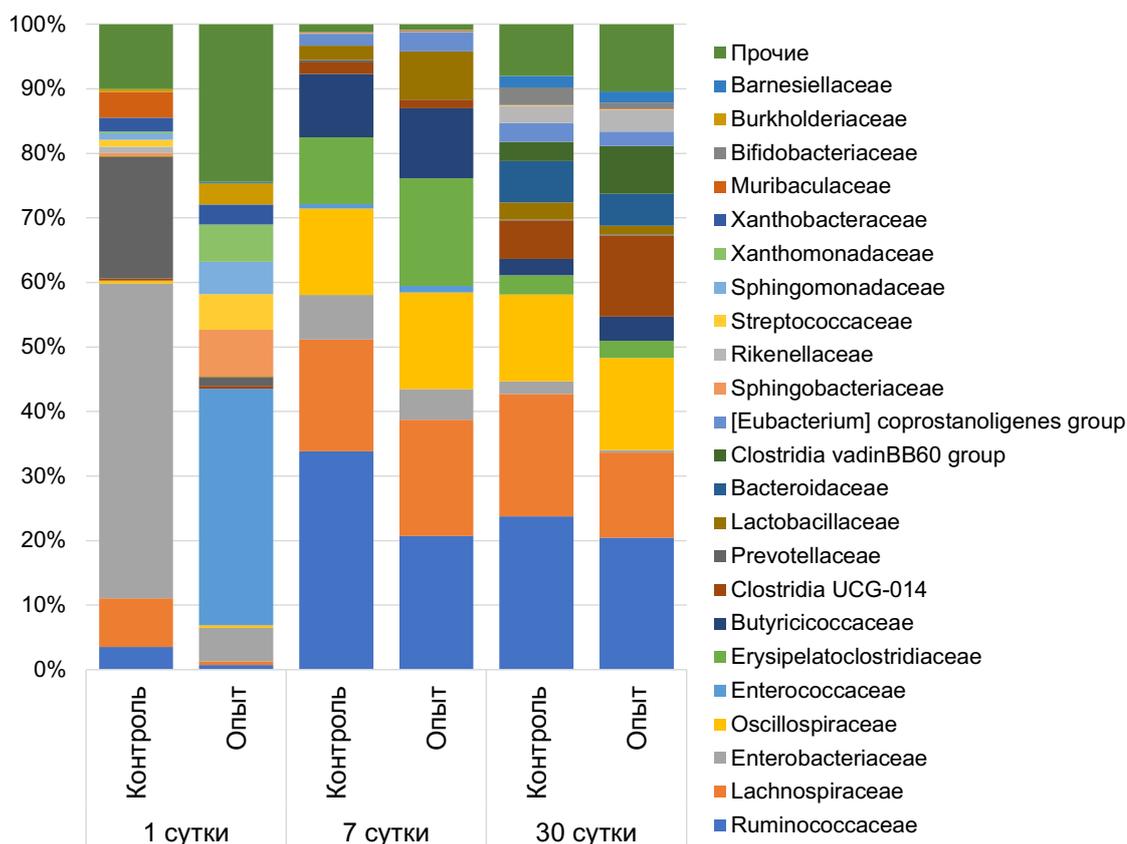


Рисунок 16 – Разнообразие бактериального сообщества слепых отростков на уровне семейства в разные периоды выращивания ( $N = 12$ ,  $M$ )

Проведенные исследования демонстрируют, что комплекс пробиотических микроорганизмов с подкислителем способствует более

быстрому заселению микроорганизмами слепых отростков кишечника. Данный факт может свидетельствовать о положительном влиянии комплекса пробиотических бактерий и подкислителя на здоровье и продуктивность цыплят бройлеров при промышленном выращивании.

#### 2.3.2.4. Результаты производственного опыта по скармливанию добавки Пробиоцид®-Ультра и Профорт®

Научно-производственный опыт по оценке эффективности применения кормовой добавки Профорт® и Пробиоцид®-Ультра при ограничении использования кормовых антибиотиков в рационах бройлеров проводили при участии Бражника Е.А. и Тюриной Д.Г. в течении 39,5 дней, с 4 октября 2020 года, в промышленных условиях ОАО «Птицефабрика Зеленецкая» Республики Коми (рисунок 17). Исследование выполняли на цыплятах-бройлерах кросса «Кобб-500», которых содержали в условиях клеточных батарей Big Dutchman (Бражник Е.А. и др., 2022). Курочки и петушки во время эксперимента выращивались вместе. Кормление птицы осуществлялось вволю полнорационными комбикормами, питательность которых соответствовала нормам ВНИТИП (2015). Состав и питательность комбикормов соответствовали ранее представленным данным (Приложение Д). Опытным цыплятам в рацион вместо кормового антибиотика добавляли комплекс добавок Профорт® и Пробиоцид®-Ультра в дозировке 0,5 и 1,0 кг/т, соответственно.

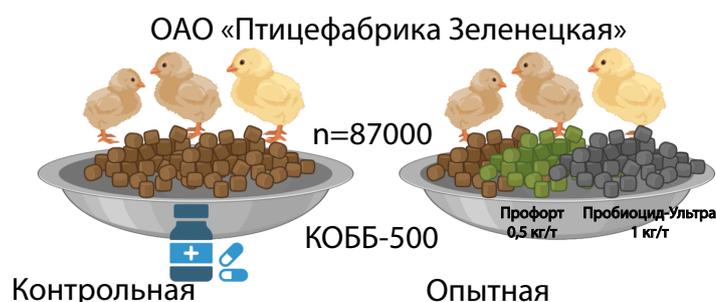


Рисунок 17 – Схема опыта. Рисунок создан с помощью BioRender.com

Таблица 13 – Результаты испытаний Профорт® и Пробиоцид®-Ультра при промышленном выращивании цыплят-бройлеров

Показатели	Группа		Отклонение опыта к контролю, %	
	Контрольная	Опытная		
Птичник	ЗПС-1	ЗПС-2		
Дата заселения	04.10.2020	07.10.2020		
Дата убоя	11-12.11.2020	14-15.11.2020		
Начальное поголовье	Голов	87 686	87 453	99,7
	Вес, кг	3387	3492	103,1
	Вес 1 головы, г	38,63	39,93	103,4
Пало, гол	6056	3894	64,3	
Сохранность (SR), %	93,1	95,6	Δ 2,5	
Выборка (зообрак)	Голов	14 352	16 325	113,7
	Вес, кг	21129	24149	114,3
	Вес 1 головы, г	1472,20	1479,26	100,5
	% выборки	16,37	18,67	Δ 2,3
Убой	Голов	67 278	67 234	99,9
	Вес, кг	151 381	155 266	102,6
	Вес 1 головы, г	2250,08	2309,34	102,6
Валовый прирост, кг	177 345	181 063	102,1	
Всего кормодней	3 147 263	3 134 629	99,6	
Среднесуточный прирост (С), г	55,99	57,45	102,6	
Среднее поголовье, гол.	79 677,54	79 357,70	99,6	
Расход к/корма, кг	278 250	280 640	100,9	
Стоимость к/корма, руб.	7 694 510	7 908 384	102,8	
Стоимость 1 кг к/корма, руб.	27,65	28,18	101,9	
Конверсия корма (FCR), кг	1,569	1,550	98,8	
Поедаемость 1 гол., г/день	88,41	89,53	101,3	
Расход к/корма на 1 гол. за оборот, кг	3,49	3,54	101,4	
Индекс эффективности (EPI), ед.	334,33	356,25	106,6	
Всего получено мяса в живом весе, кг	172 510	179 415	104,0	
Стоимость комбикорма на 1кг привеса, руб.	43,39	43,68	100,7	
Выручка, руб.	15 895 005	16 302 930	Δ 407 925	
Прибыль, руб. (при цене реализации 105 руб.)	8 200 495	8 394 546	Δ 194 051	
Рентабельность (ROS), %	51,59	51,49	Δ – 0,10	

Δ – абсолютное изменение, разница между опытной и контрольной группами

Полученные данные в результате производственной апробации подтверждают ранее сделанные выводы. Добавки Пробиоцид®-Ультра и Профорт® положительно влияют на продуктивность при выращивании цыплят-бройлеров (таблица 13). При включении добавок Пробиоцид®-Ультра в дозировке 1,0 кг/т и Профорт® – 0,5 кг/т комбикорма позволяет добиться повышения сохранности цыплят на 2,5% в абсолютном выражении, повысить

индекс эффективности на 21,92 ед. и снизить расход корма на единицу полученной продукции на 19 г (Бражник Е.А. и др., 2022). Несмотря на незначительное увеличение стоимости комбикорма за счет ввода добавок, испытанная комбинация позволила выполнить полный цикл выращивания бройлеров без использования кормовых антибиотиков, увеличить массу одной тушки при убое на 2,6%, следовательно получить дополнительно 6905 кг (4,0%) продукции в живом весе или на 3885 кг (2,6%) больше мяса для реализации. Показатель рентабельности в опытной группе, получавшей комплекс добавок вместо кормового антибиотика, незначительно отличается от контрольной группы – меньше на 0,10%. Это объясняется возросшей ценой комбикорма в опытной группе на 53 коп. За счет применения добавок удалось получить 194051 руб. дополнительной прибыли. Вместе с тем, полученная таким образом готовая продукция может считаться более безопасной для здоровья человека и окружающей среды.

### **2.3.3. Обсуждение полученных результатов**

Бройлерное птицеводство в России характеризуется стабильным ростом и положительными тенденциями совершенствования технологии выращивания (Боев С.Г. и др., 2006). Использование альтернативных добавок для замены кормовых антибиотиков является целесообразным решением на пути получения экологически чистой (органической) продукции для человека (Меднова В.В. и др., 2021). Целью данных исследований стало изучение пробиотических добавок, их влияние на продуктивность мясных пород кур в условиях ограниченного использования кормовых антибиотиков.

Потенциальная возможность и биологическая роль пробиотических микроорганизмов, входящих в состав добавок была изучена с помощью современных молекулярно-генетических методов и биоинформатического анализа данных. Полученные выводы получили практическое подтверждение в серии проведенных научно-хозяйственных опытов.

Пробиотические микроорганизмы добавок Пробиоцид®-Ультра – *B. megaterium* В-4801, *B. mucilaginosus* 159 и добавки Профорт® – *E. faecium* 1-35, *B. megaterium* В-4801, продемонстрировали высокий генетический потенциал. Для бактерий *E. faecium* 1-35 стало характерным наличие специфического кластера НРПС. Продуцируемый продукт, вероятно обладает определенной фармакологической и биологической активностью при пероральном применении. Бактерии *B. megaterium* В-4801 потенциально обладают способностью к синтезу вторичных метаболитов – сидерофора и лантипептида. Высоким потенциалом синтеза вторичных метаболитов обладают и бактерии *B. mucilaginosus* 159. Так, в геноме этого штамма идентифицировано 11 локусов, отвечающих за синтез биологически активных веществ – липопептидов (сурфактин и бацилломицин Д), поликетидов (бациллаен, макролактин и диффицидин), лантипептида (мерсацидин), бацилизина дипептид, сидерофора и др. Потенциально продуцируемые метаболиты (бациллибактин, диффицидин, макролактин и др.) способны подавлять развитие грибов и бактерий.

Методом классической микробиологии подтверждено, что штаммы *B. megaterium* В-4801, *B. mucilaginosus* 159 и *E. faecium* 1-35 могут ингибировать до 25, 75 и 50% от общего числа протестированных патогенов (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *P. aeruginosa*), соответственно. Кроме этого, геномы рассмотренных пробиотических штаммов не несут потенциальные риски, связанные с патогенностью и распространению устойчивости к антибиотикам, и можно их считать безопасными для применения в сельском хозяйстве.

Производственные испытания на кроссе «Кобб-500» в условиях вивария ФГБУ СГЦ «Загорское ЭПХ» ВНИТИП продемонстрировали, что добавка Профорт® при добавление в корм 0,5 кг/т способствует повышению индекса эффективности (ЕРІ) на 31,7 ед. (9,0%), улучшению конверсии на 40 г (2,5%) и увеличению живой массы на 45,4 г (2,1%), при соотношении петушков и курочек 50/50.

Опыт, проведенный в виварии ФНЦ ВНИТИП РАН на кроссе «Смена 8» показал преимущество введения добавки Пробиоцид®-Ультра в количестве 1 кг/т корма во время всего цикла выращивания бройлеров. Введение добавки в рацион позволило увеличить живую массу и среднесуточный прирост на 3,0%, а затраты корма и конверсию снизить 1,3 и 4,1%, соответственно. При анатомической разделке тушек в опытной группе было установлено снижение доли выхода абдоминального жира в 1,3 раза и увеличение выхода голени в 1,2 раза. Показатели общего и биохимического анализа крови обеих групп не выходят за рамки нормативов и соответствуют физиологическим нормам. Однако, в опытной группе уровень общего белка был в 1,2 раза более высоким, чем в контрольной, что свидетельствует о более интенсивном обмене веществ.

Испытания добавки Пробиоцид®-Ультра в промышленных условиях при исключении кормового антибиотика из рациона опытной группы позволило обеспечить сохранность на прежнем уровне, а живую массу увеличить на 2,0%. Также получено свидетельство о положительном влиянии комплекса пробиотических бактерий и подкислителя на микрофлору слепых отростков цыплят. Содержание бактерий рода *Lactobacillus* на 7-е сутки выращивания было выше в опытной группе, чем в контрольной – в 3,4 раза. В дополнение, филогенетическое разнообразие (индекс Чао1) микроорганизмов слепой кишки на 30-е сутки было выше в опытной группе, чем в контрольной в 1,3 раза.

Совместное использование добавок Профорт® и Пробиоцид®-Ультра и исключение из рациона кормового антибиотика при промышленном содержании цыплят кросса «Кобб-500» подтвердило целесообразность комбинации добавок. Применение комплекса добавок позволило повысить сохранность на 2,5% в абсолютном выражении, индекс эффективности на 21,92 ед. и снизить конверсию 19 г, тем самым получить более экологически безопасную продукцию для человека с большей доходностью.

Для проведения оценки результатов эффективности выращивания при промышленном содержании, по следующим показателям: сохранность поголовья (SR), европейский индекс производительности (EPI), среднесуточный

привес (С), конверсия корма (FCR) и рентабельность (ROS), изучили данные с помощью лепестковой диаграммы (рисунок 18). На данном рисунке хорошо заметно, что наилучшие показатели по эффективности были получены во втором эксперименте на ОАО «Птицефабрика Зеленецкая» при скармливании двух добавок одновременно Пробиоцид®-Ультра и Профорт®.

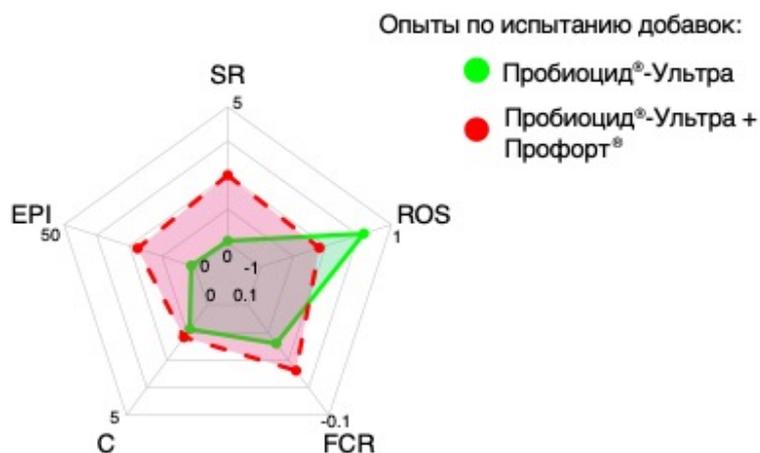


Рисунок 18 – Сравнение по абсолютным отличиям между опытной и контрольной группами в экспериментах на ОАО «Птицефабрика Зеленецкая» (цветом обозначены варианты опытов; SR – сохранность поголовья, ROS – рентабельность, FCR – конверсия корма, С – среднесуточный привес, EPI – европейский индекс производительности)

Результаты научно-хозяйственных опытов и производственная апробация добавок Профорт® и Пробиоцид®-Ультра согласуются и подтверждают, что повышение продуктивности и состояния здоровья птицы может быть достигнуто и без использования кормовых антибиотиков. В ходе проведенного анализа результатов научных опытов была выбрана комбинация добавок из Пробиоцид®-Ультра и Профорт®, так как они наиболее полно удовлетворяют потребности современных птицеводческих предприятий. Рекомендованной дозой для добавок Профорт® и Пробиоцид®-Ультра составляет 0,5 и 1 кг/т корма, соответственно.

### 3. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

#### 3.1. ОБЩИЕ ВЫВОДЫ И ПРЕДЛОЖЕНИЯ

В результате проведения комплекса работ по изучению добавок Профорт<sup>®</sup> и Пробиоцид<sup>®</sup>-Ультра и их действия на кур мясного направления продуктивности, получены следующие основные результаты:

1. бактерии входящие в состав Профорт<sup>®</sup> и Пробиоцид<sup>®</sup>-Ультра (*B. megaterium* В-4801, *B. mucilaginosus* 159 и *E. faecium* 1-35) обладают высоким пробиотическим потенциалом, безопасны и не несут в себе потенциальной угрозы. Кормовые добавки Профорт<sup>®</sup> и Пробиоцид<sup>®</sup>-Ультра могут быть применены в промышленном птицеводстве;
2. кормовая добавка Профорт<sup>®</sup> оказывает положительное действие при выращивании кросса «Кобб-500» с использованием кормового антибиотика, способствует повышению продуктивности, снижению расхода кормов на единицу получаемой продукции. Использование добавки Профорт<sup>®</sup> позволяет повысить индекс эффективности производства, улучшить конверсию и увеличить живую массу цыплят на 9,0, 2,5 и 2,1%, соответственно. Использование добавки Пробиоцид<sup>®</sup>-Ультра на кроссе «Смена 8» без отмены кормового антибиотика позволяет снизить затраты корма на 1 голову на 1,3%, а конверсию улучшить на 4,1%. Проведённая анатомическая разделка тушек показала снижение доли выхода абдоминального жира в 1,5 раза и увеличение выхода голени в 1,2 раза. Использование добавки не оказало отрицательного влияния на показатели крови;
3. результаты производственной апробации на цыплятах кросса «Кобб-500» показали, что одновременно с отменой кормового антибиотика использование добавки Пробиоцид<sup>®</sup>-Ультра привело к снижению стоимости комбикорма на 0,2%, увеличению массы тушки при убое на 2,0% и незначительному росту индекса продуктивности и сохранности поголовья на 0,4% и 0,1%, соответственно. Таким образом за один производственный цикл удалось

получить больше на 3616 кг (1,6%) в живом весе продукции или дополнительные 6092 кг (3,9%) мяса для реализации. Рентабельность производства незначительно выросла на 0,58% и составила – 46,59%. Состояние микрофлоры слепых отростков кишечника имеет лучшие качественные и количественные показатели по составу. Это свидетельствует о сохранении уровня здоровья при промышленном выращивании птицы, без использования кормовых антибиотиков;

4. совместное использование кормовых добавок Профорт® и Пробиоцид®-Ультра при исключении кормового антибиотика из рациона цыплят кросса «Кобб-500» привело к повышению массы одной тушки при убое на 2,6% и снижению конверсии корма на 1,2%. Использование данной схемы кормления привело к повышению сохранности на 2,5% в абсолютном выражении, индекса эффективности производства на 21,92 ед. (6,6%), получению дополнительных 3885 кг (2,6%) мяса для реализации и 194051 руб. прибыли при незначительном снижении рентабельности производства до 51,49% (на 0,10%). Все это говорит об экономической целесообразности применения добавок в условиях органического производства. Комплексное применение добавок Профорт® и Пробиоцид®-Ультра может быть альтернативным решением при ограничении использовании кормовых антибиотиков с сохранением уровня здоровья и продуктивности во время выращивания кур мясного направления продуктивности в промышленных условиях.

### **3.2. ПРЕДЛОЖЕНИЕ ПРОИЗВОДСТВУ**

С целью повышения сохранности, среднесуточного прироста, массы птицы при убое, а также снижения расходов кормов следует вводить кормовую добавку Профорт® совместно с Пробиоцид®-Ультра, в дозировке 0,5 и 1 кг/т, соответственно, в рацион цыплят-бройлеров при ограниченном использовании кормовых антибиотиков. Снижение стоимости комбикорма при сохранении эффективности выращивания кур мясного направления продуктивности может быть достигнуто за счет применения добавок Профорт® и Пробиоцид®-Ультра.

### **3.3. ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ**

Дальнейшие исследования могут быть направлены на:

- изучение влияния добавок Профорт® и Пробиоцид®-Ультра в различных условиях эпизоотологического благополучия птицеводческих предприятий;
- изучение влияния добавок на породы других направлений и кроссов;
- изучение долгосрочного применения добавок в условиях ограниченного использования антибиотиков;
- изучение органолептических и химических показателей продукции птицеводства под влиянием добавок.

Методики и результаты, продемонстрированные в этой работе, могут послужить примером для изучения подобных микробиологических добавок, применяемых в других отраслях сельского хозяйства, например, заквасок на основе живых бактерий, используемых для приготовления силоса или других ферментированных продуктов.

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АДЕП-1	(от англ. ADEP-1) Ацил-де-пси-пептид;
ЖКТ	желудочно-кишечный тракт;
НПС	некрахмалистые полисахариды;
п.н.	пара нуклеотидов;
РНК	рибонуклеиновая кислота;
рРНК	рибосомальная РНК;
AMPs	(от англ. Antimicrobial peptides) антимикробные пептиды вырабатываемые клетками Панета;
ANOSIM	(от англ. analysis of similarities) непараметрический анализ сходства;
ASV	(от англ. amplicon sequence variants) последовательностей ампликона;
BLAST	(от англ. Basic Local Alignment Search Tool) простое средство поиска локальных соответствий;
С	среднесуточный прирост;
ClpP	казеинолитическая протеаза;
ColV	колицин V;
EPI	европейский индекс производительности;
FCR	коэффициент конверсии корма;
KEGG	(от англ. Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes), Киотская энциклопедия генов и геномов;
KO	(от англ. KEGG Orthology) Ортология KEGG;
М	среднее;
MDS	multidimensional scaling, многомерное шкалирование;
NGS	(от англ. next generation sequencing) секвенирование нового поколения;
NRP или НРП	(от англ. nonribosomal peptides) нерибосомные пептиды;
NRPS или НРПС	(от англ. nonribosomal peptide-synthetase) синтетазы нерибосомных пептидов;

- OTU (от англ. operational taxonomic unit) операционные таксономические единицы;
- PKS или ПКС Поликетидсинтазы;
- RiPP или РПП (от англ. ribosomally synthesized and post-translationally modified peptide) рибосомно синтезированные и посттрансляционно модифицированные пептиды;
- ROS (от англ. Return On Sales) рентабельность продаж;
- SEM стандартной ошибки среднего;
- SR сохранность поголовья.

**СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Боев, С. Г. Развитие бройлерного птицеводства в регионе / С. Г. Боев, О. С. Фомин // Достижения науки и техники АПК. - 2006. - № 10. - С. 21-22.
2. Бочкарева, Е. В. Кормовая добавка Целлобактерин<sup>®</sup>-Т с пролонгированным действием / Е. В. Бочкарева, Б.В. Агеев, А. А. Кистина, Е. А. Бражник, В. Н. Большаков, Н. И. Новикова // Птицеводство. - 2020. - №5-6. - С. 37-42.
3. Бочкарева, Е. В. Условно-патогенная микрофлора под прицелом Целлобактерина-Т / Е. В. Бочкарева, Б. В. Агеев, Н. И. Новикова, В. Н. Большаков, Е. А. Бражник // Птицеводство. – 2019. – № 6. – С. 37-42. – DOI 10.33845/0033-3239-2019-68-6-37-42.
4. Бражник, Е. А. Влияние кормовой добавки «Профорт<sup>®</sup>» на морфологию кишечника кур / Е. А. Бражник, В. С. Иванов, Г. Ю. Лаптев, Н. И. Новикова // Научное обеспечение развития АПК в условиях импортозамещения : сборник научных трудов по материалам международной научно-практической конференции, посвящается 115-летию Санкт-Петербургского государственного аграрного университета. - Санкт-Петербург, Пушкин: Санкт-Петербургский государственный аграрный университет, 2019. - Т. I. - С. 159-162.
5. Бражник, Е. А. Микробиологические кормовые добавки для обеспечения ресурсосберегающего производства в птицеводстве / Е. А. Бражник, В. Х. Меликиди, Н. В. Тарлавин, Д. Г. Тюрина, Л. А. Ильина, Г. Ю. Лаптев // Селекционные и технологические аспекты интенсификации производства продуктов животноводства : по Материалам Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, посвященной 150-летию со дня рождения академика М.Ф. Иванова. - Москва : Российский государственный аграрный университет - МСХА им. К.А. Тимирязева, 2022. - Т. II. - С. 199-203.
6. Бражник, Е. А. Моделирование процессов контроля качества готовой продукции при производстве микробиологических добавок для животных / Е. А.

Бражник, В. Х. Меликиди, Г. Ю. Лаптев, О. В. Кочеткова, Д. П. Арьков // Известия Нижневолжского агроуниверситетского комплекса: Наука и высшее профессиональное образование. - 2020. - Т. 2, №58. - С. 295-306. - <https://doi.org/10.32786/2071-9485-2020-02-29>.

7. Бражник, Е. А. Влияние кормовой добавки Профорт® на морфометрические показатели кишечника цыплят кросса "Кобб 500" / Е. А. Бражник, Г. Ю. Лаптев, Н. И. Новикова, В. Н. Большаков, В. С. Иванов // Ветеринария. - 2019. - №5. - С. 13-16.

8. Бражник, Е. А. Управление качеством кормовых добавок с использованием метода нечеткой логики/ Е. А. Бражник, С. Н. Биконя, Г. Ю. Лаптев, О. В. Кочеткова // Известия НВ АУК, 2023. - Т. 2, №70. – DOI 10.32786/2071-9485-2023-02-48.

9. Бражник, Е. А. Биологическая активность кормовой добавки Целлобактерин®+ / Е. А. Бражник, Л. А. Ильина, Г. Ю. Лаптев // Генетика, селекция и биотехнология животных: на пути к совершенству: Материалы научно-практической конференции с международным участием. - Пушкин : Всероссийский научно-исследовательский институт генетики и разведения сельскохозяйственных животных РАСХН, 2020. - С. 56-57.

10. Бражник, Е. А. Кормовые добавки для животных и птицы в России в связи с ограничением использованием антибиотиков / Е. А. Бражник, Д. Г. Тюрина, Г. Ю. Лаптев // Экология и общество: баланс интересов : Сборник тезисов докладов участников Российского научного форума, Вологда, 16–20 ноября 2020 года / Отв. редактор А.А. Шабунова. – Вологда: Вологодский научный центр Российской академии наук, 2020. – С. 272-275.

11. Бражник, Е.А. Изменение бета-разнообразия микробиома слепых отростков кур-несушек при заражении *Salmonella enterica* / Е. А. Бражник, В. Х. Меликиди, С. Н. Биконя [и др.] // Материалы международной научно-практической конференции, посвященной 90-летию ВИЖ имени академика Л.К.Эрнста "Научное обоснование развития животноводства в Российской

- Федерации". - Дубровицы : ФГБНУ ФНЦ ВИЖ им. Л.К. Эрнста, 2019. - С. 98-101.
12. ГОСТ Р 52349-2005. Продукты пищевые. Продукты пищевые функциональные. Термины и определение : национальный стандарт Российской Федерации : издание официальное : введен впервые : дата введение 2006-07-01 : изменения №1 от 2011-03-01 / разработан Государственным образовательным учреждением высшего профессионального образования "Московский государственный университет пищевых производств" Министерства образования Российской Федерации (МГУПП). – Москва : Стандартинформ, 2006. – IV 3 с.
13. Государственная Фармакопея. – XI изд. – М.: Медицина, 1987. – Вып. 2. – 398 с.
14. Бурдашкина, В. Н. Продуктивность цыплят-бройлеров кросса "Росс-308" в условиях промышленной технологии / В. Н. Бурдашкина, А. И. Дарьин // Нива Поволжья. - 2018. - Т. 48, №3. - С. 90-96.
15. Быков, В. Л. Клетки Панета: история открытия, структурно-функциональные характеристики и роль в поддержании гомеостаза в тонкой кишке / В. Л. Быков // Морфология. - 2014.- Т. 145, №1. - С. 67-80.
16. Волошин, М. Две истории биоинформатики: наука о данных vs наука о жизни / М. Волошин // Философско-литературный журнал «Логос». - 2020. - Т. 3, № 136. - С. 1-20.
17. Гагloeва, Т. Н. Влияние пробиотической добавки Профорт на результаты выращивания индюшат / Т.Н. Гагloeва, В. Г. Завьялова, Е. И. Дубовицкий, Е. А. Дубовицкая // Наука и Образование. - 2023. - Т. 6, №1.
18. Горфункель, Е. П. Опыт применения биопрепарата "Инкубин" для обработки инкубационных яиц / Е. П. Горфункель, Д. Г. Тюрина, Л. А. Ильина, А. В. Дубровин, Н. В. Тарлавин, О. Н. Соколова // Птицеводство. – 2021. – № 7-8. – С. 45-49. – DOI 10.33845/0033-3239-2021-70-7-8-45-49.
19. Гусева, О. Е. Разработка препарата на основе эхинохрома а в качестве сопроводительной терапии блеомицин-индуцированного оксидативного стресса

в легких на раннем этапе постнатального онтогенеза / О. Е. Гусева, О. А. Лебедько, Б. Я. Рыжавский, М. С. Кузнецова // Медицинская иммунология. - 2017. - Т. 19, №5. - С. 29-30.

20. Доржиева, В. В. Россия и Евразийский экономический союз: сравнительный анализ отраслевой структуры экономики и промышленной политики / В. В. Доржиева // Вестник евразийской науки. – 2019. – Т. 11, № 1. – С. 14.

21. Дубровин, А. В. Динамика резистентности микробиоты цыплят-бройлеров при применении антибактериального препарата / А. В. Дубровин, Е. С. Пономарева, К. А. Калиткина // Аграрная наука на современном этапе: состояние, проблемы, перспективы : Материалы VI научно-практической конференции с международным участием, Вологда - Молочное, 20–21 февраля 2023 года. – Вологда: Вологодский научный центр Российской академии наук, 2023. – С. 18-22.

22. Емануйлова, Ж. В. Оценка, отбор и подбор птицы породы плимутрок кросса «Смена 9» по маркерным генам К-к и продуктивности / Ж. В. Емануйлова, А. В. Егорова, Д. Н. Ефимов, А. А. Комаров // Птицеводство. - 2022. - Т. 3. - <https://doi.org/10.33845/0033-3239-2022-71-3-4-8>.

23. Емануйлова, Ж. В. Приемы селекции новой отцовской линии породы корниш кросса «Смена 9» / Ж. В. Емануйлова, А. В. Егорова, Д. Н. Ефимов, А. А. Комаров // Птицеводство. - 2021. - Т. 4. - С. 12-17. - <https://doi.org/10.33845/0033-3239-2021-70-4-12-17>.

24. Ефимов, Д. Н. Оценка хозяйственно полезных характеристик птицы отцовской линии породы плимутрок отечественного кросса «Смена9» / Д. Н. Ефимов, А. В. Егорова, Ж. В. Емануйлова, А. А. Комаров // Птицеводство. - 2022. - Т. 6. - С. 8-13. - <https://doi.org/10.33845/0033-3239-2022-71-6-8-13>.

25. Ефимов, Д. Н. Руководство по работе с птицей мясного кросса «Смена 9» с аутосексной материнской родительской формой : (племенная работа; инкубация яиц; технология выращивания, содержания; кормление; здоровье и биобезопасность) / Д. Н. Ефимов, А. В. Егорова, Ж. В. Емануйлова - Сергиев

Посад : Федеральный научный центр "Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт птицеводства" Российской академии наук, 2021. - С. 95. - ISBN 978-5-6043379-7-4.

26. Ильина, Л. А. Микробиом сельскохозяйственной птицы: проблемы и перспективы / Л. А. Ильина, Е. А. Йылдырым, Д. Г. Тюрина, Г. Ю. Лаптев // Гастроэнтерология Санкт-Петербурга. – 2020. – № 1-2. – С. 83-85.

27. Йылдырым, Е. А. Микробиом кур: современный взгляд / Е. А. Йылдырым, Л. А. Ильина, В. А. Филиппова, Е. П. Горфункель, А. В. Дубровин, Н. И. Новикова, Д. Г. Тюрина, Г. Ю. Лаптев // Птицеводство. – 2019. – № 1. – С. 43-49. – DOI 10.33845/0033-3239-2019-68-1-43-49.

28. Йылдырым, Е. А. Современный пробиотик для здоровья кур / Е. А. Йылдырым, Е. А. Бражник, Л. А. Ильина, А. В. Дубровин, В. А. Филиппова, Н. И. Новикова, Г. Ю. Лаптев // Эффективное животноводство. - 2019. - Т. 152, №4. - С. 66-67.

29. Йылдырым, Е. А. Современные биотехнологии в кормлении птицы / Е. А. Йылдырым, Е. А. Бражник, Л. А. Ильина, А. В. Дубровин, В. А. Филиппова, Н. И. Новикова, Г. Ю. Лаптев // Птицеводство. - 2019. - № 5. - С. 19-24. - <https://doi.org/10.33845/0033-3239-2019-68-5-19-24>.

30. Йылдырым, Е. А. Чем заменить антибиотики в птицеводстве? / Е.А. Йылдырым, Л. А. Ильина, Д. Г. Тюрина, А. В. Дубровин, В. А. Филиппова, Н. И. Новикова, В. Н. Большаков, Г. Ю. Лаптев // Птицеводство. - 2020. - Т. 9. - С. 41-46. - <https://doi.org/10.33845/0033-3239-2020-69-9-41-46>.

31. Йылдырым, Е. А. Метапробиотики вместо антибиотиков / Е. А. Йылдырым, Л. А. Ильина, Д. Г. Тюрина, А. В. Дубровин, В. А. Филиппова, Н. И. Новикова, В. Н. Большаков, Г. Ю. Лаптев, В. А. Манукян, Н. В. Тарлавин, В. Х. Меликиди, С. Н. Биконя, К. В. Васильева // Птицеводство. – 2020. – № 11. – С. 33-39. – DOI 10.33845/0033-3239-2020-69-11-33-39.

32. Каблучеева-Пашник, Т. И. Фармакологическое обоснование применения пробиотиков в птицеводстве / Т. И. Каблучеева-Пашник, А. Г. Коцаев //

- Монография. - Кр (Кисиль, и др., 2023)аснодар : Кубанский государственный аграрный университет имени И.Т. Трубилина, 2016. - С. 270.
33. Кисиль, О. В. Сурфактин: биологическая активность и возможность применения в сельском хозяйстве (обзор) / О. В. Кисиль, В. С. Трефилов, В. С. Садыкова [и др.] // Прикладная биохимия и микробиология. – 2023. – Т. 59, № 1. – С. 3-16. – DOI 10.31857/S0555109923010026.
34. Клюкин, П. Н. Поворот к физиократической метафизике (к 250-летию «Экономической таблицы» Ф. Кенэ). Физиократы. Избранные экономические произведения / П. Н. Клюкин - Москва : Эксмо, 2008. - С. 42.
35. Кондрахин, И. П. Методы ветеринарной клинической лабораторной диагностики / И. П. Кондрахин - Москва : Колос, 2004. - С. 520.
36. Костиков, А. Л. Кроссы мясных цыплят отечественной и зарубежной селекции / А. Л. Костиков, Н. В. Самбуров // Вестник Курской государственной сельскохозяйственной академии. - 2014. - Т. 5. - С. 62-65.
37. Котарев, В. И. Влияние кормовых добавок Профорт и Ликвафид на состояние микрофлоры желудочно-кишечного тракта индеек / В. И. Котарев, Л. В. Лядова, Д. А. Белоусов, В. Н. Большаков // Ветеринарный фармакологический вестник. - 2022. - Т. 20, №3. - С. 103. - DOI 10.17238/issn2541-8203.2022.3.103.
38. Куванов, Т. К. Микробиота кишечника яичных кур и экспрессия генов продуктивности при введении в рацион метапробиотика / Т. К. Куванов, О. В. Мясникова, М. С. Мотин // Международная научно-практическая конференция «Генетика, селекция, биотехнология: интеграция науки и практики в животноводстве". - Пушкин : Всероссийский научно-исследовательский институт генетики и разведения сельскохозяйственных животных РАСХН, 2021. - С. 78-79.
39. Лавриненко, К.В. Применение ксиланазы в рационах цыплят-бройлеров / К. В. Лавриненко, И. А. Коцаев, А. А. Рядинская, П. И. Токарь, А. А. Зайцев // Известия Нижневолжского агроуниверситетского комплекса: наука и высшее профессиональное образование. - 2022. - Т. 68, №4. - С. 310-318. - DOI 10.32786/2071-9485-2022-04-37.

40. Лаптев, Г. Ю. Особенности состава пищеварительной микробиоты у сельскохозяйственной птицы при загрязнении кормов глифосатом / Г. Ю. Лаптев, Т. М. Околелова, Д. Г. Тюрина // *Аграрная наука*. - 2023. - Т. 3. - С. 32-39. - <https://doi.org/10.32634/0869-8155-2023-368-3-32-39>.
41. Лаптев, Г. Ю. Влияние пробиотика "Целлобактерин-Т" на продуктивность и здоровье новотельных коров / Г. Ю. Лаптев, Н. И. Новикова, Е. Г. Дубровина, Л. А. Ильина, Е. А. Йылдырым, В. А. Филиппова, И. Н. Никонов // *Молочное и мясное скотоводство*. - 2016. - Т. №1. - С. 18-20.
42. Лаптев, Г. Ю. Геномный и фенотипический потенциал антимикробной активности штамма бактерии *Bacillus megaterium* B-4801 / Г. Ю. Лаптев, Е. А. Йылдырым, Т. П. Дуняшев, Л. А. Ильина, Д. Г. Тюрина, В. А. Филиппова, Е. А. Бражник, Н. В. Тарлавин, А. В. Дубровин, Н. И. Новикова, В. Х. Меликиди, С. Н. Биконя // *Сельскохозяйственная биология*. - 2020. - Т. 55, №4. - С. 816-829. - DOI 10.15389/agrobiology.2020.4.816rus.
43. Лаврентьев, А. Ю. Энзимы в комбикормах кур-несушек / А. Ю. Лаврентьев, Г. А. Егоров, В. В. Германов // *Аграрная наука - сельскому хозяйству : Сборник материалов XV Международной научно-практической конференции в 2 кн., Барнаул, 12–13 марта 2020 года. Том 2. – Барнаул: Алтайский государственный аграрный университет, 2020. – С. 174-176.*
44. Лаптев, Г. Ю. Микробиом сельскохозяйственных животных: связь со здоровьем и продуктивностью / Г. Ю. Лаптев, Н. И. Новикова, Е. А. Йылдырым, Н. В. Тарлавин, Л. А. Ильина, Д. Г. Тюрина, В. А. Филиппова - Санкт-Петербург : Проспект Науки, 2020. - С. 336. - ISBN 978-5-906109-99-6.
45. Лаптев, Г. Ю. Проблемы применения антибиотиков в птицеводстве / Г. Ю. Лаптев, Д. Г. Тюрина // *Здоровье - основа человеческого потенциала: проблемы и пути их решения*. – 2020. – Т. 15, № 2. – С. 866-874.
46. Лаптев, Г. Ю. Биоразнообразие и метаболические функции микробиома рубца у молочных коров в разные физиологические периоды / Г. Ю. Лаптев, Е. А. Йылдырым, Т. П. Дуняшев, Л. А. Ильина, Д. Г. Тюрина, В. А. Филиппова, Е. А. Бражник, Н. В. Тарлавин, А. В. Дубровин, Н. И. Новикова, В. Н. Большаков,

- Е. С. Пономарева // Сельскохозяйственная биология. – 2021. – Т. 56, № 4. – С. 619-640. – DOI 10.15389/agrobiology.2021.4.619rus.
47. Маркелова, Н.Н. Влияние эфирных масел на микроорганизмы различной таксономической принадлежности в сравнении с современными антибиотиками. Сообщение I. Действие розового эфирного масла и антибиотических субстанций на некоторые грамотрицательные бактерии / Н. Н. Маркелова, Е. Ф. Семенова, А. И. Шпичка, Е. В. Жученко // Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Естественные науки. – 2014. – № 3(7). – С. 39-48.
48. Марусич, А. Г. Продуктивные качества цыплят-бройлеров кроссов Росс-308 и Кобб-500 в ЗАО "Агрокомбинат "Заря" Могилевского района / А. Г. Марусич, Т. С. Сидорова // Актуальные проблемы интенсивного развития животноводства. - 2021. - Т. №24-2. - С. 53-61.
49. Матросова, Ю. В. Сравнительная эффективность использования различных подкислителей в рационе цыплят-бройлеров / Ю. В. Матросова, А. А. Овчиников, К. А. Нугуманова // Животноводство и кормопроизводство. - 2022. - Т. 105, №2. - С. 107-117.
50. Меднова, В. В. Использование фитобиотиков в животноводстве (обзор) / В. В. Меднова, А. Р. Ляшук, В. С. Буяров // Биология в сельском хозяйстве. - 2021. - Т. 30, №1. - С. 11-16.
51. Мурленков, Н. В. Российский и мировой рынок кормовых пробиотиков / Н. В. Мурленков // Научный журнал молодых ученых. – 2019. – № 2(15). – С. 5-8.
52. Мухаммад, Т. Х. Влияние препарата Актиген на зоотехнические показатели / Т. Х. Мухаммад, Р.Е.Х.М.А.Н. Абдур, В. З. Мухаммад, Ш. Ш. Мухаммад, // Животноводство России. - 2020. - Т. №4.
53. Мэгарран, Э. Экологическое разнообразие и его измерение / Э. Мэгарран // Москва : Мир, 1992. - С. 184.
54. Насонов, И. В. Методические рекомендации по гематологическим и биохимическим исследованиям у кур современных кроссов / И. В. Насонов, Н.

В. Буйко, Р. П. Лизун, В. Е. Волыхина, Н. В. Захарик, С. М. Якубовский // Минск, 2014. - С. 32.

55. Новик, Я. В. Перспективы применения пробиотиков на основе *Bacillus subtilis* в птицеводстве / Я. В. Новик, К. В. Киселева, Л. А. Араканцева // Роль аграрной науки в устойчивом развитии сельских территорий : Сборник VI Всероссийской (национальной) научной конференции с международным участием, Новосибирск, 20 декабря 2021 года. – Новосибирск: Издательский центр Новосибирского государственного аграрного университета "Золотой колос", 2021. – С. 667-669.

56. Орлова, Т. И. Биологические активные нерибосомальные пептиды. III. Механизм биосинтеза нерибосомальных пептидов / Т. И. Орлова, В. Г. Булгакова, А. Н. Полин // Антибиотики и химиотерапия. - 2012. - Т. 7-8 (57). - С. 43-54.

57. Патент РФ на изобретение RU 2 652 836 C1, «Кормовая добавка с пробиотической активностью для сельскохозяйственных животных, птиц, лошадей и рыб» / Г. Ю. Лаптев, Н. И. Новикова, В. Х. Меликиди, Е. А. Бражник, С. Н. Биконя, В. И. Прокопьева, С. Н. Грудина, Л. А. Ильина, Е. А. Ёылдырым – Публикация патента: 03.05.2018.

58. Перепелкин, Н. В. Опыт применения пробиотика "Профорт" в комбикормах для цыплят-бройлеров / Н. В. Перепелкин, М. В. Коренюга // Актуальные проблемы ветеринарной медицины, зоотехнии, биотехнологии и экспертизы сырья и продуктов животного происхождения : Сборник трудов научно-практической конференции. - Москва, 2022. - С. 433-434.

59. Пипия, С. О. Использование расширенного химического пространства лантибиотиков для создания искусственного биоразнообразия генетически кодируемых антибиотиков / С. О. Пипия // БИОХИМИЯ. - 2020. - Т. 85, вып 11. - С. 1550-1568.

60. Похиленко, В. Д. Выделение и характеристика бактериоцина штамма *Bacillus subtilis*, изолированного из пассифлоры / В. Д. Похиленко, Т. А. Калмантаев, И. А. Дунайцев, К. В. Детушев, А. А. Кисличкина, Т. Н. Мухина, И.

- А. Чукина // Бактериология. – 2022. – Т. 7, № 1. – С. 9-17. – DOI 10.20953/2500-1027-2022-1-9-17.
61. Ронжина, Н. А. Единые ветеринарные правила, как инструмент обеспечения биологической безопасности на территории Евразийского экономического Союза / Н. А. Ронжина, К. Р. Коновалова, С. А. Кияева // Актуальные проблемы науки и техники. Инноватика : Сборник научных статей по материалам X Международной научно-практической конференции. В 3 частях, Уфа, 31 января 2023 года. Том Часть 2. – Уфа: Общество с ограниченной ответственностью "Научно-издательский центр "Вестник науки", 2023. – С. 136-145.
62. Россельхознадзор Ирена - реестр зарегистрированных кормовых добавок [Электронный ресурс] // Ирена - реестр зарегистрированных кормовых добавок. – URL: <https://galen.vetrif.ru/#!/registry/feed/registry?page=1> (Дата обращения 15.12.2022).
63. Российская Федерация. Законы. Министерство сельского хозяйства Российской Федерации Приказ Россельхознадзора от 30.01.2018 N 53 (ред. от 09.09.2022) "Об утверждении Методических указаний по обеспечению функционирования Федеральной государственной информационной системы в области ветеринарии" : Зарегистрировано в Минюсте России 14.03.2018. - 2018.
64. Российская Федерация. Законы. Распоряжением №2045-р от 25.09.2017 утверждена Стратегия по предупреждению распространения антимикробной резистентности в Российской Федерации на период до 2030г. – URL: <http://government.ru/docs/29477/> (Дата обращения 23.08.2023).
65. Ребриков, Д.В. NGS: высокопроизводительное секвенирование / Д.В. Ребриков, Д.О. Коростин, Е.С. Шубина, В.В. Ильинский // - Москва : БИНОМ, 2015. - С. 232. - ISBN 978-5-9963-0373-1.
66. Руин, В. А. Альтернатива кормовым антибиотикам для коров молочной продуктивности / В. А. Руин, А. С. Панфилова // Вестник Курской государственной сельскохозяйственной академии. – 2022. – № 2. – С. 105-108.

67. Савустьяненко, А. В. Механизмы действия пробиотиков на основе *Bacillus subtilis* / А. В. Савустьяненко // Актуальная инфектология. - 2016. - Т. 2 (11). - С. 35-44.
68. Садовников, Н. В. Общие и специальные методы исследования крови птиц промышленных кроссов / Н. В. Садовников, Н. Д. Придыбайло, Н. А. Верещак, А. С. Заслонов - Екатеринбург-Санкт-Петербург : УральскаяГСХА, 2009. - С. 86. - ISBN 978-5-87203-260-6.
69. Сазыкин, И. С. Влияние антибиотиков, использующихся в животноводстве, на распространение лекарственной устойчивости бактерий (обзор) / И. С. Сазыкин, Л. Е. Хмелевцова, Е. Ю. Селиверстова, М. А. Сазыкина // Прикладная биохимия и микробиология. – 2021. – Т. 57, № 1. – С. 24-35. – DOI 10.31857/S0555109921010335.
70. Сверчкова, Н. В. Пробиотические препараты на основе бактерий рода *Bacillus* для животноводства, птицеводства и промышленного рыбоводства / Н. В. Сверчкова // Микробные биотехнологии: фундаментальные и прикладные аспекты : Сборник научных трудов. - Минск : Издательский дом "Белорусская наука", 2020. - Т. 12. - С. 252-264.
71. СГЦ «Смена» СГЦ «Смена»-филиал ФНЦ «ВНИТИП» РАН [Электронный ресурс] // СГЦ «Смена» – URL: <https://spsmena.ru/ptitsievodstvo> (дата обращения 25.04.2023).
72. Скопина, М. Ю. Разнообразие малочисленности: феномен "разреженной бактериальной биосферы" / М. Ю. Скопина, А. А. Васильева, Е. В. Першина, А. В. Пиневиц // Микробиология. – 2016. – Т. 85, № 3. – С. 248-260. – DOI 10.7868/S0026365616030150.
73. Стоянов, И. А. Строение и функции бактериоцинов, используемых в пищевой промышленности / И. А. Стоянов // ЛУЧШИЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ПРОЕКТ 2021 : сборник статей III Международного научно-исследовательского конкурса, Петрозаводск, 27 декабря 2021 года. - Петрозаводск : Петрозаводск: Международный центр научного партнерства «Новая Наука», 2021. - С. 66-72.

74. Сыромятников, М. Ю. Обзор: влияние пребиотиков и пробиотиков на микробиом свиней, кур и крупного рогатого скота / М. Ю. Сыромятников, Е. В. Михайлов, Н. В. Пасько // Ветеринарный фармакологический вестник. – 2019. – № 3(8). – С. 33-46. – DOI 10.17238/issn2541-8203.2019.3.33.
75. Сысоев, Д.П. Ресурсосберегающие технологии и технические средства приготовления кормов для животноводческих предприятий малых форм хозяйствования / Д. П. Сысоев // Техника и технологии в животноводстве. – 2019. №1 (33).
76. Тарлавин, Н. В. Повышение сохранности поголовья цыплят-бройлеров при применении комплекса дополнительного питания «Пробиоцид<sup>®</sup>-Ультра» в условиях заражения *Clostridium perfringens* / Н. В. Тарлавин, В. В. Веретенников, Э. Д. Джавадов, К. А. Моисеева, А. С. Яковлева, З. С. Ильчевская, Е. А. Подурец, Д. Г. Тюрина // Международный вестник ветеринарии. - 2021. - Т. №4. - С. 24-28. - <https://doi.org/10.52419/issn2072-2419.2021.4.24>.
77. Техническая литература по содержанию РС и бройлеров Cobb500 FF [Электронный ресурс] // Cobb – URL: <https://cobbrussia.ru/cobb> (дата обращения 25.08.2023).
78. Тюрина, Д. Г. Продуктивность и экспрессия генов у цыплят-бройлеров (*Gallus Gallus L.*) кросса Ross 308 под влиянием антибиотиков, глифосата и штамма *Bacillus sp* / Д. Г. Тюрина, Г. Ю. Лаптев, Е. А. Ёылдырым [и др.] // Сельскохозяйственная биология. – 2022. – Т. 57. № 6. – С. 1147-1165. – DOI 10.15389/agrobiology.2022.6.1147rus.
79. Тюрина, Д. Г. Как редактирование микробиома влияет на прибыль, или понятно о непонятном / Д. Г. Тюрина, Л. А. Ильина, Д. Г. Селиванов [и др.] // Птицеводство. – 2019. – № 11-12. – С. 43-48. – DOI 10.33845/0033-3239-2019-68-11-12-43-48.
80. Филатов, А. В. Применение пробиотического препарата на основе *Bacillus subtilis* и *Bacillus megaterium* коровам в разные периоды лактации / А. В. Филатов, С. В. Аникин, Н. А. Шемуранова, А. Ф. Сапожников // Молочное и мясное скотоводство. - 2022. - Т. №2. - DOI 10.33943/MMS.2022.35.19.010.

81. Фисинин, В. И. Кишечный иммунитет у птиц: факты и размышления (обзор) / В. И. Фисинин, П. Ф. Сурай // Сельскохозяйственная биология. - 2013. - Т. №4.
82. Фисинин, В. И. Кормление сельскохозяйственной птицы / В. И. Фисинин, И. А. Егоров, Т. М. Околелова [и др.] - Сергиев Посад, 2003. - С. 115-329.
83. Фисинин, В. И. Микробиологические риски в промышленном птицеводстве и животноводстве / В. И. Фисинин, В. И. Трухачев, И. П. Салеева, В. Ю. Морозов, Е. В. Журавчук, Р. О. Колесников, А. В. Иванов // Сельскохозяйственная биология. – 2018. – Т. 53, № 6. – С. 1120-1130. – DOI 10.15389/agrobiology.2018.6.1120rus.
84. Хаджиева, З. Д. Изучение антимикробной активности и количественное определение биологически активных веществ в фитопластыре противовоспалительного действия / З. Д. Хаджиева, Е. А. Теунова // Актуальные проблемы медицины. - 2010. - Т. 12. – №. 22 (93). - С. 52-54.
85. Хадиева, Г. Ф. Влияние пробиотиков *Bacillus subtilis* GM2 и GM5 на рост и усвояемость кормов у цыплят-бройлеров / Г. Ф. Хадиева, М. Т. Лутфуллин, А. А. Николаева, Н. К. Мочалова, С. Ю. Смоленцев, А. М. Марданова, М. Р. Шарипова // Ученые записки Казанского университета. Серия: Естественные науки. – 2019. – Т. 161, № 3. – С. 472-489. – DOI 10.26907/2542-064X.2019.3.472-489.
86. Цыханская, О. В. Влияние пробиотической добавки на основе *Bacillus subtilis* на продуктивные качества цыплят-бройлеров / О. В. Цыханская, О. В. Мясникова // Неделя студенческой науки : Материалы Всероссийской студенческой научно-практической конференции, Москва, 20 апреля 2022 года. – Москва: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии - МВА имени К.И. Скрябина», 2022. – С. 150-152.
87. Щепеткина, С. В. Лечебно-профилактические мероприятия при болезнях птиц бактериальной этиологии с использованием биоконплексов

пробиотических микроорганизмов / С. В. Щепеткина // Организация системы контроля инфекционных болезней, применения антимикробных препаратов и выпуска безопасной продукции птицеводства : коллективная монография. – Санкт-Петербург : Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины, 2018. – С. 375-382.

88. Щукин, Н. Н. Влияние биологизированного свежего помета кур клеточного содержания на микробиологические показатели малопродуктивной дерново-подзолистой почвы / Н. Н. Щукин, Н. Ю. Пухова, В. Д. Соболев, Е. А. Бражник // Инновации и продовольственная безопасность. - 2023. - Т. 1, №39. - С. 82-94. - <https://doi.org/10.31677/2311-0651-2023-39-1-82-94>.

89. Юдина, Ю. В. Микробиота кишечника как отдельная система организма / Ю. В. Юдина, А. А. Корсунский, А. И. Аминова, Г. Д. Абдуллаева, А. П. Продеус // Доказательная гастроэнтерология. – 2019. – Т. 8, № 4-5. – С. 36-43. – DOI 10.17116/dokgastro2019804-05136.

90. Abd El-Hack, M.E. Probiotics in poultry feed: A comprehensive review / M. E Abd El-Hack, M. T. El-Saadony, M. E. Shafi, S. Y. Qattan, G.E. Batiha, A. F. Khafaga, M. Alagawany, // Journal of animal physiology and animal nutrition, 2020. - Vols. 104, №6. - pp. 1835-1850. - <https://doi.org/10.1111/jpn.13454>.

91. Abdallah, I. I. Glimpse into the Biosynthesis of Terpenoids / I. I. Abdallah, W. J. A. Quax // KnE Life Sciences. - 2017. - pp. 81-98.

92. Abdelhamid, A. G. Controlling foodborne pathogens with natural antimicrobials by biological control and antivirulence strategies / A. G. Abdelhamid, N. K. El-DougDoug // Heliyon. - 2020. - Vols. 6, №9. - p. e05020. - <http://dx.doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e05020>.

93. Abisado, R. G. Bacterial quorum sensing and microbial community interaction / R. G. Abisado, S. Benomar, J. R. Klaus, A. A. Dandekar, J. R. Chandler, // mBio. - 2018. - pp. e02331–e02317. - <https://doi.org/10.1128/mBio.02331-17>.

94. Abraham, E. P. Adaptation of Staphylococcus aureus to growth in the presence of certain antibiotics / E. P. Abraham, D. Callow, K. Gilliver // Nature. - 1946. - Vols. 158 (4023). - pp. 818-821. - doi: 10.1038/158818a0.

95. Adhikari, P. Research Note: Effect of organic acid mixture on growth performance and Salmonella Typhimurium colonization in broiler chickens / P. Adhikari, S. Yadav, D. E. Cosby, N. A. Cox, J. A. Jendza, W. K. Kim, // Poultry Science. - 2020. - Vols. 99, №5. - pp. 2645-2649. - <https://doi.org/10.1016/j.psj.2019.12.037>.
96. Al-Khalaifa, H. Effect of dietary probiotics and prebiotics on the performance of broiler chickens / H. Al-Khalaifa, A. Al-Nasser, T. Al-Surayee, S. Al-Kandari, N. Al-Enzi, T. Al-Sharrah, A. Mohammed // Poultry Science. - 2019. - Vols. 98, №10. - pp. 4465-4479. - <https://doi.org/10.3382/ps/pez282>.
97. Al-Surrayai, T. I. Evaluation of the lactic acid bacteria based formulated probiotic product for poultry / T. I. Al-Surrayai, H. S. Al-khalaifah, H. Al-Mansour, M. Kishk, A. Al-Mutairi, H. Sultan, H. Al-Saleem, // Frontiers in Animal Science. - 2022. - Vol. 3. - p. 128. - <https://doi.org/10.3389/fanim.2022.1026958>.
98. Albarano L. Genome Mining as New Challenge in Natural Products Discovery / L. Albarano, R. Esposito, N. Ruocco, M. Costantini // Marine drugs. - 2020. - Vols. 18, №4. - p. 199. - <https://doi.org/10.3390/md18040199>.
99. Analysing 16S data: Part 1 [Electronic resource] // Introduction to Microbial Community Analysis. Jackson Laboratory For Genomic Medicine 15th-17th November - 2017. – URL: <https://thejacksonlaboratory.github.io/microbiome-workshop/jekyll/update/2017/11/16/Analysing-16S-data-part-1.html> (date of the application 25.08.2023).
100. Andrews S., FastQC: a quality control tool for high throughput sequence data // [Electronic resource] - 2010. – URL: <http://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc> (date of the application 25.09.2023)
101. Anunthawan T. Cationic Amphipathic Peptides KT2 and RT2 Are Taken up into Bacterial Cells and Kill Planktonic and Biofilm Bacteria / T. Anunthawan, C. de la Fuente-Núñez, R. E. W. Hancock // Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes. - 2015. - Vol. 1848 № 6. - pp. 1352–1358.

102. Apajalahti, J. Characteristics of the gastrointestinal microbial communities, with special reference to the chicken / J. Apajalahti, A. Kettunen, H. Graham // *World's Poultry Science Journal*. - 2004. - Vols. 60, №2. - pp. 223-232. - <https://doi.org/10.1079/WPS200415>.
103. Arnaouteli, S. Bacillus subtilis biofilm formation and social interactions / S. Arnaouteli, N. C. Bamford, N. R Stanley-Wall, Á. T. Kovács // *Nature Reviews Microbiology*. - 2021. - Vols. 19, №9. - pp. 600-614. - <https://doi.org/10.1038/s41579-021-00540-9>.
104. Arndt, D. PHASTER: a better, faster version of the PHAST phage search tool / D. Arndt, J. R. Grant, A. Marcu, T. Sajed, A. Pon, Y. Liang, D. S. Wishart // *Nucleic acids research*. - 2016. - Vols. 44, №W1. - pp. W16-W21. - <https://doi.org/10.1093/nar/gkw387>.
105. Artimo, P. ExPASy: SIB bioinformatics resource portal / P. Artimo, M. Jonnalagedda, K. Arnold, D. Baratin, G. Csardi, E. De Castro, S. Duvaud, V. Flegel, A. Fortier, E. Gasteiger, A. Grosdidier // *Nucleic acids research*. - 2012. - Vols. 40, №W1. - pp. W597-W603. - <https://doi.org/10.1093/nar/gks400>.
106. Attia, Y. A. Effect of feed form, pellet diameter and enzymes supplementation on growth performance and nutrient digestibility of broiler during days 21-37 of age / Y.A Attia, M. A. Al-Harhi, A. S. El-Shafey // *Archives Animal Breeding*. - 2014. - Vols. 57, №1. - pp. 1-11. - <https://doi.org/10.7482/0003-9438-57-034>.
107. Attia, Y. A. Influence of Different Time and Frequency of Multienzyme Application on the Efficiency of Broiler Chicken Rearing and Some Selected Metabolic Indicators / Y. A. Attia, W. S El-Tahawy, A. El-Hamid, A. Nizza, F. Bovera, M. A. Al-Harhi, M. I. El-Kelway // *Animals*. - 2020. - Vols. 10, №3. - p. 450. - <https://doi.org/10.3390/ani10030450>.
108. Ross 308. The Ross 308 satisfies the demands of customers who require a bird that performs consistently well and has the versatility to meet a broad range of end product requirements [Electronic resource] // *Aviagen Group*. - 1998 - 2023. – URL: <https://aviagen.com/eu/brands/ross/products/ross-308> (date of the application 25.08.2023).

109. Ayalew, H. Potential Feed Additives as Antibiotic Alternatives in Broiler Production / H. Ayalew, H. Zhang, J. Wang, S. Wu, K. Qiu, G. Qi, A. Tekeste, T. Wassie, D. Chanie // *Frontiers in Veterinary Science*. - 2022. - Vols. 9. - <https://doi.org/10.3389/fvets.2022.916473>.
110. Aziz, R. K. The RAST Server: rapid annotations using subsystems technology / R. K. Aziz, D. Bartels, A. A. Best, M. DeJongh, T. Disz, R. A. Edwards, O. Zagnitko // *BMC genomics*. - 2008. - Vols. 9, №75. - pp. 1-15. - <https://doi.org/10.1186/1471-2164-9-75>.
111. B Hadley E. Strategies for the Discovery and Advancement of Novel Cationic Antimicrobial Peptides / E. B Hadley, R. EW Hancock // *Current topics in medicinal chemistry*. - 2010. - Vols. 10, №18. - pp. 1872-1881. - <https://doi.org/10.2174/156802610793176648>.
112. Bakulina, N. V. The use of *E. faecium* probiotic and autoprobiotic in patients with type 2 diabetes mellitus / N. V. Bakulina, S. V. Tikhonov, E. I. Ermolenko, M. P. Kotyleva, N. S. Lavrenova, Y. G. Topalova, A. N. Suvorov // *HERALD of North-Western State Medical University named after II Mechnikov*. - 2022. - Vols. 14, №1. - pp. 77-88. - <https://doi.org/10.17816/mechnikov104795>.
113. Barton, L. The earliest farmers of northwest china exploited grain-fed pheasants not chickens / L. Barton, B. Bingham, K. Sankaranarayanan, C. Monroe, A. Thomas, B. M. Kemp // *Scientific Reports*. - 2020. - Vols. 10, №1. - pp. 1-7. - <https://doi.org/10.1038/s41598-020-59316-5>.
114. Bérdy, J. Thoughts and facts about antibiotics: Where we are now and where we are heading / J. Bérdy // *The Journal of antibiotics*. - 2012. - Vols. 65, №8. - pp. 385-395. - <https://doi.org/10.1038/ja.2012.27>.
115. Berg, T. L. The biosynthesis of gramicidin S in a cell-free system / T. L. Berg, L. O. Frøholm, S. G. Laland // *Biochemical Journal*. - 1965. - Vols. 96, №1. - p. 43. - <https://doi.org/10.1042%2Fbj0960043>.
116. Blajman, J. E. Probiotics and broiler growth performance: a meta-analysis of randomised controlled trials / J. E. Blajman, L. S. Frizzo, M. V. Zbrun, D. M. Astesana,

- M. L. Fusari, L. P. Soto, M. L. Signorini // *British Poultry Science*. - 2014. - Vols. 55, №4. - pp. 483-494. - <https://doi.org/10.1080/00071668.2014.931930>.
117. Bleich, R. Thiopeptide antibiotics stimulate biofilm formation in *Bacillus subtilis* / R. Bleich, J. D. Watrous, P. C. Dorrestein, A. A. Bowers, E. A. Shank // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. - 2015. - Vols. 112, №10. - pp. 3086-3091. - <https://doi.org/10.1073/pnas.1414272112>.
118. Blin, K. antiSMASH 2.0—a versatile platform for genome mining of secondary metabolite producers / K. Blin, M. H. Medema, D. Kazempour, M. A. Fischbach, R. Breitling, E. Takano, T. Weber // *Nucleic acids research*. - 2013. - Vols. 41, №W1. - pp. W204-W212. - <https://doi.org/10.1093/nar/gkt449>.
119. Blin, K. antiSMASH 6.0: improving cluster detection and comparison capabilities / K. Blin, S. Shaw, A. M. Kloosterman, Z. Charlop-Powers, G. P. Van Wezel, M. H. Medema, T. Weber // *Nucleic acids research*. - 2021. - Vols. 49, №W1. - pp. W29-W35. - <https://doi.org/10.1093/nar/gkab335>.
120. Blin, K. Recent development of antiSMASH and other computational approaches to mine secondary metabolite biosynthetic gene clusters / K. Blin, H. U. Kim, M. H. Medema, T. Weber // *Briefings in Bioinformatics*. - 2019. - Vols. 20, №4. - pp. 1103-1113. - <https://doi.org/10.1093/nar/gkt449>.
121. Bolger, A. M. Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data / A. M. Bolger, M. Lohse, B. Usadel // *Bioinformatics*. - 2014. - Vols. 30, №15. - pp. 2114-2120. - <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu170>.
122. Bolyen, E. Reproducible, interactive, scalable and extensible microbiome data science using QIIME 2 / E. Bolyen, J. R. Rideout, M. R. Dillon, [et al] // *Nature Biotechnology*. - 2019. - Vol. 37. - pp. 852–857. - <https://doi.org/10.1038/s41587-019-0209-9>.
123. Bonacina, J. A genomic view of food-related and probiotic *Enterococcus* strains / J. Bonacina, N. Suárez, R. Hormigo, S. Fadda, M. Lechner, L. Saavedra // *Dna Research*. - 2017. - Vols. 24, №1. - pp. 11-24. - <https://doi.org/10.1093/dnares/dsw043>.

124. Bortolaia, V. ResFinder 4.0 for predictions of phenotypes from genotypes / V. Bortolaia, R. S. Kaas, E. Ruppe, M. C. Roberts, S. Schwarz, V. Cattoir, F. M. Aarestrup // *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. - 2020. - Vols. 75, №12. - pp. 3491-3500. - <https://doi.org/10.1093/jac/dkaa345>.
125. Bowler, P. G. Wound microbiology and associated approaches to wound management. / P. G. Bowler, B. I. Duerden, D. G. Armstrong // *Clinical microbiology reviews*. - 2001. - Vol. 14(2). - pp. 244-269. - <https://doi.org/10.1128/CMR.14.2.244-269.2001>.
126. Brogden, K. A. Antimicrobial peptides: pore formers or metabolic inhibitors in bacteria? / K. A. Brogden, // *Nature reviews microbiology*. - 2005. - Vols. 3, №3. - pp. 238-250. - <https://doi.org/10.1038/nrmicro1098>.
127. Broom, L. J. Organic acids for improving intestinal health of poultry / L. J. Broom // *World's Poultry Science Journal*. - 2015. - Vols. 71, №4. - pp. 630-642.
128. Brötz, H. The lantibiotic mersacidin inhibits peptidoglycan synthesis by targeting lipid II / H. Brötz, G. Bierbaum, K. Leopold // *Antimicrob. Agents Chemother.* - 1998. - Vol. 42. - pp. 154–160.
129. Caboche, S NORINE: a database of nonribosomal peptides / S. Caboche, M. Pupin, V. Leclère, A. Fontaine, P. Jacques, G. Kucherov // *Nucleic acids research*. - 2007. - Vols. 36, № suppl\_1. - pp. D326-D331. - <https://doi.org/10.1093/nar/gkm792>.
130. Caffrey, P. New Glycosylated Polyene Macrolides: Refining the Ore from Genome Mining / P. Caffrey, M. Hogan, Y. Song // *Antibiotics*. - 2022. - Vols. 11, №3. - p. 334. - <https://doi.org/10.3390/antibiotics11030334>.
131. Callahan, B. J. Exact sequence variants should replace operational taxonomic units in marker-gene data analysis / B. J. Callahan, P. J. McMurdie, S. P. Holmes // *The ISME journal*. - 2017. - Vols. 11, №12. - pp. 2639-2643. - <https://doi.org/10.1038/ismej.2017.119>.
132. Cao, Y. Antagonism of two plant-growth promoting *Bacillus velezensis* isolates against *Ralstonia solanacearum* and *Fusarium oxysporum* / Y. Cao, H. Pi, P. Chandrangsu, Y. Li, Y. Wang, H. Zhou, H. Xiong, J. D. Helmann, Y. Cai // *Scientific reports*. - 2018. - Vols. 8 № 1. - pp. 1-14.

133. Cascales, E. Colicin biology / E. Cascales, S. K. Buchanan, D. Duché, C. Kleanthous, R. Lloubes, K. Postle, D. Cavard // *Microbiology and molecular biology reviews*. - 2007. - Vols. 71, №1. - pp. 158-229. - <https://doi.org/10.1128/MMBR.00036-06>.
134. Chao, A. Phylogenetic diversity measures based on Hill numbers / A. Chao, C. H. Chiu, L. Jost // *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*. - 2010. - Vols. 365, №1558. - pp. 3599-3609. - <https://doi.org/10.1098/rstb.2010.0272>.
135. Chen, W. A Comparison of Methods for Clustering 16S rRNA Sequences into OTUs / W. Chen, C. K. Zhang, Y. Cheng, S. Zhang, H. Zhao // *PloS one*. - 2013. - Vols. 8, №8. - p. e70837. - <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0070837>.
136. Choeisoongnern, T. Potential probiotic *Enterococcus faecium* OV3-6 and its bioactive peptide as alternative bio-preservation / T. Choeisoongnern, S. Sirilun, R. Waditee-Sirisattha, K. Pintha, S. Peerajan, C. Chaiyasut // *Foods*. - 2021. - Vols. 10, №10. - p. 2264. - <https://doi.org/10.3390/foods10102264>.
137. Chowdhury, S. P. Cyclic lipopeptides of *Bacillus amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* colonizing the lettuce rhizosphere enhance plant defense responses toward the bottom rot pathogen *Rhizoctonia solani* / S. P. Chowdhury, J. Uhl, R. Grosch, S. Alquéres, S. Pittroff, K. Dietel, P. Schmitt-Kopplin, R. Borriss, A. Hartmann // *Molecular Plant-Microbe Interactions*. - 2015. - Vols. 28 № 9. - pp. 984-995. - <https://doi.org/10.1094/mpmi-03-15-0066-r>.
138. Cirilo, E. H. Effects of probiotics on blood metabolites, enterocytes, growth, and carcass characteristics of broilers challenged with *Salmonella* Serovar Heidelberg / E. H. Cirilo, N. R. Junior, T. S. Andrade, C. Souza, C. Kaufmann, T. L. Kohler, R. V. Nunes // *Livestock Science*. - 2023. - Vols. 270. - p. 105188. - <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2023.105188>.
139. Cobongela, S. Z. Acyldepsipeptide Analogues: A Future Generation Antibiotics for Tuberculosis Treatment / S. Z. Cobongela, M. M. Makatini, P. S. Mdluli // *Pharmaceutics*. - 2022. - Vols. 14, №9. - p. 1956. - <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14091956>.

140. Coburn, P. S. The *Enterococcus faecalis* cytolysin: a novel toxin active against eukaryotic and prokaryotic cells / P. S. Coburn, M. S. Gilmore // *Cellular microbiology*. - 2003. - Vols. 5, №10. - pp. 661-669. - <https://doi.org/10.1046/j.1462-5822.2003.00310.x>.
141. Cook, M. A. The past, present, and future of antibiotics / M. A. Cook, G. D. Wright // *Science Translational Medicine*. - 2022. - Vols. 14, №657. - p. eabo7793. - <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.abo7793>.
142. Costa, Y. Characterization of the chromosomal *aac(6')*-Ii gene specific for *Enterococcus faecium* / Y. Costa, M. Galimand, R. Leclercq, J. Duval, P. Courvalin // *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. - 1993. - Vols. 37, №9. - pp. 1896-1903. - <https://doi.org/10.1128/AAC.37.9.1896>.
143. Cox, C. M. Immunomodulatory role of probiotics in poultry and potential in ovo application / C. M. Cox, R. A. Dalloul // *Beneficial Microbes*. - 2015. - Vols. 6, №1. - pp. 45-52. - <https://doi.org/10.3920/bm2014.0062>.
144. Culp, E. Bacterial proteases, untapped antimicrobial drug targets / E. Culp, G. D. Wright // *The Journal of antibiotics*. - 2017. - Vols. 70, №4. - pp. 366-377. - <https://doi.org/10.1038/ja.2016.138>.
145. Daina, A. SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules / A. Daina, O. V. Michielin Zoete // *Scientific reports*. - 2017. - Vols. 7, №1. - p. 42717. - <https://doi.org/10.1038/srep42717>.
146. Daneshmand, A. Antimicrobial peptide, cLF36, affects performance and intestinal morphology, microflora, junctional proteins, and immune cells in broilers challenged with *E. coli* / A. Daneshmand, H. Kermanshahi, M. H. Sekhavati, A. Javadmanesh, M. Ahmadian // *Scientific reports*. - 2019. - Vols. 9, №1. - p. 14176. - <https://doi.org/10.1038/s41598-019-50511-7>.
147. Darwin, C. The variation of animals and plants under domestication / C. Darwin - New York : John Murray, 1896. - Vol. 2.
148. Davis, M.E. Exploring Patient Awareness and Perceptions of the Appropriate Use of Antibiotics: A Mixed-Methods Study / M. E. Davis, T. L. Liu, Y. J. Taylor, L.

- Davidson, M. Schmid, T. Yates, J. Scotton, M. D. Spencer // *Antibiotics*. - 2017. - Vols. 6, №4. - p. 23. - <https://doi.org/10.3390/antibiotics6040023>.
149. Dhara, A. ADEP1 activated ClpP1P2 macromolecule of *Leptospira*, an ideal Achilles' heel to deregulate proteostasis and hamper the cell survival / A. Dhara, M. S. Hussain, S. P. Kanaujia, M. Kumar // *bioRxiv*. - 2020. - p. 2020.08. 05.237438. - <https://doi.org/10.1101/2020.08.05.237438>.
150. Dimopoulou, A. Direct antibiotic activity of Bacillibactin broadens the biocontrol range of *Bacillus amyloliquefaciens* MBI600 / A. Dimopoulou, I. Theologidis, D. Benaki, M. Koukounia, A. Zervakou, A. Tzima, G. Diallinas, D. G. Hatzinikolaou, N. Skandalis // *Mosphere*. - 2021. - Vols. 6, №. 4. - pp. e00376-21.
151. Duche, R. T. Antibiotic Resistance in Potential Probiotic Lactobacillary Strains of Fermented Foods and Human Origin From Nigeria / R. T. Duche, A. Singh, A. G. Wandhare, V. Sangwan, M. K. Sihag, T. T. Nwagu, L. I. Ezeogu // *BMC Microbiol.* - 2023. - <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-2282604/v1>.
152. ECDC Surveillance of antimicrobial resistance in Europe—annual report of the European antimicrobial resistance surveillance network (EARS-Net) ECDC: Surveillance Report, 2017. [Electronic resource] - URL: <https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/EARS-Net-report-2017-update-jan-2019.pdf> (date of the application 25.08.2023).
153. European Food Safety Authority. Data Reports [Electronic resource] - URL: <https://www.efsa.europa.eu/en/data/data-reports> (date of the application 19.09.2023).
154. European Food Safety Authority. Home [Electronic resource] - URL: <https://www.efsa.europa.eu/en> (date of the application 19.09.2023).
155. El Baaboua, A. Evaluation of antimicrobial activity of four organic acids used in chicks feed to control *Salmonella typhimurium*: Suggestion of amendment in the search standard / A. El Baaboua, M. El Maadoudi, O. Belmehdi, A. Kounoun, R. Zahli, J. Abrini // *International Journal of Microbiology*. - 2018. - <https://doi.org/10.1155%2F2018%2F7352593>.

156. Fasiku, S. A. Production of xylanase by *Aspergillus niger* GIO and *Bacillus megaterium* through solid-state fermentation / S. A. Fasiku, M. A. Bello, O. A. Odeniyi // *Microbiology Society*. - 2023. - <https://doi.org/10.1099/acmi.0.000506.v3>.
157. Fathima, S. Gastrointestinal Microbiota and Their Manipulation for Improved Growth and Performance in Chickens / S. Fathima, R. Shanmugasundaram, D. Adams, R. K. Selvaraj // *Foods*. - 2022. - Vols. 11, №10. - p. 1401. - <https://doi.org/10.3390/foods11101401>.
158. Fira, D. Biological control of plant pathogens by *Bacillus* species / D. Fira, I. Dimkić, T. Berić, J. Lozo, S. Stanković // *Journal of biotechnology*. - 2018. - Vols. 285. - pp. 44-55.
159. Fischbach, M. A. Antibiotics for emerging pathogens / M. A. Fischbach, C. T. Walsh // *Science*. - New York, 2009. - Vols. 325(5944). - pp. 1089-1093. - <https://doi.org/10.1126/science.1176667>.
160. Flissi, A. Norine, the knowledgebase dedicated to non-ribosomal peptides, is now open to crowdsourcing / A. Flissi, Y. Dufresne, J. Michalik, L. Tonon, S. Janot, L. Noé, M. Pupin, // *Nucleic acids research*. - 2015. - Vols. 44, D1. - pp. D1113-D1118. - <https://doi.org/10.1093/nar/gkv1143>.
161. Flissi, A. Norine: update of the nonribosomal peptide resource / A. Flissi, E. Ricart, C. Campart, M. Chevalier, Y. Dufresne, J. Michalik, M. Pupin // *Nucleic Acids Research*. - 2020. - Vols. 48, №D1. - pp. D465-D469. - <https://doi.org/10.1093/nar/gkz1000>.
162. Freitas, A. R. Distribution of putative virulence markers in *Enterococcus faecium*: towards a safety profile review / A. R. Freitas, A. P. Tedim, C. Novais, T. M. Coque, L. Peixe, // *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. - 2018. - Vols. 73, №2. - pp. 306-319. - <https://doi.org/10.1093/jac/dkx387>.
163. Fumihito, A. One subspecies of the red junglefowl (*Gallus gallus gallus*) suffices as the matriarchic ancestor of all domestic breeds / A. Fumihito, T. Miyake, S. I. Sumi, M. Takada, S. Ohno, N. Kondo // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. - 1994. - Vols. 91, №26. - pp. 12505-12509. - <https://doi.org/10.1073/pnas.91.26.12505>.

164. Galli, G.M. Growth performance and meat quality of broilers fed with microencapsulated organic acids / G. M. Galli, E. Aniecevski, T. G. Petrolli, G. da Rosa, M. M. Boiago, C. A. Simões, A. S. Da Silva // *Animal Feed Science and Technology*. - 2021. - Vol. 271. - p. 114706. - <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2020.114706>.
165. Gavriilidou, A. Compendium of specialized metabolite biosynthetic diversity encoded in bacterial genomes / A. Gavriilidou, S. A. Kautsar, N. K. Zaburannyi, D. Krug, R. Müller, M. H. Medema, N. Ziemert // *Nature microbiology*. - 2022. - Vols. 7, №5. - pp. 726-735. - <https://doi.org/10.1038/s41564-022-01110-2>.
166. Ghazisaeedi, F. A virulence factor as a therapeutic: the probiotic *Enterococcus faecium* SF68 arginine deiminase inhibits innate immune signaling pathways / F. Ghazisaeedi, J. Meens, B. Hansche, S. Maurischat, P. Schwerk, R. Goethe, K. Tedin // *Gut Microbes*. - 2022. - Vols. 14, №1. - p. 2106105. - <https://doi.org/10.1080/19490976.2022.2106105>.
167. Gibson, G. Dietary modulation of the human colonic microbiota: Updating the concept of prebiotics / G. Gibson, H. Probert, J. Loo, R. Rastall, M. Roberfroid // *Nutrition Research Reviews*. - 2004. - Vols. 17, №2. - pp. 259-275. - <https://doi.org/10.1079/NRR200479>.
168. Gicana, R. G. Valorization of fish waste and sugarcane bagasse for Alcalase production by *Bacillus megaterium* via a circular bioeconomy model / R. G. Gicana, F. I. Yeh, T. H. Hsiao, Y. R. Chiang, J. S. Yan, P. H. Wang // *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*. - 2022. - Vol. 135. - p. 104358. - <https://doi.org/10.1016/j.jtice.2022.104358>.
169. Gillor, O. Persistence of colicinogenic *Escherichia coli* in the mouse gastrointestinal tract / O. Gillor, I. Giladi, M. A. Riley // *BMC Microbiology*. – 2009. – Vol. 9. – P. 165. – DOI 10.1186/1471-2180-9-165.
170. Gilmore, M. S. *Enterococci: From Commensals to Leading Causes of Drug Resistant Infection* / M. S. Gilmore, D. B. Clewell, Y. Ike, N. Shankar - Boston: Massachusetts Eye and Ear Infirmary, 2014. - PMID: 24649510.

171. Gilmore, M. S. Enterococcal virulence / M. S. Gilmore, P. S. Coburn, S. R. Nallapareddy // *The enterococci: pathogenesis, molecular biology, and antibiotic resistance*. - 2002. - pp. 301-354. - <https://doi.org/10.1128/9781555817923.ch8>.
172. Gilson, L. Genetic analysis of an MDR-like export system: the secretion of colicin V / L. Gilson, H. K. Mahanty, R. Kolter // *The EMBO journal*. - 1990. - Vols. 9, №12. - pp. 3875-3884. - <https://doi.org/10.1002/j.1460-2075.1990.tb07606.x>.
173. Glassman, S. I. Broad-scale Ecological Patterns Are Robust to Use of Exact Sequence Variants versus Operational Taxonomic Units / S. I. Glassman, J. B. Martiny, // *mSphere*. - 2018. - Vols. 3, №4. - pp. e00148-18. - <https://doi.org/10.1128/mSphere.00148-18>.
174. Glendinning, L. Development of the duodenal, ileal, jejunal and caecal microbiota in chickens / L. Glendinning, K. A. Watson, M. Watson // *Animal microbiome*. - 2019. - Vols. 1, №17. - <https://doi.org/10.1186/s42523-019-0017-z>.
175. Glöckner, F. O. 25 years of serving the community with ribosomal RNA gene reference databases and tools / F. O. Glöckner, P. Yilmaz, C. Quast, J. Gerken, A. Beccati, A. Ciuprina, W. Ludwig, // *Journal of biotechnology*. - 2017. - Vols. 261. - pp. 169-176. - <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2017.06.1198>.
176. Gnann, A. D. Dynamics and mechanistic interpretations of nonribosomal peptide synthetase cyclization domains / A. D. Gnann, K. Marincin, D. P. Frueh, D. P. Dowling // *Current Opinion in Chemical Biology*. - 2023. - Vols. 72. - p. 102228. - <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2022.102228>.
177. González-Rodríguez I. Factors involved in the colonization and survival of bifidobacteria in the gastrointestinal tract / I. González-Rodríguez, L. Ruiz, M. Gueimonde, A. Margolles, B. Sánchez // *FEMS microbiology letters*. – 2013. – Vols. 340. – №. 1. – p. 1-10.
178. Gu, Q. Bacillomycin D produced by *Bacillus amyloliquefaciens* is involved in the antagonistic interaction with the plant-pathogenic fungus *Fusarium graminearum* / Q. Gu, Y. Yang, Q. Yuan // *Applied and environmental microbiology*. - 2017. - Vols. 83 № 19. - <https://doi.org/10.1128/AEM.01075-17>.

179. Gubatan, J. Antimicrobial peptides and the gut microbiome in inflammatory bowel disease / J. Gubatan, D. R. Holman, C. J. Puntasecca, D. Polevoi, S. J. Rubin, S. Rogalla // *World J Gastroenterol.* - 2021. - Vols. 27, №43. - pp. 7402-7422. - <https://doi.org/10.3748%2Fwjg.v27.i43.7402>.
180. Gurtler, J. B. RESERVATIVES | Traditional Preservatives – Organic Acids / J. B. Gurtler, T. L. Mai // *Encyclopedia of Food Microbiology (Second Edition)*. - 2014. - pp. 119-130. - <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384730-0.00260-3>.
181. Gustafson, K. The macrolactins, a novel class of antiviral and cytotoxic macrolides from a deep-sea marine bacterium / K. Gustafson, M. Roman, W. Fenical, // *Journal of the american chemical society.* - 1989. - Vols. 111, №19. - pp. 7519-7524. - <https://doi.org/10.1021/ja00201a036>.
182. Guzmán-Moreno, J. *Bacillus megaterium* HgT21: a Promising Metal Multiresistant Plant Growth-Promoting Bacteria for Soil Bioremediation / J. Guzmán-Moreno, L. F. García-Ortega, L. Torres-Saucedo, P. Rivas-Noriega, R. M. Ramírez-Santoyo, L. Sánchez-Calderón, L. E. Vidales-Rodríguez // *Microbiology Spectrum.* - 2022. - Vols. 10, №5. - pp. e00656-22. - <https://doi.org/10.1128/spectrum.00656-22>.
183. Hanchi, H. The genus *Enterococcus*: between probiotic potential and safety concerns—an update / H. Hanchi, W. Mottawea, K. Sebei, R. Hammami // *Frontiers in microbiology.* - 2018. - Vols. 9. - p. 1791. - <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01791>.
184. Handelsman J. Molecular biological access to the chemistry of unknown soil microbes: a new frontier for natural products / J. Handelsman, M. R. Rondon, S. F. Brady, J. Clardy, R. M. Goodman // *Chemistry & biology.* - 1998. - Vols. 5, №10. - pp. R245-R249. - [https://doi.org/10.1016/S1074-5521\(98\)90108-9](https://doi.org/10.1016/S1074-5521(98)90108-9).
185. Heng, N. C. K. *Microcins. Handbook of Biologically Active Peptides* / N. C. K. Heng, R. W. Jack - Academic Press, 2006. - p. 75-81. - ISBN 9780123694423 - <https://doi.org/10.1016/B978-012369442-3/50016-7>.
186. Hesper, B. *Bioinformatica: een werkconcept* / B. Hesper, P. Hogeweg // *Kameleon.* - 1970. - Vols. 1, №6. - pp. 28-29.
187. Hollmann, A. Antimicrobial peptides: interaction with model and biological membranes and synergism with chemical antibiotics / A. Hollmann, M. Martinez, P.

- Maturana, L. C. Semorile, P. C. Maffia // *Frontiers in chemistry*. - 2018. - Vols. 6. - pp. 204. <https://doi.org/10.3389/fchem.2018.00204>.
188. Holzapfel, W. *Enterococcus faecium* SF68 as a model for efficacy and safety evaluation of pharmaceutical probiotics / W. Holzapfel, A. Arini, M. Aeschbacher, R. Coppolecchia, B. Pot // *Beneficial microbes*. - 2018. - Vols. 9, №3. - pp. 375-388. - <https://doi.org/10.3920/BM2017.0148>.
189. Hong, H. A. The use of bacterial spore formers as probiotics / H. A. Hong, L. H. Ducle, S. M. Cutting // *FEMS microbiology reviews*. - 2005. - Vols. 29, №4. - pp. 813-835. - <https://doi.org/10.1016/j.femsre.2004.12.001>.
190. Houck, D. R. Biosynthesis of the modified peptide antibiotic nosiheptide in *Streptomyces actuosus* / D. R. Houck, L. C. Chen, P. J. Keller, J. M. Beale, H. G. Floss // *Journal of the American Chemical Society*. - 1988. - Vols. 110, №17. - pp. 5800-5806. - <https://doi.org/10.1021/ja00225a035>.
191. Huang, X. Genome-wide genetic structure and selection signatures for color in 10 traditional Chinese yellow-feathered chicken breeds / X. Huang, N. O. Otecko, M. Peng, Z. Weng, W. Li, J. Chen, B. Du // *BMC genomics*. - 2020. - Vols. 21, №1. - pp. 1-12. - <https://doi.org/10.1186/s12864-020-6736-4>.
192. Hughes, R. J. Relationship between digesta transit time and apparent metabolisable energy value of wheat in chickens / R. J. Hughes // *British poultry science*. - 2008. - Vols. 49, №6. - pp. 716-720. - <https://doi.org/10.1080/00071660802449145>.
193. Iskandar, K. Antibiotic Discovery and Resistance: The Chase and the Race // *Antibiotics*. - 2022. - Vols. 11, №2. - p. 182. - <https://doi.org/10.3390/antibiotics11020182>.
194. Jackson, C. R. Antimicrobial resistance, virulence determinants and genetic profiles of clinical and nonclinical *Enterococcus cecorum* from poultry / C. R. Jackson, S. Kariyawasam, L. B. Borst, J. G. Frye, J. B. Barrett, L. M. Hiott, T. A. Woodley // *Letters in applied microbiology*. - 2015. - Vols. 69, №2. - pp. 111-119. - <https://doi.org/10.1111/lam.12374>.

195. Jaruchoktaweechai, C. New macrolactins from a marine *Bacillus* sp. Sc026 / C. Jaruchoktaweechai, K. Suwanborirux, S. Tanasupawatt, P. Kittakoop, P. Menasveta // *Journal of natural products*. - 2000. - Vols. 63 № 7. - pp. 984-986. - <https://doi.org/10.1021/np990605c>.
196. Jasim, B. Surfactin, iturin, and fengycin biosynthesis by endophytic *Bacillus* sp. from *Bacopa monnieri* / B. Jasim, K. S. Sreelakshmi, J. Mathew, E. K. Radhakrishnan // *Microbial Ecology*. - 2016. - Vols. 72. - pp. 106-119. - <https://doi.org/10.1007/s00248-016-0753-5>.
197. Javed, A. Enterocins of *Enterococcus faecium*, emerging natural food preservatives / A. Javed, T. Masud, M. Imran, S. Maqsood // *Annals of Microbiology*. - 2011. - Vols. 61, №4. - pp. 699-708. - <https://doi.org/10.1007/s13213-011-0223-8>.
198. Józefiak, D. Carbohydrate fermentation in the avian ceca: a review / D. Józefiak, A. Rutkowski, S. A. Martin // *Animal Feed Science and Technology*. - 2004. - Vols. 113, №1-4. - pp. 1-15. - <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2003.09.007>.
199. Katoh, K. MAFFT multiple sequence alignment software version 7: improvements in performance and usability / K. Katoh, D. M. Standley // *Molecular biology and evolution*. - 2013. - Vols. 30, № 4. - pp. 772-780. - <https://doi.org/10.1093/molbev/mst010>.
200. Kenig, M. Antimicrobial activities and antagonists of bacilysin and anticapsin / M. Kenig, E. P. Abraham // *Journal of General Microbiology*. - 1976. - Vols. 94(1). - pp. 37-45. - doi: 10.1099/00221287-94-1-37.
201. Khalil, O. A. A. Optimizing rapid pentachlorophenol biodegradation using response surface methodology / O. A. A. Khalil, M. A. Omara // *Bioremediation Journal*. - 2022. - pp. 1-20. - <https://doi.org/10.1080/10889868.2022.2086528>.
202. Khan, R. U. Prospects of organic acids as safe alternative to antibiotics in broiler chickens diet / R. U. Khan, S. Naz, F. Raziq, Q. Quadratullah, N. A. Khan, V. Laudadio, M. Ragni // *Environmental Science and Pollution Research*. - 2022. - Vols. 29, №22. - pp. 32594-32604. - <https://doi.org/10.1007/s11356-022-19241-8>.
203. Kiazim, L. G. Comparative Mapping of the Macrochromosomes of Eight Avian Species Provides Further Insight into Their Phylogenetic Relationships and Avian

- Karyotype Evolution / L. G. Kiazim, R. E. O'Connor, D. M. Larkin, M. N. Romanov, V. G. Narushin, E. A. Brazhnik, D. K. Griffin // *Cells*. - 2021. - Vols. 10, №2. - p. 362. - <https://doi.org/10.3390/cells10020362>.
204. Kim, L. Structural insights into ClpP protease side exit pore-opening by a pH drop coupled with substrate hydrolysis / L. Kim, B. G. Lee, M. Kim, M. K. Kim, D. Kwon, H. Kim, H. K. Song // *The EMBO Journal*. - 2022. - Vols. 41, №13. - p. e109755. - <https://doi.org/10.15252/emboj.2021109755>.
205. Kirstein, J. The antibiotic ADEP reprogrammes ClpP, switching it from a regulated to an uncontrolled protease / J. Kirstein, A. Hoffmann, H. Lilie, R. Schmidt // *EMBO molecular medicine*. - 2009. - Vols. 1, №1. - pp. 37-49. - <https://doi.org/10.1002/emmm.200900002>.
206. Kleinheinz K. A. Applying the ResFinder and VirulenceFinder web-services for easy identification of acquired antibiotic resistance and E. coli virulence genes in bacteriophage and prophage nucleotide sequences / K. A. Kleinheinz, K. G. Joensen, M. V. Larsen // *Bacteriophage*. - 2014. - Vols. 4, №2. - p. e27943. - <https://doi.org/10.4161/bact.27943>.
207. Klumpp J. Listeria phages: Genomes, evolution, and application / J. Klumpp, M. J. Loessner // *Bacteriophage*. - 2013. - Vols. 3, №3. - p. e26861. - <https://doi.org/10.4161/bact.26861>.
208. Knerr, P. J. Discovery, biosynthesis, and engineering of lantipeptides / P. J. Knerr, W. A. Van Der Donk // *Annual review of biochemistry*. - 2012. - Vols. 81. - pp. 479-505. - <https://doi.org/10.1146/annurev-biochem-060110-113521>.
209. Kochish I. I. Features of fractal conformity and bioconsolidation in the early myogenesis gene expression and their relationship to the genetic diversity of chicken breeds / I. I. Kochish, E. A. Brazhnik, N. I. Vorobyov, M. V. Korenyuga, O. V. Myasnikova, M. N. Romanov // *Animals*. - 2023. - Vols. 13, №3. - p. 521. - <http://dx.doi.org/10.3390/ani13030521>.
210. Kochish, I. I. Unraveling signatures of chicken genetic diversity and divergent selection in breed-specific patterns of early myogenesis, nitric oxide metabolism and post-hatch growth / I. I. Kochish, V. Y. Titov, I. N. Nikonov, E. A. Brazhnik, N. I.

- Vorobyov, M. V. Korenyuga, O. V. Myasnikova, A. M. Dolgorukova, D. K. Griffin, M. N. Romanov, // *Frontiers in Genetics*. - 2022. - Vols. 13. - P. 109224. - <https://doi.org/10.3389/fgene.2022.1092242>.
211. Kodani, S. Structure and biosynthesis of scabichelin, a novel tris-hydroxamate siderophore produced by the plant pathogen *Streptomyces scabies* 87.22 / S. Kodani, J. Bicz, L. Song, R. J. Deeth, M. Ohnishi-Kameyama, M. Yoshida, G. L. Challis // *Organic & biomolecular chemistry*. - 2013. - Vols. 11, № 28. - pp. 4686-4694. - <https://doi.org/10.1039/C3OB40536B>.
212. Kopit, L. M. Safety of the Surrogate Microorganism *Enterococcus faecium* NRRL B-2354 for Use in Thermal Process Validation / L. M. Kopit, E. B. Kim, R. J. Siezen, L. J. Harris, M. L. Marco // *Applied and Environmental Microbiology*. - 2014. - Vols. 80, №6. - pp. 1899-1909. - <https://doi.org/10.1128/AEM.03859-13>.
213. Kosakowska, O. Antioxidant and antibacterial activity of roseroot (*Rhodiola rosea* L.) dry extracts / O. Kosakowska, K. Bączek, J. L. Przybył, E. Pióro-Jabrucka, W. Czupa, A. Synowiec, Z. Węglarz // *Molecules*. - 2018. - Vols. 23, №7. - p. 1767. - <https://doi.org/10.3390%2Fmolecules23071767>.
214. Landim de Barros, T. Uncontroversial facts and new perspectives on poultry histomonosis: a review / T. Landim de Barros, C. N. Vuong, G. Tellez-Isaias, B. M. Hargis // *World's Poultry Science Journal*. - 2022. - Vols. 78, №4. - pp. 913-933. - <https://doi.org/10.1080/00439339.2022.2119915>.
215. Laptev, G. Y. Effects of Essential Oils-Based Supplement and Salmonella Infection on Gene Expression, Blood Parameters, Cecal Microbiome, and Egg Production in Laying Hens / G. Y. Laptev, E. A. Yildirim, L. A. Ilina, V. A. Filippova, I. I. Kochish, E. P. Gorfunkel, A. V. Dubrovin, E. A. Brazhnik, V. G. Narushin, N. I. Novikova, O. B. Novikova, T. P. Dnyashev, V. I. Smolensky, P. F. Surai, D. K. Griffin, M. N. Romanov // *Animals*. - 2021. - Vols. 11, №2. - p. 360. - <https://doi.org/10.3390/ani11020360>.
216. Laptev, G. Y. Examination of the Expression of Immunity Genes and Bacterial Profiles in the Caecum of Growing Chickens Infected with *Salmonella* Enteritidis and Fed a Phytobiotic / G. Y. Laptev, V. A. Filippova, I. I. Kochish, E. A. Yildirim, L. A.

- Ilina, A. V. Dubrovin, E. A. Brazhnik, N. I. Novikova, O. B. Novikova, M. E. Dmitrieva, V. I. Smolensky, P. F. Surai, D. K. Griffin, M. N. Romanov // *Animals*. - 2019. - Vols. 9, №9. - p. 615. - <https://doi.org/10.3390/ani9090615>.
217. Larkina, T. A. Evolutionary Subdivision of Domestic Chickens: Implications for Local Breeds as Assessed by Phenotype and Genotype in Comparison to Commercial and Fancy Breeds / T. A. Larkina, O. Y. Barkova, G. K. Peglivanyan, O. V. Mitrofanova, N. V. Dementieva, O. I. Stanishevskaya, A. B. Vakhrameev, A. V. Makarova, Y. S. Shcherbakov, M. V. Pozovnikova, E. A. Brazhnik, D. K. Griffin, M. N. Romanov // *Agriculture*. - 2021. - Vols. 11, №10. - p. 914. - <https://doi.org/10.3390/agriculture11100914>.
218. Lawrence, J. G. Amelioration of bacterial genomes: rates of change and exchange / J. G. Lawrence, H. Ochman // *Journal of molecular evolution*. - 1997. - Vols. 44. - pp. 383-397. - <https://doi.org/10.1007/PL00006158>.
219. LeBel, G. Antimicrobial activity of nisin against the swine pathogen *Streptococcus suis* and its synergistic interaction with antibiotics / G. LeBel, F. Piché, M. Frenette, M. Gottschalk, D. Grenier // *Peptides*. - 2013. - Vols. 50. - pp. 19-23. - <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2013.09.014>.
220. Lee, M. E. Control of substrate gating and translocation into ClpP by channel residues and ClpX binding / M. E. Lee, T. A. Baker, T. A. Baker, R. T. Sauer // *Journal of molecular biology*. - 2010. - Vols. 399, № 5. - pp. 707-718. - <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2010.04.027>.
221. Leite, V. M. Genome mining of *Streptomyces* sp. BRB081 reveals the production of the antitumor pyrrolbenzodiazepine sibiromycin / V. M. Leite, L. M. Garrido, M. M. Tangerina, L. V. Costa-Lotufo, M. J. Ferreira, G. Padilla // *3 Biotech*. - 2022. - Vols. 12, №10. - p. 249. - <https://doi.org/10.1007/s13205-022-03305-0>.
222. Li, B. The effect of inulin and wheat bran on intestinal health and microbiota in the early life of broiler chickens / B. Li, J. Leblois, B. Taminiou, M. Schroyen, Y. Beckers, J. Bindelle, N. Everaert // *Poultry Science*. - 2018. - Vols. 97, №9. - pp. 3156-3165. - <https://doi.org/10.3382/ps/pey195>.

223. Lipinski, C. A. Rule of five in 2015 and beyond: Target and ligand structural limitations, ligand chemistry structure and drug discovery project decisions / C. A. Lipinski // *Advanced drug delivery reviews*. - 2016. - Vols. 101. - pp. 31-41. - <https://doi.org/10.1016/j.addr.2016.04.029>.
224. Liu, G. Combined antimicrobial effect of bacteriocins with other hurdles of physicochemic and microbiome to prolong shelf life of food: a review / G. Liu, R. Nie, Y. Liu, A. Mehmood // *Science of the Total Environment*. - 2022. - p. 154058. - <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.154058>.
225. Lloubes, R. The promoters of the genes for colicin production, release and immunity in the ColA plasmid: effects of convergent transcription and Lex A protein / R. Lloubes, D. Baly, C. Lazdunski // *Nucleic acids research*. - 1986. - Vols. 14, №6. - pp. 2621-2636. - <https://doi.org/10.1093/nar/14.6.2621>.
226. Majumdar, S. Cross-species communication in bacterial world / S. Majumdar, S. Pal // *Journal of cell communication and signaling*. - 2017. - Vols. 11. - pp. 187-190. - <https://doi.org/10.1007/s12079-017-0383-9>.
227. Makarova A. V. Molecular-genetic bases of plumage coloring in chicken / A. V. Makarova, A. B. Mitrofanova, N. V. Vakhrameev, N. V. Dementeva // *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. - 2019. - Vols. 23, №3. - pp. 343-354.
228. Malanovic, N. Antimicrobial Peptides Targeting Gram-Positive Bacteria / N. Malanovic, K. Lohner // *Pharmaceuticals*. - 2016. - Vols. 9, 59.
229. Marsal, J. I. Efecto de la adición de tres bacterias solubilizadoras de NPK en lechuga y tomate / J. I. Marsal, J. J. Cerdá, L. López-Serrano, Á. Calatayud // *XLVIII Seminario de Técnicos y Especialistas en Horticultura*. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, 2022. - pp. 221-233.
230. Martín, M. C. Antifungal activity of *Bacillus amyloliquefaciens* against *Fusarium oxysporum* f. sp. cubense race 1 / M. C. Martín, L. Leyva, M. A. Suárez, T. Pichardo, I. B. Caraballoso, Y. A. Capó // *Agronomy Mesoamerican*. - 2021. - pp. 466-478.
231. Martiny, J. B. Drivers of bacterial  $\beta$ -diversity depend on spatial scale/ J. B. Martiny, J. A. Eisen, K. Penn, S. D. Allison, M. C. Horner-Devine // *Proceedings of*

- the National Academy of Sciences. - 2011. - Vols. 108, №19. - pp. 7850-7854. - <https://doi.org/10.1073/pnas.1016308108>.
232. Mboya, E. A. Irrational use of antibiotics in the Moshi Municipality Northern Tanzania: a cross sectional study / E. A. Mboya, L. A. Sanga, J. S. Ngocho // *Pan African Medical Journal*. - 2018. - Vols. 31, №1. - <https://doi.org/10.11604/2Fpamj.2018.31.165.15991>.
233. Medvecký, M. Whole genome sequencing and function prediction of 133 gut anaerobes isolated from chicken caecum in pure cultures / M. Medvecký, D. Cejková, O. Polansky, D. Karasová, T. Kubasová, A. Cizek, I. Rychlik, // *BMC genomic*. - 2017. - Vols. 19, №1. - pp. 1-15. - <https://doi.org/10.1186/s12864-018-4959-4>.
234. Mišić, M. Human enterococcal isolates as reservoirs for macrolide-lincosamide-streptogramin and other re-sistance genes / M. Mišić, B. Kocić, A. Arsović, J. Čukić, D. Vidanović, M. Šekler, D. Baskić // *The Journal of Antibiotics*. - 2022. - Vols. 75, №7. - pp. 396-402. - <https://doi.org/10.1038/s41429-022-00532-8>.
235. Misiukiewicz, A. Methanogens and methane production in the digestive systems of nonruminant farm animals / A. Misiukiewicz, M. Gao, W. Filipiak, A. Cieslak, A. K. Patra, M. Szumacher-Strabel // *Animal*. - 2021. - Vols. 15, №1. - p. 100060. - <https://doi.org/10.1016/j.animal.2020.100060>.
236. Miyanaga, A. Protein–protein interactions in polyketide synthase–nonribosomal peptide synthetase hybrid assembly lines / A. Miyanaga, F. Kudo, T. Eguchi // *Natural product reports*. - 2018. - Vols. 35, № 11. - pp. 1185-1209.
237. Mohammadagheri, N. Effects of dietary supplementation of organic acids and phytase on performance and intestinal histomorphology of broilers / N. Mohammadagheri, R. Najafi, G. Najafi // *Veterinary Research Forum*. – Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran. - 2016. - Vols. 7, №3. - p. 189.
238. Montalbán-López M. New developments in RiPP discovery, enzymology and engineering / M. Montalbán-López, T. A. Scott, S. Ramesh, I. R. Rahman, A. J. Van Heel, J. H. Viel, W. A. Van Der Donk // *Natural Product Reports*. - 2021. - Vols. 38, № 1. - pp. 130-239. - <https://doi.org/10.1039/D0NP00027B>.

239. Mookiah, S. Effects of dietary prebiotics, probiotic and synbiotics on performance, caecal bacterial populations and caecal fermentation concentrations of broiler chickens / S. Mookiah; C. C. Sieo, K. Ramasamy, N. Abdullah, Y. W. Ho, // *Journal of the Science of Food and Agriculture*. - 2014. - Vols. 94, №2. - pp. 341-348. - <https://doi.org/10.1002/jsfa.6365>.
240. Mughini-Gras, L. Risk factors for human salmonellosis originating from pigs, cattle, broiler chickens and egg laying hens: a combined case-control and source attribution analysis / L. Mughini-Gras, R. Enserink, I. Friesema, Y. van Duynhoven, W. van Pelt // *PloS one*. - 2014. - Vols. 9, №2. - p. e87933. - <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0087933>.
241. Narh Mensah, D. L. Nonribosomal peptide synthetase gene clusters and characteristics of predicted NRPS-dependent siderophore synthetases in *Armillaria* and other species in the Physalacriaceae / D. L. Narh Mensah, B. D. Wingfield, M. Coetzee // *Current Genetics*. - 2023. - Vols. 69, №1. - pp. 7-24. - <https://doi.org/10.1007/s00294-022-01256-w>.
242. Negash, A. W. Current Applications of Bacteriocin / A. W. Negash, B. A. Tsehai // *International Journal of Microbiology*. - 2020. - <https://doi.org/10.1155%2F2020%2F4374891>.
243. Nocker, A. Genotypic microbial community profiling: a critical technical review / A. Nocker, M. Burr, A. K. Camper // *Microbial ecology*. - 2007. - Vol. 54. - pp. 276-289. - <https://doi.org/10.1007/s00248-006-9199-5>.
244. Nurk, S. Assembling genomes and mini-metagenomes from highly chimeric reads / S. Nurk, A. Bankevich, D. Antipov, A. Gurevich, A. Korobeynikov, A. Lapidus, P. A. Pevzner // *Research in Computational Molecular Biology: 17th Annual International Conference*. - Beijing, China : Springer Berlin Heidelberg, 2013. - Vols. 7821. - pp. 158-170.
245. Ortega, M. A. New insights into the biosynthetic logic of ribosomally synthesized and post-translationally modified peptide natural products / M. A. Ortega, W. A. van der Donk // *Cell Chem. Biol.*, - 2016. - Vol s. 23. - pp. 31-44. - <https://doi.org/10.1016/j.chembiol.2015.11.012>.

246. Özcengiz, G. Biochemistry, genetics and regulation of bacilysin biosynthesis and its significance more than an antibiotic / G. Özcengiz, İ. Öğülür, // *New Biotechnology*,. - 2015. - Vols. 32(6). - pp. 612-619. - doi: 10.1016/j.nbt.2015.01.006.
247. Patent № US4492650A United States, A54556 Antibiotics and process for production thereof : 1982 / Michel, K. H. and Kastner, R. E.
248. Pan, D. Intestinal microbiome of poultry and its interaction with host and diet / D. Pan, Z. Yu // *Gut microbes*. - 2014. - Vols. 51, №1. - pp. 108-119. - <https://doi.org/10.4161/gmic.26945>.
249. Patel, P. S. Bacillaene, a novel inhibitor of procaryotic protein synthesis produced by *Bacillus subtilis*: production, taxonomy, isolation, physico-chemical characterization and biological activity / P. S. Patel, S. HuANG, S. Fisher, D. Pirnik // *The Journal of antibiotics*. - 1995. - Vols. 48, №9. - pp. 997-1003. - <https://doi.org/10.7164/antibiotics.48.997>.
250. Petrosillo, N. Novel antimicrobials for the treatment of *Clostridium difficile* infection / N. Petrosillo, G. Granata, M. A. Cataldo // *Frontiers in medicine*. - 2018. - Vols. 5. - p. 96. - <https://doi.org/10.3389/fmed.2018.00096>.
251. Pham, V. H. Effect of blending encapsulated essential oils and organic acids as an antibiotic growth promoter alternative on growth performance and intestinal health in broilers with necrotic enteritis / V. H. Pham, W. Abbas, J. Huang, Q. He, W. Zhen, Y. Guo, Z. Wang // *Poultry Science*. - 2022. - Vols. 101, №1. - p. 101563. - <https://doi.org/10.1016/j.psj.2021.101563>.
252. Pi, X. Effects of live combined *Bacillus subtilis* and *Enterococcus faecium* on gut microbiota composition in C57BL/6 mice and in humans / X. Pi, W. Teng, D. Fei, G. Zhao, W. Liu // *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. - 2022. - p. 117. - <https://doi.org/10.3389/fcimb.2022.821662>.
253. Portillo, A. Macrolide resistance genes in *Enterococcus* spp. / A. Portillo, F. Ruiz-Larrea, M. Zarazaga, A. Alonso, J. L. Martinez, C. Torres // *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. - 2000. - Vols. 44, №4. - pp. 967-971. - <https://doi.org/10.1128/AAC.44.4.967-971.2000>.

254. Pride, D. T. Evolutionary implications of microbial genome tetranucleotide frequency biases / D. T. Pride, R. J. Meinersmann, T. M. Wassenaar, M. J. Blaser // *Genome research*. - 2003. - Vols. 13, №2. - pp. 145-158. - doi: 10.1101/gr.335003.
255. Prodan, A. Comparing bioinformatic pipelines for microbial 16S rRNA amplicon sequencing / A. Prodan, V. Tremaroli, H. Brolin, A. H. Zwinderman, M. Nieuwdorp, E. Levin // *PLoS One*. - 2020. - Vols. 15, №1. - p. e0227434. - <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0227434>.
256. Protti, Í. F. Do Drug-likeness Rules Apply to Oral Prodrugs? / Í. F. Protti, D. R. Rodrigues, S. K. Fonseca, R. J. Alves, R. B. de Oliveira, V. G. Maltarollo // *ChemMedChem*. - 2021. - Vols. 16, №9. - pp. 1446-1456. - <https://doi.org/10.1002/cmdc.202000805>.
257. Rangasamy, O. Screening for anti-infective properties of several medicinal plants of the Mauritian flora / O. Rangasamy, G. Raelison, F. E. Rakotoniriana, K. Cheuk, S. Urverg-Ratsimamanga, J. Quetin-Leclercq, A. H. Subratty // *Journal of Ethnopharmacology*. - 2007. - Vols. 109, №2. - pp. 331-337. - <https://doi.org/10.1016/j.jep.2006.08.002>.
258. Rantala, M. Prevention of the growth of *Salmonella infantis* in chicks by the flora of the alimentary tract of chickens / M. Rantala, E. Nurmi // *British Poultry Science*. - 1973. - Vols. 14, №6. - pp. 627-630. - <https://doi.org/10.1080/00071667308416073>.
259. Rehan, M. Production and Potential Genetic Pathways of Three Different Siderophore Types in *Streptomyces tricolor* Strain HM10 / M. Rehan, H. Barakat, I. S. Almami, K. A. Qureshi, A. S. Alsohim // *Fermentation*. - 2022. - Vols. 8, №. 8. - pp. 346. - <https://doi.org/10.3390/fermentation8080346>.
260. Reimer, J. M. Piecing together nonribosomal peptide synthesis / J. M. Reimer, A. S. Haque, M. J. Tarry, T. M. Schmeing // *Current opinion in structural biology*. - 2018. - Vol. 49. - pp. 104-113. - <https://doi.org/10.1016/j.sbi.2018.01.011>.
261. Reva, O. N. Differentiation of regions with atypical oligonucleotide composition in bacterial genomes / O. N. Reva, B. Tümmler // *BMC bioinformatics*. - 2005. - Vols. 6, №1. - pp. 1-12. - <https://doi.org/10.1186/1471-2105-6-251>.

262. Roberts, M. C. Nomenclature for macrolide and macrolide-lincosamide-streptogramin B resistance determinants / M. C. Roberts, J. Sutcliffe, P. Courvalin, L. B. Jensen, J. Rood, H. Seppala // *Antimicrobial agents and chemotherapy*. - 1999. - Vols. 43, №12. - pp. 2823-2830. - <https://doi.org/10.1128/AAC.43.12.2823>.
263. Romanov, M. N. Breed-specific patterns of early myogenesis, nitric oxide metabolism, and post-hatch growth in relation to genetic diversity and divergent selection in chickens / M. N. Romanov, I. I. Kochish, V. Y. Titov, I. N. Nikonov, E. A. Brazhnik, N. I. Vorobyov, D. K. Griffin // *Life of Genomes*. - Kazan, 2022. - p. 43. [Electronic resource] – URL: <https://kar.kent.ac.uk/99220/1/Romanov%26a2022%28Life%20of%20Genomes%20-%20abstract%201%29.pdf> (date of the application 25.08.2023).
264. Romero-Munar, A. Dual Inoculation with *Rhizophagus irregularis* and *Bacillus megaterium* Improves Maize Tolerance to Combined Drought and High Temperature Stress by Enhancing Root Hydraulics, Photosynthesis and Hormonal Responses / A. Romero-Munar, R. Aroca, A. M. Zamarreño, J. M. García-Mina, N. Perez-Hernández, J. M. Ruiz-Lozano // *International Journal of Molecular Sciences*. - 2023. - Vols. 24, №6. - p. 5193. - <https://doi.org/10.3390/ijms24065193>.
265. Rusch, K. *Mikrobiologische Therapie: Grundlagen und Praxis; mit 57 Tabellen* / K. Rusch, V. Rusch. - Georg Thieme Verlag, 2001. - pp. 156. - ISBN-10: 3830471211.
266. Rychen, G. Guidance on the assessment of the safety of feed additives for the target species / G. Rychen, G. Aquilina, G. Azimonti, V. Bampidis, M. D. L. Bastos, L. Martino // *EFSA Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed. EFSA Journal*, 2017. - Vol. 15. - p. e05021. - <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2017.5021>.
267. Rychlik, I. Composition and Function of Chicken Gut Microbiota / I. Rychlik // *Animals*. - 2020. - Vols. 10, №1. - p. 103. - <https://doi.org/10.3390/ani10010103>.
268. Saha, M. Microbial siderophores and their potential applications: a review / M. Saha, S. Sarkar, B. Sarkar, B. K. Sharma, S. Bhattacharjee, P. Tribedi // *Environmental Science and Pollution Research*. - 2016. - Vols. 23. - pp. 3984-3999.

269. Scherlach, K. Mining and unearthing hidden biosynthetic potential / K. Scherlach, C. Hertweck // *Nature Communications*. - 2021. - Vols. 12, №1. - p. 3864. - <https://doi.org/10.1038/s41467-021-24133-5>.
270. Schneider, O. Genome mining of *Streptomyces* sp. YIM 130001 isolated from lichen affords new thiopeptide antibiotic / O. Schneider, N. Simic, F. L. Aachmann, C. Rückert, K. A. Kristiansen, J. Kalinowski, S. B. Zotchev // *Frontiers in Microbiology*. - 2018. - Vols. 9. - p. 3139. - <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.03139>.
271. Schokker, D. Early life microbial colonization of the gut and intestinal development differ between genetically divergent broiler lines / D. Schokker, G. Veninga, S. A. Vastenhouw, F. M. de Bree, L. M. Kaal-Lansbergen, M. A. Smits // *BMC genomics*. - 2015. - Vols. 16, №1. - pp. 1-13. - <https://doi.org/10.1186/s12864-015-1646-6>.
272. Sergeant, M. J. Extensive microbial and functional diversity within the chicken cecal microbiome / M. J. Sergeant, C. Constantinidou, T. A. Cogan, M. R. Bedford, C. W. Penn, M. J. Pallen // *PloS one*. - 2014. - Vols. 9, №3. - p. e91941. - <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0091941>.
273. Sillanpää, J. Identification and phenotypic characterization of a second collagen adhesin, Scm, and genome-based identification and analysis of 13 other predicted MSCRAMMs, including four distinct pilus loci, in *Enterococcus faecium* / J. Sillanpää, S. R. Nallapareddy, V. P. Prakash, X. Qin, M. Hook, G. M. Weinstock, B. E. Murray // *Microbiology (Reading, England)*. - 2008. - Vols. 154, №Pt 10. - p. 3199. - <https://doi.org/10.1099/mic.0.2008.017319-0>.
274. Simons, A. Bacteriocins, Antimicrobial Peptides from Bacterial Origin: Overview of Their Biology and Their Impact against Multidrug-Resistant Bacteria / A. Simons, K. Alhanout, R. E. Duval // *Microorganisms*. - 2020. - Vols. 8, №5. - p. 639. - <https://doi.org/10.3390/microorganisms8050639>.
275. Simpson, E. H. Measurement of diversity / E. H. Simpson // *Nature*. - 1949. - Vols. 163, №4148. - pp. 688-688. - <https://doi.org/10.1038/163688a0>.
276. Singh, K. V. In vivo testing of an *Enterococcus faecalis* efaA mutant and use of efaA homologs for species identification / K. V. Singh, T. M. Coque, G. M. Weinstock,

- B. E. Murray // *FEMS Immunology & Medical Microbiology*. - 1998. - Vols. 21, №4. - pp. 323-331. - <https://doi.org/10.1111/j.1574-695X.1998.tb01180.x>.
277. Singh, K. V. Disruption of an *Enterococcus faecium* species-specific gene, a homologue of acquired macrolide resistance genes of staphylococci, is associated with an increase in macrolide susceptibility / K. V. Singh, K. Malathum, B. E. Murray // *Antimicrobial agents and chemotherapy*. - 2001. - Vols. 45, №1. - pp. 263-266. - <https://doi.org/10.1128/AAC.45.1.263-266.2001>.
278. Singh, T. A. Tapping Into Actinobacterial Genomes for Natural Product Discovery / T. A. Singh // *Frontiers in Microbiology*. - 2021. - Vols. 12. - p. 655620. - <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.655620>.
279. Su, Y. A. Nucleotide sequence of the gelatinase gene (*gelE*) from *Enterococcus faecalis* subsp. *liquefaciens* / Y. A. Su, M. C. Sulavik, P. I. N. G. He, K. K. Makinen, P. L. Makinen, S. Fiedler, D. B. Clewell // *Infection and immunity*. - 1991. - Vols. 59, №1. - pp. 415-420. - <https://doi.org/10.1128/iai.59.1.415-420.1991>.
280. Su, Y. *Bacillus subtilis*: a universal cell factory for industry, agriculture, biomaterials and medicine / Y. Su, C. Liu, H. Fang, D. Zhang // *Microbial cell factories*. - 2020. - Vols. 19, №1. - pp. 1-12. - <https://doi.org/10.1186/s12934-020-01436-8>.
281. Sun, H. Molecular analysis of intestinal bacterial microbiota of broiler chickens fed diets containing fermented cottonseed meal / H. Sun, J. W. Tang, C. L. Fang, X. H. Yao, Y. F. Wu, X. Wang, J. Feng // *Poultry Science*. - 2013. - Vols. 92, №2. - pp. 392-401. - <https://doi.org/10.3382/ps.2012-02533>.
282. Süßmuth, R. D. *Nonribosomal Peptide Synthesis—Principles and Prospects* / R. D. Süßmuth, A. Mainz // *Angewandte Chemie International Edition*. - 2017. - Vols. 56, №14. - pp. 3770-3821. - <https://doi.org/10.1002/anie.201609079>.
283. Swaggerty, C. L. A microencapsulated feed additive containing organic acids, thymol, and vanillin increases in vitro functional activity of peripheral blood leukocytes from broiler chicks / C. L. Swaggerty, H. He, K. J. Genovese, T. R. Callaway, M. H. Kogut, A. Piva, E. Grilli // *Poultry Science*. - 2020. - Vols. 99, №7. - pp. 3428-3436. - <https://doi.org/10.1016/j.psj.2020.03.031>.

284. Tadi, S. R. R. Metabolic Engineering of *Bacillus megaterium* for the Production of  $\beta$ -alanine / S. R. R. Tadi, G. Nehru, S. Sivaprakasam // *Biotechnology and Bioprocess Engineering*. - 2022. - pp. 1-12. - <https://doi.org/10.1007/s12257-022-0077-x>.
285. Theron, M.M. Organic acids and food preservation / M. M. Theron, J. R. Lues - CRC press, 2010. - pp. 340. ISBN 9780367383633.
286. Thomy, D. The ADEP biosynthetic gene cluster in *Streptomyces hawaiiensis* NRRL 15010 reveals an accessory *clpP* gene as a novel antibiotic resistance factor / D.Thomy, E. Culp, M. Adamek, E.Y.Cheng, N. Ziemert, G. D. Wright, H. Brötz-Oesterhelt // *Applied and environmental microbiology*. - 2019. - Vols. 85, №20. - pp. e01292-19. - <https://doi.org/10.1128%2FAEM.01292-19>.
287. Thoppil, R. J. Terpenoids as potential chemopreventive and therapeutic agents in liver cancer / R. J. Thoppil, A. Bishayee // *World journal of hepatology*. - 2011. - Vols. 3, №9. - p. 228.
288. Tran, C. Antimicrobial Properties of *Bacillus* Probiotics as Animal Growth Promoters // C. Tran, D. Horyanto, D. Stanley, I. E. Cock, X. Chen, Y. Feng // *Antibiotics*. - 2023. - Vols. 12, №2. - p. 407. - <https://doi.org/10.3390/antibiotics12020407>.
289. Tran, H. Role of the cyclic lipopeptide massetolide A in biological control of *Phytophthora infestans* and in colonization of tomato plants by *Pseudomonas fluorescens* / H. Tran, A. Ficke, T. Asiimwe, M. Höfte, J. M. Raaijmakers // *New Phytologist*. - 2007. - Vols. 175 № 4. - pp. 731-742.
290. Vahjen, W. Effect of the probiotic *Enterococcus faecium* NCIMB10415 on cell numbers of total *Enterococcus* spp., *E. faecium* and *E. faecalis* in the intestine of piglets / W. Vahjen, D. Taras, O. Simon // *Current Issues in Intestinal Microbiology*. - 2007. - Vols. 8, №1. - p. 1.
291. Van der Meij, A. Chemical ecology of antibiotic production by actinomycetes / A. Van der Meij, S. F. Worsley, M. I. Hutchings, G. P. van Wezel // *FEMS microbiology reviews*. - 2017. - Vols. 41, № 3. - pp. 392-416. - <https://doi.org/10.1093/femsre/fux005>.

292. Vary, P. S. Prime time for *Bacillus megaterium* / P. S. Vary // *Microbiology*. - 1994. - Vol. 140 № 5. - pp. 1001-1013.
293. Vázquez-Baeza, Y. EMPERor: a tool for visualizing high-throughput microbial community data / Y. Vázquez-Baeza, M. Pirrung, A. Gonzalez, R. Knight // *Gigascience*. - 2013. - Vols. 2, №1. - pp. 2047-217X-2-16. - <https://doi.org/10.1186/2047-217X-2-16>.
294. Vinolya, R. E. Effect of dietary supplementation of acidifiers and essential oils on growth performance and intestinal health of broiler / R. E. Vinolya, U. Balakrishnan, B. Yasir, S. Chandrasekar // *Journal of Applied Poultry Research*. - 2021. - Vols. 30, №3. - p. 100179. - <https://doi.org/10.1016/j.japr.2021.100179>.
295. Wang, L. Identification of the Paneth cells in chicken small intestine / L. Wang, J. Li, J. Li Jr, R. X. Li, C. F. Lv, S. Li, Y. L. Mi, C. Q. Zhang // *Poultry science*. - 2016. - Vols. 95, №7. - pp. 1631-1635. - <https://doi.org/10.3382/ps/pew079>.
296. Wang, M. S. 863 genomes reveal the origin and domestication of chicken / M. S. Wang, M. Thakur, M. S. Peng, Y. U. Jiang, L. A. F. Frantz, M. Li, Y. P. Zhang // *Cell research*. - 2020. - Vols. 30, №8. - pp. 693-701. - <https://doi.org/10.1038/s41422-020-0349-y>.
297. Waters, V. L. Colicin V virulence plasmids / V. L. Waters, J. H. Crosa // *Microbiological reviews*. - 1991. - Vols. 55, №3. - pp. 437-450. - <https://doi.org/10.1128/mr.55.3.437-450.1991>.
298. Wenski, S. L. Complex peptide natural products: Biosynthetic principles, challenges and opportunities for pathway engineering / S. L. Wenski, S. Thiengmag, E. J. Helfrich // *Synthetic and Systems Biotechnology*. - 2022. - Vols. 7, №1. - pp. 631-647. - <https://doi.org/10.1016/j.synbio.2022.01.007>.
299. Werner, G. The newly described *msrC* gene is not equally distributed among all isolates of *Enterococcus faecium*. / G. Werner, B. Hildebrandt, W. Witte // *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. - 2002. - Vols. 45, №12. - p. 3672. - <https://doi.org/10.1128/AAC.45.12.3672-3673.2001>.
300. Wickramasuriya, S. S. Role of Physiology, Immunity, Microbiota, and Infectious Diseases in the Gut Health of Poultry / S. S. Wickramasuriya, I. Park, K.

- Lee, Y. Lee, W. H. Kim, H. Nam, H. S. Lillehoj // *Vaccines*. - 2022. - Vols. 10, №2. - p. 172. - <https://doi.org/10.3390/vaccines10020172>.
301. Wilson, K. E. Difficidin and oxydifficidin: novel broad spectrum antibacterial antibiotics produced by *Bacillus subtilis*. II. Isolation and physico-chemical characterization / K. E. Wilson, J. E. Flor, R. E. Schwartz, H. Joshua, J. L. Smith, B. A. Pelak, O. D. Hensens // *J Antibiot*. - 1987. - Vols. 40. - pp. 1682–1691.
302. Wołejko, E. The influence of effective microorganisms (EM) and yeast on the degradation of strobilurins and carboxamides in leafy vegetables monitored by LC-MS/MS and health risk assessment / E. Wołejko, B. Łozowicka, P. Kaczyński, M. Jankowska, J. Piekut // *Environmental Monitoring and Assessment*. - 2016. - Vols. 188. - pp. 1-14. - <https://doi.org/10.1007/s10661-015-5022-4>.
303. Wu, L. Difficidin and bacilysin from *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42 have antibacterial activity against *Xanthomonas oryzae* rice pathogens / L. Wu, H. Wu, L. Chen, X. Yu, R. Borriss, X. Gao // *Sci Rep*. - 2015. - Vols. 5, 12975. - <https://doi.org/10.1038/srep12975>.
304. Xiang, H. Early Holocene chicken domestication in northern China / H. Xiang, J. Gao, B. Yu, H. Zhou, D. Cai, Y. Zhang, X. Zhao // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. - 2014. - Vols. 111, №49. - pp. 17564-1756.
305. Yadav, A. S. Exploring alternatives to antibiotics as health promoting agents in poultry-a review / A. S. Yadav, G. Kolluri, M. Gopi, K. Karthik, Y. Singh // *Journal of Experimental Biology and Agricultural Sciences*. - 2016. - Vols. 4, №3s. - pp. 368-383. - [http://dx.doi.org/10.18006/2016.4\(3S\).368.383](http://dx.doi.org/10.18006/2016.4(3S).368.383).
306. Yaqoob, M. U. The potential mechanistic insights and future implications for the effect of prebiotics on poultry performance, gut microbiome, and intestinal morphology / M. U. Yaqoob, M. E. Abd El-Hack, F. Hassan, M. T. El-Saadony, A. F. Khafaga, G. E. Batiha, M. Wang // *Poultry science*. - 2021. - Vols. 100, №7. - p. 101143. - <https://doi.org/10.1016/j.psj.2021.101143>.
307. Yeika, E. V. Comparative assessment of the prevalence, practices and factors associated with self-medication with antibiotics in Africa / E. V. Yeika, B. Ingelbeen,

B. L. Kemah, F. S. Wirsy, J. N. Fomengia, M. A. Van der Sande // *Tropical Medicine & International Health*. - 2021. - Vols. 26, №8. - pp. 862-881.

308. Yu, Y. Nosiheptide biosynthesis featuring a unique indole side ring formation on the characteristic thiopeptide framework / Y. Yu, L. Duan, Q. Zhang, R. Liao, Y. Ding, H. Pan, E. Wendt-Pienkowski, G. Tang, B. Shen, W. Liu // *ACS chemical biology*. - 2009. - Vols. 4, №10. - pp. 855–864. - <https://doi.org/10.1021/cb900133x>.

309. Yuan, J. Antibacterial compounds-macrolactin alters the soil bacterial community and abundance of the gene encoding PKS / J. Yuan, M. Zhao, R. Li, Q. Huang, C. Rensing, W. Raza, Q. Shen // *Frontiers in microbiology*. - 2016. - Vols. 7. - p. 1904. - <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01904>.

310. Zhang, X. The Effect of the Antimicrobial Peptide Plectasin on the Growth Performance, Intestinal Health, and Immune Function of Yellow-Feathered Chickens / X. Zhang, Q. Zhao, L. Wen, C. Wu, Z. Yao, Z. Yan, Q. Xie // *Frontiers in Veterinary Science*. - 2021. - Vols. 8. - p. 688611. - <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.688611>.

311. Zhang, Y. Unraveling mechanisms and epidemic characteristics of nitrofurantoin resistance in uropathogenic *Enterococcus faecium* clinical isolates / Y. Zhang, L. Wang, C. Zhou, Y. Lin, S. Liu, W. Zeng, J. Cao // *Infection and Drug Resistance*. - 2021. - Vols. 14. - pp. 1601-1611. - doi: 10.2147/IDR.S301802.

312. Zhang, R. Probiotic *Bacillus subtilis* LF11 protects intestinal epithelium against *Salmonella* infection / R. Zhang, Z. Li, X. Gu, J. Zhao, T. Guo, J. Kong // *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. - 2022. - Vols. 12. - <https://doi.org/10.3389/fcimb.2022.837886>.

313. Zhang, Z. Rapid detoxification of *Jatropha curcas* cake by fermentation with a combination of three microbial strains and characterization of their metabolic profiles / Z. Zhang, Y. Chang, M. Wen, H. Zhao, X. Chen, G. Tian, G. Jia // *Microbiology*. - 2022. - Vols. 133, №2. - pp. 743-757. - <https://doi.org/10.1111/jam.15606>.

314. Zimina, M. Overview of Global Trends in Classification, Methods of Preparation and Application of Bacteriocins / M. Zimina, O. Babich, A. Prosekov, S. Sukhikh, S. Ivanova, M. Shevchenko, S. Noskova // *Antibiotics*. - 2020. - Vols. 9, №9. - p. 553. - <https://doi.org/10.3390/antibiotics9090553>.

## **ПРИЛОЖЕНИЯ**

**Приложение А. Рецепт и качественные показатели комбикормов «Старт»  
для цыплят-бройлеров кросса «Кобб-500» (ФГБУ СГЦ «Загорское ЭПХ»  
ВНИТИП)**

Компоненты, %	Группа	
	Контрольная	Опытная
1	2	3
Пшеница	37,51	37,50
Соевый шрот	31,56	31,53
Кукуруза	20	19,99
Мука рыбная	4	4
Масло подсолнечное	3,49	3,49
Известняк	1,48	1,48
Монокальцийфосфат	0,88	0,88
Метионин	0,33	0,33
Соль	0,26	0,26
Лизина монохлоргидрат	0,17	0,17
Бленд минеральный 0,08%	0,1	0,1
Треонин	0,1	0,1
Холин хлорид	0,08	0,08
Бленд витаминный 0,02%	0,03	0,03
Фермент Фекорд	0,01	0,01
Добавка Профорт®	-	0,05
Итого	100	100
В 100 г комбикорма содержится, г		
Обменная энергия, ккал/100 г	305	
Протеин сырой	23	
Сырая клетчатка	3,72	
Жир сырой	5,59	
Сырая зола	4,42	
Лизин	1,39	
Метионин	0,69	
Метионин+Цистин	1,03	
Треонин	0,93	
Триптофан	0,29	
Аргинин	1,43	
Лизин усвояемый	1,23	
Метионин усвояемый	0,65	
Метионин+Цистин усвояемый	0,93	
Треонин усвояемый	0,81	
Триптофан усвояемый	0,25	
Аргинин усвояемый	1,21	

1	2	3
Са	1	
Фосфор общий	0,68	
Фосфор усвояемый	0,4	
Na	0,16	
К	0,88	
Линолевая кислота	2,99	
Хлор	0,26	

**Приложение Б. Рецепт и качественные показатели комбикормов «Финиш»  
для цыплят-бройлеров кросса «Кобб-500» (ФГБУ СГЦ «Загорское ЭПХ»  
ВНИТИП)**

Компоненты, %	Группа	
	Контрольная	Опытная
1	2	3
Пшеница	37,09	37,09
Соевый шрот	27,22	27,19
Кукуруза	20	19,99
Масло подсолнечное	6,55	6,55
Шрот подсолнечный	3,6	3,6
Мука рыбная	2	2
Известняк	1,35	1,35
Монокальцийфосфат	1,08	1,08
Соль	0,31	0,31
Метионин	0,3	0,3
Лизина монохлоргидрат	0,2	0,2
Бленд минеральный 0,08%	0,1	0,1
Треонин	0,08	0,07
Холин хлорид	0,08	0,08
Бленд витаминный 0,02%	0,03	0,03
Фермент Фекорд	0,01	0,01
Добавка Профорт®	-	0,05
Итого	100	100
В 100 г комбикорма содержится, г		
Обменная энергия, ккал/100 г	320	
Протеин сырой	21	
Сырая клетчатка	4	
Жир сырой	8,5	
Сырая зола	4,31	
Лизин	1,24	
Метионин	0,63	

1	2	3
Метионин+Цистин		0,94
Треонин		0,83
Триптофан		0,27
Аргинин		1,31
Лизин усв.		1,09
Метионин усв.		0,58
Метионин+Цистин усвояемый		0,84
Треонин усвояемый		0,71
Триптофан усвояемый		0,22
Аргинин усвояемый		1,11
Са		0,9
Фосфор общий		0,69
Фосфор усвояемый		0,4
Na		0,16
К		0,82
Линолевая кислота		4,79
Хлор		0,28

**Приложение В. Рецепт и качественные показатели комбикормов «Старт»  
для цыплят-бройлеров кросса «Смена 8» (ФНЦ ВНИТИП РАН)**

Компоненты, %	Группа	
	Контрольная	Опытная
1	2	3
Пшеница	37,51	37,46
Соевый шрот	31,56	31,53
Кукуруза	20	19,98
Мука рыбная	4	4
Масло подсолнечное	3,49	3,49
Известняк	1,48	1,48
Монокальцийфосфат	0,88	0,88
Метионин	0,33	0,33
Соль	0,26	0,26
Лизина монохлоргидрат	0,17	0,17
Бленд минеральный 0,08%	0,1	0,1
Треонин	0,1	0,1
Холин хлорид	0,08	0,08
Бленд витаминный 0,02%	0,03	0,03
Фермент Фекорд	0,01	0,01

1	2	3
Добавка Пробиоцид®-Ультра	-	0,1
Итого	100	100
Стоимость рациона, руб./т	26851,57	27124,44
В 100 г комбикорма содержится, г		
Обменная энергия, ккал/100 г		305
Протеин сырой		23
Сырая клетчатка		3,72
Жир сырой		5,59
Сырая зола		4,42
Лизин		1,39
Метионин		0,69
Метионин+Цистин		1,03
Треонин		0,93
Триптофан		0,29
Аргинин		1,43
Лизин усвояемый		1,23
Метионин усвояемый		0,65
Метионин+Цистин усвояемый		0,93
Треонин усвояемый		0,81
Триптофан усвояемый		0,25
Аргинин усвояемый		1,21
Са		1
Фосфор общий		0,68
Фосфор усвояемый		0,4
Na		0,16
К		0,88
Линолевая кислота		2,99
Хлор		0,26

**Приложение Г. Рецепт и качественные показатели комбикормов «Финиш»  
для цыплят-бройлеров кросса «Смена 8» (ФНЦ ВНИТИП РАН)**

Компоненты, %	Группа	
	Контрольная	Опытная
1	2	3
Пшеница	37,09	37,06
Соевый шрот	27,22	27,19
Кукуруза	20	19,98
Масло подсолнечное	6,55	6,54
Шрот подсолнечный	3,6	3,6
Мука рыбная	2	2
Известняк	1,35	1,35
Монокальцийфосфат	1,08	1,08
Соль	0,31	0,31
Метионин	0,3	0,3
Лизина монохлоргидрат	0,2	0,2
Бленд минеральный 0,08%	0,1	0,1
Треонин	0,08	0,07
Холин хлорид	0,08	0,08
Бленд витаминный 0,02%	0,03	0,03
Фермент Фекорд	0,01	0,01
Добавка Пробиоцид®-Ультра	-	0,1
Итого	100,0	100
Стоимость рациона, руб./т	25115,10	25389,71
В 100 г комбикорма содержится, г		
Обменная энергия, ккал/100 г	320	
Протеин сырой	21	
Сырая клетчатка	4	
Жир сырой	8,5	
Сырая зола	4,31	
Лизин	1,24	
Метионин	0,63	
Метионин+Цистин	0,94	
Треонин	0,83	
Триптофан	0,27	
Аргинин	1,31	
Лизин усвояемый	1,09	
Метионин усвояемый	0,58	
Метионин+Цистин усвояемый	0,84	
Треонин усвояемый	0,71	
Триптофан усвояемый	0,22	
Аргинин усвояемый	1,11	

1	2	3
Са		0,9
Фосфор общий		0,69
Фосфор усвояемый		0,4
Na		0,16
К		0,82
Линолевая кислота		4,79
Хлор		0,28

**Приложение Д. Качественные показатели комбикормов для  
цыплят-бройлеров кросса «Кобб-500» (ОАО «Птицефабрика Зеленецкая»)**

Ингредиенты, %	Возраст содержания, дни	
	1-21	22-41
В 100 г комбикорма содержится, г		
Обменная энергия, ккал	310,00	320,0
Сухое вещество	89,92	89,77
Сырой протеин	23,00	21,00
Сырой жир	7,81	9,55
Сырая клетчатка	4,00	4,00
Сырая зола	5,78	5,62
Кальций	1,00	0,90
Фосфор общий	0,70	0,70
Фосфор доступный	0,40	0,40
Натрий	0,20	0,20
Хлор	0,26	0,20
Калий	0,71	0,79
Лизин	1,36	1,25
Метионин	0,62	0,56
Метионин + цистин	0,98	0,90
Треонин	0,91	0,83
Триптофан	0,28	0,27