

На правах рукописи

Дудник Дина Евгеньевна

**БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ ПОТЕНЦИАЛ ШТАММОВ
BACILLUS SPP. И *LACTIPLANTIBACILLUS SPP.* И
РАЗРАБОТКА БИОЛОГИЧЕСКОГО ПРЕПАРАТА НА ИХ
ОСНОВЕ**

1.5.6 – биотехнология

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Кольцово – 2026

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Алтайский государственный университет»

Научный руководитель: **Ирkitова Алёна Николаевна**, кандидат биологических наук, доцент, директор Инжинирингового центра «Промбиотех» Федерального государственного образовательного учреждения высшего образования «Алтайский государственный университет»

Официальные оппоненты: **Франк Юлия Александровна**, доктор биологических наук, доцент, профессор кафедры ихтиологии, гидробиологии и водной экологии Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Национальный исследовательский Томский государственный университет»

Батаева Юлия Викторовна, доктор биологических наук, доцент, профессор кафедры биотехнологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева»

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Астраханский государственный технический университет»

Защита состоится «27» ноября 2026 г. в 9:00 на заседании диссертационного совета 64.1.001.01 при Федеральном бюджетном учреждении науки Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по адресу: 630559, р.п. Кольцово, Новосибирской области, тел. 8(383) 363-47-00.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора <http://www.vector.nsc.ru>

Автореферат разослан « » 20__ г.

Ученый секретарь
диссертационного совета
доктор биологических наук, доцент

Т.Н. Ильичева

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования и степень ее разработанности. Здоровье и продуктивность сельскохозяйственных животных напрямую зависит от санитарно-гигиенического состояния помещения, в котором они содержатся. Важным показателем санитарного фона помещения является его микробная обсемененность. На поверхностях помещения и в подстилке распространены бактерии группы кишечных палочек, бактерии рода *Staphylococcus*, спорообразующие бактерии рода *Clostridium*, вызывающие инфекционные заболевания пищеварительной, дыхательной, выделительной и половой систем животных (De Cesare et al., 2019; Новиков и др., 2025). Высокая численность микроорганизмов в животноводческих комплексах обеспечивается большой плотностью животных, содержащихся в ограниченном пространстве. Также повышенная обсемененность достигается за счет наличия избытка питательных субстратов (фекалии, частицы кормов и покровов животных) и разных типов поверхностей (Chatelet et al., 2018; Новиков и др., 2025). Чрезмерная контаминация внутренней среды помещения патогенными и условно-патогенными микроорганизмами увеличивает нагрузку на иммунную систему животных и, как следствие, ведет к большей подверженности риску инфекционных заболеваний (Великанов и др., 2005; Томских и др., 2023).

Основным способом коррекции микробного фона в животноводстве является химическая дезинфекция. Однако, несмотря на долгую историю использования химических дезинфектантов, они имеют существенные недостатки: токсичность, аккумуляирование в окружающей среде, влияние на распространение антибиотикорезистентности (Hora et al., 2020; Bakht et al., 2022; Peyneau et al., 2022). Поэтому их применение для профилактической обработки помещений не всегда оправдано. В качестве альтернативного способа снижения обсеменённости помещений и подстилки патогенной микрофлорой выступает использование биологических препаратов на основе микроорганизмов, обладающих биоконтрольными свойствами. Микробные препараты для коррекции микрофлоры помещений направлены на вытеснение патогенных бактерий и грибов на обрабатываемых участках. При этом на поверхностях формируется стабильная, заселенная непатогенными микроорганизмами среда, препятствующая быстрой повторной контаминации (Guéneau et al., 2022; Leistner et al., 2023).

Исследователи отмечают положительные результаты при использовании биологических средств коррекции микрофлоры в хозяйствах, занимающихся разведением КРС, свиней и бройлеров (De Беззубов и др., 2012; Cesare et al., 2019; Guéneau et al., 2022; Reynolds et al., 2025). К тому же установлено, что микробные препараты благоприятно сказываются на показателях продуктивности животных (Беззубов и др., 2009).

Препараты для коррекции микрофлоры появляются на рынке в начале XXI в. Первые средства были выпущены бельгийской компанией Chrisal. В настоящее время на рынке представлены преимущественно препараты зарубежных производителей (Бельгия, Украина, США, Франция). В России также выпускаются биологические средства на основе микроорганизмов для санации помещений, например, биопрепарат для дезинфекции жилых помещений и уничтожения въевшихся запаховTM (BioSide), ЭМ-ВитаTM (ООО «Приморский ЭМ-Центр») и Санвит-КTM (ООО «НТЦ БИО»).

Современным мировым трендом является переход к экологически чистому сельскому хозяйству с внедрением биологических средств для защиты и повышения продуктивности животных. В России также прогнозируется рост органического производства и, следовательно, возрастет потребность в биологических препаратах для животноводства. Разработка новых микробных препаратов, а также ротация штаммов в уже существующих, требует поиска высокоактивных штаммов-антагонистов, способных закрепляться в среде животноводческих помещений, и при этом, безопасных и нетоксичных для животных, человека и окружающей среды. Таким образом, выделение и изучение биотехнологических свойств новых штаммов, обладающих высокой биологической активностью и проявляющих антагонизм в отношении инфекционных агентов сельскохозяйственных животных, является перспективным направлением исследований.

Цель исследования: Изучение биотехнологического потенциала штаммов *Bacillus* spp. и *Lactiplantibacillus* spp., разработка биологического препарата на их основе и оценка его эффективности.

Задачи исследования:

1. Выделить новые штаммы из природных и антропогенных источников.
2. Провести скрининг штаммов, обладающих выраженной антагонистической активностью в отношении возбудителей инфекционных заболеваний животных, и определить их биосовместимость.

3. Оценить безопасность и биотехнологические свойства штаммов *Bacillus* spp. и *Lactiplantibacillus* spp.

4. Разработать технологию получения биологического препарата на основе штаммов *Bacillus* spp. и *Lactiplantibacillus* spp.

5. Определить эффективность полученного прототипа биологического препарата в лабораторных и промышленных условиях.

6. Оценить влияние прототипа биологического препарата на показатели продуктивности телят.

Научная новизна работы

1. В работе впервые описаны новые штаммы *Bacillus* spp. и *Lactiplantibacillus* spp., изолированные из природных и антропогенных биотопов. Оценена их антагонистическая активность в отношении бактерий и грибов, вызывающих инфекционные заболевания человека и животных.

2. Впервые для штаммов *B. atrophaeus* RCAM06423, *B. subtilis* RCAM06733, *L. plantarum* B-14828, *L. plantarum* B-14829 и *L. paraplantarum* B-14830 проведен анализ биохимических свойств и их метаболомных профилей. Значимость штаммов подтверждена патентами РФ (Пат. РФ № 2821008, Пат. РФ № 2859479).

3. Разработана, теоретически и практически обоснована технология производства нового многостаммового биологического препарата для санации животноводческих помещений и подстилки.

4. Впервые показана эффективность полученного прототипа препарата в условиях телятника: отмечено снижение количества патогенных микроорганизмов в телятнике и зафиксировано увеличение среднесуточного привеса телят на 10,34 и 18,75% по сравнению с контролем при обработке помещения прототипом препарата.

Практическая значимость работы

1. Результаты исследования расширяют знания о морфолого-культуральных, физиологических и биохимических свойствах, а также биотехнологических возможностях штаммов *Bacillus* spp. и *Lactiplantibacillus* spp. Полученные данные могут быть использованы практикующими микробиологами и биотехнологами, сотрудниками животноводческих предприятий при проведении санитарно-ветеринарных мероприятий.

2. Российские коллекции микроорганизмов (ВКСМ, ВКПМ, ГКПМ-Оболensk) пополнены новыми штаммами бактерий. В ВКСМ депонированы 3 штамма: *B. atrophaeus* RCAM06422, *B. atrophaeus* RCAM06423, *B. subtilis* RCAM06733. В ВКПМ депонированы 5 штаммов: *B. atrophaeus* B-14827, *B. safensis* B-14826, *L. plantarum* B-14828, *L.*

plantarum B-14829, *L. paraplantarum* B-14830. В ГКПМ-Оболенинск депонированы 7 штаммов: *B. safensis* B-16922, *B. safensis* B-16923, *B. safensis* B-16915, *B. safensis* B-16920, *B. safensis* B-16916, *B. subtilis* B-16924, *B. subtilis* B-16919.

3. Разработанный в рамках диссертационной работы прототип многоштаммового биологического препарата на основе двух штаммов *Bacillus* spp. и трёх штаммов *Lactiplantibacillus* spp. для санации животноводческих помещений и подстилки прошел испытания в Племенном заводе «Комсомольское» – филиале ФГБНУ ФАНЦА отделение №2 в пос. Урожайный Павловского района Алтайского края в 2025 г (приложение А). Показана эффективность препарата в качестве средства для коррекции микробного фона телятника. Установлено положительное влияние препарата на среднесуточный привес телят. Сформирована нормативно-техническая документация на производство опытных партий препарата: Технологические условия (ТУ 10.89.19.290-008-02067818-2026, приказ ректора «Алтайский государственный университет» №123/П от 04.02.2026); Технологическая инструкция (приказ ректора «Алтайский государственный университет» №122/П от 04.02.2026).

4. Материалы диссертационного исследования использованы в ходе научных практик, а также на лабораторных занятиях студентов Алтайского государственного университета по дисциплинам «Микробиология и вирусология» и «Промышленная биотехнология», а также при выполнении плановых НИР в ИЦ «Промбиотех» АлтГУ.

Положения, выносимые на защиту

1. Из природных и антропогенных источников выделено и описано 25 новых штаммов, пять из которых (*B. atrophaeus* 7, *B. subtilis* 1/8, *L. plantarum* ЛВ, *L. plantarum* М и *L. paraplantarum* 8Б) перспективны для разработки биологических препаратов для животноводства на основании их антагонистической активности к патогенным и условно-патогенным микроорганизмам (*Escherichia coli*, *Citrobacter freundii*, *Serratia marcescens*, *Staphylococcus aureus*, *St. xylosus*, *St. epidermidis*, *St. gallinarum*, *St. lentus*, *Candida albicans*, *Geotrichum* spp.), биохимических свойств, метаболомного профиля и безопасности.

2. Оптимальная технология получения биологического препарата для санации животноводческих помещений и подстилки: ферментация в виде двух ко-культур из двух штаммов *Bacillus* spp. и трёх штаммов *Lactiplantibacillus* spp. при температуре 30 °С и продолжительности ферментации 24 ч; смешивание культуральных жидкостей ко-культур в соотношении 1:1. Разработанная технология позволяет достичь в жидкой

форме препарата максимального количества живых микроорганизмов: споровых бактерий не менее 1×10^9 КОЕ/мл и лактобактерий не менее 1×10^9 КОЕ/мл.

3. Прототип биологического препарата обладает биоконтрольными свойствами в отношении бактерий группы кишечных палочек, бактерий рода *Staphylococcus*, дрожжей и плесеней, а также увеличивает среднесуточный привес телят.

Методология и методы исследования. В работе использовались методы теоретического (анализ, сравнение) и эмпирического (эксперимент) исследований. При выделении и изучении свойств штаммов, а также получении прототипа препарата и оценке его эффективности применяли современные методы микробиологических, биохимических и биотехнологических исследований. Достоверность полученных результатов подтверждена методами статистической обработки.

Степень достоверности и апробация результатов. Работа выполнена на базе ИЦ «Промбиотех» и кафедре экологии, биохимии и биотехнологии АлтГУ в период 2018–2026 гг. Достоверность результатов исследований подтверждается их воспроизводимостью и согласованностью с описанными в современной научной литературе результатами других исследователей.

Результаты исследования были представлены и обсуждены на XVI Международной научно-практической конференции «Пища. Экология. Качество», г. Барнаул, 24–26 июня 2019 г.; VII Региональной молодежной конференции «Мой выбор – НАУКА!», г. Барнаул, 17–27 апреля 2019 г.; X международной научно-практической конференции «Биотехнология: наука и практика», г. Алушта, 12–16 сентября 2022 г.; XI международной научно-практической конференции «Биотехнология: наука и практика», п. Новомихайловский, 11–14 сентября 2023 г.; IV Российском микробиологическом конгрессе, г. Томск, 24–29 сентября 2023 г.; III Международной конференции «Сохранение и преумножение генетических ресурсов микроорганизмов», г. Санкт-Петербург, 8–10 июля 2024 г.; IV Международном биотехнологическом форуме «BIOAsia–Altai 2024», г. Барнаул, 23–28 сентября 2024 г.; IV Международной конференции «Сохранение и преумножение генетических ресурсов микроорганизмов», г. Санкт-Петербург, 30 июня – 2 июля 2025 г.; V Российском микробиологическом конгрессе, г. Волгоград, 29 сентября – 3 октября 2025 г.

Личный вклад автора. Все представленные в работе экспериментальные данные получены автором лично или при его

непосредственном участии. Некоторые разделы выполнены совместно с к.б.н. Иркитовой А.Н., к.б.н. Малковой А.В., к.б.н. Евдокимовым И.Ю., Ширмановым М.В., Кожевниковой Е.Н., Лапшиной Н.В., Корсык Л.Н., Басовым Н.В. и Хлоповой К.В.

Публикации по материалам исследования

По материалам диссертации опубликовано 18 работ, в том числе: 5 публикаций в изданиях, рекомендованных ВАК Министерства науки и высшего образования РФ, 3 тезиса в сборниках научных конференций и 2 патента РФ.

Структура и объем диссертации. Работа изложена на 158 страницах машинописного текста, состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, результатов и их обсуждения, заключения, выводов и списка использованной литературы, включающего 330 источников, в том числе 255 – на иностранном языке. Работа содержит 28 рисунков, 25 таблиц и 8 приложений.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Обзор литературы

В данной главе представлены сведения о микрофлоре животноводческих помещений и факторах, определяющих ее качественный и количественный состав. Описаны основные современные технологии модуляции микробных сообществ в животноводческих комплексах, в том числе биологические.

Материалы и методы

Материалы исследования. Объектами исследования являлись 17 штаммов бактерий рода *Bacillus* и 8 штаммов семейства *Lactobacillaceae* из коллекции ИЦ «Промбиотех» АлтГУ.

В качестве тест-культур использовались штаммы бактерий семейства *Enterobacteriaceae* (9 штаммов) и рода *Staphylococcus* (5 штаммов), а также штаммы грибов родов *Candida* (2 штамма) и *Geotrichum* (5 штаммов).

При проведении промышленных испытаний прототипа биологического препарата объектом исследования были новорожденные телята черно-пестрой породы. Возраст животных на момент начала эксперимента 1–2 дня. Испытания проводили в ПЗ «Комсомольское» в пос. Урожайный Павловского района Алтайского края.

Методы исследования. Исследование антагонистической активности, биосовместимости, биохимических характеристик и безопасности штаммов проводили методами классической микробиологии и биохимии.

Исследование метаболома штаммов было проведено на базе ФГАОУ ВО «Новосибирского национального исследовательского государственного университета» под руководством Басова Н.В. Экзометаболомный анализ проводился методом ВЭЖХ с tandemной масспектрометрической детекцией. Скрининг метаболитов штаммов проводили по 489 соединениям.

Острую токсичность супернатантов штаммов *Bacillus* spp. исследовали на базе ФБУН ГНЦ ПМБ, г. Оболенск под руководством Хлоповой К.В. на мышинной модели. Заражение проводили однократно внутрибрюшинной инъекцией в объеме 500 мкл. Наблюдение за животными проводили в течение 7 дней.

Опытную партию биологического препарата получали путем культивирования штаммов в 15 л ферментере (ООО «Сторге», г. Санкт-Петербург). Доля посевного материала составляла 10% от объема среды. Условия культивирования штаммов *Bacillus* spp.: 18–26 ч, 30 °C, 250 об/мин, концентрации растворенного кислорода 50%. Для штаммов *Lactiplantibacillus* spp. ферментацию вели 18–26 ч при 30 °C, 250 об/мин без подачи кислорода.

Срок хранения определяли при воздействии разных температур (+4 °C, +25 °C) и добавлении консервантов (0,3% аскорбиновой кислоты, 10% NaCl, 10% глицерина). Длительность хранения составляла 6 мес.

При испытании прототипа биологического препарата в животноводческом комплексе обработку опытного участка осуществляли путем орошения. Расход препарата составлял 75–80 мл/м². Обработку проводили двукратно перед размещением животных. В процессе содержания телят обработку осуществляли 3 раза с интервалом в 2 недели. В течении эксперимента определяли динамику микробиологических показателей: общая микробная обсемененность, бактерии группы кишечных палочек (БГКП), стафилококки, дрожжи и плесень. Количественный учет разных групп микроорганизмов проводили путем посева смывов с пола, клеток и подстилок на агаризованные среды и дальнейшего подсчета колоний. Для телят в течение эксперимента проводили оценку их среднесуточного прироста массы тела.

Статистическую обработку данных, полученных в исследовании, проводили с помощью программы Microsoft Excel 2016. Достоверность различий между опытной и контрольной группами определяли с помощью t-критерия Стьюдента. Статистически значимыми считали результаты при $p < 0,05$.

Результаты исследований и их обсуждение

Выделение и скрининг антагонистической активности штаммов *Bacillus* spp. На начальном этапе исследования из природных и антропогенных источников было выделено 17 штаммов бацилл. Первичную идентификацию штаммов проводили с помощью биохимических тест-систем.

Для разработки прототипа биологического препарата был проведен скрининг новых штаммов *Bacillus* по критерию выраженной антагонистической активности к БГКП, бактериям р. *Staphylococcus*, грибам *Candida albicans* и *Geotrichum* spp. Для оценки антагонистической активности использовали бальную систему. Полученные результаты представлены на рисунке 1.

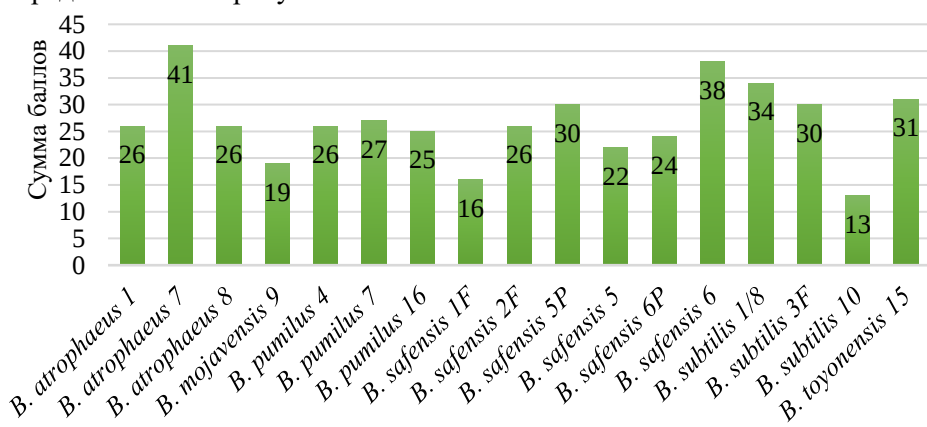


Рисунок 1 – Баллы штаммов *Bacillus* spp. по результатам скрининга антимикробной активности

В соответствии с данными, представленными на рисунке 1, наибольшие баллы получили штаммы *B. atrophaeus* 7 (41 балл), *B. safensis* 6 (38 баллов) и *B. subtilis* 1/8 (34 балла). Эти штаммы были использованы для разработки биологического препарата как обладающие выраженной антагонистической активностью. Для них была проведена видовая идентификация с помощью тест-системы и анализа генов 16S РНК. Штаммы *B. atrophaeus* 7 и *B. subtilis* 1/8 были депонированы в ВКСМ, а штамм *B. safensis* 6 – в ВКПМ.

Выделение и скрининг антагонистической активности штаммов *Lactobacillus* spp. Для исследования было выделено 8 штаммов лактобактерий. Идентификацию штаммов проводили на основании морфолого-культуральных признаков согласно определителю Берджи.

Скрининг антагонистической активности осуществляли в отношении БГКП, бактерий р. *Staphylococcus*, грибов *Candida albicans* и

Geotrichum spp. Итоговая сумма баллов всех штаммов лактобацилл, подсчитанная на основании их способности ингибировать тест-культуры, представлена на рисунке 2.

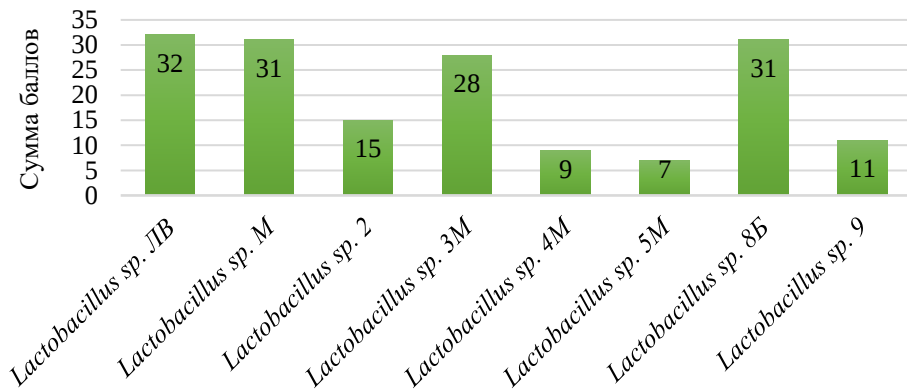


Рисунок 2 – Баллы штаммов *Lactobacillus* spp. по результатам скрининга антимикробной активности

Наибольшие суммы баллов были отмечены для штаммов *Lactobacillus* ЛВ (32 балла), *Lactobacillus* М (31 балл) и *Lactobacillus* sp.8Б (31 балл). Эти штаммы были идентифицированы по 16S РНК как виды *Lactiplantibacillus plantarum* ЛВ, *L. plantarum* М и *L. paraplantarum* 8Б, депонированы в ВКПМ и использованы для дальнейших исследований.

Биосовместимость. Отобранные на основании антагонизма штаммы *B. safensis* 6, *B. atrophaeus* 7, *B. subtilis* 1/8, *L. plantarum* ЛВ, *L. plantarum* М и *L. paraplantarum* 8Б проверяли на биосовместимость. В результате установили, что только штаммы *B. atrophaeus* 7, *B. subtilis* 1/8, *L. plantarum* ЛВ, *L. plantarum* М и *L. paraplantarum* 8Б способны к совместному культивированию и не угнетают рост друг друга. Рост штамма *B. safensis* 6 ингибировался остальными штаммами бацилл и всеми штаммами лактобацилл.

Ценные биотехнологические свойства штаммов. Для штаммов, отобранных на первых этапах исследования, провели многофункциональный биотехнологический скрининг.

Установили, что штаммы *Bacillus* spp. способны метаболизировать широкий спектр субстратов, включая арабинозу, целлобиозу, маннит, маннозу, сорбит, трегалозу, цитрат и ортонитрофенил-β-D-галактопиранозид. Штаммы *Lactiplantibacillus* spp. метаболизировали арабинозу, галактозу, глюкозу, фруктозу, маннозу, маннит, сорбит, целлобиозу, мальтозу, сахарозу, трегалозу и рафинозу.

При изучении биохимических профилей исследуемых штаммов, обнаружили продукцию метаболитов, обладающих антибактериальной и антифунгальной активностями. При анализе ферментативной активности выявили, что все исследуемые штаммы продуцируют внеклеточные целлюлазы, а штаммы *Bacillus* spp. также амилазы, протеазы и хитиназы. Помимо этого, для всех штаммов *Bacillus* spp. и *Lactiplantibacillus* spp. установлена сурфактационная активность – продукция биологических ПАВ. Значительное накопление молочной кислоты (12,73–14,70 г/л) в процессе культивирования отмечено для штаммов *Lactiplantibacillus* spp.

В результате скрининга экзометаболитов установили, продукцию 75 соединений штаммом *B. atropheus* 7 и 71 соединения штаммом *B. subtilis* 1/8. При этом 34 синтезируемых метаболита были одинаковыми для обоих штаммов. Качественная характеристика продуцируемых соединений представлена на рисунке 3.

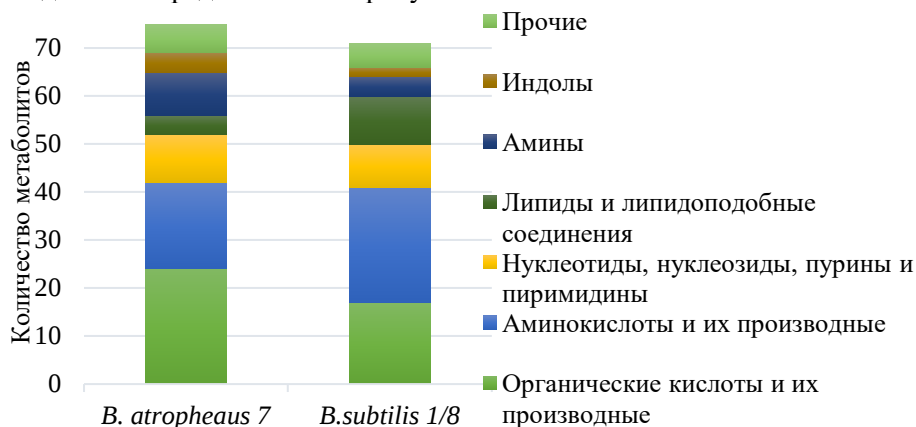


Рисунок 3 – Основные классы соединений, продуцируемых штаммами *Bacillus* spp.

В культуральной жидкости штаммов *Bacillus* spp. отмечены метаболиты с терапевтическими и пробиотическими свойствами. Штаммы продуцировали витамины группы В, дофамин, ацетилхолин, N-ацетилсерин, антранилат, метилцистеин, гуанидоуксусную, 2-гидрокси-3-метилмасляную, 4-гидроксифенилуксусную, салицилуровую, 4-гидроксифенилмолочную, фенилмолочную, 2-изопропилмалоновую, гомованилиновую и азелаиновую кислоты.

Анализ экзометаболитов из супернатантов *Lactiplantibacillus* spp. выявил синтез 40 соединений для штамма *L. plantarum* ЛВ, 60 соединений для штамма *L. plantarum* М и 55 – для *L. paraplantarum* 8Б. Среди продуцируемых метаболитов 23 соединения были общими для

всех штаммов *Lactiplantibacillus* spp. Основные группы соединений, обнаруженные в культуральной жидкости штаммов *Lactiplantibacillus* spp., представлены на рисунке 4.

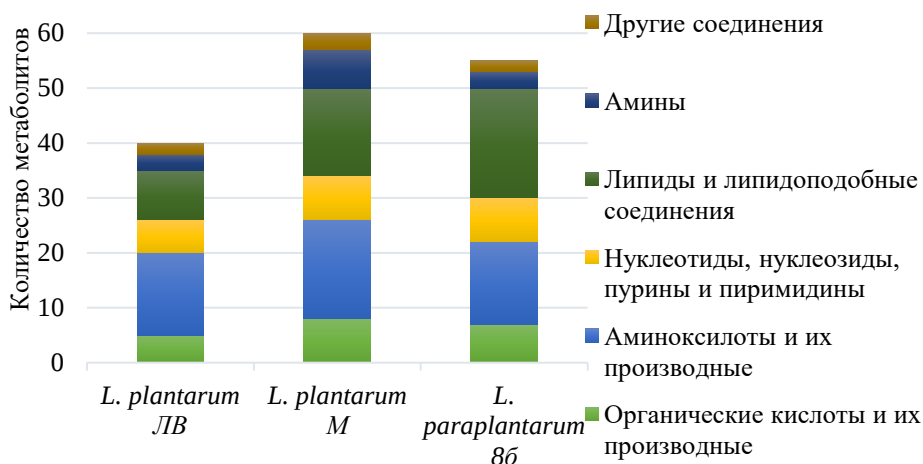


Рисунок 4 – Основные классы соединений, продуцируемые штаммами *Lactiplantibacillus* spp.

Штаммы *Lactiplantibacillus* spp. при культивировании накапливали в среде соединения с пробиотическими свойствами. В частности, штаммы синтезировали, такие соединения как ацетилхолин, N-ацетил спермидин, аргинин, глицин, N-ацетилсерин, молочную, фенилмолочную, 4-гидроксифенилмолочную, 2-гидрокси-3-метилмасляную, 2-изопропилмалоновую, гуанидоуксусную, арахидоновую и докозагексаеновую кислоты.

При оценке биологической безопасности установили, что оба штамма *Bacillus* spp. не обладают лецитиназной и фосфатазной активностями, а штамм *B. atrophaeus* 7 также не обладал гемолитической активностью. При исследовании токсичности супернатантов штаммов на мышинной модели не было зафиксировано летальности в опытных группах при введении однократной дозы 500 мкл.

Анализ антибиотикорезистентности штаммов *Bacillus* spp. выявил устойчивость только к бензилпенициллину. К действию исследованных тетрациклинов, аминогликозидов, амфениколов, макролидов и хинолонов оба штамма были чувствительны.

Штаммы *Lactiplantibacillus* spp. исследовали только на наличие фенотипической устойчивости к разным группам антибиотиков. Все штаммы были устойчивы к бензилпенициллину, стрептомицину, канамицину, неомицину и энрофлоксацину. Чувствительность для

штаммов *Lactiplantibacillus* spp. отмечена в отношении тетрациклина, доксициллина, ампициллина, левомицетина и тилозина.

Подбор условий культивирования. Для разработки биологического препарата проводили подбор оптимальных условий культивирования для штаммов *Bacillus* spp. и *Lactiplantibacillus* spp. Определяли оптимальные температуру и продолжительность культивирования на ферментационных питательных средах.

Наибольшая численность микроорганизмов зафиксирована после 24 ч роста для штамма *B. atrophaeus* 7 при температурах культивирования 30 °C и 37 °C, а для штамма *B. subtilis* 1/8 – при температуре 30 °C. Увеличение продолжительности ферментации не позволило достичь достоверно большей концентрации клеток для обоих штаммов.

Штаммы *Lactiplantibacillus* spp. развивали наибольшую численность за 24 ч культивирования при температурах культивирования 30 °C и 37 °C. Увеличение продолжительности инкубации негативно сказывалось на количестве жизнеспособных клеток штаммов не зависимо от выбранной температуры.

На основе полученных данных был сделан вывод, что оптимальными для штаммов является культивирование при 30 °C в течение 24 ч.

С целью повышения рентабельности производства разрабатываемого биологического препарата оценивали возможность совместного культивирования штаммов. Результаты исследования представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Итоговые показатели культивирования штаммов *Lactiplantibacillus* spp. и *Bacillus* spp. при совместном и раздельном культивировании ($M \pm m$, $n=3$)

Культивируемые штаммы	Итоговое значение pH	Численность <i>Lactiplantibacillus</i> spp., КОЕ/мл	Численность <i>Bacillus</i> spp., КОЕ/мл
1	2	3	4
<i>B. atrophaeus</i> 7	6,86 $\pm$ 0,38	-	6,17($\pm$ 0,13) $\times 10^8$
<i>B. subtilis</i> 1/8	7,24 $\pm$ 0,26	-	1,48($\pm$ 0,28) $\times 10^9$
<i>L. paraplantarum</i> 8Б	4,26 $\pm$ 0,04	5,37($\pm$ 0,23) $\times 10^9$	-
<i>L. plantarum</i> М	4,41 $\pm$ 0,05	4,47($\pm$ 0,24) $\times 10^9$	-
<i>L. plantarum</i> ЛВ	4,44 $\pm$ 0,04	4,07($\pm$ 0,36) $\times 10^9$	-
<i>B. atrophaeus</i> 7 <i>B. subtilis</i> 1/8	7,00 $\pm$ 0,23	-	3,80($\pm$ 0,33) $\times 10^9$
<i>L. paraplantarum</i> 8Б <i>L. plantarum</i> М <i>L. plantarum</i> ЛВ	4,43 $\pm$ 0,04	1,82($\pm$ 0,15) $\times 10^9$	-

Окончание таблицы 1

1	2	3	4
<i>B. atrophaeus</i> 7 <i>B. subtilis</i> 1/8 <i>L. paraplantarum</i> 8Б <i>L. plantarum</i> М <i>L. plantarum</i> ЛВ	6,80±0,13	4,07(±0,32)×10 ⁹	7,41(±0,36)×10 ⁷

Согласно полученным результатам штаммы бацилл не угнетали друг на друга. Максимальный титр споровых микроорганизмов был достигнут при совместном культивировании штаммов. Между штаммами *Lactiplantibacillus* spp. также не было установлено антагонистического действия. Совместное культивирование всех штаммов отрицательно сказалось на росте бацилл.

Таким образом, для глубинного культивирования в ферментере как наиболее оптимальные были выбраны два варианта ко-культур: из двух штаммов *Bacillus* spp. и трёх штаммов *Lactiplantibacillus* spp.

Культивирование в 15 л ферментере. Для получения опытной партии биологического препарата проводили культивирование штаммов в 15 л ферментере. Посевной материал получали путем раздельного выращивания всех штаммов. Активный рост концентрации клеток отмечали после 2 ч ферментации у обоих ко-культур. К концу ферментации обе культуры находились в стационарной фазе роста. Динамика роста культур *Bacillus* spp. и *Lactiplantibacillus* spp. представлена на рисунке 5.

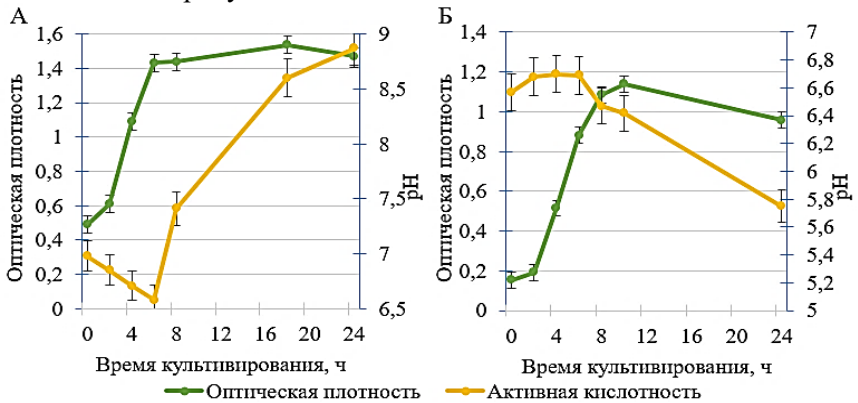


Рисунок 5 – Динамика оптической плотности и активной кислотности среды в процессе ферментации ко-культур в 15 л биореакторе: А – ко-культура штаммов *Bacillus* spp.; Б – ко-культура штаммов *Lactiplantibacillus* spp.

Готовый препарат получали путем смешивания культуральных жидкостей ко-культур в соотношении 1:1. Численность споровых

бактерий в препарате составила $1,15(\pm 0,19) \times 10^9$ КОЕ/мл, а лактобактерий $3,72(\pm 0,51) \times 10^9$ КОЕ/мл.

Определение сроков хранения прототипа биопрепарата. Тестовое хранение прототипа препарата осуществляли при температурах +4 °C и +25 °C с дополнительным внесением консервантов и без них. В итоге на конец срока хранения максимальная численность штаммов *Bacillus* spp. установлена при температуре хранения +4 °C в образцах без консервантов ($1,07(\pm 0,18) \times 10^9$ КОЕ/мл) и с добавлением консерванта глицерина ($1,20(\pm 0,12) \times 10^9$ КОЕ/мл). Максимальный титр *Lactiplantibacillus* spp. через 6 месяцев составил $1,99(\pm 0,13) \times 10^8$ КОЕ/мл в контрольном образце при температуре хранения +4 °C. Таким образом, рекомендуемый срок хранения 6 месяцев при температуре +4 °C без дополнительного внесения стабилизаторов.

Характеристика готового прототипа биологического препарата. Разработанный прототип биопрепарата представлен в виде жидкости темно-коричневого цвета с запахом специфичным для компонентов питательных сред (меласса, кукурузный экстракт). При хранении возможно образование осадка. Титр микроорганизмов в готовом препарате не менее 1×10^9 КОЕ/мл.

На производство опытных партий препарата была сформирована нормативно-техническая документация: Технологические условия (ТУ 10.89.19.290-008-02067818-2026, приказ ректора «Алтайский государственный университет» №123/П от 04.02.2026); Технологическая инструкция (приказ ректора «Алтайский государственный университет» №122/П от 04.02.2026)

Определение эффективности прототипа биологического препарата. Эффективность прототипа биологического препарата оценивали в лабораторных и промышленных условиях. В лабораторных условиях биоконтрольные свойства проверяли на тест-поверхностях из бетона, оцинкованной стали и облицовочной плитки. По результатам испытаний установили достоверное ($p < 0,05$) снижение количества жизнеспособных клеток *E. coli*, *St. aureus* и *C. albicans* на всех поверхностях, обработанных биопрепаратом по сравнению с контрольными поверхностями.

В ходе испытаний прототипа препарата в животноводческом комплексе выявили, что обработка помещения не оказывала значимого влияния на численность мезофильных микроорганизмов. Рост общей численности в опытном участке относительно контрольного отмечен только в конце эксперимента для поверхности пола и прутьев клеток (таблица 2).

Таблица 2 – Динамика численности мезофильных аэробных и факультативно анаэробных микроорганизмов в телятнике ($M \pm m$, $n=4$)

Период содержа ния, недели	Клетки		Пол		Подстилка	
	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт
	Численность микроорганизмов, КОЕ/м ²				Численность микроорганизмов, КОЕ/г	
0	8,03 ($\pm 1,77$) $\times 10^4$	6,42 ($\pm 1,88$) $\times 10^4$	3,82 ($\pm 1,09$) $\times 10^4$	1,11 ($\pm 0,22$) $\times 10^4$	8,54 ($\pm 2,07$) $\times 10^6$	8,54 ($\pm 2,07$) $\times 10^6$
2	3,71 ($\pm 0,52$) $\times 10^4$	3,82 ($\pm 0,74$) $\times 10^4$	6,14 ($\pm 1,73$) $\times 10^4$	3,35 ($\pm 1,01$) $\times 10^4$	2,40 ($\pm 0,66$) $\times 10^8$	1,65 ($\pm 0,45$) $\times 10^9$ *
4	3,27 ($\pm 0,94$) $\times 10^4$	2,89 ($\pm 0,65$) $\times 10^4$	1,11 ($\pm 0,25$) $\times 10^5$	6,78 ($\pm 1,42$) $\times 10^4$	2,38 ($\pm 0,68$) $\times 10^9$	1,54 ($\pm 0,31$) $\times 10^9$
6	5,54 ($\pm 0,66$) $\times 10^4$	2,67 ($\pm 0,55$) $\times 10^5$ *	1,11 ($\pm 0,18$) $\times 10^5$	9,48 ($\pm 1,08$) $\times 10^4$	3,86 ($\pm 0,96$) $\times 10^9$	5,55 ($\pm 0,90$) $\times 10^9$
8	3,09 ($\pm 0,24$) $\times 10^4$	6,74 ($\pm 1,08$) $\times 10^4$ *	3,47 ($\pm 0,97$) $\times 10^4$	8,96 ($\pm 1,81$) $\times 10^4$ *	5,75 ($\pm 0,99$) $\times 10^9$	5,40 ($\pm 0,68$) $\times 10^9$

* - статистически достоверное различие численности микроорганизмов между опытным и контрольным участками, $p < 0,05$

Обработка прототипом препарата позволила снизить численность БГКП на прутьях клеток на 76,74–95,36% и на 60,36–81,67% на поверхности пола. На поверхностях клеток положительная динамика отмечена с первого использования препарата. А на поверхности пола снижение численности энтеробактерий зафиксировано после трёхкратной обработки. На количество БГКП в подстилке прототип не оказал значительного влияния (таблица 3).

Таблица 3 – Динамика численности бактерий группы кишечных палочек в телятнике ($M \pm m$, $n=4$)

Период содержа ния, недели	Клетки		Пол		Подстилка	
	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт
	Численность микроорганизмов, КОЕ/м ²				Численность микроорганизмов, КОЕ/г	
1	2	3	4	5	6	7
0	1,61 ($\pm 0,33$) $\times 10^2$	1,25 ($\pm 0,25$) $\times 10^2$	3,07 ($\pm 0,30$) $\times 10^2$	3,07 ($\pm 0,77$) $\times 10^2$	9,04 ($\pm 0,87$) $\times 10^2$	9,04 ($\pm 0,87$) $\times 10^2$

Окончание таблицы 3

1	2	3	4	5	6	7
2	3,71 ($\pm 0,49$) $\times 10^3$	4,53 ($\pm 0,63$) $\times 10^{2*}$	2,07 ($\pm 0,18$) $\times 10^2$	3,04 ($\pm 0,21$) $\times 10^2$	1,21 ($\pm 0,25$) $\times 10^8$	3,55 ($\pm 0,48$) $\times 10^{7*}$
4	3,30 ($\pm 0,38$) $\times 10^3$	1,53 ($\pm 0,29$) $\times 10^{2*}$	4,21 ($\pm 0,70$) $\times 10^2$	6,39 ($\pm 0,60$) $\times 10^2$	1,31 ($\pm 0,29$) $\times 10^8$	9,75 ($\pm 0,50$) $\times 10^{7*}$
6	1,23 ($\pm 0,27$) $\times 10^2$	1,00 ($\pm 0,13$) $\times 10^2$	4,39 ($\pm 0,69$) $\times 10^2$	1,74 ($\pm 0,25$) $\times 10^{2*}$	9,73 ($\pm 0,54$) $\times 10^7$	4,35 ($\pm 0,53$) $\times 10^{7*}$
8	6,62 ($\pm 0,88$) $\times 10^2$	1,54 ($\pm 0,28$) $\times 10^{2*}$	2,52 ($\pm 0,28$) $\times 10^2$	46,2 ($\pm 0,30$) *	6,67 ($\pm 0,77$) $\times 10^7$	2,07 ($\pm 0,54$) $\times 10^{7*}$

* - статистически достоверное различие численности микроорганизмов между опытным и контрольным участками, $p < 0,05$

Численность бактерий р. *Staphylococcus* на поверхностях клеток в течение всего периода эксперимента не имела достоверных различий между опытным и контрольным участками. На поверхности пола количество бактерий р. *Staphylococcus* в опытном участке начиная с 4-й недели эксперимента на 76,37–89,18% ниже чем в контрольном. Для подстилки достоверное различие численности бактерий между опытным и контрольным участками отмечено только в конце эксперимента (таблица 4).

Таблица 4 – Динамика численности стафилококков в телятнике ($M \pm m$, $n=4$)

Период содержа ния, недели	Клетки		Пол		Подстилка	
	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт
	Численность микроорганизмов, КОЕ/м ²				Численность микроорганизмов, КОЕ/г	
1	2	3	4	5	6	7
0	2,82 ($\pm 0,48$) $\times 10^3$	1,19 ($\pm 0,20$) $\times 10^3$	3,23 ($\pm 0,45$) $\times 10^3$	1,41 ($\pm 0,27$) $\times 10^3$	2,52 ($\pm 0,25$) $\times 10^3$	2,52 ($\pm 0,25$) $\times 10^3$
2	1,59 ($\pm 0,39$) $\times 10^3$	1,35 ($\pm 0,35$) $\times 10^3$	4,55 ($\pm 0,24$) $\times 10^3$	5,01 ($\pm 0,95$) $\times 10^3$	3,27 ($\pm 0,32$) $\times 10^6$	3,15 ($\pm 0,38$) $\times 10^6$
4	3,71 ($\pm 1,09$) $\times 10^3$	3,41 ($\pm 0,30$) $\times 10^3$	1,13 ($\pm 0,25$) $\times 10^4$	2,67 ($\pm 0,48$) $\times 10^{3*}$	5,54 ($\pm 0,82$) $\times 10^7$	4,58 ($\pm 1,27$) $\times 10^7$

Окончание таблицы 4

1	2	3	4	5	6	7
6	4,48 ($\pm 0,83$) $\times 10^3$	4,93 ($\pm 0,95$) $\times 10^3$	1,33 ($\pm 0,27$) $\times 10^4$	2,55 ($\pm 0,65$) $\times 10^{3*}$	1,36 ($\pm 0,15$) $\times 10^8$	7,25 ($\pm 0,46$) $\times 10^{7*}$
8	7,42 ($\pm 1,93$) $\times 10^3$	3,25 ($\pm 0,32$) $\times 10^{3*}$	1,71 ($\pm 0,29$) $\times 10^4$	1,85 ($\pm 0,34$) $\times 10^{3*}$	1,73 ($\pm 0,19$) $\times 10^8$	2,00 ($\pm 0,27$) $\times 10^{7*}$

* - статистически достоверное различие численности микроорганизмов между опытным и контрольным участками, $p < 0,05$

Снижение количества жизнеспособных клеток грибов наблюдали на поверхностях опытного участка начиная с 6 недели эксперимента. Так численность дрожжей и плесеней на поверхностях клеток и пола была ниже контроля на 85,33–94,01% и 64,72–70,68% соответственно. Для подстилки также отмечали положительную динамику: на 6-й и 8-й неделях численность дрожжей и плесеней в подстилке опытного участка было на 84,81 и 84,79% ниже численности этих микроорганизмов в подстилке контрольного участка (таблица 5).

Таблица 5 – Динамика численности дрожжей и плесеней в телятнике ($M \pm m$, $n=4$)

Период содержа ния, недели	Клетки		Пол		Подстилка	
	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт
	Численность микроорганизмов, КОЕ/м ²				Численность микроорганизмов, КОЕ/г	
0	5,56 ($\pm 0,95$) $\times 10^2$	5,66 ($\pm 0,77$) $\times 10^2$	5,25 ($\pm 1,11$) $\times 10^2$	4,58 ($\pm 0,58$) $\times 10^2$	3,62 ($\pm 0,48$) $\times 10^5$	3,62 ($\pm 0,48$) $\times 10^5$
2	6,10 ($\pm 0,58$) $\times 10^2$	4,86 ($\pm 0,45$) $\times 10^2$	1,36 ($\pm 0,36$) $\times 10^3$	1,27 ($\pm 0,29$) $\times 10^3$	1,23 ($\pm 0,29$) $\times 10^6$	5,59 ($\pm 0,40$) $\times 10^5$
4	2,41 ($\pm 0,33$) $\times 10^3$	4,67 ($\pm 0,15$) $\times 10^3$	3,79 ($\pm 0,26$) $\times 10^3$	2,42 ($\pm 0,15$) $\times 10^3$	1,34 ($\pm 0,22$) $\times 10^6$	1,36 ($\pm 0,36$) $\times 10^6$
6	8,45 ($\pm 0,54$) $\times 10^3$	1,24 ($\pm 0,21$) $\times 10^{3*}$	4,44 ($\pm 0,44$) $\times 10^3$	1,29 ($\pm 0,24$) $\times 10^{3*}$	1,54 ($\pm 0,37$) $\times 10^7$	2,34 ($\pm 0,35$) $\times 10^{6*}$
8	2,62 ($\pm 0,30$) $\times 10^3$	1,57 ($\pm 0,38$) $\times 10^{2*}$	1,23 ($\pm 0,37$) $\times 10^3$	4,34 ($\pm 0,50$) $\times 10^{2*}$	5,91 ($\pm 0,67$) $\times 10^6$	8,99 ($\pm 0,86$) $\times 10^{5*}$

* - статистически достоверное различие численности микроорганизмов между опытным и контрольным участками, $p < 0,05$

В ходе проведения эксперимента оценивали среднесуточный привес теля в опытном и контрольном участках. В результате было показано, что среднесуточные привесы телят в октябре и ноябре в опытной группе превышали привесы контрольной группы на 10,34 и 18,75% соответственно. Однако в сентябре и декабре этот показатель не имел значимых различий у телят в обеих группах. Вероятно, это связано со стрессом, вызванным сменой условий содержания в эти периоды (рисунок 6).

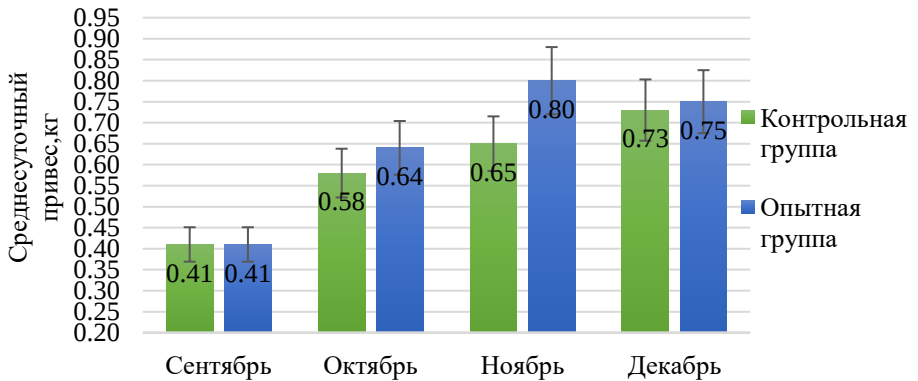


Рисунок 6 – Среднесуточные привесы телят в течение эксперимента

Также следует отметить, что в течение эксперимента ни в одной из групп не было зафиксировано падежа или вспышек инфекционных заболеваний.

Таким образом, была показана эффективность прототипа биологического препарата как средства биоконтроля патогенной микрофлоры в условиях животноводческого предприятия. Зафиксировано снижение численности БГКП, бактерий р. *Staphylococcus*, дрожжей и плесеней на поверхностях помещения и в подстилке. Также, установлено увеличение среднесуточных привесов в опытной группе.

ВЫВОДЫ

1. Из природных и антропогенных источников выделено 17 новых штаммов *Bacillus* spp. и 8 штаммов бактерий семейства *Lactobacillaceae*. Штаммы *B. atrophaeus* 7 (RCAM06423, Пат. РФ № 2821008) и *B. subtilis* 1/8 (RCAM06733, Пат. РФ № 2859479) депонированы в Коллекции культур сельскохозяйственных микроорганизмов и запатентованы Федеральном институте промышленной собственности. Штаммы *L. plantarum* ЛВ (В-14828), *L. plantarum* М (В-14829) и *L. paraplantarum* 8Б (В-14830) депонированы во Всероссийской коллекции промышленных микроорганизмов.

2. Штаммы *B. atrophaeus* 7 и *B. subtilis* 1/8 обладают выраженной антагонистической активностью по отношению к *E. coli*, *C. freundii*, *S. marcescens*, *St. aureus*, *St. xylosus*, *St. epidermidis*, *St. gallinarum*, *St. lentus* и грибов *C. albicans*, *Geotrichum* sp., а штаммы *L. plantarum* ЛБ, *L. plantarum* М и *L. paraplantarum* 8Б ингибируют рост *E. coli*, *C. freundii*, *S. marcescens*, *St. aureus*, *St. xylosus*, *St. epidermidis*, *St. gallinarum*, *St. lentus* и грибов *Geotrichum* sp.

3. Штаммы *B. atrophaeus* 7, *B. subtilis* 1/8, *L. plantarum* ЛБ, *L. plantarum* М и *L. paraplantarum* 8Б биосовместимы.

4. Охарактеризован биотехнологический потенциал штаммов:

а) все отобранные штаммы продуцируют внеклеточные соединения с антимикробной активностью: штаммы *B. atrophaeus* 7 и *B. subtilis* 1/8 – амилазы, протеазы, целлюлазы, хитиназы и бисурфактанты, а штаммы *L. plantarum* ЛБ, *L. plantarum* М и *L. paraplantarum* 8Б – целлюлазы, биосурфактанты и молочную кислоту;

б) метаболомный профиль штамма *B. atrophaeus* 7 включает 75 соединений, а для штамма *B. subtilis* 1/8 – 71, из которых 34 метаболита обнаружены в культуральной жидкости обоих штаммов; штамм *L. plantarum* ЛБ продуцировали 40 соединений, штамм *L. plantarum* М – 60 соединений, штамм *L. paraplantarum* 8Б – 55 соединений, при этом 23 экзометаболита были общими для всех штаммов *Lactiplantibacillus* spp.;

в) все штаммы выделяют экзометаболиты с терапевтическими и пробиотическими свойствами: метаболитный профиль штаммов *Bacillus* spp. включает 1-метилникотинамид, N-ацетилсерин, дофамин, пантотеновую, гуанидоуксусную, 4-гидроксифенилмолочную и гомованилиновую кислоты, при этом уникальными метаболитами штамма *B. atrophaeus* 7 являются пиридоксаль, дезоксиинозин, простагландин J2, антранилат, N-ацетил спермидин, ацетилхолин, 2-гидрокси-3-метилмасляная, 4-гидроксифенилуксусная, салицилуровая, фенилмолочная и 2-изопропилмалоновая кислоты, а уникальными метаболитами штамма *B. subtilis* 1/8 – никотинамид, метилцистеин и азелаиновая кислота; штаммы *Lactiplantibacillus* spp. продуцировали ацетилхолин, N-ацетил спермидин, глицин, молочную, фенилмолочную и 4-гидроксифенилмолочную кислоты, при этом уникальными для метаболомов штаммов *L. plantarum* были аргинин, гидрокси-3-метилмасляная, 2-изопропилмалоновая и гуанидоуксусная кислоты, а для штамма *L. plantarum* М – арахионовая и докозагексаеновая кислоты;

г) штаммы *Bacillus* spp. и *Lactiplantibacillus* spp. безопасны и нетоксичны: при однократном введении супернатантов штаммов *B. atrophaeus* 7 и *B. subtilis* 1/8 мышам не выявлено летальных случаев;

штаммы *Bacillus* spp. чувствительны к действию доксицилина, ампициллина, канамицина, стрептомицина, левомицетина, тилозина, энрофлоксацина, а штаммы *Lactiplantibacillus* spp. к действию доксицилина, ампициллина и левомицетина.

5. Разработана технология и оптимальные условия производства биологического препарата для коррекции микрофлоры животноводческих помещений в жидкой форме: посевная среда – L бульон, основная ферментационная среда – ФБ, температура культивирования – 30 °С; продолжительность роста 24 ч, совместное культивирование в виде ко-культуры из 2 штаммов *Bacillus* spp.; посевная среда – MRS бульон, основная ферментационная среда – ФЛ, температура культивирования – 30 °С; продолжительность роста 24 ч, совместное культивирование в виде ко-культуры из 3 штаммов *Lactiplantibacillus* spp. Готовый препарат представляет собой жидкость темно-коричневого цвета, численность бактерий *Bacillus* spp. не менее $1,00 \times 10^9$ КОЕ/мл и не менее $1,00 \times 10^9$ КОЕ/мл лактобактерий.

6. Определена эффективность прототипа биологического препарата в лабораторных и промышленных условиях:

а) в лабораторных условиях обработка препаратом тест-поверхностей, контаминированных условно-патогенными микроорганизмами, позволила снизить численность *E. coli* на 71,86–97,43%, численность *St. aureus* на 73,68–95,27% и численность *C. albicans* на 96,86–99,67% за 48 ч;

б) в условиях телятника разработанный прототип препарата улучшал санитарный фон: численность бактерий группы кишечных палочек на поверхностях клеток и пола уменьшилась на 76,74–95,36%, в подстилке на 25,57–70,66%; количество бактерий р. *Staphylococcus* сократилось на 76,37–89,18% на полу и на 46,69–88,44% в подстилке; численность дрожжей и плесневых грибов снизилась на 84,79–84,81% в подстилке и на 85,33–94,01% и 64,72–70,68% на поверхностях клеток и пола соответственно.

7. Санация помещения и подстилки прототипом биологического препарата положительно повлияла на среднесуточный привес телят: установлено его повышение на 10,34 и 18,75% по сравнению с контрольной группой.

БЛАГОДАРНОСТИ

Автор выражает искреннюю благодарность научному руководителю к.б.н. Иркитовой А.Н. за помощь и поддержку при проведении исследований. Также автор выражает благодарность сотрудникам ИЦ «Промбиотех» к.б.н. Малковой А.В., к.б.н. Евдокимову

И.Ю., Ширманову М.В., Кожевниковой Е.Н. и Лапшиной Н.В. за помощь в осуществлении экспериментов. Автор выражает благодарность Басову Н.В. за помощь в проведении метаболомного анализа штаммов и Хлоповой К.В. за помощь в исследовании безопасности штаммов. Автор признателен главному ветеринарному врачу ПЗ «Комсомольское» Корсык Л.Н. за возможность проведения промышленных испытаний разработанного прототипа биологического препарата.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Публикации в научных изданиях, рекомендованных ВАК

1. Евдокимов, И.Ю. Выбор оптимальной питательной среды для глубинного культивирования природных штаммов *Bacillus toyonensis* b-13249 и *Bacillus pumilus* в-13250 / И.Ю. Евдокимов, А.Н. Иркитова, М.В. Ширманов, А.В. Малкова, **Д.Е. Дудник**, Е.Н. Каргашилова // Вестник биотехнологии и физико-химической биологии им. Ю.А. Овчинникова. – 2023. – Т. 19. – № 3. – С. 54–63.

2. **Дудник, Д.Е.** Влияние разных источников углерода на продукцию биосурфактантов природными штаммами *Bacillus* spp. / **Д.Е. Дудник**, А.Н. Иркитова, А.В. Малкова, Е.Н. Кожевникова // Вестник НГАУ (Новосибирский государственный аграрный университет). – 2025. – № 2. – С. 152–159. DOI: 10.31677/2072-6724-2025-75-2-152-159.

3. Irkitova, A.N. A natural bacterial strain *Bacillus pumilus* 16: Identification and antibiotic resistance evaluation / A.N. Irkitova, A.V. Malkova, **D.E. Dudnik** // Acta Biologica Sibirica. – 2021. – Vol. 7. – P. 391–406. – DOI: 10.3897/abs.7.e78412.

4. Иркитова, А.Н. Оценка биобезопасности природных штаммов *Bacillus* spp., обладающих ценными биотехнологическими свойствами / А.Н. Иркитова, **Д.Е. Дудник**, А.В. Малкова, К.В. Хлопова // Siberian Journal of Life Sciences and Agriculture. – 2025. – Т. 17. – № 3. – С. 188–207. – DOI: 10.12731/2658-6649-2025-17-3-1186.

5. Zatolotskaya, Y.A. Pathway-Weighted Multidimensional Scaling in Exometabolomic Profiling of *Lactiplantibacillus plantarum* Strains by LC–MS/MS / Y.A. Zatolotskaya, **D.E. Dudnik**, A.S. Titenko [et al.] // J Anal Chem. – 2025. – Vol. 80. – P. 2247–2256. DOI: 10.1134/S106193482670005X.

Публикации в других изданиях

1. **Дудник, Д.Е.** Выделение и идентификация ризосферных штаммов *Bacillus* sp. / **Д.Е. Дудник**, А.Н. Иркитова // Труды молодых ученых Алтайского государственного университета. – 2019. – № 16. – С. 6–9.

2. Функ, И.А. Антагонистическая активность штаммов *Bacillus pumilus*, перспективных для включения в состав пробиотического препарата для животных / И.А. Функ, А.Н. Иркитова, А.В. Гребенщикова, **Д.Е. Дудник** // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. – 2019. – № 12(182). – С. 126–130.

3. Орлова, Т.Н. Изучение антибиотикочувствительности нового ризосферного штамма *Bacillus pumilus* В-13250 для возможности использования его в составе пробиотических препаратов для животноводства / Т.Н. Орлова, А.Н. Иркитова, А.В. Гребенщикова, **Д.Е. Дудник** // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. – 2020. – № 1(183). – С. 111–115.

4. Малкова, А.В. Разработка пробиотика для животных и аквакультуры на основе штаммов *Bacillus toyonensis* В-13249 и *Bacillus pumilus* В-13250 / А.В. Малкова, И.Ю. Евдокимов, М.В. Ширманов, А.Н. Иркитова, **Д.Е. Дудник** // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. – 2021. – Т. 11. – № 3(38). – С. 393–402. – DOI: 10.21285/2227-2925-2021-11-3-393-402.

5. **Дудник, Д.Е.** Изучение свойств новых штаммов *Bacillus* sp., перспективных для использования в сельском хозяйстве / Д. Е. Дудник // Актуальная биотехнология. – 2022. – № 1. – С. 177–178.

6. Евдокимов, И.Ю. Влияние уровня pH на показатели глубинного культивирования пробиотических штаммов *Bacillus* / И.Ю. Евдокимов, А.Н. Иркитова, А.В. Малкова, **Д.Е. Дудник**, М.В. Ширманов // Ползуновский вестник. – 2023. – № 1. С. 29–36. DOI: 10.25712/ASTU.2072-8921.2023.01.004.

7. **Дудник, Д.Е.** Отбор штаммов *Bacillus* spp. Для создания биологического препарата для животноводства / Д.Е. Дудник, А.В. Малкова, Е.Н. Каргашилова // Актуальная биотехнология. – 2023. – № 1. – С. 16–18. – DOI 10.20914/2304-4691-2023-1-16-18.

8. Затолоцкая Ю.А. Экзометаболическое исследование штаммов *Lactiplantibacillus plantarum* методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с tandemной масс-спектрометрической детекцией с применением взвешенного многомерного масштабирования на основе метаболических путей / Ю.А. Затолоцкая, **Д.Е. Дудник**, А.С. Титенко [и др.] // Масс-спектрометрия. – 2025. – Т. 22. – № 3. – С. 164–175. DOI: 10.25703/MS.2025.22.18.

Публикации в сборниках научных конференций

1. **Дудник, Д.Е.** Применение тест-систем для идентификации и изучения природных штаммов *Bacillus* sp. / **Д.Е. Дудник**, А.Н. Иркитова, А.В. Гребенщикова // Пища. Экология. Качество: Сборник материалов

XVI Международной научно-практической конференции, Барнаул, 24–26 июня 2019 года. Том 1. – Барнаул: Алтайский государственный университет, 2019. – С. 243–246.

2. Дудник, Д.Е. Фунгицидная активность природных штаммов *Bacillus* spp в отношении патогенных грибов *Candida albicans* / Д.Е. Дудник, А.Н. Иркитова, А.В. Малкова, Е.Н. Каргашилова // Фундаментальные и прикладные аспекты микробиологии в науке и образовании: Материалы II международной научно-практической конференции, Рязань, 30 мая 2023 года. – Рязань: Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова, 2023. – С. 13–15.

3. Дудник, Д.Е. Оценка биосовместимости штаммов *Bacillus* spp. и *Lactobacillus* spp / Д.Е. Дудник, А.Н. Иркитова, А.В. Малкова, Е.Н. Кожевникова // BIOAsia Altai 2024: Материалы IV Международного биотехнологического форума, Барнаул, 23–28 сентября 2024 года. – Барнаул: Алтайский государственный университет, 2024. – С. 76–79.

Патенты

1. Патент № 2821008 Российская Федерация, МПК C12N 1/20 (2006.01). Штамм бактерий *Bacillus atrophaeus* RCAM06423, проявляющий антагонизм по отношению к микроорганизмам *Candida albicans*, *Serratia marcescens*, *Salmonella enterica*, *Citrobacter freundii*, *Shigella* spp., *Staphylococcus* spp., *Escherichia coli* и обладающий амилалитической активностью: № 2023131233: заявл. 27.11.2023; опубл. 14.06.2024 / Д.Е. Дудник, А.В. Малкова, Е.Н. Каргашилова, А.Н. Иркитова, И.Ю. Евдокимов, М.В. Ширманов; заявитель, патентообладатель ФГБОУ ВО «Алтайский государственный университет». – 8 с.

2. Патент № 2859479 Российская Федерация МПК C12N 1/00 (2006.01). Штамм бактерий *Bacillus subtilis* RCAM06733, обладающий способностью к продукции биосурфактантов и проявляющий антагонизм по отношению к микроорганизмам *Candida albicans*, *Staphylococcus* spp. и *Escherichia coli*: № 2024128305: заявл. 24.09.2024; опубл. 03.04.2026 / Д.Е. Дудник, А.Н. Иркитова, А.В. Малкова, Е.Н. Кожевникова, И.Ю. Евдокимов, М.В. Ширманов; заявитель, патентообладатель ФГБОУ ВО «Алтайский государственный университет». – 10 с.