

МРНТИ 62.13.27: 68.41.35: 62.13.15  
УДК 579.246.4: 579.62: 57.083.1  
[https://doi.org/10.52269/22266070\\_2024\\_3\\_3](https://doi.org/10.52269/22266070_2024_3_3)

## ВЛИЯНИЕ УРОВНЯ РАСТВОРЕННОГО КИСЛОРОДА НА СПОРООБРАЗОВАНИЕ *B. SUBTILIS* ПРИ ГЛУБИННОМ КУЛЬТИВИРОВАНИИ В БИОРЕАКТОРЕ

*Турсынбаев Н.С.\* – обучающийся докторантуры по специальности «8D09101» – Ветеринарная медицина, научный сотрудник, ТОО Научно-производственное предприятие «Антиген», с. Абай, Республика Казахстан.*

*Ахметсадыков Н.Н. – доктор ветеринарных наук, профессор, Генеральный директор ТОО Научно-производственное предприятие «Антиген», с. Абай, Республика Казахстан.*

*Крыкбаев Е.А. – обучающийся докторантуры по специальности «8D09101» – Ветеринарная медицина, старший научный сотрудник, ТОО Научно-производственное предприятие «Антиген», с. Абай, Республика Казахстан.*

*Хусаинов Д.М. – кандидат ветеринарных наук, ассоциированный профессор, старший научный сотрудник, ТОО Научно-производственное предприятие «Антиген», с. Абай, Республика Казахстан.*

В данной статье отражены результаты исследований по оценке влияния уровня растворенного кислорода на спорообразование *B. Subtilis* при глубинном культивировании в биореакторе. Эксперименты проводились с использованием статических и динамических показателей уровня растворенного кислорода. Результаты проведенных исследований показали, что изменение оксигенации среды оказывает существенное влияние на кинетику и выход спор *B. Subtilis*, так при статических показателях DO от 0% до 50% являются экономически невыгодными, к концу цикла культивирования либо отсутствуют жизнеспособные бактерии, либо % соотношение спор в ходе экономически невыгодно. При динамических показателях от 50% до 0% наблюдается быстрое спорообразование с последующим переходом из спорообразующей формы в вегетативную.

Было установлено, что оптимальный уровень растворенного кислорода является динамический режим от 0% до 50%, спорообразование наступило через 36 часов культивирования, споры составляют 95% от всей бактериальной массы. Данное исследование расширяет наше понимание биотехнологических факторов роста в биореакторах.

В исследовании применялись микробиологические и биотехнологические методы глубинного культивирования в биореакторе, а также физико-химические методы контроля уровня растворенного кислорода.

Практическая значимость исследования связана с возможностью разработки методов управления культивированием данного микроорганизма в промышленных процессах биотехнологии.

**Ключевые слова:** спорообразование, микробиология, глубинное культивирование, биореактор, *B. Subtilis*, растворенный кислород (*dissolved oxygen*).

## БИОРЕАКТОРДА ТЕРЕҢ ӨСІРУ КЕЗІНДЕ ЕРІГЕН ОТТЕГІ ДЕҢГЕЙІНІҢ *B. SUBTILIS* СПОРА ТҮЗІЛУІНЕ ӨСЕРІ

*Турсынбаев Н.С.\* – «8d09101» Ветеринариялық медицина мамандығы бойынша докторантура білім алушысы, ғылыми қызметкер, «Антиген» ғылыми-өндірістік кәсіпорны ЖШС, 040905 Алматы облысы, Абай ауылы, Қазақстан Республикасы.*

*Ахметсадыков Н.Н. – ветеринария ғылымдарының докторы, профессор, бас директор, «Антиген» ғылыми-өндірістік кәсіпорны ЖШС, Абай ауылы, Қазақстан Республикасы.*

*Крыкбаев Е.А. – «8d09101» Ветеринариялық медицина мамандығы бойынша докторантура білім алушысы, аға ғылыми қызметкер, «Антиген» ғылыми-өндірістік кәсіпорны ЖШС, Абай ауылы, Қазақстан Республикасы.*

*Хусаинов Д.М. – ветеринария ғылымдарының кандидаты, қауымдастырылған профессор, аға ғылыми қызметкер, «Антиген» ғылыми-өндірістік кәсіпорны ЖШС, Абай ауылы, Қазақстан Республикасы.*

Бұл мақалада биореакторда терең өсіру кезінде еріген оттегі деңгейінің *B. Subtilis* спора түзілуіне әсерін бағалау бойынша зерттеу нәтижелері көрсетілген. Тәжірибелер еріген оттегі деңгейінің статикалық және динамикалық көрсеткіштерін қолдану арқылы жүргізілді. Жүргізілген зерттеулердің нәтижелері қоршаған ортаның оксигенациясының өзгеруі *B. Subtilis* спораларының кинетикасы мен шығуына айтарлықтай әсер ететінін көрсетті. Сондықтан DO статикалық көрсеткіштері 0% -дан 50% -ға дейін экономикалық тұрғыдан тиімсіз, өсіру циклінің соңына қарай

өміршең бактериялар жоқ немесе % барысында споралардың арақатынасы экономикалық тұрғыдан тиімсіз. 50% -дан 0% -ға дейінгі динамикалық көрсеткіштерде тез спора түзілу байқалады, содан кейін спора түзетін формадан вегетативті формаға ауысады.

Еріген оттегінің оңтайлы деңгейі 0% -дан 50% -ға дейінгі динамикалық режим екендігі анықталды, спора түзілуі 36 сағат өсіруден кейін пайда болды, споралар барлық бактериялық массаның 95% құрайды. Бұл зерттеу биореакторлардағы биотехнологиялық өсу факторлары туралы түсінігімізді кеңейтеді.

Зерттеуде биореактордағы терең өсірудің микробиологиялық және биотехнологиялық әдістері, сондай-ақ еріген оттегінің деңгейін бақылаудың физика-химиялық әдістері қолданылды.

Зерттеудің практикалық маңыздылығы биотехнологияның өндірістік процестерінде осы микроорганизмді өсіруді басқару әдістерін әзірлеу мүмкіндігімен байланысты.

**Түйінді сөздер:** спора түзілуі, микробиология, терең өсіру, биореактор, *B. Subtilis*, еріген оттегі (*dissolved oxygen*).

### EFFECT OF DISSOLVED OXYGEN LEVEL ON *B. SUBTILIS* SPORE CULTIVATION DURING SUBMERGED FERMENTATION IN BIOREACTOR

*Tursynbayev N.S.\* – Doctoral student, “8D09101” – Veterinary Medicine educational program, Researcher, Antigen Research and Development Enterprise LLP, Abay village, Republic of Kazakhstan.*

*Akhmetsadykov N.N. – Doctor of Veterinary Sciences, Professor, General Director, Antigen Research and Development Enterprise LLP, Abay village, Republic of Kazakhstan.*

*Krykbayev Y.A. – Doctoral student, “8D09101” – Veterinary Medicine educational program, Senior Researcher, Antigen Research and Development Enterprise LLP, Abay village, Republic of Kazakhstan.*

*Khussainov D.M. – Candidate of Veterinary Sciences, Associate Professor, Senior Researcher, Antigen Research and Development Enterprise LLP, Abay village, Republic of Kazakhstan.*

*This paper presents research findings on the impact of dissolved oxygen levels on the spore formation of *B. subtilis* during submerged cultivation in a bioreactor. The experiments analyzed both static and dynamic oxygen levels. The study revealed that oxygenation changes significantly affect the kinetics and yield of *B. subtilis* spores. When static DO values ranged from 0% to 50%, the process proved economically inefficient, with either non-viable bacteria at the end of the cycle or a spore yield that was not cost-effective. Conversely, DO levels from 50% to 0% resulted in rapid spore formation, followed by a shift from sporulation form back to vegetative form.*

*The research identified the optimal dissolved oxygen range for cultivation as a dynamic cycle between 0% and 50%, where sporulation occurred after 36 hours, with spores comprising 95% of the total bacterial mass. This study broadens our understanding of biotechnological growth factors in bioreactor systems.*

*Microbiological and biotechnological methods were used for submerged cultivation in bioreactors, along with physicochemical monitoring of dissolved oxygen.*

*The practical relevance of this study lies in its potential application in controlling the cultivation of this microorganism for industrial biotechnological processes.*

**Key words:** *sporulation, microbiology, submerged cultivation, bioreactor, *B. subtilis*, dissolved oxygen.*

#### **Введение**

*Bacillus subtilis* – это грамположительная спорообразующая почвенная бактерия, которую часто выделяют из технологического оборудования пищевой и фармацевтической промышленности [1, с. 2, 2, с. 3]. Штамм *B. subtilis* являясь факультативным анаэробом, подвержен влиянию кислорода, как основного фактора спорообразования, широко известно, что их образование представляет собой сложный процесс, происходящий в периоды ограничения внешних факторов [3, с. 4, 4, с. 1]. Недавние исследования показали, что ранние факторы транскрипции споруляции активируются в клетках *B. subtilis*, происходит либо путь споруляции, либо путь развития биопленки до споруляции [5, с. 2], именно поэтому необходимо правильно выбирать правильные условия эксплуатации и конструкции биореакторов [6, с. 5]

Физиологические исследования бактериальной споруляции, в которых используются обычные «периодические» среды для выращивания и споруляции, осложнены отсутствием четкого перехода между вегетативным ростом и споруляцией [7, с. 6, 8, с. 3]. Даже несмотря на то, что время перехода к споруляции можно определить экспериментально (например, по повышению pH при начале утилизации органических кислот [9, с. 2, 10, с. 7]), желательно иметь возможность инициировать споруляцию с помощью некоторых экспериментальных манипуляций, а также быть в состоянии инициировать споруляцию с помощью некоторых экспериментальных манипуляций, а также иметь возможность увеличить синхронность споруляции.

Ранние исследования *B. subtilis* показали что они не поддаются микроциклированию, пока Клотье и др. [11, с. 5] не разработали систему, в которой фазы прорастания и роста были разделены. При использовании химически определенной среды допускался рост проросших спор только до первичных синглетных клеток. Однако исследование процесса взаимодействия бацилл в бинарной смешанной культуре выявило, что помимо лизиса клеток нарушается спорообразование, о чем свидетельствует задержка начала споруляции, уменьшение количества образующихся зрелых спор и образование незрелых и структурно дефектных спор [12, с. 3].

Существуют примеры производительности небольших заводских биореакторов с тестами с использованием различных бактерий и сред, которые неэкономичны для применения вне маленьких исследований [13, с. 3].

При этом условии контроль фокусируется на простом мониторинге оптической плотности, флуоресценции, pH и растворенного кислорода; все это по доступным ценам [14, с. 2].

*Bacillus subtilis* является модельным штаммом для изучения физиологических и биохимических механизмов микроорганизмов, а также является хорошей клеткой-шасси для промышленного применения для производства биологических агентов, таких как низкомолекулярные соединения, объемные химикаты, промышленные ферменты, предшественники лекарств и медицинских продуктов. В последние годы все чаще сообщалось об исследованиях методов и стратегий метаболической инженерии *B. subtilis*, предоставляющих хорошие инструменты и теоретические ссылки для использования ее в качестве клеточной-шасси для производства биологических агентов [15, с. 5].

*B. subtilis* может переключаться между растущим и спящим состоянием в ответ на изменение доступности питательных веществ. В состоянии голодания она образует неактивный спящий тип клеток, называемый спорами. Когда условия благоприятны для роста клеток, она может прорасти и начинать свой вегетативный цикл [16, с. 5].

Производство иммунобиологических препаратов, вакцин и диагностических тест-систем основывается на применении методов стационарного культивирования на матрасах, а также глубинного культивирования в биореакторах. Анализ технологических процессов и этапов культивирования позволит стандартизировать кинетику накопления штамма *B. subtilis*, в соответствии с международным стандартом GMP (Good manufacturing practice – правила надлежащего производства).

**Целью наших исследований** было определение влияния оксигенации питательной среды в ходе глубинного культивирования в биореакторе на кинетику накопления и процессы спорообразования штамма *B. Subtilis*.

Исходя из вышеизложенного, **задачей исследования** является определение режимов глубинного культивирования, с поддержанием динамических и статических показателей уровня растворенного кислорода в ходе глубинного культивирования штамма *B. Subtilis*.

**Материалы и методы исследований.** Научные исследования проводились в лаборатории «Микробиология» Научно-производственного предприятия «Антиген», в период с 2023 по 2024 годы.

Штамм *B. subtilis*, трансформированный с помощью специфических фрагментов Pmps (Polymorphic Membrane Proteins – полиморфные мембранные белки). Штамм обладает типичными свойствами бацилл, вызывая спорообразование при контакте с кислородом. Адаптирован к стационарному и глубинному культивированию.

Биореактор BiBio 80L (Bailun Biotechnology, Китай), соответствует международным стандартам GMP и GLP. Биореактор оснащен ручными и автоматическими системами управления и регулирования уровня растворенного кислорода, уровня pH, скорость оборотов мешалки, температуры, а также системами подачи пеногасителя, и других субстратов.

Уровень растворенного кислорода исследовался с помощью оптического датчика VISIFERM DO ARC 120 H2, позволяющего определять от 4 ppb до 25 ppb (DO) от 0 до 62,85 % по объему или от 0 до 300 % по насыщению.

Окрашивание образцов производилось по Граму.

Контроль концентрации штамма *B. Subtilis* производился с помощью денситометра DEN-1B, с измерением мутности клеточных суспензий в пределах диапазона 0,0 – 6,0 единиц МакФарланда (McF) ( $0 - 180 \times 10^7$  клеток/см<sup>3</sup>), вместе с стандартами мутности МакФарланда 0.5; 1.0 и 2.0 (BaSO<sub>4</sub>).

#### **Результаты и обсуждение**

Для исследования были выбраны статические уровни растворенного кислорода, поддерживаемые в ходе циклов культивирования (% – 0, 10, 20, 30, 40, 50), и динамические уровни растворенного кислорода, меняющие показатели уровня растворенного кислорода в зависимости от фазы культивирования (от 0% – до 50%, от 50% – до 0%). Результаты исследования представлены в таблице 1.

Таблица 1. Анализ влияния уровня растворенного кислорода в ходе глубинного культивирования

№	Уровень растворенного кислорода	Время культивирования, ч / спорообразование (-, +)					
		0	12	24	36	48	60
1	0%	-	-	-	-	_*	_*
2	10%	-	-	-	-	-	_*
3	20%	-	-	-	-	-	+
4	30%	-	-	-	-	+	+
5	40%	-	-	-	+	+	+
6	50%	-	-	+	+	+	+
7	0% → 50%	-	-	-	+	+	+
8	50% → 0%	-	-	+	+	***	***

\* отсутствуют жизнеспособных бактерии.

\*\* переходящая форма

При статическом уровне растворенного кислорода 0%, спорообразование не наступило в ходе всего цикла культивирования, также через 48 часов признаки жизнеспособных бактерий отсутствовали (Рисунок 1).

При статическом уровне растворенного кислорода 10%, спорообразование не наступило в ходе всего цикла культивирования, также через 60 часов, признаки жизнеспособных бактерий отсутствовали (Рисунок 2).

При статическом уровне растворенного кислорода 20%, спорообразование наступило через 60 часов культивирования, споры малочисленны, составляют не более 50% от всей бактериальной массы. Данный уровень растворенного кислорода слишком низок чтобы быть экономически выгодным в ходе производства (Рисунок 3).

При статическом уровне растворенного кислорода 30%, спорообразование наступило через 48 часов культивирования, споры составляют 70% от всей бактериальной массы. Данный уровень растворенного кислорода более эффективен, но быстро началась фаза спорообразования, соотношение 70% спор является экономически невыгодным (Рисунок 4).

При статическом уровне растворенного кислорода 40%, спорообразование наступило через 36 часов культивирования, споры составляют 90% от всей бактериальной массы. Данный уровень растворенного кислорода можно считать эффективным, фаза спорообразования наступила в пик накопления бактериальной массы, что позволяет получить высокую концентрацию спор при большом % соотношении (Рисунок 5).

При статическом уровне растворенного кислорода 50%, спорообразование наступило через 24 часа культивирования, споры составляют 95% от всей бактериальной массы. Данный уровень растворенного кислорода не является эффективным, фаза спорообразования наступила слишком быстро, пик накопления бактериальной массы еще наступил, что понижает экономическую выгоду производства (Рисунок 6).

При динамическом уровне растворенного кислорода от 0% до 50%, спорообразование наступило через 36 часов культивирования, споры составляют 95% от всей бактериальной массы. Данный уровень растворенного кислорода является наиболее эффективным, фаза спорообразования наступила в пик накопления бактериальной массы, что позволяет получить высокую концентрацию спор при большом % соотношении (Рисунок 7).

При динамическом уровне растворенного кислорода от 50% до 0%, спорообразование наступило через 24 часа культивирования, споры составляют 95% от всей бактериальной массы, также через 48 часов культивирования, после понижения уровня растворенного кислорода до 0%, наблюдается переходящая форма из спорообразующей в вегетативную. Данный уровень растворенного кислорода не является эффективным, фаза спорообразования наступила слишком быстро, пик накопления бактериальной массы еще не наступил, также учитывая переходящую форму, данный режим является экономически невыгодным для производства (Рисунок 8).

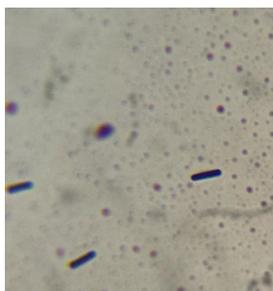


Рисунок 1 –  
окрашенный мазок  
*B. Subtilis* при  
статическом уровне  
растворенного  
кислорода 0%



Рисунок 2 –  
окрашенный мазок  
*B. Subtilis* при  
статическом уровне  
растворенного  
кислорода 10%



Рисунок 3 –  
окрашенный мазок  
*B. Subtilis* при  
статическом уровне  
растворенного  
кислорода 20%

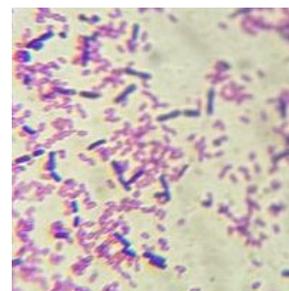


Рисунок 4 –  
окрашенный мазок  
*B. Subtilis* при  
статическом уровне  
растворенного  
кислорода 30%

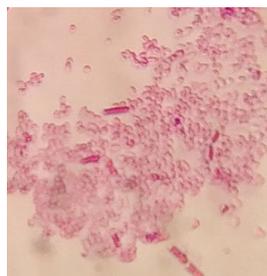


Рисунок 5 –  
окрашенный мазок  
*B. Subtilis* при  
статическом уровне  
растворенного  
кислорода 40%

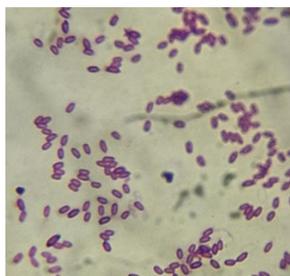


Рисунок 6 –  
окрашенный мазок  
*B. Subtilis* при  
статическом уровне  
растворенного  
кислорода 50%



Рисунок 7 –  
окрашенный мазок  
*B. Subtilis* при  
динамическом уровне  
растворенного  
кислорода  
от 0% до 50%



Рисунок 8 –  
окрашенный мазок  
*B. Subtilis* при  
динамическом уровне  
растворенного  
кислорода  
от 50% до 0%

Согласно представленным рисункам, уровень оксигенации питательной среды при глубинном культивировании в биореакторе является одним из решающих факторов влияющих на кинетику накопления и процессы спорообразования, что подтверждается также окрашенным мазкам.

#### **Выводы**

Штамм *B. subtilis* являясь факультативным анаэробом, имеет кислородозависимую природу спорообразования, именно поэтому отработка режимов глубинного культивирования является одним из основных направлений улучшения биотехнологических процессов производства иммунобиологических препаратов, вакцин и диагностических тест-систем на основе культивируемых антигенов.

Были выявлены пороговые значения концентрации кислорода, при которых достигается максимальная эффективность спорообразования. Так статические уровни растворенного кислорода по большей части являются неэффективными, и либо не приводят к процессу спорообразования, либо приводит к их быстрому спорообразованию с низкой кинетикой накопления штамма *B. Subtilis*. Динамические же режимы являются эффективными в случае их применения в зависимости от фазы и времени культивирования, при применении динамического уровня растворенного кислорода от 0% до 50% является наиболее продуктивным, и позволяет накопить большое количество спор при их высокой жизнеспособности, но при применении динамического уровня растворенного кислорода от 50% до 0% наоборот является наиболее неэффективным, приводя на первых этапах культивирования к быстрому спорообразованию не позволяя накопить большую концентрацию бацилл, и приводя в последних фазах к обратному процессу спорообразования. Проведенные исследования показывают, что оптимальные условия оксигенации среды способствует увеличению выхода спор и повышению кинетики роста микроорганизмов.

Результаты исследований показали, что уровни кислорода влияют не только на количество спор, но и на их качественные характеристики, в том числе, в условиях оптимального кислородного режима споры были более устойчивыми и жизнеспособными.

#### **Финансирование**

Исследования проведены в рамках реализации проекта №AP14870028 конкурса на грантовое финансирование по научным и (или) научно-техническим проектам на 2022-2024 годы, Комитет науки Министерства науки и высшего образования Республики Казахстан.

## ЛИТЕРАТУРА:

- 1 Riley E.P., Schwarz C., Derman A.I., López-Garrido J., Milestones in *Bacillus subtilis* sporulation research [Text] / E.P. Riley, C. Schwarz, A.I. Derman, J. López-Garrido // *Microbial Cell*. – 2020. – 8. – 1-16 p.
- 2 Soni A., Oey I., Silcock P., Bremer P., *Bacillus* spores in the food industry: A review on resistance and response to novel inactivation technologies [Text] / A. Soni, I. Oey, P. Silcock, P. Bremer // *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. – 2016. – 15(6). – 1139-1148 p.
- 3 Lin P., Yuan H., Du J., Liu K., Liu H., Wang T. Progress in research and application development of surface display technology using *Bacillus subtilis* spores [Text] / P. Lin, H. Yuan, J. Du, K. Liu, H. Liu // *Applied microbiology and biotechnology*. – 2020. – 104. – 2319-2331 p.
- 4 Earl C., Arnaouteli S., Bamford N. C., Porter M., Sukhodub T., MacPhee C. E., Stanley-Wall N. R., The majority of the matrix protein TapA is dispensable for *Bacillus subtilis* colony biofilm architecture [Text] / C. Earl, S. Arnaouteli, N. C. Bamford, M. Porter, T. Sukhodub, C. E. MacPhee, N. R. Stanley-Wall // *Molecular Microbiology*. – 2020. – 114(6). – 920-933 p.
- 5 Hamon M. A., Lazazzera B. A., The sporulation transcription factor Spo0A is required for biofilm development in *Bacillus subtilis* [Text] / M. A. Hamon, B. A. Lazazzera // *Molecular microbiology*. – 2001. – 42(5). – 1199-1209 p.
- 6 Coutte F., Lecouturier D., Dimitrov K., Guez J. S., Delvigne F., Dhulster P., Jacques P., Microbial lipopeptide production and purification bioprocesses, current progress and future challenges [Text] / F. Coutte, D. Lecouturier, K. Dimitrov, J. S. Guez, F. Delvigne, P. Dhulster, P. Jacques // *Biotechnology Journal*. – 2017. – 12(7). – 1600566 p.
- 7 Setlow P., Johnson E. A., Spores and their significance [Text] / P. Setlow, E. A. Johnson // *Food microbiology: fundamentals and frontiers*. – 2019. – 23-63 p.
- 8 Kaspar F., Neubauer P., Gimpel M., Bioactive secondary metabolites from *Bacillus subtilis*: a comprehensive review [Text] / F. Kaspar, P. Neubauer, M. Gimpel // *Journal of natural products*. – 2019. – 82(7). – 2038-2053 p.
- 9 Bernlohr R. W., Novelli G. D., Bacitracin biosynthesis and spore formation: the physiological role of an antibiotic [Text] / R. W. Bernlohr, G. D. Novelli // *Archives of Biochemistry and Biophysics*. – 1963. – 103(1). – 94-104 p.
- 10 Nakata H. M., Halvorson H. O., Biochemical changes occurring during growth and sporulation of *Bacillus cereus* [Text] / H. M. Nakata, H. O. Halvorson // *Journal of Bacteriology*. – 1960. – 80(6). – 801-810 p.
- 11 Petridou S., Slepecky R. A., Achievement of complete *Bacillus subtilis* microcycle sporulation by the addition of S-adenosylmethionine and phospholipids [Text] / S. Petridou, R. A. Slepecky // *Biochimie*. – 1992. – 74(7-8). – 749-754 p.
- 12 Duda V. I., Suzina N. E., Esikova T. Z., Akimov V. N., Oleinikov R. R., Oleinikov R. R., Boronin A. M., A cytological characterization of the parasitic action of ultramicrobacteria NF1 and NF3 of the genus *Kaistia* on chemoorganotrophic and phototrophic bacteria [Text] / V. I. Duda, N. E. Suzina, T. Z. Esikova, V. N. Akimov, R. R. Oleinikov, R. R. Oleinikov, A. M. Boronin // *FEMS microbiology ecology*. – 2009. – 69(2). – 180-193 p.
- 13 Schirmer C., Dreher T., Leupold M., Glaser R., Castan A., Brown J., Glöckler R., Recommendation for biological evaluation of bioreactor performance for microbial processes [Text] / C. Schirmer, T. Dreher, M. Leupold, R. Glaser, A. Castan, J. Brown, R. Glöckler // *DECHEMA, Gesellschaft für Chemische Technik und Biotechnologie eV*. – 2019.
- 14 Pilizota T., Yang Y. T., “Do It Yourself” microbial cultivation techniques for synthetic and systems biology: Cheap, fun, and flexible [Text] / T. Pilizota, Y. T. Yang // *Frontiers in microbiology*. – 2019. – 9. – 364271 p.
- 15 Kang Q., Xiang M., Zhang D., Research progress and industrial application of *Bacillus subtilis* in systematic and synthetic biotechnology [Text] / Q. Kang, M. Xiang, D. Zhang // *Sheng Wu Gong Cheng Xue Bao = Chinese Journal of Biotechnology*. – 2021. – 37(3). – 923-938 p.
- 16 Liu Y., Liu L., Li J., Du G., Chen J., Synthetic Biology Toolbox and Chassis Development in *Bacillus subtilis* [Text] / Y. Liu, L. Liu, J. Li, G. Du, J. Chen // *Trends in biotechnology*. – 2019. – 37(5). – 548-562 p.

## REFERENCES:

- 1 Riley E.P., Schwarz C., Derman A.I., Lopez-Garrido J. Milestones in *Bacillus subtilis* sporulation research. *Microbial Cell*, 2020, 8(1), pp 1-16.
- 2 Soni A., Oey I., Silcock P., Bremer P. *Bacillus* spores in the food industry: A review on resistance and response to novel inactivation technologies. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2016, 15(6), pp. 1139-1148.

3 Lin P., Yuan H., Du J. et al. Progress in research and application development of surface display technology using *Bacillus subtilis* spores. *Applied microbiology and biotechnology*, 2020, 104, pp. 2319-2331.

4 Earl C., Arnaouteli S., Bamford N. C. et al. The majority of the matrix protein TapA is dispensable for *Bacillus subtilis* colony biofilm architecture. *Molecular Microbiology*, 2020, 114(6), pp. 920-933.

5 Hamon M. A., Lazazzera B. A. The sporulation transcription factor Spo0A is required for biofilm development in *Bacillus subtilis*. *Molecular microbiology*, 2001, 42(5), pp. 1199-1209.

6 Coutte F., Lecouturier D., Dimitrov K. et al. Microbial lipopeptide production and purification bioprocesses, current progress and future challenges. *Biotechnology Journal*, 2017, 12(7), 1600566 p.

7 Setlow P., Johnson E.A. Spores and their significance. *Food microbiology: fundamentals and frontiers*, 2019, pp. 23-63.

8 Kaspar F., Neubauer P., Gimpel M. Bioactive secondary metabolites from *Bacillus subtilis*: a comprehensive review. *Journal of natural products*, 2019, 82(7), pp. 2038-2053.

9 Bernlohr R.W., Novelli G.D. Bacitracin biosynthesis and spore formation: the physiological role of an antibiotic. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 1963, 103(1), pp. 94-104.

10 Nakata H.M., Halvorson H.O. Biochemical changes occurring during growth and sporulation of *Bacillus cereus*. *Journal of Bacteriology*, 1960, 80(6), pp. 801-810.

11 Petridou S., Slepecky R.A. Achievement of complete *Bacillus subtilis* microcycle sporulation by the addition of S-adenosylmethionine and phospholipids. *Biochimie*, 1992, 74(7-8), pp. 749-754.

12 Duda V. I., Suzina N. E., Esikova T.Z. et al. A cytological characterization of the parasitic action of ultramicrobacteria NF1 and NF3 of the genus *Kaistia* on chemoorganotrophic and phototrophic bacteria. *FEMS microbiology ecology*, 2009, 69(2), pp. 180-193.

13 Schirmer C., Dreher T., Leupold M. et al. Recommendation for biological evaluation of bioreactor performance for microbial processes. *DECHEMA, Gesellschaft für Chemische Technik und Biotechnologie eV*, 2019.

14 Pilizota T., Yang Y.T. Do It Yourself microbial cultivation techniques for synthetic and systems biology: Cheap, fun, and flexible. *Frontiers in microbiology*, 2019, 9, 1666 p.

15 Kang Q., Xiang M., Zhang D. Research progress and industrial application of *Bacillus subtilis* in systematic and synthetic biotechnology. *Chinese Journal of Biotechnology*, 2021, 37(3), pp. 923-938.

16 Liu Y., Liu L., Li J., Du G., Chen J. Synthetic biology toolbox and chassis development in *Bacillus subtilis*. *Trends in biotechnology*, 2019, 37(5), pp. 548-562.

#### Сведения об авторах:

Турсынбаев Нуртас Сабитжанулы\* – обучающийся докторантуры по специальности «8D09101» – Ветеринарная медицина, научный сотрудник, ТОО Научно-производственное предприятие «Антиген», Республика Казахстан, 040905, Алматинская обл., Карасайский район, пос. Абай, ул. Азербайева 4, тел. +77472838968, e-mail: nurtastursynbaev@mail.ru.

Ахметсадыков Нурлан Нуролдинович – доктор ветеринарных наук, профессор, Генеральный директор ТОО Научно-производственное предприятие «Антиген», Республика Казахстан, 040905, Алматинская обл., Карасайский район, пос. Абай, ул. Азербайева 4, тел. +77017290175, e-mail: nurlan.akhmetsadykov@gmail.com.

Крыкбаев Еркин Алийбекович – обучающийся докторантуры по специальности «8D09101» – Ветеринарная медицина, старший научный сотрудник, ТОО Научно-производственное предприятие «Антиген», Республика Казахстан, 040905, Алматинская обл., Карасайский район, пос. Абай, ул. Азербайева 4, тел. +77023654304, e-mail: krykbaev\_e@mail.ru.

Хусаинов Дамир Микдатович – кандидат ветеринарных наук, ассоциированный профессор, старший научный сотрудник, ТОО Научно-производственное предприятие «Антиген», Республика Казахстан, 040905, Алматинская обл., Карасайский район, пос. Абай, ул. Азербайева 4, тел. +77077290185, e-mail: doctor-vet@mail.ru.

Турсынбаев Нуртас Сабитжанулы\* – «8d09101» Ветеринариялық медицина мамандығы бойынша докторантура білім алушысы, ғылыми қызметкер, «Антиген» ғылыми-өндірістік кәсіпорны ЖШС, Қазақстан Республикасы, 040905, Алматы облысы, Қарасай ауданы, Абай ауылы, Әзірбаев көш., 4, тел. +77472838968, e-mail: nurtastursynbaev@mail.ru.

Ахметсадыков Нурлан Нуролдинович – ветеринария ғылымдарының докторы, бас директор, профессор, «Антиген» ғылыми-өндірістік кәсіпорны ЖШС, Қазақстан Республикасы, 040905, Алматы облысы, Қарасай ауданы, Абай ауылы, Әзірбаев көш., 4, тел. + 77017290175, e-mail: nurlan.akhmetsadykov@gmail.com.

Крыкбаев Еркін Алийбекович – «8d09101» Ветеринариялық медицина мамандығы бойынша докторантура білім алушысы, аға ғылыми қызметкер, «Антиген» ғылыми-өндірістік кәсіпорны ЖШС, Қазақстан Республикасы, 040905, Алматы облысы, Қарасай ауданы, Абай ауылы, Әзірбаев көшесі 4, тел. +77023654304, e-mail: krykbaev\_e@mail.ru.

Хусаинов Дамир Микдатович – ветеринария ғылымдарының кандидаты, қауымдастырылған профессор, «Антиген» ғылыми-өндірістік кәсіпорны ЖШС аға ғылыми қызметкері, Қазақстан Республикасы, 040905, Алматы облысы, Қарасай ауданы, Абай ауылы, Әзірбаев көш., 4, тел. +77077290185, e-mail: doctor-vet@mail.ru.

Tursynbayev Nurtas Sabitzhanuly\* – Doctoral student, “8D09101” – Veterinary Medicine educational program, Senior Researcher, Antigen Research and Development Enterprise LLP, Republic of Kazakhstan, 040905, Almaty region, Karasay district, Abay village, Azerbayev Str., bld. 4, tel.: +77472838968, e-mail: nurtastursynbaev@mail.ru.

Akhmetsadykov Nurlan Nuroidinovich – Doctor of Veterinary Sciences, Professor, General Director, Antigen Research and Development Enterprise LLP Republic of Kazakhstan, 040905, Almaty region, Karasay district, Abay village, Azerbayev Str., bld. 4, tel.: +77017290175, e-mail: nurlan.akhmetsadykov@gmail.com.

Krykbayev Yerkin Aliybekovich – Doctoral student, “8D09101” – Veterinary Medicine educational program, Senior Researcher, Antigen Research and Development Enterprise LLP, Republic of Kazakhstan, 040905, Almaty region. Karasay district, Abay village, Azerbayev Str., bld. 4, tel.:+77023654304, e-mail: krykbaev\_e@mail.ru.

Khussainov Damir Mikdatovich – Candidate of Veterinary Sciences, Associate Professor, Senior Researcher, Senior Researcher, Antigen Research and Development Enterprise LLP, Republic of Kazakhstan, 040905, Almaty region, Karasay district, Abay village, Azerbayev Str., bld. 4, tel.: +77077290185, e-mail: doctor-vet@mail.ru.

MRNTI 68.41.33

UDC 619:636.2:618.51

[https://doi.org/10.52269/22266070\\_2024\\_3\\_10](https://doi.org/10.52269/22266070_2024_3_10)

#### MORPHOFUNCTIONAL CHARACTERISTICS OF THE REPRODUCTIVE SYSTEM OF COWS WITH HEMORRHAGIC ENDOMETRITIS

Khassanova M.A.\* – PhD, Associate Professor of the Department of veterinary medicine, Akhmet Baitursynuly Kostanay Regional University NLC, Republic of Kazakhstan.

Mikniene Z. – Associate Professor, PhD, Lithuanian University of Health Sciences, Kaunas, Lithuania.

Suleimanova K.U. – Candidate of Biological Sciences, Associate Professor, Z.Aldamzhar Kostanay Social-Technical University, Republic of Kazakhstan.

Abilova Z.B. – PhD, acting Associate Professor of the Department of veterinary medicine of the Faculty of agricultural sciences, Akhmet Baitursynuly Kostanay Regional University NLC, Republic of Kazakhstan.

The article presents the results of studies of the morphofunctional characteristics of the reproductive system of cows with hemorrhagic endometritis. In the ovaries of cows, the number of primary follicles is reduced, but the number of atretic follicles is increased. The area of protoplasm and nuclei in the left ovary increases by 23.8% and 13.01% compared to the norm, in the right – by 63.4% and 41.4%, respectively. The functional activity of follicular epithelial cells in the left ovary decreases by 4.2%, in the right – by 14.6%. In case of hemorrhagic endometritis, the mass of the right ovary is 30.76% less, and the mass of the left ovary is within the normal range. The length of both oviducts is within the physiological norm. The width of the left and right oviducts is 39.93% and 13.89% less than normal. In general, the wall thickness of the left oviduct decreases by 13.3% compared to that in clinically healthy cows, while the right one, on the contrary, thickens by 33.6%. At the same time, there is a thickening of the mucous layer of the left oviduct by 37.6% compared to the norm.

The submucosal and muscular layers are thinner by 43.6% and 38.4%, respectively. In the right oviduct, a thickening of the submucosal layer by 55.5% was noted, and the thickness of the muscular layer was within the normal range. The area of protoplasm and nuclei of the surface epithelium in the left oviduct decreases compared to those in clinically healthy cows by 11.7% and 10.2%, in the right – by 31.3% and 45.2%, respectively. The functional activity of cells in the left oviduct increased by 7.7%, in the right – by 35.4%.

**Key words:** hemorrhagic endometritis, pathology, ovaries, oviducts, follicle.