

*Всероссийский научно-исследовательский институт физиологии,
биохимии и питания животных – филиал ФГБНУ «Федеральный
исследовательский центр животноводства
– ВИЖ имени академика Л. К. Эрнста».
Боровск, Калужская обл., РФ*

Молекулярно-генетические методы в оценке влияний стресса на микробиом рубца овец.

**Доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник,
Заведующий лаборатории иммунобиотехнологии и микробиологии
Остренко Константин Сергеевич**

Схема эксперимента

Группа	Голов в группе	Характеристика кормления
Контрольная	8	Основной рацион (ОР)
Опытная	8	ОР +10 мг LiAsc на кг живой массы

Основной рацион - 500 г гранулированного комбикорма-концентрата «Комбикорм для коз и овец КК-85 (МРС)», 1,5 кг сено разнотравное

Длительность эксперимента – 60 суток

Исследование микробиоты рубца

Выделение ДНК из рубцового содержимого



NGS секвенирование



Анализ данных

Метагеномное секвенирование выполнено
в ООО «Биотроф» на геномном
секвенаторе MiSeq («Illumina, Inc.»), США



БИОТРОФ
микробиология для животноводства

Методология.

NGS (next generation sequencing) — секвенирование нового поколения: определение нуклеотидной последовательности ДНК или РНК.

Принцип технологии NGS основан на массовом одновременном секвенировании тысяч фрагментов ДНК на базе подготовленных одноцепочечных библиотек.

Методы позволяют выполнять одновременное считывание миллиардов коротких фрагментов нуклеиновых кислот.

Метагеномное секвенирование позволяет определить состав микроорганизмов в исследуемом образце, например, в рубцовом содержимом.



Мишень: ген 16S рРНК

16S рРНК — один из трёх основных типов рРНК, образующих основу рибосом прокариот.

Последовательность гена 16S рРНК используется в исследовании филогенетики бактерий и архей, применяется для медицинских исследований патогенных бактерий.

Таксономическая иерархия микроорганизмов рубца овец на основе результатов NGS секвенирования

Домен «**Bacteria**» (эубактерии)

- 1) бактерии с тонкой клеточной стенкой, грамотрицательные
- 2) бактерии с толстой клеточной стенкой, грамположительные
- 3) бактерии без клеточной стенки (класс Mollicutes — микоплазмы)

Домен «**Archaea**» (архебактерии)

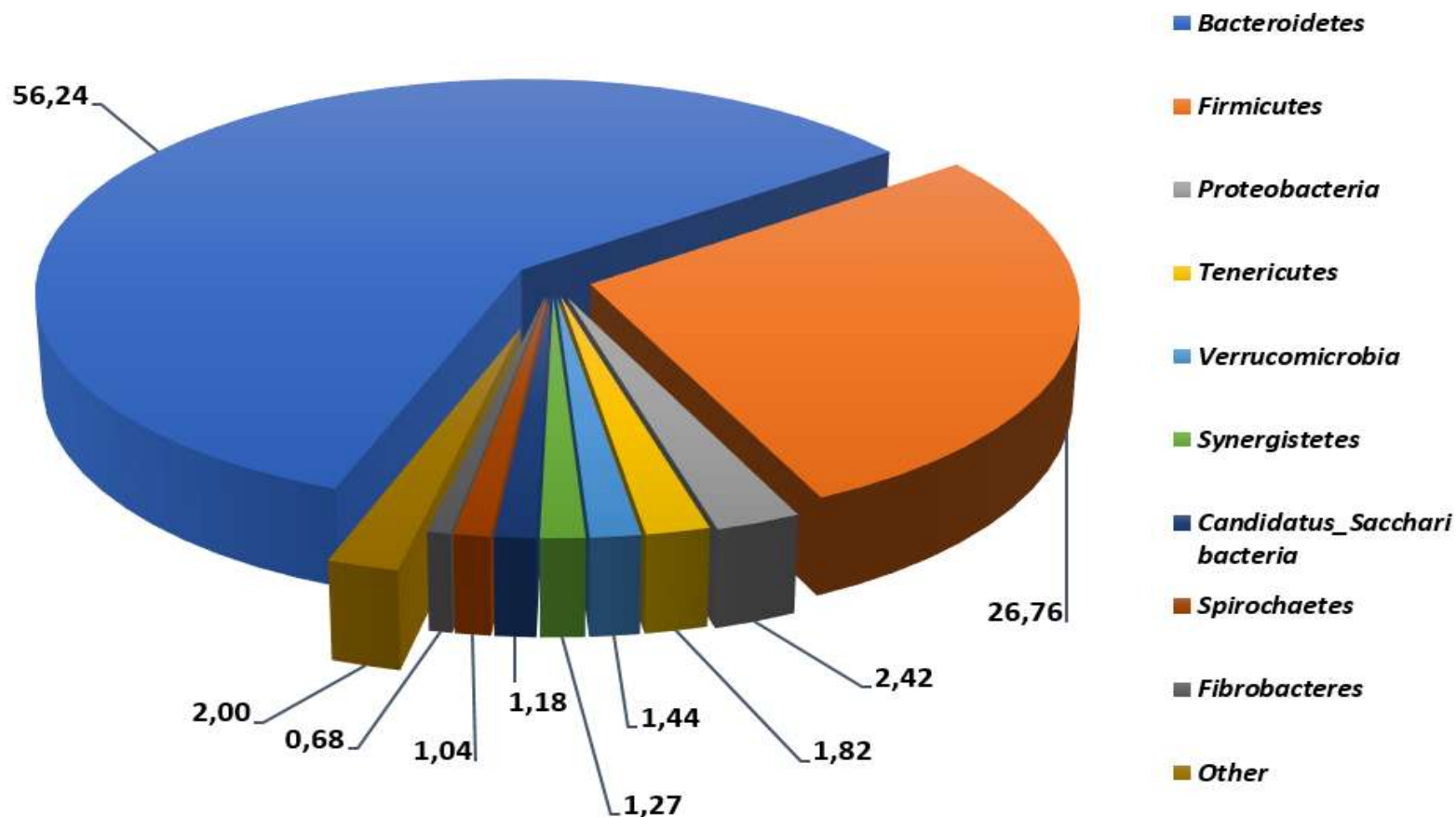
Архебактерии не содержат пептидогликан в клеточной стенке. Они имеют особые рибосомы и рибосомные РНК (рРНК). Среди них нет возбудителей инфекций

Доля бактерий и архей в рубцовом содержимом овец контрольной и опытной групп (% от суммарного количества микроорганизмов)

Домен	$M \pm m$
Bacteria	$95,66 \pm 0,52$
Archaea	$0,18 \pm 0,05$

Микробиоту рубца овец представляют 37 **филумов** (типов, отделов) бактерий, из них 8 - с долей выше 1% от суммарного количества микроорганизмов.

Основные филумы - *Bacteroidetes* (53-60%) и *Firmicutes* (24-29%)





Филум *Bacteroidetes* —

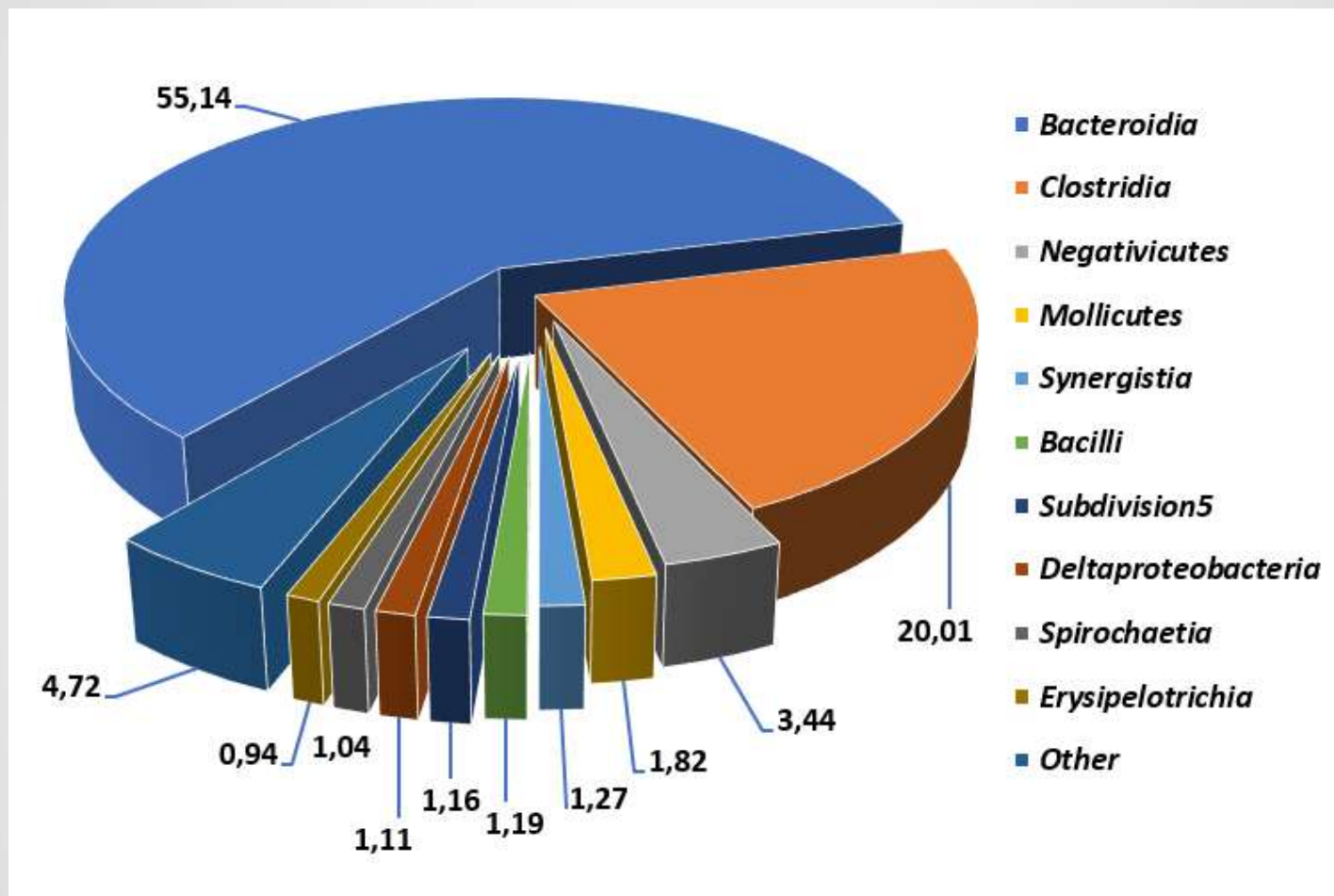
тип грамотрицательных неспорообразующих анаэробных палочковидных бактерий, широко распространённых в окружающей среде, включая почву, ил, морскую воду, а также желудочно-кишечный тракт и кожу животных.

Включает классы: *Bacteroidia*, *Cytophagia*, *Flavobacteriia*, *Sphingobacteriia*

Филум *Firmicutes* — тип бактерий, представители которого характеризуются низким содержанием пар нуклеотидов Г—Ц (меньше 50 %) и строением клеточной стенки, характерным для грамположительных бактерий.

Включает классы: *Bacilli*, *Clostridia*.

Микробиота рубца овец представлена
- 76 **классами** бактерий (10 классов с долей выше 1%),



- 98 **порядками** (7 порядков - с долей выше 1%).
Основные: *Bacteroidales* – 55,14% и *Clostridiales* – 19,60%

Заключение

Группы микроорганизмов, способствующих перевариванию и усвоению кормов (целлюлозолитические бактерии, лактат-ферментирующие бактерии, полезные бациллы) присутствовали в рубцовом содержимом овец в равномерных и высоких количествах.

Целлюлозолитические бактерии составляли не менее 70% от всех обнаруженных микроорганизмов.

Содержание целлюлозолитических бактерий и целлюлозолитическая активность были выше в рубцовом содержимом овец, получавших с кормом аскорбат лития в дозировке 10 мг/кг живой массы.

Полученные результаты дают основание сделать вывод о положительном влиянии аскорбата лития на качественный состав микробиоты рубца овец, и рекомендовать его применение в дополнение к основному рациону овец как при удовлетворительных условиях содержания, так и в условиях стресса.

Спасибо за внимание!

