

ЗАЩИТНОЕ ДЕЙСТВИЕ КОРМОВОЙ ДОБАВКИ-АДАПТОГЕНА НА МИКРОБИОТУ РУБЦА ОВЕЦ-ЯРОК ОТ ПАТОГЕННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ

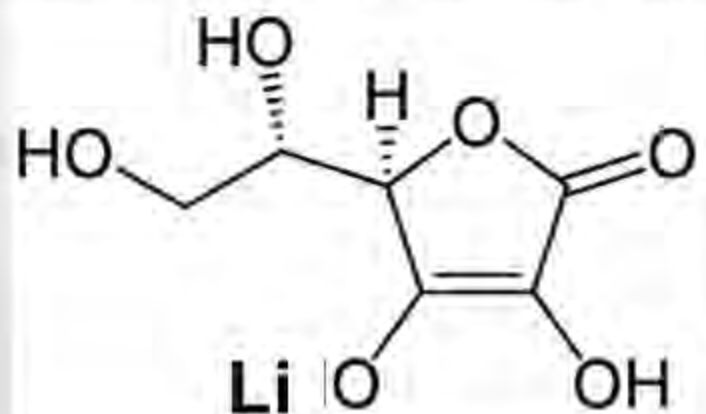
*Всероссийский научно-исследовательский институт
физиологии, биохимии и питания животных – филиал ФГБНУ
«Федеральный научный центр животноводства –
ВИЖ имени академика Л. К. Эрнста».
Боровск, Калужская обл., РФ*

Езерский В.А.

Аскорбат лития - стресс-протекторный адаптоген, обладающий нейротрофическими, нейропротекторными, антиоксидантными, иммуномодулирующими свойствами.

Предполагается, что адаптоген аскорбат лития может влиять на все звенья оси «микробиота-кишечник-мозг», что позволит одновременно решить проблемы, связанные с нарушениями, возникшими при воздействии стрессов различной этиологии, и профилактировать нарушения ЖКТ, вызванные изменением микрофлоры.

Кормовая добавка позволит повысить рентабельность производства в овцеводстве и подойти к решению проблем повышения рубцового пищеварения.



(3,18% Li)

Цель исследований: получение новых знаний о составе микробиоты рубца овец, выяснить влияние адаптогена аскорбата лития на качественный и количественный состав микрофлоры рубца овец с использованием молекулярно-генетических методов.

Схема эксперимента

Группа	Голов в группе	Характеристика кормления
1 - контрольная	8	Основной рацион (ОР)
2 - опытная	8	ОР +10 мг LiAsc на кг живой массы

Длительность эксперимента – 60 суток
Выделение ДНК из рубцового содержимого



**использование молекулярно-генетических методов:
RT-PCR и NGS-секвенирование**

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

**Весовые показатели овец на фоне
применения аскорбата лития
($M \pm m$, $n=8$), кг**

Группы	Вес животных		
	до эксперимента	Через 30 дней	Через 60 дней
Контрольная	37,11 $\pm$ 1,09	38,35 $\pm$ 2,33	38,59 $\pm$ 2,57
Опытная группа	37,59 $\pm$ 1,7	38,94 $\pm$ 2,92	39,83 $\pm$ 3,81

Метагеном - вся информация о сообществе микроорганизмов, населяющих организм

Метагеномика - раздел молекулярной генетики, который изучает набор генов всех микроорганизмов, находящихся в образце среды, - метагеном.

Метагеномный анализ позволяет определить видовое разнообразие исследуемого образца без необходимости выделения и культивирования микроорганизмов.

16S рРНК — один из трёх основных типов рРНК, образующих основу рибосом прокариот. Последовательность гена 16S рРНК главным образом используется в исследовании филогенетики бактерий и архей.

С 2010 года был запущен проект «Микробиом Земли», объединяющий исследования по этой теме.

Последовательность гена 16S рРНК применяется для медицинских исследований патогенных бактерий.

Мишень: ген 16S рРНК

Метод количественной ПЦР (RT-PCR)

Мишень: ген 16S рРНК

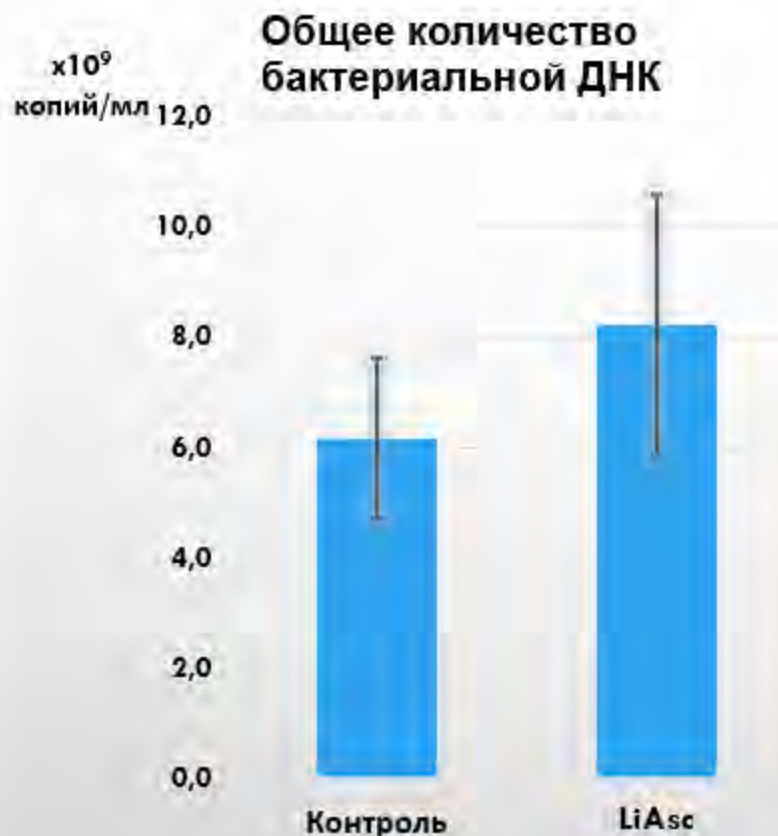
Универсальные праймеры на
общее количество бактерий *

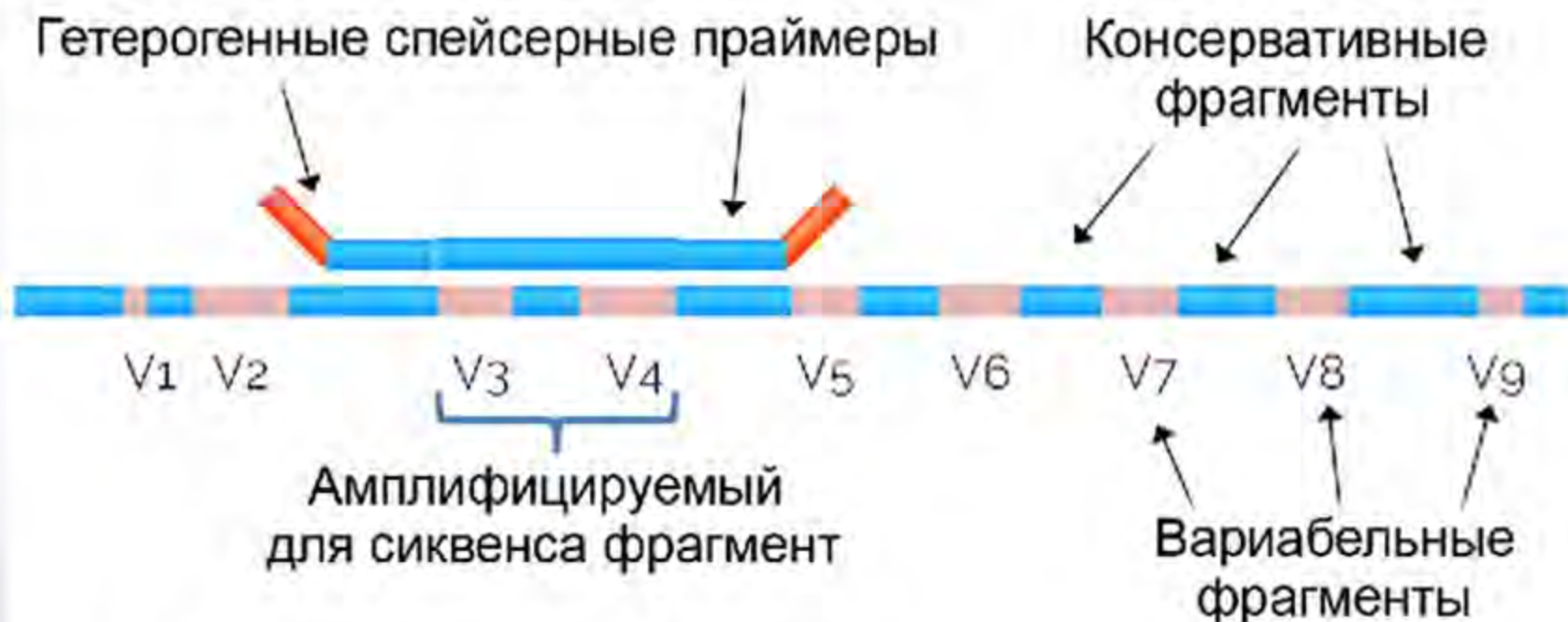
Прямой: HDA1 -
ACTCCTACGGGAGGCGAGCAG,

Обратный: HDA2 –
ATTACCGCGGCTGCTGG

(амплификат от 349 по 547
нуклеотид – около 200 пн)

Результат: Общее количество
бактериальной ДНК в рубце овец





Первичная структура гена 16S рРНК

Прямой праймер: **343F** (5'-CTCCTACGGRRSGCAGCAG-3')

Обратный праймер: **806R** (5'-GGACTACNVGGGTWTCTAAT-3'),
(амплификат от 343 по 806 нуклеотид – около 460 пн, V3V4)

Содержание “нежелательной” и условно-патогенной микрофлоры, %.

	Контроль		LiAsc	
	M	$\pm m$	M	$\pm m$
Lactobacillales	0,570	$\pm 0,097$	0,423	$\pm 0,255$
Enterobacteriaceae	0,044	$\pm 0,016$	0,019	$\pm 0,003$
Actinomycetales	0,076	$\pm 0,011$	0,079	$\pm 0,032$

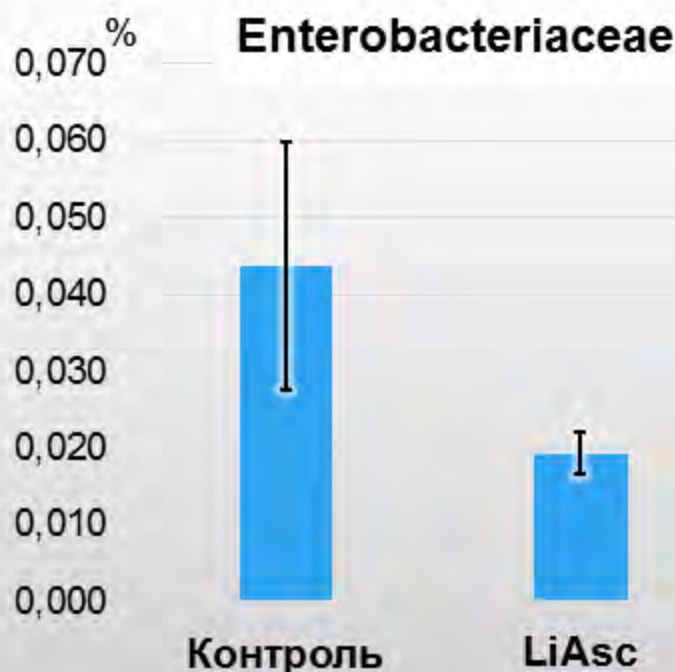
Лактобактерии в рубце мелкого рогатого скота ферментируют моносахара до молочной кислоты и могут приводить к снижению pH в рубце, поэтому являются нежелательными.



Lactobacillales

“Нежелательная” микрофлора, условно-патогенные микроорганизмы

Энтеробактерии — семейство грамотрицательных палочкообразных спорообразующих бактерий, факультативные анаэробы. Кроме нормальной микрофлоры включает в себя и значительное количество патогенных микробов: **шигеллы, сальмонеллы и некоторые виды эшерихий.**



Salmonella sp.



“Нежелательная” микрофлора, условно-патогенные микроорганизмы

Актиномицеты (*Actinomycetales*) — ферментируют углеводы с образованием кислоты без газа, продукты ферментации уксусная, молочная, муравьиная и янтарная кислоты.

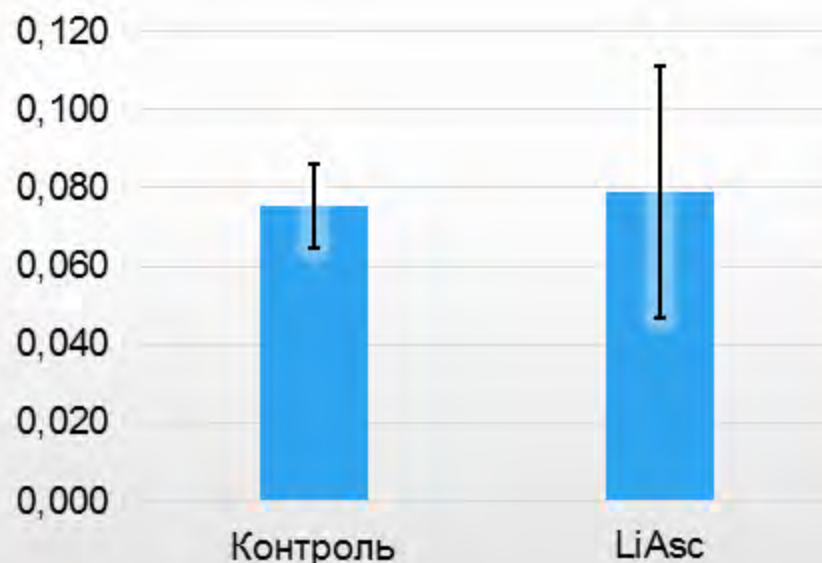


Actinomyces israelii, СЭМ (компьютерная окраска)



Streptomyces sp.

Актиномицеты



Патогенные микроорганизмы

Содержание групп патогенов в рубцовой жидкости овец контрольной и опытной групп, %.

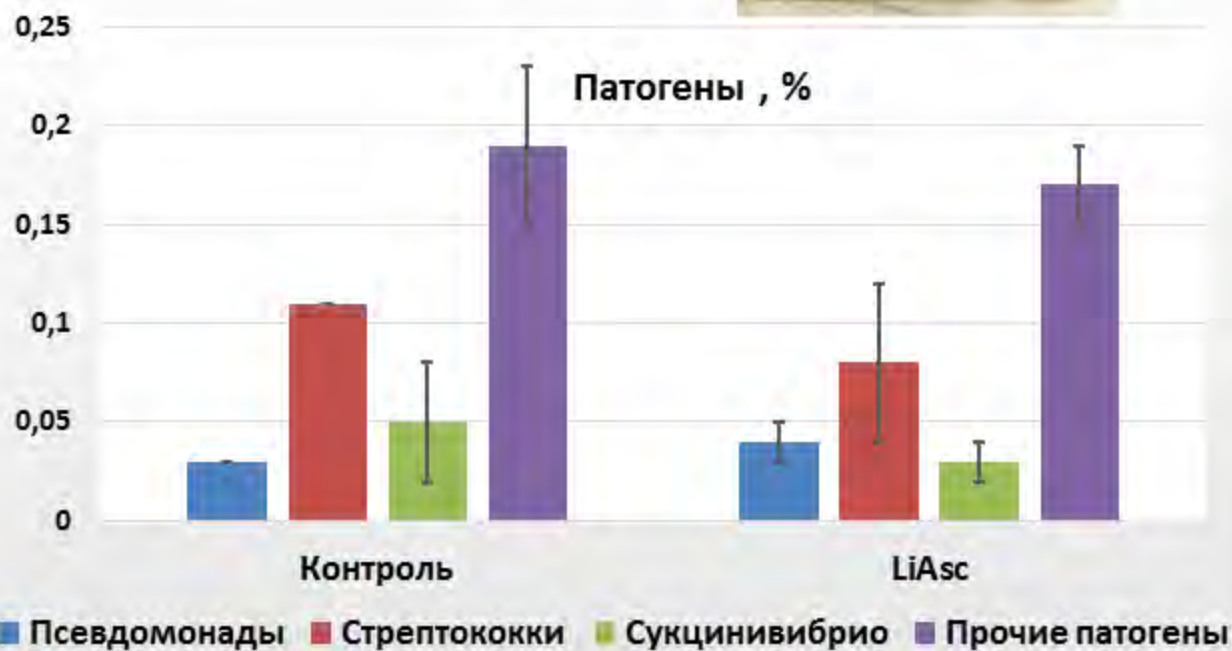
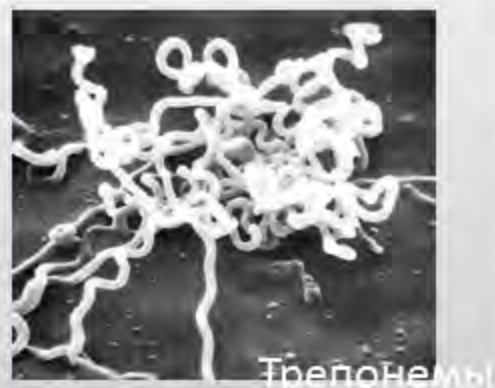
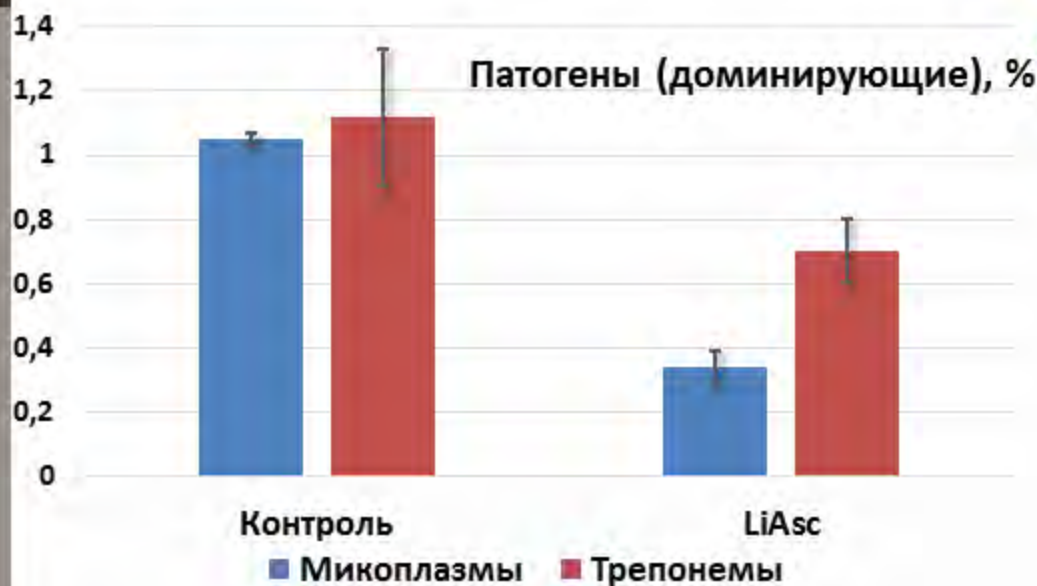
Группа патогенов	Патоген	Контроль		LiAsc	
		M	± m	M	± m
Микоплазмы	<i>Anaeroplasma bactoclasticum</i>	0,81	± 0,03	0,16	± 0,03
	<i>Anaeroplasma sp.</i>	0,12	± 0,01	0,11	± 0,04
	<i>An. abactoclasticum</i>	0,08	± 0,01	0,03	± 0,01
	<i>Mycoplasma sp.</i>	0,03	± 0,00	0,03	± 0,00
	<i>Mycoplasma penetrans</i>	0,02	± 0,00	0,01	± 0,01
Моракселлы	<i>Acinetobacter sp.</i>	0,02	± 0,02	0,04	± 0,02
Псевдомонады	<i>Pseudomonas sp.</i>	0,03	± 0,00	0,04	± 0,01
Стафилококки	<i>Staphylococcus sp.</i>	0,01	± 0,01	0,02	± 0,01
Стрептококки	<i>Strept. acidominimus</i>	0,06	± 0,01	0,06	± 0,05
	<i>Streptococcus sp.</i>	0,05	± 0,01	0,03	± 0,01

Патогенные микроорганизмы

Содержание групп патогенов в рубцовой жидкости овец контрольной и опытной групп, % (продолжение).

Группа патогенов	Патоген	Контроль		LiAsc	
		M	± m	M	± m
Сукцинивибрио	Succinivibrio dextrinosolvens	0,05	± 0,03	0,03	± 0,01
	Treponema sp.	0,60	± 0,02	0,33	± 0,05
Трепонемы	Treponema bryantii	0,09	± 0,03	0,12	± 0,01
	Treponema parvum	0,14	± 0,04	0,06	± 0,03
	Trep. isoptericolens	0,16	± 0,12	0,03	± 0,02
	Treponema porcinum	0,05	± 0,01	0,06	± 0,01
	Trep. amylovorum	0,03	± 0,01	0,05	± 0,03
	Trep. saccharophilum	0,05	± 0,03	0,03	± 0,01
	Trep. maltophilum	0,02	± 0,01	0,01	± 0,01
Хольдемании	Holdemania sp.	0,02	± 0,00	0,03	± 0,01
Эризипелотрикс	Kandleria vitulina	0,03	± 0,02	0,06	± 0,02
	Solobacterium sp.	0,02	± 0,01	0,07	± 0,04
Прочие		0,19	± 0,04	0,17	± 0,02
Всего		2,65	± 0,46	1,58	± 0,45

Содержание некоторых групп патогенов в рубцовой жидкости овец контрольной и опытной групп, %.



Заключение

Введение аскорбата лития в состав основного рациона овец в дозе 10 мг/кг живой массы способствовало уменьшению содержания патогенных и некоторых условно-патогенных бактерий.

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

Спасиђо
за внимание!

