BIFIP

«АГРАРНАЯ НАУКА – СЕЛЬСКОМУ ХОЗЯЙСТВУ»

XVII МЕЖДУНАРОДНАЯ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ

ПРИМЕНЕНИЕ В РАЦИОНЕ АДАПТОГЕНА АСКОРБАТА ЛИТИЯ УЛУЧШАЕТ МИКРОБИОТУ РУБЦА ОВЕЦ

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

Докладчик

Езерский Вадим Аркадьевич

Барнаул | 2022

Рубец – главный пищеварительный орган жвачных животных

Обладает большим объемом и большой ферментативной ёмкостью.

В ферментация корма участвуют сотни видов специфичных анаэробных микроорганизмов.

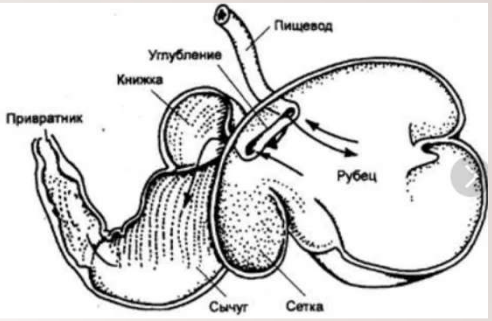
В одном *миллилитре* содержимого рубца овцы содержится:

1.61×10^{10} бактерий

10^6 жгутиковых

3.3×10^5 инфузорий

объем желудка овцы 6 литров



Основные микроорганизмы рубца - функции

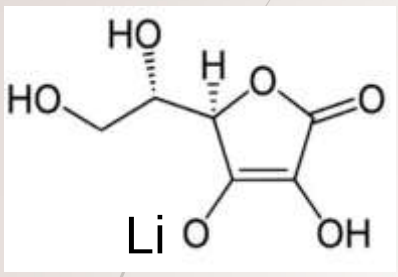
Бактерии:

целлюлозолитические - расщепляют клетчатку до ди- и моносахаридов;
амилолитические - расщепляют крахмал и мальтозу до янтарной, уксусной и муравьиной кислот);
молочнокислые - сбраживают простые углеводы (глюкозу, лактозу, мальтозу) сахарозу до молочной кислоты;
протеолитические - расщепляют белки последовательно до пептидов, аминокислот, аммиака;
липолитические расщепляют жиры до глицерина и жирных кислот.

Инфузории: подвергают корм механической обработке, используют для своего питания клетчатку. Протеолитическая и целлюлозолитическая активность, липидосинтезирующая функция, сбраживание углеводов.

Грибы: целлюлозолитическая активность, участие в синтезе аминокислот и гликогена, синтезе липидов, сбраживание простых сахаров, выработка антибиотиков.

Аскорбат лития – кормовая добавка, адаптоген.
В одной молекуле содержатся два активных действующих вещества – аскорбиновая кислота и литий – обладающие синергетическим эффектом. Безопасен, эффективен.



3,18% Li

Литий – важнейший микроэлемент для правильного функционирования ряда ферментов, гормонов, витаминов, факторов роста, иммунной и нервной систем.

Аскорбиновая кислота необходима для нормального функционирования соединительной и костной ткани. Выполняет биологические функции восстановителя и кофермента некоторых метаболических процессов. Антиоксидант.

Адаптогены *— группа препаратов природного или искусственного происхождения, способных повышать неспецифическую сопротивляемость организма к широкому спектру вредных воздействий и к стрессу, стимулировать иммунитет.*

Цель исследований:

С использованием метода NGS-секвенирования получить информацию о составе микробиоты рубца овец-ярок романовской породы, находившихся на содержании в условиях вивария.

Выяснить влияние адаптогена аскорбата лития на качественный и количественный состав микробиоты рубца овец.

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.

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

Домен	M ± m
Bacteria	95,66 ± 0,52
Archaea	0,18 ± 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%)

- 76 **класссов** бактерий (10 классов с долей выше 1%),

- 98 **порядков (**7 порядков - с долей выше 1%).
Основные: ***Bacteroidales*** – 55,1% и ***Clostridiales*** – 19,6%

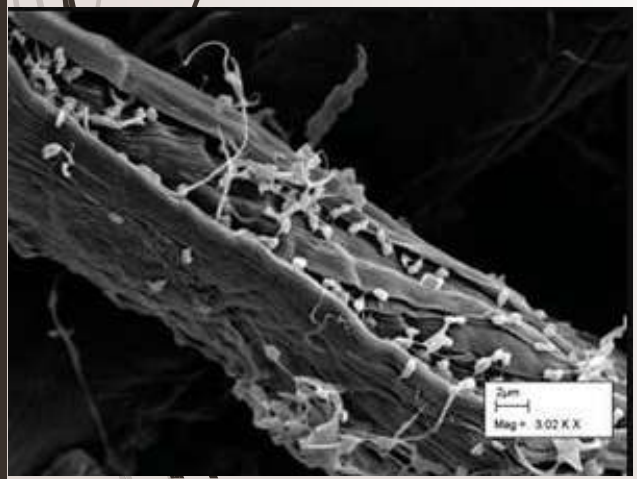
- 225 **семейств** (из них 12 с долей выше 1%), .

894 вида микроорганизмов,
большинство из которых некультивируемые

Целлюлозолитические бактерии рубца овец контрольной и опытной групп (% от общего количества бактерий)

	Контроль		LiAsc	
	M	± m	M	± m
Bacteroidetes	55,63	± 2,02	57,69	± 1,89
Ruminococcaceae	11,96	± 0,72	11,89	± 1,25
Lachnospiraceae	4,37	± 0,27	3,86	± 0,19
Clostridiaceae	1,22	± 0,06	0,95	± 0,18
Eubacteriaceae	0,42	± 0,02	0,98	± 0,16
Peptostreptococcaceae	0,02	± 0,00	0,04	± 0,02
Thermoanaerobacterales	0,02	± 0,01	0,01	± 0,00
Сумма целлюлозолитиков	73,64	± 1,62	**75,42**	**± 0,94**

Целлюлозолитическая активность* рубцового содержимого овец на фоне применения аскорбата лития (M±m)



Контроль	LiAsc
До исследования	
11,89±0,73	11,47±1,24
Через 60 суток	
11,82±0,51	**16,31±1,52***

* Целлюлозолитическую активность содержимого рубца определяли по методу Долгова (1982 г.)

Содержание “нежелательной” и условно-патогенной микробиоты рубца овец, %.

	Контроль		LiAsc	
	M	± m	M	± m
Lactobacillales	0,57	± 0,097	0,42	± 0,26
Enterobacteriaceae	0,04	± 0,02	0,02	± 0,01
Actinomycetales	0,08	± 0,01	0,08	± 0,03

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

Патогенная микробиота рубца овец

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

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

Патогенная микробиота рубца овец
(продолжение таблицы)

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

Группа патогенов	Патоген	Контроль		LiAsc	
		M	± m	M	± m
Сукцинивибрио	Succinivibrio dextrinosolvens	0,05	± 0,03	0,03	± 0,01
Трепонемы	Treponema sp.	0,60	± 0,02	**0,33**	**± 0,05**
	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
Эризипелотриксы	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**

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.

Уменьшалось содержание патогенных и некоторых условно-патогенных бактерий.

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!