

**Нормофлора микробиоты рубца овец
и влияние на нее адаптогена
аскорбата лития, введенного в рацион.**

*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*

Колоскова Е.М.

ФУНКЦИИ МИКРОБИОТЫ РУБЦА ЖВАЧНЫХ ЖИВОТНЫХ

- Входит в состав пищевых цепей, приводящих к расщеплению сложных целлюлозосодержащих биополимеров до легко усвояемых хозяином мономеров;
- Обеспечивает непрерывность и термодинамическую выгодность таких процессов в условиях ЖКТ;
- Обеспечивает хозяина витаминами, ростовыми факторами, регуляторами развития, как выделяемыми микроорганизмами, так и поступающими хозяину в результате гидролиза биомассы микробионтов;
- Защищает хозяина от патогенных микроорганизмов;
- Активирует системы иммунитета хозяина.



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.

Цель исследований.

- получить новые знания о составе микробиоты рубца овец романовской породы с использованием молекулярно-генетического метода (NGS-секвенирование).
- выяснить влияние адаптогена аскорбата лития на качественный и количественный состав микрофлоры рубца овец

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

Возраст животных: 1,5-2 года
Условия содержания: виварий ВНИИФБиП
Длительность эксперимента – 60 суток
Выделение ДНК из рубцового содержимого



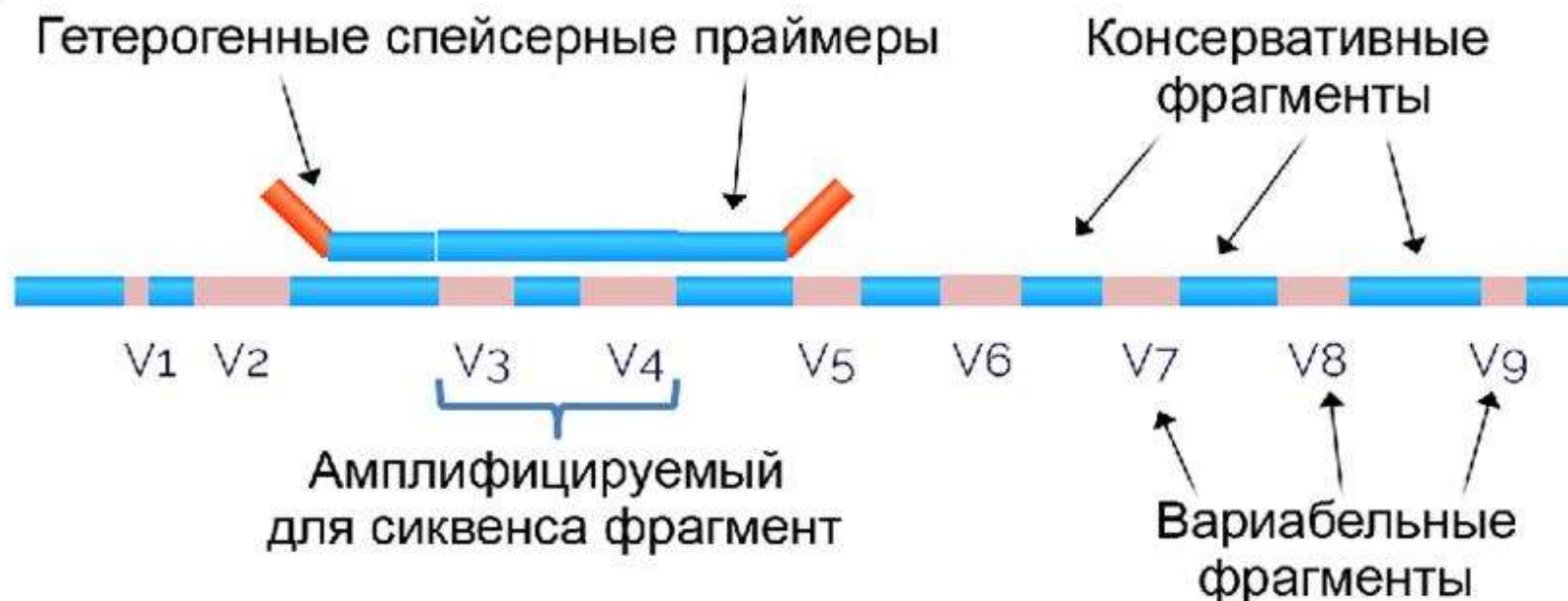
NGS

Основной рацион:
концентрат – 500 г, сено разнотравное 1,5 кг

Состав гранулированного комбикорма
— «Комбикорм для коз и овец КК-85 (МРС)»

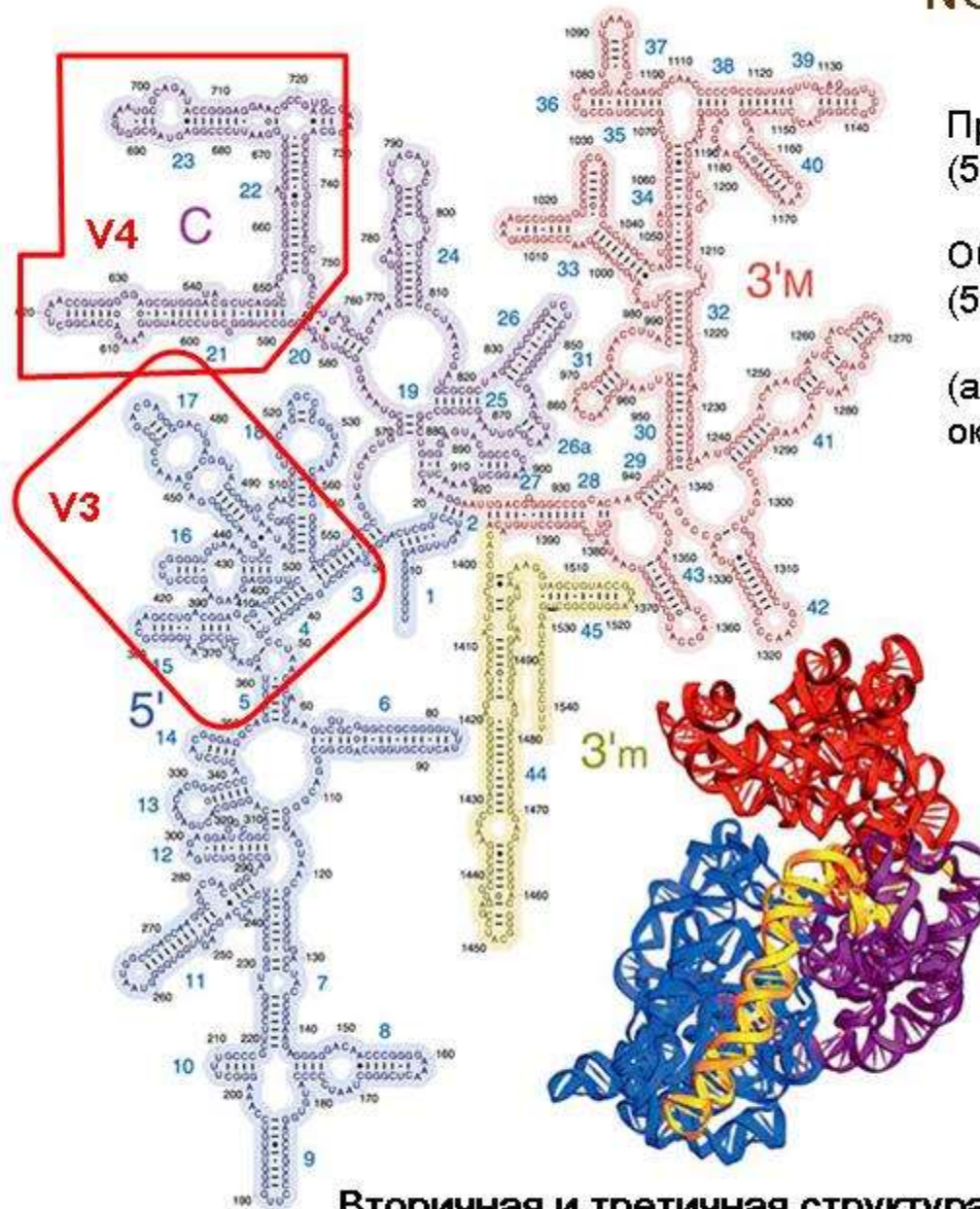
Состав рецепта		Дополнительно введено витаминов и микроэлементов в 1 кг комбикорма	
Наименование	%	Наименование, ед.изм	значение
Овес	15,0	Fe, мг	25,0
Ячмень	46,0	Cu, мг	2,5
Масло подсолнечное	1,0	Zn, мг	30,0
Отруби пшеничные	16,0	Mn, мг	40,0
Шрот подсолн., СП36%, СК 19	15,5	Co, мг	1,0
Травяная мука	5,5	I, мг	1,0
Дефторированный фосфат	2,0	Se, мг	0,15
Известняковая мука	3,0	Витамин А, тыс.МЕ	10,0
Премикс	0,5	Витамин D3, тыс.МЕ	1,0
Соль поваренная	1,0	Витамин Е, мг	10,0
		S	100,0

Мишень: ген **16S** рРНК



Первичная структура гена 16S рРНК

NGS-секвенирование.



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

Обратный праймер: **806R**
(5'-GGACTACNVGGGTWTCTAAT-3'),

(амплификат от 343 по 806 нуклеотид –
около 460 пн, V3V4)

Next generation sequencing



Next generation
sequencing

Informatics analysis
using super computers



Вторичная и третичная структура гена 16S рРНК

Результаты NGS секвенирования микробиома рубца овец:

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

Группа	Контроль		LiAsc	
	M	m	M	m
Bacteria	95,40	± 0,15	95,89	± 0,53
Archaea	0,18	± 0,02	0,24	± 0,06

Итого:

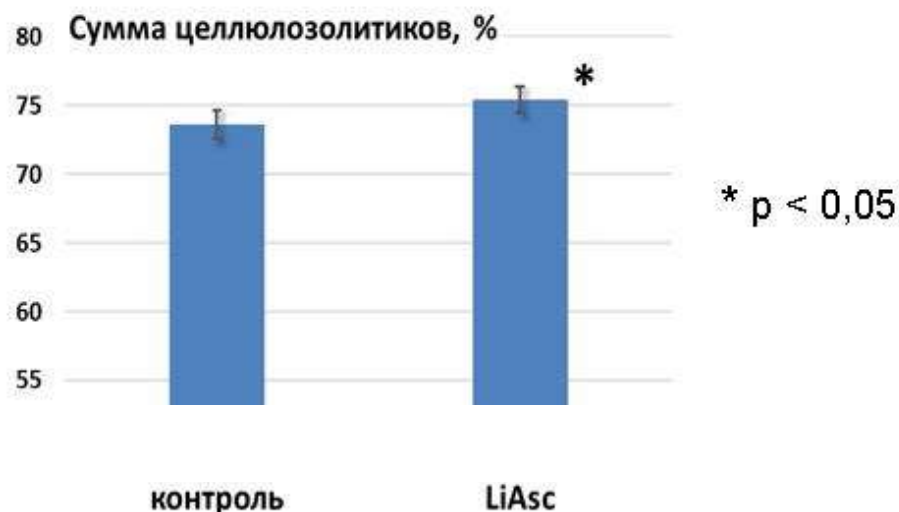
- 37 филумов (отделов) бактерий, из них 20 филумов с долей выше 0,1% от тотального количества микроорганизмов; основные филумы - *Bacteroidetes* (53-60%) и *Firmicutes* (24-29%)
- 76 классов бактерий (24 класса с долей выше 0,1%);
- 98 порядков бактерий (28 порядков с долей выше 0,1%);
- 228 семейств;
- 660 родов;
- 894 вида.

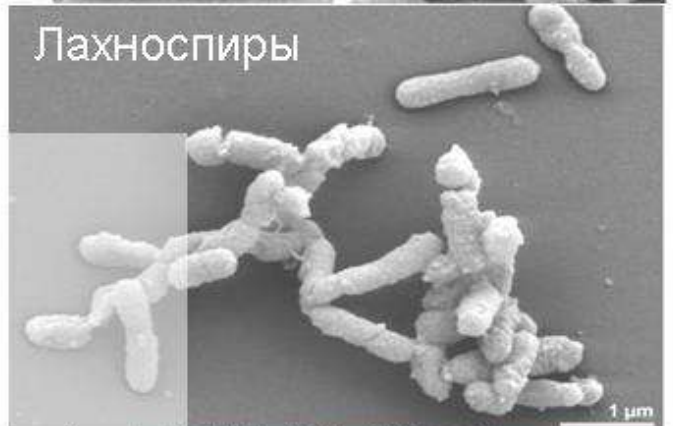
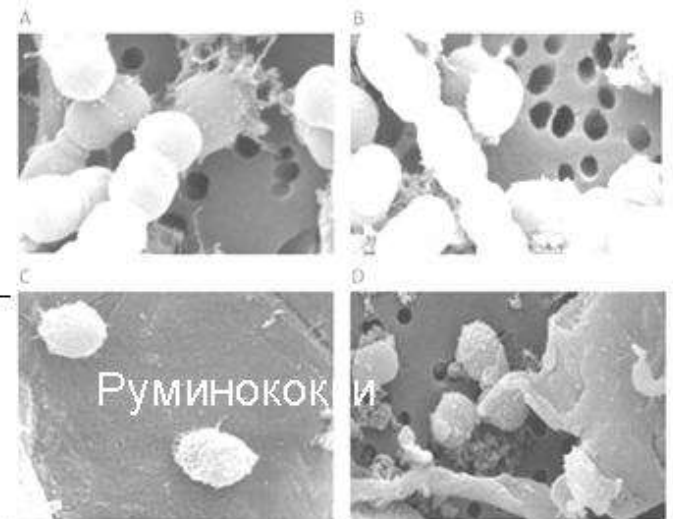
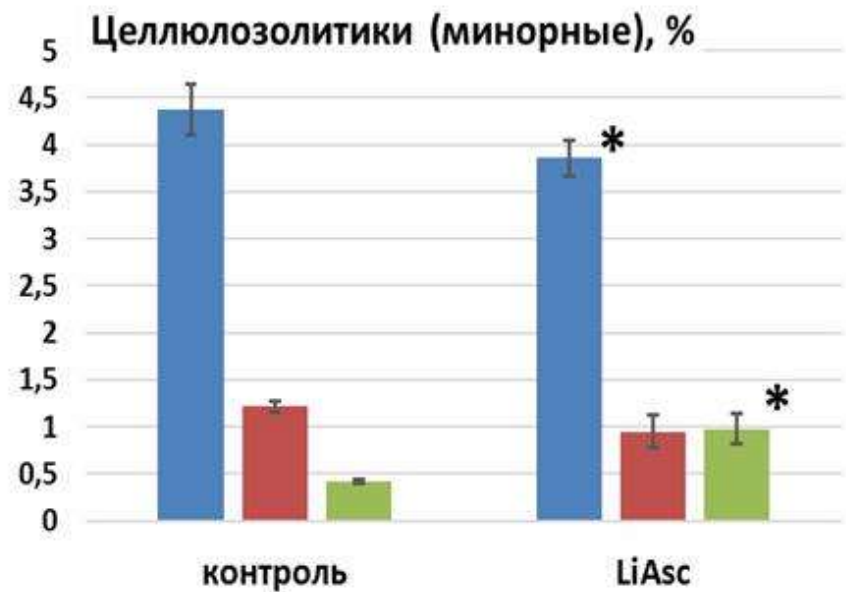
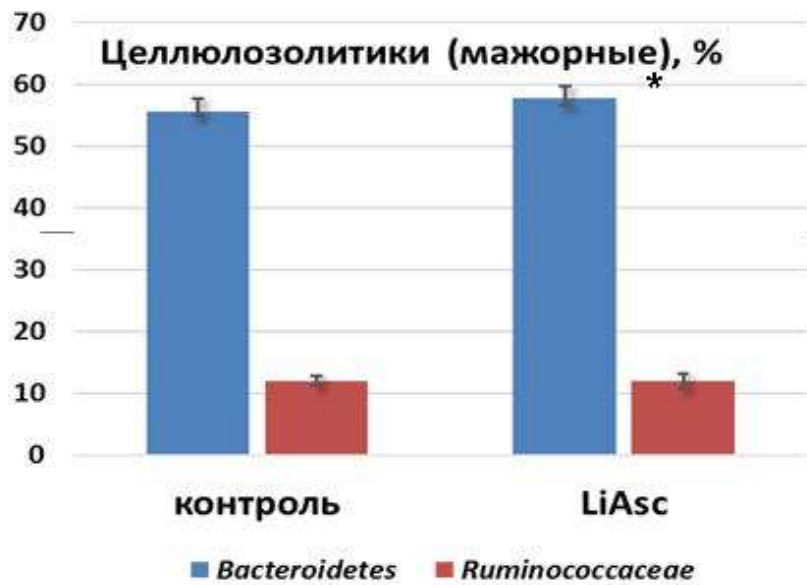
Нормофлора рубца овец

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

Метод:

NGS секвенирование,
геномный секвенатор MiSeq
(«Illumina, Inc.», США)
(ООО «Биотроф+»)





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

Группа	Контроль		LiAsc	
	М	± m	М	± m
Лактат-утилизирующие бактерии				
<i>Veillonellaceae</i>	2,67	± 0,15	2,29	± 0,53
Другие				
<i>Bifidobacteriales</i>	0,002	± 0,002	0,005	± 0,007
Сумма бацилл	0,31	± 0,02	0,52	± 0,04



Выводы:

Группы микроорганизмов, способствующих перевариванию и усвоению кормов (целлюлозолитические бактерии, лактат-ферментирующие бактерии, полезные бациллы) присутствовали в рубцовом содержимом у овец контрольной и опытной групп в равномерных и высоких количествах: полезных целлюлозолитиков обнаруживалось не менее 70% от всех обнаруженных микроорганизмов, лактат-ферментирующих бактерий – не менее 1,7%, полезных бацилл – не менее 0,3%.

Показано положительное влияние аскорбата лития на качественный состав микробиоты рубца овец: введение аскорбата лития в рацион способствовало увеличению доли целлюлозолитических бактерий и полезных бацилл.

Можно рекомендовать применение аскорбата лития в дополнение к основному рациону овец как при удовлетворительных условиях содержания, так и в условиях стресса.



Спасибо за внимание!

