

Коррекция микробиоты рубца овец введением в рацион добавки стресс-протекторного адаптогена

*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.



На животных воздействуют разнообразные факторы окружающей среды, из которых одни являются обычными физиологическими раздражителями, а другие – стрессорами.

С возрастом формируются различные адаптационные механизмы, но возможности организма ограничены.

Стрессы, нарушения в питании, содержании животных и прочие факторы ослабляют неспецифическую резистентность организма (врожденный иммунитет, способность обезвреживать чужеродный и потенциально опасный биоматериал).

Перевод животноводства на промышленную основу с использованием новых технологических способов эксплуатации вызывает необходимость изучения адаптационных возможностей организма в новых условиях.

Профилактика отрицательных последствий неизбежных стресс-факторов включает проведение комплекса мероприятий, направленных на уменьшение влияния стресса на организм животных.

Транспорти-
ровка

Температурный
стресс

Отъем
молодняка

Смена
рациона

Ветеринарные
манипуляции

Стресс

– совокупность неспецифических адаптационных (нормальных) реакций организма на воздействие различных неблагоприятных факторов – стрессоров, нарушающих его гомеостаз, а также соответствующее состояние организма в целом

Гематологические
показатели

Показатели
иммунитета

Гормональный
фон

Микробиота

Пищеварение

Антиоксидантный
статус

Метаболические
процессы

Применение биологически активных и фармакологических средств обеспечивает уменьшение отрицательных последствий стресса и ускорение процесса адаптации животных к действию неблагоприятных факторов, вызывающих перевозбуждение или угнетение центральной нервной системы, увеличение агрессивности, снижение резистентности, интенсивный обмен микрофлорой и увеличение ее вирулентности.

Для этого используют диетопрофилактику, применение средств, повышающих общую резистентность организма, иммуностимуляторов, антимикробных, успокаивающих и прочих препаратов.

Биологически активные вещества вводят в корм и используют групповым методом. Для снижения возбудимости и агрессивности животных и птиц применяют психодепрессанты.

Особое внимание отводится пробиотикам, пребиотикам и, в последнее время - адаптогенам.

Пробиотики — это «живые микроорганизмы, которые при применении в адекватных количествах вызывают улучшение здоровья организма-хозяина».

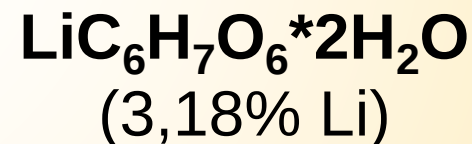
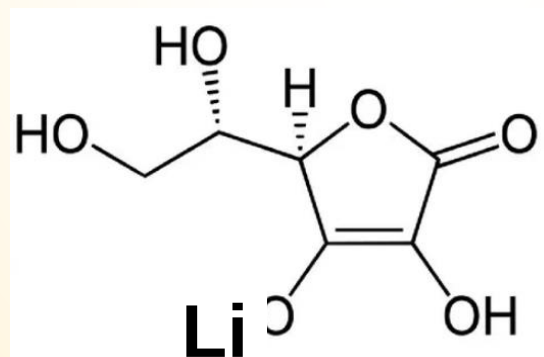
Пребиотики - субстанции, которые стимулируют нормальную микрофлору кишечника и/или тормозят патологическую.

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

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.



Микробиота ↔ Кишечник ↔ Мозг

Цель исследований: выяснить влияние адаптогена аскорбата лития на качественный и количественный состав микрофлоры рубца овец с использованием молекулярно-генетических методов.

Схема эксперимента

Длительность эксперимента – 60 суток

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

По окончании эксперимента из рубцового содержимого выделяли ДНК и с использованием молекулярно-генетических методов определяли состав микробиома рубца.

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

Метод количественной ПЦР (RT-PCR)

Принцип: все эукариоты имеют общий ген, кодирующий 16S рРНК. В этом гене есть чередующиеся консервативные и переменные последовательности.

Мишень: ген 16S рРНК

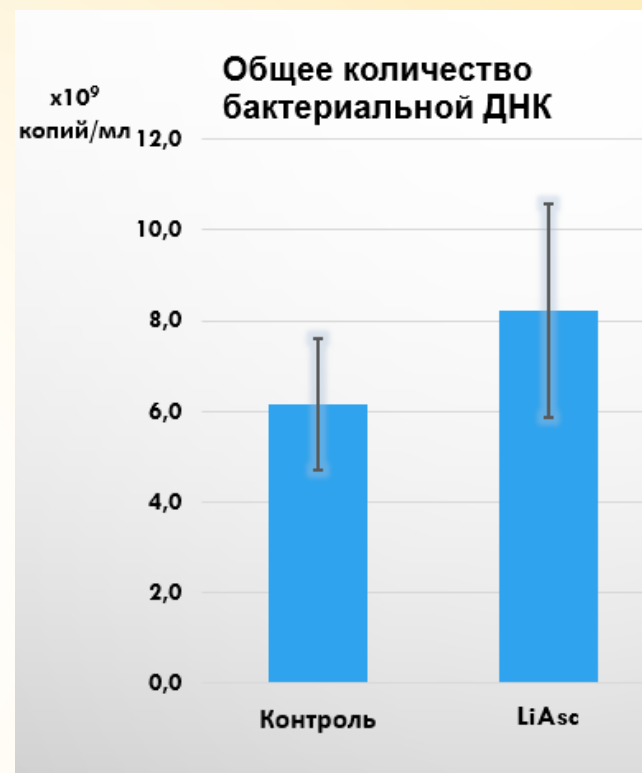
Универсальные праймеры к консервативным последовательностям для определения общего количества бактерий

Прямой: HDA1 - АСТССТАСGGGAGGCAGCAG,

Обратный: HDA2 – АТТАССГСГГСТГСТГГ

(амплификат от 349 по 547 нуклеотид гена 16S рРНК – около 200 пн)

Результат: определение общего количества бактериальной ДНК в рубце овец



Метод NGS-секвенирования

Дает возможность получить нуклеотидные последовательности переменных областей гена 16S рРНК. Специальное программное обеспечение позволяет установить видовую принадлежность по вычисленным последовательностям.

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

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

	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	$\pm 0,032$

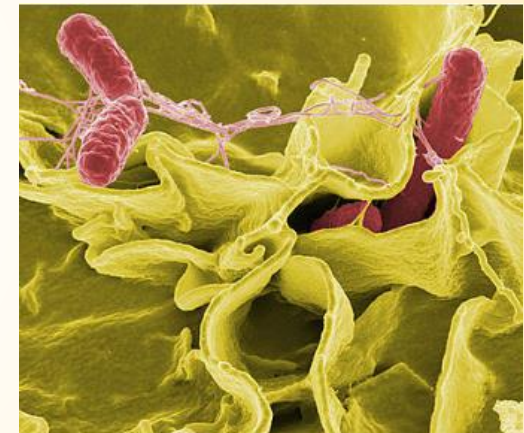
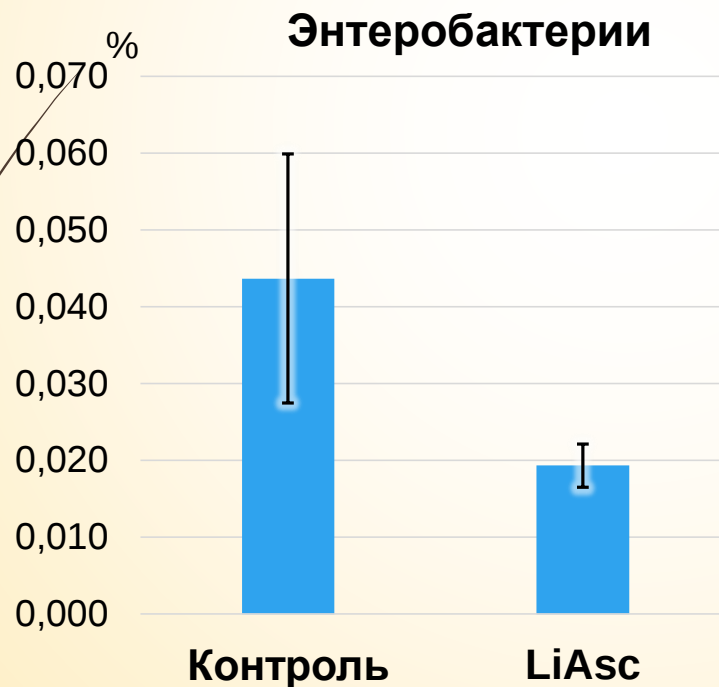
Лактобактерии (Lactobacillales) в рубце мелкого рогатого скота ферментируют моносахара до молочной кислоты и могут приводить к снижению pH в рубце, поэтому являются нежелательными.



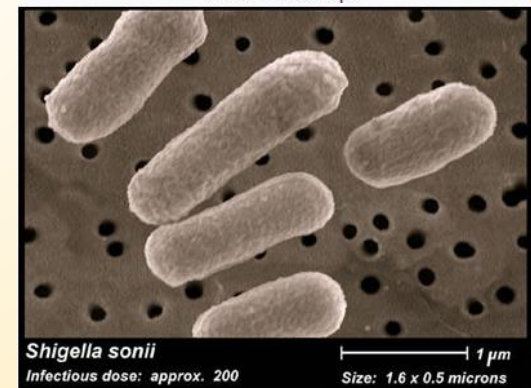
Lactobacillales

“Нежелательная” микробиота, условно-патогенные микроорганизмы

Энтеробактерии (Enterobacteriaceae) — 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.



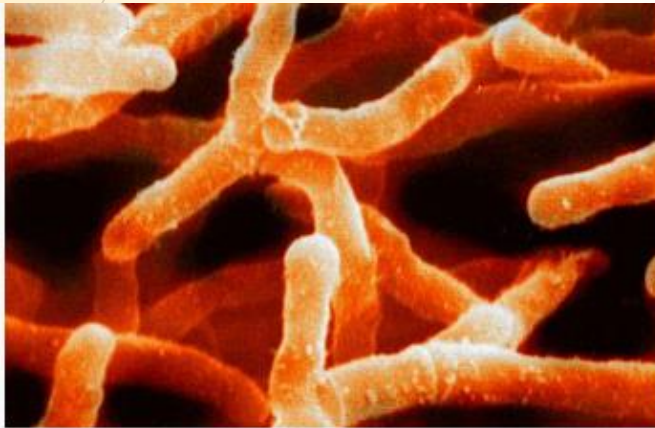
Shigella sonii

Infectious dose: approx. 200

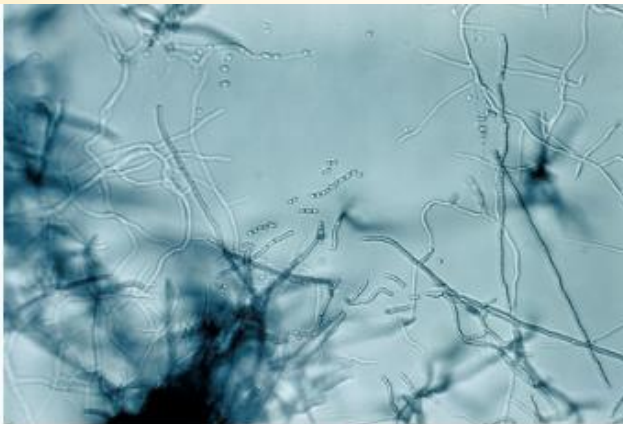
Size: 1.6 x 0.5 microns

“Нежелательная” микробиота, условно-патогенные микроорганизмы

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

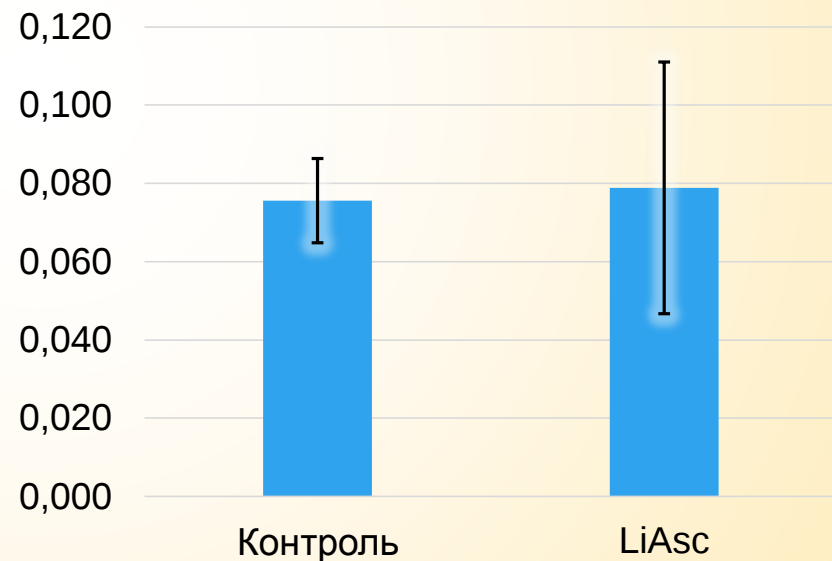


Actinomyces israelii, СЭМ (компьютерная окраска)



Streptomyces sp.

Актиномицеты



Патогенная микробиота рубца овец

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

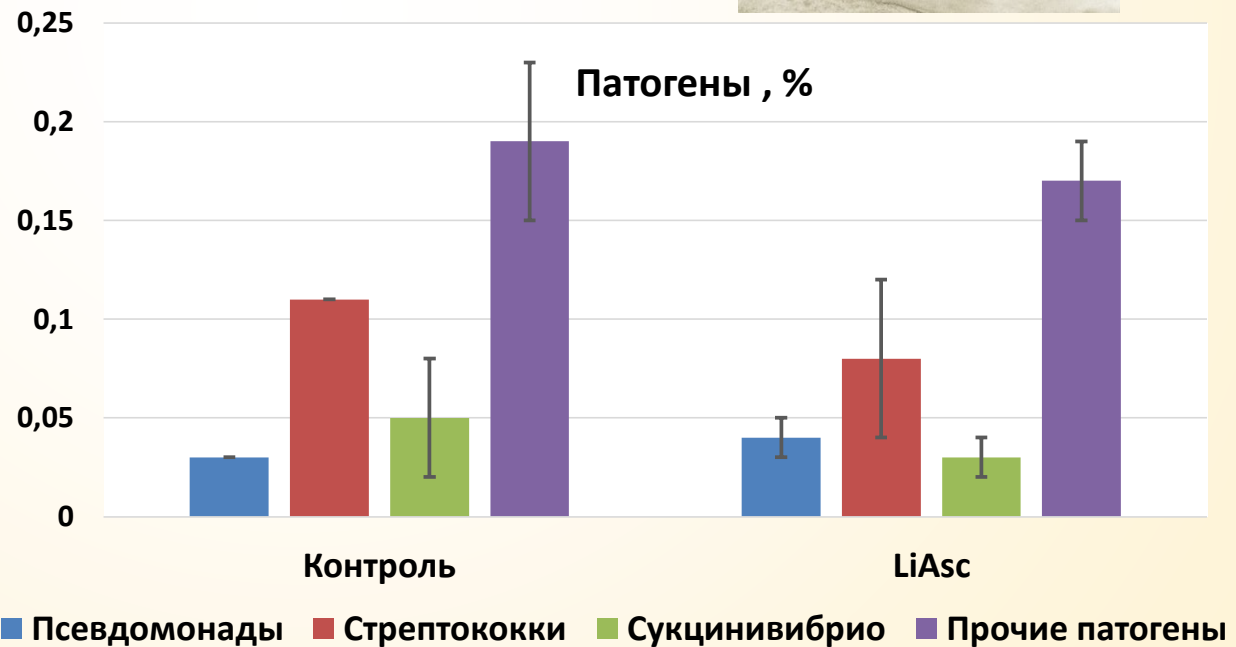
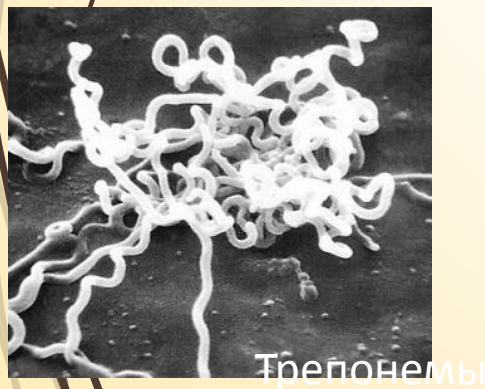
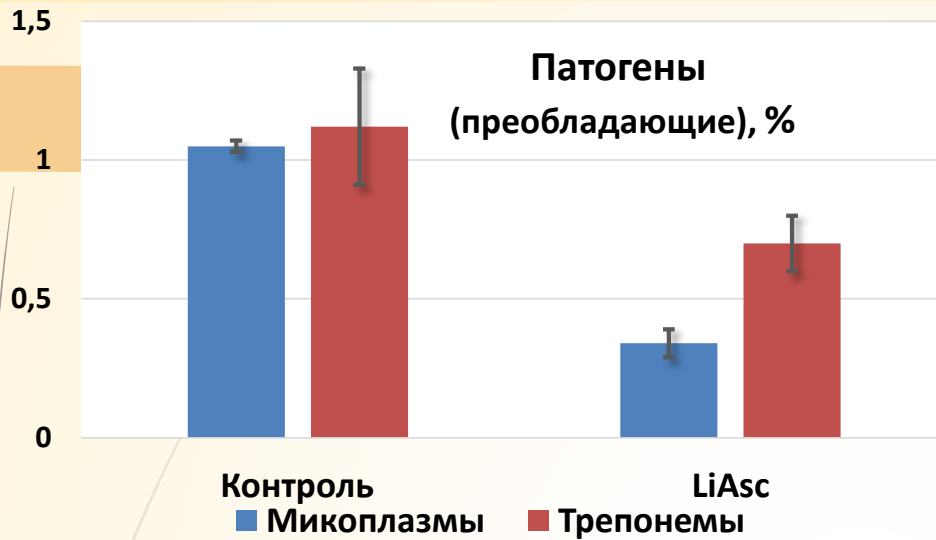
Группа патогенов	Патоген	Контроль		LiAsc	
		M	± m	M	± m
Микоплазмы	<i>Anaeroplasmabactoclasticum</i>	0,81	± 0,03	0,16	± 0,03
	<i>Anaeroplasmasp.</i>	0,12	± 0,01	0,11	± 0,04
	<i>An. abactoclasticum</i>	0,08	± 0,01	0,03	± 0,01
	<i>Mycoplasmasp.</i>	0,03	± 0,00	0,03	± 0,00
	<i>Mycoplasmapenetrans</i>	0,02	± 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

Патогенная микробиота рубца овец (продолжение таблицы)

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
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
Эризипелотрикс ы	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 адаптогена 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.



Спасибо
за внимание!