



# Kent Academic Repository

**Nikonov, I N, Il'ina, Larisa A., Kochish, Ivan I., Romanov, Michael N, Podobed, L I, Laptev, Georgi Yu., Panin, A N, Smolenskij, Vladimir I. and Suraj, Peter F. (2017) [Changing the intestinal microbiota of chickens in ontogenesis] Изменение микробиоты кишечника кур в онтогенезе. Ukrainian Journal of Ecology, 7 (4). pp. 492-499. ISSN 2520-2138.**

## Downloaded from

<https://kar.kent.ac.uk/68759/> The University of Kent's Academic Repository KAR

## The version of record is available from

[https://doi.org/10.15421/2017\\_150](https://doi.org/10.15421/2017_150)

## This document version

Publisher pdf

## DOI for this version

## Licence for this version

CC BY (Attribution)

## Additional information

In Russian; English abstract

## Versions of research works

### Versions of Record

If this version is the version of record, it is the same as the published version available on the publisher's web site. Cite as the published version.

### Author Accepted Manuscripts

If this document is identified as the Author Accepted Manuscript it is the version after peer review but before type setting, copy editing or publisher branding. Cite as Surname, Initial. (Year) 'Title of article'. To be published in **Title of Journal**, Volume and issue numbers [peer-reviewed accepted version]. Available at: DOI or URL (Accessed: date).

## Enquiries

If you have questions about this document contact [ResearchSupport@kent.ac.uk](mailto:ResearchSupport@kent.ac.uk). Please include the URL of the record in KAR. If you believe that your, or a third party's rights have been compromised through this document please see our [Take Down policy](https://www.kent.ac.uk/guides/kar-the-kent-academic-repository#policies) (available from <https://www.kent.ac.uk/guides/kar-the-kent-academic-repository#policies>).

## Changing the intestinal microbiota of chickens in ontogenesis

I.N. Nikonov<sup>1</sup>, L.A. Il'ina<sup>1</sup>, I.I. Kochish<sup>2</sup>, M.N. Romanov<sup>2</sup>, L.I. Podobed<sup>3</sup>, G.Yu. Laptev<sup>1</sup>, A.N. Panin<sup>2</sup>,  
V.I. Smolenskij<sup>2</sup>, P.F. Suraj<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Limited Liability Company LLC "BIOTROF +"  
192284, St. Petersburg, Zagrebsky b., 19, block 1.

<sup>2</sup> Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology - MBA named after K.I. Skriabin  
109472, Moscow, Academician Scriabin St., 23

<sup>3</sup> Poltava Institute of Pig Production and Agrarian-Industrial Production, National Academy of Sciences of Ukraine  
36013 Poltava, Shvedskaya Mogila St., 1, E-mail: [ilnikonov@yandex.ru](mailto:ilnikonov@yandex.ru)

Submitted: 30.10.2017. Accepted: 02.12.2017

This paper presents the results of a molecular genetic analysis of the changes in the composition of the microbiota of the blind processes of the intestine of the hens of the industrial loam "Lohmann Brown" during ontogeny. According to the results of the analysis of taxonomic affiliation it is established that over 70% of the phylotypes belong to the three phylums - Firmicutes, Bacteroidetes and Proteobacteria, less represented were Actinobacteria, Tenericutes and Fusobacteria, and a significant number of unidentified bacteria was detected. During ontogenesis, birds exhibited marked changes in the ratio of the number of phylotypes and taxonomic groups of the intestinal microbiota. At the age of 20-40 weeks, the birds showed a significant increase in the representatives of the Clostridia class involved in the metabolism of carbohydrates, acid-utilizing bacteria of the order Negativicutes and bacteria with high antagonistic properties (Bifidobacteriales, Bacillus), as well as a significant decrease in the content of a number of opportunistic and pathogenic taxa - family Enterobacteriaceae, the order of Pseudomonadales, phylum Tenericutes. The greatest homogeneity of the bacterial community of the blind processes of the gastrointestinal tract in laying hens was revealed at the age of 20 weeks, which is confirmed by the estimation of biodiversity by means of ecological indices.

**Keywords:** bacterial community; microbiota; blind intestinal processes; chickens; Lohmann Brown cross; T-RFLP analysis

## Изменение микробиоты кишечника кур в онтогенезе

И.Н. Никонов<sup>1</sup>, Л.А. Ильина<sup>1</sup>, И.И. Кочиш<sup>2</sup>, М.Н. Романов<sup>2</sup>, Л.И. Подобед<sup>3</sup>, Г.Ю. Лаптев<sup>1</sup>,  
А.Н. Панин<sup>2</sup>, В.И. Смоленский<sup>2</sup>, П.Ф. Сурай<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Общество с ограниченной ответственностью ООО «БИОТРОФ+»  
192284, г. Санкт-Петербург, Загребский б., д. 19, корп. 1.

<sup>2</sup> ФГБОУ ВПО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии - МВА  
имени К.И. Скрябина», 109472, г. Москва, ул. Академика Скрябина, д.23

<sup>3</sup> Полтавский институт свиноводства и аграрно-промышленного производства НААН Украины  
36013 г. Полтава, ул. Шведская Могила, 1.

E-mail: [ilnikonov@yandex.ru](mailto:ilnikonov@yandex.ru)

В настоящем исследовании представлены результаты молекулярно-генетического анализа изменения состава микробиоты слепых отростков кишечника кур промышленного кросса «Ломанн Браун» в течение онтогенеза. По результатам анализа таксономической принадлежности установлено, что свыше 70% филоטיפов относится к трем филумам - Firmicutes, Bacteroidetes и Proteobacteria, менее представлены были Actinobacteria, Tenericutes и Fusobacteria, а также выявлено присутствие значительного количества неидентифицированных бактерий. В течение онтогенеза у

птиц наблюдались заметные изменения соотношения количества флотипов и таксономических групп микробиоты кишечника. В возрасте 20-40 недель у птиц отмечено достоверное увеличение представителей класса Clostridia, участвующих в метаболизме углеводов, кислот-утилизирующих бактерий порядка Negativicutes и бактерий с высокими антагонистическими свойствами (*Bifidobacteriales*, *Bacillus*), а также достоверное снижение содержания ряда условно-патогенных и патогенных таксонов – семейства Enterobacteriaceae, порядка Pseudomonadales, филума Tenericutes. Наибольшая однородность бактериального сообщества слепых отростков ЖКТ у несушек выявлена в 20-недельном возрасте, что подтверждается оценкой биоразнообразия при помощи экологических индексов.

**Ключевые слова:** бактериальное сообщество; микробиота; слепые отростки кишечника; куры; кросс «Ломанн Браун»; T-RFLP-анализ

## Введение

Птицеводство является одной из ведущих отраслей сельского хозяйства нашей страны благодаря высоким показателям производства мяса птицы и яиц. Однако сегодня в данной сфере специалисты отмечают ряд проблем, связанных с интенсификацией производства птицеводческой продукции.

Микроорганизмы, населяющие желудочно-кишечный тракт (ЖКТ), обеспечивают организм хозяина питательными веществами за счет использования собственных целлюлозолитических и амилалитических ферментов, в связи с полным их отсутствием у сельскохозяйственной птицы, а также витаминами, антибиотиками, белками, гормонами и другими соединениями (Tarakanov, 2006; Stanley et al, 2014).

Бактериальное сообщество пищеварительного тракта в течение жизни птицы претерпевает ряд последовательных изменений, связанных с рядом факторов, основными из которых являются рост и развитие кишечного тракта, режим кормления и состав корма. При этом микроорганизмы кишечника выступают в качестве высокочувствительной индикаторной системы, которая реагирует в ответ на происходящие изменения. Стоит отметить, что изменение экологического соотношения между облигатными видами микроорганизмов пищеварительного тракта не всегда оказывает положительное воздействие на метаболические процессы и состояние здоровья птицы (Torok et al., 2011). В связи с этим, актуальным является вопрос изучения качественного и количественного состава микробиоты ЖКТ в процессе онтогенеза птиц.

Разработка и применение современных технологий, направленных на реализацию максимальной продуктивности, таких как частые вакцинации, широкое применение антибиотиков и химических антибактериальных средств, нередко приводят к ухудшению здоровья птицы, связанному с развитием неконтролируемых вторичных инфекций – сальмонеллезом, кампилобактериозом, стафилококкозом, клостридиозом, а также полимикробных заболеваний (Dzhavadov et al., 2016; Collier et al., 2008). Патогенные микроорганизмы вызывают нарушение состава кишечной микробиоты, изменения толщины, внешнего вида, мышечного тонуса, прочности и повышенной парацеллюлярной проницаемости стенок кишечника для токсических метаболитов, что в итоге негативно отражается на состоянии здоровья и продуктивности стада.

Снижение риска развития инфекционных патологий у птиц широко связывают с формированием здоровой микробиоты пищеварительного тракта, которая способна обеспечить высокую резистентность к колонизации кишечника патогенами (Yeoman et al., 2012; Callaway et al., 2008; Kerr et al., 2013) благодаря синтезу ими летучих жирных кислот (ЛЖК), бактериоцинов и других, сдерживающих рост и развитие патогенных видов, соединений (Brisbin et al., 2011; Dobson et al., 2012; Messaoudi et al., 2012).

До 90-х годов прошлого столетия исследования микроорганизмов в разных экосистемах были ограничены изучением культивируемых штаммов на искусственных питательных средах. Существенно расширить понимание состава микробиоты позволило развитие метагеномных методов изучения микроорганизмов, важной особенностью которых можно считать отсутствие необходимости в культивировании микроорганизмов (Park et al., 2008; Amann et al., 1995). Этот момент является принципиальным в понимании существующего биоразнообразия, поскольку до 99% микроорганизмов биосферы не поддаются культивированию на искусственных питательных средах, но при этом могут играть важную экологическую роль (Dibner et al., 2008).

В целом ряде работ была дана многосторонняя характеристика микробиоты кишечника цыплят-бройлеров, которая позволила детально охарактеризовать ряд важных закономерностей в функционировании этой сложной микробиоэкосистемы (Mohd Shaufi et al., 2015; Wei et al., 2016).

Однако подобные исследования в отношении кур-несушек практически отсутствуют, несмотря на высокую потребность в таких данных.

Целью данной работы является исследование сукцессии бактериального сообщества ЖКТ птиц промышленного кросса «Ломанн Браун» в процессе онтогенеза с использованием молекулярно-генетического метода T-RFLP.

## Материалы и методы

### Отбор образцов

Объектом исследования были куры яичного кросса «Ломанн Браун» различного возраста: 4, 20, 40 и 60 недель. Исследования проведены в молекулярно-генетической лаборатории ООО «БИОТРОФ+» и международной лаборатории молекулярной генетики и геномики птицы Московской государственной академии ветеринарной медицины и

биотехнологии - МВА имени К.И. Скрябина (Москва) с соблюдением всех технологических параметров. Кормление птицы осуществляли вручную, сухими полнорационными комбикормами в соответствии с нормами ВНИТИП.

Отбор содержимого слепых отростков кишечника для молекулярно-генетических исследований проводили от 5 голов из каждой возрастной группы птиц при убое со строгим соблюдением стерильности по установленным требованиям.

Состав микробного сообщества ЖКТ исследовали методом T-RFLP анализа (Fisinin, 2013).

Тотальную ДНК из образцов выделяли с помощью набора «Genomic DNA Purification Kit» («Fermentas, Inc.», Литва) согласно инструкции производителя. ДНК-амплификацию проводили с использованием ДНК-амплификатора Verity («Life Technologies, Inc.», США) с помощью эубактериальных праймеров: 63F (CAGGCCTAACACATGCAAGTC) – с меткой на 5'-конце (флуорофор D4 – WellRed) и 1492R (TACGGHTACCTTGTACGACTT), которые позволяют амплифицировать фрагмент гена 16S рНК с позициями от 63 до 1492 (нумерация указана для гена 16S рНК *Escherichia coli*) в режиме: 95°C - 3 мин (1 цикл); 95°C - 30 с, 55°C - 40 с, 72°C - 60 с (35 циклов), 72°C - 5 мин.

Флуоресцентно-меченые ампликоны гена 16S рНК очищали с помощью 3М раствора гуанидин-изотиоционата по стандартной методике (Bryukhanov et al., 2012). Конечную концентрацию тотальной ДНК в растворе определяли с помощью флуориметра Qubit («Invitrogen, Inc.», США) с использованием наборов «Qubit dsDNA BR Assay Kit» («Invitrogen, Inc.», США) согласно рекомендациям производителя.

Рестрикцию 30–50 нг ДНК проводили рестриктазами HaeIII, HhaI и MspI, следуя рекомендации изготовителя («Fermentas», Литва), в течение 2 ч при 37°C. Продукты рестрикции осаждали этанолом, затем добавляли 0,2 мкл маркера молекулярного веса Size Standart-600 («Beckman Coulter», США) и 10 мкл формамида Sample Loading Solution («Beckman Coulter», США). Анализ проводили с помощью CEQ 8000 («Beckman Coulter», США) согласно рекомендациям производителя. Погрешность прибора CEQ 8000 составляла не более 5%. Вычисление размеров пиков и их площади проводили в программе Fragment Analysis («Beckman Coulter», США), на основании чего выделяли подтипы (флотипы) с принятой в исследовании погрешностью в 1 нуклеотид и определяли их относительное содержание в микробном сообществе.

Принадлежность бактерий к определенной таксономической группе определяли с использованием программы Fragment Sorter (<http://www.oardc.ohiostate.edu/trflpfragsort/index.php>). Математическую и статистическую обработку результатов, расчет экологических индексов доминирования Симпсона и биоразнообразия Шеннона проводили в программе Past (<http://folk.uio.no/ohammer/past/>).

**Список сокращений:** ПЦР – полимеразная цепная реакция, T-RFLP-анализ (полиморфизм длин терминальных рестрикционных фрагментов).

## Результаты и обсуждение

В этом исследовании, используя молекулярно-генетический метод T-RFLP, мы впервые проанализировали состав бактериального сообщества ЖКТ кур в процессе онтогенеза.

В представленном исследовании нами были изучены особенности состава микробиоты слепых отростков кишечника. По свидетельству большинства авторов наибольший интерес представляет микробиота именно этого отдела пищеварительного тракта птиц, где содержимое задерживается на наиболее длительный период и протекают значимые процессы микробной ферментации кормов, в т.ч. расщепление клетчатки. Кроме того, в этом отделе кишечника у птиц выявляется наибольшее биоразнообразие и количество бактерий (более  $10^{11}$  КОЕ/г) по сравнению с другими отделами пищеварительного тракта, где их численность редко превышает  $10^8$  КОЕ/г (Wei et al., 2013).

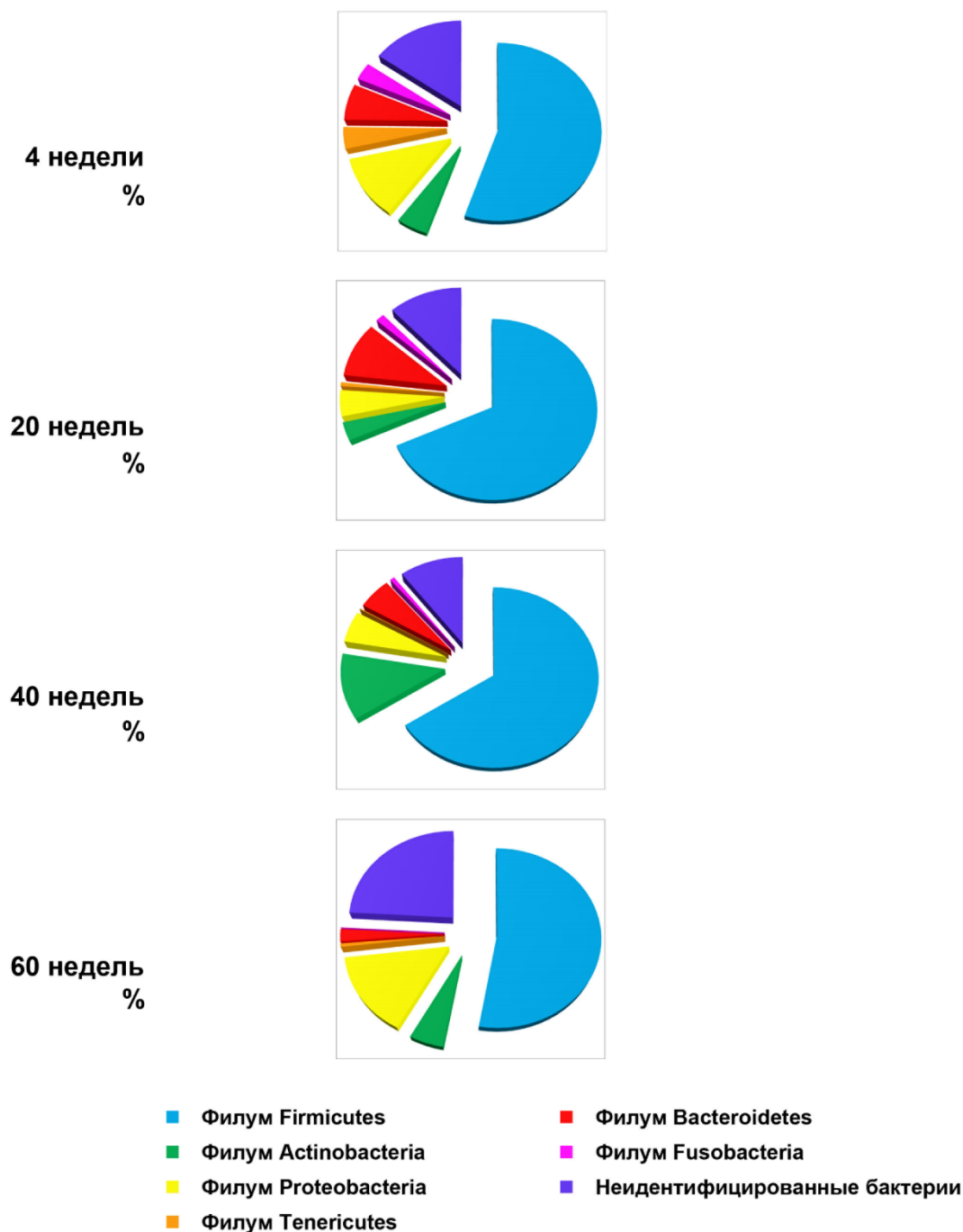
Исследования были проведены на одном из наиболее распространенных промышленных кроссе яичной птицы – «Ломанн Браун» в возрасте 4, 20, 40 и 60 недель. Несушки и бройлеры имеют ряд важнейших генетических и физиологических особенностей, связанных с отличиями в направлениях их селекции - улучшением репродуктивных свойств у кур-несушек и повышением живой массы у цыплят-бройлеров (Nangsuay et al., 2015). Это влияет не только на существенные различия темпа роста, но и на разницу в метаболических потребностях, потреблении кормов, эффективности усвоения питательных веществ (Sawicka et al., 2015). С этим также связаны значительные различия условий выращивания, кормления, содержания, вакцинации цыплят-бройлеров и кур-несушек.

Интерес к изучению микробиоты кишечника в указанные периоды онтогенеза связан с физиологическими особенностями кур-несушек, и их отличиями от цыплят-бройлеров. В возрасте 4 недель куры-несушки в среднем имеют в 2-4 раза меньшую живую массу по сравнению с бройлерами, для которых указанный срок является периодом физиологической зрелости, когда проводится их убой (Nangsuay et al., 2015). К 20-недельному периоду несушки достигают половой зрелости, т.е. возраста начала яйцекладки, который в среднем составляет около 1,5 лет, постепенно снижаясь до уровня 60% и ниже по сравнению с периодом пика яйценоскости (95-100%).

T-RFLP-анализ бактериального сообщества слепых отростков кишечника позволил установить присутствие значительного количества флотипов микроорганизмов, общее число которых составляло в зависимости от периода онтогенеза от  $94.10 \pm 5.05$  до  $142.00 \pm 7.20$  (табл.1).

По результатам оценки таксономической принадлежности свыше 70% флотипов выявленных флотипов было отнесено к трем филумам - Firmicutes, Bacteroidetes и Proteobacteria (рис.1). В меньшей степени у кур были представлены бактерии филума Actinobacteria, в минорном количестве обнаружены представители филумов Tenericutes и Fusobacteria.

Часть флотипов не удалось идентифицировать и отнести к определенному таксону. Присутствие в пищеварительном тракте неидентифицированных микроорганизмов свидетельствует о постоянном присутствии неизвестных таксонов в ЖКТ птицы и приводит к необходимости дополнительных исследований их роли.



**Рис. 1.** Состав филумов бактериального сообщества слепых отростков кишечника кур в онтогенезе.

Отметим, что полученные результаты в целом соответствуют современным представлениям о микробиоте кишечника птицы (Diaz-Sanchez et al., 2013).

Сравнительный анализ бактериального сообщества содержимого слепых отростков кишечника птицы позволил установить статистически значимые различия в составе микробиоты, связанные с периодом онтогенеза.

В течение всего срока содержания у птиц происходило изменение общего количества таксономических единиц (рис. 1). Наибольшее число филотипов у птиц наблюдалось в возрасте 4 недель -  $142 \pm 7.2$  ( $P < 0.05$ ).

В процессе онтогенеза численность бактериальных филотипов у птицы снижается. Минимальное количество филотипов наблюдалось в 20-недельном возрасте.

В возрасте 60 недель, который характеризуется существенным снижением яйценоскости у птиц данного кросса, наблюдалось увеличение количества филотипов, однако их число в среднем оказалось в 1.2 раза ниже, чем в 4-недельном возрасте.

Изменение количества таксономических единиц в течение онтогенеза в слепых отростках птиц можно охарактеризовать при помощи экологических инструментов оценки биоразнообразия (табл. 1). Сравнение экологических индексов биоразнообразия свидетельствуют о наибольшей однородности состава микробиоты

кишечника несушек в 20-недельном возрасте. В этот период наблюдались наименьшие показатели индекса биоразнообразия Шеннона и индекса доминирования Симпсона.

**Таблица 1.** Индексы биоразнообразия бактериального сообщества слепых отростков кишечника кур

Индекс биоразнообразия	Возраст птицы (недель)			
	4	20	40	60
Общее количество флотипов	142.00±7.20	94.10±5.05	124.54±4.90	121.65±6.01
Доля неидентифицируемых флотипов, %	15.09 ±0.42	14.05 ±0.64	10.23 ±0.38	24.09 ±0.92
Индекс Шеннона	4.09 ± 0.18	3.35 ± 0.18*	4.12 ± 0.18	4.12 ± 0.21
Индекс Симпсона	0.96 ± 0.03	0.89 ± 0.02	0.97 ± 0.03	0.98 ± 0.04

\* при  $P < 0.05$

Результаты оценки количества таксономических единиц, а также анализа биоразнообразия микробиоценоза на основе экологических индексов в процессе онтогенеза птицы позволяют предположить наличие определенной периодичности в развитии микробного сообщества кишечника.

Сообщалось о наличии такой закономерности в развитии микробиоценоза ЖКТ у бройлеров, которая зависела от ряда факторов, в числе которых рацион, стресс, антибиотикотерапия (Lu et al., 2003). Аналогичные изменения в составе микробного сообщества слепых отростков кишечника были зафиксированы у индеек в период выращивания 3-4 и 11-18 недель (Scupham, 2009).

Анализируя состав микробиоценоза слепых отростков кишечника кур кросса «Ломанн Браун» выявлены значительные изменения в составе филума Firmicutes, общая доля которых составляла в сообществе более половины - от 51.63±2.48 до 65.80±2.99%.

Из представленных на рисунке 2А данных видно, что общая доля входящих в состав филума Firmicutes представителей класса Clostridia, обладающих способностью к гидролизу углеводов растительных кормов с образованием летучих жирных кислот (ЛЖК), достигала максимальных значений у птицы - к 40-недельному возрасту ( $P < 0.05$ ), постепенно снижаясь к 60 неделям ( $P < 0.05$ ).

У птиц наблюдалось достоверное увеличение целлюлозолитических микроорганизмов семейств Clostridiaceae, Ruminosoccaseae и Eubacteriaceae ( $P < 0.05$ ) к 20-40-недельному возрасту, в то время как доля целлюлозолитических бактерий семейства Lachnospiraceae в данный период была наименьшей ( $P < 0.05$ ).

Уровень представленности микроорганизмов филума Bacteroidetes (в т.ч. родов *Bacteroides*, *Prevotella*), включающий бактерии со сходными свойствами - способностью ферментировать крахмал, клетчатку и некоторые другие углеводы, белки и дезаминировать аминокислоты, увеличивался, начиная с 4-недельного возраста, достигая максимума к 20-недельному возрасту ( $P < 0.05$ ), существенно снижаясь к 60-неделям ( $P < 0.05$ ) (рис.1).

Содержание кислот-утилизирующих бактерий класса Negativicutes, связанных с усвоением летучих жирных кислот (ЛЖК), в т.ч. уксусной, пропионовой, масляной, валериановой и изовалериановой кислот, образуемых при расщеплении моносахаров, олиго- и полисахаридов кормов, достигало максимума у птиц в 40-недельном возрасте.

Интересные возрастные изменения отмечены в отношении облигатных представителей кишечника птицы (рис. 2Б) - молочнокислых бактерий родов *Lactobacillus* и бифидобактерий порядка Bifidobacteriales, которые благодаря синтезу ими различных органических кислот и бактериоцинов способны к антагонистическому вытеснению из кишечника патогенов, включая сальмонеллы, протеи, стафилококки, кишечную палочку, псевдомонады, стрептококки.

Уровень лактобацилл был наибольшим в 4-недельном возрасте - 11.24±0.42% ( $P < 0.05$ ), а к 40-недельному сроку выращивания максимально снижался до уровня 2.37±0.12% ( $P < 0.05$ ). Обратная зависимость наблюдалась в отношении имеющих сходные свойства и ранее не считавшихся облигатными обитателями кишечника бактерий рода *Bacillus*, способных по сведениям ряда авторов, к колонизации пищеварительного тракта птицы. Наибольшая доля бактерий рода *Bacillus* выявлена у птиц в возрасте 40 недель - 14.40±0.65% ( $P < 0.05$ ). Содержание в сообществе представителей порядка Bifidobacteriales у птицы также достигало максимальных значений к 20-40-недельному возрасту - до 3.32±0.12% ( $P < 0.05$ ).

Доля в сообществе других лактобактерий родов *Enterococcus*, *Leuconostoc* в сообществе были минорной, и существенно не изменялась в течение онтогенеза.

Доля возбудителей различных заболеваний изменялась в зависимости от срока содержания несушек (рис 2В и 2Г). Их минимальная суммарная доля у несушек выявлялась в период 40-60 недель ( $P < 0.05$ ). Среди бактерий, вызывающих инфекционные заболевания, у птиц детектированы возбудители кампилобактериоза (семейства Campylobacteraceae - *Arcobacter*, *Campylobacter*), пастереллеза (семейство Pasteurellaceae - *Pasteurella*, *Haemophilus*), листериоза (род *Listeria*), микоплазмоза (филум Tenericutes - *Mycoplasma*), некротического энтерита (филум Fusobacteria), гнойно-некротических инфекций (род *Staphylococcus*). Содержание большинства перечисленных микроорганизмов в сообществе кишечника птиц было минорным, за исключением пастерелл, микоплазм и фузобактерий.

Из представленных на рисунке 2Г данных видно, что максимальное содержание условно-патогенных бактерий семейств Enterobacteriaceae, Pseudomonadaceae и порядка Actinomycetales выявлено у птиц в возрасте 60 недель ( $P < 0.05$ ), что свидетельствует о некоторой несбалансированности микробных сообществ птиц в данные периоды онтогенеза.

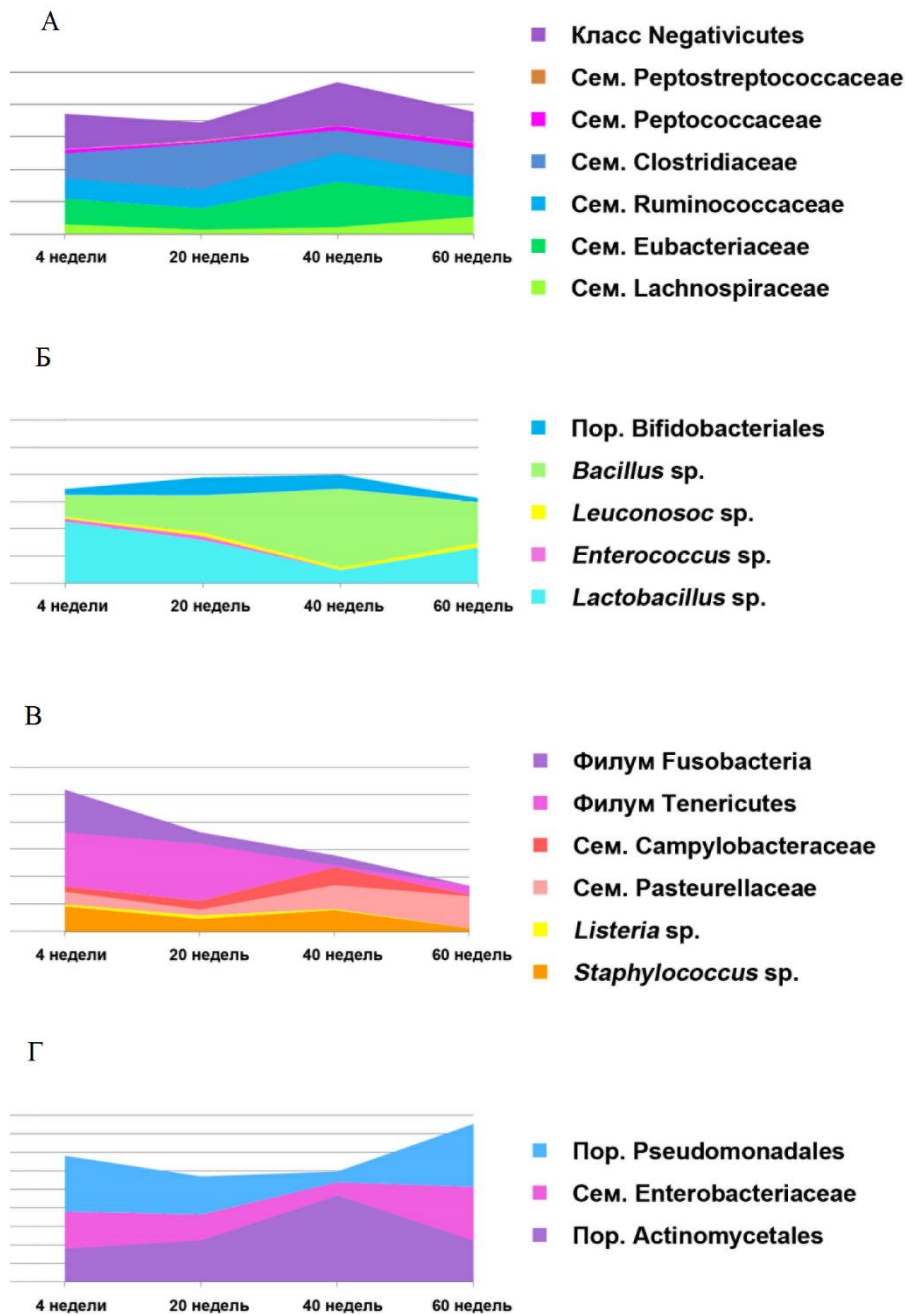


Рис. 2. Изменения микробиоты слепых отростков кишечника кур.

В возрасте 20-40 недель у несушек выявлено достоверное снижение содержания ряда условно-патогенных и патогенных таксонов – семейства Enterobacteriaceae, порядка Pseudomonadales, филума Tenericutes.

Выявленные закономерности свидетельствуют о наличии отрицательной связи процентного содержания ряда патогенных микроорганизмов с долей представителей нормальной микробиоты кишечника. Обоснованность наличия таких закономерностей подтверждается опубликованными данными о бактериостатических свойствах (за счет действия синтезируемых спектра метаболитов, в т.ч. летучих жирных кислот, бактериоцинов) представителей нормальной микробиоты кишечника в отношении ряда патогенов, в т.ч. энтеробактерий, псевдомонад.

## Выводы

В настоящем исследовании с применением молекулярно-генетического метода T-RFLP впервые был проанализирован состав бактериального сообщества слепых отростков ЖКТ кур кросса «Ломан Браун» в течение онтогенеза. Результаты проведенных исследований свидетельствуют о наличии у кур заметных изменений в бактериальном сообществе слепых отростков кишечника в течение онтогенеза.

Микробиоценоз птицы в 20-недельном возрасте характеризовался наибольшей однородностью состава, о чем свидетельствуют данные анализа биоразнообразия на основе экологических индексов.

В 20-40-недельный период у птиц наблюдается существенный сдвиг в составе микробиоценоза слепых отростков ЖКТ.

Отмечено увеличение представителей класса Clostridia, участвующих в метаболизме углеводов, кисло-утилизирующих бактерий класса Negativicutes и бактерий с высокими антагонистическими свойствами (Bifidobacteriales, *Bacillus*), а также достоверное снижение содержания ряда условно-патогенных и патогенных таксонов.

Полученные результаты анализа состава микробиоты кишечника вполне закономерны и имеют наглядную взаимосвязь с физиологическим состоянием птиц. В возрасте 4 недель пищеварительный тракт кур-несушек недостаточно развит, в связи с чем наблюдается некоторая дестабилизация микробиоэкологии кишечника, характеризующаяся высоким содержанием условно-патогенных и патогенных микроорганизмов. В 20-недельном возрасте несушки достигают периода физиологической зрелости, у них наблюдается высокий уровень яичной продуктивности, постепенно снижающейся к 60-недельному возрасту.

В целом, полученные в результате проведенной работы данные об изменениях состава микробиоты кишечника птицы в течение онтогенеза, можно рассматривать в плане возможности их применения для развития отрасли промышленного выращивания молодняка и содержания взрослой птицы, получения более продуктивного здорового стада и экологически чистой продукции птицеводства.

## Благодарности

Исследование выполнено при поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации, Договор №14.W03.31.0013 от 20.02.2017 г. Название проекта: «Разработка современных биотехнологий для оценки экспрессии генов в связи с продуктивностью и устойчивостью к заболеваниям в птицеводстве».

## References

- Amann, R.I., Ludwig, W., Schleifer, K.H. (1995). Phylogenetic identification and in situ detection of individual microbial cells without cultivation. *Microbiol. Rev*, 59, 143–169.
- Brisbin, J.T., Gong, J., Orouji, S., Esufali, J., Mallick, A.I. et al. (2011). Oral treatment of chickens with lactobacilli influences elicitation of immune responses. *Clin. Vaccine Immunol*, 18, 1447–1455.
- Brjuhanov, A.L., Rybak, K.V., Netrusov, A.I. (2012). *Molekuljarnaja biologija*. Moscow. Moscow University Press (in Russian).
- Callaway, T.R., Edrington, T.S., Anderson, R.C., Harvey, R.B., Genovese, K.J. et al. (2008). Probiotics, prebiotics and competitive exclusion for prophylaxis against bacterial disease. *Anim. Health Res. Rev*, 9, 217–225.
- Collier, C.T., Hofacre, C.L., Payne, A.M., Anderson, D.B., Kaiser, P., Mackie, R.I., Gaskins, H.R. (2008). Coccidia-induced mucogenesis promotes the onset of necrotic enteritis by supporting *Clostridium perfringens* growth. *Vet. Immunol. Immunopathol*, 122, 104–115.
- Diaz-Sanchez, S., Hanning, I., Pendleton, S., D'Souza, D. (2013). Next-generation sequencing: the future of molecular genetics in poultry production and food safety. *Poult. Sci*, 92, 562–572.
- Dibner, J.J., Richards, J.D., Knight, C.D. (2008). Microbial imprinting in gut development and health. *J. Appl. Poult. Res*, 17, 174–188.
- Dobson, A., Cotter, P.D., Ross, R.P., Hill, C. (2012). Bacteriocin production: a probiotic trait? *Appl. Environ. Microbiol*, 78, 1–6.
- Dzhavadov, Je.D., Dmitrieva, M.E., Trefilov, B.B., Novikova, O.B., Titova, T.G. (2016). *Veterinarija i kormlenie*, 2, 24–27 (in Russian).
- Fisinin, V.I. (2013). *Metodika provedenija nauchnyh i proizvodstvennyh issledovanij po kormleniju sel'skohozjajstvennoj pticy*. Molekuljarno-geneticheskie metody opredelenija mikroflory kishhechnika. Sergiev Posad (in Russian).
- Kerr, A.K., Farrar, A.M., Waddell, L.A., Wilkins, W., Wilhelm, B.J. et al. (2013). A systematic review-meta-analysis and meta-regression on the effect of selected competitive exclusion products on *Salmonella* spp. prevalence and concentration in broiler chickens. *Prev. Vet. Med*, 111, 112–125.
- Lu, J., Idris, U., Harmon, B., Hofacre, C., Maurer, J.J., Lee, M.D. (2003). Diversity and succession of the intestinal bacterial community of the maturing broiler chicken. *Appl. Environ. Microbiol*, 69(11), 6816–6924.
- Messaoudi, S., Kergourlay, G., Dalgalarondo, M., Choiset, Y., Ferchichi, M. et al. (2012). Purification and characterization of a new bacteriocin active against *Campylobacter* produced by *Lactobacillus salivarius* SMXD51. *Food Microbiol*, 32, 129–134.
- Mohd Shaufi, M.A., Sieo, C.C., Chong, C.W., Gan, H.M., Ho, Y.W. (2015). Deciphering chicken gut microbial dynamics based on high-throughput 16S rRNA metagenomics analyses. *Gut Pathogens*, 7, 4.
- Nangsuay, A., Molenaar, R., Meijerhof, R., van den Anker, I., Heetkamp, M.J. et al. (2015). Differences in egg nutrient availability, development, and nutrient metabolism of broiler and layer embryos. *Poult. Sci*, 94(3), 415–423.
- Park, S.H., Lee, S.I., Ricke, S.C. (2008). Microbial populations in naked neck chicken ceca raised on pasture flock fed with commercial yeast cell wall prebiotics via an Illumina MiSeq Platform. *PLoS One*, 11(3), e0151944 (doi: 10.1371/journal.pone.0151944).
- Sawicka D., Samek K., Chojnacka-Puchta L., Witkowski A., Knaga S., Dębowska M., Bednarczyk, M. (2015). Changes in quail blastodermal cell status as a result of selection. *Folia Biol (Krakow)*, 63(1), 63–67.
- Scupham, A.J. (2009). *Campylobacter* colonization of the Turkey intestine in the context of microbial community development. *Appl. Environ. Microbiol*, 75(11), 3564–3571.
- Stanley, D., Hughes, R.J., Moore, R.J. (2014). Microbiota of the chicken gastrointestinal tract: influence on health, productivity and disease. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 98, 4301–4309 (doi: 10.1007/s00253-014-5646-2).
- Tarakanov, B.V. (2006). *Metody issledovanija mikroflory pishhevaritel'nogo trakta sel'skohozjajstvennyh zhivotnyh i pticy*. Moscow. Nauchnyj mir (in Russian).



- 
- Torok, V.A., Hughes, R.J., Mikkelsen, L.L., Perez-Maldonado, R., Balding, K., MacAlpine, R., Percy, N.J., Ophel-Keller, K. (2011). *Appl. Environ. Microbiol.*, 77(17), 5868-5878.
- Wei, S., Lilburn, M., Yu, Z. (2016). The bacteriomes of ileal mucosa and cecal content of broiler chickens and turkeys as revealed by metagenomic analysis. *International Journal of Microbiology*, Article ID 4320412, 1-12.
- Wei, S., Morrison, M., Yu, Z. (2013). Bacterial census of poultry intestinal microbiome. *Poult. Sci.*, 92(3), 671-683.
- Yeoman, C.J., Chia, N., Jeraldo, P., Sipos, M., Goldenfeld, N.D., White, B.A. (2012). The microbiome of the chicken gastrointestinal tract. *Anim. Health Res. Rev.*, 13, P. 89-99.
- 

**Citation:**

Nikonov, I.N., Il'ina, L.A., Kochish, I.I., Romanov, M.N., Podobed, L.I., Laptev, G.Yu., Panin, A.N., Smolenskij, V.I., Suraj, P.F. (2017). Changing the intestinal microbiota of chickens in ontogenesis. *Ukrainian Journal of Ecology*, 7(4), 492-499.



This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0. License

---