

ВВЕДЕНИЕ

Птицеводство является одной из ведущих отраслей сельского хозяйства нашей страны благодаря высоким показателям производства яиц и мяса птицы. 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 амилолитических 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 гг. 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.

1. ГЕНЫ, АССОЦИИРОВАННЫЕ С ЯИЧНОЙ ПРОДУКТИВНОСТЬЮ И РЕЗИСТЕНТНОСТЬЮ КУР

На современном этапе развития промышленного яичного птицеводства одной из основных задач является снижение затрат на производство продукции и повышение ее качества. Для этого необходимо создать условия содержания и кормления птицы, обеспечивающие максимальную реализацию генетически обусловленных потенциальных возможностей организма.

Микрофлора желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) сельскохозяйственной птицы, особенно резидентная и симбиотическая, влияет на здоровье птицы (в первую очередь на иммунитет), на продуктивность и, соответственно, на срок продуктивного использования. Особенности микрофлоры кур влияют и на санитарно-гигиенические требования к продукции птицеводства (мясо, яйца). Например, многие возбудители пищевых токсинфекций и токсикозов у людей, особенно кампилобактериозов, вызываются за счет контаминации мяса и яиц бактериями, являющимися нормальными обитателями ЖКТ у кур. В связи с этим актуальной является разработка новых молекулярно-генетических технологий оценки экспрессии генов, связанных с продуктивностью и устойчивостью к негативным факторам, обеспечивающих сохранение здоровья птицы, повышение безопасности, продуктивности и качества продукции пти-

цеводства. Система коррекции микрофлоры основана на применении безопасных для человека кормовых добавок (пробиотики, фитобиотики) и системы мониторинга микрофлоры с помощью молекулярно-генетических методов анализа, например методики терминального полиморфизма длин рестрикционных фрагментов (T-RFLP).

Одним из основных направлений данного исследования является изучение профилей экспрессии генов, кодирующих белки яйца домашней курицы и участвующих в иммунном ответе в связи с особенностью питания птицы. Будут также изучены взаимосвязи между составом микрофлоры, компонентами рационов питания кур, здоровьем, продуктивностью кур яичных пород и устойчивостью к заболеваниям.

Для изучения влияния пробиотиков и фитобиотиков на иммунитет были выбраны гены, кодирующие защитные пептиды (HDPS), которые составляют большую группу природных антибиотиков широкого спектра действия и играют важную роль в иммунном ответе практически во всех формах жизни. Защитные пептиды хозяина (HDP) представляют собой разнообразную группу мелких катионных пептидов, присутствующих в самых разных организмах, как у животных, так и растений (Hancock, Sahi, 2006). HDP являются важной «первой линией» обороны, особенно у тех видов, у которых адаптивная иммунная система отсутствует или примитивна. Большинство HDPs стратегически синтезируются в клетках фагоцитарного и слизистого эпителия хозяев, которые регулярно встречаются с микроорганизмами из окружающей среды. Зрелые HDPs широко активны против грамотрицательных и грамположительных бактерий, микобактерий, грибов, вирусов и даже раковых клеток (Pasupuleti, Schmidtchem, Malmseten, 2012). Для AMP предложено несколько схем классификации; однако большинство AMPs обычно подразделяются на четыре кластера на основе их вторичных структур: пептиды с линейной α -спиральной структурой (He, Lemasters, 2002), циклические пептиды со структурой β -листа (Erand, Vogel,

1999), пептиды с β -спиральной структурой (Imamura et al., 2010) и пептиды с линейной структурой (Rahnamalian et al., 2009). Увеличение синтеза эндогенных HDPS может представлять собой перспективный антибиотик с альтернативным подходом к борьбе с болезнями. В зарубежном исследовании авторы (SunKara et al., 2011) проверили гипотезу о том, что экзогенное введение бутирата (основной тип короткоцепочечных жирных кислот, полученных в процессе бактериальной ферментации непереваренных пищевых волокон) способно вызывать индукцию HDPS и повышение устойчивости к болезням у кур. Обнаружено, что бутират является мощным индуктором нескольких, но не всех, куриных HDPS, таких как HD11 макрофагов, а также первичных моноцитов, клеток костного мозга, в тощей и слепой кишке. Кроме того, лечение бутиратом усиливает антибактериальную активность моноцитов цыпленка против *Salmonella Enteritidis* с минимальным воздействием на воспалительную продукцию цитокинов, фагоцитоз и окислительный стресс клеток. Кроме того, дача добавки с 0,1% бутирата привело к значительному увеличению экспрессии гена HDP в кишечном тракте цыплят. Что еще более важно, эта стратегия кормления привела к почти 10-кратному снижению бактериального титра в слепой кишке экспериментальных инфекций, вызванных *S. Enteritidis* (SunKara et al., 2011). В совокупности результаты показали, что эндогенные HDPS, индуцированные бутиратом, являются филогенетически консервативным механизмом врожденной защиты хозяина у млекопитающих и птиц, и что диетическая добавка бутирата имеет потенциал для дальнейшего развития в качестве удобного антибиотика с альтернативной стратегией для повышения врожденного иммунитета и устойчивости к болезням сельскохозяйственной птицы (SunKara et al., 2011).

Дефенсины (Defensins) и кателицидины (cathelicidins) представляют собой два основных семейства HDPS у позвоночных (Lai, Gallo, 2009). В то время как дефенсины классифицируются по наличию шести консервативных ос-