

УДК 636.5.033

Научная статья



Открытый доступ

DOI: 10.32634/0869-8155-2022-362-9-47-53

Г.К. Дускаев,
Ш.Г. Рахматуллин,
Д.Б. Косян,
Е.А. Русакова,
О.В. Кван, ✉
Г.И. Левахин

Федеральный научный центр
биологических систем и агротехнологий
РАН, Оренбург, Российская Федерация

✉ kwan111@yandex.ru

Поступила в редакцию:
05.07.2022

Одобрена после рецензирования:
28.08.2022

Принята к публикации:
16.08.2022

Research article



Open access

DOI: 10.32634/0869-8155-2022-362-9-47-53

Galimzhan K. Duskaev,
Shamil G. Rakhmatullin,
Dianna B. Kosyan,
Elena A. Rusakova,
Olga V. Kvan, ✉
Georgiy I. Levakhin

Federal Research Centre of Biological
Systems and Agrotechnologies of the Russian
Academy of Sciences, Orenburg, Russian
Federation

✉ kwan111@yandex.ru

Received by the editorial office:
05.07.2022

Accepted in revised:
28.08.2022

Accepted for publication:
16.08.2022

Влияние совместного использования гамма-окталактона и хлортетрациклина в рационе бройлеров: живая масса, эффективность использования корма и микробиом слепого кишечника

РЕЗЮМЕ

Актуальность и методика. Проведена оценка совместного использования гамма-окталактона и хлортетрациклина в рационе бройлеров на рост, развитие, состояние организма и эффективность использования корма. Гамма-окталактон выделен из экстракта *Eucalyptus viminalis*. Схема эксперимента включала контрольную группу — основной рацион (ОР); I группа (положительный контроль) — ОР + хлортетрациклин (20%), 0,63 г на 1 кг массы тела в течение 20 дней; II группа — ОР + гамма-окталактон в дозировке 0,1 мл/кг ж.м./сут.; III группа — ОР + гамма-окталактон + хлортетрациклин (20%).

Результаты. В ходе исследований было установлено преимущество по живой массе опытных бройлеров над контролем. Наибольшей живой массой отличались бройлеры, получавшие с основным рационом гамма-окталактон + хлортетрациклин (на 16,5% больше, чем в контроле). Аналогичная ситуация наблюдалась и по приростам живой массы. Бройлеры опытных групп поедали корма больше на 3,23–8,47% на фоне более низкого расхода корма на 1 кг живой массы (на 6,38–10,6%) по сравнению с контролем. Бройлеры из III группы имели большее содержание эритроцитов (на 12,6–30,7%) и массу селезенки. Микробный профиль бройлеров III группы (сочетание гамма-окталактона и хлортетрациклина) был представлен микроорганизмами, относящимися к 4 филумам. Доминантом являлся филум *Firmicutes* (81,3%). Сравнение с контролем показало, что сочетание веществ уменьшило численность бактерий данного филума на 4,46% на фоне увеличения количества представителей филума *Bacteroidetes* на 9,32%. Наблюдалось увеличение представителей родов *Alistipes*, *Lactobacillus* и неклассифицированных родов семейства *Clostridiales*, при этом уменьшалось количество представителей неклассифицированных родов семейства *Ruminococcaceae*. Таким образом, при совместном использовании гамма-окталактона с хлортетрациклином усиливается ростостимулирующий эффект на фоне высокой поедаемости корма, снижения расхода корма на 1 кг живой массы, увеличения эритропоэза и лейкоцитов в крови.

Ключевые слова: лактоны, антибиотики, кровь, живая масса, цыплята-бройлеры, кормление, экстракт листьев *Eucalyptus viminalis*, гамма-окталактон, химические элементы

Для цитирования: Дускаев Г.К., Рахматуллин Ш.Г., Косян Д.Б., Русакова Е.А., Кван О.В., Левахин Г.И. Влияние совместного использования гамма-окталактона и хлортетрациклина в рационе бройлеров: живая масса, эффективность использования корма и микробиом слепого кишечника. *Аграрная наука*. 2022; 362 (9): 47–53. <https://doi.org/10.32634/0869-8155-2022-362-9-47-53>

© Дускаев Г.К., Рахматуллин Ш.Г., Косян Д.Б., Русакова Е.А., Кван О.В., Левахин Г.И.

The effect of the combined use of gamma-octalactone and chlortetracycline in the broiler diet: live weight, feed efficiency and the microbiome of the caecum

ABSTRACT

Relevance, materials and methods. The experimental scheme included the control group — the main diet (MD); group I (positive control) — MD + chlortetracycline (20%) 0.63 g per 1 kg of body weight for 20 days; group II — MD + gamma-octalactone at a dosage of 0.1 ml/kg of b.w./day; III group — MD + gamma-octalactone + chlortetracycline (20%).

Results. In the course of research, the advantage of the live weight of experimental broilers over the control was established. The broilers that received gamma-octalactone + chlortetracycline with the main diet were distinguished by the greatest live weight (16.5% more than in the control). A similar situation was observed in terms of live weight gains. Broilers of the experimental groups ate more feed (by 3.23–8.47%), against the background of low feed consumption per 1 kg of live weight (by 6.38–10.6%) compared to the control. Broilers from group III had a higher content of erythrocytes (by 12.6–30.7%) and the weight of the spleen. The microbial profile of group III broilers (a combination of gamma-octalactone and chlortetracycline) was represented by microorganisms belonging to 4 phylum. The dominant phylum was *Firmicutes* (81.3%). Comparison with the control showed that the combination of substances reduced the number of bacteria of this phylum by 4.46%, against the background of an increase in the number of representatives of the *Bacteroidetes* phylum by 9.32% relative to the control. There was an increase in representatives of the genera *Alistipes*, *Lactobacillus* and unclassified genera of the family *Clostridiales*, while the number of representatives of unclassified genera of the family *Ruminococcaceae* decreased.

Key words: lactones, antibiotics, blood, live weight, broiler chickens, feeding, extract of *Eucalyptus viminalis*, gamma-octalactone, chemical elements

For citation: Duskaev G.K., Rakhmatullin Sh.G., Kosyan D.B., Rusakova E.A., Kvan O.V., Levakhin G.I. The effect of the combined use of gamma-octalactone and chlortetracycline in the broiler diet: live weight, feed efficiency and the microbiome of the caecum. *Agrarian science*. 2022; 362 (9): 47–53. <https://doi.org/10.32634/0869-8155-2022-362-9-47-53> (In Russian).
© Duskaev G.K., Rakhmatullin Sh.G., Kosyan D.B., Rusakova E.A., Kvan O.V., Levakhin G.I.

Введение / Introduction

Устойчивость к противомикробным препаратам — одна из наиболее серьезных глобальных проблем, отрицательно влияющих на здоровье и экономику. Неконтролируемое использование антибиотиков на животноводческих фермах вызывает тревогу во всем мире, поскольку у микроорганизмов может развиться устойчивость либо за счет мутаций, либо за счет обмена генами с устойчивыми штаммами, распространение устойчивости представляет серьезный риск для здоровья общества [1]. Так, гены устойчивости к тетрациклину (tet (W)) были подтверждены во всех образцах микрофлоры кишечника птиц на бройлерных фермах [2]. В качестве альтернативных веществ исследователями всё активнее рассматриваются различные природные соединения [3].

Использование экстракта прополиса в рационах бройлеров может быть альтернативой антибиотикам тетрациклинового ряда в условиях холодового стресса. Также оно может повысить устойчивость цыплят-бройлеров к асцитному синдрому [4].

Смесь органических кислот, глюкоманнана и фитохимических веществ в сравнении с антибиотиком бацитрацином была также эффективна по перевариваемости питательных веществ в подвздошной кишке и количеству кишечных пищеварительных бактерий ($P < 0,05$), уменьшала количество кишечной палочки в слепой кишке и сальмонелл [5].

Включение экстракта (2%) кожуры мангустана в корм бройлеров в сравнении с колистином не оказало существенно различающегося влияния на прирост массы тела, потребление корма, но оказало влияние на уровень устойчивости к антибиотикам у бройлеров [6].

Отмечается, что не все лекарственные растения (календула в сравнении с флавомицином) оказывают положительное влияние на показатели роста бройлеров [7].

Ввиду непостоянства химического состава растений [8] исследователи используют в экспериментальных исследованиях отдельные биологически активные вещества для рационов животных.

Так, использование микрокапсулированного карвакрола и коричневого альдегида, смесь веществ *Quercus cortex* могут заменить кормовой антибиотик в рационах бройлеров, обеспечивая продуктивность, целостность кишечника и качество мяса бройлеров [9].

Цель настоящего исследования заключалась в оценке влияния совместного использования гамма-окталактона и хлортетрациклина в рационе цыплят-бройлеров на рост, развитие, состояние организма и эффективность использования корма, микробиом слепой кишки, и перспектив использования этой смеси для усиления действия антибиотика в случае вынужденного лечения птицы.

Материал и методы исследования / Materials and method

Объект исследования. Цыплята-бройлеры (7-дневные, кросс Арбор Айкрес) в количестве 210 голов, разделенные на 4 группы ($n = 30$). Исследование проведено в трёх повторностях в течение 36 дней.

Обслуживание животных и экспериментальные исследования были выполнены в соответствии с инструкциями и рекомендациями Russian Regulations, 1987 (Order No. 755 on 12.08.1977 the USSR Ministry of Health) and «The Guide for Care and Use of Laboratory Animals (National Academy Press Washington, D.C. 1996)». При выполнении исследований были предприняты усилия,

чтобы свести к минимуму страдания животных и уменьшить количество используемых образцов.

Используемые вещества. Гамма-окталактон, 97%, «Sigma-Aldrich» (США). Выделен из экстракта *Eucalyptus viminalis*; доказана его способность ингибировать различные системы кворума (QS) LuxI / LuxR у бактерий (Duskaev G.K. et al., 2020). Антибиотик — 20%-ный хлортетрациклин.

Схема эксперимента. Экспериментальная часть работы была проведена в условиях вивария и центра коллективного пользования научным оборудованием. Образцы крови были отобраны от цыплят-бройлеров 4 групп. Контрольная группа — ОР; I группа — ОР + антибиотик (20%-ный хлортетрациклин), 0,63 г на 1 кг массы тела в течение 20 дней; II группа — ОР + гамма-окталактон в дозировке 0,1 мл/кг ж.м./сут.; III группа — ОР + гамма-окталактон + антибиотик (20%-ный хлортетрациклин).

Оценка птицы и исследования биосубстратов. Кормление и поение птицы осуществлялось групповым методом согласно рекомендациям ВНИТИП (1995).

В конце каждого периода была проведена оценка веса тела бройлеров, в конце эксперимента — потребление корма и смертность. Прирост массы тела, суточное потребление корма, коэффициент преобразования корма были рассчитаны для каждой группы. По окончании эксперимента в возрасте 42 дней были отобраны 10 птиц со средней массой тела, у них прижизненно взяты образцы крови из вены крыла.

Массу внутренних органов цыплят-бройлеров определяли после убоя птицы, не менее чем у 5 особей.

Морфологические показатели крови (содержание гемоглобина, гематокрит, количество эритроцитов, лейкоцитов) определяли с помощью автоматического гематологического анализатора «URIT-2900 VetPlus» («URIT Medical Electronic Co.», Китай).

Выделение ДНК. Тотальную ДНК из образцов содержимого кишечника выделяли при помощи набора «Fast DNA® SPIN Kit for Faeces» («MP Biomedicals Inc.», США) с использованием лизирующего матрикса «Lysing Matrix E». Образцы гомогенизировали на приборе «Tissue Lyser LT» («Qiagen», Нидерланды). Время гомогенизации было увеличено до 5 минут по сравнению с протоколом производителя. Качество выделенной ДНК проверяли методом горизонтального электрофореза в 1%-ном агарозном геле и спектрофотометрическим методом на приборе «Nanodrop 8000» («Thermo Fisher Scientific», США). Концентрацию ДНК измеряли на приборе «Qubit 4 Fluorometer» («Life Technologies», США) при помощи набора «dsDNA High Sensitivity Assay Kit».

Приготовление ДНК-библиотек и проведение секвенирования. Приготовление ДНК-библиотек выполнено в соответствии с протоколом «Illumina» (Part #15044223, Rev. B.). Ампликоны региона V3-4 гена 16SSUrRNA были получены с использованием праймеров S-D-Bact-0341-b-S-17 и S-D-Bact-0785-a-A-21. Реакционная смесь (25 мкл) содержала 10 нг матрицы; прямой и обратный праймеры, 0,2 мкм каждого; 80 мкм ДНТФ; 0,2 единицы активности Q5 High-Fidelity DNA полимеразы («New England Biolabs, Ipswich», США). ДНК-библиотеки очищали методом твердофазной иммобилизации на парамагнитных частицах при Agencourt AM Pure XP beads («Beckman Coulter», США). Качество библиотек проверяли методом капиллярного электрофореза на приборе «Qiaxcel Advanced System» («Qiagen», Германия) с использованием картриджа «QIAxcel DNAScreening Kit». Парноконцевое секвенирование ампликоновых

Таблица 1. Динамика живой массы цыплят-бройлеров ($M \pm m$, $n = 30$), гTable 1. Dynamics of live weight of broiler chickens ($M \pm m$, $n = 30$), g

Период	Группа			
	К	I	II	III
Начало опыта	340,0 $\pm$ 6,60	340,0 $\pm$ 7,60	340,0 $\pm$ 8,50	340,4 $\pm$ 9,90
1-я нед.	612,8 $\pm$ 12,5	680,8 $\pm$ 11,4	676,4 $\pm$ 21,6	680,4 $\pm$ 24,2
2-я нед.	1049,6 $\pm$ 32,3	1224,0 $\pm$ 23,6	1215,2 $\pm$ 50,1	1205,2 $\pm$ 47,6
3-я нед.	1682,0 $\pm$ 37,4	1889,6 $\pm$ 37,8	1852,4 $\pm$ 89,3	1857,2 $\pm$ 63,4
4-я нед.	2473,2 $\pm$ 49,0	2561,2 $\pm$ 35,6	2546,8 $\pm$ 118,8	2651,2 $\pm$ 82,5
5-я нед.	2896,0 $\pm$ 88,3	3074,5 $\pm$ 52,3	3288,0 $\pm$ 174,1	3375,0 $\pm$ 68,6*

Примечание: * — $P \leq 0,05$ Таблица 2. Прирост живой массы цыплят-бройлеров ($M \pm m$, $n = 30$), гTable 2. Live weight gain of broiler chickens ($M \pm m$, $n = 30$), g

Прирост	Группа			
	К	I	II	III
Среднесуточный	69,9 $\pm$ 5,80	75,3 $\pm$ 4,30	79,8 $\pm$ 4,90	82,7 $\pm$ 5,20*
Абсолютный	1976,8 $\pm$ 583,0	2119,6 $\pm$ 611,0	2290,4 $\pm$ 673,8	2359,6 $\pm$ 675,8

Примечание: * — $P \leq 0,05$ Таблица 3. Поедаемость и расход корма при выращивании цыплят-бройлеров ($n = 30$), гTable 3. Eatability and feed consumption when raising broiler chickens ($n = 30$), g

Показатель	Группа			
	К	I	II	III
Стартовый комбикорм	2086,80	2196,40	2280,80	2242,40
Ростовой комбикорм	2480,70	2518,80	2602,20	2712,25
Всего за эксперимент (42 дн.)	4567,50	4715,20	4883,00	4954,65
Расход корма на прирост 1 кг ж.м.	1,88	1,76	1,71	1,68

Примечание: * — $P \leq 0,05$ Таблица 4. Масса внутренних органов цыплят-бройлеров ($M \pm m$, $n = 30$), гTable 4. The weight of the internal organs of broiler chickens ($M \pm m$, $n = 30$), g

Масса органа	Группа			
	К	I	II	III
Селезенка	3,12 $\pm$ 0,23	3,40 $\pm$ 0,18	3,81 $\pm$ 0,30	4,21 $\pm$ 0,44*
Печень	60,2 $\pm$ 1,98	51,7 $\pm$ 0,97	54,9 $\pm$ 2,86	57,6 $\pm$ 6,18

Примечание: * — $P \leq 0,05$ Таблица 5. Морфологические показатели крови цыплят-бройлеров ($M \pm m$, $n = 30$)Table 5. Morphological blood parameters of broiler chickens ($M \pm m$, $n = 30$)

Показатель	Группа			
	К	I	II	III
Эритроциты, 10^{12} к л/л	2,69 $\pm$ 0,63	3,39 $\pm$ 0,59	3,25 $\pm$ 0,62	3,88 $\pm$ 0,03*
Гемоглобин, г/л	118,3 $\pm$ 3,28	123,3 $\pm$ 4,84	114,3 $\pm$ 4,67	115,0 $\pm$ 2,65
Гематокрит, %	22,1 $\pm$ 0,58	23,3 $\pm$ 1,07	21,0 $\pm$ 0,75	21,1 $\pm$ 0,50
Тромбоциты, 10^9 к л/л	132,3 $\pm$ 21,2	129,0 $\pm$ 12,5	122,7 $\pm$ 16,83	107,7 $\pm$ 2,73
Тромбокрит, %	0,23 $\pm$ 0,04	0,22 $\pm$ 0,02	0,21 $\pm$ 0,02	0,18 $\pm$ 0,02

Примечание: * — $P \leq 0,05$

ДНК-библиотек было выполнено на платформе «Illumina MiSeq» с использованием набора реактивов «MiSeq Reagent Kit v.2 (500-cycle)» («Illumina», США).

Приготовление ДНК-библиотек, секвенирование и биоинформатическая обработка были выполнены в ЦКП «Персистенция микроорганизмов» Института клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН (Оренбург, Россия).

Статистический анализ полученных данных обрабатывался с использованием программы «Statistica 10RU».

Результаты и обсуждение / Results and discussion

В ходе исследований было установлено преимущество по живой массе опытных бройлеров над контролем (табл. 1).

Так, уже в первую неделю эксперимента опытные группы, получавшие к основному рациону антибиотик, гамма-октолактон и их смесь, характеризовались преобладанием живой массы на 68,0 г (11,1%), 63,6 г (10,4%) и 67,6 г (11,0%) в сравнении с контролем. К концу эксперимента цыплята-бройлеры контрольной группы по живой массе достоверно уступали опытным соответственно на 178,5, 392 и 479 г (6,16, 13,5 и 16,5%). Наибольшей живой массой отличались бройлеры, получавшие с основным рационом гамма-октолактон + антибиотик, что на 16,5% больше, чем в контроле. Аналогичная ситуация наблюдалась и по приростам живой массы (табл. 2).

Бройлеры из III группы превосходили аналогов из контрольной, I и II групп по среднесуточному приросту на 12,8 г (15,4%), 7,36 г (8,90%) и 2,86 г (3,45%); по абсолютному — на 382,8 г (16,2%), 240,0 г (10,2%) и 69,2 г (2,93%).

В ходе исследований были установлены достоверные изменения в динамике живой массы подопытных бройлеров (табл. 3).

За весь период эксперимента бройлеры I, II и III групп поедали корма больше на 147,7 г (3,23%), 315,5 г (6,90%) и 387,1 г (8,47%), однако расход корма на 1 кг живой массы у них был меньше на 0,12 г (6,38%), 0,17 г (9,04%) и 0,20 г (10,6%) по сравнению с контролем.

На фоне совместного введения вещества и антибиотика наибольшей массой селезенки отличались бройлеры III группы (табл. 4).

Так, по данному показателю они превосходили контрольную, I и

II группы на 1,09 г (25,9%), 0,81 г (19,2%) и 0,40 г (9,50%). По массе печени контрольная группа превосходила I, II и III группы на 4,1; 8,89 и 4,31%.

Хотя некоторые морфологические показатели крови варьировались по группам, но все же все они находились в пределах физиологической нормы (табл. 5).

Бройлеры из III группы имели большее содержание эритроцитов — на 30,7; 12,6 и 16,2% в сравнении с контрольной, I и II группами. Введение антибиотика птице из I группы способствовало большей концентрации гемоглобина — на 4,05% в сравнении с контролем.

Введение с основным рационом активных веществ оказало влияние на содержание белых клеток крови (рис. 1).

По содержанию белых клеток крови бройлеры из контрольной, I и II групп превосходили птицу, получавшую с основным рационом антибиотик, на 1,32; 10,08 и 7,83% соответственно.

Анализ микробиома. При анализе бактериального профиля образцов содержимого слепой кишки цыплят-бройлеров контрольной группы было выявлено 327 OTU, которые можно отнести к 4 филумам зубактерий, представители которых составляли 99% микрофлоры. В частности, представители филума *Firmicutes* составляли большинство, на их долю приходилось 85,7%, а представителей филумов *Bacteroidetes*, *Actinobacteria* и *Proteobacteria* было не более 5% (4,16; 4,63 и 4,91% соответственно). Другие группы бактерий, не идентифицированных в ходе исследования, составили не более 0,58% от общего количества (рис. 2A). Оценивая микробное разнообразие более низких таксономических единиц в контрольной группе, можно отметить несколько минорных родов, которые представлены большим процентом микроорганизмов от общего числа: неклассифицированные роды семейства *Ruminococcaceae* (21,34%), *Streptococcus* (11,34%), *Turicibacter* (6,17%), *Faecalibacterium* (5,36%), *Eisenbergiella* (4,92%), неклассифицированные роды семейства *Lachnospiraceae* (4,51%), *Lactobacillus* (4,19%) (рис. 2B).

При анализе бактериального профиля содержимого слепой кишки цыплят-бройлеров I группы (добавление антибиотика) идентифицировано 295 OTU, которые можно отнести к 4 филумам. Доминирующим филумом также, как и в контроле, определен *Firmicutes* (81,6%), но содержание представителей данного филума на 4% меньше, чем в контрольной группе. Вследствие этого

Рис. 1. Содержание лейкоцитов в крови бройлеров кросса Арбор Айкрес на фоне введения гамма-окталактона и хлортетрациклина в рацион ($M \pm m$, $n = 30$), %

Fig. 1. The content of white blood cells in Arbor Acres cross broilers against the background of gamma-octalactone administration and chlortetracycline into the diet ($M \pm m$, $n = 30$), %

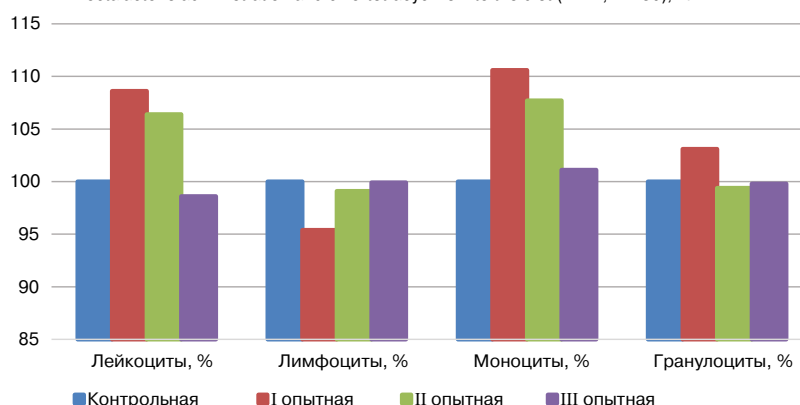


Рис. 2. Бактериальный профиль содержимого слепой кишки у цыплят-бройлеров контрольной группы: А — разнообразие таксонов; В — разнообразие родов

Fig. 2. Bacterial profile of broiler chickens of the control group: A — diversity of taxa; B — diversity of genera

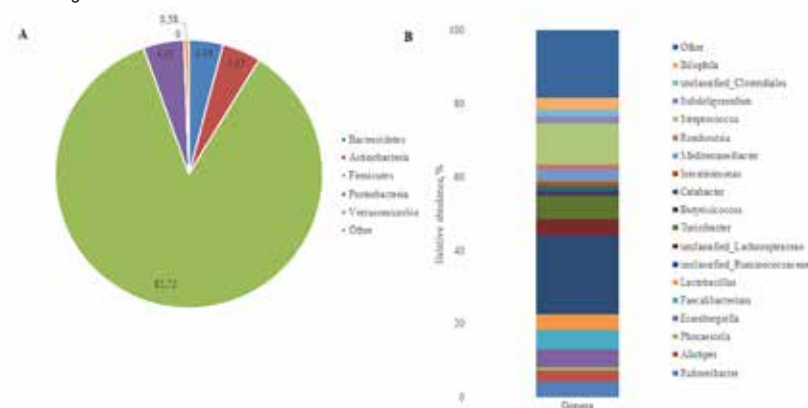
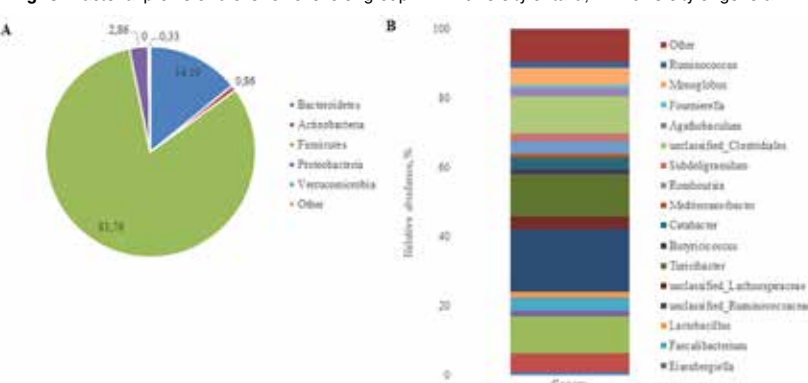


Рис. 3. Бактериальный профиль содержимого слепой кишки цыплят-бройлеров I группы: А — разнообразие таксонов; В — разнообразие родов

Fig. 3. Bacterial profile of broiler chickens of group I: A — diversity of taxa; B — diversity of genera



наблюдается увеличение процента микроорганизмов филума *Bacteroidetes*, разница составила 9,59% относительно контроля. Бактерии, относящиеся к филумам *Actinobacteria* и *Proteobacteria*, составляют около 3% от общего числа микроорганизмов. Доля остальных филумов составила не более 0,33% от общего количества (рис. 3A). При добавлении антибиотика увеличивается количество представителей родов *Phocaeicola* (10,8%), неклассифицированных родов семейства *Clostridiales* (10,7%), *Monoglobus* (4,99%), а также *Agathobaculum*,

Рис. 4. Бактериальный профиль содержимого слепой кишки у цыплят-бройлеров II группы: А — разнообразие таксонов; В — разнообразие родов

Fig. 4. Bacterial profile of broiler chickens of group II: A — diversity of taxa; B — diversity of genera

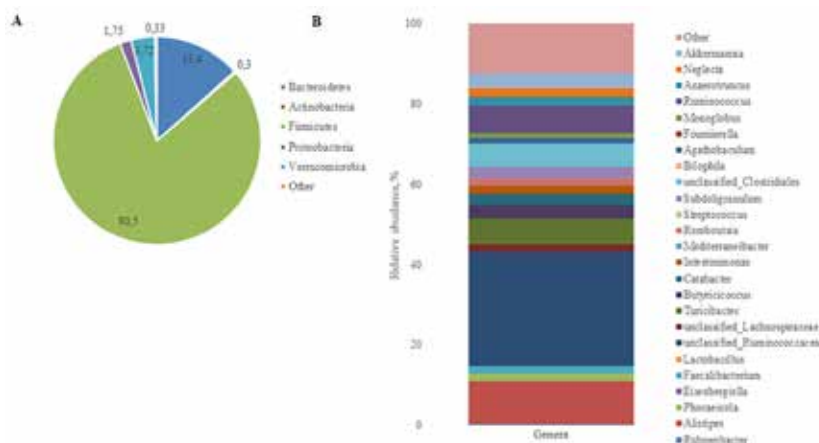
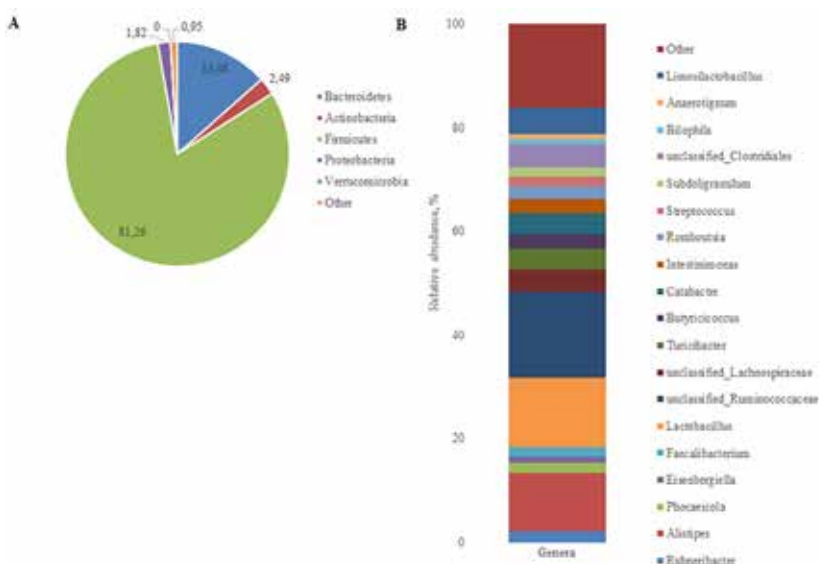


Рис. 5. Бактериальный профиль содержимого слепой кишки у цыплят-бройлеров III группы: А — разнообразие таксонов; В — разнообразие родов

Fig. 5. Bacterial profile of broiler chickens of group III: A — diversity of taxa; B — diversity of genera



Fournierella и *Ruminococcus*, содержание которых составляло чуть более 2%. Также наблюдается увеличение в 2 раза числа представителей рода *Turicibacter* (12,3%), при этом процент содержания родов *Lactobacillus* и *Mediterraneibacter* уменьшается почти в 2 раза (рис. 3В).

Метагеномное секвенирование содержимого слепой кишки II группы (добавление гамма-окталактона) позволило выявить 226 ОТЕ, которые соответствуют 5 филумам. Также, как и в контрольной и I группе, доминантами являются представители филума *Firmicutes* (80,5%). Их количество на 5,22% ниже, чем в контроле, разница между I и II группами была минимальна. На долю филума *Bacteroidetes* приходится 13,4% от общего содержания микроорганизмов; это на 9,24% выше, чем в контрольной группе (рис. 4А). При добавлении гамма-окталактона наблюдается появление представителей филума *Verrucomicrobia* (3,72%), которые отсутствовали в контроле и I группе. Филумы *Actinobacteria* и *Proteobacteria* составляли всего 2% от общего числа бактерий. Доля остальных филумов не превышала 0,33% от общей массы микробиоты. При добавлении к основному ра-

циону гамма-окталактона увеличивается количество представителей неклассифицированных родов семейства *Ruminococcaceae* на 7,20%, рода *Alistipes* — на 7,72%, почти в 2 раза — представителей рода *Butyrivibrio* и неклассифицированных родов семейства *Clostridiales*. Рода *Anaerotruncus*, *Neglecta* и *Akkermansia* были обнаружены в количестве около 4%, но отсутствовали в контроле (рис. 4В).

Микробный профиль цыплят-бройлеров III опытной группы (сочетание гамма-окталактона и антибиотика) был представлен микроорганизмами, относящимися к 4 филумам. Доминантом являлся филум *Firmicutes* (81,26%) — также, как и в вышеописанных группах. Однако разница была минимальна. Сравнение с контролем показало, что сочетание веществ уменьшило численность бактерий данного филума на 4,46%. На фоне вышеописанного наблюдается увеличение количества представителей филума *Bacteroidetes* на 9,32% относительно контроля. В III группе наблюдается увеличение представителей филума *Actinobacteria* в сравнении с I и II группой (на 1,63 и 2,19% соответственно) (рис. 5А). При сочетанном применении антибиотика и гамма-окталактона наблюдается увеличение числа представителей родов *Alistipes*, *Lactobacillus* и неклассифицированных родов семейства *Clostridiales* как относительно контроля, так и I и II опытных групп, при этом уменьшается количество представителей неклассифицированных родов семейства *Ruminococcaceae* (рис. 5В).

Результаты исследований согласуются с ранее проведенными экспериментами: так, добавление фитобиотиков к рациону цыплят-бройлеров (лиственная мука *Persicaria odorata* и листовая мука *Piper betle*; смесь *Aervalanata*, *Piper betle*, *Cynodon dactylon* и *Pipernigrum*) увеличило показатели роста; механизм действия в данном случае — улучшение морфологии кишечника, положительная модуляция и поддержание динамики микробиоты слепой кишки с улучшением усвояемости питательных веществ корма [10, 11]. Вероятным механизмом действия также может являться известный противовоспалительный эффект гамма-окталактона, его оказывают в том числе *M. charantia*; гамма-окталактон обладает важными биологическими свойствами, может помочь в борьбе с бактериальными патогенами [12], способен усиливать действие других растительных молекул или биологически активных веществ [13].

В опытных группах отмечено более высокое содержание эритроцитов, особенно при сочетании антибиотика и гамма-окталактона, — в литературе отмечается отсутствие какого-либо токсического действия лактонов на данные клетки [14]. Введение тетрациклинов но-

вого поколения в организм животных [15] также не оказывает негативного влияния на уровень эритроцитов, в то же время отмечено увеличение уровня гемоглобина в клетках.

Подтверждения положительного синергетического действия антибиотиков и фитохимических веществ получены некоторыми исследователями: в отношении усиления антибактериального эффекта [16] на грамотрицательные микроорганизмы [17] при комбинации тетрациклина и неочищенных экстрактов растений (*Vernonia mygdalina*, *Garcinia ola*); *Macleayac ordata* улучшает действие тетрациклина на показатели роста цыплят-бройлеров, такие как выживаемость, суточный вес и соотношение корма к весу [18]. Схожий эффект был отмечен в нашем эксперименте.

Косвенным подтверждением положительного действия фитохимических веществ, содержащихся в *Eucalyptus* (нами ранее выделен из данного растения гамма-окталактон), являются ранее проведенные исследования, где отмечено, что порошок из листьев *Eucalyptus* в дозе 0,5% [19] стимулирует рост бройлеров, увеличивает содержание лейкоцитов в крови, что согласуется с данными проведенного эксперимента.

В отличие от результатов нашего эксперимента, использование *Eucalyptus globulus* L. [20] в рационе брой-

леров не оказало влияния на прирост массы птицы, хотя имеются и противоположные сведения [21].

Использование хлортетрациклина как отдельно, так и в сочетании с гамма-окталактоном в рационе бройлеров увеличивало процент филума *Firmicutes*, но уменьшало процент филума *Bacteroidetes*, что согласуется с ранее проведенными исследованиями [22]; это сопровождалось увеличением числа представителей родов *Barnesiella* и *Ruminiclostridium*.

Ранее установлено, что более высокое соотношение *Firmicutes* к *Bacteroidetes* может способствовать росту бройлеров [23], что может быть возможной причиной стимулирования роста в рационах с кормовыми антибиотиками. Аналогичный эффект мы наблюдали в своих экспериментах.

Выводы / Conclusion

Полученные результаты позволяют сделать вывод, что включение гамма-окталактона и хлортетрациклина в рацион бройлеров способствует усилению ростостимулирующего эффекта, поедаемости корма, снижению расхода корма на 1 кг живой массы, увеличению эритропоза, числа представителей филума *Firmicutes* в слепом кишечнике. Необходима дополнительная оценка совместного действия веществ на большой птице.

Все авторы несут ответственность за свою работу и представленные данные.

Все авторы внесли равный вклад в эту научную работу. Авторы в равной степени участвовали в написании рукописи и несут равную ответственность за плагиат. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

All authors bear responsibility for the work and presented data.

All authors have made an equal contribution to this scientific work. The authors were equally involved in writing the manuscript and bear the equal responsibility for plagiarism. The authors declare no conflict of interest.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Исследования выполнены по проекту РНФ №16-16-10048 и теме НИР № 0526-2019-0002.

FUNDING

The research was carried out according to the RSF project No. 16-16-10048 and research project No. 0526-2019-0002.

REFERENCES

1. Ferri M, Ranucci E, Romagnoli P, Giaccone V. Antimicrobial resistance: a global emerging threat to public health systems. Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 2017; 57:2857-2876. doi: 10.1080/10408398.2015.1077192.
2. Mahmoud M.AM, Abdel-Mohsein HS. Hysterical tetracycline in intensive poultry farms accountable for substantial gene resistance, health and ecological risk in Egypt- manure and fish. Environ Pollut. 2019;255(1):113039. doi: 10.1016/j.envpol.2019.113039.
3. Franco CM, Vázquez BI. Natural Compounds as Antimicrobial Agents. Antibiotics (Basel). 2020; 9(5):217. doi: 10.3390/antibiotics9050217.
4. Shirzadi H, Shariatmadari F, Karimi Torshizi MA, Rahimi S, Masoudi AA, Zaboli G, Hedayat-Evrigh N. Plant extract supplementation as a strategy for substituting dietary antibiotics in broiler chickens exposed to low ambient temperature. Arch AnimNutr. 2020; 74(3):206-221. doi: 10.1080/1745039X.2019.1693860.
5. Manafi M, Hedayati M, Pirany N, Omede AA. Comparison of performance and feed digestibility of the non-antibiotic feed supplement (Novacid) and an antibiotic growth promoter in broiler chickens. Poult Sci. 2019;98(2): 904-911. doi: 10.3382/ps/pey437.
6. Herawati O, Untari T, Anggita M, Artanto S. Effect of mangosteen (*Garcinia mangostana* L.) peel extract as an antibiotic growth promoter on growth performance and antibiotic resistance in broilers. Vet World. 2019;13(4): 796-800. doi: 10.14202/vetworld.2020.796-800.
7. Foroutankhah M, Toghyani M, Landy N. Evaluation of Calendula officinalis L. (marigold) flower as a natural growth promoter in comparison with an antibiotic growth promoter on growth performance, carcass traits and humoral immune responses of broilers. AnimNutr. 2019;5(3):314-318. doi: 10.1016/j.aninu.2019.04.002.
8. Logachev K., Karimov I., Duskaev G., Frolov A., Tulebaev S., Zav'yalov O. Study of intercellular interaction of ruminal microorganisms of beef cattle. Asian Journal of Animal Sciences. 2015;9(5):248-253. DOI 10.3923/ajas.2015.248.253
9. Bosetti GE, Griebler L, Aniecevski E, Facchi CS, Baggio C, Rossatto G, Leite F, Valentini FDA, Santo AD, Pagnussatt H, Boiago MM, Petrolli TG. Microencapsulated carvacrol and cinnamaldehyde replace growth-promoting antibiotics: Effect on performance and

- meat quality in broiler chickens. An Acad Bras Cienc. 2020;92(3): e20200343. doi: 10.1590/0001-3765202020200343.
10. Oso AO, Suganthi RU, Reddy GBM, Malik PK, Thirumalaisamy G, Awachat VB, Selvaraju S, Arangasamy A, Bhatta R. Effect of dietary supplementation with phytochemical blend on growth performance, apparent ileal digestibility of nutrients, intestinal morphology, and cecal microflora of broiler chickens. Poult Sci. 2019;98(10): 4755-4766. doi: 10.3382/ps/pez191.
11. Basit MA, Kadir AA, Loh TC, Abdul Aziz S, Salleh A, Zakaria ZA, Banke Idris S. Comparative Efficacy of Selected Phytobiotics with Halquinol and Tetracycline on Gut Morphology, Ileal Digestibility, Cecal Microbiota Composition and Growth Performance in Broiler Chickens. Animals (Basel). 2020;10(11): 2150. doi: 10.3390/ani10112150.
12. Eltom SEM, Abdellatif AAH, Maswadeh H, Al-Omar MS, Abdel-Hafez AA, Mohammed HA, Agabein EM, Alqasoomi I, Alrashidi SA, Sajid MSM, Mobark MA. The Anti-Inflammatory Effect of a ram-Lactone Isolated from Ostrich Oil of *Struthio camelus* (Ratite) and Its Formulated Nano-Emulsion in Formalin-Induced Paw Edema. Molecules. 2021;26(12): 3701. doi: 10.3390/molecules26123701.
13. Deryabin D, Inchagova K, Rusakova E, Duskaev G. Coumarin's Anti-Quorum Sensing Activity Can Be Enhanced When Combined with Other Plant-Derived Small Molecules. Molecules. 2021;26(1): 208. doi: 10.3390/molecules26010208.
14. Gładkowski W, Włoch A, Pawlak A, Sysak A, Białońska A, Mazur M, Mitula P, Maciejewska G, Obmińska-Mrukowicz B, Kleszczyska H. Preparation of Enantiomeric β -(2',5'-Dimethylphenyl) Bromolactones, Their Antiproliferative Activity and Effect on Biological Membranes. Molecules. 2018;23(11): 3035. doi: 10.3390/molecules23113035.
15. Kvan O, Duskaev G, Rakhmatullin S, Kosyan D. Changes in the content of chemical elements in the muscle tissue of broilers on the background of plant extract and tetracyclines. International Journal of Environmental Science and Development. 2019. 10 (12), pp. 419-423. DOI 10.18178/ijesd.2019.10.12.1209
16. Bao M, Zhang L, Liu B, Li L, Zhang Y, Zhao H, Ji X, Chen Q, Hu M, Bai J, Pang G, Yi J, Tan Y, Lu C. Synergistic effects of anti-MRSA herbal extracts combined with antibiotics. Future Microbiol. 2020;5:1265-1276. doi: 10.2217/fmb-2020-0001.
17. Enemchukwu CM, Oli AN, Okoye EI, Ujam NT, Osazuwa EO, Emechebe GO, Okeke KN, Ifezulike CC, Ejirofor OS, Okoyeh JN.

Winning the War against Multi-Drug Resistant Diarrhoeagenic Bacteria. *Microorganisms*. 2019; 7(7): 197. doi: 10.3390/microorganisms7070197.

18. Li B, Zhang JQ, Han XG, Wang ZL, Xu YY, Miao JF. Macleaya cordata helps improve the growth-promoting effect of chlortetracycline on broiler chickens. *J Zhejiang Univ Sci B*. 2018; 19(10): 776-784. doi: 10.1631/jzus.B1700435.

19. Mashayekhi H, Mazhari M, Esmaeilpour O. Eucalyptus leaves powder, antibiotic and probiotic addition to broiler diets: effect on growth performance, immune response, blood components and carcass traits. *Animal*. 2018; 12(10):2049-2055. doi: 10.1017/S1751731117003731.

20. Farhadi D, Karimi A, Sadeghi G, Sheikhhahmadi A, Habibiyan M, Raei A, Sobhani K. Effects of using eucalyptus (*Eucalyptus globulus* L.) leaf powder and its essential oil on growth performance and immune

response of broiler chickens. *Iran J Vet Res*. 2017;18(1):60-62.

21. Mohebodini H, Jazi V, Ashayerizadeh A, Toghyani M, Tellez-Isaias G. Productive parameters, cecal microflora, nutrient digestibility, antioxidant status, and thigh muscle fatty acid profile in broiler chickens fed with *Eucalyptus globulus* essential oil. *Poult Sci*. 2021;100(3):100922. doi: 10.1016/j.psj.2020.12.020.

22. Shang QH, Liu SJ, He TF, Liu HS, Mahfuz S, Ma XK, Piao XS. Effects of wheat bran in comparison to antibiotics on growth performance, intestinal immunity, barrier function, and microbial composition in broiler chickens. *Poult Sci*. 2020; 99(10): 4929-4938. doi: 10.1016/j.psj.2020.06.031.

23. Hong Y, Cheng Y, Li Y, Li X, Zhou Z, Shi D, Li Z, Xiao Y. Preliminary Study on the Effect of *Bacillus amyloliquefaciens* TL on Cecal Bacterial Community Structure of Broiler Chickens. *Biomed Res Int*. 2019; 3: 5431354. doi: 10.1155/2019/5431354.

ОБ АВТОРАХ:

Галимжан Калиханович Дускаев, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник отдела кормления сельскохозяйственных животных и технологии кормов им. С.Г. Леушина, Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий Российской академии наук, 29, ул. 9 Января, г. Оренбург, 460000, Российская Федерация
e-mail: gduskaev@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9015-8367>

Шамиль Гафиулович Рахматуллин, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий Российской академии наук, 29, ул. 9 Января, г. Оренбург, 460000, Российская Федерация
<https://orcid.org/0000-0003-0143-9499>.

Ольга Вилориевна Кван, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий Российской академии наук, 29, ул. 9 Января, г. Оренбург, 460000, Российская Федерация
<https://orcid.org/0000-0003-0561-7002>.

Елена Анатольевна Русакова, кандидат биологических наук, научный сотрудник, Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий Российской академии наук, 29, ул. 9 Января, г. Оренбург, 460000, Российская Федерация
<https://orcid.org/0000-0002-1622-1284>.

Дианна Багдасаровна Косян, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий Российской академии наук, 29, ул. 9 Января, г. Оренбург, 460000, Российская Федерация
<https://orcid.org/0000-0002-2621-108X>.

Георгий Иванович Левахин, доктор сельскохозяйственных наук, профессор, главный научный сотрудник отдела кормления сельскохозяйственных животных и технологии кормов им. С.Г. Леушина, Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий Российской академии наук, 29, ул. 9 Января, г. Оренбург, 460000, Российская Федерация
<https://orcid.org/0000-0002-8686-1284>.

ABOUT THE AUTHORS:

Galimzhan Kalikhanov Duskaev, Doctor of Biological Sciences, Leading Researcher of the Department of Farm Animal Feeding and Feed Technology named after S.G. Leushin, Federal Scientific Center for Biological Systems and Agrotechnologies of the Russian Academy of Sciences, 29, st. Yanvarya 9, Orenburg, 460000, Russian Federation
e-mail: gduskaev@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9015-8367>

Shamil Gafullovich Rakhmatullin, PhD, senior researcher, Federal Scientific Center for Biological Systems and Agrotechnologies of the Russian Academy of Sciences, 29, st. Yanvarya 9, Orenburg, 460000, Russian Federation
<https://orcid.org/0000-0003-0143-9499>.

Olga Vilorievna Kvan, PhD, senior researcher, Federal Scientific Center for Biological Systems and Agrotechnologies of the Russian Academy of Sciences, 29, st. Yanvarya 9, Orenburg, 460000, Russian Federation
<https://orcid.org/0000-0003-0561-7002>.

Elena Anatolyevna Rusakova, PhD, research scientist, Federal Scientific Center for Biological Systems and Agrotechnologies of the Russian Academy of Sciences, 29, st. Yanvarya 9, Orenburg, 460000, Russian Federation
<https://orcid.org/0000-0002-1622-1284>.

Dianna Bagdasarovna Kosyan, PhD, senior researcher, Federal Scientific Center for Biological Systems and Agrotechnologies of the Russian Academy of Sciences, 29, st. Yanvarya 9, Orenburg, 460000, Russian Federation
<https://orcid.org/0000-0002-2621-108X>.

Georgiy Ivanovich Levakhin, Doctor of Agricultural Sciences, Professor, Chief Researcher of the Department of Animal Feeding and Feed Technology named after S.G. Leushin, Federal Scientific Center for Biological Systems and Agrotechnologies of the Russian Academy of Sciences, 29, st. Yanvarya 9, Orenburg, 460000, Russian Federation
<https://orcid.org/0000-0002-8686-1284>.