

Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
высшего образования
«КАЗАНСКИЙ (ПРИВОЛЖСКИЙ) ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

ИНСТИТУТ ФУНДАМЕНТАЛЬНОЙ МЕДИЦИНЫ И БИОЛОГИИ

КАФЕДРА ГЕНЕТИКИ

Направление: 06.04.01 (ОКСО 020400.68) – биология

ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА

Магистерская диссертация

**АНАЛИЗ ИНДУЦИРОВАННЫХ СОДЕРЖАНИЕМ В
НЕВОЛЕ ИЗМЕНЕНИЙ МИКРОБИОТЫ
ПИЩЕВАРИТЕЛЬНОГО ТРАКТА РАЗЛИЧНЫХ ЛИНИЙ
ПЕРЕПЕЛОВ**

Работа завершена:

"06" 06 2019 г.

(Е.Р. Кириллова)

Работа допущена к защите:

Научный руководитель
к.б.н., с.н.с.

"06" 06 2019 г.

(Т.В. Григорьева)

Заведующий кафедрой
д.б.н., профессор

"06" 06 2019 г.

(В.М. Чернов)

Казань–2019

СОДЕРЖАНИЕ

	стр.
ВВЕДЕНИЕ	4
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	6
1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	7
1.1 Птицеводство как отрасль мирового и отечественного агропромышленного комплекса	7
1.2 Особенности сельскохозяйственных птиц	9
1.2.1 Экология перепелов	9
1.2.2 Строение желудочно-кишечного тракта перепелов	10
1.3 Особенности микрофлоры ЖКТ сельскохозяйственных птиц	11
1.3.1 Роль микрофлоры ЖКТ сельскохозяйственных птиц	11
1.3.2 Основные представители микрофлоры желудочно-кишечного тракта перепелов	13
1.4 Заболевания птиц, опосредованные нарушениями баланса кишечной микрофлоры	16
1.5 Рацион домашних перепелов	19
1.6 Коррекция микрофлоры сельскохозяйственных птиц	21
1.6.1 Антибиотики в птицеводстве	21
1.6.2 Пробиотики	22
1.6.3 Пребиотики	26
1.6.4 Синбиотики	29
1.7 Влияние неволи на микробиом хозяев	30
1.7.1 Важность понимания влияния неволи на кишечный микробиом	30
1.7.2 Факторы, влияющие на изменение микробиома в неволе	31
1.7.3 Одомашнивание как фактор влияния на микрофлору	36
1.7.4 Поддержание микробного разнообразия у хозяев для успешной экологической адаптации	37
Заключение	39

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ	40
2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ	40
2.1 Исследуемый материал	40
2.2 Выделение ДНК	41
2.3 Электрофорез	41
2.4 Подготовка библиотек для Illumina MiSeq	42
2.4.1 Первый раунд ПЦР	42
2.4.2 Очистка продуктов ПЦР	43
2.4.3 Маркировка индексами и второй раунд ПЦР	43
2.4.4 Качественная и количественная проверка библиотек	44
2.5 Секвенирование	44
2.6 Биоинформационический анализ данных	44
3 РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ	45
3.1 Характеристика особенностей микробиоты различных отделов желудочно-кишечного тракта дикого (<i>Coturnix coturnix</i>) и домашнего (<i>Coturnix japonica</i>) перепела	45
3.2 Сравнительный анализ микробиоты желудочно-кишечного тракта дикого и домашнего перепела и определение динамики изменения численности значимых для здоровья микроорганизмов	48
3.3 Поиск видов лакто- и бифидобактерий, наиболее представленных (коровых) в микрофлоре ЖКТ дикого и домашнего перепела	53
3.4 Определение локализации превалирующих представителей родов <i>Lactobacillus</i> , <i>Bifidobacterium</i> , <i>Lactococcus</i> среди пяти отделов пищеварительного тракта дикого перепела	57
ВЫВОДЫ	61
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ	63

ВВЕДЕНИЕ

На сегодняшний день птицеводство является наиболее динамичной комплексной отраслью мирового и отечественного агропромышленного комплекса, которая вносит весомый вклад в продовольственную безопасность России, как основной производитель животного белка высокого качества. В частности, переполоводство является активно развивающимся направлением в связи с ценными диетическими свойствами производимой продукции. Яйца перепелов во многом превосходят куриные, в первую очередь по содержанию таких питательных веществ как калий, железо, фосфор, медь, кобальт, витамины A, B1 и B2, а мясо перепелов является диетическим и обладает хорошими вкусовыми качествами [Su *et al.*, 2014].

Микроорганизмы, сосуществуя с позвоночными в их желудочно-кишечном тракте, обеспечивают их хозяев многочисленными преимуществами и образуют тесные взаимоотношения, которые способствуют развитию иммунологических, физиологических и метаболических процессов в организме хозяина. Исследования последних лет все чаще отмечают влияние искусственной среды на микробиом животных, однако влияние различных средовых факторов на баланс кишечной микрофлоры перепела японского (*Coturnix japonica*) изучено мало. Пока описаны лишь единичные работы по метагеномному анализу его пищеварительного тракта, характеризующие особенности микробиоты в различных отделах тракта и отличия в составе сообщества в зависимости от пола особей [Wilkinson *et al.*, 2016].

Содержание в неволе сопряжено с замкнутой средой обитания с менее разнообразным рационом питания, по сравнению с обитанием в диких условиях, что оказывает влияние на разнообразие и численность кишечных бактерий. Кроме того, интенсивная скорость производства в птицеводстве является напряженной для перепелов. Под воздействием стрессовых факторов происходит понижение естественной резистентности организма к болезням

бактериального происхождения (*Salmonella*, *Campylobacter*, *Escherichia coli*, *Listeria*, *Clostridium*), приносящим отрасли огромные убытки.

Попытки устраниить проблемные таксоны с помощью антибиотиков могут привести к дальнейшим неблагоприятным последствиям для здоровья, поскольку эти соединения также уменьшают количество представителей полезной микрофлоры. Естественной возможностью восстановления нормофлоры и реконструкции взаимовыгодного симбиоза микроорганизмов кишечника является применение современных пробиотических препаратов, состоящих из эволюционно-закрепленных микробных ассоциаций автохтонной микрофлоры домашней и дикой птицы.

В связи с этим, целью исследования являлся метагеномный анализ микробиоты желудочно-кишечного тракта перепела японского (*Coturnix japonica*), содержащегося в Институте птицеводства (г. Сергиев Посад), и дикого перепела (*Coturnix coturnix*) Краснодарского края, в связи с необходимостью оценки влияния искусственного разведения на кишечную микробиоту птиц и поиском перспективных пробиотических штаммов.

Задачи:

- 1) Охарактеризовать особенности микробиоты для различных отделов желудочно-кишечного тракта дикого (*Coturnix coturnix*) и домашнего (*Coturnix japonica*) перепела;
- 2) Произвести сравнительный анализ микробиоты желудочно-кишечного тракта дикого и домашнего перепела и определить динамику изменения численности значимых для здоровья микроорганизмов;
- 3) Произвести поиск видов лакто- и бифидобактерий, наиболее представленных (коровых) в микрофлоре дикого и домашнего перепела;
- 4) Определить локализацию превалирующих представителей родов *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Lactococcus* среди пяти исследуемых отделов пищеварительного тракта дикого перепела.



СПРАВКА о результатах проверки текстового документа на наличие заимствований

Проверка выполнена в системе
Антиплагиат.Структура

Автор работы	Кириллова Екатерина Руслановна
Подразделение	
Тип работы	Не указано
Название работы	Магистерская диссертация Кириллова Е,Р,
Название файла	Магистерская диссертация ФИНАЛ.docx
Процент заимствования	16,33%
Процент цитирования	0,60%
Процент оригинальности	83,06%
Дата проверки	17:45:21 31 мая 2019г.
Модули поиска	Сводная коллекция ЭБС; Коллекция РГБ; Цитирование; Модуль поиска переводных заимствований; Коллекция eLIBRARY.RU; Коллекция ГАРАНТ; Модуль поиска Интернет; Модуль поиска "КПФУ"; Коллекция Медицина; Модуль поиска перефразирований eLIBRARY.RU; Модуль поиска перефразирований Интернет; Модуль поиска общеупотребительных выражений; Кольцо вузов

Работу проверил	Бабынин Эдуард Викторович
ФИО проверяющего	
Дата подписи	

Подпись проверяющего

Чтобы убедиться
в подлинности справки,
используйте QR-код, который
содержит ссылку на отчет.



Ответ на вопрос, является ли обнаруженное заимствование
корректным, система оставляет на усмотрение проверяющего.
Предоставленная информация не подлежит использованию
в коммерческих целях.