

Министерство образования и науки РФ

Федеральное государственное автономное образовательное
учреждение высшего образования

«КАЗАНСКИЙ (ПРИВОЛЖСКИЙ) ФЕДЕРАЛЬНЫЙ
УНИВЕРСИТЕТ»

ИНСТИТУТ ФУНДАМЕНТАЛЬНОЙ МЕДИЦИНЫ И БИОЛОГИИ

КАФЕДРА ГЕНЕТИКИ

Специальность: 06.03.01 (ОКСО 020400.62) – биология

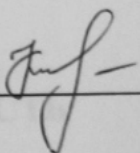
ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА

Бакалаврская работа

МЕТАГЕНОМНОЕ ПРОФИЛИРОВАНИЕ БАКТЕРИОЦЕНОЗА
ПИЩЕВАРИТЕЛЬНОГО ТРАКТА РАЗЛИЧНЫХ ЛИНИЙ
ПЕРЕПЕЛОВ

Работа завершена:

«1» июня 2017 г.



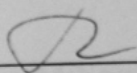
(Е.Р. Кириллова)

Работа допущена к защите:

Научный руководитель:

к.б.н., с.н.с.,

«1» июня 2017 г.

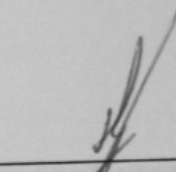


(Т.В. Григорьева)

Заведующий кафедрой

д.б.н., профессор

«1» июня 2017 г.



(В.М. Чернов)

Казань – 2017

СОДЕРЖАНИЕ		стр.
ВВЕДЕНИЕ		4
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ		6
1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ		7
1.1 Животноводство		7
1.1.1 Животноводство как решение продовольственной проблемы		7
1.1.2 Птицеводство, как отрасль животноводства		7
1.2 Особенности перепелов		10
1.2.1 Экология перепелов		10
1.2.2 Строение желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) птиц		11
1.3 Микрофлора желудочно-кишечного тракта птиц		12
1.3.1 Роль микрофлоры ЖКТ сельскохозяйственных птиц		12
1.3.2 Основные представители микрофлоры ЖКТ перепелов		14
1.3.3 Генетические связи хозяина с микробиомом кишечника		17
1.4 Заболевания птиц, опосредованные нарушениями баланса кишечной микрофлоры		18
1.5 Рацион домашних перепелов		20
1.5.1 Антибиотики в птицеводстве		22
1.6 Пробиотики		23
Заключение		27
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ		28
2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ		28
2.1 Исследуемый материал		28
2.2 Выделение ДНК		28
2.3 Электрофорез		29
2.4 Подготовка библиотек для Illumina MiSeq		29
2.4.1 Первый раунд ПЦР		29
2.4.2 Очистка продуктов ПЦР		30
2.4.3 Маркировка индексами и второй раунд ПЦР		31

2.4.4 Качественная и количественная проверка библиотек	31
2.5 Секвенирование	31
2.6 Биоинформатика	32
3 РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ	33
3.1 Характеристика особенностей микробиоты различных отделов желудочно-кишечного тракта (желудок, мускульный желудок, слепая кишка) перепелов различной экологии	33
3.2 Оценка влияния образа жизни на разнообразие микробных сообществ желудочно-кишечного тракта при сравнении трех исследуемых групп перепелов	37
3.3 Характеристика особенностей микробиоты желудочно-кишечного тракта домашних перепелов в зависимости от пола особей	40
ВЫВОДЫ	44
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ	45

ВВЕДЕНИЕ

Потребности рынка в качественной мясной продукции стимулируют развитие альтернативных областей животноводства, и птицеводства в частности. Перепеловодство в настоящее время является перспективным и активно развивающимся направлением в связи с ценными диетическими свойствами производимой продукции [Su *et al.*, 2014]. Яйца перепелов во многом превосходят куриные, в первую очередь по содержанию таких питательных веществ как калий (в 5 раз больше, чем в куриных), железо (в 4.5 раз больше), фосфор, медь, кобальт, витамины А, В1 и В2. Кроме того, самка перепела имеет сравнительно большую яйценоскость, а мясо перепелов является диетическим и обладает хорошими вкусовыми качествами [Кривошипин *с соавт.*, 1991].

Желудочно-кишечный тракт (ЖКТ) птиц имеет существенные различия по сравнению с млекопитающими и содержит уникальную микробную экосистему, адаптированную к организму хозяина [Stanley, Hughes, 2014]. Ее состояние высоко коррелирует с уровнем здоровья птицы в целом, так как микробиота выполняет ряд функций, главными из которых являются иммуномодулирующая и метаболическая. Последняя характеризуется способностью нормальной микробиоты переваривать белки и углеводы, обеспечивать синтез ряда аминокислот и белков (особенно при их дефиците), синтезировать витамины [Бондаренко *с соавт.*, 2004].

На сегодняшний день существует мало исследований, характеризующих состав микробиоты пищеварительного тракта птиц, за исключением кур, которые являются наиболее распространенным сельскохозяйственным объектом. У кур хорошо изучены особенности метаболизма и скорости роста на разных кормовых базах в различных условиях содержания. Что касается перепела японского (*Coturnix japonica*), 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].

Во всем мире в промышленных масштабах используют одну линию перепела японского, однако использование готовых технологий всегда сталкивается с проблемой региональной адаптации. На данный момент отсутствуют достаточные статистические данные, позволяющие судить о влиянии экологических факторов и адаптационных изменениях в микробиоте ЖКТ перепелов.

В связи с этим, целью исследования являлась сравнительная характеристика состава микробиоты трех групп перепелов: перепела японского, содержащегося в Институте птицеводства (г. Сергиев Посад), перепела японского, содержащегося в условиях Краснодарского края и диких перепелов Краснодарского края.

Задачи:

1) Охарактеризовать особенности микробиоты для различных отделов желудочно-кишечного тракта (железистый желудок, мускульный желудок, слепая кишка) перепелов различной экологии;

2) Оценить влияние образа жизни на разнообразие микробных сообществ желудочно-кишечного тракта при сравнении трех исследуемых групп перепелов: японского, содержащегося в Институте птицеводства, перепела японского, содержащегося в условиях Краснодарского края и диких перепелов Краснодарского края;

3) Охарактеризовать особенности микробиоты желудочно-кишечного тракта домашних перепелов в зависимости от пола особей.