



Влияние препаратов на основе эллаготанинов сладкого каштана на состав микрофлоры кишечника цыплят-бройлеров

Серякова А.А., аспирант кафедры морфологии и ветеринарно-санитарной экспертизы

Панов В.П., доктор биологических наук, профессор кафедры морфологии и ветеринарно-санитарной экспертизы

Просекова Е.А., кандидат биологических наук, доцент кафедры морфологии и ветеринарно-санитарной экспертизы
Российский государственный аграрный университет - МСХА имени К.А. Тимирязева

Воронин К.О., специалист по птицеводству, официальный представитель завода «Tanin Sevnica d.d.» (Словения) в РФ
ООО «СИВЕТРА-АГРО»

Комарчев А.С., кандидат сельскохозяйственных наук, ведущий научный сотрудник отдела селекции и генетики

ФГБНУ Федеральный научный центр «Всероссийский научный исследовательский и технологический институт птицеводства»
Российской академии наук (ФНЦ «ВНИТИП» РАН)

Аннотация: Для изучения влияния препаратов на основе эллаготанинов сладкого каштана на состав кишечной микрофлоры был проведен опыт на бройлерах кросса Кобб-500. Из суточных цыплят методом пар-аналогов по живой массе было сформировано 5 групп по 50 гол. Контрольная группа получала основной рацион. Опытные группы 1 и 2 на протяжении эксперимента получали Бутитан (Фарматан ВСО) в концентрации 0,075 и 0,025%, опытными группами 3 и 4 с 2 по 6 и с 20 по 24 сутки выращивания выпаивали Фарматан Жидкий в дозе 1 мл/л воды и 2 мл/л воды соответственно группам. Для исследования состава микрофлоры слепых отростков кишечника от каждой группы убивали по 3 головы средних по массе цыплят в возрасте 7, 14, 21 и 28 суток. Из взятых у них образцов химуса слепых кишок производили посевы для определения бифидобактерий, лактобактерий, кампилобактерий, клостридий и сальмонелл. Установлено, что в 7 и 14 суток различий между контрольной и опытной группами по составу микрофлоры не было. К 21 суткам у всех опытных групп возросло количество бифидобактерий и снизилось количество лактобактерий, клостридий, сальмонелл и кампилобактерий (разница между опытными и контрольными группами была достоверной, между опытными – нет). К 28 суткам во всех опытных группах увеличивалось количество бифидобактерий, лактобактерий и клостридий – не менялось, а сальмонелл и кампилобактерий – снижалось (различия между контрольной и опытными группами были достоверными). Сделан вывод об антибактериальном и пребиотическом эффекте препаратов на основе эллаготанинов сладкого каштана.

Ключевые слова: бройлеры, эллаготанины, микрофлора слепых отростков кишечника, клостридии, сальмонеллы, кампилобактерии, бифидобактерии.

Введение. Птицеводство играет важную, в мировом масштабе, роль в обеспечении человечества пищевым белком животного происхождения. Однако сегодня вместе с интенсивным развитием отрасли появляется ряд актуальных проблем, требующих незамедлительного решения. К таким проблемам относятся бактериальные и вирусные ин-

фекции, окислительный стресс, в том числе и вызванный тепловым стрессом, проблемы благополучия птицы, проблемы экологии, связанные с выбросами азота и парниковых газов и др. Перечисленные проблемы в совокупности могут вызывать снижение безопасности производимых продуктов и эффективность их производства, вредить благополучию

животных и наносить существенный вред окружающей среде.

Профилактика и лечение инфекционных и бактериальных болезней птицы, рост которых неизбежен с учетом темпов интенсификации отрасли, а также повышение продуктивности птицы традиционно считалось возможным только с использованием антибактериальных препаратов.



Вводимые в мире ограничения и запреты на применение кормовых антибиотиков как стимуляторов роста, в некоторой степени, способствовали усугублению обозначенных выше проблем [1].

Сегодня на производство продуктов птицеводства, яйца и мяса птицы приходится больше 40% мирового потребления комбикормов. Согласно современным научным исследованиям, в мире применение ростостимулирующих антибиотиков в птицеводстве в 3 раза выше, чем у крупного рогатого скота (КРС). Так, среднее мировое потребление противомикробных препаратов на килограмм произведенного мяса (в живой массе) составило 45; 148 и 172 мг/кг для КРС, птицы и свиней соответственно. Содержание антибиотиков в комбикормах в среднем по миру оценивается на уровне 66 г/т, и, согласно прогнозам из различных источников, рост содержания антибиотиков в кормах до 2030 г. ожидается на уровне 67-120% [2].

Но систематическое использование антибиотиков неизбежно приводит к ряду глобальных проблем, к которым, прежде всего, относится проблема антибиотикорезистентности, а кроме этого накопление антибиотиков в сверхдопустимых количествах в яйце и мясе; все это создает угрозу для здоровья людей. В России проблема ответственного применения антибиотиков сегодня также выходит на государственный уровень. Так, постановлением Правительства РФ от 25.09.2017 № 2045-р утверждена «Стратегия предупреждения антимикробной резистентности на период до 2030 г.»; 30 декабря 2020 г. вступил в силу Феде-

ральный закон № 492-ФЗ «О биологической безопасности в Российской Федерации». В рамках этого закона Минсельхоз России планирует ограничить использование антимикробных препаратов с 1 марта 2022 г. Поэтому уже сегодня производителям птицеводческой продукции необходимо найти препараты, которые бы смогли бы эффективно заменить антибиотики и были бы при этом полностью безопасны.

В качестве альтернативы антибиотикам следует рассматривать такие классы препаратов как органические кислоты, фитогенные кормовые добавки, пробиотики, пребиотики и т.д. Перечисленные группы препаратов имеют разный механизм биологического воздействия на организм, однако все они применяются с целью предотвращения распространения патогенной микрофлоры, улучшения иммунного статуса, оптимизации противовоспалительных реакций, что в результате повышает эффективность производства птицепродуктов без ущерба их качеству и безопасности.

Встречающиеся в природе растительные соединения (такие как дубильные вещества, сапонины, эфирные масла) достаточно широко изучаются во всем мире в качестве альтернативы антибиотикам. Поскольку потребность в альтернативных антибиотиках средствах возрастает, фитобиотические средства набирают популярность из-за их способности имитировать биоактивные свойства антибиотиков [5].

Одним из наиболее распространенных фитохимических вторичных фенольных метаболитов, выделяемым из многих растений,

являются таннины [3,4]. При правильно подобранной дозировке они оказывают положительное влияние на иммунную систему птицы [3].

Ранее таннины применялись в кормлении жвачных животных для уменьшения разложения белка в рубце и борьбы со вздутиями живота на пастбищах [6]. В кормлении моногастрических животных они традиционно считались «антипитательным фактором», однако подробное и всестороннее изучение их полезных свойств, таких как противомикробная и антиоксидантная активность и противовоспалительные эффекты, заставило рассматривать их как перспективные биоактивные соединения, помогающие облегчить проблемы, вызванные отказом от кормовых антибиотиков [1,6]. Инкапсуляция, термическая обработка, комбинирование с другими биологически активными веществами и иные стратегии также способствовали усилению эффекта от применения таннинов. Таннины подразделяются на две большие группы: гидролизуемые и конденсированные. Гидролизуемые таннины, в отличие от конденсированных, имеют в качестве ядра углеводов (обычно D-глюкозу) и не обладают антипитательными свойствами.

Эффективность применения растительных дубильных веществ в качестве альтернативы кормовым антибиотикам зависит от большого числа факторов, которые способствуют вариативности получаемого эффекта. Недавние исследования показали, что при правильном применении некоторые таннины улучшают микробную экосистему и показатели здоровья кишечника и,



как следствие, повышают продуктивность сельскохозяйственных животных [6].

Исследования, проводимые за последние пять лет и посвященные биологической активности таннинов и их влиянию на здоровье и продуктивность сельскохозяйственной птицы, можно разделить на следующие категории: антиоксидантная защита организма, противомикробное действие и влияние на морфологию кишечника.

Так, в исследовании, посвященном борьбе с окислительным стрессом (являющимся важным фактором старения яичников, приводящим к снижению плодовитости кур) было доказано, что проантоцианидин виноградных косточек помогает поддерживать в яичнике гомеостаз между клеточной пролиферацией и апоптозом, вызванным экспериментально индуцированным и естественным старением, и может эффективно предотвратить процесс старения яичников у кур за счет снижения окислительного стресса [7]. Против развития окислительного стресса у бройлеров было рекомендовано вводить в корма экстракт древесины каштана в количестве 1000 мг/кг; кроме улучшения антиоксидантного статуса, отмечено также улучшение метаболизма холестерина и показателей роста, без снижения качества мяса [8].

Благоприятное влияние экстрактов каштана, ивы и иных источников гидролизующих таннинов на состояние клеток кишечника и иммунный статус доказывалось во многих исследованиях. Результаты изучения водорастворимой формы таннинов каштана на модели эпителиальных кле-

ток курицы *in vitro* говорят о положительном влиянии изучаемого препарата: отмечены стимуляция пролиферации энтероцитов и увеличение антиоксидантного потенциала при отсутствии генотоксического действия и отсутствии влияния на клеточный метаболизм [9,13], увеличение экспрессии общего IgA, увеличение концентрации sigA, MUC-2 [10].

В экспериментах по влиянию дубильных веществ на морфологию кишечника, барьерную функцию, экспрессию противовоспалительных цитокинов, микрофлору и антиоксидантную способность у птицы были также получены положительные результаты. Применение препарата привело к статистически значимому снижению в популяциях *Escherichia coli*, *Clostridium* и *Eimeria* в кишечнике [4,7,11-12].

Целью данной работы было изучить влияние комплексного биопрепарата на основе эллаготанинов из экстракта древесины сладкого каштана и производных масляной кислоты на микробиоту слепых отростков кишечника бройлеров.

Материал и методика исследований. Эксперимент был проведен в учебно-опытном птичнике РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева в 2020 г. Суточные бройлеры кросса Кобб-500 методом параналогов по живой массе были разделены на пять групп (n=50). Цыплята контрольной группы получали основной рацион – комбикорма на основе зерна кукурузы по фазам роста («Старт», «Рост», «Финиш»), питательность которых соответствовала рекомендациям для данного кросса.

Цыплятам опытных групп в основной рацион дополнитель-

но вводили препараты на основе эллаготанинов и производных масляной кислоты: 1 и 2 опытные группы получали с кормом Бутитан (Фарматан ВСО) в дозировке 750 и 250 г/т соответственно; бройлерам 3 и 4 опытных групп с 2 по 6 и с 20 по 24 сутки выращивания выпаивали Фарматан Жидкий в дозе 1 и 2 мл/л воды соответственно группам.

Кормовая добавка Бутитан (Фарматан ВСО) представляет собой микрокапсулированный порошок на основе эллаготанинов из экстракта древесины сладкого каштана и бутирата кальция, защищенный микрокапсулой на основе пальмового масла. Фарматан Жидкий – жидкая кормовая добавка на основе эллаготанинов сладкого каштана, глицеридов масляной кислоты и лимонной кислоты.

Параметры микроклимата в период опыта поддерживались в пределах норм. Продолжительность эксперимента составила 42 дня. Для микробиологических исследований отбирали цыплят-бройлеров со средней по группе живой массой в 7-, 14-21- и 28-дневном возрасте и производили их убой методом декапитации. Для исследований отбирали слепую кишку, помещали в стерильные пакеты с полноразмерным сетчатым фильтром (BagPage, Interscience), образцы гомогенизировали, высевали на соответствующие селективные питательные среды и культивировали при рекомендуемом содержании кислорода при температуре 37°C. Колонии подсчитывали при помощи полуавтоматического счетчика.

Статистическую обработку результатов осуществляли при по-

мощи однофакторного дисперсионного анализа, где в качестве фактора была выбрана дозировка исследуемого препарата. Влияние изучаемого фактора представляли как F при $F_{крит.} = 3,48$.

Результаты исследований и их обсуждение. В таблице приведено содержание микроорганизмов различных групп в слепой кишке цыплят. В 7-суточном возрасте достоверных различий в количестве микроорганизмов между контрольной и

всеми опытными группами не выявлено.

К 2-недельному возрасту содержание микроорганизмов в слепой кишке не меняется по сравнению с недельным; достоверных различий между группами также не отмечено.

На 21 сутки эксперимента в опытных группах произошло повышение количества микроорганизмов группы бифидобактерий (на 21% по сравнению с 7-суточным возрастом), у брой-

леров контрольной группы этот показатель не изменился. Различия по содержанию бифидобактерий между контрольной и опытными группами были достоверными ($F=5,36$). В этом возрасте у опытных групп также показано достоверное снижение числа лактобактерий ($F=21,7$), а также потенциально патогенных бактерий *Clostridium sp.* ($F=43,86$), *Salmonella sp.* ($F=74,9$), *Campylobacter sp.* ($F=25,5$). Достоверных различий

Таблица. Содержание микроорганизмов в слепой кишке бройлеров, получавших препараты с экстрактом сладкого каштана

Микроорганизм	Группа				
	Контроль	1	2	3	4
7 сутки					
<i>Bifidobacterium sp.</i>	36,78±3,72	34,22±3,20	34,05±3,44	36,11±2,52	35,00±1,20
Лактобактерии	11,25±0,29	10,83±0,31	10,81±0,1	10,79±0,58	10,57±0,50
<i>Clostridium sp.</i>	1,47±0,39	1,44±0,18	1,58±0,07	1,67±0,11	1,39±0,11
<i>Salmonella sp.</i>	1,55±0,10	1,44±0,10	1,66±0,37	1,46±0,12	1,45±0,06
<i>Campylobacter sp.</i>	0,97±0,07	1,01±0,14	0,94±0,11	0,98±0,06	0,95±0,15
14 сутки					
<i>Bifidobacterium sp.</i>	34,65±4,54	36,77±6,40	36,30±5,29	34,57±1,39	35,08±0,69
Лактобактерии	11,54±0,65	11,18±0,84	10,57±0,23	10,87±0,45	11,21±0,65
<i>Clostridium sp.</i>	1,50±0,17	1,65±0,08	1,64±0,34	1,62±0,12	1,59±0,28
<i>Salmonella sp.</i>	1,46±0,04	1,55±0,29	1,53±0,04	1,60±0,13	1,42±0,29
<i>Campylobacter sp.</i>	0,97±0,05	0,91±0,13	1,10±0,08	1,02±0,08	1,09±0,16
21 сутки					
<i>Bifidobacterium sp.</i>	34,56±0,56	41,04±3,08	42,85±6,73	43,30±4,21	42,44±1,32
Лактобактерии	10,10±0,03	7,33±0,22	7,43±0,60	7,55±0,33	7,39±0,85
<i>Clostridium sp.</i>	1,62±0,09	0,99±0,06	0,89±0,06	0,92±0,16	0,88±0,05
<i>Salmonella sp.</i>	1,48±0,06	0,85±0,08	0,77±0,12	0,78±0,00	0,79±0,00
<i>Campylobacter sp.</i>	1,01±0,19	0,51±0,05	0,50±0,05	0,50±0,02	0,43±0,05
28 сутки					
<i>Bifidobacterium sp.</i>	33,77±0,35	49,73±2,22	50,83±3,15	48,13±0,9	48,00±1,18
Лактобактерии	9,91±0,42	7,10±0,22	7,97±0,55	7,24±0,50	6,68±0,09
<i>Clostridium sp.</i>	1,59±0,10	0,90±0,03	0,89±0,08	0,95±0,050	0,90±0,11
<i>Salmonella sp.</i>	1,54±0,04	0,64±0,05	0,64±0,12	0,60±0,02	0,60±0,08
<i>Campylobacter sp.</i>	1,00±0,11	0,27±0,07	0,31±0,04	0,33±0,06	0,33±0,05

Примечание: количество бифидо- и лактобактерий дано в КОЕ/г $\times 10^6$, количество клостридий, сальмонелл и кампилобактерий - в КОЕ/г $\times 10^3$.





в количествах изучаемых групп микроорганизмов между опытными группами бройлеров не выявлено.

К возрасту 28 суток у бройлеров контрольной группы количество исследованных микроорганизмов в слепой кишке не меняется. В опытных группах продолжает увеличиваться количество бифидобактерий (по сравнению с 21-суточным возрастом), лактобактерии и клостридии остаются на прежнем уровне; сальмонеллы и кампилобактерии снижаются.

Различия опытных групп с контрольной были достоверными: по бифидобактериям $F=55,07$, клостридиям $F=51,71$, сальмонеллам $F=138,08$, кампилобактериям $F=75,74$, лактобактериям $F=40,04$. Между опытными группами различия в количестве микроорганизмов были недостоверными.

Заключение. Изученные препараты достоверно повышали количество в слепых кишках безусловно полезных для птицы бифидобактерий, снижая при этом уровень потенциально патогенных микроорганизмов – сальмонелл, клостридий, кампилобактерий с 21-суточного возраста. Некоторое снижение уровня лактобактерий на фоне описанных выше явлений может быть вызвано антибактериальным действием препарата, которое не затронуло бифидобактерии в связи с различиями в биохимии и физиологии этих групп бактерий. В то же время, это явление может быть вызвано сильным ростом количества бифидобактерий, конкурирующих с другими микроорганизмами. Таким образом, можно сделать

выводы, что кормовые добавки на основе эллаготанинов сладкого каштана Бутитан (Фарматан ВСО) и Фарматан Жидкий обладают антибактериальным и пребиотическим действием, и их можно рассматривать как возможную альтернативу антибиотикам.

Литература

1. Choi J., Kim W.K. Dietary application of tannins as a potential mitigation strategy for current challenges in poultry production: A review // *Animals (Basel)*. - 2020. - V. 10, No 12. - P. 2389.
2. [Электронный ресурс] URL: <https://www.feedstrategy.com/poultry-nutrition/novel-growth-promoters-replacing-agps-in-poultry-feed/> (дата обращения 06.07.2021).
3. Dakheel M.M., Alkandari F.A.H., Mueller-Harvey I., Woodward M.J., Rymer C. Antimicrobial in vitro activities of condensed tannin extracts on avian pathogenic *Escherichia coli* // *Lett. Appl. Microbiol.* - 2020. - V. 70, No 3. - P. 165-172.
4. Cao G., Zeng X., Liu J., Yan F., Xiang Z., Wang Y., Tao F., Yang C. Change of serum metabolome and cecal microflora in broiler chickens supplemented with grape seed extracts // *Front. Immunol.* - 2020. - V. 8, No 11. - P. 610934.
5. Lee A., Dal Pont G.C., Farnell M.B., Jarvis S., Battaglia M., Arsenault R.J., Kogut M.H. Supplementing chestnut tannins in the broiler diet mediates a metabolic phenotype of the ceca // *Poult. Sci.* - 2021. - V. 100, No 1. - P. 47-54.
6. Huang Q., Liu X., Zhao G., Hu T., Wang Y. Potential and challenges of tannins as an alternative to in-feed antibiotics for farm animal production // *Anim. Nutr.* - 2018. - V. 4, No 2. - P. 137-150.
7. Liu X., Lin X., Mi Y., Li J., Zhang C. Grape seed proanthocyanidin extract prevents ovarian aging by inhibiting oxidative stress in the hens // *Ox-*

id. Med. Cell Longev. - 2018. - V. 9. - P. 9390810.

8. Liu H.S., Mahfuz S.U., Wu D., Shang Q.H., Piao X.S. Effect of chestnut wood extract on performance, meat quality, antioxidant status, immune function, and cholesterol metabolism in broilers // *Poult. Sci.* - 2020. - V. 99, No 9. - P. 4488-4495.

9. Brus M., Gradišnik L., Trapecar M., Škorjanc D., Frangež R. Beneficial effects of water-soluble chestnut (*Castanea sativa* Mill.) tannin extract on chicken small intestinal epithelial cell culture // *Poult. Sci.* - 2018. - V. 97, No 4. - P. 1271-1282.

10. Karaffová V., Bobíková K., Levkut M., Revajová V., Ševčíková Z., Levkut M. The influence of Farmatan® and Flimabend® on the mucosal immunity of broiler chicken // *Poult. Sci.* - 2019. - V. 98, No 3. - P. 1161-1166.

11. Liu H.W., Li K., Zhao J.S., Deng W. Effects of chestnut tannins on intestinal morphology, barrier function, pro-inflammatory cytokine expression, microflora and antioxidant capacity in heat-stressed broilers // *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* - 2018. - V. 102, No 3. - P. 717-726.

12. Shetshak M.A., Jatau I.D., Suleiman M.M., Ameh M.P., Gabriel A., Akefe I.O. In vitro anticoccidial activities of the extract and fractions of *Garcinia kola* (Heckel h.) against *Eimeria tenella* oocyst // *Rec. Pat. Biotechnol.* - 2021. - V. 15, No 1. - P. 76-84.

Для контакта с авторами:

Серякова

Александра Андреевна

E-mail: alseryakova@mail.ru

Панов Валерий Петрович

E-mail: panovval@gmail.com

Просекова Елена Александровна

E-mail: proseka2004@yandex.ru

Воронин Кирилл Олегович

E-mail: k.voronin@sivetra-agro.ru

Комарчев Алексей Сергеевич

E-mail: kas1380@bk.ru

The Effect of Preparations Based on Sweet Chestnut Ellagitannins on the Composition of Cecal Microbiota in Broilers

Seryakova A.A.¹, Panov V.P.¹, Prosekova E.A.¹, Voronin K.O.², Komarchev A.S.³

¹Russian State Agrarian University-Moscow Agricultural Academy of K.A. Timiryazev; ²LLC «SIVETRA-AGRO»; ³Federal Scientific Center “All-Russian Research and Technological Institute of Poultry” of Russian Academy of Sciences

Summary: The effects of preparations based on sweet chestnut ellagitannins (the potential alternative for in-feed antibiotics) on the cecal microbiota in broilers were studied on 5 treatments of Cobb-500 chicks (50 birds per treatment). Control treatment was fed standard corn-based diets for broilers (starter, grower, finisher). Similar diets for treatments 1 and 2 were supplemented with preparation Butitan (Farmatan VSO) in doses 750 and 250 ppm, respectively; drinking water for treatments 3 and 4 at 2-6 and 20-24 days of age was supplemented with Farmatan Liquid in doses 1 and 2 mL/L, respectively. Control euthanizing of broilers (3 birds per treatment with average live bodyweight at each age) for the sampling of cecal digesta was performed at 7, 14, 21, and 28 days of age. The samples were cultured on the differential mediums to determine the amounts (CFU/g) of Bifidobacteria, Lactobacteria, Clostridia, Salmonellas, and Campylobacteria. It was found that at 7 and 14 days of age there were no significant alterations in the composition of cecal microbiota in all treatments; the differences between all treatments were insignificant. At 21 day the increase in the amount of Bifidobacteria and decreases in the amounts of Lactobacteria, Clostridia, Salmonellas, and Campylobacteria were found in all treatments; at 28 days the amount of Bifidobacteria increased further, the amounts of Lactobacteria and Clostridia did not alter, the amounts of Salmonellas and Campylobacteria decreased in compare to 21 day of age. The differences in the amounts of all species between control treatment and treatments 1-4 at 21 and 28 days of age were significant while between treatments 1-4 insignificant. The conclusion was made that the studied preparations based on ellagitannins from the extract of sweet chestnut effectively acted as antibacterials and prebiotics.

Keywords: broilers, ellagitannins, cecal microbiota, Clostridia, Salmonellas, Campylobacteria, Bifidobacteria.

