

**МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
НАУЧНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«ФЕДЕРАЛЬНЫЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР БИОЛОГИЧЕСКИХ СИСТЕМ
И АГРОТЕХНОЛОГИЙ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК»**

На правах рукописи

Атландерова Ксения Николаевна

**Влияние ингибиторов «кворум сенсинга» на
рубцовое пищеварение и продуктивность молодняка
крупного рогатого скота**

06.02.08 Кормопроизводство, кормление сельскохозяйственных
животных и технология кормов

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Научный руководитель:
доктор биологических наук
Дускаев Г.К.

Оренбург – 2019

Оглавление

ВВЕДЕНИЕ.....	4
1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	10
1.1 Актуальные проблемы кормления сельскохозяйственных животных.	10
1.2 Чувство кворума бактерий: поиск и решения.....	12
1.3 Перспективность совместного использования веществ «anti-quorum» с другими веществами	19
1.4 Использование ингибиторов «кворум сенсинга» в животноводстве...	21
2. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	27
2.1 Материалы и методы исследования.....	27
2.2 Результаты лабораторных исследований.....	38
2.2.1 Результаты биологической оценки растительных веществ	38
2.2.2. Результаты исследований переваримости корма на моделях <i>in vitro</i> и <i>in situ</i>	42
2.3 Результаты физиологических исследований на молодняке крупного рогатого скота.....	45
2.3.1 Результаты исследований по оценке рубцового пищеварения и состава микробиоценоза подопытных животных.....	46
2.3.1.1 Рубцовое пищеварение подопытных животных.....	47
2.3.1.2 Микробиоценоз рубца подопытных животных.....	49
2.3.1.3. Ферментативная активность в рубце подопытных животных.....	56
2.3.1.4 Воздействие опытных добавок на минеральный обмен в рубце.....	58
2.3.2. Переваримость питательных веществ рационов	63
2.3.2.1.Использование азота корма.....	65
2.3.2.2 Обмен кальция и фосфора в организме бычков.....	66
2.3.2.3 Обмен энергии в организме в организме бычков.....	68
2.3.3 Результаты гематологических исследований	70
2.3.3.1 Морфологический состав крови	70

2.3.3.2 Биохимические показатели крови	71
2.3.3.3 Антиоксидантный статус сыворотки крови	73
2.4 Результаты научно-хозяйственного опыта.....	74
2.4.1 Кормление подопытных животных.....	74
2.4.2 Динамика роста молодняка крупного рогатого скота.....	76
2.4.3 Экономическая эффективность выращивания молодняка.....	79
3. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ.....	81
4. ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	89
5. ПРЕДЛОЖЕНИЯ К ПРОИЗВОДСТВУ.....	92
6. ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ.....	93
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ.....	94

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы. «Современный мир вступает в новый, неизвестный ранее этап развития связанный с наступлением постантибиотической эпохи, когда любое заражение человека патогенной микрофлорой может приводить к смерти» (WHO, 2012). Понимание этого определило разработку и реализацию целого комплекса мер на государственном уровне. В числе последних - «Стратегия предупреждения распространения антимикробной резистентности в Российской Федерации на период до 2030 года» принятая распоряжением Правительства Российской Федерации № 2045-р от 25 сентября 2017 года.

Между тем основным потребителем антибиотиков является животноводство - 50% мирового производства, до 70% в развитых странах (Marshall B. M., Levy S.B., 2011). Широкое использование антибиотиков в животноводстве на фоне исчерпания терапевтического потенциала данной группы веществ и распространения феномена антибиотикорезистентности, является угрозой для человека. Таким образом, уход от кормовых антибиотиков в животноводстве позволит защитить человека (Landers T. F., et al, 2012).

Понимание складывающейся ситуации побуждает ведущих ученых и мировых производителей к созданию альтернативы антибиотикам в кормлении животных (Seal B.S. et al, 2013; Cheng G. et al, 2014; Yang C. et al, 2015; Кочиш И.И. и др., 2019; Егоров И.А. и др., 2019). Одним из перспективных направлений является разработка новых решений по управлению чувством кворума у бактерий (Kalia V.C., et al, 2014).

Степень разработанности темы. Обнаружение зависимой от плотности химической связи у бактерий с характеристиками, лежащих в основе молекулярно-генетических механизмов стало одним из самых ярких открытий в микробиологии в конце 20-го века (Miller M.B., Bassler B.L., 2001) и одним из перспективных способов создания нового класса веществ. Это явление, обозначаемое понятием «чувство кворума» (англ. - quorum sensing -

QS), позволило принципиально по-новому оценить характер функциональной и морфологической дифференциации прокариот, включая развитие биолюминесценции, синтез пигментов и антибиотиков, формирование экзоферментов, факторов вирулентности и формирование биопленок (Costi D. Sifri, 2008).

За последние годы учение о «кворум сенсинге» прошло большой путь от идеи до первых фармпрепаратов. Между тем на фоне успешного развития технологии в медицине, в животноводстве, как одной из основных отраслей потребления антибиотиков успехи куда более чем скромные. В литературе есть только единичные упоминания об исследованиях по применению ингибирования QS в аквакультуре (Yang Chengbo, et al, 2015); в птицеводстве (Redondo L.M, et al, 2014; Fisinin V.I., et al, 2018). Как следует из полученных данных ингибирование «кворум сенсинг» способствует снижению нагрузки на микробиоту организма и, как следствие, оказывает благоприятное влияние на продуктивность животных (Duskaev G.K., et al, 2017, 2018).

До настоящего времени исследования по проблеме для жвачных животных немногочисленны. Вместе с тем значительная роль микрофлоры в жизнедеятельности этих животных, равно как и для получения продукции позволяет рассматривать решения по коррекции микрофлоры пищеварительного тракта с помощью ингибирования QS в числе перспективных.

Цель и задачи исследований. Целью исследований, в соответствии с программой ФНИ государственных академий наук на 2013-2020 годы (№ 0526-2019-0002), являлось изучение влияния ингибиторов «кворум сенсинга» на рубцовое пищеварение, микробиоценоз рубца, обмен веществ и продуктивность молодняка крупного рогатого скота.

В соответствии с поставленной целью, в задачи исследований входило:

1. Провести биологическую оценку (на модели *Echerichia coli* K12 TG1) экстракта коры дуба (*Quercus robur*), комплекса веществ ингибиторов «кворум сенсинга»;

2. Изучить влияние и определить оптимальные дозировки экстракта коры дуба, комплекса веществ ингибиторов «кворум сенсинга» по переваримости корма *in vitro* и *in situ*;

3. Изучить особенности рубцового пищеварения и обмен химических элементов в рубце при использовании опытных кормовых добавок;

4. Изучить микробиоценоз рубца на фоне поступления с кормом экстракта коры дуба и комплекса веществ ингибиторов «кворум сенсинга»;

5. Изучить влияние опытных кормовых добавок на переваримость и обмен веществ у молодняка крупного рогатого скота;

6. Изучить особенности роста молодняка крупного рогатого скота при скармливании опытных кормовых добавок;

7. Определить экономическую эффективность использования препаратов в кормлении крупного рогатого скота.

Научная новизна. Впервые, на модели молодняка крупного рогатого скота дана комплексная оценка прототипа перспективного препарата ингибиторов «кворум сенсинга», выделенных из экстракта коры дуба (*Quercus robur*). В эксперименте *in vitro*, *in situ* и *in vivo* доказана возможность использования ингибиторов «кворум сенсинга» для повышения переваримости и эффективности использования кормов жвачными, что позволяет рассматривать новые препараты в качестве замены кормовых антибиотиков.

Показана зависимость эффективности рубцового пищеварения от присутствия ингибиторов «кворум сенсинга» в рационе животных.

Впервые, в эксперименте описано действие ингибиторов «кворум сенсинга» на микробиоценоз рубца, выражающееся в изменении соотношения грамотрицательной и грамположительной микрофлоры рубца, с преобладанием в большей степени *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Proteobacteria* и уменьшением числа бактерий класса *Bacteroidia*, *Negativicutes*. Впервые, показано нарастание наиболее значимого для рубца вида *Streptococcus bovis* при использовании ингибиторов «кворум сенсинга».

Получены новые данные обосновывающие использование ингибиторов «кворум сенсинга» в целях повышения целлюлозолитической и амилолитической активности рубца.

Впервые описан минеральный обмен в рубце при использовании в кормлении крупного рогатого скота ингибиторов «кворум сенсинга». Выявлен факт снижения концентрации в рубцовом содержимом железа, хрома и повышение меди, марганца, а в отдельные периоды селена.

Предложена «Кормовая добавка для крупного рогатого скота» (заявка на изобретение №2019129659).

Теоретическая значимость работы состоит в описании механизма действия препаратов экстракта коры дуба и ингибиторов «кворум сенсинга» на микробиом рубца через систему Quorum Sensing LuxI-LuxR типа, с подавлением условно-патогенной микрофлоры, в том числе семейства *Enterobacteriaceae*, представителей родов: *Enterobacter*; *Melissococcus*; *Serratia*. В этих условиях удалось полностью исключить из микробиома рубца представителей рода *Hafnia*.

Практическая значимость работы состоит в разработке нового решения по созданию препаратов для крупного рогатого скота альтернативных кормовым антибиотикам, применение которых не сопровождается развитием антибиотикорезистентности. Использование в кормлении молодняка крупного рогатого скота ингибиторов «кворум сенсинга» позволяет увеличить интенсивность роста животных на 12-18%, повысить уровень рентабельности производства говядины на 3-4 %.

Методология и методы исследования. Исследования проведены в несколько этапов. На начальном этапе выполнены лабораторные исследования, в том числе с использованием зоотехнических, биохимических и физиологических методов на современном оборудовании на базе центра коллективного пользования Федерального научного центра биологических систем и агротехнологий Российской академии наук.

Спектр методов, использованных для достижения поставленных целей включал: методы микробиологического скрининга анти-кворум активности тестируемых веществ и соединений с использованием специальных бактериальных биосенсоров, при развитии эффекта «кворум сенсинга» специфически реагирующих развитием свечения; методы экспериментальных исследований на моделях *in vitro* («искусственный рубец» и др.) и *in vivo* (модели животных *Bos Taurus* с фистулой рубца), позволяющие оценить эффективность комплексных соединений в рационах кормления молодняка крупного рогатого скота.

Полученные результаты обработаны при помощи программного пакета «Statistica 10.0 RU».

Положения, выносимые на защиту:

- скармливание препаратов ингибиторов «кворум сенсинга» молодняку крупного рогатого скота сопровождается изменениями в рубцовом пищеварении, повышением переваримости и эффективности использования кормов животными;

- действие ингибиторов «кворум сенсинга» на микробиоценоз рубца выражается в изменении соотношения грамотрицательной и грамположительной микрофлоры, с подавлением роста отдельных таксонов условно-патогенной микрофлоры;

- использование в кормлении молодняка крупного рогатого скота ингибиторов «кворум сенсинга» позволяет увеличить интенсивность роста животных и повысить рентабельность производства говядины.

Степень достоверности и апробации работы. Научные положения, выводы и рекомендации, сформулированные в диссертации, обоснованы фактическими данными. Подготовка, биометрический анализ и интерпретация полученных результатов проведены с использованием современных методов обработки информации и статистического анализа. Основные положения работы доложены и обсуждены на расширенном заседании научных сотрудников и специалистов отдела кормления сельскохозяйственных

животных и технологии кормов имени проф. С.Г. Леушина ФГБНУ «Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий Российской академии наук» (Оренбург, 2019).

По теме диссертации опубликовано 19 научных работ, в том числе 4 в изданиях, индексируемых в базе Scopus и Web of Science, 4 в периодических изданиях, рекомендованных ВАК РФ для публикации основных результатов диссертации на соискание ученой степени кандидата наук.

Структура и объем диссертации. Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на 123 страницах компьютерной верстки, состоит из введения, обзора литературы, главы с описанием материалов и методов исследований, глав собственных исследований, обсуждения полученных результатов, заключения, предложений производству, содержит 23 таблицы, 13 рисунков. Список использованной литературы включает 241 источников, в том числе 204 зарубежных авторов.

1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Актуальные проблемы кормления сельскохозяйственных животных

Современное животноводство невозможно без кормовых добавок, обеспечивающих животных необходимыми микронутриентами, позволяющих решать ветеринарные и многие другие задачи. Причем на протяжении всей истории развития вопроса первоочередной задачей, решаемой при создании той или иной кормовой добавки, являлось достижение какой-то из важных, как правило, трофических, задач. И только в последние годы практики пришли к необходимости переосмысления самого подхода к созданию добавок, обращая внимание на меры по созданию оптимальных условий функционирования желудочно-кишечного тракта сельскохозяйственных животных как системы включающей и микробиоценозы симбиотной микрофлоры (Celi P. et al, 2017; Hillman E. T., et al, 2017). Особенно это актуально для полигастричных, жизнь которых тесно связана с микробными сообществами (Wanapat, M. et al, 2015).

По различным оценкам микробные популяции, отвечают за эндогликоканазную, ксиланазную активности, 70 % амилазной и 75 % протеазной активности в рубце жвачных и в толстом кишечнике моногастричных животных (Patra A.K., Yu Z., 2015). Столь впечатляющие цифры заставляют по-иному взглянуть на проблему управления микрофлорой пищеварительного тракта. До недавнего времени это достигалось через использование кормовых антибиотиков. Но по мере развития у микроорганизмов антибиотикорезистентности пришлось отказаться от этой группы кормовых добавок.

В настоящее время, все более широко используют альтернативные антибиотикам препараты (про- и пребиотики, органические кислоты, энзимы, растительные экстракты). Но как показала практика, в отдельности данные

препараты не оказывают видимого эффекта при борьбе с патогенной микрофлорой.

В связи с этим изучение влияния отдельных кормовых компонентов на микрофлору животных представляется актуальной задачей, поскольку именно бактериальное звено этого биоценоза, например, у жвачных, первым вступает во взаимодействие с поступившим в рубец кормом.

В 2012 году на конференции ВОЗ «Борьба с устойчивостью к противомикробным препаратам — время действовать» Гендиректор ВОЗ заявила, что современный мир вступает в новый, неизвестный ранее этап развития, в котором, по её словам, нас может ожидать «конец современной медицины в том виде, в каком мы ее знаем». Специалисты говорят о наступлении постантибиотической эпохи, когда «даже стрептококковое воспаление горла или царапина на коленке ребенка смогут приводить к смерти».

Понимание этого определило разработку и реализацию целого комплекса мер обеспечивающих выход из сложившейся ситуации. В числе последних, «Стратегия предупреждения распространения антимикробной резистентности в Российской Федерации на период до 2030 года» принятая распоряжением Правительства Российской Федерации No 2045-р от 25 сентября 2017 года.

Мировое животноводство является основным потребителем антибиотиков, до 50% от ежегодного производства. Причем в развитых странах эта доля еще больше до 70% в США (Marshall B. M., Levy S.B., 2011). Широкое использование антибиотиков в животноводстве на фоне исчерпания терапевтического потенциала данной группы веществ и распространения феномена антибиотикорезистентности, является угрозой для человека. Таким образом, уход от кормовых антибиотиков в животноводстве позволит защитить человека (Landers T. F., et al, 2012).

В связи с этим актуальность проблемы определяется необходимостью замены кормовых антибиотиков в рационах сельскохозяйственных животных

на новые препараты и созданию на их основе высокоэффективных систем кормления.

1.2 Чувство кворума бактерий: поиск и решения

«Кворум сенсинг» - это форма бактериальной коммуникации, используемой для определения плотности и контроля коллективного поведения. Этот процесс зависит от производства, выпуска и группового обнаружения сигнальных молекул, названных автоиндукторами (AIs), которые обычно являются N-ацил-гомосерин-лактонами (AHLs), продуцируемыми в грамотрицательных бактериях (Hani Z., 2018).

«Кворум сенсинг» играет важную роль в производстве факторов вирулентности и патогенности. Многие исследования показывают, что нарушение системы QS может уменьшить секрецию факторов вирулентности и образования биопленки, и это будет являться надежным путем для ингибирования бактериального инфекционного заболевания, то есть создания устойчивой системы «anti-quorum».

Обнаружение зависимой от плотности химической связи у бактерий с характеристиками, лежащих в основе молекулярно-генетических механизмов стало одним из самых ярких открытий в микробиологии в конце 20-го века (Miller M.B., Bassler B.L., 2001) и одним из перспективных способов создания нового класса веществ. Это явление, обозначаемое понятием «зондирование кворума» (англ. - quorum sensing), позволило принципиально по-новому оценить характер функциональной и морфологической дифференциации прокариот, включая развитие биолюминесценции, синтез пигментов и антибиотиков, формирование экзоферментов, факторов вирулентности и формирование биопленок (Costi D. Sifri, 2008).

Кворум сенсинг - это система связи, которая позволяет бактериям контролировать свою плотность населения за счет производства и восприятия небольших молекул сигнала, называемых автоиндукторами. В

грамотрицательных бактериях молекулы аутоиндуктора включают ацил-гомосериновые лактоны (АГЛ), которые синтезируются членами аутоиндукторных синтаз (гомологи LuxI). Синтезированные сигнальные молекулы выделяются из клетки и связываются с конкретными рецепторными белками (LuxR гомологи) соседних клеточных стенок (Rutherford S.T., Bassler, V.L., 2012).

Учитывая, что QS является важным процессом для выживания бактерий, их патогенности и вирулентности, большое значение имеет создание терапевтических препаратов, которые предотвращают или управляют бактериальным патогенезом путем ингибирования бактериального QS.

Это может быть достигнуто разными способами, включающие ингибирование биосинтеза молекулы AHLs, деградацию молекул AHLs бактериальными лактоназами и ацилазами и / или использование небольших молекул для блокирования активации белка рецептора AHLs (Kociolek M.G., 2009; Chen F., et al, 2013). Идеальные ингибиторы QS были определены как химически стабильные и высокоэффективные молекулы с низкой молекулярной массой, которые проявляют высокую степень специфичности для регулятора QS без токсичных побочных эффектов, как на бактериях, так и на конечном эукариотическом хозяине. Как синтетические, так и природные соединения способны нарушать QS-регулируемое поведение бактерий. Первая группа включает аналоги метилтиоаденозина, а также галогенированные фураноны, фитохимикаты из фруктов, трав и специй, таких как циннамальдегид, чеснока, ванили и фитонциды из лекарственных экстрактов растений, относятся к природным. К сожалению, галогенированные фураноны являются ядовитыми веществами и не могут быть использованы для лечения бактериальных инфекций у людей (Singh B.N., et al, 2009).

Природные блокаторы Quorum Sensing

Кворумные ингибирующие (QSI) соединения были идентифицированы из широкого спектра природных ресурсов, в частности лекарственных растений, съедобных трав, фруктов и овощей (Adonizio A.L., et al 2006, Husain

F. M., et al 2018), а также специй (Chenia H. Y., 2013). Природные продукты являются перспективными источниками соединений QSI, которые потенциально могут ингибировать QS-регулирование бактериальной колонизации и производства фактора вирулентности. Также возможно, что некоторые антимикробные свойства фитохимикатов могут быть отнесены к ингибированию QS, что не может быть связано с ингибированием роста микроорганизма. Такие анти-патогенные соединения, в отличие от противомикробных средств, не являются ни бактерицидными, ни бактериостатическими и не уменьшают риск развития резистентности (Truchado P., et al, 2012). По сравнению с обычными противомикробными средствами ингибирующие QS соединения не убивают и не подавляют рост бактерий, поэтому не оказывают селективного давления для развития резистентных бактерий. Фитохимические вещества часто имеют множественные терапевтические эффекты, и одним из их механизмов действия может быть ингибирование или модуляция QS, в результате чего они ослабляют экспрессию генов вирулентности, ответственных за патогенез, и установление инфекций путем вмешательства в системы бактериальной связи.

Грамотрицательные бактерии используют систему QS, опосредованную диффундирующими сигнальными молекулами типа N-ацилгомосеринлактонами (AHL) (Fuqua C., et al, 2001). Многие патогенные бактерии используют систему quorum sensing (QS) для регулирования генов, необходимых для экспрессии вирулентности, поэтому ингибирование системы QS рассматривается как новая стратегия развития антипатогенных агентов, особенно для борьбы с бактериальными инфекциями, вызванными резистентными к антибиотикам штаммами (Rasko D.A., Sperandio V., 2010).

За последние несколько лет проблема поиска решений ингибирования QS получила широкое развитие в исследованиях на эукариотах (Rasmussen T.B., et al, 2005; Gonzalez J.E., Keshavan N.D., 2006). Это позволило выделить несколько групп веществ, специфически ингибирующих QS в репортерных

штаммах, в том числе аджоен из чеснока, катехин из *Combretum albiflorum*, иберин из хрена (Vandeputte O.M., et al 2010; Jakobsen A.T.H., 2012).

Растения в ходе своей эволюции выработали защитные механизмы против бактериальных инфекций (Vattem D.A., 2007) которые ограничивают способность микроорганизмов вырабатывать факторы, необходимые для вирулентности и успешной колонизации (Koh, C.L., et al, 2013), не являясь бактерицидными и бактериостатическими. Вместо этого эти соединения ослабляют экспрессию генов, ответственных за патогенез и вирулентность, путем вмешательства в чувствительность QS (Suga H., Smith K.M., 2003).

Альтернативным направлением научного поиска стало исследование природных механизмов подавления систем QS, реализуемых некоторыми видами растений и микроорганизмов.

Оценка основных способов и методов подавления «кворум сенсинга» указывает на лекарственные растения как перспективный вариант получения эффективных и безопасных соединений с аналогичной активностью, а терапевтический эффект растений обусловлен содержанием в них большого количества биологически активных веществ, разнообразных по своему химическому составу и фармацевтическому действию.

В частности, первым из описанных анти-кворум соединений растительного происхождения стали галогенизированные фураноны, образуемые морской красной водорослью *Delisea pulchra* (Bauer W.D., Teplitski M., 2001), их структура включает фурановое кольцо с замещенной в положении С-3 ацильной цепью и атомами брома в положении С-4, а также варьирующие замещения в положении С-5 (Chun C.K., et al., 2004), что в целом позволяет констатировать значительное структурное сходство фуранонов и ГСЛ, объясняющее возможность их конкуренции за связывание с соответствующим рецепторным белком. Окончательным же эффектом данных соединений была признана дестабилизация комплекса «рецепторный белок – лиганд», приводящая к ускорению оборота рецепторного белка LuxR в клетках *Vibrio fischeri* и *Vibrio harveyi* (Waters C.M., Bassler, B. L., 2006). В дальнейшем

удалось синтезировать оригинальные соединения, даже превосходящие способность природных фуранонов к подавлению систем QS (LaSarre B., Federle M. J., 2013) однако, они оказались токсичными для животных (Cegelski L., et al, 2008), что явилось существенным препятствием на пути их практического использования.

Многие научные исследования выявили способность растительных экстрактов и фитохимических веществ вмешиваться в системы связи QS внутри и между видами (Nazzaro F., et al, 2013).

Компоненты растения часто нацеливаются на бактериальную систему QS различными путями, останавливая синтез сигнальных молекул с помощью, кодируемой luxI АГЛ-синтазы, расщепляя сигнальные молекулы и / или направляя рецептор сигнала luxR (Smid E.J., Lacroix C., 2013). Наиболее часто идентифицируемые механизмы действия растительных пищевых экстрактов и фитохимикатов связаны с их сходством по химической структуре с сигналами QS (AHL), а также с их способностью разрушать рецепторы сигналов (LuxR / LasR) (Asfour H.Z., 2018). Некоторые исследования показали защитное действие соединений QSI против патогенной бактериальной инвазии. Тем не менее, необходимы дополнительные исследования *in vivo*, чтобы представить соответствующие результаты, касающиеся бактериального патогенеза и ингибирования QS (Malheiro J., et al, 2016). Интересно, что соединения анти-QS важны, так как они не вызывают проблемы устойчивости, поскольку они не создают давления отбора. Большинство антагонистов имеют узкую спектральную активность, которая нацелена только на определенные патогены.

Растительные экстракты содержат разные инструменты для управления бактериальным патогенезом и микробной модуляцией. Различные базы данных указывают на существование более 320 000 вторичных метаболитов (Banerjee P., et al, 2015), и до 1 000 000 различных метаболитов, производимых в растительном царстве (Saito K., Matsuda F., 2010). Генетические, онтогенетические, морфогенетические и экологические факторы играют

важную роль в биосинтезе и накоплении вторичных метаболитов (Bakkali F., et al, 2008). Одно растение обладает способностью к биосинтезу до 25 000 соединений в любой данный момент времени (Verpoorte R. 1998). Вторичные метаболиты растений синтезируются в различных типах растительных клеток и выводятся из азотного обмена посредством ряда модификаций, таких как дезаминирование. В отличие от первичных метаболитов, являющихся ключевыми фотосинтетическими продуктами, направленными на поддержание жизнедеятельности растений, вторичные метаболиты характеризуются низким содержанием, часто менее 1% от общего углерода (Bourgand F., et al, 2001). Эти молекулы в значительной степени способствуют приспособленности растений, взаимодействуя с окружающей средой, а также играя различные роли в передаче сигналов и реакций на биотические и абиотические стрессы (Champagne A., Boutry M., 2016).

Более ранние исследования анти-QS-активности у бактерий были сосредоточены главным образом на выяснении ингибирования экспрессии хорошо определенных специфических QS-индуцированных генов (Rehman Zahid Ur, Leiknes TorOve, 2018). Снижение экспрессии гена QS коррелирует с ослаблением бактериальной вирулентности, что приводит к предотвращению бактериальных побочных эффектов (Huang J., 2016). Количественные данные ПЦР в реальном времени (qRT-PCR) и исследования микроматрицы ДНК показали понижающую регуляцию генов, связанных с QS, у различных видов бактерий, что, вероятно, является одной из основных причин, ответственных за наблюдаемое снижение их свойств вирулентности (Tolmacheva A.A., Rogozhin E.A., Deryabin D.G., 2014). Наконец, снижение экспрессии генов QS и уровней сигнальных молекул, которые влияют на выработку факторов вирулентности, позволяет лучше понять, почему эти экстракты растений использовались в прошлом и как их можно использовать в будущем для борьбы с бактериальными инфекциями (Al-Haidari R. A., 2016).

Растительные материалы широко используются в традиционных системах медицины (Huyghebaert G., Ducatelle R, 2011). Биологически

активными компонентами растений являются в основном вторичные метаболиты, такие как терпеноиды (моно- и сесквитерпены, стероиды и т. д.), Фенолы (танины), гликозиды и алкалоиды (присутствующие в виде спиртов, альдегидов, кетонов, сложных эфиров, простых эфиров, лактонов и т. д.) (Hashemi S. R., et al, 2011). Среди 109 новых антибактериальных препаратов, 69% были получены из натуральных продуктов, 21% противогрибковых препаратов были натуральными производными или соединениями (Abreu A. C., et al, 2012).

Считается, что растительные экстракты в минимальных ингибирующих концентрациях (MIC) 100 - 1000 мкг / мл в тестах на чувствительность бактерий *in vitro* обладают антибактериальной активностью (Humer E., et al., 2015). Полезные антимикробные фитохимические вещества можно разделить на несколько категорий, такие как фенольные / полифенолы, терпеноиды / эфирные масла, алкалоиды, лектины / полипептиды (Erdogan Z., et al, 2010). Фитохимические вещества проявляют свою антимикробную активность через различные механизмы. Например, дубильные вещества действуют путем депривации железа и взаимодействия с жизненно важными белками, такими как ферменты (Delimont N.M., et al, 2017) основной индолохинолиновый алкалоид, криптолепин, является интеркалятором ДНК и ингибитором топоизомеразы (Karou D., et al, 2006), а сапонины образуют комплексы со стеролами, присутствующими в мембране микроорганизмов, вызывая повреждения мембран и, как следствие, разрушение клеток (Morrissette J.P., Osbourn A.E., 1999). Эфирные масла издавна известны своими антимикробными свойствами (Lee K.W., et al, 2004), но точный антимикробный механизм недостаточно изучен. На самом деле, антимикробная активность многих растительных экстрактов еще не выяснена (Stavri M., et al, 2007). Некоторые наблюдения *in vivo* подтверждают предположение о том, что общий антимикробный потенциал фитогенных кормовых добавок способствует окончательному снижению кишечного патогенного давления (Windisch W., et al, 2008).

Определенный интерес в этой связи представляют исследования по использованию веществ, выделенных из чеснока *Allium sativum*. В свою очередь поиск и идентификация анти-кворум активности позволил связать ее с присутствием аджоена – 2-пропенил-3[3-(2-пропенилсульфинил)-1-пропенил] дисульфида (Поляков А.В., et al, 2018), по своей структуре напоминающего фитонцид аллицин и образующегося при его реакции с некоторыми пищевыми маслами. Однако собственный терапевтический потенциал данного соединения оказался ограничен, а наилучший результат, достигнут при его совместном использовании с антибиотиками: аджоен нарушает кворум-зависимое образование биопленки, что делает присутствующие в ней бактерии более чувствительными к антибиотикам, таким как тобрамицину (Passos da Silva D., et al, 2017). Кроме того, у аджоена обнаружилось и другие виды биологической активности, включающие индукцию апоптоза (Atkinson S., Williams P., 2009), а также воздействие на агрегацию и метаболизм тромбоцитов (Adachi K., et al, 2018), необходимость учета которых осложняет его практическое применение.

Анализ литературных данных показывает, что существуют различные методы и вещества, воздействующие на QS микроорганизмов, которые могут применяться в кормлении крупного рогатого скота, корректируя рубцовое пищеварение, тем самым способствуя оптимальному перевариванию питательных веществ рационов.

1.3 Перспективность совместного использования веществ «anti-quorum» с другими веществами

Как следует из анализа литературных данных интенсивное развитие на основе нанотехнологий систем доставки приведет не только к продлению «жизненного цикла» известных лекарственных средств на международном фармацевтическом рынке, но и появлению препаратов с улучшенными

фармакологическими и фармакокинетическими свойствами для развития животноводства.

Одной из наиболее значительных проблем в лечении хронических инфекций является эффективная доставка anti-QS веществ к бактериальным биопленкам. Важность терапии на основе высокодисперсных частиц является нарушение биопленки бактериальных сообществ. Биопленки представляют собой связанные с поверхностью бактериальные сообщества, живущие в высокоорганизованной структуре на границе раздела с жидкостью (Kociulek M.G., et al, 2009) и, по оценкам, ответственны за 80% инфекций (Haugreen, L., et al, 2003). Защитная природа бактериальных биопленок позволяет им физически ограничивать проникновение антибиотиков (Ponnusamy K., et al, 2009), быстро регулировать отток лекарств и образовывать гены реакции на стресс (Hoiby N., et al, 2010), индуцируя специфический для биопленки фенотип (Thacker E.L., et al, 2010), которые продуцируют гены устойчивости к антибиотикам (Aarestrup F.M., et al, 1998).

В связи с этим наукой проводится активный поиск решений по организации доставки компонентов препаратов ингибиторов «кворум сенсинга». В числе последних с недавнего прошлого рассматриваются препараты высокодисперсных частиц. Последние, сегодня, находят применение в животноводстве (Курилкина М.Я., и др., 2011; Сизова Е.А., и др., 2011; Deryabin D.G., et al 2014; Fisinin V.I., et al, 2018).

При исследовании высокодисперсных частиц диоксида кремния (Kim J.H., et al, 2014), выявлено, что ВДЧ кремния несут соединения, которые гасят сигнальные молекулы, способствующие быстрой доставке QS-препаратов.

Сходные результаты получены для наночастиц ZnO на модели шести клинических штаммах. Наночастицы ZnO уменьшали эластазу, пиоцианин и биопленки для большинства штаммов; показывая, что они имеют широкий спектр и могут быть альтернативой для лечения инфекции *aeruginosa* (García-Lara B., et al, 2015).

В последствии наночастицы золота и хитазана были использованы в качестве носителя для модельного антигена столбнячного анатоксина (ТТ) вместе с иммуностимулирующим экстрактом *Quillaja saponaria* (QS) совместная доставка способствует лучшему системному и локальному иммунному ответу и, следовательно, может рассматриваться как надежный подход к доставке оральной вакцины (Kalam M.A., et al, 2017).

Утверждается, что анти-кворум вещества, связанные с наночастицами, обладают преимуществами по сравнению с обычными формами (Wagner E., et al, 2007). Препараты, связанные с наночастицами, имеют увеличенный период полувыведения *in vivo*, более длительное время циркуляции и могут передавать высокую концентрацию сильнодействующего препарата туда, где он необходим (De Jong W.H., Borm P.J., 2008). Размер наночастицы лекарственного средства и характеристики его поверхности могут быть изменены для достижения желаемых характеристик доставки (Rizvi S., Saleh A.M., 2018). Поскольку лекарственное средство, связанное с наночастицами, не способно широко циркулировать, его побочные эффекты уменьшаются, и при необходимости может быть достигнута высокая локализованная концентрация (Singh R., Lillard J.W., 2008). Ввиду большой площади поверхности на единицу массы наночастиц, загрузка препарата может быть относительно высокой (Souza, I.D.C., et al, 2019). Препараты, связанные с наночастицами, легко суспендируются в жидкостях и способны глубоко проникать в органы и ткани.

1.4 Использование ингибиторов «кворум сенсинга» в животноводстве

Первое использование растительных лекарственных средств в ветеринарии было связано с традиционными знаниями, зависящими от практического опыта и наблюдений, передаваемых из поколения в поколение, как устно, так и письменно (World Health Organization, 2001). Растительные

экстракты, также известные как фитобиотики, были использованы в кормлении животных, особенно для их противомикробной, противовоспалительной, антиокислительной и противопаразитарной активности (Newman D. J., et al, 2008). Многие растения обладают полезными многофункциональными свойствами, и полученные из них биоактивные компоненты могут благоприятно воздействовать на организм животного.

Экстракты растений обычно считаются безопасными и эффективными против некоторых бактерий. Они широко используются в кормах как стимуляторы роста и для защиты организма (Manzanilla E.G., et al, 2004; Namkung H., et al, 2004).

В свиноводстве рекомендовано применение орегано, корицы, мексиканского перца, тимьяна для подавления патогенной микрофлоры в кишечнике (Borovan L., 2004.; Zanchi R., et al, 2008., Tatara M. R., et al., 2008) сангровит, экстракт чеснока содержащий аллицин способны увеличить прирост массы тела (Oetting L.L., et al, 2006; Costa L.B., et al, 2007) тимьян, гвоздика, эвгенол способны улучшать продуктивность свиней (Simoes M., et al, 2009; Hashemi S. R., et al, 2010). Сообщается также о влиянии фитогенных кормовых добавок на показатели прироста живой массы птицы (Windisch W., et al, 2008).

Препараты растительного происхождения в питании сельскохозяйственных животных в последние годы получают все большее распространение, что обусловлено проблемой антибиотикорезистентности. Как известно, антибиотики уже давно используются на субтерапевтическом уровне в рационах свиней, птицы, аквакультуре и жвачных животных для улучшения показателей роста (Allen H.K., et al, 2013).

Однако, использование антибиотиков в качестве стимуляторов роста в кормах для животных становится ограниченным из-за возросшей обеспокоенности распространения антибиотикорезистентности среди зоонозных бактериальных патогенов, что создает угрозу для здоровья населения. Число исследований, посвященных поиску альтернатив

антибиотикам с аналогичными противомикробными и стимулирующими рост эффектами без индуцирования бактериальной резистентности и потенциальных побочных эффектов для животных, значительно увеличилось.

Повышенная устойчивость микроорганизмов к антибиотикам (Windisch W., et al, 2008), связанные с использованием антимикробных стимуляторов роста в животноводстве привели к их запрету в 2006 году в странах ЕС и других странах (Franz C., et al, 2010; Karásková K., et al, 2015).

Известно, что некоторые фитогенные соединения обладают антимикробными, противовирусными, противогрибковыми и антиоксидантными свойствами (Brenes A., et al, 2010; Stevanović Z. D., et al, 2018) и традиционно используются в качестве комплементарных или альтернативных лекарственных средств для улучшения здоровья человека или лечения заболеваний (Kim S.W., Fan M.Z., 2008). С идентификацией активных компонентов фитогенных соединений были увеличены исследовательские усилия по использованию фитогенных соединений как альтернатива антибиотикам в рационах животных. (Randrianarivelo R., et al, 2010; Li S.Y., et al, 2012). Однако, результаты этих исследований в значительной степени были противоречивыми (Si W., et al, 2006), и механизмы по-прежнему до конца не изучены из-за ограниченности ресурсов и исследований (Liu Y., et al, 2013).

Органические кислоты (Eckel B., et al, 1992; De Lange C.F.M., et al, 2010), ферменты (Bedford M.R., 2012), пробиотики (Musa H.H., et al, 2009), пребиотики (Gibson G.R., et al, 2004), антимикробные пептиды (Choi S.C., et al, 2013) и фитогенные соединения (Yang W.Z., et al, 2007; Windisch W., et al, 2008;) были широко признаны в качестве потенциальных альтернатив антибиотикам в кормах.

Продуктивность жвачных животных во многом определяется работой микрофлоры преджелудков, её численностью и соотношением отдельных видов. Бактериальные популяции рубца КРС жвачных так же координируют общинное поведение посредством процесса передачи сигналов «клетка-клетка», опосредованного молекулами диффундирующего сигнала (Schauder

S. and Bassler B.L., 2001). Этот процесс, как известно, контролирует экспрессию генов, ответственную за различные физиологические функции, включая вирулентность, производство антибиотиков и образование биопленки (Rutherford S.T., Bassler B.L., 2012).

Это обстоятельство определило интерес к исследованию возможных механизмов подавления QS, что может быть достигнуто путём угнетения синтеза аутоиндукторов; деградации специфическими ферментами; ингибирования связывания с соответствующими рецепторными белками (Frederix M., 2011). При этом ожидаемыми преимуществами новых решений являются минимизация влияния на нормофлору крупного рогатого скота, а также малая вероятность развития устойчивости к ним у патогенных микроорганизмов.

Применение ингибирования QS в животноводстве пока ограничивается аквакультурой и птицеводством (Defoirdt T., et al, 2004; Yang Chengbo, et al, 2015). Так в литературе имеются отдельные сообщения о влиянии фуранонов, извлеченных из австралийских микроводорослей *Delisea pulchra* (Manefield et al, 1999), на выживаемость личинок раков и креветок, после воздействия патогенных изолятов *V. campbellii*, *V. harveyi* и *V. parahaemolyticus* (Defoirdt T., et al, 2006). Сообщалось, что при выращивании раков и креветок, органические соединения, такие как циннамальдегид и его производные, являются эффективными против *V. harveyi* (Niu C., et al, 2006; Brackman G., et al, 2008) и личинок *Macrobrachium rosenbergii* (Pande G.S.J., et al, 2013), а также против *Aeromonas hydrophila* и *A. salmonicida* при выращивании налима (*Lota lota* L.) (Natrah F.M.I., et al, 2012) с предложенным механизмом нарушения белково-ДНК-взаимодействий QS-чувствительного основного регуляторного белка LuxR (Déciga-Campos M., et al, 2007).

С недавнего времени перспективными представляются исследования по оценке эффективности ингибиторов «кворум сенсинга» в питании сельскохозяйственной птицы (Дускаев Г.К., и др. 2018). Одним из источников ингибиторов является кора дуба (*Quercus robur*). В экстракте *Quercus cortex*

было обнаружено семь компонентов с анти-QS активностью, начиная с наибольшего эффекта в ряду: пирогаллол, пропилизорцин, кумарин, скополетин, кониферилловый спирт, ванилин, антиарол (Толмачева А.А., 2016).

Кора дуба демонстрирует наиболее выраженную и стабильную анти-QS активность, при отсутствии в ее составе очевидных антибактериальных веществ (Deryabin D.G., Tolmacheva A.A., 2015). Это позволяет использовать ингибиторы «кворум сенсинга» выделенные из коры дуба в питании птицы, в том числе в комплексе с другими кормовыми добавками, среди которых можно выделить пробиотики и антибиотики в малых дозах (Duskaev G.K., et al, 2017).

Исторически растения, например, *Quercus robur*, широко использовали в животноводстве, в том числе для частичной замены антибиотиков, в эксперименте экстракт коры дуба, на питательной среде МПА, подавляет микрофлору кишечника сельскохозяйственной птицы, эти эффекты обусловлены высокими анти-QS эффектами экстракта коры дуба это может быть полезным в области разработки методов контроля бактериальных инфекций (Maznev N., 2004).

Известно, что экстракт коры дуба в рационе коров, увеличивает количество микроорганизмов, разлагающих целлюлозу и другие полисахариды, что стимулирует активность различных гидролаз в рубцовой жидкости коров (Buryakov N.P., et al, 2006).

Таким образом, возрастает потребность в идентификации новых нетоксичных ингибиторов QS, которые могут привести к разработке новых противомикробных препаратов для лечения бактериальных заболеваний в сельском хозяйстве, аквакультуре и животноводстве (Burdock G.A., et al, 2004). Кроме того, существует значительный интерес на общемировые нормативные акты, касающиеся безопасности кормовых добавок.

Заключение по обзору литературы

За последние несколько десятилетий было проведено множество исследований, посвященных изучению механизмов, используемых

бактериями для передачи и контроля признаков вирулентности. Продолжают открываться новые молекулы и их влияние на патогенные микроорганизмы. Очевидно, что связь между QS и бактериальной вирулентностью представляет собой перспективную область, из которой могут появиться новые эффективные антибиотические препараты.

Между тем на фоне активного развития учения о механизмах нарушения QS в биологии и медицине, с последующим применением новых знаний на практике, сельское хозяйство, в общем, и животноводство, в частности, все ещё остается в стороне от столь многообещающего направления развития современной научной мысли. Однако уже на первый взгляд становится ясно, что практика использования анти-QS агентов в животноводстве будет значительно более широкой чем в других отраслях человеческой деятельности. Красноречивым подтверждением этого является статистика применения антибиотиков в животноводстве, как основном потребителем этих субстанций. В этой связи целью нашей поисковой работы являлось детальное изучение воздействия растительных экстрактов и синтетически созданных анти-QS агентов на рубцовое пищеварение и продуктивность молодняка крупного рогатого скота.

2. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

2.1 Материалы и методы исследования

Исследования проводились в период с 2016 по 2019 год на базе отдела кормления сельскохозяйственных животных и технологии кормов им. профессора С.Г. Леушина Федерального государственного научного учреждения «Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий Российской академии наук» (ФНЦ БСТ РАН). Отдельные исследования выполнены с использованием материально-технической и методической базы Испытательного Центра, Центра нанотехнологий в сельском хозяйстве и Центра коллективного пользования ФНЦ БСТ РАН. Научно-хозяйственные опыты проведены на производственном участке «Покровский сельскохозяйственный колледж» филиал ФГБОУ ВО «Оренбургский ГАУ».

Исследования проведены в несколько этапов. На начальном этапе выполнены исследования физико-химической и биологической экспертизе испытуемых кормовых добавок. На втором этапе были проведены исследования по оценке действия опытных добавок на переваримость вещества кормов в условиях *in vitro* (модель искусственного рубца) и *in situ* (метод нейлоновых мешочков). На третьем этапе проведены эксперименты по оценке влияния оцениваемых кормовых добавок на рубцовое пищеварение, обмен веществ и микробиом рубца, эффективность использование корма и баланс энергии в организме молодняка крупного рогатого скота. Заключительным этапом стал научно-хозяйственный опыт (рисунок 1).



Рисунок 1 – Схема проведение исследований

В экспериментальных исследованиях в качестве препарата содержащего вещества «anti-quorum» был использован водный экстракт коры дуба (*Quercus robur*) - (ЭКД) и специально приготовленный препарат ингибиторов «кворум сенсинга» (ИКС) с подтвержденным анти-кворум эффектом. Препарат ИКС был приготовлен на основании результатов исследований лаборатории возглавляемой профессором Д.Г. Дерябиным. Для чего были использованы любезно предоставленные ими препараты с анти-кворум эффектом, выявленные в экстракте дубовой коры и в последующем синтезированные. При формировании препарата ИКС, использованного нами в исследованиях, учитывали соотношение данных компонентов в коре дуба. Использованное соотношение и состав препарата был следующим: 4-(3-гидрокси-1-пропенил)-2-метокси-фенол – 50%; 3,4,5-триметилгидроскифенол – 20%; 4-пропил-1,3-бензолдиол – 15,5%; 4-гидрокси-3-метоксибензальдегида – 5,9%; 7-гидрокси-6-метокси-2Н-1-бензопиран-2-он – 5,3%; 2Н-1-бензопиранон-2 – 3,3%.

Кора дуба представляет собой красновато-коричневый порошок со специфическим запахом. Производитель (АО «Красногорсклексредства», г. Красногорск, Россия). Состав экстракта определен методом высокоэффективной жидкостной хроматографии на газовом хроматографе с масс-селективным детектором GCMS 2010 Plus («Shimadzu», Япония) на колонке HP-5MS. При обработке результатов использовали программное обеспечение GCMS Solutions, GCMS PostRunAnalysis, для идентификации соединений - набор библиотек спектров CAS, NIST08, Mainlib, Wiley9 и DD2012 Lib. Количественное присутствие отдельных идентифицированных компонентов оценивали по соотношению площади пика и общей площади экстракта.

I серия лабораторных исследований включала эксперименты на модели *in vitro* для биологической оценки опытных добавок.

Биологическая оценка ЭКД и ИКС дана на модели генно-инженерного люминесцирующего штамма *Echerichia coli* K12 TG1, конститутивно экспрессирующего lux CDABE-гены природного морского микроорганизма

Photobacterium leiongnathi 54D10, производство НВО «Иммунотех» (Россия, Москва) в лиофилизированном состоянии под коммерческим названием «Эколюм».

Непосредственно перед проведением исследований данный препарат восстанавливали добавлением охлажденной дистиллированной воды и стандартизировали до оптической плотности 0,3 при длине волны 600 нм. Суспензию бактерий выдерживали при температуре 2 - 4⁰С в течение 30 мин., после чего доводили температуру бактериальной суспензии до 15-25⁰С.

Тест проводили, пользуясь рекомендациями Д.Г. Дерябина (Deryabin D.G., Aleshina E.S., 2008). В ячейки 96-луночных планшетов вносили тестируемые препараты и суспензию люминесцирующих бактерий в соотношении 1:1, после чего планшет помещали в измерительный блок анализатора микропланшетного Infinite PRO F200 (TECAN, Австрия), осуществляющего регистрацию интенсивности свечения полученных смесей в течение 180 мин с интервалом 3 мин. Результаты влияния исследуемых кормовых добавок на интенсивность бактериальной биолюминесценции оценивали с использованием формулы (1).

$$I = \frac{I_{k_{0min}} \times I_{n_{min}}}{I_{k_{nmin}} \times I_{0min}} \quad (1)$$

I_k и I_0 – интенсивность свечения контрольных и опытных проб на 0-й и n-й минутах измерения.

II серия лабораторных исследований была выполнена с целью установления оптимальных дозировок опытных добавок, а также их влияние на переваримость питательных веществ корма.

Переваримость сухого вещества корма *in vitro* изучали при помощи «Искусственного рубца KPL 01».

В эксперименте дана оценка эффективности водного экстракта (1:10) коры дуба (ЭКД) в дозировках 2,6; 3,3; 4,2; 4,7 мг/мл рубцовой жидкости и

препарата ингибиторов «кворум сенсинга» (ИКС) в тех же дозах. Водный экстракт коры дуба получали смешиванием 20 грамм коры дуба с водой в объёме 200 мл и кипячением на водяной бане (30 мин), с последующей фильтрацией, отжимом и центрифугированием 15 минут при 2000 об/мин. Общий объём жидкости довели водой до 200 мл.

Препарат ингибиторов «кворум сенсинга» получен путем смешивания точных навесок веществ с дистиллированной водой, диспергированием в изотоническом растворе путем ультразвуковой обработки в течение 30 минут частотой 35 кГц ($f=35$ кГц, $N=300$ Вт, $A=10$ мкА).

В качестве модельного корма были использованы пшеничные отруби (ПО) в натуральном виде.

Отбор рубцовой жидкости проводился через хроническую фистулу рубца. Исследования проводили при помощи «Искусственного рубца KPL 01» по методике Левахина, А.Г. Мещерякова (2003), 48 часовая экспозиция.

Высушенные до постоянной массы пшеничные отруби массой 500 мг смешивали с препаратами (ЭКД, ИКС) соответствующей концентрации и помещали в мешочки, изготовленные из полиамидной ткани, которые предварительно были взвешены и пронумерованы. Мешочки зашивались и закреплялись при помощи зажимного приспособления на валике. Затем мешочки на валике помещали в прибор «искусственный рубец» и термостат (ТС-1/80 СПУ, ОАО «Смоленское СКТБ СПУ») при $t = 39^{\circ}\text{C}$ на 48 часов. После этого образцы промывали под проточной водой и помещали в раствор пепсина в «искусственный рубец» и на 24 часа ставили в термостат. По окончании процедуры образцы промывались в проточной воде и высушивались до постоянной массы.

Переваримость сухого вещества пшеничных отрубей «*in vitro*» определяли по разности массы образца корма вместе с мешочком и после двухстадийной инкубации и высушивания до постоянной массы при температуре 60°C по следующей формуле:

$$K=100 (A-B)/C, \text{ где}$$

К – коэффициент переваримости сухого вещества корма (%);

А – исходная масса образца корма вместе с мешочком (г);

В – масса образца корма вместе с мешочком после переваривания (г);

С – исходная масса образца корма без массы мешочка (г).

Для изучения свойств кормовых добавок методом «*in situ*» использовали 5,0 гр. высушенного и размолотого образца корма. Подготовленный корм, смешивали с опытными добавками и помещали в нейлоновые мешочки (Григорьев Н.Г., и др., 1989). Далее наполненные мешочки погружали через фистулу в рубец бычков на 3 и 6 часов экспозиции. По истечению времени мешочки извлекали, высушивали с последующим определением переваримости сухого вещества корма в рубце.

Физиологические исследования проводились на производственном участке «Покровский сельскохозяйственный колледж-филиал» ФГБОУ ВО «Оренбургский ГАУ» на бычках красной степной породы, в возрасте 14 месяцев, которые методом пар аналогов были разделены на 3 группы (n=3), по истечению 10 суток подготовительного периода были переведены на условия основного учётного периода (8 суток). Содержание на момент исследования – привязное, – индивидуальное кормление, изолированное помещение (таблица 1).

Уход за животными и экспериментальные исследования проводили в соответствии с инструкциями и рекомендациями Российских нормативных актов 1987 года (приказ № 755 от 12 декабря 1977 года, Министерство здравоохранения СССР и National Press Academy, Washington DC, 1996). При проведении исследований были предприняты усилия, чтобы свести к минимуму страдания животных и уменьшить количество используемых образцов.

Таблица 1 – Схема физиологического опыта

Группа	n	Продолжительность периода, (сут)		Рацион
		подготовительного	учетного	
контроль	3	10	8	Основной рацион (ОР)
I опытная	3	10	8	ОР+0,64 мл/кг ЭКД
II опытная	3	10	8	ОР+0,81 мл/кг ИКС

Примечание: дозировки препаратов приведены на единицу живой массы животных
ЭКД - водный экстракт коры дуба (*Quercus robur*); ИКС - препарат ингибиторов «кворум сенсинга»

При изучении рубцового пищеварения проводили отбор рубцовой жидкости у бычков через хроническую фистулу рубца в количестве 300 мл, в том числе до кормления, через 3 и 6 часов после кормления. Пробы фильтровали через 4 слоя марли и в отфильтрованной ее части определяли концентрацию водородных ионов (рН) иономером рН-150МИ,

Показатели обмена азотистых метаболитов в рубцовом содержимом устанавливали - азот остаточный и общий методом Къельдаля по методике К.К. Ахажанова (2016); аммиачный азот - микродиффузным методом по Конвею. Летучие жирные кислоты определяли на хроматографе Кристалл ЛЮКС 4000.

Для количественного определения бактерий и простейших использовали метод центрифугирования при различных оборотах. После отделения фракций эпиндорфы взвешивали, содержание бактерий и простейших определяли по разнице масс. При 2 тыс. об/мин определяли общую биомассу простейших. Для осаждения же бактерий использовали скорость 8 тыс. об/мин.

Подсчёт инфузорий проводили при помощи счётной камеры Горяева. Для этого в отфильтрованную рубцовую жидкость добавляли раствор формалина, NaCl и метиленовый синей. На покровное стекло помещали 1

каплю данной жидкости под камеру Горяева. Производили подсчет инфузорий. Общее количество инфузории определяли по формуле:

$$X = A \times 25, \text{ где}$$

X - количество инфузорий в 1 мм³;

A - количество подсчитанных инфузорий.

Для определения таксономического разнообразия микроорганизмов отбирали рубцовую жидкость в количестве 300 мл через 3 и 6 часов после кормления. Пробы фильтровали через 4 слоя марли, образцы содержимого рубца помещали в стерильные пробирки, убирали в криокамеру типа: АРКТИКО t= - 80⁰С с последующим выделением очищенных препаратов ДНК, с целью изучения особенностей рубцового пищеварения проводили исследование состава рубцовой жидкости.

Геномная ДНК была выделена с использованием метода химической экстракции. Концентрацию ДНК определяли с использованием флуорометра Qubit 2.0 с анализом высокой чувствительности dsDNA (Life Technologies). Подготовка библиотек ДНК, а также секвенирование проводилось в Центре коллективного пользования «Персистентность микроорганизмов» Института клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН (Оренбург, Россия).

Выделения ДНК простейших. После размораживания к 400 мкл суспензии добавляли смесь стеклянных шариков d=0,1 и 0,5 мм в объеме равном примерно 1/3 от объема жидкости в пробирке. Смесь гомогенизировали при помощи гомогенизатора Tissue Lyser по 3 мин на максимальной скорости. Суспензию инкубировали при 95⁰С в течение 10 мин. Встряхивали на вортексе и центрифугировали 10 мин при 14500 об/мин. Супернатант переносили в новую пробирку. В то время как образцы центрифугируются, добавляли 200 мкл раствора Binding Matrix в чистые 2,0 мл конические пробирки. Колонку SPIN Filter переносили в чистую 1,9 мл Catch пробирку, добавляли 50 мкл TES. Перемешивали смесь для

ресуспендирования матрикса. Центрифугировали образцы при 14000 об/мин в течение 2 минут, чтобы элюировать очищенную ДНК в чистую Catch пробирку. Таксономический состав содержимого рубца определялся методом NGS секвенирования на приборе MiSeq (Illumina, США). Библиотеки ДНК 16S были подготовлены в соответствии с рабочим процессом Illumina (http://support.illumina.com/documents/documentation/chemistry_documentation/16s/16s-metagenomic-library-prep-guide-15044223-b.pdf) с праймерами, нацеленными на V3 и V4-области гена рРНК SSU, такого как прямой SD-Bact-0341-bS-17 и обратный SD-Bact-0785-aA-21.

Определение амилолитической активности производили на фотоэлектроколориметре (КФК-2). Анализ проводили в два этапа. Первый до инкубации: рубцовую жидкость, крахмал и фосфатный буфер, температурой 40°C, встряхивали, добавляли HCl для прекращения фермент-реакции. Окрашивали калием йодистым. Второй этап определения после часовой инкубации, проделывали те же манипуляции, но при условии инкубирования при температуре 40±2°C.

Образцы проб смотрели на фотоколориметре против дистиллированной воды в кюветах размером 5,0 мм, длина волны 590 нм. Количество крахмала находится по калибровочному графику. Амилолитическая активность находили по формуле.

$$X = (A - B) \times 20, \text{ где}$$

X - количество крахмала, расщепленного 1 мл содержимого рубца за 1 ч, мг;

A – количество крахмала в растворе до инкубации, мг;

B – количество крахмала после инкубации, мг;

20 – коэффициент перерасчета на 1 мл содержимого рубца.

Целлюлозолитическую активность определяли по методике В.И. Георгиевского (1976). Рубцовую жидкость (РЖ) отфильтрованную через марлю в количестве 250 мл, температурой 40±2°C. Отбирали в пробирки с целлофановыми полосками, высушенными до постоянной массы 30 мл

рубцовой жидкости. Пробирки помещали в термостатируемую водяную баню температурой 39°C на 24 часа, по завершению времени полоски ополаскивали и сушили. Целлюлозолитическую активность определяли по разнице массы до и после инкубирования.

Анализ элементного состава рубцовой жидкости определялся в лаборатории АНО «Центр биотической медицины», г. Москва и включал оценку концентрации элементов: Ca, Cu, Fe, Li, Mg, Mn, Ni, As, Cr, K, Na, P, Zn, I, V, Co, Se, Ti, Al, Be, Cd, Pb, Hg, Sn, Sr методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой (МС-ИСП) и атомно-эмиссионной спектрометрии с индуктивно связанной плазмой (АЭС-ИСП) на квадрупольном масс-спектрометре Nexion 300D («PerkinElmer» США) и атомно-эмиссионный спектрометр Optima 2000 DV, («PerkinElmer» США). Для озоления использовали микроволновую систему разложения Multiwave 3000 («AntonPaar», Австрия).

Исследования *in vivo* на молодняке крупного рогатого проводились в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием лабораторных животных» (прил. к приказу Министерства здравоохранения СССР, от 12.08.1977 №755).

Для изучения переваримости питательных веществ был проведен балансый опыт. В учётный период, в ходе которого был проведен учёт съеденных кормов и их остатков, были собраны средние пробы кала (10%) и мочи 3% от общего количества в сутки, проведены исследования по методикам зоотехнического анализа (Лукашик А.А., Тащилин В.А., 1965). Зоотехнические анализы были проведённые в Испытательном центре Федерального научного центра биологических систем и агротехнологий РАН. В пробах кала определяли массовую долю сухого вещества, сырого протеина (ГОСТ 13496.4-93), массовую долю сырого жира (ГОСТ 13496.15-97), массовую долю сырой клетчатки (ГОСТ 12396.2-91), массовую долю сырой золы (ГОСТ 26226-95), кальция (ГОСТ 26570-95), фосфора (ГОСТ 26657-97).

Минеральный состав кала: медь, кадмий, свинец, железо, цинк, марганец, кобальт определяли по ГОСТ 30178-96.

В пробах мочи (3% от общего количества) определяли удельный вес, минеральные вещества, содержание азота по методике П.Т. Лебедева, А.Т. Усович (1976).

С целью оценки здоровья и уровня метаболизма в конце учетного периода проводили исследования крови. Забор крови осуществляли из хвостовой вены утром, за 2-3 часа до кормления животных. Для гематологических исследований - в вакуумные пробирки с ЭДТА-К3, для биохимических - в вакуумные пробирки с активатором свертывания. Морфологические показатели крови оценивались на автоматическом гематологическом анализаторе URIT-2900 VetPlus («URIT Medical Electronic Co., Ltd», Китай). Биохимический состав сыворотки крови - на автоматическом биохимическом анализаторе CS-T240 («Dirui Industrial Co., Ltd.», Китай) с использованием коммерческих биохимических наборов для ветеринарии («ДИАКОН-ДС», Россия; «Randox Laboratories Ltd», Великобритания). Определение ферментативной активности в плазме крови проводилось спектрофотометрическим методом на Stat fax 1904 Plus.

После проведения балансового опыта рассчитаны основные параметры обмена энергия в организме животных по В.И. Левахину и др. (2016). В эксперименте дана оценка интенсивности роста молодняка и экономическая эффективность при использовании опытных добавок.

Результаты физиологических исследований были учтены при планировании и выполнении научно-хозяйственного опыта, в ходе которого была дана продуктивная и экономическая оценка оцениваемых кормовых добавок. Схемой исследований предполагалось формирование трёх групп двенадцатимесечных бычков (n=12). По истечению подготовительного периода (30 суток), животные в течение 90 суток находились на режиме основного учетного периода, предполагавшего содержание животных I опытной группы на рационе с содержанием экстракта коры дуба, II опытной с

содержанием ингибиторов «кворум сенсинга», апробированного при выполнении физиологических исследований. Дозировки сравниваемых кормовых добавок в научно-хозяйственном опыте были идентичны дозировкам, использованным при выполнении физиологических опытов. Учет расхода кормов производился по группам, в два смежных дня один раз в месяц по разнице заданных кормов и несъеденных остатков.

Рост и развитие подопытных бычков изучали на основании данных ежемесячного взвешивания, проводимого утром, до кормления. По результатам взвешиваний производили расчет динамики живой массы и приростов по группам.

Экономическая эффективность использования оцениваемых кормовых добавок рассчитывалась на основании сложившихся затрат на выращивание и содержания животных в основной учетный период.

Результаты, полученные в исследованиях, были обработаны с применением программных пакетов «Office 2013» и «Statistica 10.0 RU», включая определение средней арифметической величины (M), стандартной ошибки средней (m). Статистическую оценку проводили с помощью t -критерия Стьюдента, при ненормальном распределении значений применяли непараметрический метод Манна-Уитни.

2.2 Результаты лабораторных исследований

2.2.1 Результаты биологической оценки растительных веществ

Состав экстракта коры дуба (*Quercus robur*) определен методом высокоэффективной жидкостной хроматографии и включал 36 биологически активных веществ: галловую и эллаговую кислоты, танин, кверцетин, пирогаллол, пропилизорцин, кумарин, скополетин, кониферилловый спирт, ванилин, антиарол и тд.

Ввиду определенных трудностей применения водного экстракта коры дуба — нестабильный химический состав, зависящий от условий окружающей среды, произрастания, других факторов мы в эксперименте так же, использовали ингибиторы «кворум сенсинга» («Acros Organics», США): 4-(3-гидрокси-1-пропенил)-2-метокси-фенол – 50%; 3,4,5-триметилгидроскифенол – 20%; 4-пропил-1,3-бензолдиол – 15,5%; 4-гидрокси-3-метоксибензальдегида – 5,9%; 7-гидрокси-6-метокси-2Н-1-бензопиран-2-он – 5,3%; 2Н-1-бензопиранон-2 – 3,3%.

В ходе исследований, по биологической оценке, опытных добавок была отмечена индукция свечения клеток *Echerichia coli* K12 TG1 при контакте с рубцовой жидкостью, которая развивалась в первые 20 мин контакта и наблюдалась на протяжении всего эксперимента (рисунок 2).

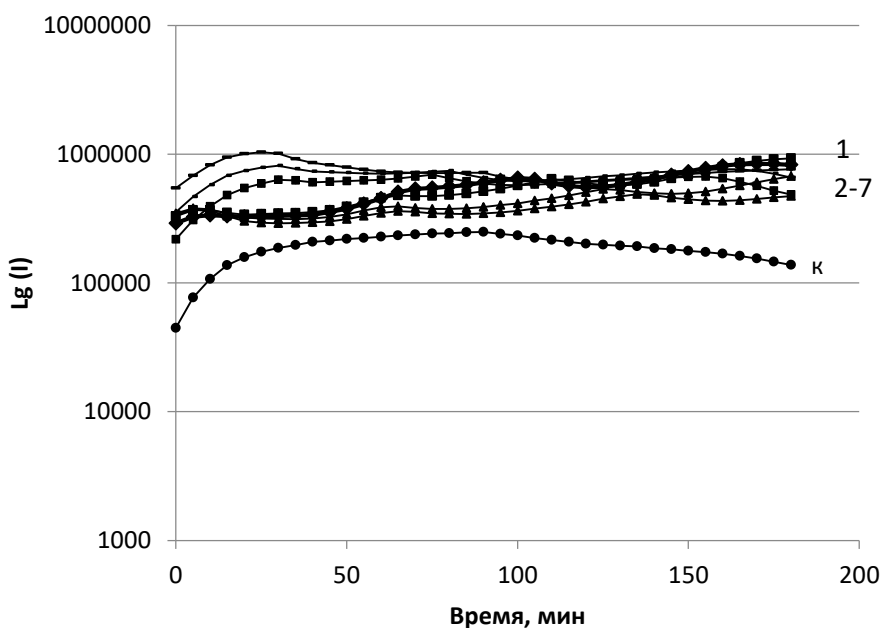
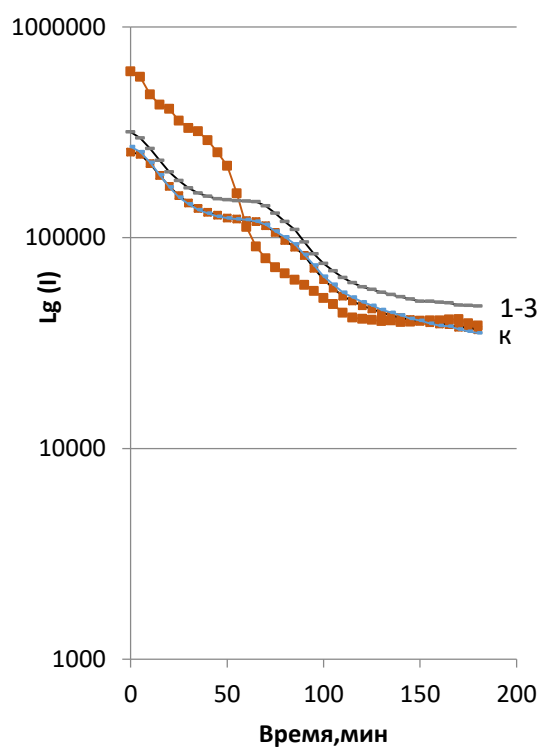


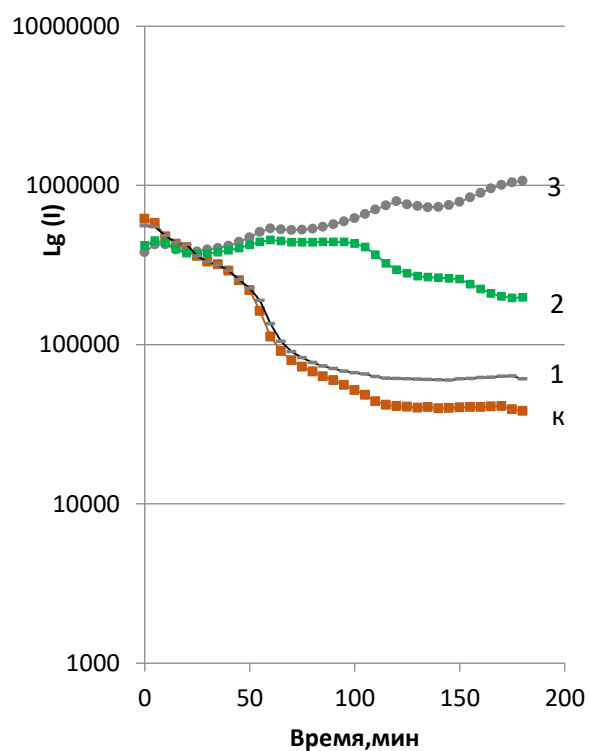
Рисунок 2 – Динамика свечения *E.coli* K12 TG1 с клонированными *luxCDABE*-генами *P.leiognathi* 54D10 при контакте с рубцовой жидкостью (1) и последовательными 6-ти кратными разведениями рубцовой жидкости (2-7); к - контроль.

Возможно, развитие индукции свечения связано с влиянием, какого-то одного или несколько компонентов в рубцовой жидкости, выступающих питательным субстратом для клеток бактерий, что способствовало ускорению метаболических процессов.

Экстракт коры дуба при различных концентрациях характеризовался отсутствием токсического действия на культуру бактерий (рисунок 3 а). Тестирование комбинации экстракта коры дуба с рубцовой жидкостью с использованием штамма *E. coli K12 TGI* выявило некоторые различия в индукции свечения клеток бактерий в сравнении с контролем (рисунок 3 б).



(а)



(б)

Рисунок 3 – Динамика свечения *E.coli K12 TGI* с клонированными *luxCDABE* генами *P.leiongnathi* 54D10 при контакте с ЭКД: (а) в соотношениях: 1:12; 1:10; 1:8 и (б) рубцовая жидкость + ЭКД в тех же соотношениях; к - контроль.

Для препарата ингибиторов «кворум сенсинга» (ИКС) в выбранном диапазоне концентраций наблюдалось проявление не токсического эффекта, даже спустя 180 минут контакта с тест-организмом.

При совместной введении композиции ИКС с рубцовой жидкостью ингибирование бактериальной тест системы происходило на первых минутах анализа, но оно было незначительным 20% тушения (рисунок 4).

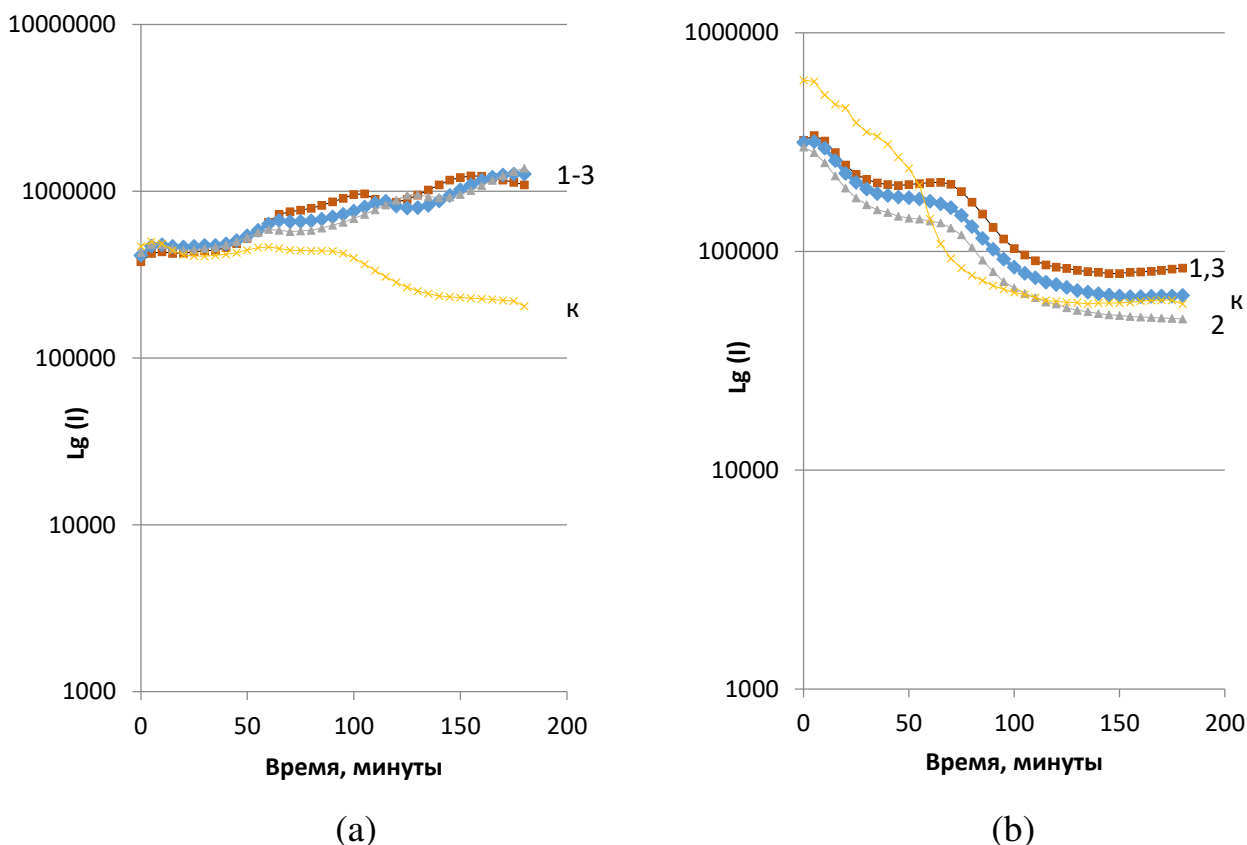


Рисунок 4 – Динамика свечения *E.coli* K12 TGI с клонированными luxCDABE генами *P.leiognathi* 54D10 при контакте с ИКС: (а) в концентрациях: 0,95 мг/мл, 0,47 мг/мл, 0,24 мг/мл и (б) рубцовая жидкость + ИКС в тех же концентрациях; к - контроль.

Как следует из полученных результатов, препараты ЭКД и ИКС, в выбранном диапазоне концентраций не проявляли токсического действия. Это позволило нам продолжить исследования по проблеме.

2.2.2. Результаты исследований переваримости корма на моделях *in vitro* и *in situ*

По результатам исследований *in vitro* установлено, что переваримость сухого вещества кормового субстрата увеличивается при добавлении ингибиторов «кворум сенсинга» и экстракта коры дуба в различных дозировках (таблица 2).

Таблица 2 – Влияние экстракта коры дуба (ЭКД) и ингибиторов «кворум сенсинга» (ИКС) при внесении их различных концентраций на переваримость сухого вещества корма, %

Опытная добавка	Концентрация (мг/мл)	Переваримость, (%)
Контроль (ПО)	-	71,40±0,53
ПО+ЭКД	2,6	75,27±0,55**
	3,3	80,30±0,87***
	4,2	77,93±0,58**
	4,7	73,37±0,41*
ПО+ИКС	2,6	77,27±0,67**
	3,3	79,00±0,55**
	4,2	84,03±0,52***
	4,7	80,10±0,55***

Примечание: ПО – пшеничные отруби, * - $P \leq 0,05$; ** - $P \leq 0,01$; *** - $P \leq 0,001$

При внесении экстракта коры дуба в минимальной дозе переваримость сухого вещества в опытной группе превышала контрольную на 3,87 % ($P \leq 0,01$). При повышении дозировки до 3,3 мг/мл переваримость увеличивалась на 8,90 % ($P \leq 0,001$) по сравнению с контролем. Дальнейшее

увеличение дозировки ЭКД приводило к снижению переваримости сухого вещества корма.

Введение ингибиторов «кворум сенсинга» в возрастающих концентрациях сопровождалось возрастающим повышением переваримости сухого вещества корма от 5,87% ($P \leq 0,01$) до 12,63% ($P \leq 0,001$) по сравнению с контролем.

При сравнении двух факторов влияния: экстракта коры дуба и ингибиторов «кворум сенсинга» между собой видно, что ингибиторы «кворум сенсинга» в большей степени способствуют увеличению переваримости, по сравнению с экстрактом.

По результатам исследований *in situ* установлено, что переваримость сухого вещества пшеничных отрубей при экспозиции три и шесть часов увеличивается при добавлении опытных добавок (таблица 3).

Таблица 3 – Переваримость сухого вещества корма *in situ* после 3-х часов экспозиции в рубце, %

Состав смеси	Концентрация, мг/мл	Переваримость, %
Контроль (ПО)	-	22,03±0,61
ПО+ЭКД	2,6	21,0±1,13
	3,3	24,5±0,29**
	4,2	23,3±0,35*
	4,7	22,4±0,30
ПО+ИКС	2,6	24,1±0,47
	3,3	25,3±0,58
	4,2	26,1±0,49***
	4,7	25,87±0,55*

Примечание: ПО – пшеничные отруби; * - $P \leq 0,05$; ** - $P \leq 0,01$; *** - $P \leq 0,001$

По истечению 3-х часовой экспозиции переваримость сухого вещества во всех опытных группах по отношению к контрольной возрастала. Так, при введении экстракта коры дуба (3,3 мг/мл) переваримость была больше на 2,47% ($P \leq 0,05$) относительно контроля соответственно. Применение экстракта коры дуба (4,2; 4,7 мг/мл) было менее эффективно и увеличивало переваримость на 1,3 % ($P \leq 0,05$) и .0,1%.

Наибольшая переваримость наблюдалась при введении ингибиторов «кворум сенсенга» при концентрации 4,2 мг/мл, что на 4,07% ($P \leq 0,01$) больше контроля.

Результаты исследований по более длительной экспозиции корма подтвердили полученный результат – препараты ЭКД и ИКС увеличивают переваримость кормового субстрата по отношению к контролю. (таблица 4).

Таблица 4 – Переваримость сухого вещества корма *in situ* после 6-ти часов экспозиции в рубце, %

Состав смеси	Концентрация, мг/мл	Переваримость, %
Контроль (ПО)	-	53,6±0,30
ПО+ЭКД	2,6	52,9±0,72
	3,3	59,9±1,00***
	4,2	54,1±1,07
	4,7	53,0±0,61
ПО+ИКС	2,6	54,9±0,67
	3,3	56,2±0,70*
	4,2	63,0±0,58***
	4,7	61±0,57**

Примечание: ПО – пшеничные отруби; * - $P \leq 0,05$; ** - $P \leq 0,01$; *** - $P \leq 0,001$

Значительное увеличение переваримости наблюдается при применении экстракта коры дуба, концентрацией 3,3 мг/мл, что достоверно на 6,33% ($P \leq 0,001$) выше контроля. Наибольшее повышение переваримости при использовании ингибиторов «кворум сенсенга» достигается при концентрации 4,2 мг/мл – 9,4% ($P \leq 0,01$) от контроля.

На основании полученных данных рассчитаны оптимальные дозировки посредством пересчета на килограмм живого веса молодняка крупного рогатого скота, для дальнейшего исследования влияния препаратов на организм животных в физиологическом и научно-хозяйственном исследовании.

2.3 Результаты физиологических исследований на молодняке крупного рогатого скота

Молодняк крупного рогатого скота содержался в типовом помещении на привязи с автоматическими поилками. Рацион для животных был составлен на основе кормов, имевшихся в хозяйстве, в соответствии с нормами кормления Калашников А.П. и др., (2003) (таблица 5).

Таблица 5 – Состав рациона крупного рогатого скота в период эксперимента, кг/гол/сутки.

Показатель	Группа		
	контрольная	I опытная	II опытная
Состав рациона:			
сено суданки	2,5	2,5	2,5
сено люцерны	3,0	3,0	3,0
силос кукурузный	8,0	8,0	8,0
отруби пшеничные	1,0	1,0	1,0

ячмень дробленый	1,0	1,0	1,0
жмых подсолнечный	0,5	0,5	0,5
премикс, г	25	25	25
ЭКД, мл/кг	-	0,64	-
ИКС, мл/кг	-	-	0,81
В рационе содержится:			
обменной энергии, МДж	82,0	82,0	82,0
сухого вещества, г	8969	8969	8969
органического вещества, г	8379	8379	8379
сырого жира, г	260	260	260
сырой протеин, г	1124	1124	1124
сырой клетчатки, г	2157	2157,5	2157,5
БЭВ	4811	4811	4811
кальций, г	73,0	73,0	73,0
фосфор, г	35,0	35,0	35,0

Бычки контрольной группы получали основной рацион. Бычки I и II опытной группы совместно с основным рационом получали водный экстракт коры дуба и ингибиторы «кворум сенсинга», которые смешивали с отрубями и раздавали индивидуально каждому животному утром.

В период эксперимента подопытные животные поедали использованные рационы практически полностью, при незначительном превосходстве по поеданию рациона у животных II опытной группы.

2.3.1 Результаты исследований по оценке рубцового пищеварения и состава микробиоценоза подопытных животных

Рубец – сложная экосистема, в которой обитают бактерии, простейшие грибы и бактериофаги, где объединяются микрофлора с организмом «хозяина»

в рамках процессов преобразования корма. По мере изучения рубца в нем обнаруживается все больше микроорганизмов. Значимость рубца для организма жвачных определяет перспективы решений по повышению эффективности пищеварения.

2.3.1.1 Рубцовое пищеварение подопытных животных

Анализ, полученных в эксперименте результатов, продемонстрировал, что введение в рацион подопытных животных опытных добавок влияет на степень интенсивности бактериальных процессов (таблица 6).

Таблица 6 – Основные показатели рубцовой жидкости при внесении опытных добавок

Время взятия пробы, час	Группа	Наименование		
		pH	Аммиак, ммоль/л	ЛЖК, ммоль/100 мл
3	контрольная	6,98±0,11	20,80±0,15	7,71±0,06
	I опытная	7,07±0,09	21,40±0,32	7,80±0,06
	II опытная	7,10±0,06	22,63±0,32***	7,90±0,06*
6	контрольная	6,87±0,07	22,03±0,13	8,27±0,09
	I опытная	6,77±0,03	23,37±0,24**	8,73±0,12
	II опытная	6,73±0,03	24,47±0,26***	9,00±0,06***

Примечание: * - $P \leq 0,05$; ** - $P \leq 0,01$; *** - $P \leq 0,001$

Ионно-водородный показатель тесно связан с ферментативными процессами, поэтому pH имеет большое значение в изучении пищеварительных процессов рубца. Сдвиг pH в слабокислую сторону сопровождалось увеличением содержания летучих жирных кислот, так после 3-х часов переваривания во I и II опытных группах концентрация ЛЖК

увеличилась на 1,17% и 5,56% ($P \leq 0,05$) относительно контроля. По истечению 6-ти часов происходит достоверное повышение уровня ЛЖК во II опытной группе на 8,83% ($P \leq 0,001$) по отношению к контролю.

Часть азота, поступившего с кормом, преобразуется в аммиак, поэтому по концентрации аммиака можно судить об обмене азота. В наших исследованиях установлен факт нарастания концентрации аммиака в рубцовом содержимом I и II опытных группах на величину до 2,88% и 8,80% ($P \leq 0,001$) после 3 часов введения, соответственно. Такая же тенденция наблюдается при 6-ти часовой экспозиции, концентрация аммиака в содержимом рубца животных I опытной группы превысила уровень контроля на 6,08% ($P \leq 0,01$), во II опытной группе на 11,08% ($P \leq 0,001$).

Азотистый обмен в рубце крупного рогатого скота зависит от ряда факторов, например, время взятия рубцовой жидкости, а также рацион подопытных животных. Оценка обмена азота дает возможность говорить о характере течения пищеварительного процесса (таблица 7).

Таблица 7 – Содержание азотистых метаболитов в рубце животных, ммоль/л

Время взятия пробы, час	Группа	Наименование		
		общий азот	белковый азот	небелковый азот
3	контрольная	221,9±1,75	167,1±0,64	54,8±1,92
	I опытная	226,6±0,86*	173,0±1,53**	53,6±0,72
	II опытная	231,7±1,65**	180,3±0,15***	51,4±1,79*
6	контрольная	223,2±1,12	167,7±0,89	55,4±0,78
	I опытная	227,6±1,23*	174,7±0,33***	52,9±1,16
	II опытная	236,7±1,65***	185,4±0,40**	51,3±1,89**

Примечание: * - $P \leq 0,05$; ** - $P \leq 0,01$; *** - $P \leq 0,001$

Анализ данных показал, что введение в рацион экстракта коры дуба увеличивает содержание общего азота на 2,10% ($P \leq 0,05$), а в группе с использованием в кормлении ингибиторов «кворум сенсинга» на 4,41% ($P \leq 0,01$) относительно контроля. После 6-ти часов переваривания по показателю общего азота наибольшие значения отмечались во II опытной группе с увеличением значения на 6,06% ($P \leq 0,001$) относительно контроля.

Небелковый азот в рубцовом содержимом опытных животных был ниже, чем в контроле, в I опытной на 2,29%, во II на 6,20% ($P \leq 0,05$), после трех часов экспозиции.

По истечению 6-ти часов в I опытной группе содержание небелкового азота понизилось на 4,56%, во II на 7,45% ($P \leq 0,01$) относительно контрольной, это говорит о значительной скорости усвоения азота микробиотой рубца для преобразования его в белок своего тела.

2.3.1.2 Микробиоценоз рубца подопытных животных

Как следует из полученных результатов численность инфузорий, простейших и бактерий в опытных группах отличалось от уровня контроля. Анализ полученных данных (таблица 8) показал, что при включении в рацион экстракта коры дуба через три часа после кормления количество простейших увеличилось на 51,16% ($P \leq 0,001$), а после шести часов на 77,78% ($P \leq 0,001$) относительно контроля.

Содержание бактерий, напротив, уменьшалось на 51,61% ($P \leq 0,001$) после трех часов и на 65,51% ($P \leq 0,001$) после шести часов.

Во II опытной группе отмечалось достоверное увеличения численности простейших после трех часов на 39,53% ($P \leq 0,001$), после шести на 66,67% ($P \leq 0,001$) относительно контроля и уменьшения биомассы бактерий на 35,25% ($P \leq 0,001$) после трех часов и на 65,51% ($P \leq 0,001$) после шести часов.

Таблица 8 – Воздействие опытных добавок на микробиоценоз рубца

Время взятия пробы, часов	Группа	Биомасса, г/100мл		инфузории, тыс./мл
		простейшие	бактерии	
3	контрольная	1,29±0,01	0,31±0,01	611,0±35,80
	I опытная	1,95±0,03***	0,15±0,01***	657,0±12,13**
	II опытная	1,80±0,06***	0,21±0,01***	638,0±11,55
6	контрольная	0,90±0,03	0,29±0,01	500,0±25,78
	I опытная	1,60±0,06***	0,10±0,00**	602,0±18,08**
	II опытная	1,50±0,12**	0,10±0,012**	595,0±12,00**

Примечание: * - $P \leq 0,05$; ** - $P \leq 0,01$; *** - $P \leq 0,001$

Наличие в рубце инфузорий более 500 тыс. свидетельствует о нормальном и эффективном течении ферментативных процессов. Наибольшая численность инфузорий отмечалась нами через 3 часа после кормления в I опытной на 4,42% ($P \leq 0,01$), во II опытной группе на 7,53% ($P \leq 0,001$) от контроля.

Для лучшего понимания действия опытных добавок на микробиом рубца КРС нами был проведен метагеномный анализ рубцовой жидкости, через три часа после кормления.

Микроорганизмы рубца играют важную роль в обеспечении энергетических потребностей животного путем трансформации органических соединений в корме с получением полезной энергии.

Жвачные животные зависят от сообщества микробов рубца, чтобы превратить грубые корма в летучие жирные кислоты и микробный белок (Cheng K-J, Wallace RJ., 1979) Но не стоит забывать, что, рацион является одним из основных факторов, влияющих на структуру и функцию микробного сообщества в рубце (Kocherginskaya SA, et al, 2001; Tajima K, et al, 2001; Li RW, et al, 2012). Известно, что природа корма и физико-химические

изменения, вызванные его ферментацией, способствуют развитию определенных микробных экотипов в твердой и жидкой фазах рубца (Khafipour E, et al, 2009).

Появление технологий секвенирования следующего поколения, таких как секвенирование генов 16S рРНК, позволило охарактеризовать структуру кишечного микробиома CRC в доступном и не требующем культивирования подходе, а также к более широкому использованию метагеномного анализа для изучения сложных кишечных экосистем, таких как рубец (Chen Y., et al, 2011; Sizova E., et al 2016; Osman M.A., et al, 2018).

Анализ полученных в эксперименте данных показал, что преобладающим таксоном в рубце подопытных животных является *Bacteria* 99,9% от общего числа классифицированных микроорганизмов (рисунок 5).

Наиболее встречаемые в пробах филумы: *Bacteroidetes*, *Firmicutes*, *Proteobacteria*, соответственно 42,0, 41,0 и 5,0 - % от общего числа бактерий, содержащихся в рубцовом содержимом.

Таксономический состав рубцовой жидкости контрольной группы был представлен 8 классами из них преобладали *Bacteroidia* - 35,05, *Clostridia* – 27,0%, *Bacilli* – 13,7%, *Sphingobacteriia* – 5,0% остальные в совокупности составляли 4,0% от общего числа бактерий.

Доминирующим семейством класса *Bacteroidia* являлось *Prevotellaceae* 19,0% от общего числа, также *Streptococcaceae* – 11,0% и *Lachnospiraceae* – 10,0% принадлежащие классам *Bacilli* и *Clostridia*.

Таксономический состав был представлен бактериями, относящимися к таким родам как: *Prevotella* (22,6 % от контроля), *Streptococcus* (11,6 % от контроля), *Butyrivibrio* (2,3% от контроля), *Pedobacter* (4,0 % от контроля). Не классифицированные бактерии составляли 17,0% от общего числа микроорганизмов.

Видовое разнообразие в содержимом рубца контрольной группы было представлены *Streptococcus bovis* - 8,0%, *Prevotella ruminicola* – 3,0%,

Butyrivibrio proteoclasticus – 2,0% из 694 бактериальной разновидности в пробе.

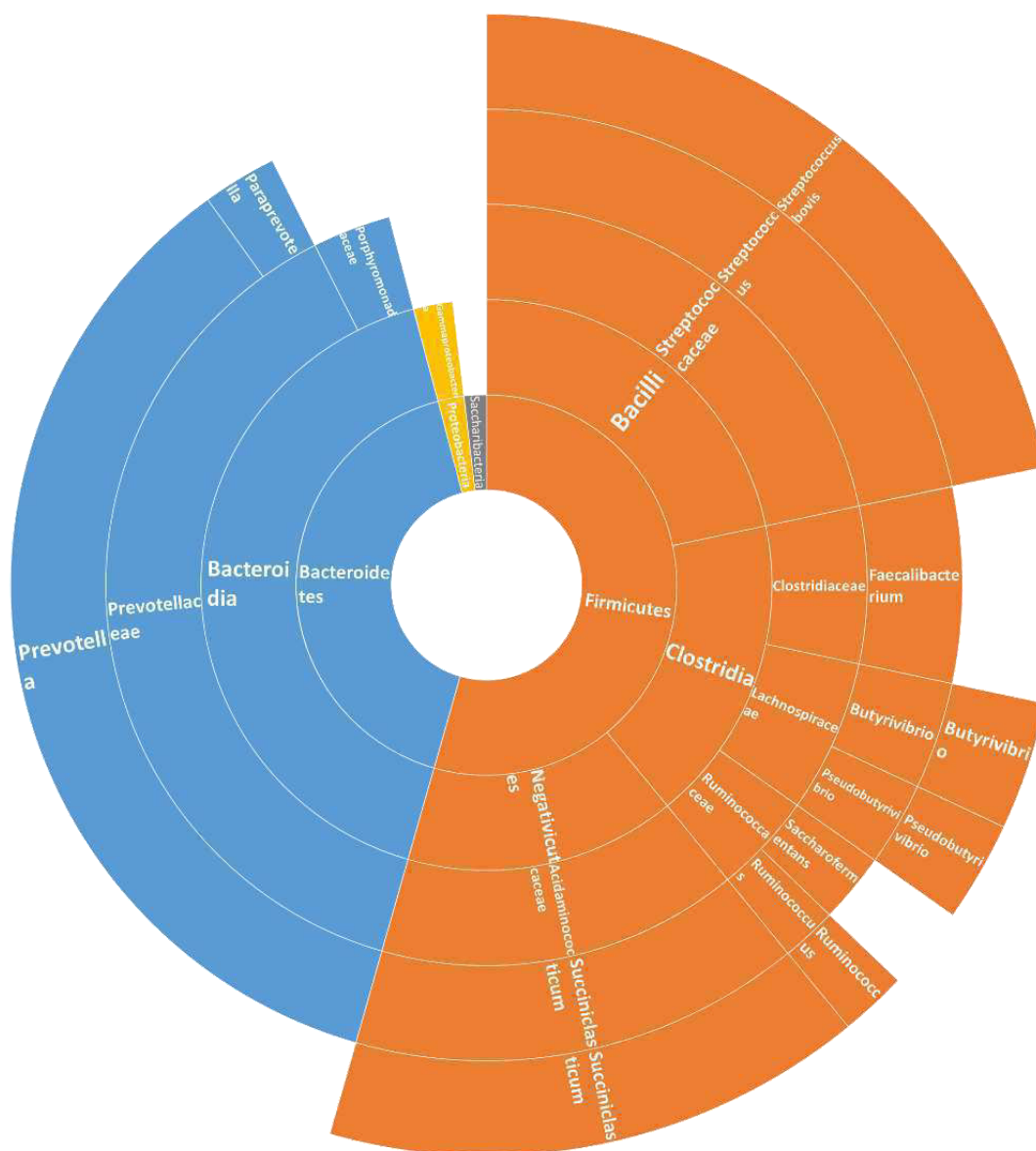


Рисунок 5 – Метагеномный анализ рубцового содержимого подопытных животных в контрольной группе

При метагеномном анализе рубца I опытной группы идентифицировано 24 филума из них 8 классифицированы (рисунок 6).

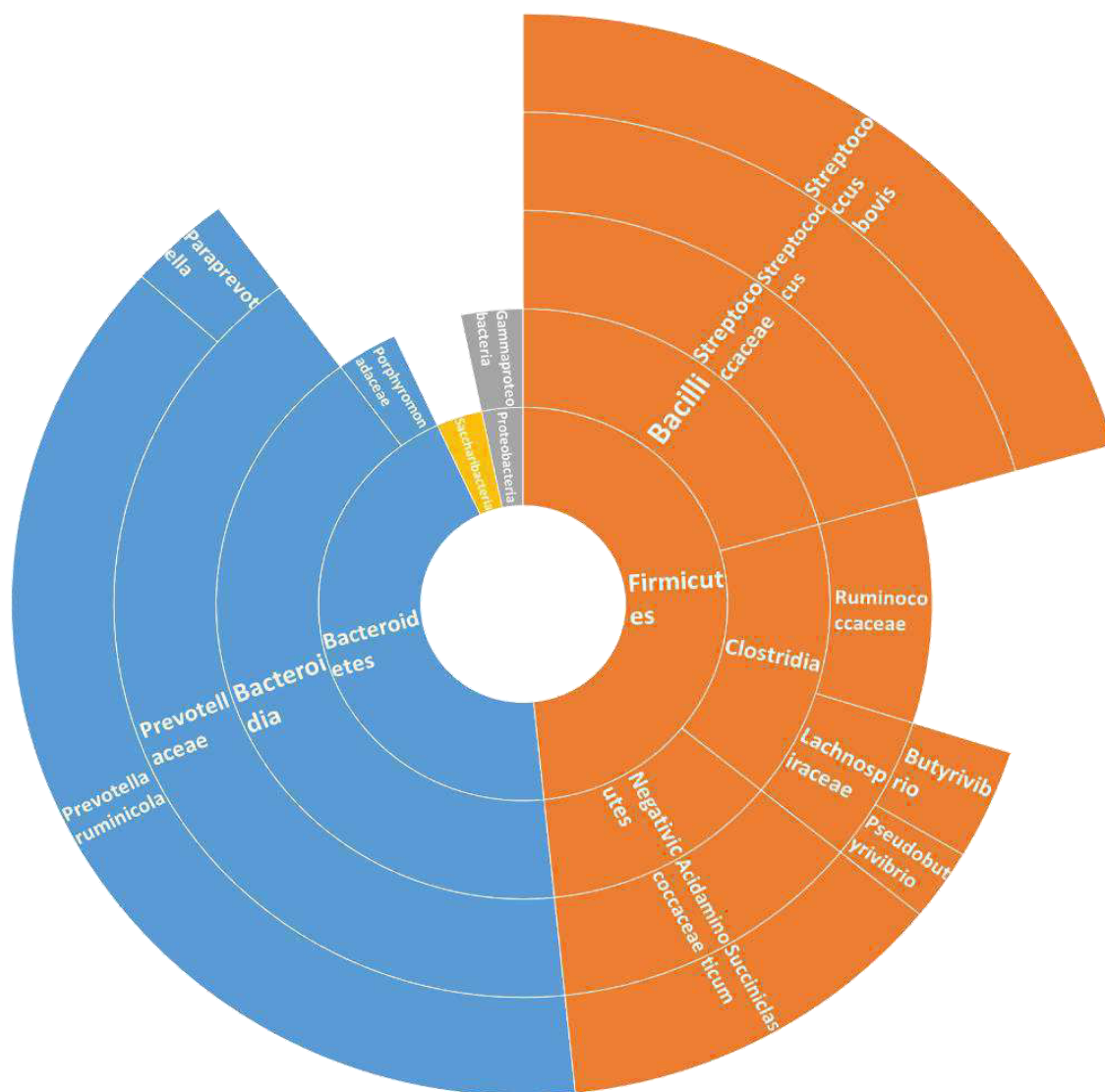


Рисунок 6 – Метагеномный анализ рубцового содержимого подопытных животных в I опытной группе

Использование экстракта коры дуба сопровождалось снижением числа бактерий в рубце относящихся к филуму *Bacteroidetes* на 1,6 % от контроля, и увеличением численности филума *Firmicutes* на 1,7% от контроля, что выражалось в изменении доли в микробиоценозе представителей классов *Clostridia*, *Bacteroidia* и *Bacilli*.

В рамках таксонов *Firmicutes* и *Proteobacteria* отмечалось снижение числа бактерий классов *Clostridia* (на 8,8 % от контроля), *Negative Acidamiro* (на 3,0% от контрольной группы). Тогда как в рамках таксона *Bacteroidetes* наблюдалось увеличение численности бактерий класса *Bacilli* на 13,5 % от

контроля, что в основном было не связано с увеличением представителей р. *Streptococcus* (на 14,4 % от общего числа).

В I опытной группе выявлено 665 таксономических категорий, наиболее преобладающими являлись 8 из них, в том числе *Streptococcus bovis* - 14,5%, *Prevotella ruminicola* - 3,1%, *Butyrivibrio proteoclasticus* – 1,5% от общего числа микроорганизмов.

Во II опытной группе было идентифицировано 23 филума, из них 8 были значимыми (рисунок 7).

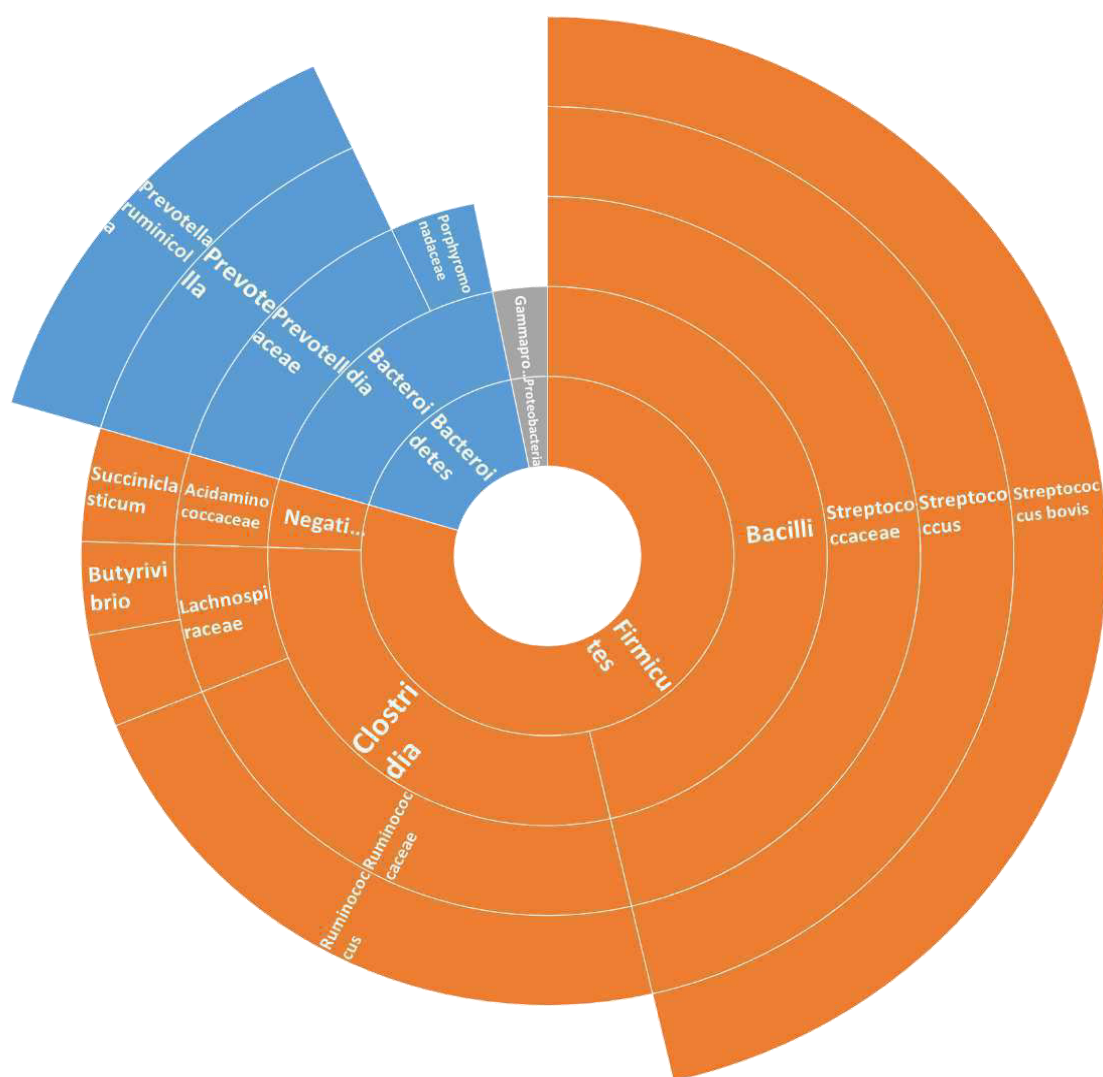


Рисунок 7 – Метагеномный анализ рубцового содержимого подопытных животных во II опытной группе.

Преобладали в большей степени *Firmicutes* (63,5% от общего числа), *Bacteroidetes* – (24,8% от общего числа), *Proteobacteria* (6,1 % от общего числа).

В таксономической категории класса бактерий превалировали представители *Bacilli* (54,3% от общего числа), *Clostridia* (8,5% от общего числа).

Введение в рацион ингибиторов «кворум сенсинга» оказывало значимое влияние на соотношение грамотрицательной и грамположительной микрофлоры рубца.

Наблюдалось уменьшение числа бактерий класса *Bacteroidia* 24,2% от контроля, *Negativicutes* на 8,5 % от контроля и увеличение класса *Gamma proteobacteria* на 0,2% относительно контрольной группы.

Видовое разнообразие было представляло 552 идентифицированными категориями, с наибольшей долей *Streptococcus bovis* – (20,0% от общего числа), *Prevotella ruminicola* – (1,8% от общего числа). Остальные виды не достигали 3,0%. Внесение в рацион животных ИКС сдвигало устоявшееся равновесие микроорганизмов в сторону тех, которые отвечают за лучшую перевариваемость кормов, в частности, повышение численности филума *Firmicutes*.

Значимым во всех группах был вид *Streptococcus bovis* при повышении которого происходило увеличение переваримости сухого вещества корма, наибольшее значение этого вида наблюдалось во II опытной группе.

Проведенные исследования продемонстрировали ингибирующий эффект препаратов экстракта коры дуба и ингибиторов «кворум сенсинга» на систему Quorum Sensing LuxI-LuxR типа, что в наших исследованиях подтверждалось уменьшением численности условно-патогенных микроорганизмов, в том числе семейства *Enterobacteriaceae*, представителей рода: *Enterobacter* на 1,0% и 1,1%, *Melissococcus* на 57,1% и 19,0%, *Serratia* на 35,7% и 57,2% относительно контроля. Род *Hafnia* в опытных группах полностью отсутствует.

Таким образом, введение опытных добавок сопровождается увеличением численности микроорганизмов, участвующих в перевариваемости кормов, что позволяет рекомендовать их в качестве кормовой добавки для улучшения производительности сельскохозяйственных животных.

2.3.1.3 Ферментативная активность в рубце подопытных животных

В рубцовой жидкости полигастричных находится большое количество анаэробных микроорганизмов, они занимают различные трофические ниши в микробиоценозе, и имеют разную ферментативную вооруженность, вследствие чего, неодинаково влияют на переваримость питательных веществ корма.

Рационы жвачных включают значительное количество грубых кормов, для их переработки и усвоения организмом животного большое значение имеют целлюлозолитические микроорганизмы. Последние являются одними из наиболее важных симбионтов рубца с точки зрения усвояемости растительных кормов и максимально активируются в период после 3-х часов кормления. Эта группа микроорганизмов активизируют ферментативную активность в рубце, и позволяет животным извлекать энергию из кормов (таблица 9).

Мы обнаружили, что у опытных животных ферментативная активность в рубце была выше по сравнению с контролем. Так, I опытная группа по целлюлолитической активности превзошла контрольную на 4,33% ($P \leq 0,001$) через 3 часа и на 4,1% ($P \leq 0,001$) через 6 часов после кормления. Во II опытной группе целлюлолитическая активность рубцового содержимого оказалась ещё выше на 8,03% ($P \leq 0,001$) после 3-х часов кормления и на 8,23% ($P \leq 0,001$) после 6-ти часов после кормления относительно контрольной группы.

Таблица 9 – Ферментативная активность после 3, 6 часов экспозиции с в рубце, %

Группа	Время, часов	
	3	6
	целлюлозолитическая	
контрольная	19,07±0,01	20,80±0,12
I опытная	23,40±0,13***	24,90±0,10***
II опытная	27,10±0,10***	29,03±0,55***
	амилолитическая	
контрольная	38,00±0,58	36,20±0,11
I опытная	43,50±0,06***	41,00±1,16**
II опытная	45,10±0,11***	43,00±1,14**

Примечание: * - $P \leq 0,05$; ** - $P \leq 0,01$; *** - $P \leq 0,001$

Амилолитическая активность в рубцовой жидкости уменьшается с течением времени после кормления. Это определяется деятельностью по расщеплению бактериями наиболее доступных для обмена легкорастворимых углеводов рациона на начальном этапе пищеварения. Анализ интенсивности ферментативной активности выявил высокую амилолитическую активность в опытных группах. Так I опытная группа превосходила контрольную по этому показателю после 3-х часов на 5,5% ($P \leq 0,001$), а после 6-ти часов на 4,8% ($P \leq 0,01$). Аналогичная разница между контрольной и II опытной группой составляла 7,10% ($P \leq 0,001$) через 3 часа и 6,8% ($P \leq 0,01$) через 6 часов после кормления по отношению к контролю.

Таким образом, вещества анти-кворум оказывая специфическое действие на микрофлору рубца, изменяют ферментативную активность рубцового содержимого, способствуя повышению целлюлозолитической и амилолитической активностей и тем самым влияя на переваримость кормов.

2.3.1.4 Воздействие опытных добавок на минеральный обмен в рубце

Оценка действия опытных добавок на обмен химических элементов в рубце подопытных животных выявила целый ряд изменений, в особенности для макроэлементов (рисунок 8).

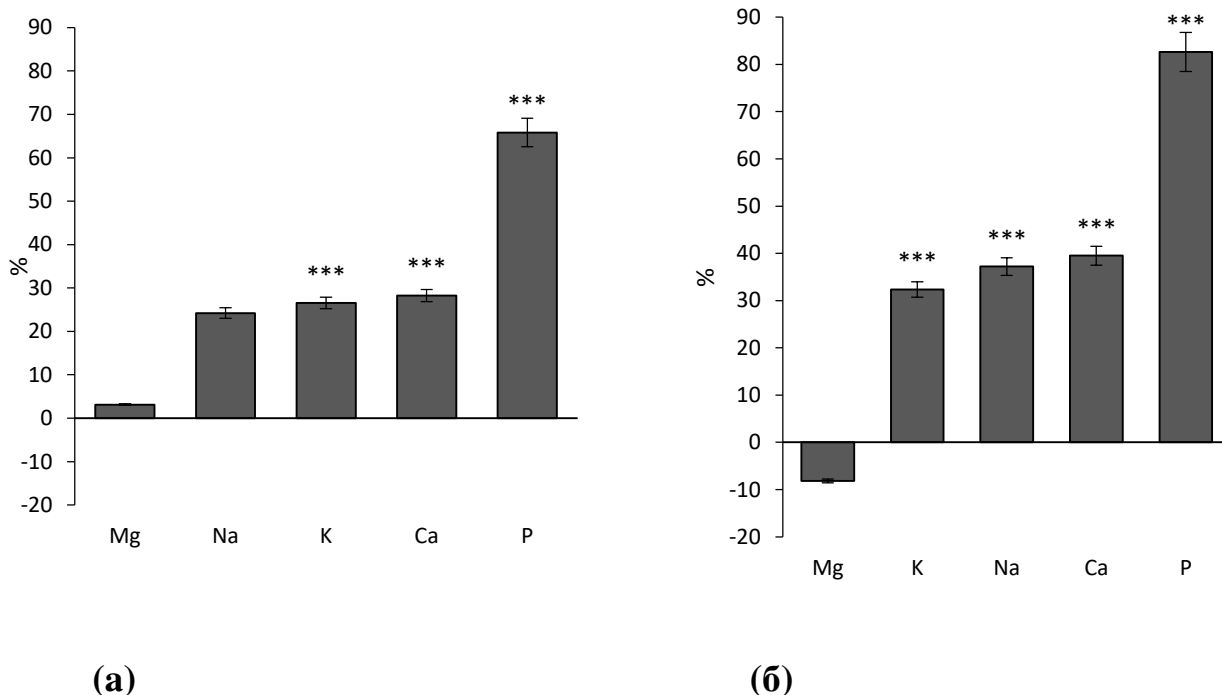


Рисунок 8 – Разница в концентрации макроэлементов в рубцовой жидкости между I опытной (а), II опытной (б) относительно контрольной группы, через 3 часов после введения, %

Примечание: * - $P \leq 0,05$; ** - $P \leq 0,01$; *** - $P \leq 0,001$

В частности, через три часа после кормления в рубцовой жидкости I опытной группы по отношению к контролю увеличивается концентрация магния на 3,14%, в то время как во II опытной группы, напротив, происходит снижение содержания этого элемента на 8,18%.

В обеих опытных группах возрастает концентрация макроэлементов, натрия в I опытной группе на 24,54%, во II на 37,2% ($P \leq 0,001$); фосфора в I на 65,81% ($P \leq 0,001$), во II на 82,62% ($P \leq 0,001$).

Согласно результатам исследований, количество микроэлементов в рубцовой жидкости экспериментальных животных существенно отличаются от контрольных. Так, через 3 часа после введения экстракта коры дуба (I опытная группа) в дозе 0,64 мл/кг живой массы концентрация As снизилось на 50% ($P \leq 0,001$), Ni на 26,92% ($P \leq 0,001$), Fe на 32,81% ($P \leq 0,01$) от контроля. Во II опытной группе произошло достоверное повышение Cu на 66,67% ($P \leq 0,001$), Mn на 28,13% ($P \leq 0,001$), Zn на 111,46 % ($P \leq 0,05$) относительно контроля (рисунок 9).

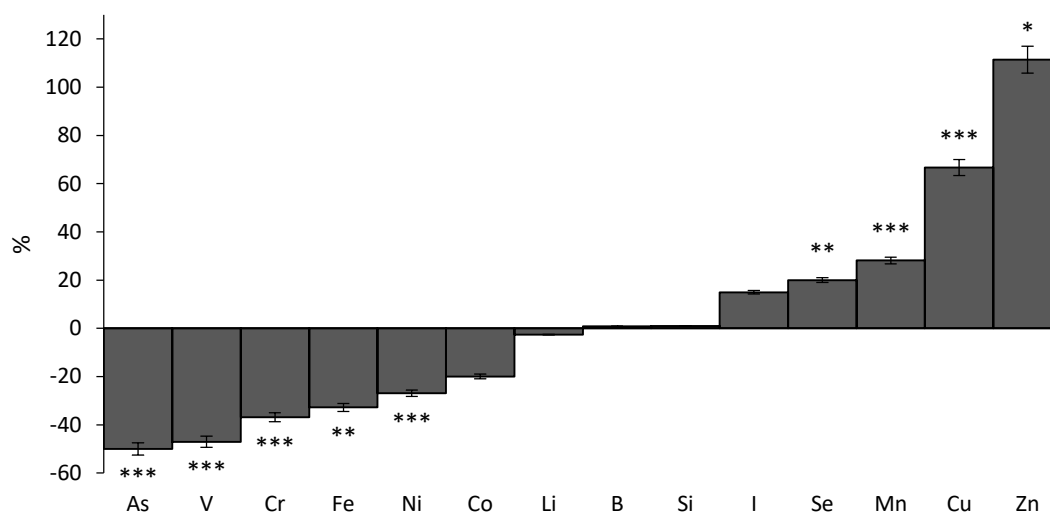


Рисунок 9 – Разница в концентрации микроэлементов в рубцовой жидкости I опытная группа относительно контрольной, через три часа после кормления, % * - $P \leq 0,05$; ** - $P \leq 0,01$; *** - $P \leq 0,001$

Через 3 часа после введения ингибиторов «кворум сенсинга» (II опытная группа) в дозировке (0,81 мл/кг живой массы), также, как и во второй группе достоверно снижается As на 50,0 % ($P \leq 0,001$), Fe на 41,34% ($P \leq 0,001$), по отношению к контролю (рисунок 10).

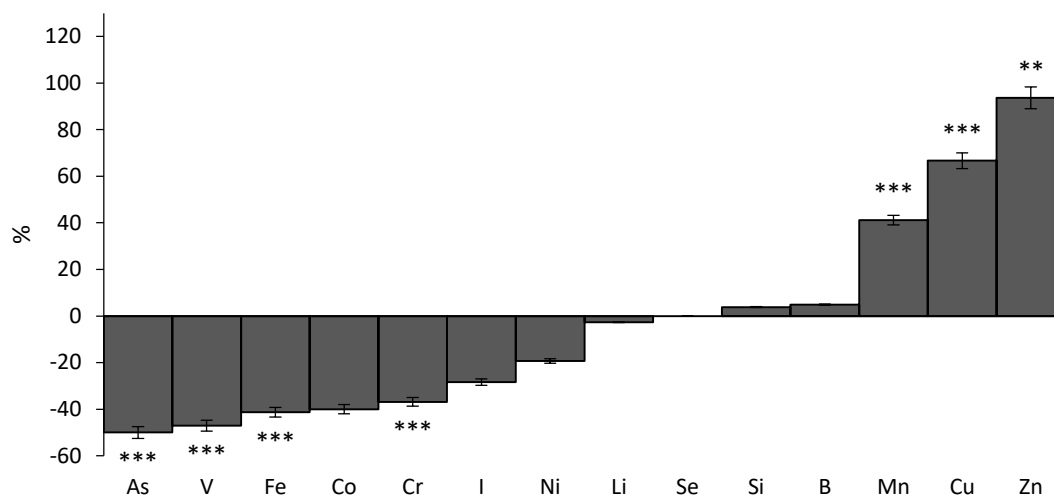


Рисунок 10 – Разница в концентрации микроэлементов в рубцовой жидкости II опытная группа относительно контрольной, через три часа после кормления, % * - $P \leq 0,05$; ** - $P \leq 0,01$; *** - $P \leq 0,001$

Поступление ингибиторов «кворум сенсинга» (II группа) сопровождается повышением Cu на 66,7% ($P \leq 0,001$), Mn на 41,19 % ($P \leq 0,001$), и Zn на 93,63% ($P \leq 0,01$) относительно контрольной группы.

По истечению 6-ти часов после кормления происходит дальнейшее увеличение концентраций макроэлементов (рисунок 11).

Магний в I и во II опытных группах уменьшается относительно контроля на 1,76% и на 6,47%, это может быть связано с процессом всасывания питательных веществ в ходе пищеварения.

Содержание калия, I опытная группа увеличение на 20,33% ($P \leq 0,001$), II на 17,82% ($P \leq 0,01$) и фосфора в I на 64,03% ($P \leq 0,001$), во II группе на 69,75% ($P \leq 0,001$) в рубцовой жидкости, также остается значимым по отношению к контролю.

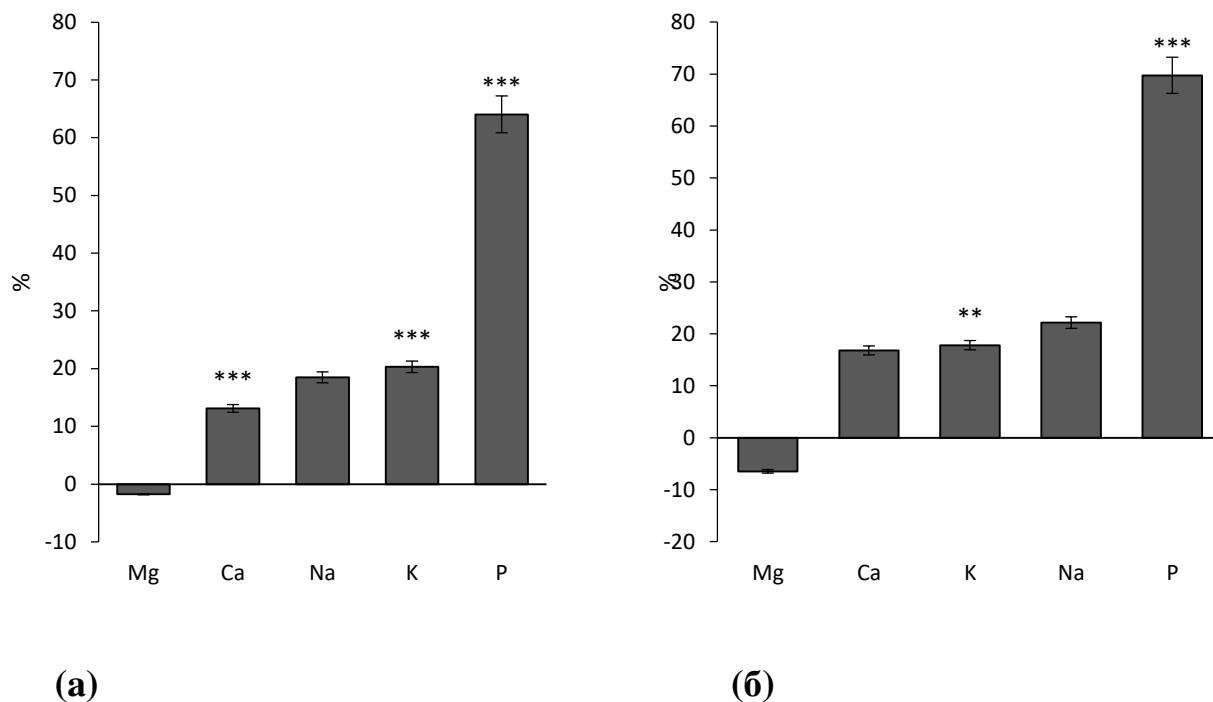


Рисунок 11 – Разница в концентрации макроэлементов в рубцовой жидкости между I опытной (а), II опытной (б) относительно контрольной группы, через 6 часов после введения, %

Примечание: * - $P \leq 0,05$; ** - $P \leq 0,01$; *** - $P \leq 0,001$

Через 6 часов после введения опытных добавок отмечается снижение концентрации As в I и II опытных группах на 60,0% по сравнению с контролем. В то же время нами отмечалось достоверное повышение концентрации микроэлементов меди на 21,21% ($P \leq 0,001$), марганца на 12,62% ($P \leq 0,01$) в рубцовой жидкости при использовании ЭКД (рисунок 12).

Введение экстракта коры дуба (I группа) через 6 часов после кормления снижало концентрацию в рубцовом содержимом Cr и Fe на 40,91% ($P \leq 0,001$) и 50% ($P \leq 0,001$), аналогичная разница при введении ингибиторов «кворум сенсинга» (II опытная группа) составила 45,94% ($P \leq 0,001$) и 56,01% ($P \leq 0,001$), соответственно.

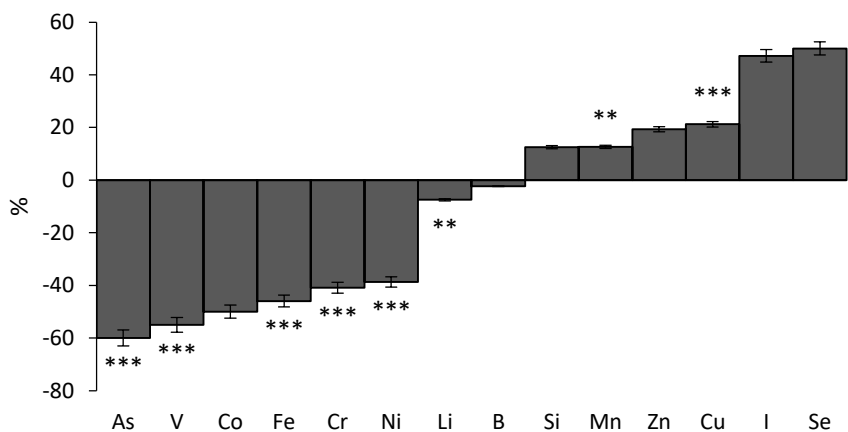


Рисунок 12 – Разница в концентрации микроэлементов в рубцовой жидкости I опытной группы относительно контрольной, через шесть часов после кормления, %

Примечание: * - $P \leq 0,05$; ** - $P \leq 0,01$; *** - $P \leq 0,001$

При добавлении в рацион ингибиторов «кворум сенсинга» (II группа) отмечалось увеличение концентрации Cu на 24,24% ($P \leq 0,05$), при не достоверном повышении содержания йода на 19,44%, Mn на 14,07%, Si на 38,18% (рисунок 13).

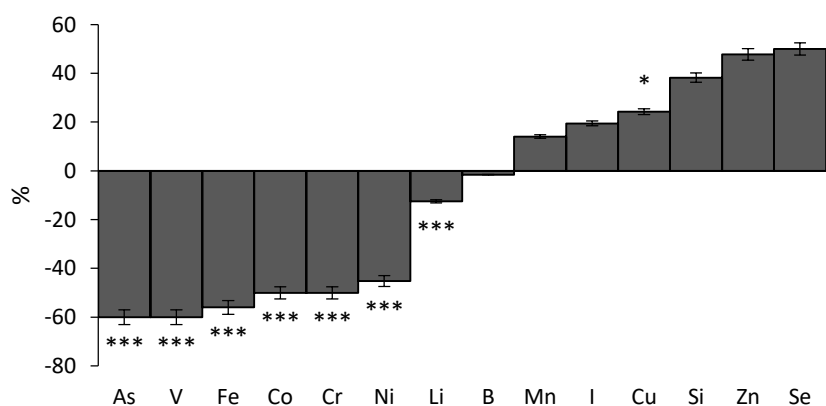


Рисунок 13 – Разница в концентрации микроэлементов в рубцовой жидкости II опытной группы относительно контрольной, через шесть часов после кормления, %

Примечание: * - $P \leq 0,05$; ** - $P \leq 0,01$; *** - $P \leq 0,001$

Содержание элементов в рубцовой жидкости в опытных группах во многом различно с контролем. Более высокое значение элементов, наблюдается, через 6 часов после введения, это обусловлено накоплением бактериями химических веществ в ходе пищеварения.

2.3.2. переваримость питательных веществ рационов

Переваримость питательных веществ рациона — это разность между поступившими в организм питательными веществами с кормом и выделенными с калом. переваренная часть используется организмом для физиологических процессов. Эффективность переваримости питательных веществ корма зависит от ряда факторов, в том числе состава рациона, возраста, и др. Вещества, поступающие в организм, находятся в высокомолекулярных соединениях, для их усвоения нужна трансформация и преобразование их в более простые составляющие.

Как следует из полученных нами результатов потребление отдельных питательных веществ подопытными животными было различным, так животные опытных групп превосходили по потреблению кормов своих сверстников в контрольной группе. Охотнее всего поедались корма II опытной группой (таблица 10).

Так опытные группы превосходили контрольную по потреблению сухого вещества по I опытной группе на 1,53%, II на 3,28%.

Введение в рацион животных экстракта коры дуба и ингибиторов «кворум сенсинга», способствует лучшей переваримости питательных веществ. В результате чего опытные группы превосходили контрольную по массе переваренного сухого вещества на 3,02 и 9,54%, протеина на 7,28 и 8,23%, клетчатки на 7,73% и 11,0%, соответственно.

Таблица 10 – Поступление и переваримость основных питательных веществ рационов подопытными животными, г/гол/сутки

Показатель	Сухое вещество	Органическое вещество	Протеин	Жир	Клетчатка	БЭВ
Контрольная						
принято	8557±49,0	7994±46,0	1072±6,0	248±10,2	2058±11,0	4614±26,0
выделено	3015±11,1	2635±5,0	402±4,0	78,5±0,4	954±10,0	1247±17,0
переварено	5542±50,0	5359±42,1	670±3,0	170±2,2	1104±7,0	3367±15,2
I опытная группа						
принято	8688±32,0	8117±30,0	1089±4,1	252±1,0	2090±8,0	4685±17,0
выделено	2978±133	2510±10,1	369±5,0	75,5±0,4	900±7,2	1130±14,0
переварено	5711±106	5606±24,0	719±9,0	177±1,0	1189±6,0	3555±9,0
II опытная группа						
принято	8838±37,2	8256±35,4	1108±5,0	257±1,0	2126±9,0	4766±20,1
выделено	2766±16,2	2328±8,0	382±5,0	73±1,0	886±9,0	1091±24,1
переварено	6072±46,0	5928±38,2	726±2,0	184±2,0	1239±8,0	3675±41,2

В ходе исследований установлено, что введение в рацион опытных добавок влияет на степень переваривания питательных веществ корма (таблица 11).

Таблица 11 – Коэффициент переваримости питательных веществ рационов, %

Показатель	Группа		
	контрольная	I опытная	II опытная
Сухое вещество	64,8±0,2	65,7±1,4	68,7±0,3***
Органическое вещество	67,0±0,1	69,1±0,1*	71,8±0,2*
Сырой протеин	62,5±0,3	66,0±0,5*	65,5±0,3*
Сырой жир	68,4±0,3	70,1±0,1*	71,7±0,4*
Сырая клетчатка	53,6±0,3	56,9±0,3*	58,3±0,4*
БЭВ	72,9±0,3	75,9±0,2*	77,1±0,6*

Примечание: * - $P \leq 0,05$, в сравнении с контролем

Анализ полученных данных показал, что бычки II опытной группы превосходили сверстников из контрольной и I опытной группы по коэффициенту переваримости сухого вещества на 6,07% ($P \leq 0,05$) и 4,51%, органического на 7,11% ($P \leq 0,5$) и 3,95%, сырой клетчатки на 8,70% ($P \leq 0,05$) и 2,44%, БЭВ на 5,66% ($P \leq 0,05$) и 1,62%.

Таким образом, использование в кормлении молодняка крупного рогатого скота опытных добавок позволяет повысить переваримость питательных веществ рационов.

2.3.2.1. Использование азота корма

Исследования особенностей обмена азота у подопытных животных выявили следующие изменения (таблица 12).

Таблица 12 – Среднесуточный баланс азота в организме животных, гр/гол

Показатель	Группа		
	контрольная	I опытная	II опытная
Принято	172±1,0	174±0,6	177±0,8*
Выделено в кале	64,4±0,8	59,2±0,7*	61,2±0,7*
Выделено в моче	81,5±0,9	87,1±2,4*	86,2±2,1*
Переварено	107±1,0	115±1,0 ^{е*}	116±0,4*
Отложено:			
на 1 голову	25,8±0,9	27,9±1,4*	29,9±0,2*
на 100 кг живой массы	7,60±2,6	7,90±0,3	8,21±0,1
Коэффициент использования:			
от принятого	14,9±0,5	16,0±0,7	16,9±0,1
от переваренного	24,0±0,8	24,3±0,9	25,8±0,09

Примечание: * - $P \leq 0,05$, в сравнении с контролем.

В I и II опытных группах отмечалось увеличение потребления азота с кормом на 1,53 и на 3,28% ($P \leq 0,05$). При этом использование опытных кормовых добавок сопровождалось достоверным повышением переваривания азота на 7,28% ($P \leq 0,05$) и 8,23% ($P \leq 0,05$). Между тем в силу пока не ясных обстоятельств выделения азота с мочой в опытных группах достоверно выросло до 86,2-87,1 г/гол/сутки. Это несколько снизило общее отложение азота в тканях тела животных. Однако, опытные группы превосходили контроль по данному показателю на 8,1% в I и на 15,9 % ($P \leq 0,05$) во II опытной группе. Аналогично изменялась динамика коэффициент использования от принятого азота в опытной группе.

Таким образом, баланс азота во всех группах был положительным это можно увидеть по усвояемости его в течение суток. Интенсивность обмена азота указывает на скорость роста молодняка.

2.3.2.2 Обмен кальция и фосфора в организме бычков

Кальций и фосфор входят в число макроэлементов, роль которых для организма животного трудно переоценить. Основным местом поглощения Са и Р в желудочно-кишечном тракте крупного рогатого скота является тонкая кишка, как и у моногастричных животных. Гомеостаз кальция и фосфора в организме животных регулируется при помощи трех гормонов: паратиреоидного гормона, кальцитонина и 1,25-дигидроксивитамина.

В ходе наших исследований мы выявили определенные изменения в обмене кальция в организме подопытных животных (таблица 13).

В ходе наших исследований установлен положительный баланс кальция во всех сравниваемых группах, с тем отличием, что благодаря действию опытных добавок происходило снижение не эффективного использования кальция корма при переваривании. Так, I опытная группа усвоила на 15,65% больше кальция, II на 19,80%, чем контроль. Коэффициент использования был

выше у опытных групп относительно контрольной в I на 13,82%, во II на 15,94%.

Таблица 13 – Баланс кальция в организме подопытных животных, г/гол/сутки

Показатель	Группа		
	контрольная	I опытная	II опытная
Принято	69,7±0,4	70,7±0,3	71,9±0,3*
Выделено в кале	47,0±0,0	44,7±2,3	45,0±2,0
Выделено в моче	0,93±0,00	0,94±0,001	0,91±0,013
Отложено:			
на 1 голову	21,7±0,4	25,1±2,6	26,0±2,3
на 100 кг живой массы	6,40±0,07	7,30±0,70	7,65±0,70
Коэффициент использования, %	31,2±0,4	35,5±3,5	36,2±3,0

Примечание: * - $P \leq 0,05$, в сравнении с контролем

Обмен фосфора тесно связан с метаболизмом кальция в организме животного. Около 87,0% фосфора содержится в костной ткани, 13,0% в межклеточном веществе. В организме фосфор содержится в органических и неорганических соединениях, он участвует в тканевом дыхании, является частью липидов, сахаров, протеинов, выполняет множество других функций.

В связи с тем, что животные опытных групп поедали больше корма чем в контроле, соответственно и поступление фосфора в организм бычков I опытной группы увеличилось на 1,53%; II опытной группы на 3,26% (таблица 14).

Таблица 14 – Баланс фосфора в организме подопытных животных, г/гол

Показатель	Группа		
	контрольная	I опытная	II опытная
Принято	33,4±0,2	33,9±0,1	34,5±0,1*
Выделено с калом и мочой	27,7±1,3	20,5±1,2*	20,8±0,1*
Отложено: на 1 голову	11,5±1,3	13,4±1,0	13,7±0,1
на 100 кг ЖМ	3,38±0,37	3,94±0,35	4,04±0,03
Коэффициент использования, %	34,4±3,8	39,6±3,2	39,8±0,1

Примечание: * - $P \leq 0,05$, в сравнении с контролем

Результаты исследований по оценке обмена фосфора не выходили за рамки данных полученных выше. Экстракт дубовой коры оказал воздействие на метаболизм фосфора, с тем отличием, что это действие было менее выраженным в сравнении с препаратом ингибиторов «кворум сенсинга». Так, отложение фосфора в I опытной группе превосходило уровень контроля только на 16,99%, тогда как во II эта разница составила 19,69%.

Таким образом, введение в рацион экстракта коры дуба и ингибиторов «кворум сенсинга» положительно повлияло на минеральный баланс веществ.

2.3.2.3 Обмен энергии в организме в организме бычков

Увеличение переваримости рационов и повышение продуктивности связано с различными условиями, например, такими как, снабжение организма питательными веществами и энергией. По различным оценкам энергетический потенциал продуктивности сельскохозяйственных животных на 70,0% связан с поедаемостью и на 30,0% с переваримостью.

Это предопределило наш интерес к изучению использования и потребления энергии подопытными животными (таблица 15).

Таблица 15 – Баланс энергии в организме подопытных животных, МДж/гол/сутки

Показатель	Группа		
	контрольная	I опытная	II опытная
Энергия: валовая	157,4±0,9	159,8±0,6	162,6±0,7*
переваримая	99,73±0,51	105,9±0,4*	109,3±0,9*
обменная	78,4±0,42	79,4±0,3	80,9±0,73*
Обменная энергия сверхподдержания	39,18±0,27	39,38±0,32	39,28±0,11
Чистая энергия прироста	14,29±0,10	16,61±0,03*	17,88±0,37*
Коэффициент продуктивного использования обменной энергии,%	33,48±0,13	34,99±0,02*	35,50±0,18*

Примечание: * - $P \leq 0,05$, в сравнении с контролем.

В результате исследований, выяснено, что поступление валовой энергии в организм опытных животных превосходило сверстников контрольной группы, по I опытной на 1,53%, II на 3,28% ($P \leq 0,05$). Достоверно увеличивалась доля переваримой энергии относительно контроля в I опытной группе на 6,21% ($P \leq 0,05$), во II опытной 9,59% ($P \leq 0,05$). Аналогичная разница в величине обменной энергии составила 1,3% и 3,20%, соответственно.

Как не парадоксально, но относительно низкая эффективность использования азота в межуточном обмене опытного молодняка не отразилась

на межуточном обмене энергии. Это хорошо видно по динамике коэффициента полезного использования обменной энергии, значения которого в опытных группах превысили контрольные значения на 4,32% ($P \leq 0,05$) и 5,70% ($P \leq 0,05$). Причем КПИ ОЭ оказался наибольшим во II опытной группе.

Следовательно, мы установили, что коэффициент обменной энергии имеет непосредственную взаимосвязь с использованием энергии корма и ее концентрацию в сухом веществе.

2.3.3 Результаты гематологических исследований

Для понимания физиологического состояния животных и интенсивности обменных процессов, проводят анализ гематологических показателей. Содержание в крови тех или иных показателей напрямую зависит от содержания, условия кормления, пола, возраста, продуктивности, протекания биохимических процессов и целого ряда других факторов.

2.3.3.1 Морфологический состав крови

При введении в рацион водного экстракта коры дуба (I опытная группа) уменьшается количество гранулоцитов и тромбоцитов на 28,94 и 3,41% ($P \leq 0,05$) соответственно по сравнению с контролем. При этом, увеличивается число лимфоцитов и эритроцитов на 34,07% и 0,34% соответственно, относительно контроля (таблица 16).

При введении ингибиторов «кворум сенсинга» (II опытная группа) увеличивается содержание гемоглобина на 4,54% на фоне уменьшения тромбоцитов на 19,4% ($P \leq 0,01$) по сравнению с контролем.

Таблица 16 – Морфологические показатели крови животных в конце учётного периода

Показатель	группа		
	контрольная	I опытная	II опытная
лейкоциты, $10^9/л$	12,0±1,9	10,3±0,15	13,2±1,3
лимфоциты, %	35,6±2,3	47,8±2,3	51,6±2,1
гранулоциты, %	36,6±1,8	26,0±1,3*	23,4±1,4
эритроциты, $10^{12}/л$	5,09±0,39	5,91±0,15	5,56±0,32
гемоглобин, г/л	94,7±1,8	96,0±1,2	99,0±3,1
тромбоциты, $10^9/л$	185±7,0	179±7,9*	155,0±4,9**

Примечание: * - $P \leq 0,05$; ** - $P \leq 0,01$

2.3.3.2 Биохимические показатели крови

При использовании в кормлении крупного рогатого скота экстракта коры дуба (I опытная группа) активность Аланин-аминотрансферазы (АЛат), повышается на 10,61%, а при введении ингибиторов «кворум сенсинга» (II опытная группа) уменьшается активность фермента на 7,40% по сравнению с контролем (таблица 17).

Содержание кальция увеличивается в сыворотке крови животных II опытной группы на 1,72%. Сыворотка крови бычков I опытной группы содержала меньше железа на 23,26% ($P \leq 0,05$). Тогда как во II опытной группе, напротив, отмечалось увеличение уровня железа на 7,29%. Аналогичный рост фосфора в сыворотке крови опытных животных составил 22,30% в I опытной и 14,39 % во II.

Введение ингибиторов «кворум сенсинга» (I группа) сопровождалось понижением концентрации общего билирубина в сыворотке крови на 15,0% ($P \leq 0,05$) соответственно, по сравнению с контрольной группой. Содержание общего белка было выше в опытных группах. Так в I опытная группа

превосходила контрольную по этому показателю на 7,11%, II опытная на 6,17% ($P \leq 0,05$). Остальные биохимические показатели в опытных группах были близки к контрольным значениям.

Таблица 17 – Биохимические показатели крови животных в конце учётного периода

Показатель	группа		
	контрольная	I опытная	II опытная
Аланин-аминотрансфераза, Е/л	31,1±0,3	34,4±2,0	33,4±2,3
Аспаргат-аминотрансфераза, Е/л	103±2,0	102±5,0	100±2,0
Щелочная фосфатаза Ед/л	92,3±4,5	47,7±4,7*	71,7±3,2
Гамма-глутамилтрансфераза, Ед/л	7,67±0,88	7,33±1,20	7,33±1,86
Мочевая кислота, мкмоль/л	28,0±3,4	25,7±3,4	23,0±2,6
Креатинин, мкмоль/л	134±4,0	114±5,0**	113±1,0**
Глюкоза, ммоль/л	3,44±0,16	3,48±0,29	3,83±0,11
Общий белок, г/л	74,5±1,3	79,8±1,8	79,1±0,9
Билирубин общий, мкмоль/л	0,60±0,00	0,51±0,09*	0,60±0,05
Холестерин, ммоль/л	3,15±0,12	3,19±0,27	3,36±0,31
Мочевина, ммоль/л	3,20±0,61	2,57±0,06	3,07±0,41
Железо, мкмоль/л	28,80±2,02	22,10±1,50*	30,90±4,67
Кальций, ммоль/л	2,33±0,01	2,36±0,01	2,37±0,01
Фосфор, ммоль/л	1,39±0,06	1,70±0,07	1,59±0,08

Примечание: * - $P \leq 0,05$, в сравнении сконтролем.

Таким образом, морфо-биохимические показатели крови подопытных животных находились в пределах нормы, что обуславливается эффективным использованием рационов и увеличением продуктивности молодняка во время проведения исследований.

2.3.3.3 Антиоксидантный статус сыворотки крови

На функциональное состояние и продуктивность сельскохозяйственных животных оказывают влияние факторы внешней и внутренней среды. При воздействии на организм различных факторов среды компенсаторные реакции связаны с напряжением специфических или неспецифических механизмов, и характеризуются направленным фактором активации и проявлением стресс-реакции.

В наших исследованиях мы проводили изучение показателей антиоксидантной системы с целью оценки окислительного стресса подопытных животных (таблица 18).

Таблица 18 – Ферментативная активность крови

Показатель	Группа		
	контрольная	I опытная	II опытная
Малоновый диальдегид, нм/мл	1,00±0,14	0,99±0,05	0,85±0,03*
Супероксиддисмутаза, %	193±8,0	100±10,0*	97±5,0***
Каталаза, мкМ	5811±1065	3757±986	4465±1129

Примечание: * - $P \leq 0,05$; *** - $P \leq 0,001$

Анализ данных показал, что активность каталазы в опытных группах была ниже чем в контрольной на 35,3% в I опытной группе и на 23,2% во II, соответственно.

Значение супероксиддисмутазы (СОД) достоверно снижалось относительно контроля на 47,8% ($P \leq 0,05$) в I опытной группе, на 49,9% ($P \leq 0,001$) во II опытной группе.

Уровень малонового диальдегида (МДА) также снижался в опытных

группах на 1,0% в первой опытной группе и 15,0% ($P \leq 0,05$) относительно контроля. Малоновый диальдегид служит маркером перекисного окисления жиров при деградации полиненасыщенных жиров активными формами кислорода.

Физиологическая функция СОД является защита клеток от свободного радикального повреждения, он превращает супероксид в H_2O_2 , то есть является первичным антиоксидантом. Присутствие СОД в крови позволяет поддерживать определенную концентрацию супероксидных анионов.

Каталаза является ферментом, близким по структуре к гемоглобину. Она способна образовавшейся пероксид водорода преобразовать в воду и кислород. СОД и каталаза тесно связаны в крови, они регулируют баланс образования свободных радикалов за счёт активности эндогенных антиоксидантных систем, для предотвращения окислительного стресса.

Таким образом действие сравниваемых кормовых добавок на организм животных не сопровождалось развитием окислительного стресса.

2.4 Результаты научно-хозяйственного опыта

2.4.1 Кормление подопытных животных

При выполнении научно-хозяйственного опыта животные всех групп содержались в одинаковых условиях, их места были оборудованы кормушками и автоматическими поилками. Рацион использованный в ходе исследований был составлен в соответствии с нормами кормления крупного рогатого скота соответствующего возраста. В среднем суточный рацион содержал сено суданки – 2,5 кг, сено люцерны – 3,0 кг, силос кукурузный 8,0 кг, концентраты. Бычки контрольной группы получали основной рацион. Бычки I и II опытной группы дополнительно к основному рациону получали водный экстракт коры дуба и ингибиторов «кворум сенсинга», которые смешивали с отрубями и раздавали индивидуально каждому животному

утром.

Следует отметить, что потребление кормов в опытных и контрольной группе было различным. Так, I опытная группа потребляла сухого вещества на 1,31%, а II опытная группа на 3,28%, больше относительно контрольной группы. Потребление с кормом доступной для обмена энергии так же оказалось различным, при введении в рацион экстракта коры дуба уровень ОЭ в I опытной группе превысил аналогичное значение в контроле на 1,31%, во II на 3,28%. Различия по потреблению с кормами сырого протеина 1,29 и 3,16%, соответственно (таблица 19).

Таблица 19 – Фактическое потребление рационов подопытными животными, кг/гол в сутки

Показатель	Группа		
	контрольная	I опытная	II опытная
Состав рациона			
сено суданки	2,4	2,5	2,4
сено люцерны	2,9	2,9	3,0
силос кукурузный	7,6	7,8	7,9
отруби пшеничные	1,0	1,0	1,0
ячмень дробленый	1,0	1,0	1,0
жмых подсолнечный	0,5	0,5	0,5
премикс, г	25	25	25
ЭКД, мл/кг	-	0,64	-
ИКС, мл/кг	-	-	0,81
В рационе содержится:			
обменной энергии, МДж	78,4	79,4	80,9
сухого вещества, г	8576	8688	8856
органического вещества, г	8012	8117	8274

сырого жира, г	249	252	257
сырой протеин, г	1075	1089	1110
сырой клетчатки, г	2063	2090	2130
БЭВ, г	4624	4685	4776
кальций, г	69,7	70,7	71,9
фосфор, г	33,4	33,9	34,5

Таким образом, неодинаковая поедаемость кормов отразилось на содержании принятых питательных веществ в фактически потребленном рационе животными.

2.4.2 Динамика роста молодняка крупного рогатого скота

Рост обуславливает собой развитие организма с увеличением массы и размеров живого тела. При взаимодействии организма со средой происходит количественное и качественное изменение, это и является процессом развития организма.

Эти обстоятельства учитывались нами при выполнении исследований. В ходе планирования и подготовки исследований нами были отобраны животные красной степной породы с живой массой 290-340 кг. Как следует из полученных результатов использование опытных кормовых добавок сопровождалось увеличением интенсивности роста молодняка и достоверного повышения живой массы начиная со второго месяца эксперимента (таблица 20).

В частности, к окончанию второго месяца основного учетного периода средняя живая масса во II опытной группе достигла 373,5 кг, что на 11,1 кг ($P \leq 0,05$) превысило значение аналогичного показателя в контроле. Превосходство по живой массе животных I опытной группы оказалось меньшим и статистически недостоверно всего 4,1 кг.

Таблица 20 – Динамика живой массы подопытных животных, кг

Возраст, мес.	Группа		
	контрольная	I опытная	II опытная
13	315,0±1,41	314,6±1,51	314,4±1,62
14	340,0±1,77	341,1±2,02	343,9±1,63
15	364,6±2,18	368,7±2,58	373,5±2,17*
16	389,1±2,78	395,3±2,77	403,2±2,18**

Примечание: * - $P \leq 0,05$; ** - $P \leq 0,01$

К завершению эксперимента, в 16 месячном возрасте, наибольшей оказалась живая масса животных II опытной группе 403,2 кг, что на 14,1 кг ($P \leq 0,01$) превосходило уровень контроля, и на 7,9 кг среднюю живую массу в I опытной группе. Однако, последние различия оказались статистически недостоверными.

Оценка динамики ежемесячных приростов живой массы подтвердила полученные результаты (таблица 21).

Таблица 21– Динамика ежемесячного прироста подопытных животных, кг/гол

Возраст, мес.	Группа		
	контрольная	I опытная	II опытная
14	25,0±0,77	26,50±0,81	29,53±0,11***
15	24,6±0,59	27,63±0,75**	29,58±0,82***
16	24,5±0,85	26,63±0,94	29,68±0,25***
14-16	74,1±1,75	80,75±1,82*	88,78±0,82***

Примечание: * - $P \leq 0,05$; ** - $P \leq 0,01$; *** - $P \leq 0,001$

Судя по динамике приростов уже в первый месяц эксперимента прирост живой массы во II опытной группе составил 29,5 кг/гол и достоверно превысил показатель контроля на 18,1% ($P \leq 0,01$). В I опытной группе в отдельные месяцы так же отмечалось достоверное превышение интенсивности роста животных в сравнении с контролем на 12,3 % ($P \leq 0,01$) в 15 месяцев.

За период всего эксперимента наибольший прирост живой массы отмечался нами во II опытной группе - 88,78 кг/голову или на 19,8 % ($P \leq 0,001$) больше уровня контроля. Аналогичное превосходство I опытной группе над контролем составила 8,9% ($P \leq 0,05$).

Расчеты относительной скорости роста подопытных животных выявил следующие закономерности (таблица 22).

Таблица 22 – Относительная скорость роста, %

Возраст, мес.	Группа		
	контрольная	I опытная	II опытная
14	7,63±0,22	8,08±0,23	8,97±0,05*
15	6,98±0,15	7,78±0,19*	8,24±0,20*
16	6,49±0,19	6,97±0,24	7,64±0,04*
14-16	19,03±0,33	20,41±0,36*	22,02±0,14*

Примечание: * - $P \leq 0,05$, в сравнении с контролем.

Как следует из полученных результатов во II опытной группе была установлена относительная скорость роста животных 22,02%, что на 1,61 превышало аналогичный показатель в I опытной и на 2,99 в контроле.

Таким образом использование в кормлении молодняка крупного рогатого скота веществ «анти-кворума» как в составе экстракта дубовой коры так и в составе искусственно созданного препарата позволяет увеличить интенсивность роста животных. Это обстоятельство позволяет рассматривать данное решение как перспективное для повышения продуктивности

животных.

2.4.3 Экономическая эффективность выращивания молодняка

Обработка полученных данных позволила установить, что включение в рацион подопытных животных сравниваемых кормовых добавок сопровождалось повышением эффективности использования корма. В частности, если в контроле на получение 1 ц прироста живой массы в контроле затраты обменной энергии составили 97300 МДж, сырого протеина 133,5 кг, то при использовании ЭКД 90400 МДж и 123,8 кг, препарата ИКС 83800 МДж и 114,9 кг, соответственно (таблица 23).

Таблица 23 – Экономическая эффективность производства 1 ц прироста живой массы подопытных животных (в расчете на 1 голову)

Показатель	Группа			
	контрольная	I опытная	II опытная	
Абсолютный прирост, кг	74,1	80,75	88,78	
Затраты на 1 ц прироста:				
обменной энергии, МДж	97300	90400	83800	
переваримого протеина, кг	133,5	123,8	114,9	
Производственные затраты, руб./гол/опыт	6957,3	7357,3	7237,3	
Себестоимость 1 ц прироста, рублей	9389	9111	8152	
Реализационная стоимость, руб/кг	100	100	100	
	руб/гол	7410	8075	8878
Прибыль, руб/гол	452,8	717,7	726,1	
Уровень рентабельности, %	6,51	9,80	10,0	

Введение в рацион молодняку крупного рогатого скота на откорме экстракта коры дуба и ингибиторов «кворум сенсинга» способствовало снижению потребления на 1 ц прироста живой массы обменной энергии на 7,1-

13,9%, переваримого протеина на 7,3-13,9. Ниже затраты на корма отмечались в опытной группе, получавшие ингибиторы «кворум сенсинга».

Производственные затраты руб/гол/опыт в опытных группах были выше, но окупались, благодаря абсолютному приросту, затраты в опытных группах были выше на 5,7-4,0%.

Применения экстракта коры дуба и ингибиторов «кворум сенсинга» повысило прибыль за одно животное по сравнению с контролем и составляла 717,7 и 726,1 рубль, соответственно уровень рентабельности повысился на 3,3 и 3,5%. Таким образом, введение в рацион молодняка крупного рогатого скота экстракта коры дуба и ингибиторов «кворум сенсинга», способствует снижению себестоимости 1 ц прироста и увеличению рентабельности.

3. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Одной из главных проблем современного животноводства является не возможность широкого использования антибиотиков. Это связано с беспрецедентным развитием антибиотикорезистентности патогенной микрофлоры и прямой угрозой всему человечеству. Значимость проблемы для животноводства определяется огромными масштабами потребления антибиотиков, до 50% от мирового производства (Marshall V. M., Levy S.B., 2011). Потенциальный риск возникновения и передачи резистентности привел к запрету использования антибиотиков в качестве стимуляторов роста в Европейском Союзе с 2006 года.

Вместе с тем полный запрет антибиотиков в животноводстве приведет к всплеску заболеваемости различными инфекциями (Kazimierczak et al, 2006). Поэтому поиск возможной замены антибиотиков в животноводстве является приоритетным направлением. Альтернативой антибиотиков возможно станут средства, произведенные из растительного сырья (Mathur, Singh, 2005; Devirgiliis et al, 2013; Pieszka M. et al., 2017). По различным оценкам растительные экстракты используются почти 80% населения мира, главным образом в развивающихся странах, для оказания первичной медико-санитарной помощи (Goldberg B. 1994). Растительные экстракты, также известные как фитобиотики, используются в кормлении животных, в частности в качестве противомикробных, противовоспалительных, антиоксидантных и противопаразитарных агентов (Vondruskova H., et al, 2010; Trufanov O., 2016).

Одним из активных начал лекарственных растений, реализуемых при подавлении условно-патогенной микрофлоры, являются ингибиторы системы чувствительности кворума (QS) у бактерий (Deryabin D.G., Tolmacheva A.A., 2014).

Детальный анализ литературы, проведенный нами по проблеме, позволил установить, что практика использования анти-QS агентов в

животноводстве будет значительно более широкой чем в других отраслях человеческой деятельности. В этой связи целью нашей поисковой работы являлось детальное изучение воздействия растительных экстрактов и синтетически созданных анти-QS агентов на рубцовое пищеварение и продуктивность молодняка крупного рогатого скота.

Как следует из полученных нами результатов экстракт коры дуба и ингибиторы «кворум сенсинга» оказывают непосредственное воздействие на переваримость сухого вещества *in vitro* на 8,90 % ($P \leq 0,001$) и 12,63% ($P \leq 0,001$) относительно контроля, соответственно. Возможно, что от части эти эффекты связаны с присутствием в коре дуба кверцетинов, способных влиять на переваримость питательных веществ в рубце крупного рогатого скота (Гончарова Т.А., 1997).

Наибольшее значение переваримости кормового субстрата мы наблюдали при использовании ЭКД при дозировке 3,3 мг/мл и ИКС при дозировке 4,2 мг/мл. При увеличении дозировок ЭКД переваримость уменьшалась, на наш взгляд, этот эффект связан с тем, что количество дубильных веществ, содержащихся в коре дуба воздействует на микробиоту рубца частично денатурацией белка, тем самым происходит падение процентного соотношения переваримости (Макаева А.М., 2018).

При внесении ЭКД и ИКС в опытах *in situ* наблюдается схожая тенденция дозозависимости эффекта действия на переваримость сухого вещества кормового субстрата.

По истечению 3-х часовой экспозиции переваримость сухого вещества во всех опытных группах по отношению к контрольной возрастала. Наибольший результат показали концентрации ЭКД – 3,3мг/мл; ИКС - 4,2 мг/мл. Так, при введении экстракта коры дуба 3 часа экспозиции переваримость была больше на 2,47% ($P \leq 0,05$) относительно контроля, внесение ингибиторов «кворум сенсенга» на 4,07% ($P \leq 0,01$) больше контроля.

Результаты исследований по более длительной экспозиции корма подтвердили полученный результат – препараты ЭКД и ИКС увеличивают переваримость кормового субстрата по отношению к контролю.

Переваримость кормового субстрата зависит не только от внешних факторов, рационов кормления и т.д., но и немаловажное значение имеет среда, в которой находятся микроорганизмы рубца. Сдвиг рН в слабокислую сторону сопровождалось увеличением содержания летучих жирных кислот, так через 3 часа после кормления в I и II опытных группах концентрация ЛЖК увеличилась на 1,17 и 5,56% ($P \leq 0,05$) относительно контроля.

Изменения микробиологических процессов под влиянием опытных добавок подтверждаются динамикой водородного показателя (рН). Как следует из полученных данных, во всех опытных группах этот показатель оказался выше, чем в контроле. Возможно, это связано с образованием большого количества аммиака в рубце. Высокая концентрация аммиака ощелачивает содержимое рубца, что сопряжено с улучшением усвояемости рационов (Bloomfield R.A. 1963).

Часть азота, поступившего с кормом, преобразуется в аммиак, поэтому по концентрации аммиака можно судить об обмене азота (Радчиков В.Ф., и др., 2015). Концентрация аммиака в рубцовых содержимых животных I опытной группе превысило контроль на 6,08% ($P \leq 0,01$), II опытной группы на 11,08% ($P \leq 0,001$). В значительной степени такой результат был достигнут по причине изменения микробиома рубца. Внесение в рацион животных ИКС сдвигало устоявшееся равновесие микроорганизмов в сторону тех, которые отвечают за лучшую перевариваемость кормов, в частности, повышение численности *Proteobacteria* и *Firmicutes*, а также способствовало уменьшению условно-патогенных микроорганизмов, а именно представителей рода: *Enterobacter* на 1,0% и 1,1%, *Melissococcus* на 57,1% и 19,0%, *Serratia* на 35,7% и 57,2% относительно контроля.

Значимым во всех группах был вид *Streptococcus bovis* при повышении которого происходило увеличение переваримости сухого вещества корма.

ЭКД обладает антимикробной активностью, что ранее объяснялось наличием веществ, оказывающих вяжущее и противовоспалительное действия, в том числе некоторых дубильных веществ, галловой и эллаговой кислоты, а также кверцетина. Между тем совсем недавно стало ясно, что не менее важными компонентами ЭКД, оказывающими противомикробное воздействие, оказались вещества, подавляющие чувствительность бактерий к кворуму (QS). Под действием «малых молекул», содержащихся в экстракте коры дуба, происходит угнетение некоторых патогенных групп микроорганизмов (Adonizio A.L., et al, 2008).

Ранее показано, что кормление поросят экстрактом из танина с экстрактом древесины может привести к улучшению переваримости корма и снижению протеолитических реакций кишечника (Biagia G., et al, 2010).

Проведенные исследования по определению целлюлозолитической и амилолитической активности микрофлоры рубца подопытных животных позволили установить различия между группами. Обнаружена достоверная разница между контролем и опытными группами через 3 и 6 часов после кормления в пользу опытных групп.

Опытные добавки закономерно повлияли на обмен минеральных веществ в рубце подопытных животных, что объясняется особой ролью микрофлоры в обмене химических элементов (Кван О.В. и др., 2006; Мирошников С.А., и др., 2010). При включении экстракта коры дуба в состав рациона отмечалось нарастание концентраций в рубцовой жидкости Mg, вероятно, это связано с его высокой концентрацией в самом экстракте, а также со способностью формировать слабые комплексы с химическими элементами в желудочно-кишечном тракте и с более эффективной реабсорбцией (Багиров В.А., и др., 2018).

В рубцовом содержимом опытных животных отмечалось снижение железа, что совпадает с сообщением о снижении содержания цинка и меди в печени моногастричных животных при скармливании им растительных продуктов, содержащих полифенольные вещества (Li, S., et al, 2015). Такая

закономерность, свидетельствует о том, что танины, содержащиеся в коре дуба способны взаимодействовать с металлами и образовывать комплексы с органической частью экстракта (Глинина Е.Г., Ульянова А.С., 2009).

Препарат ингибиторов «кворум сенсинга» содержит в своем составе ванилин и кумарин, которые способствуют повышению аппетита (Ponnusamy K. et al., 2009; Paskiavathy S. et al., 2012; Paskiavathy et al., 2012), что и было подтверждено нашими исследованиями - наиболее охотно поедались корма во II опытной группе.

Вещества, содержащиеся в экстракте коре дуба, не оказывают отрицательного действия на ферментацию в рубце крупного рогатого скота, положительно влияет на переваримость сухого вещества, а также на обмен энергии и использование белка в рубце (Hassanat F., et al, 2013; Huyen N.T., 2016). В ходе эксперимента было выявлено, что потребления опытных добавок позволило увеличить потребление азота корма во II опытной группе на 3,28% ($P \leq 0,01$), тем самым способствуя достоверному повышению переваривания на 8,23% ($P \leq 0,001$). При этом мы фиксировали повышение эффективности обмена энергии в организме опытных животных. Причем не только в ходе пищеварения, что вполне ожидаемо, но и на этапе межклеточного обмена. Этот факт может быть объяснен изменением состава нутриентов и их соответствия потребностям животных (Левахин В.И. и др., 2002; Мирошников С.А., 2002).

Введение в рацион экстракта коры дуба и ингибиторов «кворум сенсинга» положительно повлияло на минеральный баланс веществ. Кальций и фосфор являются двумя основными элементами в процессах метаболизма крупного рогатого скота (Швиндт В. И., 2006). В ходе исследований установлен положительный баланс кальция и фосфора при использовании опытных добавок. Причем мы отмечали повышение усвояемости кальция в опытных группах на 15,7-19,8%, фосфора на 13-16%.

При введении экстракта коры дуба, а также комбинации ингибиторов «кворум сенсинга» анализ морфологических и биохимических показателей крови выявил изменения; возросло число лейкоцитов, лимфоцитов по

отношению к контролю (Adonizio A.L., 2008), за счет увеличения иммунологической активности и фагоцитоза (Фисинин В.И., и др.2018).

Увеличение содержания лейкоцитов во II опытной группе согласуется с ранее проведенными исследованиями (Adonizio A.L., et al, 2008), выполненными с использованием с экстрактом тимьяна, где также было незначительное повышение уровня лейкоцитов, но улучшались иммунологические реакции организма.

Скармливание цыплятам-бройлерам композиции веществ (экстракт коры дуба и искусственно синтезированные вещества) благоприятно сказывалось на иммуномодулирующем состоянии и антиоксидантной активности организма, происходит увеличение содержания β -лизинов, снижение супероксиддисмутазы и каталазы в сыворотке крови (Logachev K., et al, 2015).

Полученные данные сходны сведениям, полученным ранее (Brenes A., 2010), где при скармливании *Grape seed extracts* отмечено снижение железа в плазме крови.

Белок играет ведущую роль в сложных биохимических процессах и его содержание в плазме крови говорит о физиологическом благополучии организма животных (Chung ELT, et al, 2019).

Концентрация общего белка в крови телят увеличивается как адаптивно-мобилизационный ответ защитной реакции. Отмечено, что в крови опытных животных уровень общего белка выше контрольного показателя, что свидетельствует о более высоких обменных процессах в организме животных опытной группы (Яушева Е.В. и др., 2013; Duskaev G.K., et al, 2018), это подтверждается нашими исследованиями.

Малоновый диальдегид служит маркером перекисного окисления жиров при деградации полиненасыщенных жиров активными формами кислорода (Kazimirskii A.N., et al, 2018). Физиологическая функция СОД является защита клеток от свободного радикального повреждения, он превращает супероксид в H_2O_2 , то есть является первичным антиоксидантом. Присутствие СОД в

крови позволяет поддерживать определенную концентрацию супероксидных анионов (Lewandowski Ł, et al, 2018).

Каталаза является ферментом, близким по структуре к гемоглобину. Она способна образовавшейся пероксид водорода преобразовать в воду и кислород. СОД и каталаза тесно связаны в крови, они регулируют баланс образования свободных радикалов за счёт активности эндогенных антиоксидантных систем, для предотвращения окислительного стресса (Esmaeili A., et al, 2019).

В то же время ЭКД, являясь источником кверцетина, оказывает антиоксидантный и противовоспалительный эффекты на переваримость питательных веществ в рубце крупного рогатого скота (Gruse J., et al, 2015).

Как следует из доступной литературы, действие кверцетина проявляется через его антиоксидантные свойства, следовательно, обеспечивается повышенная активность и защита клеток всех органов и тканей организма, а также способствует повышению среднесуточного прироста, что обуславливает увеличение живой массы (Торшков А.А., 2012; 2014).

Полученные в ходе лабораторных исследований данные в целом подтвердили нашу гипотезу о перспективах использования ингибиторов «кворум сенсинга» для повышения эффективности процессов пищеварения. Это позволило нам перейти к научно-хозяйственному опыту. В ходе которого нами установлен факт повышения продуктивности молодняка крупного рогатого скота, оцененной по интенсивности роста. За период всего эксперимента наибольший прирост живой массы отмечался нами во II опытной группе - 88,78 кг/голову или на 19,8 % ($P \leq 0,001$) больше уровня контроля. Аналогичное превосходство I опытной группы над контролем составила 8,9% ($P \leq 0,05$).

Введение в рацион молодняку крупного рогатого скота на откорме экстракта коры дуба и ингибиторов «кворум сенсинга» способствовало снижению потребления на 1 ц прироста живой массы обменной энергии на 7,1-13,9%, переваримого протеина на 7,3-13,9. Производственные затраты

руб/гол/опыт в опытных группах были выше, но окупались, благодаря абсолютному приросту, затраты в опытных группах были выше на 5,7-4,0%.

Обработка экспериментального материала позволила нам перейти к следующим выводам.

4. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Препараты экстракта коры дуба (ЭКД) и ингибиторов «кворум сенсинга» (ИКС), в рассматриваемом диапазоне концентраций не оказывают токсического действия на культуру *E. coli K12 TG1*.

2. Введение ЭКД и ИКС в корм сопровождается увеличением переваримости сухого вещества *in vitro* и *in situ*, наиболее значительно в дозировках 0,64 и 0,81 мл/кг, соответственно. Причем под действием ингибиторов «кворум сенсинга» в большей степени (на 3-4%), по сравнению с экстрактом.

3. Скармливание ЭКД и ИКС молодняку крупного рогатого скота в составе рациона сопровождается изменениями в рубцовом пищеварении. Причем при скармливании препарата ингибиторов «кворум сенсинга» более выражено, что выражается увеличением содержания летучих жирных кислот в рубце на 5,5% через 3, на 8,83% через 6 часов после кормления; снижением содержания небелкового азота на 4,5 и 7,4%.

4. При включении в рацион ЭКД биомасса простейших увеличилась на 51-52% через 3 и на 77-78% через 6 часов после кормления. Совокупная масса бактерий, напротив, уменьшалась на 51-52% и 65-66%, соответственно. Использование ингибиторов «кворум сенсинга» сопровождалось сходными изменениями в биомассе простейших и бактерий.

5. Препарат ингибиторов «кворум сенсинга» оказывал значимое влияние на соотношение грамотрицательной и грамположительной микрофлоры рубца. В эксперименте выявлено преобладание в большей степени *Firmicutes* (63,5% от общего числа), *Bacteroidetes* – (24,8% от общего числа), *Proteobacteria* (6,1 % от общего числа), с уменьшением числа бактерий класса *Bacteroidia* на 24,2%, *Negativicutes* на 8,5 % и увеличение класса *Gamma proteobacteria* на 0,2% относительно контрольной группы. Не зависимо от условий кормления животных значимым во всех группах был вид

Streptococcus bovis, с максимальной численностью при использовании ингибиторов «кворум сенсинга».

6. Проведенные исследования продемонстрировали ингибирующий эффект препаратов экстракта коры дуба и ингибиторов «кворум сенсинга» на систему Quorum Sensing LuxI-LuxR типа, что в эксперименте подтверждалось уменьшением численности условно-патогенных микроорганизмов, в том числе семейства *Enterobacteriaceae*, представителей рода: *Enterobacter* на 1,0% и 1,1%, *Melissococcus* на 57,1% и 19,0%, *Serratia* на 35,7% и 57,2% относительно контроля. Род *Hafnia* в опытных группах полностью отсутствовал.

7. Использование ЭКД и ИКС в кормлении животных сопровождается повышением целлюлозолитической активности в рубце на 4,1 и 8,2% после 6 часов пищеварения. Аналогичное повышение амилолитической активности рубцовой жидкости составило 4,8 и 6,8%, соответственно.

8. Скармливание ЭКД и ИКС сопровождается изменениями в обмене химических элементов в рубце подопытных животных, что выражается в увеличении концентрации макроэлементов - натрия, кальция и фосфора в рубцовой жидкости. Причем наиболее значительно фосфора на 65,8 и 82,6% через 3 часов, и на 64,0 и 69,7%, через 6 часов после кормления, соответственно. Изменения в микроэлементном составе рубцовой жидкости выражаются в снижении концентрации мышьяка, ванадия, железа, хрома; увеличением содержания марганца, меди и цинка, через 3 часа после кормления и снижением концентрации мышьяка, ванадия, железа, кобальта, хрома, никеля, лития; увеличением концентрации меди через 6 часов после кормления. Различия в действии сравниваемых кормовых добавок на минеральный обмен в рубце состояли в увеличении концентрации селена, после 3 часов, и марганца, после 6 часов, при использовании ЭКД.

9. Морфо-биохимические показатели крови подопытных животных находились в пределах физиологической нормы. Применение в кормлении ЭКД сопровождается увеличением содержания в крови лимфоцитов и

эритроцитов, гемоглобина. Введение в рацион ИКС сопровождалось повышением уровня лейкоцитов и гемоглобина.

10. Введение в рацион животных препаратов ЭКД и ИКС сопровождалось повышением переваримости питательных веществ корма. Причем наиболее значительно при использовании ИКС по переваримости сухого вещества - на 6,0 и 4,5%, сырой клетчатки - на 8,7 и 2,4%, БЭВ - на 5,6 и 1,6%, относительно контроля и группы, получавшей ЭКД, соответственно.

11. Действие препаратов ЭКД и ИКС на обмен энергии в организме молодняка крупного рогатого скота выражается в повышении поедаемости корма и, соответственно, в большом поступлении валовой энергии на 1,5-3,2%. При этом имеет место увеличение доступности энергии корма для обмена с повышением потребления обменной энергии на 6,1 и 9,5% относительно контроля, соответственно.

12. Изменения в рубцовом пищеварении и обмене веществ в организме молодняка крупного рогатого скота при скармливании ЭКД и ИКС выражались в повышении эффективности использования азота, фосфора и кальция корма. В частности, коэффициент использования кальция в организме животных при использовании этих кормовых добавок увеличивался на 13,8-15,9%.

13. Введение в рацион молодняка крупного рогатого скота ЭКД И ИКС в дозе 0,64 и 0,81 мл/кг повышает интенсивность роста животных на 12,3-18,1%, это сопровождается повышением уровня рентабельности производства говядины до 4%.

5. ПРЕДЛОЖЕНИЕ ПРОИЗВОДСТВУ

С целью повышения продуктивности молодняка крупного рогатого скота целесообразно вводить в рацион ингибиторы «кворум сенсинга» как в составе экстракта дубовой коры (0,64 мл/кг), так и в составе препарата (0,81 мл/кг) включающего: 50% - 4-(3-гидрокси-1-пропенил)-2-метокси-фенола; 20% - 3,4,5-триметилгидроскифенола; 15,5% - 4-пропил-1,3-бензолдиола; 5,9% - 4-гидрокси-3-метоксибензальдегида; 5,3% - 7-гидрокси-6-метокси-2Н-1-бензопиран-2-он; 3,3% - 2Н-1-бензопиранона-2. Это позволит увеличить интенсивность роста животных на 12 -18 %, уровень рентабельности производства говядины на 3 - 4 %.

6. ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

Тема диссертационного исследования перспективна к дальнейшей разработке в части:

- формирования нового класса биологически активных соединений, обеспечивающих подавление системы «кворум сенсинга» отдельных представителей микрофлоры сельскохозяйственных животных;

- разработки решений, обеспечивающих повышение биодоступности, терапевтической эффективности ветеринарных препаратов или профилактических кормовых добавок, снижения/устранения их побочных проявлений.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ахажанов, К.К. Зооанализ кормов // Учебное пособие Раздел: Корма и кормовые добавки. – Алматы. – 2016. – 84 с.
2. Багиров, В.А., Включение экстракта *Quercus cortex* в рацион бройлеров изменяет их убойные показатели и биохимический / В.А. Багиров, Г.К. Дускаев, Н.М. Казачкова, Ш.Г. Рахматуллин, Е.В. Яушева, Д.Б. Косян, Ш.А. Макаев, Х.Б. Дусаева // Сельскохозяйственная биология. 2018. – Т.53. – №4. – С. 799-810
3. Георгиевский, В.И. Практическое руководство по физиологии сельскохозяйственных животных: учеб. пособие для с.-х. вузов. // М.: Высшая школа. – 1976. – 352 с.
4. Глинина, Е.Г., Ульянова, А.С. Использование растительного сырья для очистки промышленных сточных вод от ионов меди // Естественные науки. – 2009. – №: 4 (29). – С.172-175
5. Гончарова, Т.А. Энциклопедия лекарственных растений: в 2-х томах / Т.А. Гончарова – М.: Дом МСП. – 1997. – С. 478.
6. Григорьев, Н.Г., Волков, Н.П., Воробьев, Е.С. Биологическая полноценность кормов. // М.: Агропромиздат. – 1989. – С. 287.
7. Демченко, В.П. Биологические закономерности повышения продуктивности животных. М.: Колос. – 1972. С. 95-98.
8. Дерябин, Д.Г., Толмачева, А.А. Лекарственные растения - источники ингибиторов системы "кворум сенсинга" у бактерий //Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2014. – № 12. – С. 4-13.
9. Дерябин, Д.Г. Бактериальная биолюминесценция: фундаментальные и прикладные аспекты / Д.Г. Дерябин. – М.: Издательство: Наука. – 2009. – С.246. ISBN: 978-5-02-036687-9.
10. Дускаев, Г.К., Оценка воздействия на кишечную микрофлору птицы веществ, обладающих антибиотическим, пробиотическим и анти-

quorum sensing эффектами / Г.К. Дускаев, Е.А. Дроздова, Е.С. Алешина, А.С. Безрядина // Вестник Оренбургского государственного университета. – 2017. – № 11.(211) – С. 84-87.

11. Егоров, И.А. Замещение кормовых антибиотиков в рационах. сообщение i. микробиота кишечника и продуктивность мясных кур (*Gallus gallus L.*) на фоне энтеросорбента с фито- и пробиотическими свойствами / И.А. Егоров, Т.Н. Ленкова, В.А. Манукян, Т.А. Егорова, И.Н. Никонов, Л.А. Ильина, Г.Ю. Лаптев // Сельскохозяйственная биология. – 2019. – Т. 54. – № 2. – С. 280-290.

12. Зайдуллин, Р.Р., Галиуллин, А.К. Регулирование рубцовой микрофлоры крупного рогатого скота путем применения ферментно-пробиотического концентрата с активатором энергии // Ученые записки КГАВМ им. Н.Э. Баумана. – 2017. – Т.232. – С.69-71.

13. Калашников, А.П. Нормы и рационы кормления сельскохозяйственных животных. // Справочное пособие, 3-е издание, перераб. и доп. / под ред. А.П. Калашникова, В.И. Фисина, В.В. Щеглова, Н.И. Клейменова. М.: 2003. – 456 с.

14. Кармолиев, Р.К. Биохимические процессы при свободнорадикальном окислении и антиоксидантной защите. // Сельскохозяйственная биология. – 2002. – №2. – С.19-28.

15. Кван, О.В. Неоднозначность влияния пробиотиков на обмен токсических элементов в организме кур-несушек. / О.В. Кван, С.А. Мирошников, Д.Г. Дерябин, В.Н. Беседин. // Вестник Оренбургского государственного университета. – 2006. – № 2 (52). – С. 28-30.

16. Кот, А.Н. Влияние рационов с разным соотношением расщепляемого и нерасщепляемого протеина на показатели рубцового пищеварения у молодняка крупного рогатого скота в возрасте 12–18 месяцев / А.Н. Кот, Г.Н. Радчикова, С.А. Ярошевич, Е.П.Симоненко, Е.А. Шнитко // Актуальные проблемы интенсивного развития животноводства. – 2016. – №. 19 (1). – С. 64-71.

17. Кочиш, И.И. Инновационные подходы для стимуляции естественной резистентности телят / И.И. Кочиш, В.В. Нестеров, Л.А. Волчкова, Е.М. Коновалова, М.И. Сафарова, Л.М. Кашковская // Ветеринария, зоотехния и биотехнология. – 2019. – № 9. – С. 27-34.

18. Курилкина, М.Я., Эффективность использования микропорошков металлов в составе экструдата при кормлении цыплят-бройлеров / М.Я. Курилкина, С.А. Мирошников, Т.Н. Холодилина // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. – 2011. № 4 (32). – С. 169-171.

19. Лебедев, П.Т., Усович, А.Т. Методы исследования кормов, органов и тканей животных [Текст] / П. Т. Лебедев, А. Т. Усович. - 3-е изд., перераб. и доп. - Москва: Россельхозиздат. – 1976. - 389 с

20. Левахин, В.И., Воздействие ферментных препаратов на обмен энергии в организме цыплят-бройлеров. / В.И.Левахин, Г.И.Левахин, С.А. Мирошников. // Вестник Российской академии сельскохозяйственных наук. – 2002. – № 1. – С. 84-85.

21. Левахин, В.И. Пособие для проведения научно-исследовательских работ в зоотехнии /В.И. Левахин, Н.А. Балакирев, А.В. Харламов, Г.И. Левахин и др. Учеб. Пособие. Оренбург. – 2016. – 227 с.

22. Левахин, Г.И., Мещеряков, А.Г. К методике определения расщепляемости протеина кормов в лабораторных условиях Доклады Российской академии сельскохозяйственных наук. – 2003. – № 3. – С.12-13.

23. Лукашик, А.А., Тащилин, В.А. Зоотехнический анализ кормов. Практикум. — М.: Колос. – 1965. — 225 с.

24. Макаева, А.М., Атландерова, К.Н. Переваримость веществ корма при использовании биостимулятора экстракта коры дуба (*Quercus cortex*) в условиях *in vitro* // Животноводство и кормопроизводство. – Том 10. – № 1 2018. – С.147-152

25. Мирошников С.А. Действие мультиэнзимных композиций на обмен веществ и использование энергии корма в организме птицы. Диссертация на соискание ученой степени доктора биологических наук /

Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий РАН.
Оренбург, 2002 – 315 с.

26. Мирошников, С.А. Роль нормальной микрофлоры в минеральном обмене животных. / С.А. Мирошников, О.В. Кван, Б.С. Нуржанов // Вестник Оренбургского государственного университета. – 2010. – № 6 (112). – С. 81-83.

27. Нечипуренко, Л.И. Переваримость протеина рациона и экскреция мочевой кислоты у цыплят при скармливании добавок грибных протеиназ. / Л.И. Нечипуренко, В.М. Газдаров, В.В. Дюкарев, // Бюл. ВНИИФБиП. –1972. –2 (25). – С. 24-26.

28. Поляков, А.В. In vitro регенерация растений чеснока озимого (*Allium sativum* L.) из воздушных луковичек. / А. В. Поляков, М.А. Азопкова, Н.Н. Лебедева, И.В. Муравьёва // Вестник Московского государственного областного университета. Серия: Естественные науки. – 2018. – (4). – С.115-124.

29. Радчиков, В.Ф. Влияние расщепляемости протеина на показатели рубцового пищеварения молодняка крупного рогатого скота / В. Ф. Радчиков, А.Н. Кот, С.И. Кононенко, В.О. Лемешевский, А.М. Глинкова, Н.А. Яцко // Актуальные проблемы интенсивного развития животноводства. – 2015. – №18 (1). – С.291-298.

30. Сизова, Е.А. К разработке критериев безопасности наночастиц металлов при введении их в организм животных. / Е.А. Сизова, Т.Н. Холодилина, С.А. Мирошников, В.С. Полякова // К разработке критериев безопасности наночастиц металлов при введении их в организм животных. Вестник Российской академии сельскохозяйственных наук. – 2011. – № 1. – С. 40-42.

31. Толмачева, А.А. Лекарственные растения и их компоненты как ингибиторы системы quorum sensing первого типа у бактерий (на примере *Chromobacterium Violaceum* //автореферат дис. кандидата биологических наук / Ин-т биохимии и физиологии растений и микроорганизмов. Саратов, – 2016

32. Торшков, А.А. Изменение продуктивных качеств бройлеров при использовании дигидрохверцетина // Аграрная наука и образование в условиях становления экономики: материалы междунар. науч.-практ. конф. Оренбург: Издат. центр ОГАУ. – 2012. Ч. 1. – С. 398-401.

33. Торшков, А.А. Регуляция метаболического гомеостаза, повышение резистентности и реализации биоресурсного потенциала сельскохозяйственной птицы на основе использования в питании природных биологических активных веществ: автореф. дис. канд. биол. наук. Дубровицы, 2014. – 34 с.

34. Ушаков, А.С. Влияние скармливания растительного экстракта в сочетании с ферментным препаратом на элементный статус микрофлоры рубца крупного рогатого скота. / А.С. Ушаков, Г.И. Левахин, Б.С. Нуржанов, А.Ф. Рысаев, А.Г. Мещеряков // Сельскохозяйственная биология. – 2018. – 8(53). – С.385-392.

35. Фисинин, В.И. Изменение иммунологических и продуктивных показателей у цыплят-бройлеров под влиянием биологически активных веществ из экстракта коры дуба / В.И. Фисинин, А.С. Ушаков, Г.К. Дускаев Н.М. Казачкова, Б.С. Нуржанов, Ш.Г. Рахматуллин, Г.И. Левахин // Сельскохозяйственная биология. – 2018. – №53(2) – С.385-392.

36. Швиндт, В. И. Влияние перорального приема лактобифадола на эффективность использования кальция и фосфора корма в организме животных // Вестник ОГУ. – 2006. – №2 (52-2). – С.93-94.

37. Яушева, Е.В. Оценка влияния наночастиц металлов на морфологические показатели периферической крови животных. / Е.В. Яушева, С.А. Мирошников, О.В. Кван. // Вестник Оренбургского государственного университета. – 2013. – № 12 (161). – С. 203-207.

38. Aarestrup, F.M. Surveillance of antimicrobial resistance in bacteria isolated from food animals to antimicrobial growth promoters and related therapeutic agents in Denmark. / F.M. Aarestrup, F. Bager, N.E. Jensen, M. Madsen,

A. Meyling, H.C. Wegener. // *APMIS*. – 1998. –106(6) – P.606–622. doi: 10.1111/j.1699-0463.1998.tb01391.x

39. Abreu, A.C. Plants as sources of new antimicrobials and resistance-modifying agents / A.C. Abreu, A.J. McBain, M. Simoes // *Nat. Prod. Rep.* – 2012. – № 29(9). – P. 1007-1021. doi: 10.1039/c2np20035j.

40. Adachi, K. Metabolic dependent and independent pH-drop shuts down VirSR quorum sensing in *Clostridium perfringens*. / K. Adachi, K. Ohtani, M. Kawano, R.P. Singh, B. Yousuf, K. Sonomoto, T. Shimizu, J. Nakayama // *J Biosci Bioeng.* – 2018. –125(5). – P.525-531. doi: 10.1016/j.jbiosc.2017.12.019.

41. Adonizio, A.L. Inhibition of quorum sensing-controlled virulence factor production in *Pseudomonas aeruginosa* by south Florida plant extracts / A. Adonizio, K.F. Kong, K. Mathee // *Antimicrobial Agents Chemotherapy.* – 2008. – № 52(1) – P.198-203.

42. Adonizio, A.L., Anti-quorum sensing activity of medicinal plants in southern Florida. / A.L. Adonizio, K. Downum, B.C. Bennett, K. Mathee // *Journal of Ethnopharmacology.* – 2006. – Volume 105. Issue 3. – P. 427-435 <https://doi.org/10.1016/j.jep.2005.11.025>

43. Adonizio, A.L. Ellagitannins from *Conocarpus erectus* exhibit anti-quorum sensing activity against *Pseudomonas aeruginosa* / A.L. Adonizio, J. Dawlaty, F. Ausubel, J. Clardy, K. Mathee // *Planta Med.* – 2008. –№ 74. – P.1035–1035. DOI: 10.1055 / s-0028-1084373

44. Adonizio, A. Inhibition of quorum sensing-controlled virulence factor production in *Pseudomonas aeruginosa* by south Florida plant extracts / A. Adonizio, K.F. Kong, K. Mathee // *Antimicrobial Agents Chemotherapy.* – 2008. – V. 52(1). – P. 198-203

45. Ahuja, I. Phytoalexins in defense against pathogens / I. Ahuja, R. Kissen, A.M. Bones // *Trends. Plant. SCI.* – 2012. – V. 17(2). – P. 73-90. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2011.11.002>

46. Al-Dobaib, S.N., Mousa, H.M. Benefits and risks of growth promoters in animal production. // *J Food Agric Environ.* – 2009. – №7(2). P. 202–208.

47. Al-Haidari, R.A. Anti-quorum sensing activity of some medicinal plants. / R.A. Al-Haidari, M.I. Shaaban, S. Ibrahim, G.A. Mohamed // African journal of traditional, complementary, and alternative medicines : AJTCAM. – 2016. – 13(5). P.67-71. doi:10.21010/ajtcam.v13i5.10
48. Allen, H.K. Treatment, promotion, commotion: Antibiotic alternatives in food-producing animals. / H.K. Allen, U.Y. Levine, T. Looft, M. Bandrick, T.A. Casey // Trends Microbiol. – 2013. – №21(3). – P.114–119. doi: 10.1016/j.tim.2012.11.001
49. Anadon, A. Opinion of the FEEDAP Panel on the safety and efficacy of the product Farmatan for rabbits and piglets. / A. Anadon, M. Arboix Arzo, G. Bories, P.Brantom, J. Brufau de Barberá, A. Chesson, P.S. Cocconcelli, J. de Knecht, N. Dierick, Gerhard Flachowsky, A. Franklin, J. Gropp, Ingrid Halle, A.K. Lundebye Haldorsen, A. Mantovani, K. Peltonen, G. Rychen, P. Sanders, A. Soares, P.Wester, W. Windisch // EFSA J. – 2005. – Vol. 3. – P.222. DOI: 10.2903/j.efsa.2005.222
50. Anjum, N.A. Transport phenomena of nanoparticles in plants and animals/ humans. / N.A. Anjum, M.A.M. Rodrigo, A. Moulik, Z. Heger, P. Kopel, O. Zitka, V. Adam, A.S. Lukatin, A.C. Duarte, E. Pereira, R. Kizek. // Enviro Res. – 2016. – №151. – P. 233–243. doi: 10.1016/j.envres.2016.07.018
51. Apajalahti, J. Characteristics of the gastrointestinal microbial communities with special reference to chickens. / J. Apajalahti, A. Kettunen, H. Graham // World Poult. Sci. J. – 2004. – Vol.60(2). – P.223–232. DOI: <https://doi.org/10.1079/WPS20041>
52. Asfour, H.Z. Anti-Quorum Sensing Natural Compounds. // Journal of microscopy and ultrastructure. – 2018. – 6(1). P.1–10. doi:10.4103/JMAU.JMAU_10_18
53. Atkinson, S., Williams, P. Quorum sensing and social networking in the microbial world. // Journal of the Royal Society, Interface. – 2009. – 6(40). – P.959–978. doi:10.1098/rsif.2009.0203

54. Bakkali, F. Biological effects of essential oils—A review. / F. Bakkali, S. Averbeck, D. Averbeck, M. Idaomar // *Food Chem. Toxicol.* – 2008. – Vol.46(2). – P.446–475. doi: 10.1016/j.fct.2007.09.106.
55. Banerjee, P. Super natural II-a database of natural products. / P. Banerjee, J. Erehman, B.O. Gohlke, T. Wilhelm, R. Preissner, M. Dunkel // *Nucleic Acids Res.* – 2015. – №43. – P.935–939. doi: 10.1093/nar/gku886
56. Bauer, W.D., Teplitski, M. Can plants manipulate bacterial quorum sensing? // *Funct. Plant Biol.* –2001. – №28. –P.913–921.
57. Becker, R.A. Good Laboratory Practices and safety assessments. / Becker R.A., Erik R., Janus E.R., White R.D., Kruszewski F.H., Brackett R.F. // *Environ Health Perspect.* – 2009. – № 117. – P. 482-483.
58. Bedford, M.R, Cowieson, A.J. Exogenous enzymes and their effects on intestinal microbiology. // *Anim. Feed. Sci. Technol.* – 2012. – №173. – P.76–85. doi: 10.1016/j.anifeedsci.2011.12.018.
59. Bhardwaj, A.K. Bacterial Quorum Sensing inhibitors: attractive alternatives for control of infectious pathogens showing multiple drug resistance / A.K. Bhardwaj, K. Vinothkumar, N. Rajpara // *Recent Patents on Anti-Infective Drug Discovery* – 2013. – V. 8. – P. 68-83
60. Biagia, G. Effect of tannins on growth performance and intestinal ecosystem in weaned piglets. / G. Biagia, I. Cipollini, B.R. Paulicks, F.X. Roth // *Archives of Animal Nutrition.* – 2010. – Vol.64(2). – P.121-135. doi: 10.1080/17450390903461584.)
61. Blaiotta, G. Effect of chestnut extract and chestnut fiber on viability of potential probiotic *Lactobacillus* strains under gastrointestinal tract conditions. / G. Blaiotta, B. La Gatta, M. Di Capua, A. Di Luccia, R. Coppola, M. Aponte // *Food Microbiol.* – 2013. – №36. – P.161-169. doi: 10.1016/j.fm.2013.05.002
62. Bloomfield R.A. Ruminant pH and absorption of ammonia and VFA // *Journal of Animal Science.* – 1963. – №22. –P.833

63. Borovan, L. Plant alkaloids enhance performance of animals and improve the utilizability of amino acids (in Czech). // *Krmivarstvi*. – 2004. – № 6. – P. 36-37.
64. Bourgaud, F. Production of plant secondary metabolites: A historical perspective. / F. Bourgaud, A. Gravot, S. Milesi, E. Gontier // *Plant Sci*. – 2001. – №161. – P.839-851. doi: 10.1016/S0168-9452(01)00490-3
65. Brackman, G. Cinnamaldehyde and cinnamaldehyde derivatives reduce virulence in *Vibrio* spp. by decreasing the DNA-binding activity of quorum sensing response regulator luxR. / G. Brackman, T. Defoirdt, C. Miyamoto, P. Bossier, S.V. Callenbergh. // *BMC Microbiol*. – 2008. – №8. – P.1–14. doi: 10.1186/1471-2180-8-149
66. Brenes, A. Effect grape seed extract on growth performance, protein and polyphenol digestibilities, and antioxidant activity in chickens. / A. Brenes, A. Viveros, I. Goñi, C. Centeno, F. Saura-Calixto, I. Arija. // *Spanish journal of agricultural research*. – 2010. – Vol.8(2). –P.326-333. DOI: 10.5424/sjar/2010082-1199
67. Burdock, G.A., Carabin, I.G. Generally recognized as safe (GRAS): History and description. // *Toxicol. Lett*. – 2004. – №150. – P.3–18. doi: 10.1016/j.toxlet.2003.07.004.
68. Buryakov, N.P., Buryakova, M.A. Influence of oak extract on rumen microorganisms in feeding nitrate diets to cows. // IV International conference «Actual points for veterinary homoeopathy». – 2006. – P.168- 171.
69. McSweeney, C., Mackie, R. Microorganisms and ruminant digestion: state of knowledge, trends and future prospects. // *Comission on genetics resources for food and agriculture*. – 2012. – No. 61
70. Carqueijeiro, I. Vacuolar transport of the medicinal alkaloids from *Catharanthus roseus* is mediated by a proton-driven antiport. / I. Carqueijeiro, H. Noronha, P. Duarte, H. Gerós, M. Sottomayor // *Plant physiology*. – 2013. – Vol.162(3). – P.1486–1496. doi:10.1104/pp.113.220558

71. Casewell, M. The European ban on growth-promoting antibiotics and emerging consequences for human and animal health. / M. Casewell, C. Friis, E. Marco, P. McMullin, I. Phillips // *J. Antimicrob. Chemother.* – 2003. – №52. – P.159–161. doi: 10.1093/jac/dkg313.
72. Cegelski, L. The biology and future prospects of antivirulence therapies. / L. Cegelski, G.R. Marshall, G.R. Eldridge, S.J. Hultgren, // *Nat. Rev. Microbiol.* –2008. – 6. –P.17–27.
73. Celi, P. Gastrointestinal functionality in animal nutrition and health: New opportunities for sustainable animal production. / P. Celi, A.J. Cowieson, F. Fru-Nji, R.E. Steinert, A.-M. Klünter, V. Verlhac. // *Animal Feed Science and Technology.* – 2017. – 234. – P.88-100. doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2017.09.012
74. Champagne, A., Boutry, M. Proteomics of terpenoid biosynthesis and secretion in trichomes of higher plant species. // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2016. – Vol.1864. – P.1039-1049. doi: 10.1016/j.bbapap.2016.02.010
75. Chemmugil, P. A Multidisciplinary Study to Evaluate the Anti-quorum Sensing Ability of Phyto-compounds in *Ruellia patula* Jacq. / P. Chemmugil, P. Lakshmi, A. Annamalai. // *Avicenna journal of medical biotechnology.* – 2019. – №11(1). – P.48–58.
76. Chen, Y. Changes in bacterial diversity associated with epithelial tissue in the beef cow rumen during the transition to a high-grain diet. / Y. Chen, G.B. Penner, M. Li, M. Oba, L.L. Guan. // *Appl. Environ. Microbiol.* – 2011. – №77. P.5770-5781.
77. Chen, F. Quorum quenching enzymes and their application in degrading signal molecules to block quorum sensing-dependent infection. / F. Chen, Y. Gao, X. Chen, Z. Yu, X. Li. // *International journal of molecular sciences.* – 2013. – №14(9). – P. 17477-17500. doi:10.3390/ijms140917477
78. Cheng, K-J., Wallace, R.J. The mechanism of passage of endogenous urea through the rumen wall and the role of ureolytic epithelial bacteria in the urea flux. // *Br. J. Nutr.* – 1979. – №42. –P.553–557.

79. Cheng, G. Antibiotic alternatives: the substitution of antibiotics in animal husbandry? / G. Cheng, H. Hao, S. Xie, X. Wang, M. Dai, L. Huang, Z. Yuan. // *Frontiers in microbiology*. – 2014. – №5. – P. 217. doi:10.3389/fmicb.2014.00217
80. Chenia, H.Y. Anti-quorum sensing potential of crude *Kigelia africana* fruit extracts. // *Sensors (Basel, Switzerland)*. – 2013. – №13(3). – P.2802-2817. doi:10.3390/s130302802
81. Joshi, C. Anti-infective potential of hydroalcoholic extract of *Punica granatum* peel against gram-negative bacterial pathogens. / C. Joshi, P. Patel, V. Kothari // *F1000Res*. – 2019. – №8. – P.70. . doi:10.12688/f1000research.17430.2
82. Choi, S.C. An antimicrobial peptide-A3: Effects on growth performance, nutrient retention, intestinal and faecal microflora and intestinal morphology of broilers. / S.C. Choi, S.L. Ingale, J.S. Kim, Y.K. Park, I.K. Kwon, B.J. Chae // *Br. Poult. Sci.* – 2013. – №54. – P.738–746. doi: 10.1080/00071668.2013.838746.
83. Chun, C.K. Inactivation of a *Pseudomonas aeruginosa* quorum-sensing signal by human airway epithelia. / C.K. Chun, E.A. Ozer, M.J. Welsh, J. Zabner, E.P. Greenberg. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. – 2004. – №101. – P.3587-3590.
84. Chung, E.L.T. Responses of pro-inflammatory cytokines, acute phase proteins and cytological analysis in serum and cerebrospinal fluid during haemorrhagic septicaemia infection in buffaloes. / E.L.T. Chung, F.F.A. Jesse, A.D. Marza, H.H. Ibrahim, Y. Abba, M. Zamri-Saad, A.W. Haron, M.A.M. Lila, A.A. Saharee, A.R. Omar, M.Z.A. Bakar, M.J. Norsidin // *Trop Anim Health Prod.* – 2019. – №51(6). – P.1773-1782. doi: 10.1007/s11250-019-01870-w.
85. Costa, L.B. Herbal extracts as alternatives to antimicrobial growth for weanling pigs / L.B. Costa, P.M.L. Tse, V.S. Miyada. // *Braz. J. Anim. Sci.* – 2007. – Vol. 36(3). – P. 589-595. doi.org/10.1590/S1516-35982007000300011.
86. Costi, D. Sifri. Quorum Sensing: Bacteria Talk Sense. // *Clinical Infectious Diseases*. – 2008. – Vol. 47. – Issue 8. – P.1070-1076.

87. De Jong, W.H., Borm, P.J. Drug delivery and nanoparticles: applications and hazards. // *International journal of nanomedicine*. – 2008. – №3(2). – P.133–149.

88. De Lange, C.F.M. Strategic use of feed ingredients and feed additives to stimulate gut health and development in young pigs. / C.F.M. De Lange, J.R. Pluske, J. Gong, C.M. Nyachoti // *Livest. Sci.* – 2010. – №134. – P.124–134.

89. Déciga-Campos, M. Acute toxicity and mutagenic activity of Mexican plants used in traditional medicine. / M. Déciga-Campos, I. Rivero-Cruz, M. Arriaga-Alba, G. Castañeda-Corral, G.E. Angeles-López, A. Navarrete, R. Mata // *J. Ethnopharmacol.* – 2007. – №110. – P.334–342. doi: 10.1016/j.jep.2006.10.001

90. Defoirdt, T. Disruption of bacterial quorum sensing: An unexplored strategy to fight infections in aquaculture. / T. Defoirdt, N. Boon, P. Bossier, W. Verstraete // *Aquaculture*. – 2004. – №240. – P.69–88. doi: 10.1016/j.aquaculture.2004.06.031

91. Defoirdt, T. Quorum sensing-disrupting brominated furanones protect the gnotobiotic brine shrimp *Artemia franciscana* from pathogenic *Vibrio harveyi*, *Vibrio campbellii* and *Vibrio parahaemolyticus* isolates. / T. Defoirdt, R. Crab, T.K. Wood, P. Sorgeloos, W. Verstraete, P. Bossier. // *Appl. Environ. Microbiol.* – 2006. – №72. – P.6419–6423. doi: 10.1128/AEM.00753-06.

92. Delimont, N.M. The Impact of Tannin Consumption on Iron Bioavailability and Status: A Narrative Review. / N.M. Delimont, M.D. Haub, B.L. Lindshield. // *Current developments in nutrition*. – 2017. – №1(2). – P. 1–12. doi:10.3945/cdn.116.000042

93. Deryabin, D.G., Tolmacheva, A.A. Medicinal plants are sources of inhibitors of the Quorum sensing system in bacteria. // *J. Problems Biol. Med. Pharmac. Chem.* – 2014. – №12. – P. 4–13.

94. Deryabin, D.G., Aleshina, E.S. Effect of salts on luminescence of natural and recombinant luminescent bacterial biosensors. // *Appl Biochem Microbiol.* – 2008. – №44. – P.292

95. Deryabin, D.G. The activity of [60] fullerene derivatives bearing amine and carboxylic solubilizing groups against *Escherichia coli*: a comparative study. / D.G. Deryabin, O.K. Davydova, Z.Z. Yankina, A.S. Vasilchenko, S.A. Miroshnikov, A.B. Kornev, A.V. Ivanchikhina, P.A. Troshin // *Journal of Nanomaterials*. – 2014. – Vol. 2014. – P. 9. <http://dx.doi.org/10.1155/2014/907435>
96. Deryabin, D.G., Tolmacheva, A.A. Antibacterial and Anti-Quorum Sensing Molecular Composition Derived from *Quercus cortex* (Oak bark) Extract // *Molecules*. – 2015. – №20(9). – P.17093-17108. doi: 10.3390/molecules200917093
97. Devalapally, H. Role of nanotechnology in pharmaceutical product development / H. Devalapally, A. Chakilam, M.M. Amiji, // *J Pharm Sci*. – 2007. – №96(10). – P.2547-2565.
98. Devirgiliis, C. Update on antibiotic resistance in foodborne *Lactobacillus* and *Lactococcus* species. / Devirgiliis C., Zinno P., Perozzi G. // *Front. Microbiol*. – 2013. – №4. P.301. doi:10.3389/fmicb.2013.00301
99. Dunislawska, A. Synbiotics for Broiler Chickens-In Vitro Design and Evaluation of the Influence on Host and Selected Microbiota Populations following In Ovo Delivery. / A. Dunislawska, A. Slawinska, K. Stadnicka, M. Bednarczyk, P. Gulewicz, D. Jozefiak, M. Siwek. // *PloS. One*. – 2017. – №12(1). e0168587. doi:10.1371/journal.pone.0168587
100. Duskaev, G.K. 2018 The effect of purified *Quercus cortex* extract on biochemical parameters of organism and productivity of healthy broiler chickens. / G.K. Duskaev, N.M. Kazachkova, A.S. Ushakov, B.S. Nurzhanov, A.F. Rysaev // *Veterinary World*. – №11(2). – P.235-239. doi: 10.14202/vetworld.2018.235-239.
101. Duskaev, G.K. Assessment of (in vitro) Toxicity of Quorum Sensing Inhibitor Molecules of *Quercus cortex*. / G.K. Duskaev, D.G. Deryabin, I.F. Karimov, D.B. Kosyan, S.V. Notova. // *J. Pharm. Sci. and Res*. – 2018. – №10(1) – P.91-95.
102. Duskayev, G.K. Evaluation of the impact on the intestinal microflora of poultry substances with antibiotic, probiotic and anti-quorum sensing effect. /

G.K. Duskeyev, E.A. Drozdova, E.S. Aleshina, A.S. Bezryadina. // J. Orenburg State University. – 2017. – №11. – P.211.

103. Eckel, B. Influence of formic acid on daily weight gain, feed intake, feed conversion rate and digestibility. / B. Eckel, M. Kirchgessner, F.X. Roth // J. Anim. Physiol. Anim. Nutr. – 1992. – №67. – P.93–100. doi: 10.1111/j.1439-0396.1992.tb00588.x;

104. Engels, C. Inhibitory spectra and modes of antimicrobial action of gallotannins from mango kernels (*Mangifera indica* L.). / C. Engels, A. Schieber, M.G. Gänzle // Appl. Environ. Microbiol. – 2011. – №77 – P.2215–2223. doi:10.1128/AEM.02521-10.

105. Erdogan, Z. Effects of dietary supplementation of synbiotics and phytobiotics on performance, caecal coliform population and some oxidant/antioxidant parameters of broilers. / Z. Erdogan, S. Erdogan, O. Aslantas. // J. Anim Physiol. Anim. Nutr. – 2010. – №94(5). – P.40-48.

106. Esmaeili, A. Effects of dietary supplementation of bovine lactoferrin on antioxidant status, immune response and disease resistance of yellowfin sea bream (*Acanthopagrus latus*) against *Vibrio harveyi*. / A. Esmaeili, E. Sotoudeh, V. Morshedi, D. Bagheri, S. Dorafshan. // Fish Shellfish Immunol. – 2019. – №17(93). – P.917-923. doi: 10.1016/j.fsi.2019.08.045

107. Faraji, A.H., Wipf, P. Nanoparticles in cellular drug delivery. // Bioorg Med Chem. – 2009. – №17(8). – P.2950-2962. doi: 10.1016/j.bmc.2009.02.043

108. Fisinin, V.I. Metal particles as trace-element sources: current state and future prospects. / V.I. Fisinin, S.A. Miroshnikov, E.A. Sizova, A.S. Ushakov, E.P. Miroshnikova // World's Poultry Science Journal. – 2018. – T. – 74. № 3. – P. 523-540.

109. Franz, C. Essential oils and aromatic plants in animal feeding—An European perspective: A review. / C. Franz, K.H.C. Baser, W. Windisch // Flavour Fragr. J. – 2010. – №25. – P.327–340. doi: 10.1002/ffj.1967

110. Frederix, M., Downie, J.A. Quorum sensing: regulating the regulators // Advances in Microbial Physiology. – 2011. – T. 195. – № 16. – P. 3583-3589

111. Fu, Q. Effects of oxidation in Vitro on structures and functions of myofibrillar protein from beef muscles. / Q. Fu, R. Liu, H. Wang, C. Hua, S. Song, G. Zhou, W. Zhang // *Agric Food Chem.* – 2019. – №67(20). – P.5866-5873. doi: 10.1021/acs.jafc.9b01239
112. Fuqua, C. Regulation of gene expression by cell-to-cell communication: acyl-homoserine lactone quorum sensing / C. Fuqua, M.R. Parsek, E.P. Greenberg // *Annu Rev Genet.* –2001. –№ 35. –P. 439-468.
113. García-Lara, B. Inhibition of quorum-sensing-dependent virulence factors and biofilm formation of clinical and environmental *Pseudomonas aeruginosa* strains by ZnO nanoparticles. / B. García-Lara, M.Á. Saucedo-Mora, J.A. Roldán-Sánchez, B. Pérez-Eretza, M. Ramasamy, J. Lee, R. Coria-Jimenez, M. Tapia, V. Varela-Guerrero, R. García-Contreras. // *Lett Appl Microbiol.* – 2015. – №61(3). – P.299-305. doi: 10.1111/lam.12456.
114. Ge, H.M. Penicidones A-C, three cytotoxic alkaloidal metabolites of an endophytic *Penicillium* sp. / H.M. Ge, Y. Shen, C.H. Zhu, S.H. Tan, H. Ding, Y.C. Song, R.X. Tan // *Phytochemistry.* – 2008. – №69(2). – P.571-576.
115. Gibson, G.R. Dietary modulation of the human colonic microbiota: Updating the concept of prebiotics. / G.R. Gibson, H.M. Probert, J.V. Loo, R.A. Rastall, M.B. Roberfroid. // *Nutr. Res. Rev.* – 2004. – №17. – P.259–275. doi: 10.1079/NRR200479
116. Gokce, E.H. Nanoparticulate strategies for effective delivery of poorly soluble therapeutics. / E.H. Gokce, M. Ozyazici, E.B. Souto. // *Ther Deliv.* – 2010. – №1(1). – P.149-67.
117. Goldberg, B. *Alternative Medicine.* // Future Medicine Publishing, Inc., Washington. – 1994. – P. 1068
118. Gonzalez, J.E., Keshavan, N.D. Messing with bacterial quorum sensing // *Microbiol Mol Biol Rev.* – 2006. –T. 70. –№ 4. –P. 859-875.
119. Grabrucker, A.M. Nanoparticle transport across the blood brain barrier. / A.M. Grabrucker, B. Ruozi, D. Belletti, F. Pederzoli, F. Forni, M.A.Vandelli, G.

Tosi. // Tissue barriers. – 2016. – №4(1). – e1153568.
doi:10.1080/21688370.2016.1153568

120. Gruse, J. The Effects of Oral Quercetin Supplementation on Splanchnic Glucose Metabolism in 1-Week-Old Calves Depend on Diet after Birth / J. Gruse, S. Görs, A. Tuchscherer, W. Otten, J.M. Weitzel, C.C. Metges, S. Wolffram, H.M. Hammon // Journal of Nutrition. – 2015. – №145(11). – P.2486-2495. doi: 10.3945/jn.115.218271

121. Halliwell, G., Bryant, M.P. The cellulolytic activity of pure strains of bacteria from the rumen of cattle. // J. Gen. Microbiol. – 1963. №32. – P.441-448.

122. Hani, Z. Asfour Anti-Quorum Sensing Natural Compounds. // J Microsc Ultrastruct. – 2018. – №6(1). – P.1-10. doi: 10.4103/JMAU.JMAU_10_18.

123. Hashemi, S.R, Davoodi, H. Herbal plants and their derivatives as growth and health promoters in animal nutrition. // Vet. Res. Comm. – 2011. – №35. – P.169–180.

124. Hashemi, S.R, Davoodi, H. Phytoenies as new class of feed additive in poultry industry. // J. Anim. Vet. Adv. – 2010. – №9. – P.2295–2304.

125. Hashemi, S.R., Davoodi, H. Herbal plants and their derivatives as growth and health promoters in animal nutrition // Vet. Res. Commun. – 2011. – № 35. – P.169-180.

126. Hassanat, F., Benchaar, C. Assessment of the effect of condensed (acacia and quebracho) and hydrolysable (chestnut and valonea) tannins on rumen fermentation and methane production in vitro // Journal of the Science of Food and Agriculture. – 2013. – V. 93. – P. 332-339.

127. Haygreen, L., Davison, F., Kaiser, P. DNA vaccines for poultry: the jump from theory to practice. // Expert Rev. Vaccines. – 2005. – №4. – P.51-62. doi: 10.1586/14760584.4.1.51

128. Hillman, E.T. Microbial Ecology along the Gastrointestinal Tract. / E.T. Hillman, H. Lu, T. Yao, C.H. Nakatsu, // Microbes and environments. – 2017. – №32(4). – P. 300-313. doi:10.1264/jsme2.ME17017

129. Hoiby, N. Antibiotic resistance of bacterial biofilms. / N. Hoiby, T. Bjarnsholt, M. Givskov, S. Molin, O. Ciofu. // *Int. J. Antimicrob. Agents.* – 2010. – №35. – P.322-332. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2009.12.011
130. Huang, C.M., Lee, T.T. Immunomodulatory effects of phytochemicals in chickens and pigs - A review. // *Asian-Australasian journal of animal sciences.* – 2018. – №31(5). – P. 617-627. doi:10.5713/ajas.17.0657
131. Huang, J. Acyl-homoserine lactone-based quorum sensing and quorum quenching hold promise to determine the performance of biological wastewater treatments: an overview. / J. Huang, Y. Shi, G. Zeng, Y. Gu, G. Chen, L. Shi, Y. Hu, B. Tang, J. Zhou. // *Chemosphere.* – 2016. – №157. – P. 137-151.
132. Humer, E. Gender-specific effects of a phytochemical feed additive on performance, intestinal physiology and morphology in broiler chickens. / E. Humer, E. Rohrer, W. Windisch. // *J Anim Physiol Anim. Nutr.* – 2015. – №99(4). –P.788-800.
133. Husain, F.M. Seed Extract of *Psoralea corylifolia* and Its Constituent Bakuchiol Impairs AHL-Based Quorum Sensing and Biofilm Formation in Food- and Human-Related Pathogens. / F.M. Husain, I. Ahmad, F.I. Khan, N.A. Al-Shabib, M.H. Baig, A. Hussain, K.A. Lobb. // *Frontiers in cellular and infection microbiology.* –2018. – №8. – P. 351. doi:10.3389/fcimb.2018.00351
134. Huyen, N.T. Structural features of condensed tannins affect in vitro ruminal methane production and fermentation characteristics / N.T. Huyen, C. Fryganas, G. Uittenbogaard, I. Mueller-Harvey, W.H. Verstegen, M.W.A. Henndriks, W.F. Pellikaan. // *The Journal of Agricultural Science.* – 2016. – №154(8). – P.1474-1487.
135. Huyghebaert, G. An update on alternatives to antimicrobial growth promoters for broilers / G. Huyghebaert, R. Ducatelle, F. Van Immerseel. // *Vet. J.* – 2011. – T.187. – P.182-188.
136. Jakobsen, A.T.H. Food as a source for quorum sensing inhibitors: iberin from Horseradish revealed as a quorum sensing inhibitor of *Pseudomonas aeruginosa* / A.T.H. Jakobsen, S.K. Bragason, R.K. Phipps, L.D. Christensen, M.

Gennip, M. Alhede. // *Appl Environ Microbiol.* – 2012. –T. 78. – № 7. – P. 2410-2421.

137. Joshi, C. Anti-infective potential of hydroalcoholic extract of *Punica granatum* peel against gram-negative bacterial pathogens. / C. Joshi, P. Patel, V. Kothari // *F1000Res.* – 2019. – №8. – P.70. doi:10.12688/f1000research.17430.2

138. Johannah, N.M. Dietary addition of a standardized extract of turmeric (TurmaFEEDTM) improves growth performance and carcass quality of broilers. / N.M. Johannah, J. Ashil, M. Balu, I.M. Krishnakumar. // *J Anim Sci Technol.* – 2018. – №60 – P.8

139. Kalam, M.A. Non-invasive administration of biodegradable nano-carrier vaccines. / M.A. Kalam, A.A. Khan, A. Alshamsan // *American journal of translational research.* – 2017. –№9(1). – P.15–35.

140. Kalia, V.C. Evolution of resistance to quorum-sensing inhibitors. / V.C. Kalia, T.K. Wood, P. Kumar // *Microbial ecology.* – 2014. – №68(1). – P.13-23. doi:10.1007/s00248-013-0316-y

141. Karásková, K. Current use of phytogetic feed additives in animal nutrition: A review. / K. Karásková, P. Suchý, E. Straková. // *Czech J. Anim. Sci.* – 2015. – №60. – P.521-530. doi: 10.17221/8594-CJAS.

142. Karou, D. Antibacterial activity of alkaloids from *Sida acuta*. / D. Karou, A. Savadogo, A. Canini, S. Yameogo, C. Montesano, J. Simporé. // *Afr. J. Biotechnol.* – 2006. – №5. – P.195-200.

143. Kazimierczak, K.A. Comparative analysis of sequences flanking tet (W) resistance genes in multiple species of gut bacteria. / K.A. Kazimierczak, H.J. Flint, K.P. Scott. // *Antimicrob. Agents Chemother.* – 2006. – №50. – P.2632-2639 doi:10.1128/AAC.01587-05

144. Kazimirskii, A.N. Endogenous regulators of the immune system (scd100, malonic dialdehyde, and arginase). / A.N. Kazimirskii, G.V. Poryadin, Z.M. Salmasi, L.Y. Semenova. // *Bull Exp Biol Med.* – 2018. – №164(5). – P.693-700. doi: 10.1007/s10517-018-4061-6.

145. Khafipour, E. Rumen microbiome composition determined using two nutritional models of subacute ruminal acidosis. / E. Khafipour, S. Li, J.C. Plaizier, D.O. Krause. // *Appl. Environ. Microbiol.* – 2009. – №75. – P.7115–7124.
146. Kim, S.W. Nonruminant nutrition symposium on natural phytobiotics for health of young animals and poultry: Mechanisms and application. / S.W. Kim, M.Z. Fan, T.J. Applegate // *J. Anim. Sci.* – 2008. – №86. – P.138–139. doi: 10.2527/jas.2007-0769
147. Kim, J.H. Immunotoxicity of silicon dioxide nanoparticles with different sizes and electrostatic charge. / J.H. Kim, C.S. Kim, R.M. Ignacio, D.H. Kim, M.E. Sajo, E.H. Maeng, S.K. Kim. // *International journal of nanomedicine.* – 2014. – P.183-193. doi:10.2147/IJN.S57934
148. Kisała, J. Essentials and Perspectives of Computational Modelling Assistance for CNS-oriented Nanoparticle-based Drug Delivery Systems. / J. Kisała, K.I. Heçlik, K. Pogocki, D. Pogocki. // *Curr Med Chem. Review.* – 2018. – №25(42). P.5894-5913. doi: 10.2174/0929867325666180517095742.
149. Kocherginskaya, S.A. Analysis of the rumen bacterial diversity under two different diet conditions using denaturing gradient gel electrophoresis, random sequencing, and statistical ecology approaches. // S.A. Kocherginskaya, R.I. Aminov, B.A. White. // *Anaerobe.* – 2001. – №7. – P.119–134.
150. Kociolek, M.G. Quorum-sensing inhibitors and biofilms *Anti-Infect // Agents Med. Chem.* – 2009. – № 8. – P.315–326.
151. Koh, C.L. Plant-derived natural products as sources of anti-quorum sensing compounds. / C.L. Koh, C.K. Sam, W.F. Yin, L.Y. Tan, T. Krishnan, Y.M. Chong, K.G. Chan, // *Sensors (Basel, Switzerland).* –2013. – №13(5). – P.6217-6228.
152. La Sarre, B., Federle, M.J. Exploiting quorum sensing to confuse bacterial pathogens. // *Microbiology and molecular biology reviews: MMBR.* – 2013. – №77(1). – P.73–111. doi:10.1128/MMBR.00046-12

153. Landers, T.F. A review of antibiotic use in food animals: perspective, policy, and potential. / T.F. Landers, B. Cohen, T.E. Wittum, E.L. Larson. // *Public health reports*. – 2012. – №127(1). – P.4-22. doi:10.1177/003335491212700103
154. Lawal, O.L. Chemical composition and antibacterial activities of essential oil of *Warburgia salutaris* (Bertol. F.) Chiov. from South Africa. / O.L. Lawal, I.A. Ogunwande, A.R. Opoku, A.A. Kasali, A.O. Oyedeji. // *Journal of Biologically Active Products from Nature*. – 2014. – №4. – P.272-277. DOI:10.1080/22311866.2014.936908
155. Lee, K.W. Cinnamaldehyde, but not thymol, counteracts the carboxymethyl cellulose-induced growth depression in female broiler chickens. / K.W. Lee, H. Everts, H.J. Kappert, H. Wouterse, M. Frehner, A.C. Beynen. // *Int. J. Poultry Sci.* – 2004. – №3. – P. 608–612. doi: 10.3923/ijps.2004.608.612
156. Lee, T.T. Potential crosstalk of oxidative stress and immune response in poultry through phytochemicals — A review Asian-Australas. // *J Anim Sci*. 2019. – №32(3). – P.309-319.
157. Levakhin, G. Assessment of Chemical Composition of Grain Crops Depending on Vegetative Stage for Feeding. / G. Levakhin, G. Duskaev, H. Dusaeva. // *Asian Journal of Crop Science*. – 2015. – P.7207-213.
158. Lewandowski, Ł. Inhibition of copper-zinc superoxide dismutase activity by selected environmental xenobiotics. / Ł. Lewandowski, M. Kepinska, H. Milnerowicz // *Environ Toxicol Pharmacol. Review*. – 2018. – №58. – P.105-113. doi: 10.1016/j.etap.2017.12.022.
159. Li, M. Physiologically Based Pharmacokinetic (PBPK) Modeling of Pharmaceutical Nanoparticles. / M. Li, P. Zou, K. Tyner, S. Lee. // *AAPS J.* – 2017. – №1. – P.26-42. doi: 10.1208/s12248-016-0010-3
160. Li, R.W. Characterization of the rumen microbiota of pre-ruminant calves using metagenomic tools. / R.W. Li, E.E. Connor, C. Li, R.L. Baldwin Vi, M.E. Sparks. // *Environ. Microbiol.* – 2012. – №14. – P.129-139.
161. Li, S.Y. The effect of essential oils on performance, immunity and gut microbial population in weaner pigs. / S.Y. Li, Y.J. Ru, M. Liu, B. Xu, A. PeÅLron,

X.G. Shi. // *Livest. Sci.* – 2012. – №145. – P.119–123. doi: 10.1016/j.livsci.2012.01.005

162. Li, S. The Role of Oxidative Stress and Antioxidants in Liver Diseases. / S. Li, H.Y. Tan, N. Wang, Z.J. Zhang, L. Lao, C.W. Wong, Y. Feng. // *International journal of molecular sciences.* – 2015. – №16(11). – P.26087–26124. doi:10.3390/ijms161125942

163. Liu, Y. Dietary plant extracts alleviate diarrhea and alter immune responses of weaned pigs experimentally infected with a pathogenic *Escherichia coli*. / Y. Liu, M. Song, T.M. Che, J.A.S. Almeida, J.J. Lee, D. Bravo, C.W. Maddox, J.E. Pettigrew. // *J. Anim. Sci.* – 2013. – №91. – P.5294–5306. doi: 10.2527/jas.2012-6194

164. Logachev, K. Study of Intercellular Interaction of Ruminal Microorganisms of Beef Cattle. / K. Logachev, I. Karimov, G. Duskaev, A. Frolov, S. Tulebaev, O. Zav`yalov // *Asian Journal of Animal Sciences.* – 2015. – №9. – P.248-253.

165. Malheiro, J. Phytochemical profiling as a solution to palliate disinfectant limitations. / J. Malheiro, I. Gomes, A. Borges, M.M.S.M. Bastos, J.-Y. Maillard, F. Borges, M. Simões. // *Biofouling.* – 2016. – №32(9). – P.1007-1016.

166. Manefield, M. Evidence that halogenated furanones from *Delisea pulchra* inhibit acylated homoserine lactone (AHL)-mediated gene expression by displacing the AHL signal from its receptor protein. / M. Manefield, R. de Nys, N. Kumar, R. Read, M. Givskov, P. Steinberg, S. Kjelleberg // *Microbiology.* – 1999. – №145. – P.283-291. doi: 10.1099/13500872-145-2-283

167. Manzanilla, E.G. Effect of plant extracts and formic acid on the intestinal equilibrium of early-weaned pigs. / E.G. Manzanilla, J.F. Perez, M. Martin, C. Kamel, F. Baucells, J. Gasa. // *J. Anim. Sci.* – 2004. – № 82. –P. 3210-3218.

168. Marshall, B.M., Levy, S.B. Food animals and antimicrobials: impacts on human health. // *Clinical microbiology reviews.* – 2011. – №24(4). – P.718–733. doi:10.1128/CMR.00002-11

169. Martin, G.B., Ferasyi, T.R. Clean, green, ethical (cge) management: what research do we really need? // *Int. J. Trop. Vet. Biomed. Res.* – 2016. – №1. – P.8. doi: 10.1155/2016/3758278
170. Mathur, S., Singh, R. Antibiotic resistance in food lactic acid bacteria – a review. // *Int. J. Food Microbiol.* – 2005. – №105. – P.281–295 doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2005.03.008
171. Maznev, N. *Encyclopedia of Medicinal Plants.* // Moscow: Publishing House of Martin. – 2004. – P.32–33.
172. Miller, M.B., Bassler, B.L. Quorum sensing in bacteria. // *Annu Rev Microbiol.* – 2001. – №55. – P.165-99.
173. Morrissey, J.P., Osbourn, A.E. Fungal resistance to plant antibiotics as a mechanism of pathogenesis. // *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* – 1999. – №63. – P.708–724.
174. Muhammed A. Arowolo, Jianhua He. Use of probiotics and botanical extracts to improve ruminant production in the tropics: A review. // *Animal Nutrition.* – 2018. – №4(3). – P.241-249. doi.org/10.1016/j.aninu.2018.04.010
175. Musa, H.H. The potential benefits of probiotics in animal production and health. / H.H. Musa, S.L. Wu, C.H. Zhu, H.I. Seri, G.Q. Zhu // *J. Anim. Vet. Adv.* – 2009. – P.8. – P.313–321
176. Namkung, H. Impact of feeding blends of organic acids and herbal extracts on growth performance, gut microbiota and digestive function in newly weaned pigs. / H. Namkung, M. Li, J. Gong, H. Yu, M. Cottrill, C.F.M. De Lange. // *Can. J. Anim. Sci.* –2004. – № 84. – P. 697-704.
177. Natrah, F.M.I. The impact of quorum sensing on the virulence of *Aeromonas hydrophila* and *Aeromonas salmonicida* towards burbot (*Lota lota* L.) larvae. / F.M.I. Natrah, M.I. Alam, S. Pawar, S. Harzevili, N. Nevejan, N. Boon, P. Sorgeloos, P. Bossier, T. Defoirdt // *Vet. Microbiol.* – 2012. – №159. –P.77–82. doi: 10.1016/j.vetmic.2012.03.014

178. Nazzaro, F. Quorum sensing and phytochemicals. / F. Nazzaro, F. Fratianni, R. Coppola. // International journal of molecular sciences. – 2013. – №14(6). – P.12607-12619. doi:10.3390/ijms140612607
179. Newman, D.J., Gordon, M.C. Natural products as sources of new drugs from 1981 to 2014. // J. Nat. Prod. – 2016. – №79(3). – P.629–661.
180. Newman, D.J. Natural products as leads to potential drugs: an old process or the new hope for drug discovery? // J. Med. Chem. – 2008. – T. 51. – P. 2589-2599.
181. Niemeyer, K. Traditional Knowledge of Western Herbal Medicine and Complex Systems Science. / K. Niemeyer, I.R. Bell, M. Koithan. // Journal of herbal medicine. – 2013. – №3(3). – P.112-119. doi:10.1016/j.hermed.2013.03.001
182. Niu, C. Subinhibitory concentrations of cinnamaldehyde interfere with quorum sensing. / C. Niu, S. Afre, E.S. Gilbert. // Lett. Appl. Microbiol. –2006. – №43. – P.489–494. doi: 10.1111/j.1472-765X.2006.02001.x.
183. Oetting, L.L. Effects of herbal extracts and antimicrobials on apparent digestibility, performance, organs morphometry and intestinal histology of weanling pigs. / L.L. Oetting, C.E. Utiyama, P.A. Giani, U.D. Ruiz, V.S. Miyada. // Braz. J. Anim. Sci. – 2006. – № 35. – P. 1389-1397.
184. Oloruntola, O.D. Gliricidia leaf meal and multi-enzyme in rabbits diet: effect on performance, blood indices, serum metabolites and antioxidant status. / O.D. Oloruntola, J.O. Agbede, S.O. Ayodele, E.S. Ayedun, O.T. Daramola, D.A. Oloruntola // J Anim Sci Technol. – Vol.60. – P.24.
185. Osman, M.A. 16S rRNA gene sequencing for deciphering the colorectal cancer gut microbiome: current protocols and workflows. / M.A. Osman, H.M. Neoh, N.S. Ab Mutalib, S.F. Chin, R. Jamal // Front Microbiol. – 2018. – №9. – P.767. doi:10.3389/fmicb.2018.00767
186. Ozbayram, E.G. Effect of bioaugmentation by cellulolytic bacteria enriched from sheep rumen on methane production from wheat straw. / E.G. Ozbayram, S. Kleinstuber, M. Nikolausz, B. Ince, O. Ince. // J. Anaerobe. – 2017. – №46. – P.122-130.

187. Ponnusamy, K. Inhibition of quorum sensing mechanism and *Aeromonas hydrophila* biofilm formation by Vanillin / K. Ponnusamy, D. Paul, J.H. Kweon // *Environ. Eng. Sci.* – 2009. – V. 26(8). – P. 1359-1363 DOI: 10.1089/ees.2008.0415.

188. Packiavathy, I.A.S.V. Inhibition of biofilm development of uropathogens by curcumin – An anti-quorum sensing agent from *Curcuma longa* / I.A.S.V. Packiavathy, S. Priya, S.K. Pandian, A.V. Ravi // *Food Chem.* – 2012. – V. 148. – P. 453-460.

189. Pande, G.S.J. Quorum-sensing disrupting compounds protect larvae of the giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* from *Vibrio harveyi* infection. / G.S.J. Pande, A.A. Scheie, T. Benneche, M. Wille, P. Sorgelos, P. Bossier, T. Defoirdt // *Aquaculture.* – 2013. – №407. – P.121-124. doi: 10.1016/j.aquaculture.2013.05.015.

190. Passos da Silva, D. An Update on the Sociomicrobiology of Quorum Sensing in Gram-Negative Biofilm Development. / D. Passos da Silva, M.C. Schofield, M.R. Parsek, B.S. Tseng. // *Pathogens (Basel, Switzerland).* – 2017. – №6(4). – P.51.

191. Patra, A. Rumen methanogens and mitigation of methane emission by anti-methanogenic compounds and substances. / A. Patra, T. Park, M. Kim, Z. Yu. // *Journal of animal science and biotechnology.* – 2017. – №8. – P.13. doi:10.1186/s40104-017-0145-9

192. Patra, A.K., Saxena, J. Dietary phytochemicals as rumen modifiers: A review of the effects on microbial populations. // *Antonie Leeuwenhoek.* – 2009. – №96. – P. 363–75. doi: 10.1007/s10482-009-9364-1.

193. Patra, A.K., Yu, Z. Effects of garlic oil, nitrate, saponin and their combinations supplemented to different substrates on in vitro fermentation, ruminal methanogenesis, and abundance and diversity of microbial populations. // *J Appl Microbiol.* – 2015. – №119. – P.127–38. doi: 10.1111/jam.12819.

194. Pieszka, M. The effect of dietary supplementation with dried fruit and vegetable pomaces on production parameters and meat quality in fattening pigs. / M.

Pieszka, P. Szczurek, D. Bederska-Łojewska, W. Migdał, M. Pieszka, P. Gogol, W. Jagusiak. // *Meat Science*. – 2017. – №126. – P.1-10
doi.org/10.1016/j.meatsci.2016.11.016

195. Pingale, S.S. Stability study of a herbal drug. / S.S. Pingale, R.D. Pokharkar, M.S. Pingale. // *Pharmacologyonline*. University of Salerno. – 2008. – №1. – 20–3.

196. Ponnusamy, K. Inhibition of quorum sensing mechanism and *Aeromonas hydrophila* biofilm formation by Vanillin. / K. Ponnusamy, D. Paul, J.H. Kweon. // *Environ. Eng. Sci.* – 2009. – V. 26(8). – P. 1359-1363.

197. Quave, C.L. Quorum sensing inhibitors of *Staphylococcus aureus* from Italian medicinal plants. / C.L. Quave, L.R.W. Plano, B.C. Bennett. // *Planta Med.* – 2011. – № 77. – P. 188-195.

198. Randrianarivelo, R. Novel alternative to antibiotics in shrimp hatchery: Effects of the essential oil of *Cinnamosma fragrans* on survival and bacterial concentration of *Penaeus monodon* larvae. / R. Randrianarivelo, P. Danthu, C. Benoit, P. Ruez, M. Raherimandimby, S. Starter // *J. Appl. Microbiol.* – 2010. – №109. – P.642–650.

199. Rasko, D.A. Anti-virulence strategies to combat bacteria-mediated disease. / D.A. Rasko, V. Sperandio. // *Nat Rev Drug Discov.* –2010. –№ 9. –P.117-128.

200. Rasmussen, T.B. Screening for quorum-sensing inhibitors (QSI) by use of a novel genetic system, the QSI Selector. / T.B. Rasmussen, T. Bjarnsholt, M.E. Skindersoe, M. Hentzer, P. Kristoffersen, M. Kôte. // *J Bacteriol.* – 2005. – T. 187. – № 5. – P. 1799-1814.

201. Redondo, L.M. Perspectives in the use of tannins as alternative to antimicrobial growth promoter factors in poultry. / L.M. Redondo, P.A. Chacana, J.E. Dominguez, M.M.E. Fernandez. // *Front. Microbiol.* – 2014. – №5. – P.118.

202. Rehman Zahid Ur, Leiknes TorOve. Quorum-Quenching Bacteria Isolated From Red Sea Sediments Reduce Biofilm Formation by *Pseudomonas*

aeruginosa. // *Frontiers in Microbiology*. –№9. – 2018. – P.1354
DOI=10.3389/fmicb.2018.01354

203. Rizvi, S., Saleh, A.M. Applications of nanoparticle systems in drug delivery technology. // *Saudi pharmaceutical journal: SPJ : the official publication of the Saudi Pharmaceutical Society*. – 2018. – №26(1). – P.64–70
doi:10.1016/j.jsps.2017.10.012

204. Rostami, F. Effect of *Scrophularia striata* and *Ferulago angulata* as alternatives to virginiamycin, on growth performance, intestinal microbial population, immune response, and blood constituents of broiler chickens. / F. Rostami, H.A. Ghasemi, K. Taherpour. // *Poult. Sci.* – 2015. – №94(9). – P. 2202–2209.

205. Rutherford, S.T., Bassler, B.L. Bacterial quorum sensing: its role in virulence and possibilities for its control // *Cold Spring Harb Perspect Med.* – 2012. – T. 11. – № 2. – P. 235-242.

206. Saito, K., Matsuda, F. Metabolomics for functional genomics, systems biology, and biotechnology. // *Annu. Rev. Plant Biol.* – 2010. – №61. – P.463–489.
doi: 10.1146/annurev.arplant.043008.092035

207. Schauder, S., Bassler, B.L. The languages of bacteria *Genes Dev* // Department of Molecular Biology, Princeton University, Princeton. –2001. –№ 15. – P. 1468-1480.

208. Schiavone, A. Effects of a natural extract of chestnut wood on digestibility performance traits and nitrogen balance of broiler chicks. / A. Schiavone, K. Guo, S. Tassone, L. Gasco, E. Hernandez, R. Denti, I. Zaccarati // *Poultry Sci.* – 2008. – №87. – P.521–527.

209. Seal, B.S. Alternatives to antibiotics: a symposium on the challenges and solutions for animal production. / B.S. Seal, H.S. Lillehoj, D.M. Donovan, C.G. Gay, // *Anim Health Res Rev.* – 2013. – №14(1). – P.78-87. doi: 10.1017/S1466252313000030

210. Si, W. In vitro assessment of antimicrobial activity of carvacrol, thymol and cinnamaldehyde towards *Salmonella* serotype Typhimurium DT104: Effects of

pig diets and emulsification in hydrocolloids. / Si W., Chanas C.Gong, S. Cui, H. Yu, C. Caballero, R.M. Friendship // *J. Appl. Microbiol.* – 2006. – №101. – P.1282–1291.

211. Simões, M. Understanding antimicrobial activities of phytochemicals against multidrug resistant bacteria and biofilms. / M. Simões, R.N. Bennett, E.A.S. Rosa. // *Nat. Prod. Rep.* – 2009. – №26. – P.746–757.

212. Simoes, M. Understanding antimicrobial activities of phytochemicals against multidrug resistant bacteria and biofilms. / M. Simoes, R.N. Bennett, E.A. Rosa. // *Nat. Prod. Rep.* – 2009. – № 26. – P. 746-757.

213. Singh, B.N. Oxidative DNA damage protective activity, antioxidant and anti-quorum sensing potentials of *Moringa oleifera*. / B.N. Singh, B.R. Singh, R.L. Singh, D. Prakash, R. Dhakarey, G. Upadhyay, H.B. Singh. // *Food Chem Toxicol.* – 2009. – № 47. – P.1109-1116.

214. Singh, R., Lillard, J.W. Nanoparticle-based targeted drug delivery. // *Experimental and molecular pathology.* – 2009. – №86(3). – P.215–223.

215. Sizova, E. Influence of zinc nanoparticles on survival of worms *Eisenia fetida* and taxonomic diversity of the gut microflora. / E. Sizova, S. Lebedev, A.V. Skalnyi, E. Yausheva, S. Miroshnikov, A. Plotnikov, Y. Khlopko, S. Cherkasov, N. Gogoleva. // *Environmental Science and Pollution Research.* – 2016. – T. 23. – №13. – P. 13245-13254.

216. Smid, E.J., Lacroix, C. Microbe-microbe interactions in mixed culture food fermentations. // *Curr. Opin. Biotechnol.* – 2013. – №24. P.148–154.\

217. Souza, I.D.C. Nanoparticle transport and sequestration: Intracellular titanium dioxide nanoparticles in a neotropical fish. / I.D.C. Souza, V.A.S. Mendes, I.D. Duarte, L.D. Rocha, V.C. Azevedo, S.T. Matsumoto, M. Elliott, D.A. Wunderlin, M.V. Monferrán, M.N. Fernandes. // *Science of The Total Environment.* – 2019. – №658. – P.798-808.

218. Stavri, M. Bacterial efflux pump inhibitors from natural sources. / M. Stavri, L.J. Piddock, S. Gibbons. // *J. Antimicrob. Chemother.* – 2007. – №59. – P.1247-1260. doi: 10.1093/jac/dkl460

219. Stevanović, Z.D. Essential Oils as Feed Additives—Future Perspectives. / Z.D. Stevanović, J. Bošnjak-Neumüller, I. Pajić-Lijaković, J. Raj, M. Vasiljević. // *Molecules*. – 2018. – №23(7). – P.1717. doi:10.3390/molecules23071717

220. Suga, H., Smith, K.M. Molecular mechanisms of bacterial quorum sensing as a new drug target. // *Curr. Opin. Chem. Biol.* – 2003. – №7. – P.586–591.

221. Tajima, K. Diet-dependent shifts in the bacterial population of the rumen revealed with real-time PCR. / K. Tajima, R.I. Aminov, T. Nagamine, H. Matsui, M. Nakamura, Y. Benno // *Appl. Environ. Microbiol.* – 2001. – №67. –P. 2766–2774.

222. Tatara, M.R. Aged garlic extract and allicin improve performance and gastrointestinal tract development of piglets reared in artificial sow. / M.R. Tatara, E. Sliwa, K. Dudek, A. Gawron, T. Piersiak, P. Dobrowolski. // *Ann. Agric. Environ. Med.* –2008. – №15. – P. 63-69.

223. Thacker, E.L. Immunomodulators, immunostimulants, and immunotherapies in small animal veterinary medicine. // *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.* – 2010. – №40. – P.473–483. doi: 10.1016/j.cvsm.2010.01.004

224. Tolmacheva, A.A. Antibacterial and quorum sensing regulatory activities of some traditional Eastern-European medicinal plants. / A.A. Tolmacheva, E.A. Rogozhin, D.G. Deryabin. // *Acta Pharmaceutica*. – 2014. – №64. – P.173-186.

225. Truchado, P. Allende Food phytochemicals act as quorum sensing inhibitors reducing production and or degrading autoinducers of *Yersinia enterocolitica* and *Erwinia carotovora*. / P. Truchado, F.A. Tomás-Barberán, M.A. Larrosa. // *Food Control*. –2012. – № 24. – P. 78-85.

226. Trufanov, O. Phytobiotics in broiler rations. // *Livest Breeding Rus.* – 2016. – №10. – P.5–7.

227. Valenzuela-Grijalva, N.V. Dietary inclusion effects of phytochemicals as growth promoters in animal production. / N.V. Valenzuela-Grijalva, A. Pinelli-Saavedra, A. Muhlia-Almazan, D. Domínguez-Díaz, H. González-Ríos. // *Journal*

of animal science and technology. –2017. – №59. – P. 8. doi:10.1186/s40781-017-0133-9

228. Vandeputte, O.M. Identification of catechin as one of the flavonoids from *Combretum albiflorum* bark extract that reduces the production of quorum-sensing-controlled virulence factors in *Pseudomonas aeruginosa* PAO1. / O.M. Vandeputte, M. Kiendrebeogo, S. Rajaonson, B. Diallo, A. Mol, M. Jaziri El. // *Appl Environ Microbiol.* –2010. –T. 76. – № 1. – P. 243-253.

229. Vattem, D.A. Dietary phytochemicals as quorum sensing inhibitors. / D.A. Vattem, K. Mihalik, S.H. Crixell, R.J.C. McLean. // *Fitoterapia.* – 2007. – № 78. – P.302 – 310.

230. Verpoorte, R. Exploration of nature's chemodiversity: The role of secondary metabolites as leads in drug development. *Drug Discov. Today.* – 1998. – №3. – P.232–238. doi: 10.1016/S1359-6446(97)01167-7

231. Vondruskova, H. Alternatives to antibiotic growth promoters in prevention of diarrhoea in weaned piglets: A review. / H. Vondruskova, R. Slamova, M. Trckova, Z. Zraly, I. Pavlik. // *Vet. Med.* – 2010. – №55. – P.199–224.

232. Wagner, E. Programmed drug delivery: nanosystems for tumor targeting // *Expert Opin. Biol. Ther.* –2007. – №7(5). – P.587-93.

233. Wanapat, M. Dietary sources and their effects on animal production and environmental sustainability. / M. Wanapat, A. Cherdthong, K. Phesatcha, S. Kang, // *Animal nutrition.* –2015. – №1(3). – P. 96-103. doi:10.1016/j.aninu.2015.07.004

234. Wang, S. A new technique for nanoparticle transport and its application in a novel nano-sieve. / S. Wang, C. Wang, Z. Peng, S. Chen. // *Scientific Reports.* – 2018. – №8(1). – P.9682. doi: 10.1038/s41598-018-28033-5

235. Waters, C.M., Bassler, B.L. The *Vibrio harveyi* quorum-sensing system uses shared regulatory components to discriminate between multiple autoinducers. // *Genes and development.* – 2006. – №20(19). – P. 2754–2767. doi:10.1101/gad.1466506

236. Windisch, W. Use of phytogetic products as feed additives for swine and poultry. / W. Windisch, K. Schedle, C. Plitzner, A. Kroismayr. // *J. Anim. Sci.* – 2008. – №86. – P.140–148. doi: 10.2527/jas.2007-0459

237. World Health Organization. Legal Status of Traditional Medicine and Complementary // *Alternative Medicine: A Worldwide Review*. World Health Organization; Geneva, Switzerland: 2001

238. Yang, C. Effects of dietary supplementation with essential oils and organic acids on the growth performance, immune system, fecal volatile fatty acids, and microflora community in weaned piglets. / C. Yang, L. Zhang, G. Cao, J. Feng, M. Yue, Y. Xu, B. Dai, Q. Han, X. Guo. // *J Anim Sci.* – 2019. – №97(1). – P.133-143. doi: 10.1093/jas/sky426.

239. Yang, C. Phytogetic compounds as alternatives to in-feed antibiotics: Potentials and challenges in application. / C. Yang, M.A.K. Chowdhury, Y. Huo, J. Gong // *Pathogens.* – 2015. – №4(1). – P.137-156. doi: 10.3390/pathogens4010137

240. Yang, W.Z. Effect of garlic and juniper berry essential oils on ruminal fermentation and on the site and extent of digestion in lactating cows. / W.Z. Yang, C. Benchaar, B.N. Ametaj, A.V. Chaves, M.L. He, T.A. McAllister // *J. Dairy Sci.* – 2007. – №90. – P.5671–5678. doi: 10.3168/jds.2007-0369

241. Zanchi, R. Effect of *Camellia sinensis* L. whole plant extract on piglet intestinal ecosystem. / R. Zanchi, E. Canzi, L. Molteni, M. Scozzoli, // *Ann. Microbiol.* – 2008. – №58. – P. 147-152.