

УТВЕРЖДАЮ

Директор ФГБНУ «Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий Российской академии наук», доктор биологических наук, профессор, чл.-корр. РАН

Мирошников

Сергей Александрович

2019 г.



ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий Российской академии наук».

Диссертация «Влияние ингибиторов «кворум сенсинга» на рубцовое пищеварение и продуктивность молодняка крупного рогатого скота» выполнена в отделе кормления сельскохозяйственных животных и технологии кормов им. профессора С.Г. Леушина ФГБНУ «Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий Российской академии наук».

В период подготовки диссертации соискатель Атландерова Ксения Николаевна обучалась в очной аспирантуре по специальности 06.02.08 Кормопроизводство, кормление сельскохозяйственных животных и технология кормов ФГБНУ «Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий Российской академии наук».

В 2015 г. окончила Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Оренбургский государственный университет» по специальности «Биология».

Справка об обучении и сдаче кандидатских экзаменов выдана в 2019 г. Федеральным государственным бюджетным научным учреждением «Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий Российской академии наук».

Научный руководитель - Дускаев Галимжан Калиханович, доктор биологических наук, Федеральное государственное бюджетное научное

учреждение «Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий Российской академии наук», заместитель директора по науке, заведующий отделом кормления сельскохозяйственных животных и технологии кормов им. проф. С.Г. Леушина.

По итогам обсуждения принято следующее заключение:

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». 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. Широкое использование антибиотиков в животноводстве на фоне исчерпания терапевтического потенциала данной группы веществ и распространения феномена антибиотикорезистентности, является угрозой для человека. Понимание складывающейся ситуации побуждает ведущих мировых производителей к созданию альтернативы кормовым антибиотикам в питании животных. Одним из перспективных направлений является разработка новых решений по управлению чувством кворума бактерий желудочно-кишечного тракта животных.

Связь темы с планом научных исследований. Диссертация К.Н. Атландеровой, является завершенной научно-квалификационной работой, выполненной в соответствии с тематическим планом научно-исследовательских работ ФГБНУ «Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий Российской академии наук» выполненной в соответствии с программой ФНИ государственных академий наук на 2013-2020 годы (№ 0526-2019-0002).

Личное участие автора в получении результатов, изложенных в диссертации. Результаты исследований получены в экспериментах при непосредственном участии автора К.Н. Атландеровой. Лабораторные исследования были осуществлены на базе Центра коллективного пользования ФГБНУ «Федерального научного центра биологических систем и агротехнологий Российской академии наук», научно-хозяйственные опыты проведены на производственном участке «Покровский сельскохозяйственный колледж» филиал ФГБОУ ВО «Оренбургский ГАУ».

Соискатель Атландерова К.Н. на основе анализа публикаций отечественных и зарубежных ученых, обосновала тему, определила цели и задачи исследований. На начальном этапе выполнила исследования физико-химической и биологической экспертизы испытуемых кормовых добавок, а именно водного экстракта коры дуба (ЭКД), препарата ингибиторов «кворум сенсинга» (ИКС). На втором этапе провела исследования по оценке действия опытных добавок на переваримость сухого вещества в условиях *in vitro* (модель искусственного рубца) и *in situ* (метод нейлоновых мешочков на фистулированных животных). На третьем - изучила влияние исследуемых кормовых добавок на рубцовое пищеварение, обмен веществ и микробиом рубца, эффективность использования корма и баланс энергии в организме молодняка крупного рогатого скота. Заключительным этапом стал научно-хозяйственный опыт, рассчитана экономическая эффективность, сформулированы выводы и рекомендации производству.

Написание и оформление диссертационной работы выполнено лично автором.

Степень достоверности результатов проведенных исследований. Научные положения, выводы и предложения базируются на экспериментальных и аналитических данных, полученных с использованием специального оборудования, а также современных методов анализа и расчета, обусловленных достоверностью результатов исследований, доказанных путем их обработки с использованием программного пакета Statistica 10.0 RU.

Совокупность полученных в диссертационной работе Атландеровой К.Н. результатов и сформулированных на их основе выводов, и теоретических положений, выносимых на защиту, является целостным, законченным научным исследованием.

Научная новизна. Впервые, на модели молодняка крупного рогатого скота дана комплексная оценка прототипа перспективного препарата ингибиторов «кворум сенсинга», выделенных из экстракта коры дуба. 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 микробиом 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*. 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.

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.

Новизна исследований защищена приоритетными справками по заявкам на получение патентов РФ № 2019125771 от 16.08.2019 г. и №2019129659 от 29.09.2019 г.

Теоретическая и практическая значимость результатов исследований. 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 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 %.

Полнота изложенных материалов диссертации в работах, опубликованных соискателем. Основные положения диссертации достаточно широко представлены научной общественности на научно-практических конференциях. Результаты исследований изложены в 19 научных работах, в том числе 4 – в ведущих рецензируемых изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ, 4 в периодических изданиях, входящих в БД Scopus и Web of Science.

Опубликованные научные работы достаточно полно отражают материал диссертации и имеют научную ценность и практическую значимость.

Наиболее значимые работы:

Статьи, опубликованные в изданиях входящих в БД Web of Science и Scopus

1. Atlanderova K., Makaeva A., Miroshnikov S., Ivanishcheva A. Changes in rumen microbiota of cattle with the simultaneous introduction of iron and copper nanoparticles and quorum sensing suppressants. // FEBS Open Bio 9 (Suppl.1). –

2019. – P.415–416. DOI: 10.1002/2211-5463.12675

2. Atlanderova K.N., Makaeva A.M., Sizova E.A., Duskaev G.K. Stimulation of ruminal digestion of young cattle with oak bark extract (*Quercus cortex*). // Conference on Innovations in Agricultural and Rural development IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science. IOP Publishing – 2019. – №341 – 012059. doi:10.1088/1755-1315/341/1/012059

3. Atlanderova A.N., Makaeva A.M., Kholodilina T.N. Biological evaluation of aqueous extract of oak bark on in vitro models // Conference on Innovations in Agricultural and Rural development IOP Conf. Series: Earth and Environmental. IOP Publishing Science. – 2019. – №341. – 012161. doi:10.1088/1755-1315/341/1/012161

4. Atlanderova K.N., Makaeva A.M., Sizova E.A. Comparative evaluation of the effect of the *Quercus cortex* extract and biologically active substances of plant origin on health and scar digestion. // Conference on Innovations in Agricultural and Rural development IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science. IOP Publishing. – 2019. – №341. – 012189. doi:10.1088/1755-1315/341/1/012189

Статьи, опубликованные в изданиях из перечня, установленного Министерством науки и высшего образования Российской Федерации

5. Атландерова К.Н., Макаева А.М., Мирошников С.А., Курилкина М.Я. Использование систем «anti-quorum» в животноводстве (обзор). // Животноводство и кормопроизводство. – 2018. – Т.101. – № 2. – С.229-236.

6. Макаева А.М., Атландерова К.Н. Переваримость питательных веществ корма при использовании биостимулятора экстракта коры дуба (*Quercus cortex*) в условиях *in vitro* // Животноводство и кормопроизводство. – 2018. – Т.101. – №1. – С.147-153.

7. Атландерова К.Н., Макаева А.М., Мирошников С.А., Сизова Е.А. Воздействие препарата на основе высокодисперсных частиц и экстракта коры дуба на минеральный состав рубцовой жидкости. // Животноводство и кормопроизводство. – 2019. – Т.102. – № 3. – С.106-116.

8. Микробиом рубца крупного рогатого скота при использовании в

кормлении экстракта *Quercus cortex* К.Н. Атландерова, Г.К. Дускаев, А.М. Макаева, Д.М. Муслюмова, К.С. Кондрашова Животноводство и кормопроизводство. 2019. Т. 102. № 4. С. 95-106.

Публикации в других научных изданиях и в материалах научно-практических конференций

9. Атландерова К.Н., Дускаев Г.К., Курилкина М.Я., Муслюмова Д.М. О возможностях использования наночастиц металлов совместно с веществами ANTI-QUORUM. // Инновационные направления и разработки для эффективного сельскохозяйственного производства. материалы международной научно-практической конференции, посвящённой памяти члена-корреспондента РАН В.И. Левахина: в 2 частях. – 2016. – С. 154-156.

10. Атландерова К.Н., Макаева А.М. Воздействие экстракта коры дуба и ультрадисперсных порошков металлов на микрофлору рубца КРС. // Материалы международной студенческой научной конференции «Молодежный аграрный форум 2018». – 2018 - С.129-130.

11. Атландерова К.Н. Растительные экстракты как альтернатива антибиотикам в кормлении сельскохозяйственных животных. // Актуальные проблемы животноводства в условиях импортозамещения. Материалы международной научно-практической конференции, посвящённой памяти доктора биологических наук, профессора, Заслуженного деятеля науки РФ Булатова Анатолия Павловича. Под общей редакцией Сухановой. – 2018. – С. 17-21.

12. Атландерова К.Н. Макаева А.М. Применение фитогенных добавок в кормлении сельскохозяйственных животных. // Международная научно-практическая конференция. «Мясное скотоводство - приоритеты и перспективы развития». – 2018. – С.151-154.

13. Атландерова К.Н. Курилкина М.Я. Воздействие биостимулятора «*Quercus cortex*» на содержание микрофлоры рубца крупного рогатого скота. // Материалы международной конференции «Инновационное развитие в животноводстве», посвящённой 55-летию Западно-Казахстанского аграрно-

технического университета имени Жангир хана – Казахстан. – 2018. – С. 13-17.

14. Атландерова К.Н. Курилкина М.Я. Влияние эффективности экстракта «*Quercus cortex*» на переваримость рациона в условиях *in vitro*. // Материалы VI Международной конференции «инновационные разработки молодых ученых – развитию агропромышленного комплекса» Ставрополь. – 2018. – № 2(11). – С.251-254.

15. Атландерова К.Н. Корректирующий эффект биостимулятора экстракта коры дуба на микрофлору рубца КРС. // II международная научно-практическая конференция. Институт животноводства таджикской академии сельскохозяйственных наук. Совместно с ФГБОУ ВО Башкирским государственным аграрным университетом. «Инновационные технологии увеличения производства высококачественной продукции животноводства» - Таджикистан. – 2018. – С. 495-498.

16. Мирошников С.А., Атландерова К.Н., Макаева А.М. Оценка действия растительного экстракта совместно с высокодисперсными частицами, как условие потенцирования процессов рубца // Аграрно-пищевые инновации. 2019. № 3 (7). С. 49-56., DOI: 10.31208/2618-7353-2019-7-49-56

17. Атландерова К.Н., Макаева А.М., Холодилина Т.Н. Влияние экстракта «*Quercus cortex*» на уровень свечения биосенсора // Фундаментальные основы технологического развития сельского хозяйства: материалы российской научно-практической конференции с международным участием., (г. Оренбург, 24-25 октября 2019 г.) / под общ. ред. чл.-корр. РАН С.А. Мирошникова – Оренбург: Изд-во ФНЦ БСТ РАН, 2019. – С 20-23

18. Атландерова К.Н., Макаева А.М., Курилкина М.Я. Влияние ингибиторов «кворум сенсинга» на ферментативную активность крови крупного рогатого скота // Фундаментальные основы технологического развития сельского хозяйства: материалы российской научно-практической конференции с международным участием., (г. Оренбург, 24-25 октября 2019 г.) / под общ. ред. чл.-корр. РАН С.А. Мирошникова – Оренбург: Изд-во ФНЦ

19. Атландерова К.Н., Макаева А.М. Эффективность ввода экстракта коры *Quercus robur* в различных дозах на динамику переваримости кормового субстрата // Международная научно-практическая конференция, посвященная 90-летию ВИЖа «Научное обеспечение развития животноводства в Российской Федерации». 2019. – С. 53-56

Соответствие содержания диссертации научной специальности, по которой она рекомендуется к защите. На основании проведенных исследований, автором предложено, вводить в рацион экстракт коры дуба (ЭКД) и ингибиторы «кворум сенсинга» (ИКС) в дозе 0,6 и 0,8 мл/кг живой массы. Автором показано, что введение экстракта коры дуба и ингибиторов «кворум сенсинга» в корм молодняку крупного рогатого скота увеличивает переваримость сухого вещества *in vitro* и *in situ*. Скармливание ЭКД и ИКС сопровождается изменениями в рубцовом пищеварении. Причем при скармливании препарата ингибиторов «кворум сенсинга» более выражено, что выражается в том числе увеличением содержания летучих жирных кислот в рубце на 5,5% через 3, на 8,8% через 6 часов после кормления; снижением содержания небелкового азота на 4,5 и 7,4%. Препарат ингибиторов «кворум сенсинга» оказывал значимое влияние на соотношение грамотрицательной и грамположительной микрофлоры рубца. Автором, 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. Независимо от условий кормления животных значимым во всех группах был вид *Streptococcus bovis*, с максимальной численностью при использовании ингибиторов «кворум сенсинга». Использование ЭКД и ИКС в кормлении животных сопровождается повышением целлюлозолитической активности в рубце на 4,1 и 8,2% после 6 часов пищеварения. 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. Действие препаратов ЭКД и ИКС на обмен энергии в организме молодняка крупного рогатого скота выражается в повышении поедаемости корма и соответственно 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. Введение в рацион молодняка крупного рогатого скота экстракта коры дуба и ингибиторов «кворум сенсинга» повышает интенсивность роста животных на 12 - 18%, это сопровождается повышением уровня рентабельности производства говядины на 3-4%.

Из выше изложенного следует отметить, что диссертационная работа К.Н. Атландеровой «Влияние ингибиторов «кворум сенсинга» на рубцовое пищеварение и продуктивность молодняка крупного рогатого скота» соответствует паспорту специальности 06.02.08 Кормопроизводство, кормление сельскохозяйственных животных и технология кормов, а именно:

П.2 «Разработка и совершенствование научно обоснованных норм кормления и типовых рационов по регионам страны для различных видов сельскохозяйственных животных, птицы, пушных зверей и кроликов. Научно обоснованные рецепты комбикормов, премиксов и белково-витаминно-минеральных концентратов. Нормативы затрат кормов на единицу продукции сельскохозяйственных животных и пушных зверей. Оплата корма продукцией. Экономическая эффективность норм кормления и использования биологически активных веществ»;

П.7 «Установление питательной ценности новых видов кормов животного, растительного и микробиального происхождения, технологии их производства и подготовки к скармливанию».

Диссертация «Влияние ингибиторов «кворум сенсинга» на рубцовое пищеварение и продуктивность молодняка крупного рогатого скота» Атландеровой Ксении Николаевны соответствует критериям, предъявляемым к кандидатским диссертациям, установленным пп. 9-14 Положения о присуждении ученых степеней, утвержденных постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 года и рекомендуется к защите на соискание учёной степени кандидата биологических наук по специальности 06.02.08 Кормопроизводство, кормление сельскохозяйственных животных и технология кормов.

Заключение принято на расширенном заседании отдела кормления сельскохозяйственных животных и технологии кормов им. профессора С.Г. Леушина ФГБНУ «Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий Российской академии наук».

Присутствовало на заседании 15 чел. Результаты голосования: «за» - 15 чел., «против» - 0 чел., «воздержалось» - 0 чел., протокол № 5 от «24» декабря 2019 г.

Галиев Булат

Галиев Булат Хабулеевич, доктор сельскохозяйственных наук, профессор, отдел кормления сельскохозяйственных животных и технологии кормов им. проф. С.Г. Леушина ФГБНУ ФНЦ БСТ РАН, и.о. заведующий

460000, г. Оренбург, ул. 9 Января, 29
тел. (3532) 30-81-70
e-mail: vniims.or@mail.ru



Миниyo кормов
Руководитель кафедрy *Г.Х. заверюю*
С.А. Александров