



DOI: 10.22363/2312-797X-2022-17-4-555-566

УДК 636.5 034

Научная статья / Research article

Оценка микробного разнообразия слепого отдела кишечника цыплят-бройлеров при введении кумарина и кормового антибиотика в рацион

Г.К. Дускаев  , К.С. Лазебник , Т.А. Климова 

Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий
Российской академии наук, г. Оренбург, Российская Федерация
 gduskaev@mail.ru

Аннотация. В современных условиях существует необходимость поиска альтернатив антибиотикам в связи с растущей резистентностью микроорганизмов. Перспективной заменой могут выступать растительные экстракты, которые благодаря своим биологическим функциям могут подавлять развитие различных процессов, связанных с патогенностью и вирулентностью, в частности, процесс *Quorum sensing*. Цель исследования — оценка биоактивности 7,8-дигидрокси-4-метилкумарина и 20% хлортетрациклина по отношению к микробному разнообразию слепого отдела кишечника цыплят-бройлеров. Для эксперимента были сформированы 4 группы цыплят-бройлеров. Контрольная группа получала рацион без добавок (основной рацион (ОР)); I группа — ОР + 20% хлортетрациклин в дозировке 0,63 г/кг ж.м./сут, II группа — ОР + 7,8-дигидрокси-4-метилкумарин в дозе 9,0 мкг/кг ж.м./сут; III группа — ОР + 7,8-дигидрокси-4-метилкумарин + 20% хлортетрациклин. В качестве метода исследования использовалось NGS гена 16S рРНК. Анализ результатов показал, что добавление кумарина, антибиотика и их сочетания в рацион птицы оказали влияние на формирование микробного состава кишечника. При этом наблюдается сокращение численности семейств *Lactobacillaceae*, *Lachnospiraceae* и *Erysipelotrichaceae*. Кроме этого, более чем на 10 % убывает доля условно-патогенной микрофлоры рода *Streptococcus*.

Ключевые слова: антибиотик, бройлеры, микробиом, слепой отдел кишечника, секвенирование, кумарин

Заявление о конфликте интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Благодарности. Финансирование. Исследование выполнено по теме НИР № FNWZ-2022-0010.

Вклад авторов: Г.К. Дускаев — концепция и дизайн исследования; Т.А. Климова — сбор и обработка материалов; К.С. Лазебник — анализ полученных данных, написание текста.

© Дорожкин В.И., Герунов Т.В., Симонова И.А., Герунова Л.К., Крючек Я.О., Тарасенко А.А., Чигринский Е.А., 2022



This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/legalcode>

История статьи: поступила в редакцию 31 октября 2022 г., принята к публикации 22 ноября 2022 г.

Для цитирования: Дускаев Г.К., Лазебник К.С., Климова Т.А. Оценка микробного разнообразия слепого отдела кишечника цыплят-бройлеров при введении кумарина и кормового антибиотика в рацион // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Агрономия и животноводство. 2022. Т. 17. № 4. С. 555—566. doi: 10.22363/2312-797X-2022-17-4-555-566

Microbial diversity in the cecum of broiler chickens after introduction of coumarin and feed antibiotic into the diet

Galimzhan K. Duskaev  , Kristina S. Lazebnik , Tatyana A. Klimova 

Federal Research Centre of Biological Systems and Agrotechnologies of the RAS,
Orenburg, Russian Federation
*gduskaev@mail.ru

Abstract. In modern world, there is a need to search for alternatives to antibiotics due to the growing resistance of microorganisms. Plant extracts can be a promising replacement. Due to biological functions, they can suppress the development of various processes associated with pathogenicity and virulence, in particular, the *Quorum sensing* process. Based on the above, the aim of the study was to assess the bioactivity of 7,8-dihydroxy-4-methylcoumarin and 20% chlortetracycline in relation to the microbial diversity of the cecum of broiler chickens. 4 groups of broiler chickens were formed for the experiment. The control group received a diet without additives (basic diet (BD)); group I—BD + 20% chlortetracycline, at the dosage 0.63 g/kg bw per day, group II—BD + 7,8-dihydroxy-4-methylcoumarin at a dose of 9.0 mcg/ kg bw per day; Group III—BD + 7,8-dihydroxy-4-methylcoumarin + 20% chlortetracycline. The NGS of the 16S rRNA gene was used as a research method. Analysis of the results showed that addition of coumarin, the antibiotic and their combination to the poultry diet had an impact on formation of the microbial composition of intestine. Moreover, there was a decrease in the number of *Lactobacillaceae*, *Lachnospiraceae* and *Erysipelotrichaceae* families. In addition, the proportion of opportunistic *Streptococcus* flora decreased more than by 10 %.

Key words: antibiotics, broilers, microbiome, cecum, sequencing, coumarin

Conflicts of interest. The authors declared no conflicts of interest.

Funding: The research was financially supported by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation, State Assignment no. 0445-2021-0016.

Author Contributions: GKD—developed and designed the experiments; TAK—collected the data; KSL—analyzed the data; KSL—wrote the paper.

Article history: Received: 31 October 2022. Accepted: 22 November 2022.

For citation: Duskaev GK, Lazebnik KS, Klimova TA. Microbial diversity in the cecum of broiler chickens after introduction of coumarin and feed antibiotic into the diet. *RUDN Journal of Agronomy and Animal Industries*. 2022;17(4):555—566. (In Russ.). doi: 10.22363/2312-797X-2022-17-4-555-566

Введение

Одна из актуальных стратегий в противобактериальной терапии связана со способностью некоторых веществ ингибировать межклеточную коммуникацию в бактериальных популяциях, известную, как *Quorum sensing* (QS) [1—3], так как в этом

состоянии бактерии способны формировать биопленки и синтезировать факторы вирулентности и патогенности, которые более устойчивы при воздействии веществ в отличие от планктонных форм [4, 5]. Среди таких веществ можно отметить растительные экстракты, которые способны к прямому подавлению размножения патогенных бактерий и регулированию кишечного микробиома у цыплят-бройлеров [6]. Их антибактериальная активность направлена на широкий спектр микроорганизмов [7—9]. В растительных экстрактах содержится большое количество соединений, но особое внимание следует обратить на фенольные соединения, а в частности, кумарины, роль которых в качестве антимикробных агентов достаточно широко изучена [10]. Они представляют собой ненасыщенные ароматические лактоны, в основе которых лежит 5,6-бензо- α -пирон. Согласно данным [11, 12], антибактериальная эффективность производных кумарина усиливается при гидроксигировании в 6, 7 и 8 положении. Преимущества кумаринов как перспективных антибактериальных соединений: широкий спектр антибактериальной активности; они выделяются растениями в виде фитоалексинов для защиты от атак патогенов; они безвредны для окружающей среды и не подвержены развитию устойчивости у бактерий [12]. Биологический анализ с использованием *Chromobacterium violaceum* ATCC 31532 [13] подтвердил способность 7,8-дигидрокси-4-метилкумарина ингибировать QS при субингибирующих концентрациях. При этом среди протестированных соединений кумарина и его производных 7,8-дигидрокси-4-метилкумарин был наиболее активным в контексте проводимых исследований.

Еще одной стратегией борьбы с нарушениями микробиоценозов может выступить комбинация кумарина с антибиотиками, что может привести к потенцированному эффекту. Однако вопрос совместного их использования все еще остается малоизученным.

Цель исследования — оценка биоактивности в отношении микробного сообщества кишечника сельскохозяйственной птицы 7,8-дигидрокси-4-метилкумарина, а также комбинации его с тетрациклином.

Материалы и методы исследования

Работа выполнена в соответствии с протоколами Женевской конвенции и принципами надлежащей лабораторной практики (ГОСТ Р 53434—2009). Все процедуры над животными были выполнены в соответствии с правилами Комитета по этике животных ФНИЦ ВСТ РАН. В исследовании по оценке влияния отдельных веществ антикворума — 7,8-дигидрокси-4-метилкумарин (AL63074—8; 7,8-dihydroxy-4-methyl coumarin) (Sigma-Aldrich, USA) и Биовита — 20% хлортетрациклина (Сиббиофарм, Россия) и их композиций участвовали цыплята-бройлеры. Птица, участвовавшая в исследовании, была выращена до 42-дневного возраста и разделена на 4 экспериментальные группы по 15 особей в каждой (кросс Арбор Айкирес). Контрольная группа получала рацион без добавок (основной рацион (ОР)); I экспериментальная группа (положительный контроль) получала ОР + Биовит — 20% хлортетрациклин в дозировке 0,63 г/кг живой массы в сутки (ж.м./сут); II экспериментальная группа

получала ОР + 7,8-дигидрокси-4-метилкумарин в дозе 9,0 мкг/кг ж.м./сут; III опытная группа — ОР + 7,8-дигидрокси-4-метилкумарин + Биовит — 20% хлортетрациклин.

Состав основного рациона, %: пшеница — 48; ячмень — 2,7; кукуруза — 7,6; соевый шрот (46 % СР) — 25,5; подсолнечный шрот (38 % СР) — 7,4; подсолнечное масло — 5,1; дикальцийфосфат — 1,7; мел кормовой — 1,0; известняк — 0,6; соль — 0,4; DL-метионин — 0,19; L-Лизин — 0,36; бикарбонат натрия — 0,12; витаминно-минеральный премикс — 2,1 (7—28-дневный возраст; далее проводилась корректировка состава рациона).

Декапитацию птицы проводили под нембуталовым эфиром на 42-е сутки эксперимента. Отбор проб содержимого слепых отростков толстого отдела кишечника для анализа микрофлоры проводили после убоя птицы в пробирки типа Эппендорф (Eppendorf, Germany). Тотальную ДНК из образцов содержимого кишечника выделяли при помощи набора Fast DNA® SPIN Kit for Faeces (MP Biomedicals Inc., Solon, OH, USA) с использованием лизирующего матрикса Lysing Matrix E. Образцы гомогенизировали на приборе Tissue Lyser LT (Qiagen, Venlo, Netherlands). Приготовление ДНК-библиотек выполнено в соответствии с протоколом Illumina (Part #15044223, Rev. B.). Секвенирование ампликоновых ДНК-библиотек было выполнено на платформе Illumina MiSeq с использованием набора реактивов MiSeq Reagent Kit v.2 (500-cycle) (Illumina, San Diego, CA, USA). Приготовление ДНК-библиотек, секвенирование и биоинформатическая обработка проведены в ЦКП «Персистенция микроорганизмов» Института клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН (Оренбург, Россия).

Результаты исследования и обсуждение

При изучении микробиоты кишечника идентифицированы операционные таксонообразующие единицы (ОТЕ), относящиеся к домену *Bacteria*. Количество идентифицируемых филумов и ОТЕ варьировало для каждого образца (табл.).

Характеристика разнообразия микробных сообществ слепого отдела кишечника цыплят-бройлеров

Группа	Количество прочтений	ОТЕ	Количество филумов
Контроль	29923	326	4
I	19540	293	5
II	22824	291	5
III	24740	323	5

Characterization of the diversity of microbial communities in cecum of broiler chickens

Group	Number of reads	OTU	Number of phyla
Control	29923	326	4
I	19540	293	5
II	22824	291	5
III	24740	323	5

Микробиом слепого отдела кишечника цыплят-бройлеров на уровне филума, семейств и родов в процентном соотношении приведен на рис., А, Б и В соответственно.

Анализ бактериального профиля содержимого кишечника контрольной группы представлен 4 филумами, среди которых преобладает *Firmicutes* (86,1 %), доля остальных групп была менее 10 % — *Actinobacteria* (4,65 %), *Proteobacteria* (4,47 %) и *Bacteroidetes* (4,18 %), а остальных, не классифицируемых, филумов составляет не более 0,6 % от общего количества.

Преобладающее количество выделенных бактерий филума *Firmicutes* относилось к классу *Clostridia* (58,84 %), в котором следует выделить наиболее многочисленное семейство *Ruminococcaceae* (37,38 %), участвующее в расщеплении крахмала, содержащегося в кукурузе и пшенице — компонентах основного рациона. Данные бактерии производят короткоцепочечные жирные кислоты, в основном пропионат и ацетат, благодаря чему защищают кишечник от воспаления [6]. В этом семействе значимую долю составляли *unclassified_Ruminococcaceae* (21,44 %) и род *Faecalibacterium* (5,39 %). Другое семейство данного класса — *Lachnospiraceae* (15,47 %), при этом значимыми в нем оказались рода *Eisenbergiella* и *Mediterraneibacter*, доля которых составляла 4,94 и 3,29 % соответственно, содержание неклассифицированного рода — 4,53 %. Бактерии данного кластера поддерживают и регулируют функции кишечного эпителия [14], а также разлагают растительные материалы и производят бактериоцины, продуцируют короткоцепочечные жирные кислоты — бутират и лактат — в результате процессов ферментации [15]. Таким образом, несколько исследований свойств и функций этих родов бактерий показали, что эти микроорганизмы могут быть полезны в качестве пробиотиков для домашней птицы [16]. Поскольку вегетативные клетки данных бактерий обладают высокой чувствительностью к кислороду, эти бактерии одними из первых исчезают из микробиоты кишечника при воспалительных заболеваниях за счет продукции активных форм кислорода макрофагами и гранулоцитами [17, 18]. Таким образом, в большинстве случаев уменьшение количества *Lachnospiraceae* является не причиной воспаления, а его следствием [19].

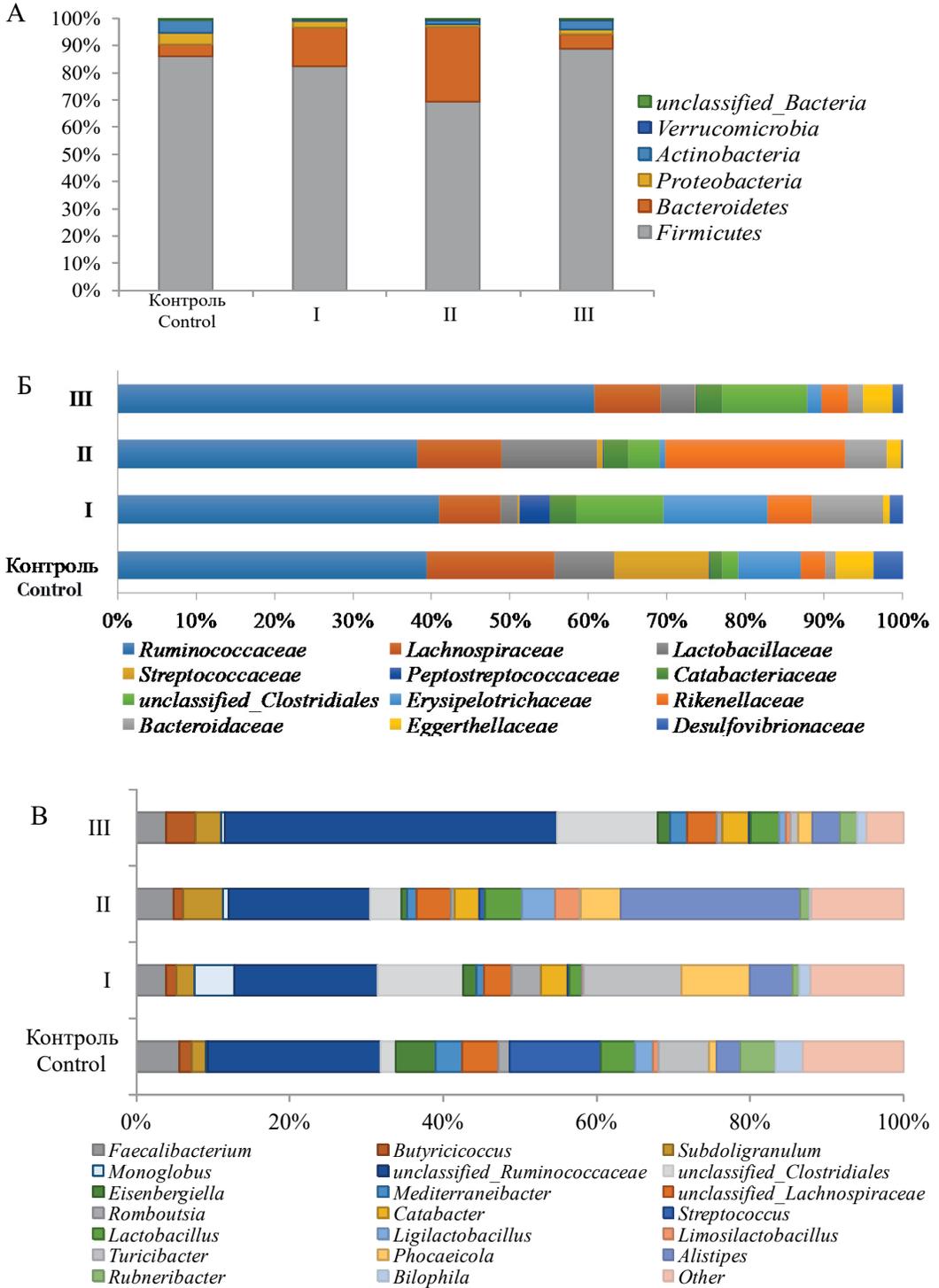
Следующий класс *Bacilli* (18,66 %), в котором стоит отметить семейство *Streptococcaceae* (11,39 %), идентифицированное единственным родом *Streptococcus*, обычно определяемым в кишечнике в относительно низком содержании, обладает потенциалом к избыточному росту при различных патологических состояниях [20], при этом в опытных группах содержание этих бактерий было ниже (в I группе на 11,2 %, во II — на 10,69 %, в III — на 11,17 %). Следующим по численности семейством данного класса является *Lactobacillaceae* (7,18 %), к нему относится род *Lactobacillus* (4,21 %). Наименьший весовой процент содержания характерен для класса *Erysipelotrichia* (7,59 %) с лидирующим родом *Turicibacter* (6,20 %) семейства *Erysipelotrichaceae* (7,59 %). Представители *Turicibacter* непосредственно контактируют с клетками хозяина и принимают участие в воспалительных и неопластических процессах [21]. Филумы *Actinobacteria* и *Proteobacteria* менее разнообразны, значимыми родами в них являются род *Rubneribacter* (4,33 %) семейства

Eggerthellaceae (4,65 %) и род *Bilophila* (3,43 %) семейства *Desulfovibrionaceae* (3,47 %) соответственно. В нашем исследовании происходило снижение числа представителей *Proteobacteria* во всех опытных группах (в I — на 2,25 %, во II — на 3,55 %, в III — на 2,63 %).

Исследование содержимого слепого кишечника бройлеров позволило выявить определенные изменения в опытных группах. Доминирующее место в структуре микрофлоры занимали два типа: *Firmicutes* и *Bacteroidetes* первый филум составлял в группах 69...86 % (от общего содержания), что соответствует ряду исследований [22, 23]. Наибольшую долю в микробиомах опытных групп составляло семейство *Ruminococcaceae*, относящееся к типу *Firmicutes* и классу *Clostridia*, это важная группа микроорганизмов, которая является нормальной флорой кишечника и участвуют в обмене веществ, расщепляя клетчатку растительных кормов (целлюлоза, гемицеллюлоза, пектин, лигнин) до летучих жирных кислот, как упоминалось выше [24, 25].

В I группе было выявлено 296 ОТЕ, принадлежащих к 5 филумам (рис.), при этом так же лидировал филум *Firmicutes* (82,3 %), а содержание филума *Bacteroidetes* (14,28 %) увеличилось на 10,10 % по сравнению с контролем, на долю оставшихся *Proteobacteria* и *Actinobacteria* приходилось менее 10 % от общего числа (2,22 и 0,86 % соответственно). Таксономическое разнообразие филума *Firmicutes* схоже с контролем, так класс *Clostridia* (66,53 %) представлен семействами *Ruminococcaceae* (39,86 %), в котором максимальный процент составляет неклассифицированная группа (18,28 %), родом *Faecalibacterium* (3,79 %) с незначительно снизившейся численностью (на 2 %) и родом *Monoglobus* (5,03 %) с возросшей на 5 % численностью по сравнению с контролем. Содержание другого семейства *Lachnospiraceae* (7,64 %) снизилось в 2 раза, так же, как и его родовое разнообразие, здесь можно выделить только неклассифицированную группу (3,51 %). Помимо этого повысилось и разнообразие семейств в данном филуме, что подтверждается повышением в 2 раза содержания таких семейств, как *Peptostreptococcaceae* (3,76 %) и *Catabacteriaceae* (3,34 %), в качестве единственных представителей выступают рода *Romboutsia* и *Catabacter* соответственно. Значительная доля данного класса не была идентифицирована и составила 10,80 % от общего числа. При добавлении в основной рацион кормовой добавки для данного филума отмечается значительное снижение — в 8,48 раза по сравнению с контрольной группой — класса *Bacilli* (2,20 %) и его представителей *Lactobacillaceae* (2,07 %) и *Streptococcaceae* (0,19 %). Это согласуется с рядом исследований [26, 27], что обилие *Lactobacillus* в кишечнике уменьшалось после применения антибиотика. При этом зафиксировано и увеличение почти в 2 раза численности класса *Erysipelotrichia* (12,89 %), в котором было так же, как и в контрольной группе, выделено единственное семейство *Erysipelotrichaceae* с первенствующим представителем — родом *Turicibacter* (12,43 %). При этом данный таксон может, как уже отмечалось, вызывать дисбиотические изменения в кишечнике птиц [28].

Второй филум представлен единственным классом *Bacteroidia* (14,28 %) с семейством *Bacteroidaceae* (8,81 %), известным способностью ферментировать клетчатку и крахмалистые компоненты кормов, с доминирующим родом



Микробиом слепого отдела кишечника цыплят-бройлеров на уровне филума (А), семейств (Б) и родов (В)

Microbiome of cecum of broiler chickens at the level of phylum (A), families (B) and genera (C)

Phocaeicola (8,63 %), превышающим уровень контрольного значения в 8,46 раз, и семейством *Rikenellaceae* (5,45 %) с родом *Alistipes*, так же превосходящим контроль в 1,85 раз. *Bacteroidaceae* вместе с грамположительными *Lachnospiraceae* и *Ruminococcaceae* представляют наиболее распространенную семейную характеристику слепой кишки кур [29]. Оставшиеся идентифицированные филумы малочисленны и доля представленных родов — менее 3 %.

Среди идентифицированных 291 ОТЕ во II опытной группе доминирующее положение занимали также филумы *Firmicutes* (69,29 %) и *Bacteroidetes* (27,33 %) (см. рис.), причем содержание изменялось уменьшением первого на 16,81 % и увеличением второго на 23,15 % относительно контроля, что коррелирует с результатами исследования [30], в которых при добавлении в рацион кумарина данные филумы были доминирующими типами и наблюдалось увеличение доли микроорганизмов, относящихся к *Bacteroidetes*, на фоне снижения бактерий *Firmicutes*. Оставшиеся филумы в данной группе составили менее 10 % от общего объема.

Таксономическое разнообразие филума *Firmicutes* схоже с контролем, но менее разнообразно относительно I группы. В первом таксоне так же лидирующие позиции занимает класс *Clostridia* (55,56 %), в котором большой процент составляют семейство *Ruminococcaceae* (37,05 %) и семейство *Lachnospiraceae* (10,41 %). При этом их доля незначительно уменьшилась по сравнению с контролем, а среди их представителей наибольшая численность характерна для неклассифицированных родов. Также для семейства *Ruminococcaceae* стоит отметить род *Subdoligranulum* (4,90 %), превышающий контроль в 2,86 раза, I группу — в 2,19, а III — в 1,6, и род *Faecalibacterium* (4,59 %), изменения которого в группах незначительны. Стоит отметить и семейство *Catabacteriaceae* (3,05 %) с единственным идентифицированным родом *Catabacter*, численность которого не отличается от опытных групп, но превышает в 2,11 раза контроль.

Еще одним доминирующим классом в данном филуме *Firmicutes* является *Bacilli* (12,54 %), при этом его содержание повысилось в 1,64, также как и таксономическое разнообразие семейства *Lactobacillaceae* (11,78 %), по сравнению с контролем, в котором численность составляла 7,18 %. Рода этого семейства составляли примерно одинаковую долю — *Lactobacillus* (4,53 %), *Ligilactobacillus* (4,19 %), *Limosilactobacillus* (3,05 %).

При введении в рацион кумарина во втором упомянутом филуме произошла смена лидера и в большей степени он был представлен семейством *Rikenellaceae*, с единственным обнаруженным представителем *Alistipes* (22,15 %), содержание которого в 4 раза превышает показатель I группы и в 7,5 раз контроль. По численному соотношению семейств в исследованиях, приведенных выше [31], было так же отмечено, что доминирующими семействами были *Bacteroidaceae*, *Rikenellaceae*, представленные в порядке убывания. Эти данные подтверждают наши исследования, за исключением порядка следования — *Ruminococcaceae*, *Rikenellaceae*, *Bacteroidaceae*.

При дальнейшем таксономическом анализе для III опытной группы были классифицированы 323 ОТЕ, соотношение филумов схоже с контролем *Firmicutes* (88,73 %),

Bacteroidetes (5,14 %), *Actinobacteria* (3,59 %), *Proteobacteria* (1,84 %) (см. рис.). Привлекает внимание меньшее таксономическое разнообразие при добавлении тестируемой кормовой добавки в рацион. В первом филуме прослеживается та же динамика, как и в предыдущих группах, лидером является класс *Clostridia* (81,00 %), причем для этой группы отмечены его максимальное содержание среди всех, разница с контролем составляет 22,16 %, и те же доминирующие семейства *Ruminococcaceae* (57,97 %) и *Lachnospiraceae* (7,94 %). Для первого семейства стоит отметить увеличение разнообразия родов — *Faecalibacterium* (3,48 %), *Butyricoccus* (3,39 %) и *Subdoligranulum* (3,02 %), при этом большую долю составили неклассифицированные виды (38,53 %). Тенденция увеличения численности семейства *Catabacteriaceae* (3,03 %) с родом *Catabacter* (3,03 %) сохраняется и для данной опытной группы и его содержание превышает контроль в 2 раза. Весьма большую долю класса *Clostridia* составляет неклассифицированное семейство (10,39 %). В филуме *Firmicutes* также стоит отметить снижение содержания рода *Lactobacillus* (3,31 %) класса *Bacilli* (4,46 %). Согласно исследованиям [33] тетрациклин снижал уровень *Lactobacillales*, что отмечено и в нашей работе. При включении в рацион Биовита содержание *Lactobacillus* уменьшилось в 8,9 раз (I группа), а при комбинации его с кумарином — в 4,25 раза (III группа) в сравнении со значением контрольной группы.

Второй по численности филум *Bacteroidetes* (5,14 %) представлен семейством *Rikenellaceae* (3,23 %), с единственным идентифицированным родом *Alistipes* (3,23 %), и в меньшей степени семейством *Bacteroidaceae* (1,84 %).

Заключение

Группу облигатных микроорганизмов, колонизирующих слепую кишку кур, составляют семейства *Ruminococcaceae* и *Lachnospiraceae*, за которыми следуют *Lactobacillaceae* и *Erysipelotrichaceae*. Антибактериальный эффект Биовита, как самостоятельно, так и в совокупности с производным кумарина, оказал влияние на численность *Lactobacillaceae* и *Lachnospiraceae*. При добавлении 7,8-дигидрокси-4-метилкумарина и Биовита в рацион наблюдается снижение более чем на 10 % содержания условно-патогенной флоры *Streptococcus*. Таким образом, анализируемые вещества: 7,8-дигидрокси-4-метилкумарин и Биовит — 20% хлортетрациклин — в рационах бройлеров оказали влияние на формирование микробного состава кишечника. Это исследование расширяет знания о роли тестируемых веществ.

Библиографический список / References

1. Cegelski L, Marshall GR, Eldridge GR, Hultgren SJ. The biology and future prospects of antivirulence therapies. *Nat Rev Microbiol*. 2008;6(1):17–27. doi: 10.1038/nrmicro1818
2. Cooper MA, Shlaes D. Fix the antibiotics pipeline. *Nature*. 2011;472:32. doi: 10.1038/472032a
3. LaSarre B, Federle MJ. Exploiting quorum sensing to confuse bacterial pathogens. *Microbiol Mol Biol Rev*. 2013;77(1):73–111. doi: 10.1128/Mmbr.00046-12

4. De la Fuente-Núñez C, Korolik V, Bains M, Nguyen U, Breidenstein EBM, Horsman S, Lewenza S, Burrows L, Hancock RE. Inhibition of bacterial biofilm formation and swarming motility by a small synthetic cationic peptide. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2012;56(5):2696–2704. doi: 10.1128/AAC.00064-12
5. Reen FJ, Gutiérrez-Barranquero JA, Parages ML, O’Gara F. Coumarin: a novel player in microbial quorum sensing and biofilm formation inhibition. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2018;102:2063-2073. doi: 10.1007/s00253-018-8787-x
6. Zhu N, Wang J, Yu L, Zhang Q, Chen K, Liu B. Modulation of growth performance and intestinal microbiota in chickens fed plant extracts or virginiamycin. *Front Microbiol*. 2019;10:1333. doi: 10.3389/fmicb.2019.01333
7. Rudenko PA, Vatikov YA, Rudenko AA, Rudenko VB. Epizootic analysis of livestock farms disadvantaged by factor infections. *Scientific life*. 2020;15(4):572–585. (In Russ.). doi: 10.35679/1991-9476-2020-15-4-572-585
Руденко П.А., Ватников Ю.А., Руденко А.А., Руденко В.Б. Эпизоотический анализ животноводческих ферм, неблагополучных по факторным инфекциям // Научная жизнь. 2020. Т. 15. № 4 (104). С. 572–585. doi: 10.35679/1991-9476-2020-15-4-572-585
8. Vatikov Y, Shabunin S, Kulikov E, Karamyan A, Lenchenko E, Sachivkina N, Lenchenko E, Karamyan A, Kulikov E, Shabunin S. Effectiveness of biologically active substances from *Hypericum perforatum* L. in the complex treatment of purulent wounds. *International Journal of Pharmaceutical Research*. 2020;12(4):1108–1117. doi: 10.31838/19ijpr/2020.12.04.078
9. Wong SYY, Grant IR, Friedman M, Elliott CT, Situ C. Antibacterial activities of naturally occurring compounds against *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*. *Appl Environ Microbiol*. 2008;74(19):5986–5990. doi: 10.1128/AEM.00981-08
10. Al-Majedy YK, Al-Duhaidahawi DL, Al-Azawi KF, Al-Amiery AA, Kadhum AAH, Mohamad AB. Coumarins as potential antioxidant agents complemented with suggested mechanisms and approved by molecular modeling studies. *Molecules*. 2016;21(2):135. doi:10.3390/molecule
11. D’Almeida RE, Molina RDI, Viola CM, Luciard MC, Nieto Peñalver C, Bardon A, Arena ME. Comparison of seven structurally related coumarins on the inhibition of *Quorum sensing* of *Pseudomonas aeruginosa* and *Chromobacterium violaceum*. *Bioorg Chem*. 2017;73:37–42. doi: 10.1016/j.bioorg.2017.05.011
12. Yang L, Ding W, Xu Y, Wu D, Li S, Chen J, Guo B. New Insights into the Antibacterial Activity of Hydroxycoumarins against *Ralstonia solanacearum*. *Molecules*. 2016; 21(4):468. doi: 10.3390/molecules21040468
13. Deryabin D, Inchagova K, Rusakova E, Duskaev G. Coumarin’s anti-quorum sensing activity can be enhanced when combined with other plant-derived small molecules. *Molecules*. 2021;26(1):208. doi: 10.3390/molecules26010208
14. Stanley D, Denman SE, Hughes RJ, Geier MS, Crowley TM, Chen H, Haring VR, Moore RJ. Intestinal microbiota associated with differential feed conversion efficiency in chickens. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2012;96:1361–1369. doi: 10.1007/s00253-011-3847-5
15. Videnska P, Faldynova M, Juricova H, Babak V, Sisak F, Havlickova H, Rychlik I. Chicken faecal microbiota and disturbances induced by single or repeated therapy with tetracycline and streptomycin. *BMC Vet Res*. 2013;9:30. doi: 10.1186/1746-6148-9-30
16. Turnbaugh PJ, Ley RE, Mahowald MA, Vincent M, Mardis ER, Gordon JI. An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. *Nature*. 2006;444:1027–1031. doi: 10.1038/nature05414
17. Torok VA, Allison GE, Percy NJ, Ophel-Keller K, Hughes RJ. Influence of antimicrobial feed additives on broiler commensal posthatch gut microbiota development and performance. *Appl Environ Microbiol*. 2011;77:3380–3390. doi: 10.1128/AEM.02300-10
18. Thiennimitr P, Winter SE, Winter MG, Xavier MN, Tolstikov V, Huseby DL, Sterzenbach T, Tsolis RM, Roth JR, Bäuml AJ. Intestinal inflammation allows *Salmonella* to use ethanolamine to compete with the microbiota. *PNAS*. 2011;108(42):17480–17485. doi: 10.1073/pnas.1107857108
19. Winter SE, Thiennimitr P, Winter MG, Butler BP, Huseby DL, Crawford RW, Russell JM, Bevins CL, Adams LG, Tsolis RM, Roth JR, Bäuml AJ. Gut inflammation provides a respiratory electron acceptor for *Salmonella*. *Nature*. 2010;467:426–429. doi: 10.1038/nature09415
20. Medvecky M, Cejkova D, Polansky O, Karasova D, Kubasova T, Cizek A, Rychlik I. Whole genome sequencing and function prediction of 133 gut anaerobes isolated from chicken caecum in pure cultures. *BMC Genomics*. 2018;19(1):561. doi: 10.1186/s12864-018-4959-4
21. Yang Q, Liang Q, Balakrishnan B, Belobrajdic DP, Feng QJ, Zhang W. Role of Dietary Nutrients in the Modulation of Gut Microbiota: A Narrative Review. *Nutrients*. 2020;12(2):381. doi: 10.3390/nu12020381
22. Zackular JP, Baxter NT, Iverson KD, Sadler WD, Petrosino JF, Chen GY, Schloss PD. The gut microbiome modulates colon tumorigenesis. *mBio*. 2013;4(6): e00692–13. doi: 10.1128/mBio.00692-13

23. Olnood CG, Beski SSM, Choct M, Iji PA. Novel probiotics: their effects on growth performance, gut development, microbial community and activity of broiler chickens. *Animal Nutrition*. 2015;1(3):184–191. doi: 10.1016/j.aninu.2015.07.003.43
24. Vatnikov Y, Shabunin S, Karamyan A, Kulikov E, Sachivkina N., Stepanishin V, Vasilieva E, Bobkova N, Lucay V, Avdotin V, Zenchenkova A, Rudenko P, Rudenko A. Antimicrobial activity of *Hypericum perforatum* L. *International Journal of Pharmaceutical Research*. 2020;12(Suppl.1):723–730. doi: 10.31838/ijpr/2020.SP1.113
25. Vidsenska P, Sedlar K, Lukac M, Faldynova M, Gerzova L, Cejkova D, Sisak F, Rychlik I. Succession and replacement of bacterial populations in the caecum of egg laying hens over their whole life. *PLoS One*. 2014;9(12):e115142. doi: 10.1371/journal.pone.0115142
26. Grozina AA. Gut microbiota of broiler chickens influenced by probiotics and antibiotics as revealed by T-RFLP and RT-PCR. *Agricultural biology*. 2014;49(6):46–58. (In Russ.). doi: 10.15389/agrobiology.2014.6.46eng
Грозина А.А. Состав микрофлоры желудочно-кишечного тракта у цыплят-бройлеров при воздействии пробиотика и антибиотика (по данным T-RFLP—RT-PCR) // Сельскохозяйственная биология. 2014. № 6. С. 46–58. doi: 10.15389/agrobiology.2014.6.46rus
27. Yu M, Mu C, Zhang C, Yang Y, Su Y, Zhu W. Marked response in microbial community and metabolism in the ileum and cecum of suckling piglets after early antibiotics exposure. *Front Microbiol*. 2018;9:1166. doi: 10.3389/fmicb.2018.01166
28. Mancabelli L, Ferrario C, Milani C, Mangifesta M, Turroni F, Duranti S, Lugli GA, Viappiani A, Ossiprandi MC, van Sinderen D, Ventura M. Insights into the biodiversity of the gut microbiota of broiler chickens. *Environ Microbiol*. 2016;18(12):4727–4738. doi: 10.1111/1462–2920.13363
29. Ilyina, LA, Yildirim, EA, Nikonov IN, Filippova VA, Laptev GY, Novikova NI, Grozina A.A., Lenkova T.N., Manukyan V.A., Fisinin V.I., Egorovet I.A. Taxons of chicken cecum microbiom are abundant, and influenced by the combined feed composition and decreased metabolizable energy. *Agricultural biology*. 2015;50(6):817–824. (In Russ.). doi: 10.15389/agrobiology.2015.6.817rus
Ильина Л.А., Йылдырым Е.А., Никонов И.Н., Филиппова В.А., Лантев Г.Ю., Новикова Н.И., Грозина А.А., Ленкова Т.Н., Манукян В.А., Фисинин В.И., Егоров И.А. Таксономическое разнообразие микробиома слепых отростков кишечника у цыплят-бройлеров и его изменение под влиянием комбикормов с подсолнечным шротом и сниженной обменной энергией // Сельскохозяйственная биология. 2015. № 50(6). С. 817–824. doi: 10.15389/agrobiology.2015.6.817rus
30. Rychlik I. Composition and Function of Chicken Gut Microbiota. *Animals*. 2020;10(1):103. doi: 10.3390/ani10010103
31. Duskaev G, Kvan O, Kosyan D, Rakhmatullin S, Levakhin G. Coumarin derivative and *Bacillus cereus* change live weight and cecal ecology in broilers. *AIMS Agriculture and Food*. 2021;6(1):360–380. doi: 10.3934/agrfood.2021022

Об авторах:

Дускаев Галимжан Калиханович — доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник отдела кормления с/х животных и технологии кормов, заместитель директора, ФГБНУ Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий РАН, Российская Федерация, 460000, г. Оренбург, ул. 9 Января, д. 29; e-mail: gduskaev@mail.ru

ORCID: 0000-0002-9015-8367

SPIN-код 7297-3319

Лазебник Кристина Сергеевна — младший научный сотрудник лаборатории молекулярно-генетических исследований в животноводстве, ФГБНУ Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий РАН, Российская Федерация, 460000, г. Оренбург, ул. 9 Января, д. 29; e-mail: christinakondrashova94@yandex.ru

ORCID: 0000-0003-4907-9656

SPIN-код 9820-8180

Климова Татьяна Андреевна — научный сотрудник лаборатории микробиологии, ФГБНУ Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий РАН, Российская Федерация, 460000, г. Оренбург, ул. 9 Января, д. 29; e-mail: klimovat91@mail.ru

ORCID: 0000-0003-4298-1663

SPIN-код 6761-9683

About authors:

Duskaev Galimzhan Kalikhanovich — Doctor of Biology, Leading Researcher, Department of Feeding Agricultural Animals and Feed Technology, Deputy Director, Federal Research Centre of Biological Systems and Agrotechnologies of the Russian Academy of Sciences, 299 Yanvarya st., Orenburg, 460000, Russian Federation; e-mail: gduskaev@mail.ru

ORCID: 0000-0002-9015-8367

SPIN code 7297-3319

Lazebnik Kristina Sergeevna — Junior Researcher, Laboratory of Molecular Genetic Research in Animal Husbandry, Federal Research Centre of Biological Systems and Agrotechnologies of the Russian Academy of Sciences, 299 Yanvarya st., Orenburg, 460000, Russian Federation; e-mail: christinakondrashova94@yandex.ru

ORCID: 0000-0003-4907-9656

SPIN code 9820-8180

Klimova Tatyana Andreevna — Researcher, Laboratory of Microbiology, Federal Research Centre of Biological Systems and Agrotechnologies of the Russian Academy of Sciences, 299 Yanvarya st., Orenburg, 460000, Russian Federation; e-mail: klimovat91@mail.ru

ORCID: 0000-0003-4298-1663

SPIN 6761-9683