

Mikrobiom jelitowy kury domowej – rozwój i funkcja

MARIAN BINEK, AGATA A. CISEK, MAGDALENA RZEWUSKA,
DOROTA CHROBAK-CHMIEL, ILONA STEFAŃSKA, MAGDALENA KIZERWETTER-ŚWIDA

Zakład Mikrobiologii, Katedra Nauk Przedklinicznych, Wydział Medycyny Weterynaryjnej,
Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, ul. Ciszewskiego 8, 02-786 Warszawa

Otrzymano 30.05.2017

Zaakceptowano 11.07.2017

Binek M., Cisek A. A., Rzewuska M., Chrobak-Chmiel D., Stefańska I., Kizerwetter-Świda M.
Chicken intestinal microbiome: Development and function

Summary

Chicken ceca contain an immense number of microorganisms collectively known as the microbiome. This community is now recognized as an essential component of the intestinal ecosystem and referred to as a metabolic organ exquisitely tuned to the host's physiology. These functions include the ability to process otherwise indigestible components of the feed, converting them into energy and body mass. The gut microbiome can also affect intestinal morphology and modulate the development and function of the immune system. This microbiota contains a rich collection of genes encoding enzymes necessary for decomposition of dietary polysaccharides and oligosaccharides, nitrogen metabolism, fatty acid and lipid metabolism, and pathways involved in a hydrogen sink. Chickens, like most animals, lack the genes for glycoside hydrolase, polysaccharide lyase, and carbohydrate esterase enzymes that are necessary to facilitate the degradation of non-starch polysaccharides. During the decomposition of dietary polysaccharides, bacteria produce short-chain (volatile) fatty acids (SCFAs), such as acetic, propionic and butyric acid. These SCFAs are absorbed transepithelially and serve as a source of energy for the host. The accumulation of molecular hydrogen released during fermentation leads to fermentation slowdown or to the production of less energy-efficient substances, such as ethanol, butyrate and propionate. The presence of bacteria that act as a hydrogen sink results in a switch to the more productive fermentation into acetate and increased production of SCFAs. Such activity could lead to a significant improvement in poultry production and the associated economics.

Keywords: chicken microbiome, host nutrition, polysaccharide-degrading enzymes, hydrogen sink

Mikrobiom, definiowany jako całość ekologicznego środowiska złożonego z drobnoustrojów komensalnych, symbiotycznych i chorobotwórczych, urasta do rangi nadrzędnego narządu, wcześniej niedocenianego czy też zapomnianego. Mikrobiom jelitowy, zaliczany do najliczniejszych u zwierząt i człowieka, wydaje się decydować o wielu aspektach życia gospodarzy, w tym najważniejszych, jakimi są wykorzystanie i przetwarzanie pokarmu czy też zachowanie zdrowia. U ptaków, w odróżnieniu od ssaków, układ pokarmowy jest krótszy i następuje w nim szybsze trawienie i przesuwanie się treści pokarmowej (zwykle cały cykl od pobrania pokarmu do wydalenia nie przekracza 3,5 h), co oczywiście przekłada się na inną kompozycję zasiedlających jelita mikrobiontów i ich funkcję (3, 35, 55, 58). W pierwszych dniach po wykluciu układ pokarmowy ptaków jest najintensywniej rozwijającym się narządem, stymulowanym również do tego przez zasiedlające go bakterie. Ze względu na szybko przesuwaną się treść, w jelitach dominują mikroorganizmy zdolne do adherencji do śluzówki i szybkiego namnażania się. W podwójnie występujących u ptaków

jelitach ślepych przepływ treści jest spowolniony, dzięki czemu powstają dogodne warunki do osiedlenia się wielu drobnoustrojów i ukształtowania właściwego mikrobiomu jelitowego. Składa się on głównie z bakterii, liczących od 10^{10} do 10^{11} JTK/g treści jelitowej. Okresowe zmiany zarówno w liczbie, jak i składzie drobnoustrojów zależne są od wieku ptaków, diety, sposobu i środowiska chowu itp. (4, 6, 15, 18). W badaniach nad mikrobiomem kurcząt zastosowano techniki sekwencjonowania nowej generacji i wykryto co najmniej 13 różnych typów bakterii, spośród których Firmicutes, Bacteroidetes i Proteobacteria stanowiły ponad 90%. Około 900 gatunków reprezentowało ponad 117 rodzajów. Najliczniejsze były bakterie z rodzaju *Clostridium*, *Ruminococcus*, *Lactobacillus* i *Bacteroides* (64, 74, 76, 78). Niektóre jelitowe mikrobionty są chorobotwórcze dla człowieka i takie ptaki są źródłem zakażenia dla ludzi. Stanowią również rezerwuuar genów oporności na antybiotyki (80).

Genom ptaków został zsekwencjonowany w 2004 r. i, jak się wkrótce okazało, skupia tylko niewielką część genów, które wpływają na życie i cechy użytkowe kur.

Inne są częścią bogatej kolekcji genów mikrobiomu, głównie jelitowego (31).

Czynniki wpływające na rozwój i skład mikrobiomu jelitowego

W warunkach naturalnych przewód pokarmowy nowo wyklutych piskląt zasiedlany jest przez mikroorganizmy obecne w kałomoczu matki. W przemysłowym chowie drobiu pisklęta wykluwają się w inkubatorach, w warunkach niemalże sterylnych i nie mają kontaktu z dorosłymi ptakami. To powoduje, że zasiedlanie jelit i kształtowanie się mikrobiomu opóźnia się. Dodatkowo, rozwojowi stabilnej mikroflory, ale też zachowaniu zdrowia nie sprzyja przejście z odżywiania się żółtkiem, bogatym w tłuszcze, na pokarm stały składający się głównie z cukrów i białka (6, 8, 41, 68). Relacje pomiędzy jelitowym mikrobiomem a gospodarzem ukształtowane ewolucyjnie mają charakter symbiozy, a nawet mutualizmu, zatem konkurowanie drobnoustrojów z gospodarzem o pokarm jest znacznie ograniczone. Większość łatwostrawnych cukrów jest trawiona i absorbowana w początkowych odcinkach jelit, w których liczba bakterii pozostaje niewielka. Tylko niestrawione wielocukry i niewchłonięte pozostałości stają się głównymi substratami dla mikroorganizmów zasiedlających w większej liczbie końcowe odcinki jelit. Wielosacharydy, oligosacharydy czy disacharydy rozkładane są przez drobnoustroje do cukrów prostych, które następnie podlegają bakteryjnej fermentacji z wytworzeniem krótkołańcuchowych (lotnych) kwasów tłuszczowych, głównie octowego, propionowego i masłowego. Te zaś ponownie stają się dla gospodarza źródłem energii i węgla. Są absorbowane przez komórki nabłonka jelitowego i włączane do wielu metabolicznych cykli gospodarza (55). Krótkołańcuchowe kwasy tłuszczowe nie tylko obniżają pH w środowisku jelit, regulując w ten sposób kompozycję mikrobiontów, ale również w formie niezdysonowanej dyfundują do komórek wielu bakterii, w których podlegają dysocjacji i obniżają pH, doprowadzając do zahamowania funkcji wielu enzymów i w efekcie metabolizmu. Kwas masłowy dodatkowo jest źródłem energii dla komórek nabłonka jelitowego, wzmacnia ich wzrost i proliferację, reguluje ukrwienie jelit i wytwarzanie śluzu. Ma również stymulujący wpływ na miejscową odporność immunologiczną (20, 71, 76). Bakteryjna fermentacja odbywa się praktycznie we wszystkich odcinkach przewodu pokarmowego, poczynając od wola, a na jelitach ślepych kończąc, najintensywniej jednak zachodzi w tych ostatnich. U jednodniowych piskląt nie stwierdza się wspomnianych produktów fermentacji, co oznacza, że bakterie fermentacji octowej, propionowej czy masłowej praktycznie nie występują. Najwyższe stężenie krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych notuje się u 15-dniowych brojlerów. Na podobnym poziomie utrzymuje się ono również w dalszym okresie życia u ptaków starszych.

Taki stan wskazuje na ostateczne ukształtowanie się jelitowego mikrobiomu pod koniec 2. tygodnia życia kurcząt, choć niektórzy autorzy wskazują na 6.-10. tydzień jako na okres ostatecznego wykształcenia się stabilnej jelitowej homeostazy. Ma to być związane m.in. ze wzrostem aktywności transkrypcyjnej genów cytokin prozapalnych u gospodarza, co warunkuje powstanie przejściowych odchyłeń w składzie mikrobioty jelitowej w czasie 14.-42. dnia życia (21, 57, 75). Z kolei odwrotne zjawisko zaobserwowano u piskląt po podaniu antybiotyku w pierwszym dniu życia – krótkotrwała destabilizacja w mikrobiomie jelitowym miała swoje długofalowe następstwa i przełożyła się na upośledzenie rozwoju układu odpornościowego u tych samych 14-dniowych kurcząt (63).

W ocenie mikrobiomu jelit ślepych u 42-dniowych brojlerów analizowano sekwencje genów 16S rRNA obecnych w nich mikrobiontów, jak również sekwencje metagenomowe. Przyjmując za próg identyczności 97% zgodność wykrytych sekwencji, stwierdzono, że w jelitach ślepych u badanej grupy brojlerów znajdują się mikrobionty zaliczane do 699 filotypów. Około 230 filotypów wykazywało mniejszą niż 97% identyczność z sekwencjami zdeponowanymi w GenBank, świadcząca o ich przynależności do nowych gatunków. Przeciętnie u jednego zwierzęcia identyfikowano od około 200 do 350 filotypów. Z nielicznymi wyjątkami stwierdzano powtarzalność wyników zarówno co do składu, jak i liczby drobnoustrojów w tym samym odcinku jelit u poszczególnych ptaków. Przeważały bakterie zaliczane do typu Firmicutes, a wśród nich nowo odkryte *Megamonas* z rodziny Veillonellaceae w mniejszym stopniu Lachnospiraceae czy Ruminococcaceae. Spośród bakterii zaliczanych do typu Bacteroidetes dominowały *Alistipes*. Sekwencje charakterystyczne dla bakterii z rodzajów *Megamonas* i *Alistipes* w analizie genów 16S rRNA stanowiły, odpowiednio, 19,9% i 16,3%, a w składzie metagenomu 32% w stosunku do 9% (64).

W odróżnieniu od mikrobiomu jelitowego człowieka, który do zachowania zrównoważonego wzrostu wymaga wielocukrów i białek, jelitowy mikrobiom kury jest wynikiem przystosowania się tworzących go mikroorganizmów do dominujących w krótkim przewodzie pokarmowym substratów, takich jak cukry proste i peptydy. Produkuje również w porównaniu do mikrobiomu człowieka większą ilość krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych (47).

Cukrowe i białkowe składniki diety w istotny sposób regulują skład jelitowych mikrobiontów. Pasza oparta na pszenicy, jęczmieniu czy ryżu bogatych w nieskrobiowe, rozpuszczalne w wodzie, ale niestrawne wielocukry przyczynia się do zwiększenia lepkości treści pokarmowej, spowolnienia jej przesuwania się i obniżenia strawności. Takie warunki sprzyjają namnażaniu się bakterii, szczególnie laseczek *Clostridium perfringens*, a to z kolei predysponuje do rozwoju

martwicowego zapalenia jelit (17, 38). Dieta oparta na ziarnie kukurydzianym, w którym wielocukrów nieskrobiowych jest mało, wydaje się wywierać korzystny efekt na jelitowy mikrobiom między innymi poprzez wzrost liczby niektórych gatunków pałeczek *Lactobacillus*, jak np. *L. agilis* R5. Z drugiej strony, czasami nawet drobne zmiany w kompozycji paszy mogą przyczyniać się do stymulowania wzrostu niektórych szczepów tego samego gatunku bakterii, jak ma to miejsce w przypadku *L. agilis* R1, kiedy w dawce pokarmowej przeważa pszenica (29).

Źródłem białka w paszach dla drobiu, najczęściej pozostaje soja. Okazuje się, że niektóre inne źródła tego składnika, jak np. sfermentowane nasiona bawełny wpływają korzystnie na mikrobiom jelitowy, ponieważ zwiększają liczbę pałeczek kwasu mlekowego oraz obniżają liczbę pałeczek Enterobacteriaceae. Z kolei białko zwierzęce, jak np. mączka rybna stymuluje wzrost *C. perfringens*. Podobnie dzieje się w przypadkach diety bogatej w tłuszcze zwierzęce. Liczba wspomnianych drobnoustrojów nie wzrasta natomiast, kiedy do paszy dodawany jest olej sojowy (44, 58, 67).

Ponieważ w chowie drobiu istotną część kosztów produkcyjnych stanowi pasza, szczególną uwagę przywiązuje się do obniżania jej zużycia w celu uzyskania optymalnych przyrostów wagowych. Z tego powodu, w celu zwiększenia strawności, ale również ochrony gospodarza przed enteropatogenami, do paszy dodaje się określone enzymy, jak np. ksylanazy czy beta-glukanazy. Wpływają one na obniżenie lepkości treści pokarmowej w wyniku rozkładu nieskrobiowych wielocukrów. Na tej drodze możliwe jest również modulowanie składu jelitowych mikrobiontów poprzez stymulowanie wzrostu pałeczek kwasu mlekowego oraz hamowanie namnażania się pałeczek okrężnicy, w tym szczepów zjadliwych (65, 66). Podobnie, hamujące działanie wobec enterobakterii wykazują także zeolity (porowate glinokrzemiany) w drodze nie do końca poznanych mechanizmów (60).

Oprócz składników pokarmowych pochodzenia paszowego, mikrobiom jelitowy ptaków zdolny jest do wykorzystywania składników odżywczych wytwarzanych przez gospodarza, jak np. glikoprotein mucyn produkowanych przez komórki kubkowe nabłonka jelitowego. Zdolność do czerpania z tego źródła przez bakterie energii, węgla czy azotu przyczynia się do ich kolonizowania się w jelitach, niezależnie od tego, czy są drobnoustrojami saprofitycznymi, czy też chorobotwórczymi. Znanymi drobnoustrojami, które u człowieka i zwierząt przylegają do warstwy śluzowej jelit i wytwarzają enzymy degradujące mucyny, są np. pałeczki *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* czy *Akkermansia muciniphila* (23, 24, 43, 54, 79). Niestety, brakuje danych na temat ich występowania u ptaków, ale ponieważ stwierdza się je w kałomoczu drobiu, można założyć, że podobnie jak u innych gatunków zwierząt, dzięki zdolności rozkładania mucyn, uzysku-

ją przewagę nad innymi drobnoustrojami i dominują na zewnętrznej, luźno utkanej powierzchni warstwy śluzowej. Kompozycja mikrobiontów jelitowych w istotny sposób zależy również od wzajemnych interakcji, w tym np. od współzawodnictwa o składniki pokarmowe i miejsce przylegania, produkcji czynników bakteriostatycznych oraz bakteriobójczych itp. (36, 51, 77). Przykładem bakterii zdolnych do konkurencyjnego wykorzystywania cynku, pierwiastka śladowego ważnego dla zachowania funkcji wielu enzymów czy ekspresji genów, jest *Campylobacter jejuni*. Dzięki wytwarzaniu przez wspomniany drobnoustroj sytemu wysokiego powinowactwa transportującego ZnuABC jest on w stanie przeżyć w ubogim w ten pierwiastek środowisku jelit ślepych. Tłumaczy to poniekąd powszechne występowanie tych bakterii w jelitach ptaków. Podobne systemy transportujące cynk stwierdzono u niektórych jelitowych patogenów, jak *Salmonella Typhimurium* i *E. coli*, co uzasadnia ich inwazyjne właściwości (19).

Znaczenie mikrobiomu jelitowego

Mikrobiom jelitowy spełnia wiele różnorodnych funkcji. Jedną z nich jest wpływanie na rozwój samych jelit. Dane na ten temat pochodzą z porównania przewodu pokarmowego zwierząt konwencjonalnych i germ-free (GF) (1, 7). U tych ostatnich jelita są lżejsze, a ich ściana cieńsza. Jak już wspomniano, krótkołańcuchowe (lotne) kwasy tłuszczowe będące bakteriowym produktem fermentacji wpływają na wzrost i proliferację enterocytów, co powoduje, że podawanie paszy bogatej w łatwo fermentujące węglowodany przyczynia się do zwiększenia wagi jelit. U ptaków GF kosmki są krótkie, a krypty spłycone. Dodanie do paszy bakterii probiotycznych, prebiotyków lub podanie paszy sfermentowanej prawdopodobnie oddziałuje regulująco na mikrobiom i w konsekwencji przyczynia się do powiększenia kosmków i pogłębienia krypt jelitowych (13, 26). Podobnie, aktywność enzymów jelitowych, jak np. alkalicznej fosfatazy, jest większa u ptaków konwencjonalnych w porównaniu do GF. Same składniki pokarmowe, w tym fruktooligosacharydy poprzez wzmaganie wzrostu niektórych bakterii, jak np. *Bifidobacterium* i *Lactobacillus*, przyczyniają się do większego wydzielania i aktywności takich enzymów, jak amylazy, proteazy czy lipazy. Bakterie jelitowe uczestniczą również w dostarczaniu gospodarzowi azotu (73). Mocznik z dróg moczowych po przedostaniu się do kloaki drogą wsteczną może cofać się do jelit ślepych, gdzie przy udziale bakterii podlega hydrolizie do amoniaku, a ten po absorbowaniu do krwi służy syntezie określonych aminokwasów, jak np. glutaminy. Z kolei azot składników pokarmowych wbudowywany jest do białek bakteriowych, które także mogą być źródłem aminokwasów dla gospodarza. Ma to jednak ograniczone znaczenie, ponieważ w jelicie ślepych praktycznie białka nie są trawione i absorbo-

wane. Wydalane bakterie wraz z kałomoczem u ptaków chowanych w systemie podłogowym w wyniku koprofagii mogą stać się źródłem białka, które po strawieniu absorbowane jest w początkowym odcinku jelit. W podobny sposób mogą być odzyskiwane witaminy, głównie z grupy B syntetyzowane przez jelitowy mikrobiom i wydalane w większości wraz z kałomoczem (40, 46).

Ważną funkcją mikrobiomu jelitowego jest modulowanie odpowiedzi immunologicznej nieswoistej i swoistej. Przykładem tej pierwszej może być wpływ na wytwarzanie i skład śluzu pokrywającego nabłonek jelitowy. W śluzie jelitowym ptaków konwencjonalnych przeważają mucyny zawierające kwas sialowy, natomiast u zwierząt z niską liczbą bakterii w jelitach dominują mucyny, których fragmenty cukrowe glikoprotein występują w formie siarczanów. Zmianę kompozycji śluzu w kierunku dominacji mucyn z przewagą kwasu sialowego powiązane z glikoproteinami obserwuje się zwykle po 4 dniach od wyklucia piskląt, a więc w miarę rozwoju jelitowego mikrobiomu (4, 58). Niektóre pierwotniaki, jak np. *Eimeria* zwiększają mukogenezę, skutkującą jednakże wzrostem mukolitycznych *C. perfringens*, które z kolei doprowadzają do rozwoju martwicowego zapalenia jelit, co jest zjawiskiem niepożądanym. Śluz jelitowy pełni funkcję ochronną, szczególnie w bardziej zbitej warstwie wewnętrznej i nie dopuszcza do penetracji bakterii do komórek nabłonka jelitowego. Może również wpływać atenująco na zjadliwość niektórych bakterii, jak np. *C. jejuni*, poprzez zapobieganie adherencji i ich inwazji do enterocytów. Tym, między innymi, należy tłumaczyć obniżoną chorobotwórczość wspomnianych bakterii dla ptaków (2).

Niektóre bakterie regulują wytwarzanie przez komórki gospodarza przeciwbakteryjnych peptydów, jak np. β -defensyn będących małymi kationowymi peptydami. Wspomniane substancje produkowane są przez makrofagi, komórki heterofilne czy komórki nabłonka. Zaburzają przepuszczalność błony cytoplazmatycznej komórki bakteryjnej i doprowadzają do jej lizy (42, 48). Najwięcej danych na temat wpływu bakterii na wytwarzanie wspomnianych substancji pochodzi z prac nad patogenami jelitowymi, jak np. pałeczkami *Salmonella* czy laseczkami *Clostridium*. Okazuje się, że zabite komórki tych bakterii zwiększają ekspresję genów defensyn w komórkach nabłonka jelitowego, natomiast żywe blokują ekspresję na drodze nie do końca wyjaśnionych mechanizmów chroniących patogen przed odpowiedzią immunologiczną gospodarza (22, 32, 45). Jelitowy układ immunologiczny reprezentowany jest przez torbę Fabrycjusza, grudki chłonne zlokalizowane w kępkach Peyera, złożone głównie z limfocytów B, makrofagów i komórek heterofilnych, limfocytów T oraz szerokie spektrum limfocytów błony podstawnej. Do tego należy również zaliczyć leukocyty występujące pomiędzy komórkami nabłon-

ka jelitowego oraz w warstwie śluzowej. Przykładem pozytywnej stymulacji odpowiedzi immunologicznej jest utrzymywanie przez organizmy komensalne słabego zaplenia jelit skutkującego stałą obecnością makrofagów i komórek heterofilnych w błonie podstawnej, wzmacniających w ten sposób barierę jelitową i utrzymujących układ odpornościowy w pogotowiu. Potencjalnie chorobotwórcze drobnoustroje zwiększają infiltrację tych komórek do błony podstawnej i warstwy nabłonka, czasami ze skutkiem pozytywnym, tzn. wygaszeniem zakażenia poprzez fagocytowanie patogenów i ich wewnątrzkomórkowe zabijanie (10, 42, 58). Niektóre bakterie, jak np. *Salmonella*, wykształciły mechanizmy obronne i fagocytowane przez makrofagi nie tylko w nich przeżywają, ale również się namnażają. Te, które trafiają do układu limfatycznego i krwionośnego, przyczyniają się do rozprzestrzeniania zakażenia i rozwoju systemowej formy choroby (5, 53, 70). W doświadczeniach nad bakteriami probiotycznymi, takimi jak: *L. acidophilus*, *Bifidobacterium bifidum* i *Enterococcus faecalis* udowodniono, że ptaki, które je otrzymywały, wykazywały silniejszą odpowiedź humoralną i stwierdzano u nich wyższy poziom przeciwciał przeciwko erytrocytom owcy, toksoidowi toksyny tężcowej czy toksynie α *C. perfringens*. Odporność humoralna stymulowana przez probiotyki prawdopodobnie była wynikiem aktywacji określonych populacji limfocytów T i produkcji przez nie IL-4 i IL-10 stymulujących z kolei wytwarzanie przeciwciał. Wspomniane bakterie probiotyczne wpływają także na ekspresję genów IL-12 i IFN- γ , cytokin ważnych w indukcji odpowiedzi komórkowej skierowanej przeciwko patogenom wewnątrzkomórkowym (10-12, 14, 27).

Udział mikrobiontów jelitowych w pozyskiwaniu energii dla gospodarza

Z produkcyjnego i hodowlanego punktu widzenia najistotniejszą rolą mikrobiomu jelitowego brojlerów kurzych jest pozyskiwanie energii dla gospodarza, szacowanej nawet na 10%. Zjawiska takie są możliwe dzięki zaangażowaniu bakteryjnych enzymów między innymi w rozkład niestrawnych dla gospodarza wielocukrów, fermentacji cukrów prostych z wytworzeniem krótkołańcuchowych (lotnych) kwasów tłuszczowych oraz utylizowaniu wodoru powstałego w procesach fermentacji (30, 39, 64).

Enzymy degradujące wielocukry

W ziarnach zbóż stanowiących w większości podstawę żywienia drobiu znajduje się bogactwo nieskrobiowych wielocukrów, jak np. β -glukanów, w tym celulozy, dominujących w jęczmieniu czy owsie oraz arabinoksylianów powszechnych w pszenicy, kukurydzy czy ryżu. W odróżnieniu od innych znanych metagenomów jelitowych, np. człowieka i innych ssaków, metagenom jelitowy brojlerów zawiera dość

znaczną ilość, bo około 1,5%, sekwencji kodujących domeny glikozylhydrolaz. Udało się również stwierdzić sekwencje, w sumie ponad 200, różnych enzymów degradujących nieskrobiowe wielocukry (64). Proporcjonalnie jednak wśród genów glikozylhydrolaz przeważają te kodujące hydrolizę oligosacharydów, które stanowią 38% w stosunku do sekwencji kodujących celulazy i endohemicelulazy stanowiących zaledwie 4%. Glukonazy E.C.3.2.1.4. i E.C.3.2.1.1. oddziałujące na oligosacharydy występują w większej ilości w stosunku do endoglukonaz oddziałujących na cały łańcuch celulozy czy ksylanu. W genomach bakterii jelit ślepych stwierdza się również więcej sekwencji kodujących degradowanie ksylanów niż β -glukanów i odwrotnie niż w genomach bakterii obecnych w jelitach cienkich, u których stwierdza się wyższą aktywność β -glukonazy niż ksylanazy (34). Sekwencje genów kodujących enzymy rozkładające ksylan i celobiozę występowały w podobnej ilości u bakterii 3 głównych klas, tj. Clostridia, Bacteroidia i Actinobacteria. Endoglukonazy z kolei wytwarzane są głównie przez Actinobacteria, Negativicutes i Lentisphaeria (64). Niektóre mikrobionty, jak np. *Bacteroides* wykorzystują nieskrobiowe wielocukry na drodze specjalnych mechanizmów, np. tzw. systemu wykorzystywania wielocukrów (polysaccharide utilization system – PUL), w wyniku którego aktywności dochodzi do ich trawienia i importu produktów rozkładu. U Bacteroidetes występujących w jelitach ślepych u kurcząt stwierdzono ponad 500 takich systemów, w tym ich nową klasę skupiająca między innymi β -1,4 endoglukonazy i β -1,4 endoksylianazy (59). Dodatkowo stwierdza się sekwencje, którym przypisuje się kodowanie koordynowania rozkładu wielocukrów oraz ich transportu i ostatecznego wykorzystywania. Dla przykładu: u *Megamonas* wykryto grupę genów kodujących wytwarzanie sekrecyjnych endoglukonaz, systemu fosfotransferazy celobiozy i 6-fosfo-beta-glukozydazy, które tworzą razem zewnątrzkomórkowy kompleks zdolny do degradacji nieskrobiowych wielocukrów do celobiozy, importowanej następnie do komórek i rozkładanej do D-glukozy (64).

Aktywność niektórych endoglukonaz nie jest związana z genami regulatorowymi czy genami odpowiedzialnymi za transport cukrów i te nie są zaangażowane w wykorzystywanie nieskrobiowych polisacharydów. Niektóre geny celulaz, składowe operonu odpowiedzialnego za syntezę celulozy, są zaangażowane w biosyntezę tego cukru, jakkolwiek wśród mikrobiontów jelitowych u kurcząt nie stwierdza się ich zaangażowania w syntezę celulozy (56). Niektórzy przedstawiciele Clostridiales mają geny endonukleaz odpowiedzialnych za sporulacje. Wspomniane produkty genów prawdopodobnie odpowiedzialne są również za procesy doprowadzające do lizy ściany komórkowej oraz syntezy korteksu spory (64).

Wytwarzanie lotnych kwasów tłuszczowych

Krótkołańcuchowe lotne kwasy tłuszczowe (LKT), głównie takie, jak: octowy, propionowy czy masłowy, obecne w jelitach ślepych u ptaków są produktami bakteryjnej fermentacji cukrów otrzymanych w wyniku rozkładu nieskrobiowych polisacharydów. Są one absorbowane przez komórki nabłonka jelitowego i stanowią dodatkowe źródło energii dla gospodarza. LKT oddziałują również antagonistycznie na drobnoustroje chorobotwórcze oraz zwiększają absorpcję składników mineralnych (3, 37, 55, 57, 61). W metagenomie jelitowych mikrobiontów najliczniej reprezentowane są sekwencje odpowiedzialne za fermentację octanową, obejmujące między innymi ponad 30 kinaz octanowych/fosfotransferaz. Kwas propionowy wytwarzany jest w wielu szlakach, ale wydaje się, że dominuje cykl, w którym uczestniczą dekarboksylaza metylomalonylo-CoA i epimeraza metylomalonylo-CoA, czego potwierdzeniem są liczne geny kodujące wspomniane enzymy u mikrobiontów tego środowiska. Za fermentację propionową odpowiedzialne są między innymi bakterie z typu Bacteroidetes, u których stwierdzono zgrupowanie genów odpowiedzialnych za kodowanie nie tylko podjednostki alfa dekarboksylazy metylomalonylo-CoA, ale również podjednostek beta, gamma i delta oraz epimerazy metylomalonylo-CoA (9, 64). Bakterie z rodzajów *Meganonas* i *Dialister* zaliczanych do rodziny Veillonellaceae, rzędu Selenomonadales, mają podobne zgrupowanie genów, ale nie ma wśród nich genów odpowiedzialnych za powstawanie podjednostki beta metylomalonylo-CoA, która łączy funkcje dekarboksylazy z eksportem przez błonę cytoplazmatyczną Na^+ i podjednostki delta utrzymującej ten kompleks razem. W to miejsce we wspomnianym zgrupowaniu występują geny kodujące ferredoksyny odpowiedzialne za łączenie procesów dekarboksylacji z transportem elektronów w nowym cyklu fermentacji propionianowej. Cykl Wood-Werkmana służący do wytwarzania kwasu propionowego jest słabo reprezentowany, ponieważ stwierdza się tylko 2 geny kodujące karboksylotransferazy metylomalonylo-CoA, które w nim uczestniczą (20).

W pierwszym etapie syntezy kwasu masłowego istotną rolę odrywa dehydrogeza 3-hydroksybutyrylo-CoA uczestnicząca w konwersji krotonylo-CoA do butyrylo-CoA. U bakterii wytwarzających kwas masłowy gen dehydrogezy 3-hydroksybutyrylo-CoA znajduje się we wspólnym operonie z genem flawoprotein odpowiedzialnych za transport elektronów. Całe zgrupowanie koduje przemiany, w wyniku których dochodzi do wytworzenia i magazynowania energii wykorzystywanej następnie np. do podtrzymywania energetycznego stanu błony cytoplazmatycznej, znanego jako siła protonomotoryczna (16, 49, 50). Wśród mikrobiontów jelit ślepych u brojlerów kurzych stwierdzono aż dziewiętnaście sekwencji kodujących

dehydrogezę 3-hydroksybutyrylo-CoA w większości u typów Bacteroidetes i Firmicutes, ale również pojedyncze sekwencje tego enzymu u bakterii z rodzaju *Escherichia* zaliczanych do typu Proteobacteria. Powstały w pierwszym etapie fermentacji masłowej butyrylo-CoA podlega dalszym przemianom przy udziale transferazy butyrylo-CoA:octanowo-CoA z wytworzeniem kwasu masłowego i octowego lub przy udziale fosfotransbutyrylasy i kinazy maślanowej prowadzącej do powstania kwasu masłowego. Ten sposób wytwarzania kwasu masłowego jest dość powszechny u mikrobiontów jelit człowieka, natomiast w metagenomie jelitowym kurcząt liczba stwierdzonych genów kodujących transferazę butyrylo-CoA:octanowo-CoA była niewielka i wynosiła tylko cztery. Może to sugerować, że tylko nieznaczne ilości kwasu masłowego powstają na tej drodze i prawdopodobnie istnieje jeszcze inna, niezidentyfikowana acetylotransferaza, która zastępuje wspomniany enzym (50, 64). Więcej sekwencji w metagenomie jelitowym kurcząt, bo aż dziewiętnaście, z czego siedem należało do bakterii z typu Bacteroidetes, kodowało fosfotransbutyrylase i kinazę maślanową. Ponieważ u bakterii zaliczanych do typu Bacteroidetes stwierdza się kompleks genów kodujących dehydrogenazę 3-hydroksybutyrylo-CoA i flawoprotein odpowiedzialnych za transport elektronów, a także geny kodujące fosfotransbutyrylase i kinazę maślanową, można założyć, że wspomniane bakterie w jelitowym mikrobiomie należą do ważnych producentów kwasu masłowego. Zjawisko to zostało potwierdzone w doświadczeniu *in vivo* na myszach germ-free zasiedlonych wspomnianymi drobnoustrojami (25).

Wykorzystywanie wodoru

Dominacja określonej populacji bakterii w ekosystemie może wynikać z ich większych możliwości utylizowania wodoru. W procesie fermentacji powstający w wyniku glikolizy NADH podlega utlenieniu do NAD^+ , a uwolnione elektrony przekazywane są na kwas pirogronowy lub acetylo-CoA, doprowadzając do ich redukcji i wytworzenia lotnych kwasów tłuszczowych. W procesie fermentacji octanowej powstaje najwięcej ATP w wyniku fosforylacji na poziomie substratu. Taki sposób wytwarzania energii charakteryzuje się jednak nieznacznym wykorzystaniem przenośników wodoru, co powoduje, że tylko część NADH podlega utlenieniu. Alternatywnie NADH podlega utlenieniu przy udziale hydrogenaz, z czym wiąże się jednak powstawanie wodoru cząsteczkowego, który w większej ilości hamuje aktywność hydrogenaz. Brak utylizowania wodoru przez inne drobnoustroje wchodzące w skład mikrobiomu na dalszą metę przyczynia się do spowolnienia fermentacji lub też jej kontynuowania w mniej energetycznie wydajnej formie, prowadzącej do powstania etanolu, kwasu masłowego i propionowego. Bakteryjni konsumenci

wodoru w ekosystemie jelitowym przyczyniają się zatem do dominacji bardziej wydajnej energetycznie fermentacji octanowej i w jej wyniku produkcji większej ilości lotnych kwasów tłuszczowych, przynosząc w ten sposób ostatecznie korzyści gospodarzowi (52, 69, 72).

W większości mikrobiomów jelitowych konsumentami wodoru są drobnoustroje metanogenne. Dane na temat ich występowania w jelitach ślepych u kurcząt są zmienne i jedni autorzy, w niewielkim co prawda odsetku, potwierdzają obecność metanogennych archeonów w ilości około 2%, inni natomiast ich nie wykrywają (62, 64). Kolejną grupą drobnoustrojów, które potencjalnie mogą wykorzystywać wodór, są bakterie redukujące siarczany, głównie z rodzaju *Desulfovibrio*, jednakże w badaniach Sergeant i wsp. (64), na podstawie wykrywania charakterystycznych sekwencji genów 16S rRNA i analizy metagenomowej nie stwierdzono ich obecności (64). Kolejnym procesem, w którym może być wykorzystywany wodór, jest synteza kwasu octowego w wyniku redukcji CO_2 i powstawania acetylo-CoA. Wspomniani powyżej autorzy wykrywali, co prawda nieliczne, bo tylko w liczbie 6, geny syntazy acetylo-CoA odpowiedzialnej za ten proces u bakterii z takich rodzin, jak Ruminococcaceae i Lachnospiraceae zaliczanych do rzędu Clostridiales i typu Firmicutes. Bateryjne hydrogenazy NiFe (niklowo-żelazowe), które katalizują proces utleniania wodoru cząsteczkowego przyczyniają się jednocześnie do redukcji akceptorów elektronów w procesie oddychania beztlenowego, jak NO_3^- , SO_4^- , czy CO_2 . Takie enzymy wykryto między innymi u bakterii z rodzaju *Megamonas* zaliczanych do rzędu Selenomonadales, typu Firmicutes oraz *Wolinella*, *Helicobacter* i *Campylobacter* zaliczanych do rzędu Campylobacteriales, typu Proteobacteria. Mogą przyczynić się one do istotnej utylizacji wodoru w ekosystemie jelit grubych u kurcząt, co w pewnym stopniu tłumaczyłoby ich liczny udział w mikrobiomie jelit ślepych u kurcząt. W istotny sposób przyczyniają się one również do dodatkowego odzyskania przez gospodarza energii pochodzącej z paszy (28, 33, 72).

Podsumowanie

Mimo niewątpliwego postępu wiedzy na temat znaczenia mikroorganizmów dla zachowania fizjologicznej homeostazy organizmów wyższych wydaje się, że ciągle jesteśmy na początku drogi poznawania złożonych relacji, towarzyszących współbytowaniu tych dwóch światów. Nie podlega wątpliwości, że genomy organizmów wyższych zostały wzbogacone genami miliardów zamieszkujących określone nisze drobnoustrojów. Potencjalne ich produkty interferują z procesami życiowymi gospodarza, dzięki czemu ten zyskał nowe właściwości, jak np. pewne cechy anatomiczne, poszerzone możliwości fizjologiczne czy immunologiczne. Zjawiska te szczególnie są widoczne

w jelitach, skupiających najliczniejszy mikrobiom. Obecne tam mikroorganizmy oddziałują lokalnie, np. wzmacniają barierę jelitową, zwiększają energetyczną wydajność pożywienia, jak i ogólnie np. instrują do odpowiedzi układ immunologiczny, modulują odpowiedź zapalną. Wpływają też na funkcje centralnego układu nerwowego, w tym nawet na zdolności percepcyjne i behawioralne gospodarza. Udział bakterii jelitowych w rozkładzie niestrawnych dla gospodarza składników pokarmowych, szczególnie wielocukrów do cukrów prostych, następnie absorbowanych lub też dalej fermentowanych do krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych, w produkcji zwierzęcej stwarza szansę lepszego energetycznego wykorzystania paszy. Bliższe poznanie uczestniczących w tych procesach drobnoustrojów, jak i dokonywanych przez nie przemian daje nadzieję na przyszłe sterowanie mikrobiomem jelitowym tak, aby wzmacniać pożądane reakcje i hamować reakcje niekorzystne.

Piśmiennictwo

- Abrams G. D., Bauer H., Sprinz H.: Influence of the normal flora on mucosal morphology and cellular renewal in the ileum. A comparison of germ-free and conventional mice. *Lab. Invest.* 1963, 12, 355-364.
- Alemka A., Whelan S., Gough R., Clyne M., Gallagher M. E., Carrington S. D., Bourke B.: Purified chicken intestinal mucin attenuates *Campylobacter jejuni* pathogenicity in vitro. *J. Med. Microbiol.* 2010, 59, 898-903.
- Apajalahti J.: Comparative gut microflora metabolic challenges, and potential opportunities. *J. Appl. Poult. Res.* 2005, 14, 444-453.
- Barnes E. M., Mead G. C., Barnum D. A., Harry E. G.: The intestinal flora of the chicken in the period 2 to 6 weeks of age, with particular reference to the anaerobic bacteria. *Br. Poult. Sci.* 1972, 13, 311-326.
- Binek M.: Patogeneza salmonelloz u kur: Zakażenia *Salmonella Typhimurium*, *Salmonella Enteritidis* i *Salmonella Gallinarum* u piskląt. *Magazyn Wet. Supl. Choroby ptaków* 2007, s. 6-9.
- Binek M., Borzemska W., Pisarski R., Blaszcak B., Kosowska G., Malec H., Karpińska E.: Evaluation of the efficacy of feed providing on development of gastrointestinal microflora of newly hatched broiler chickens. *Arch. Geflügelk.* 2000, 64, 147-151.
- Binek M., Kizerwetter-Świda M., Sikora A.: Rozwój relacji gospodarz-mikroflora, [w:] Skrzypczak W., Stefaniak T., Zabielski R. (red.): *Fizjologia noworodka z elementami patofizjologii*. PWRiL, Warszawa 2011, s. 244-273.
- Blaszcak B., Karpińska E., Kosowska G., Degórski A., Borzemska W., Binek M.: Kształtowanie mikroflory przewodu pokarmowego piskląt w okresie okolołogowym poprzez podawanie paszy i zasiedlanie preparatem Aviguard. *Med. Weter.* 2001, 57, 741-744.
- Bott M., Pfister K., Burda P., Kalbermatter O., Woehlke G., Dimroth P.: Methylmalonyl-CoA decarboxylase from *Propionigenium modestum* cloning and sequencing of the structural genes and purification of the enzyme complex. *Eur. J. Biochem.* 1992, 250, 590-599.
- Brisbin J. T., Gong J., Orouji S., Esufali J., Mallick A. I., Parvizi P., Shewen P. E., Sharif S.: Oral treatment of chickens with lactobacilli influences elicitation of immune responses. *Clin. Vaccine Immunol.* 2011, 18, 1447-1455.
- Brisbin J. T., Gong J., Parvizi P., Sharif S.: Effects of lactobacilli on cytokine expression by chicken spleen and cecal tonsil cells. *Clin. Vaccine Immunol.* 2010, 17, 1337.
- Calcinaro F., Dionisi S., Marinaro M., Candeloro P., Bonato V., Marzotti S., Corneli R. B., Ferretti E., Gulino A., Grasso F., De Simone C., Di Mario U., Falorni A., Boirivant M., Dotta F.: Oral probiotic administration induces interleukin-10 production and prevents spontaneous autoimmune diabetes in the non-obese diabetic mouse. *Diabetologia* 2005, 48, 1565-1575.
- Choe D. W., Loh T. C., Foo H. L., Hair-Bejo M., Awis Q. S.: Egg production, faecal pH and microbial population, small intestine morphology, and plasma and yolk cholesterol in laying hens given liquid metabolites produced by *Lactobacillus plantarum* strains. *Brit. Poultry Sci.* 2012, 53, 106-115.
- Christensen H. R., Frokiaer H., Pestka J. J.: Lactobacilli differentially modulate expression of cytokines and maturation surface markers in murine dendritic cells. *J. Immunol.* 2002, 168, 171-178.
- Cisek A. A., Binek M.: Chicken intestinal microbiota function with a special emphasis on the role of probiotic bacteria. *Pol. J. Vet. Sci.* 2014, 17, 385-394.
- Colby G. D., Chen J. S.: Purification and properties of 3-hydroxybutyryl-Coenzyme-a dehydrogenase from *Clostridium-Beijerinckii* (*Clostridium butylicum*) Nrrl-B593. *Appl. Environ. Microb.* 1992, 58, 3297-3302.
- Crisol-Martinez E., Stanley D., Geier M. S., Hughes R. J., Moore R. J.: Sorghum and wheat differentially affect caecal microbiota and associated performance characteristics of meat chickens. *Peer J.* 2017, 5, e3071.
- Danzeisen J. L., Kim H. B., Isaacson R. E., Tu Z. J., Johnson T. J.: Modulations of the chicken cecal microbiome and metagenome in response to anticoccidial and growth promoter treatment. *PLoS ONE* 2011, 6, e27949.
- Davis L. M., Kakuda T., DiRita V. J.: A *Campylobacter jejuni* znuA orthologue is essential for growth in low-zinc environments and chick colonization. *J. Bacteriol.* 2009, 191, 1631-1640.
- Dehghani N., Jahanian R.: Effects of dietary organic acid supplementation on immune responses and some blood parameters of broilers fed diets with different protein levels. *World's Poultry Science Journal, Suppl. 1, Book of Abstracts, Salvador – Bahia – Brazil, 5-9.08.2012.*
- Den Hartog G., De Vries-Reilingh G., Wehrmaker A. M., Savelkoul H. F. J., Parmentier H. K., Lammers A.: Intestinal immune maturation is accompanied by temporal changes in the composition of the microbiota. *Benef. Microbes* 2016, 7, 677-685.
- Derache D., Esnault E., Bonsergent C., Vern Y. L., Quéré P., Lalmanach A.-Ch.: Differential modulation of β -defensin gene expression by *Salmonella Enteritidis* in intestinal epithelial cells from resistant and susceptible chicken inbred lines. *Develop. Compar. Immunol.* 2009, 33, 959-966.
- Derrien M., Collado M. C., Ben-Amor K., Salminen S., de Vos W. M.: The Mucin degrader *Akkermansia muciniphila* is an abundant resident of the human intestinal tract. *Appl. Environ. Microbiol.* 2008, 74, 1646-1648.
- Derrien M., van Passel M. W., van de Bovenkamp J. H., Schipper R. G., de Vos W. M., Dekker J.: Mucin-bacterial interactions in the human oral cavity and digestive tract. *Gut Microbes* 2010, 1, 254-268.
- Eastwood M.: Physicochemical properties of dietary fibre in the foregut, [w:] Cherbut C., Barry J. L., Lairan D., Durand M. (red.): *Dietary Fibre: Mechanisms of action in human physiology and metabolism*. John Libbey Eurotext, Paryż 1995, s. 17-28.
- Emami N. K., Daneshmand A., Naeini S. Z., Graystone E. N., Broom L. J.: Effects of commercial organic acid blends on male broilers challenged with *E. coli* K88: Performance, microbiology, intestinal morphology, and immune response. *Poult. Sci.* 2017, doi: 10.3382/ps/pep106.
- Fink L. N., Zeuthen L. H., Christensen H. R., Morandi B., Frokiaer H., Ferlazzo G.: Distinct gut-derived lactic acid bacteria elicit divergent dendritic cell-mediated NK cell responses. *Int. Immunol.* 2007, 19, 1319-1327.
- Gross R., Simon J.: The *hydE* genes essential for the formation of *Wolinella succinogenes* NiFe-hydrogenase. *Fems Microbiol. Lett.* 2003, 227, 197-202.
- Hammons S., Lyn Oh P. L., Martinez I., Kenzi Clark K., Vicki L., Schlegel V. L., Sitorius E., Sheila E., Scheideler S. E., Walter J.: A small variation in diet influences the *Lactobacillus* strain composition in the crop of broiler chickens. *Syst. App. Microbiol.* 2010, 33, 275-281.
- Hegde S. E., Rolls B. A., Coates M. E.: The effects of the gut microflora and dietary fibre on energy utilization by the chick. *Br. J. Nutr.* 1982, 48, 73-80.
- Hillier L. W., Miller W., Birney E., Warren W., Hardison R. C.: Sequence and comparative analysis of the chicken genome provide unique perspectives on vertebrate evolution. *Nature* 2004, 432, 695-716.
- Hong Y. H., Song W., Lee S. H., Lillehoj H. S.: Differential gene expression profiles of β -defensins in the crop, intestine, and spleen using a necrotic enteritis model in 2 commercial broiler chicken lines. *Poultry Sci.* 2012, 91, 1081-1088.
- Howlett R. M., Hughes B. M., Hitchcock A., Kelly D. J.: Hydrogenase activity in the footborne pathogen *Campylobacter jejuni* depends upon a novel ABC-type nickel transporter (NikZYXWV) and is SlyD-independent. *Microbiology* 2012, 158, 1645-1655.
- Hubener K., Vahjen W., Simon O.: Bacterial responses to different dietary cereal types and xylanase supplementation in the intestine of broiler chicken. *Arch. Anim. Nutr.* 2002, 56, 167-187.
- Hughes R. J.: Relationship between digesta transit time and apparent metabolisable energy value of wheat in chickens. *Br. Poultry Sci.* 2008, 49, 716-720.
- Hume M. E., Kubena L. F., Edrington T. S., Donskey C. J., Moore R. W., Ricke S. C., Nisbet D. J.: Poultry digestive microflora biodiversity as indicated by denaturing gradient gel electrophoresis. *Poultry Sci.* 2003, 82, 1100-1107.
- Immerseel F. van, Boyen F., Gantois I., Timmermont L., Bohez L., Pasmans F., Haesebrouck F., DuCatelle R.: Supplementation of coated butyric acid in the feed reduces colonization and shedding of *Salmonella* in poultry. *Poultry Sci.* 2005, 84, 1851-1856.

38. Jia W., Slominski B. A., Bruce H. L., Blank G., Crow G., Jones O.: Effects of diet type and enzyme addition on growth performance and gut health of broiler chickens during subclinical *Clostridium perfringens* challenge. *Poultry Sci.* 2009, 88, 32-40.
39. Józefiak D., Rutkowski A., Martin S. A.: Carbohydrate fermentation in the avian ceca: a review. *Anim. Feed Sci. Tech.* 2004, 113, 1-15.
40. Karasawa Y.: Significant role of the nitrogen recycling system through the ceca occurs in protein-depleted chickens. *J. Exp. Zool.* 1999, 283, 418-425.
41. Karpińska E., Blaszczyk B., Kosowska G., Degórski A., Binek M., Borzemska W.: Growth of the intestinal anaerobes in the newly hatched chicks according to the feeding and providing with normal gut flora. *Bull. Vet. Inst. Pulawy* 2001, 45, 105-109.
42. Kelsall B. L.: Innate and adaptive mechanisms to control pathological intestinal inflammation. *J. Pathol.* 2008, 214, 242-259.
43. Killer J., Marounek M.: Fermentation of mucin by bifidobacteria from rectal samples of humans and rectal and intestinal samples of animals. *Folia Microbiol. (Praha)* 2011, 56, 85-89.
44. Latshaw J. D., Zhao L.: Dietary protein effects on hen performance and nitrogen excretion. *Poultry Sci.* 2011, 90, 99-106.
45. Lawley T. D., Bouley D. M., Hoy Y. E., Gerke C., Relman D. A., Monack D. M.: Host transmission of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium is controlled by virulence factors and indigenous intestinal microbiota. *Infect. Immun.* 2008, 76, 403-416.
46. LeBlanc J. G., Milani C., de Giori G. S., Sesma F., van Sinderen D., Ventura M.: Bacteria as vitamin suppliers to their host: a gut microbiota perspective. *Curr. Opin. Biotechnol.* 2013, 24, 160-168.
47. Lei F., Yin Y., Wang Y., Deng B., Yu H. D., Li L., Xiang C., Wang S., Zhu B., Wang X.: Higher-level production of volatile fatty acids in vitro by chicken gut microbiotas than by human gut microbiotas as determined by functional analyses. *Appl. Environ. Microbiol.* 2012, 78, 5763-5772.
48. Li G. H., Hong Z. M., Jia Y. J., You J. M., Zhang J. H., Liu B. S.: Probiotic *Lactobacilli* stimulate avian beta-defensin 9 expression in cultured chicken small intestinal epithelial cells. *Proc. Nutrition Society* 2012, 71 (OCE3), E239.
49. Louis P., Flint H. J.: Diversity, metabolism and microbial ecology of butyrate-producing bacteria from the human large intestine. *Fems Microbiol. Lett.* 2009, 294, 1-8.
50. Louis P., McCrae S. I., Charrier C., Flint H. J.: Organization of butyrate synthetic genes in human colonic bacteria: phylogenetic conservation and horizontal gene transfer. *Fems Microbiol. Lett.* 2007, 269, 240-247.
51. Lu J., Idris U., Harmon B., Hofacre C., Maurer J. J., Lee M. D.: Diversity and succession of the intestinal bacterial community of the maturing broiler chicken. *Appl. Environ. Microbiol.* 2003, 69, 6816-6824.
52. Macfarlane S., Macfarlane G. T.: Regulation of short-chain fatty acid production. *P. Nutr. Soc.* 2003, 62, 67-72.
53. Madajczak G., Kizerwetter M., Binek M.: Zjawiska odpornościowe i immunoprofilaktyka w salmonellozie. *Med. Weter.* 2003, 59, 287-292.
54. Margolles A., Fernández-García M., de los Reyes-Gavilán C. G., Ruas-Madiedo P.: Mucin degradation by *Bifidobacterium* strains isolated from the human intestinal microbiota. *Appl. Environ. Microbiol.* 2006, 74, 1936.
55. McWhorter T. J., Caviedes-Vidal E., Krasov W. H.: The integration of digestion and osmoregulation in the avian gut. *Biol. Rev.* 2009, 84, 533-565.
56. Medie F. M., Davies G. J., Drancourt M., Henrissat B.: Genome analyses highlight the different biological roles of cellulases. *Nat. Rev. Microbiol.* 2012, 10, 227-U.
57. Meimandipour A., Soleimanifarjam A., Azhur K., Hair-Bejo M., Shuhaimi M., Nateghi L., Yazid A. M.: Age effect on short chain fatty acids concentration and pH values in the gastrointestinal tract of broiler chickens. *Arch. Geflügelk.* 2011, 75, 164-168.
58. Pan D., Yu Z.: Intestinal microbiome of poultry and its interaction with host and diet. *Gut Microbes* 2014, 5, 95-106.
59. Pope P. B., Denman S. E., Jones M., Tringe S. G., Barry K., Malfalis S. A., McHardy A. C., Heng J. F., Hugenholtz P., McSweeney C. S., Morrison M.: Adaptation to herbivory by the Tamar wallaby includes bacterial and glycoside hydrolase profiles different from other herbivores. *P. Natl. Acad. Sci. USA* 2010, 107, 14793-14798.
60. Prasai T. P., Walsh K. B., Bhattarai S. P., Midmore D. J., Van T. T. H., Moore R. J., Stanley D.: Zeolite food supplementation reduces abundance of enterobacteria. *Microbiol. Res.* 2017, 195, 24-30.
61. Rinttilä T., Apajalahti J.: Intestinal microbiota and metabolites – Implications for broiler chicken health and performance. *J. Appl. Poultry Res.* 2013, 22, 647-658.
62. Saengkerdsud S., Anderson R. C., Wilkinson H. H., Kim W. K., Nisbet D. J., Ricke S. C.: Identification and quantification of methanogenic archaea in adult chicken ceca. *Appl. Environ. Microb.* 2007, 73, 353-356.
63. Schokker D., Jansman A. J. M., Veninga G., de Bruin N., Vastenhouw S. A., de Bree F. M., Bossers A., Rebel J. M. J., Smits M. A.: Perturbation of microbiota in one-day old broiler chickens with antibiotic for 24 hours negatively affects intestinal immune development. *BMC Genomics* 2017, 18, 241.
64. Sergeant M. J., Constantinidou Ch., Cogan T. A., Bedford M. R., Penn Ch. W., Pallen M. J.: Extensive microbial and functional diversity within the chicken cecal microbiome. *PLoS ONE* 2014, 9, e91941.
65. Shakouri M. D., Lji P. A., Mikkelsen L. L., Cowieson A. J.: Intestinal function and gut microbiota of broiler chickens as influenced by cereal grains and microbial enzyme supplementation. *Animal Physiol. Animal Nutr.* 2009, 93, 647-658.
66. Shojadoost B., Vinceand A. R., Prescott J. F.: The successful experimental induction of necrotic enteritis in chickens by *Clostridium perfringens* a critical review. *Vet. Res.* 2012, 43, 74.
67. Simon O., Männer K., Schäfer K., Sagredos A., Eder K.: Effects of conjugated linoleic acids on protein to fat proportions, fatty acids, and plasma lipids in broilers. *Eur. J. Lip. Sci. Technol.* 2000, 102, 402-410.
68. Siragusa G. R., Wise M. G.: Quantitative analysis of the intestinal bacterial community in one- to three-week-old commercially reared broiler chickens fed conventional or antibiotic-free vegetable-based diets. *J. Appl. Microbiol.* 2007, 102, 1138-1149.
69. Stams A. J. M.: Metabolic interaction between anaerobic-bacteria in methanogenic environments. *Anton Leeuw. Int. J. G.* 1994, 66, 271-294.
70. Stecher B., Robbiani R., Walker A. W., Westendorf A. M., Barthel M., Kremer M., Chaffron S., Macpherson A. J., Buer J., Parkhill J., Dougan G., von Mering C., Hardt W. D.: *Salmonella enterica* serovar Typhimurium exploits inflammation to compete with the intestinal microbiota. *PLoS Biol.* 2007, 5, 2177-2189.
71. Sunkara L. T., Achanta M., Schreiber N. B., Bommineni Y. R., Dai G., Jiang W., Lamont S., Lillehoj H. S., Beker A., Teeter R. G., Zhang G.: Butyrate enhances disease resistance of chickens by inducing antimicrobial host defense peptide gene expression. *PLoS ONE* 2011, 6, e27225.
72. Vignais P. M., Billoud B.: Occurrence, classification, and biological function of hydrogenases: An overview. *Chem. Rev.* 2007, 107, 4206-4272.
73. Vispo C., Karasov W. H.: The interaction of avian gut microbes and their host: An elusive symbiosis, [w:] Mackie R. I., White B. A. (red.): *Gastrointestinal Microbiology*. Springer US, t. 1, Nowy York 1997, s. 116-155.
74. Wei S., Morrison M., Yu Z.: Bacterial census of poultry intestinal microbiome. *Poultry Sci.* 2013, 92, 671-683.
75. Wielen van Der P. W., Biesterveld S., Notermans S., Hofstra H., Urlings B. A., van Knapen F.: Role of volatile fatty acids in development of the cecal microflora in broiler chickens during growth. *Appl. Environ. Microbiol.* 2000, 66, 2536-2540.
76. Yeoman C. J., Chia N., Jeraldo P., Sipos M., Goldenfeld N. D., White B. A.: The microbiome of the chicken gastrointestinal tract. *Animal Health Research Reviews* 2012, 13, 89-99.
77. Zduńczyk Z., Jankowski J., Rutkowski A., Sosnowska E., Drazbo A., Zduńczyk P., Juśkiewicz J.: The composition and enzymatic activity of gut microbiota in laying hens fed diets supplemented with blue lupine seeds. *Anim. Feed Sci. Tech.* 2014, 191, 57-66.
78. Zhao L., Wong G., Siegel P., He Ch., Wang H., Zhao W., Zhai Z., Tian F., Zhao J., Zhang H., Sun Z., Chen W., Zhang Y., Meng H.: Quantitative Genetic Background of the host influences gut microbiomes in chickens. *Sci. Rep.* 2013, 3, 1163.
79. Zhou J. S., Gopal P. K., Gill H. S.: Potential probiotic lactic acid bacteria *Lactobacillus rhamnosus* (HN001), *Lactobacillus acidophilus* (HN017) and *Bifidobacterium lactis* (HN019) do not degrade gastric mucin in vitro. *Inter. J. Food Microbiol.* 2001, 63, 81-90.
80. Zhou W., Wang Y., Lin J.: Functional cloning and characterization of antibiotic resistance genes from the chicken gut microbiome. *Appl. Environ. Microbiol.* 2012, 78, 3028-3032.