

Животноводство и кормопроизводство. 2024. Т. 107, № 4. С. 242-254.
Animal Husbandry and Fodder Production. 2024. Vol. 107, no 4. P. 242-254.

ФИЗИОЛОГИЯ ЖИВОТНЫХ

Научная статья
УДК 636.223.1
doi:10.33284/2658-3135-107-4-242

Кишечный микробиом и функциональный прогноз метаболических путей, связанных с накоплением жировой и мышечной ткани у мясного скота

Виталий Александрович Рязанов¹, Владимир Иванович Колпаков²,
Екатерина Ивановна Тарасова³, Алексей Николаевич Ручай⁴

¹²³⁴Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий Российской академии наук, Оренбург, Россия

¹vita7456@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0903-9561>

²vkolpakov056@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9658-7034>

³ekaterina45828@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6325-7389>

⁴ran@csu.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5996-669X>

Аннотация. Снижение экономических потерь, улучшенное использование кормов, сохранение здоровья и повышение качества готовой продукции в животноводческой отрасли – основные задачи, которые необходимо решить. Учёные всего мира уже предлагают использовать животных по их генетическому отбору, характеризующему качественные фенотипические признаки. Применяются способы измерения внешних данных и мясных качеств крупного рогатого скота с использованием передовых систем распознавания тел живых животных, включающих камеры глубины и мягкой реконструкции трехмерной формы. Тем не менее одним из критериев оценки животных может быть анализ генетического банка микроорганизмов, тесно связанного с функциональной активностью пищеварительной системы животного. Комплексная оценка экспрессии генов, таксономической структуры микробиома, экстерьерных характеристик и мясной продуктивности в совокупности будет давать более точные прогнозы по использованию, отбору животных. В нашем исследовании приводятся результаты метагеномного секвенирования (NGS) кишечного содержимого молодняка (n=40), выращиваемого на откормочной площадке, и проводится аннотация связи микробиома с его живым весом и степенью мраморности, предсказываются метаболические пути, с которыми были связаны эти гены. В ходе анализа (LEfSe) установлено таксономическое отличие в кишечном содержимом у животных, имеющих высокую и низкую живую массу, рода *Clostridium sensu stricto*, *Clostridium XIVa*, *Treponema*, преобладали у животных, имеющих более низкую живую массу.

Ключевые слова: крупный рогатый скот, телки, абердин-ангусская порода, живая масса, мраморность, микробиом кишечника, функциональный прогноз, метаболические пути

Благодарности: работа выполнена в соответствии с планом НИР за 2024-2026 гг. ФГБНУ ФНЦ БСТ РАН (№ FNWZ-2024-0003).

Для цитирования: Кишечный микробиом и функциональный прогноз метаболических путей, связанных с накоплением жировой и мышечной ткани у мясного скота / В.А. Рязанов, В.И. Колпаков, Е.И. Тарасова, А.Н. Ручай // Животноводство и кормопроизводство. 2024. Т. 107, № 4. С. 242-252. <https://doi.org/10.33284/2658-3135-107-4-242>

PHYSIOLOGY OF ANIMALS

Original article

Gut microbiome and functional prediction of metabolic pathways associated with fat and muscle tissue accumulation in beef cattleVitaly A Ryazanov¹, Vladimir I Kolpakov², Ekaterina I Tarasova³, Alexey N Ruchay⁴^{1,2,3,4} Federal Research Centre of Biological Systems and Agrotechnologies of the Russian Academy of Sciences, Orenburg, Russia¹vita7456@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0903-9561>²vkolpakov056@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9658-7034>³ekaterina45828@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6325-7389>⁴ran@csu.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5996-669X>

Abstract. Reducing economic losses, improving feed utilization, maintaining health and improving the quality of finished products in the livestock industry are the main tasks that need to be solved. Scientists around the world are already proposing to use animals based on their genetic selection, which characterizes high-quality phenotypic traits. Methods are used to measure the external data and meat qualities of cattle using advanced systems for recognizing live animal bodies, including depth cameras and soft reconstruction of three-dimensional shape. However, one of the criteria for assessing animals can be the analysis of the genetic bank of microorganisms, closely related to the functional activity of the animal's digestive system. A comprehensive assessment of gene expression, taxonomic structure of the microbiome, exterior characteristics and meat productivity in combination will provide more accurate forecasts for the use and selection of animals. Our study presents the results of metagenomic sequencing (NGS) of the intestinal contents of young animals (n=40) raised in a feedlot, and annotates the association of the microbiome with their live weight and marbling degree, predicting the metabolic pathways with which these genes were associated. The analysis (LEfSe) revealed a taxonomic difference in the intestinal contents of animals with high and low live weight, the genera *Clostridium sensu stricto*, *Clostridium XIVa*, *Treponema* were predominant in animals with lower live weight.

Keywords: cattle, heifers, Aberdeen Angus breed, live weight, marbling, intestinal microbiome, functional prognosis, metabolic pathways

Acknowledgments: the work was performed in accordance to the plan of research works for 2024-2026 FSBRI FRC BST RAS (No. FNWZ-2024-0003).

For citation: Ryazanov VA, Kolpakov VI, Tarasova EI, Ruchay AN. Gut microbiome and functional prediction of metabolic pathways associated with fat and muscle tissue accumulation in beef cattle. *Animal Husbandry and Fodder Production*. 2024;107(4):242-254. (In Russ.). <https://doi.org/10.33284/2658-3135-107-4-242>

Введение.

Отбор и селекция крупного рогатого скота с наилучшими продуктивными показателями зачастую основываются на анализе экспрессии генов с выявлением множества функциональных локусов, связанных с фенотипическими проявлениями организма (Al-Husseini W et al., 2014; Gerasimov NP et al., 2023). Также благодаря развитию науки стали применяться способы и методы оценки животных, облегчающие экспертизу выявления полезных признаков (Ruchay A et al., 2022). В последнее время исследователи с целью улучшения стада и показателей продуктивности стали уделять больше внимания генетическому банку микроорганизмов, населяющих различные отделы пищеварительного тракта животного (Jami E and Mizrahi I, 2012; Dervabin D et al., 2024), для возможности расширения комплексной оценки животных. Микроорганизмам отводится важная роль в ферментировании структурных и неструктурных углеводов (Gharechahi J et al., 2021) на протяжении всего пищеварительного пути (Xu Q et al., 2021), большинство заболеваний животных также тесно связано с ними (Jang D et al., 2018). Так, известно о связи между таксономической структурой бактериального сообщества и остаточным потреблением корма (Lopes DRG et al., 2021; Liu Y et al., 2022), от данного показателя зависит, на сколько животное будет продуктивнее (Jiang H et al., 2021; Chen B et al., 2022). Имеются данные о связи бактерий и образовании различных веществ, принимающих участие в метаболизме (Moszak M et al., 2020). К основным отрядам, участвующим в ферментации углеводов у крупного рогатого скота, относят *Bacteroidales* и *Clostridiales*, *Ruminococcus* и *Fibrobacter*, а также *Succinivibrionaceae* (Wallace RJ et al., 2015).

От выработки тех или иных белков и ферментов будут зависеть пути накопления и формирования мышечной и жировой ткани в организме (Hart EH et al., 2018), что в конечном итоге характеризует качество продукции (Li Z et al., 2023). Результаты исследований *in vitro* (Lebeis SL et al., 2015) показали, что гены организма влияют на формирование микробного сообщества. По всей видимости, данное явление связано со способностью прокариотов приобретать ДНК из окружающей их среды посредством механизмов горизонтального переноса генов (Tabrett A and Horton MW, 2020).

Таким образом, изучение таксономической структуры бактериального сообщества и её функциональной связи с метаболическими реакциями в организме крупного рогатого скота, сопряжёнными с фенотипическими проявлениями, остаётся интересной и актуальной задачей.

Цель исследования.

Выявить различия в таксономической структуре кишечного содержимого у мясного скота и определить взаимосвязь между показателями фенотипических характеристик (живая масса и степень мраморности) и кишечным микробиомом.

Материалы и методы исследования.

Объект исследования. Молодняк (тёлки) крупного рогатого скота абердин-ангусской породы. Обслуживание животных и экспериментальные исследования были выполнены в соответствии с инструкциями и рекомендациями нормативных актов: Модельный закон Межпарламентской Ассамблеи государств-участников Содружества Независимых Государств "Об обращении с животными", ст. 20 (постановление МА государств-участников СНГ № 29-17 от 31.10.2007 г.), протоколы Женевской конвенции и принципы надлежащей лабораторной практики (Национальный стандарт Российской Федерации ГОСТ Р 53434-2009), Руководство по работе с лабораторными животными (http://fncbst.ru/?page_id=3553). При проведении исследований были предприняты меры для обеспечения минимума страданий животных и уменьшения количества исследуемых опытных образцов. Все процедуры над животными были выполнены в соответствии с правилами Комитета по этике животных ФНЦ БСТ РАН.

Схема эксперимента. Животные (n=40) содержались в отдельной группе на откормочной площадке в Костромской области (Россия). Они были одного пола и возраста (532±1,43 дня). Условия кормления и содержания стандартизированы для всей группы. Тёлкам давали кормосмесь, состоящую из сочных и концентрированных кормов. Рацион содержал 53,5 % сухого вещества, 11,75 % белка, 10,3 % клетчатки, 2,35 % жира, 5,4 % золы. По завершении откорма скот был забит на коммерческой бойне, принадлежащей мясоперерабатывающему заводу. Животных идентифицировали с помощью RFID-чипа, а туши – с помощью меток и охлаждали в течение 24-48 часов после забоя. После охлаждения тушу разделяли на товарные куски. Морфологические характеристики животных оценивали в соответствии с рекомендациями, опубликованными Комитетом по контролю за содержанием и использованием лабораторных животных Федерального исследовательского центра биологических систем и агротехнологий Российской академии наук (ФНЦ БСТ РАН).

Образцы содержимого прямой кишки (*rectum*) в количестве (n=40) отбирали индивидуально от каждой головы, способом ручным захватом из ампулообразного расширения, с последующим помещением их в микропробирки типа «Eppendorf» объёмом 1,5 мл, содержащие консервант DNA/RNA Shield (Zymo Research, США). Хранение и транспортировку осуществляли до Испытательного центра ФНЦ БСТ РАН в морозильной камере.

Индексы альфа- и бета-разнообразия были рассчитаны в соответствии с рекомендациями (Liu YX et al., 2021) с использованием программы PAST 4.13, которые были представлены с помощью анализа основных координат (PCoA).

Определение генома микроорганизмов содержимого кишечника осуществляли с помощью системы секвенирования MiSeq («Illumina», США) методом секвенирования нового поколения (NGS). Тотальную ДНК из образцов содержимого кишечника выделяли при помощи набора FastDNA® SPIN Kit for Faeces («MP Biomedicals Inc.», Solon, OH, США) с использованием

лизирующего матрикса Lysing Matrix E. Образцы гомогенизировали на приборе TissueLyser LT («Qiagen», Venlo, Нидерланды). Время гомогенизации было увеличено до 5 минут по сравнению с протоколом производителя. Качество выделенной ДНК проверяли методом горизонтального электрофореза в 1 % агарозном геле, и спектрофотометрическим методом на приборе Nanodrop 8000 («Thermo Fisher Scientific», Waltham, MA, США). Концентрацию ДНК измеряли на приборе Qubit 4 Fluorometer («Life Technologies», Carlsbad, CA, США) при помощи набора dsDNA High Sensitivity Assay Kit.

Приготовление ДНК-библиотек выполнено в соответствии с протоколом Illumina (Part #15044223, Rev. B.). Ампликоны региона V3-4 гена 16S SSU rRNA были получены с использованием праймеров S-D-Bact-0341-b-S-17 и S-D-Bact-0785-a-A-21. Парноконцевое секвенирование ампликоновых ДНК-библиотек было выполнено на платформе Illumina MiSeq с использованием набора реактивов MiSeq Reagent Kit v.3 (600-cycle) («Illumina», San Diego, CA, США).

Данные секвенирования подвергались биоинформатической обработке поэтапно. Удаление праймеров-адаптеров (-g CCTACGGGAGGCAGCAGTG -G GACTACACGGGTATCTA -e 0.2 --discard-untrimmed), слияние (-fastq_mergepairs -fastq_maxdiffs 10 -fastq_pctid 80), фильтрация (fastq_filter: -minlen 400 (bp), -maxee 1,0), дупликация (-fastx_uniques), кластеризация на уровне 97 % (алгоритм UPARSE), глобальное выравнивание (usearch_global: -strand plus -id 0.97). Из дальнейшего анализа были удалены синглтоны и даблтоны (последовательности, встречающиеся однократно или дважды). Результаты секвенирования обрабатывали с использованием пакета анализа данных MATLAB R2020a (9.12.0.1884302) («MathWorks, Inc.», США).

Прогнозирование функциональной связи метагенома кишечника и хозяйственных признаков осуществляли с помощью инструмента PICRUSt1 с базой данных KEGG PATHWAY: Metabolic pathways (KEGG ENZYME). Результат анализа предсказывал количество генов, участвующих в метаболических или химических путях.

Оборудование и технические средства. Исследования выполнены в ЦКП БСТ РАН (г. Оренбург) (<http://цкп-бст.рф>) и центра ЦКП «Персистенция микроорганизмов» (<https://ikvs.info/institut/labora-torii/czkip/>) Института клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН (г. Оренбург, Россия).

Статистическая обработка. Линейную корреляцию между показателями живой массы животных и бактериальным сообществом рассчитывали с помощью пакета статистического анализа «GraphPad Software Prism 8.0.1» («GraphPad Software Inc.», США), где в качестве переменных выступали определённые OTUs. Проверку репрезентативности, статистический анализ полученных данных и построение графиков осуществляли с помощью программного обеспечения «GraphPad Software Prism 8.0.1» (США). Данные считались высоко достоверными при $P \leq 0,01$, $P \leq 0,05$ – значимость, $P \leq 0,1$ – различия на уровне статистической тенденции.

Результаты исследований.

Для сравнения исследуемых показателей животные были разделены на две группы по 20 голов в каждой по следующему принципу – в группу со средней живой массой m_1 ($601,2 \pm 2,63$ кг) вошли животные, имеющие качество мраморности Top Choice, Choice, в группу m_2 – со средней живой массой ($644,8 \pm 2,84$ кг) и степенью накопления жира Prime, Choice.

Таксономическая структура микробиомов кишечного содержимого в группах животных с живой массой m_1 и m_2 . Общее количество полученных последовательностей составило 874 137, которые были сгруппированы в 22 119 OTU с кластеризацией на уровне 97 %. В кишечном содержимом присутствовали типы бактерий, в наибольшей доле относящиеся к *Firmicutes* (67,0-67,7 %) и *Bacteroidetes* (20,8-21,2 %), в меньшей доле (2,6-7,3 %) присутствовали типы бактерий, относящиеся к *Proteobacteria*, unclassified *Bacteria*, *Spirochaetes*, *Actinobacteria*, *Candidatus Saccharibacteria*, *Tenericutes*, *Elusimicrobia*, *Campilobacterota*, *Verrucomicrobia*, *Synergistetes*, *Fibrobacteres*. В группе животных с живой массой m_1 не установлено наличие бактерий филума *Lentisphaerae*, *Deinococcus-Thermus*, в то время как в группе животных с живой массой m_2 данные типы бактерий были обнаружены в самой незначительной доле по отношению ко всем выявленным микроорганизмам (0,0057-0,0006 %) (рис. 1).

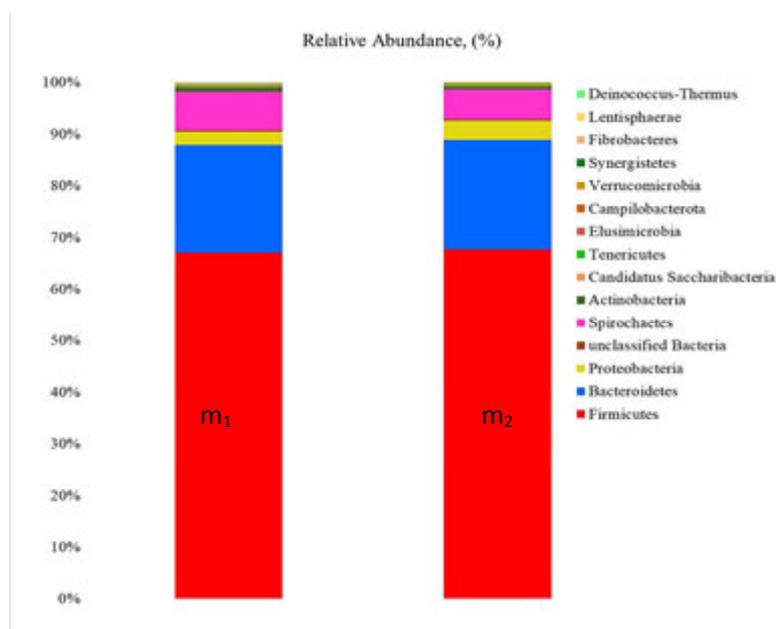


Рисунок 1. Относительное обилие микроорганизмов кишечного содержимого на уровне филумов для животных с живым весом m_1 и m_2 , %

Figure 1. Relative abundance of microorganisms in the intestinal content at the phylum level for animals with live weights m_1 and m_2 , %

Рассчитанные показатели индексов альфа-разнообразия (Shannon (H), Evenness, Simpson 1-D) бактериального сообщества кишечного содержимого в непараметрическом тесте (t) существенно не различались между группами m_1 и m_2 ($t=0,51$, уровень значимости $P=0,60$), в то же самое время индекс Чоао-1 в сравнении между группами m_1 и m_2 чётко отразил различия в альфа-многообразии ($t=8,2$, уровень значимости $P \leq 0,0001$), являющемся мерой видового разнообразия, в пределах этих бактериальных сообществ (рис. 2a) и индекс, показатель видового богатства, Fisher alpha ($t=7,7$ достоверность различий $P \leq 0,0001$) (рис. 2b).

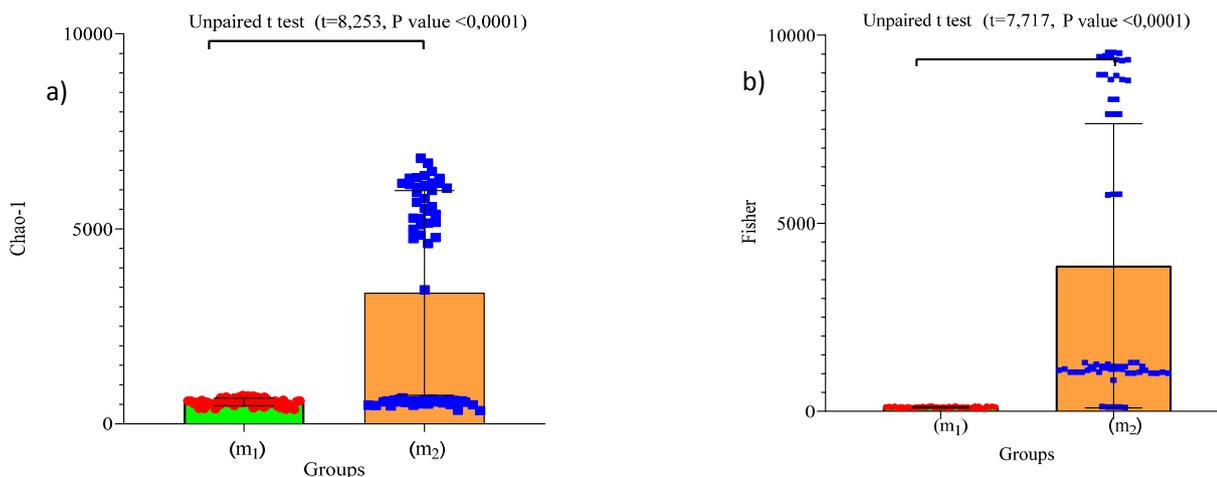


Рисунок 2. На рисунке представлены индексы альфа-разнообразия (a – Chao-1; b - Fisher-alpha)

Figure 2. The figure shows alpha diversity indices (a – Chao-1; b - Fisher-alpha)

Для определения более точного нахождения отличий в таксономической структуре кишечного содержимого на уровне рода в группах m_1 и m_2 был использован метод поиска различий Linear Discriminant Analysis Effect Size (LEfSe). Анализ выявил самые важные различия по семействам (рис. 3а) и родам (рис. 3б) для группы тёлоч с живой массой m_2 . Также установлено, у группы с живой массой m_1 доля бактерий в кишечном содержимом, представленная родами *Clostridium sensu stricto*, *Clostridium XIVa*, *Treponema*, была выше в среднем на 20,0 %, чем у группы m_2 . В группе m_2 доля родов с более высокими значениями OTU, относящихся к родам *Mediterraneibacter*, *Phascolarctobacterium*, *Succinivibrio*, *Monoglobus* и unclassified *Bacteroidales*, была больше, чем в группе m_1 .

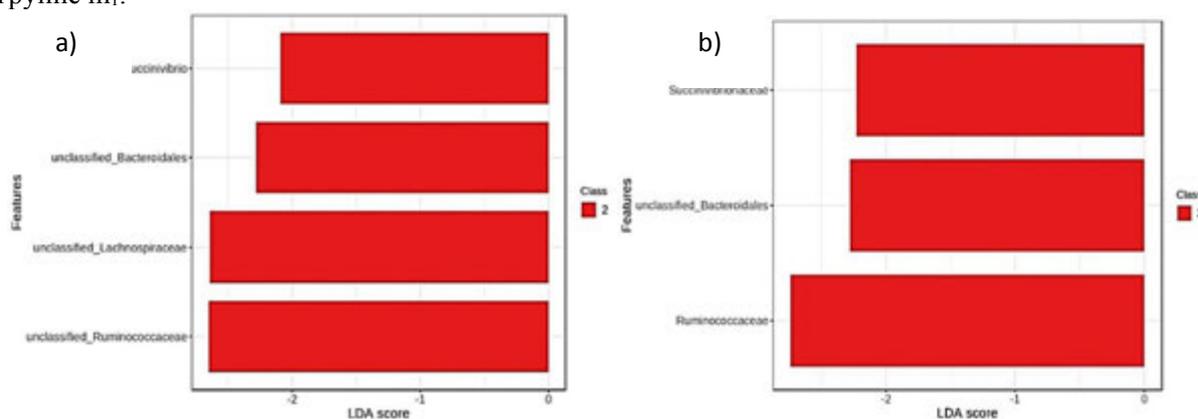


Рисунок 3. Линейный дискриминантный анализ (LDA) размера эффекта (LEfSe), размер эффекта был использован для расчёта таксонов, которые лучше всего различались между семействами (а) и родами (б) по группам m_1 и m_2

Figure 3. Linear discriminant analysis (LDA) of the effect size (LEfSe), the effect size was used to calculate the taxa that differed best between families (a) and genera (b) in groups m_1 and m_2

Чем меньше общих видов в сообществах или в разных точках градиента, тем выше бета-разнообразие, в группе животных с массой m_1 мера оценки степени различий или сходства Whittaker была больше, чем в группе m_2 (табл. 1). Значение Routledge, которое учитывает общее видовое богатство и степень совпадения видов, в группах m_1 и m_2 имело разные значения. Значения коэффициентов указывает на различия сообществ содержимого кишечника у исследуемых групп животных в тесте (Mann Whitney $P=0,7733$).

Таблица 1. Индексы бета-разнообразия образцов содержимого прямой кишки, (n=40)
Table 1. Indices of beta diversity of samples of the contents of the rectum, (n=40)

Группы/ Groups	Глобальное бета-разнообразие /Global beta diversities							
	Whittaker	Harrison	Cody	Routledge	Wilson-Shmida	Mourelle	Harrison 2	Williams
m_1	2,68	0,134	5885	0,35336	9,1728	0,45864	0	0
m_2	2,60	0,137	4456	0,33429	8,0967	0,42614	0,10408	0,66415

Количественное расстояние Брэя-Кертиса сравнения бактериальных сообществ, выявило контраст общей дисперсии на уровне 36,2 % и 19,9 %, что может характеризовать данные сообщества как разобщённые или разновидовые (рис. 4).

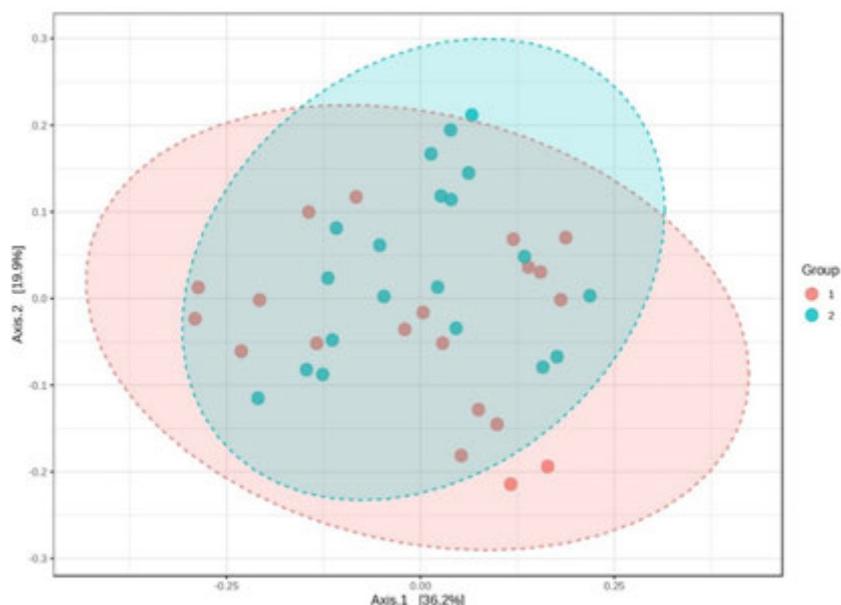
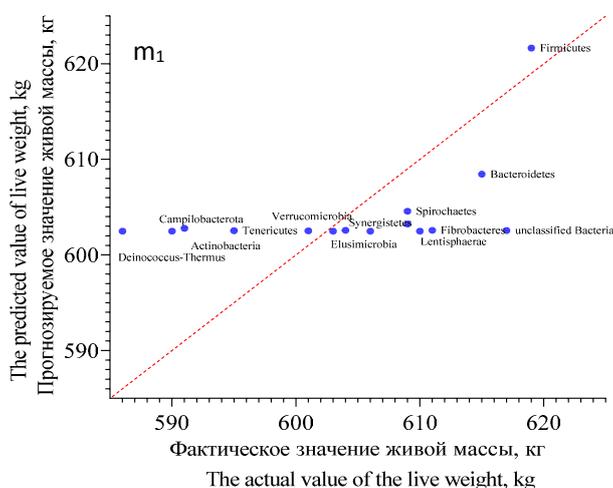


Рисунок 4. Анализ (PCoA) бета-разнообразия бактериального сообщества, содержимого кишечника, в соответствии с индексом Брэя-Кертиса, на уровне филума, на рисунке: 1 – m_1 , 2 – m_2 .

Figure 4. Analysis (PCoA) of the beta diversity of the bacterial community, intestinal contents, in accordance with the Bray-Curtis index, at the phylum level, in figure: 1 – m_1 , 2 – m_2 .

Оценка связи или изменения хозяйственных признаков, живой массы тела исследуемых животных с бактериальным сообществом кишечника имела общий вид уравнения линейной регрессии зависимости живой массы (y) и количества OTUs. В группе m_1 имеет вид $y(m_1)=600,7+0,0022*OTUs$, $R^2=0,98$ отображает точность построения математической модели и силу взаимосвязи между массой животного и значением OTUs, критерий Фишера был равен $F=72,9$ при значении $P=0,091$. В группе живой массы m_2 общий вид уравнения линейной регрессии представлен $y(m_2)=611,3+0,0612*OTUs$, $R^2=0,36$, критерий Фишера – $F=26,5$ при значении $P=9,36E-06$. Данные коэффициенты указывают на положительную корреляционную связь между значением массы животного и генным банком содержимого кишечника (рис. 5).



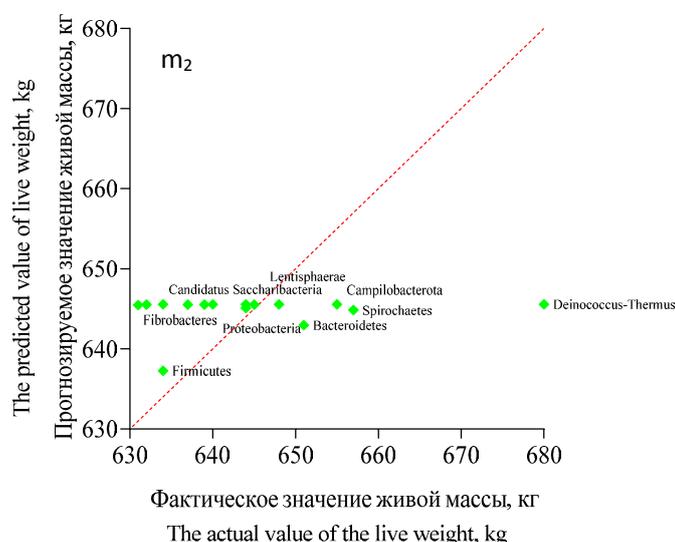


Рисунок 5. Модель, описывающая линейную связь между значениями живой массы животных и кишечным микробиомом на уровне выделенных филумов
 Figure 5. A model describing the linear relationship between the values of animal body weight and the intestinal microbiome at the level of isolated phylum

Оценка различий в метаболических путях у животных с различными фенотипическими проявлениями живой массы и степени мраморности. Учитывая, что группа животных со средней живой массой m_1 включала животных с разной степенью мраморности Top Choice и Choice, а группа m_2 состояла из тёлочек с категориями Prime и Choice, необходимо определить факторы, обуславливающие одинаковый живой вес животных, несмотря на различия в категории мраморности. С этой целью было проведено сравнение метаболических путей KEGG PATHWAY: Metabolic pathways (KEGG ENZYME) у данных животных.

Программа выявила различия в результатах анализа возможных метаболических путей у животных в зависимости от фенотипической характеристики (рис. 6). Так, программа сформировала и объединила в один кластер животных с живой массой m_1 и m_2 категорией Choice, в другой кластер также с массой m_1 и m_2 , но степенью мраморности Prime. Top Choice.

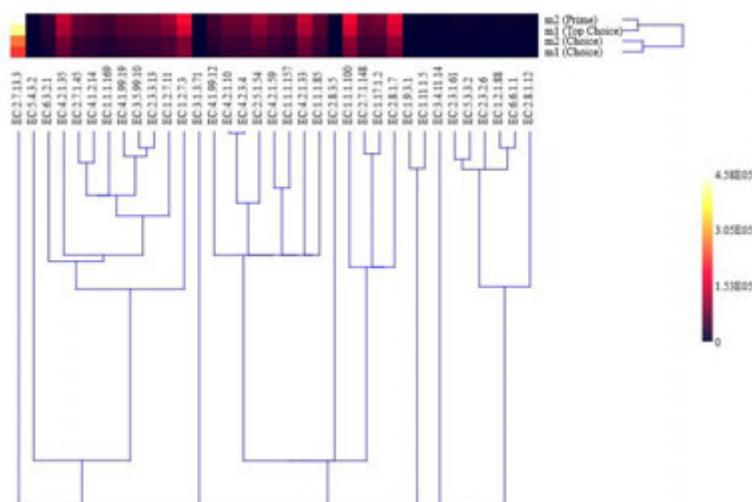


Рисунок 6. Иерархическая кластеризация метаболических путей (белковых ферментов), построенная методом невзвешенных парных групп со средним арифметическим (UPGMA)
 Figure 6. Hierarchical clustering of metabolic pathways (protein enzymes), constructed by the method of unweighted paired groups with arithmetic mean (UPGMA)

Существенное различие между этими кластерами было связано с функциональным назначением ферментов: EC:2.7.13.3 (Histidine kinase), EC:4.2.1.35 ((R)-2-methylmalate dehydratase), EC:1.2.7.3 (2-oxoglutarate synthase), EC:4.2.1.33 (3-isopropylmalate dehydratase), EC:1.1.1.100 (3-oxoacyl-(acyl-carrier-protein)-reductase), EC:2.8.1.7 (Cysteine desulfurase).

Обсуждение полученных результатов.

В результате проведённого анализа установленная таксономическая структура кишечного микробиома всех подопытных животных, разделённых по живой массе, была представлена филумами *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Proteobacteria*, *Spirochaetes*, unclassified *Bacteria*, *Verrucomicrobia*. При проведении метагеномного анализа данные филумы обнаруживаются в образцах содержимого рубца и кишечника крупного рогатого скота в различных исследованиях (Holman DB et al., 2024). Установление дифференциаций в составе бактериального сообщества кишечного содержимого выявило достоверное превышение доли бактерий родов *Clostridium sensu stricto*, *Clostridium XIVa*, *Treponema* в группе животных с низкой живой массой. В ряде работ, посвящённых изучению микробиома жвачных животных, отмечается роль для семейства *Clostridium*. Данные микроорганизмы способны образовывать большое количество аммиака, общего количества летучих жирных кислот, уксусной, пропионовой и масляной кислот, увеличивая среднесуточные привесы и переваримость структурных углеводов (Torres Manno MA et al., 2023; Xue L et al., 2022). В другом исследовании отмечается положительная роль *Clostridium sensu stricto*, связанная с регуляцией и метаболизмом липидного обмена и выработкой короткоцепочечных жирных кислот (Paster BJ et al., 1993).

Используя в исследовании метод поиска различий Linear Discriminant Analysis Effect Size (LEfSe), установлены самые важные различия в микробиоме для группы животных с высокой живой массой для родов *Succinivibrionaceae*, *Ruminococcaceae*, unclassified *Bacteroidales*. По некоторым данным более высокая относительная численность родов представителей *Ruminococcaceae* коррелируется с накоплением жира (Tang S et al., 2021), по другим данным, наличие представителей Клостридиальные у жвачных может коррелировать с накоплением межмышечного жира (Lei L et al., 2021). За пределами рассмотрения возраста, пола и питания микробиом кишечника и генетика животного оказываются двумя значимыми детерминантами в процессе отложения и накопления межмышечного и внутримышечного жира (Zheng Y et al., 2022). При установлении различий в коровом микробиоме животных, разделённых на три группы мраморности, с высокой статистической вероятностью были определены рода *Phocaeicola*, *Agathobacter*, *Prevotella*, *Phascolarctobacterium*, *Acutalibacter*, *Hungatella*, доля в бактериальном сообществе которых различалась в зависимости от мраморности. В группе животных со степенью мраморности Choice в отличие от группы с наивысшей степенью мраморности Prime присутствовали рода *Treponema*, *Streptococcus*, *Megasphaera*, *Alisonella*. Так, присутствие данных бактерий может поспособствовать формированию иммунной системы слизистой оболочки (Furusawa Y et al., 2013), бактерии рода *Agathobacter* считаются полезной микрофлорой (Rosero JA et al., 2016), наиболее значимое отличие данных микроорганизмов друг от друга заключается в способности синтезировать бутират, пропионат, ацетат (Chattopadhyay I et al., 2022), которые вырабатываются кишечной микробиотой и считаются основными в механизме липидного обмена посредством взаимодействия между глюкагоноподобным пептидом-1 (GLP-1) и рецепторами поверхности клеток, связанными с G-белком, такими как рецепторы GPR41 и GPR43 в кишечнике (Samuel BS et al., 2008; Psichas A et al., 2015). Различные виды кишечных бактерий находятся в ассоциативной связи с генами, участвующими в мышечном метаболизме (Li Y et al., 2020).

Ранее сообщалось о способности выживания некоторых микроорганизмов при участии гена гистидинкиназы в качестве регулятора pH в пищеварительной системе (Pflock M et al., 2004). Также известно, что у *Escherichia coli* K-12 MG1655:b3404 в образовании биоплёнки принимает участие гистидинкиназа (Roberts DL et al., 1994). В проведённом нами анализе установлены отличия в функциональном назначении ряда ферментов, участвующих в биосинтезе валина, лейцина и изо-

лейцина ((R)-2-methylmalate dehydratase) и фермента, являющегося частью пути биосинтеза лейцина (3-isopropylmalate dehydratase), как и для фермента (3-охоасил-(acyl-carrier-protein)-reductase), связанного с биосинтезом жирных кислот и метаболизмом биотина (Wang H and Cronan JE, 2004). Характерное различие обнаружено для фермента (Cysteine desulfurase), участвующего в биосинтезе железосернистых кластеров, таким образом у некоторых видов бактерий происходит биологическая фиксация азота (Zheng L et al., 1993).

Заключение.

В ходе нашего исследования была установлена таксономическая структура кишечного микробиома животных с разной живой массой. Выявлено достоверное превышение доли бактерий родов *Clostridium sensu stricto*, *Clostridium XIVa* и *Treponema* у животных с низкой живой массой. Эти микроорганизмы играют важную роль в метаболизме и влияют на мясную продуктивность животных.

С помощью метода LEfSe были обнаружены существенные различия в микробиоме животных с высокой живой массой, связанные с родами *Succinivibrionaceae*, *Ruminococcaceae* и unclassified *Bacteroidales*. Эти количественные различия могут быть связаны с накоплением жира и межмышечного жира у животных.

При разделении животных на три группы мраморности были выявлены различия в составе бактериального сообщества, связанные с родами *Phocaeicola*, *Agathobacter*, *Prevotella*, *Phascolarctobacterium*, *Acutalibacter* и *Hungatella*. Присутствие этих бактерий может способствовать формированию иммунной системы слизистой оболочки и синтезу короткоцепочечных жирных кислот, важных для липидного обмена.

Таким образом, исследование показало, что микробиом кишечника и фенотипические проявления животного находятся во взаимосвязи.

Список источников / References

1. Al-Husseini W, Gondro C, Quinn K, Herd RM, Gibson JP, Chen Y. Expression of candidate genes for residual feed intake in Angus cattle. *Animal Genetics*. 2014;45(1):12-19. doi: 10.1111/age.12092
2. Chattopadhyay I, Gundamaraju R, Jha NK, Gupta PK, Dey A, Mandal CC, Ford BM. Interplay between dysbiosis of gut microbiome, lipid metabolism, and tumorigenesis: can gut dysbiosis stand as a prognostic marker in cancer? *Dis Markers*. 2022;2022(1):2941248. doi: 10.1155/2022/2941248
3. Chen B, Li D, Leng D, Kui H, Bai X and Wang T. Gut microbiota and meat quality. *Front Microbiol*. 2022;13:951726. doi: 10.3389/fmicb.2022.951726
4. Deryabin D, Lazebnik C, Vlasenko L, Karimov I, Kosyan D, Zatevalov A, Duskaev G. Broiler chicken cecal microbiome and poultry farming productivity: a meta-analysis. *Microorganisms*. 2024;12(4):747. doi: 10.3390/microorganisms12040747
5. Furusawa Y, Obata Y, Fukuda S, et al. Commensal microbe-derived butyrate induces the differentiation of colonic regulatory T cells. *Nature*. 2013;504:446-450. doi: 10.1038/nature12721
6. Gerasimov NP, Dzhulamanov KM, Lebedev SV, Kolpakov VI. Effect of IGF-1 C472T, GH C2141G, and GHR T914A polymorphisms on growth performance and feed efficiency in young kazakh white-headed cattle. *Veterinary World*. 2023;16(8):1584-1592. doi: 10.14202/vetworld.2023.1584-1592
7. Gharechahi J, Vahidi MF, Bahram M, Han JL, Ding XZ, Salekdeh GH. Metagenomic analysis reveals a dynamic microbiome with diversified adaptive functions to utilize high lignocellulosic forages in the cattle rumen. *The ISME J*. 2021;15(4):1108-1120. doi: 10.1038/s41396-020-00837-2
8. Hart EH, Creevey CJ, Hitch T, Kingston-Smith AH. Meta-proteomics of rumen microbiota indicates niche compartmentalization and functional dominance in a limited number of metabolic pathways between abundant bacteria. *Sci Rep*. 2018;8:10504. doi: 10.1038/s41598-018-28827-7

9. Holman DB, Gzyl KE, Scott H, Cara Service, Prieto N, López-Campos Ó. Associations between the rumen microbiota and carcass merit and meat quality in beef cattle. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2024;108(1):287. doi: 10.1007/s00253-024-13126-1
10. Jami E, Mizrahi I. Similarity of the ruminal bacteria across individual lactating cows. *Anaerobe*. 2012;18(3):338-343. doi: 10.1016/j.anaerobe.2012.04.003
11. Jang D, Yoon J, Tate M, Lee W, Kwon T, Shin S, et al. Multivariate genome-wide association studies on tenderness of Berkshire and Duroc pig breeds. *Genes Genomics*. 2018;40:701-705. doi: 10.1007/s13258-018-0672-6
12. Jiang H, Fang S, Yang H, Chen C. Identification of the relationship between the gut microbiome and feed efficiency in a commercial pig cohort. *Journal of Animal Science*. 2021;99(3):skab045. doi: 10.1093/jas/skab045
13. Lebeis SL, Paredes SH, Lundberg DS, et al. Salicylic acid modulates colonization of the root microbiome by specific bacterial taxa. *Science*. 2015;349:860-864. doi: 10.1126/science.aaa8764
14. Lei L, Wang Z, Li J, Yang H, Yin Y, Tan B, et al. Comparative microbial profiles of colonic digesta between ningxiang pig and large white pig. *Animals*. 2021;11(7):1862. doi: 10.3390/ani11071862
15. Li Y, Cheng G, Yamada T, Liu J, Zan L, Tong B. Effect of expressions and SNPs of candidate genes on intramuscular fat content in qinchuan cattle. *Animals (Basel)*. 2020;10(8):1370. doi: 10.3390/ani10081370
16. Li Z, Cui R, Wang YB, Luo YB, Xue PX, Tang QG, Fang MY. Specific gastrointestinal microbiota profiles in Chinese Tan sheep are associated with lauric acid content in muscle. *BMC microbiology*. 2023;23(1):331. doi: 10.1186/s12866-023-03079-2
17. Liu Y, Wu H, Chen W, Liu C, Meng Q, Zhou Z. Rumen microbiome and metabolome of high and low residual feed intake angus heifers. *Frontiers in Veterinary Science*. 2022;9:812861. doi: 10.3389/fvets.2022.812861
18. Liu YX, Qin Y, Chen T, Lu M, Qian X, Guo X, Bai Y. A practical guide to amplicon and metagenomic analysis of microbiome data. *Protein & Cell*. 2021; 12(5):315-330. doi: 10.1007/s13238-020-00724-8
19. Lopes DRG, de Souza Duarte M, La Reau AJ, Chaves IZ, de Oliveira Mendes TA, Detmann E, Bento CBP, Mercadante MEZ, Bonilha SFM, Suen G, Mantovani HC. Assessing the relationship between the rumen microbiota and feed efficiency in Nellore steers. *Journal of Animal Science and Biotechnology*. 2021; 12(1):79. doi: 10.1186/s40104-021-00599-7
20. Moszak M, Szulińska M, Bogdański P. You are what you eat—the relationship between diet, microbiota, and metabolic disorders—a review. *Nutrients*. 2020;12(4):1096. doi: 10.3390/nu12041096
21. Paster BJ, Russell JB, Yang CM, Chow JM, Woese CR, Tanner R. Phylogeny of the ammonia-producing ruminal bacteria *Peptostreptococcus anaerobius*, *Clostridium sticklandii*, and *Clostridium aminophilum* sp. nov. *Int J Syst Bacteriol*. 1993;43(1):107-10. doi: 10.1099/00207713-43-1-107
22. Pflock M, Dietz P, Schar J, Beier D. Genetic evidence for histidine kinase HP165 being an acid sensor of *Helicobacter pylori*. *FEMS Microbiol Lett*. 2004;234(1):51-61. doi: 10.1016/j.femsle.2004.03.023
23. Psichas A, Sleeth ML, Murphy KG, et al. The short chain fatty acid propionate stimulates GLP-1 and PYY secretion via free fatty acid receptor 2 in rodents. *Int J Obes (Lond)*. 2015;39(3):424-429. doi: 10.1038/ijo.2014.153
24. Roberts DL, Bennett DW, Forst SA. Identification of the site of phosphorylation on the osmosensor, EnvZ, of *Escherichia coli*. *J Biol Chem*. 1994;269(12):8728-33.
25. Rosero JA, Killer J, Sechovcova H, Mrazek J, Benada O, Fliegerova K, Havlik J, Kopečný J. Reclassification of *Eubacterium rectale* (Hauduroy et al. 1937) Pre' vot 1938 in a new genus *Agathobacter* gen. nov. as *Agathobacter rectalis* comb. nov., and description of *Agathobacter ruminis* sp. nov., isolated from the rumen contents of sheep and cows. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 2016;66(2):768-773. doi: 10.1099/ijsem.0.000788
26. Ruchay A, Kober V, Dorofeev K, Kolpakov V, Gladkov A, Guo H. Live weight prediction of cattle based on deep regression of RGB-D images. *Agriculture*. 2022;12(11):1794. doi: 10.3390/agriculture12111794

27. Samuel BS, Shaito A, Motoike T, et al. Effects of the gut microbiota on host adiposity are modulated by the short-chain fatty-acid binding G protein-coupled receptor, Gpr41. *PNAS*. 2008;105(43):16767-16772. doi: 10.1073/pnas.0808567105
28. Tabrett A, Horton MW. The influence of host genetics on the microbiome. *F1000Res*. 2020;9(F1000 Faculty Rev):84. doi: 10.12688/f1000research.20835.1
29. Tang S, Zhong R, Yin C, Su D, Xie J, Chen L, Liu L, Zhang H. Exposure to high aerial ammonia causes hindgut dysbiotic microbiota and alterations of microbiota-derived metabolites in growing pigs. *Front Nutr*. 2021;8:689818. doi: 10.3389/fnut.2021.689818
30. Torres Manno MA, Gizzi FO, Martín M, Espariz M, Magni C, Blancato VS. Metagenomic approach to infer rumen microbiome derived traits of cattle. *World J Microbiol Biotechnol*. 2023;39(9):250. doi: 10.1007/s11274-023-03694-1
31. Wallace RJ, Rooke JA, McKain N, Duthie CA, Hyslop JJ, Ross DW, Waterhouse A, Watson M, Roehe R. The rumen microbial metagenome associated with high methane production in cattle. *BMC Genomics*. 2015;23(16):839. doi: 10.1186/s12864-015-2032-0
32. Wang H, Cronan JE. Only one of the two annotated *Lactococcus lactis* fabG genes encodes a functional beta-ketoacyl-acyl carrier protein reductase. *Biochemistry*. 2004;43(37):11782-11789. doi: 10.1021/bi0487600
33. Xu Q, Qiao Q, Gao Y, Hou J, Hu M, Du Y, Zhao K, Li X. Gut microbiota and their role in health and metabolic disease of dairy cow. *Frontiers in Nutrition*. 2021;8:701511. doi: 10.3389/fnut.2021.701511
34. Xue L, Wang D, Zhang F, Cai L. Prophylactic feeding of clostridium butyricum and saccharomyces cerevisiae were advantageous in resisting the adverse effects of heat stress on rumen fermentation and growth performance in goats. *Animals (Basel)*. 2022;12(18):2455. doi: 10.3390/ani12182455
35. Zheng L, White RH, Cash VL, Jack RF, Dean DR. Cysteine desulfurase activity indicates a role for NIFS in metallocluster biosynthesis. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1993;90(7):2754-2758. doi: 10.1073/pnas.90.7.2754
36. Zheng Y, Chen J, Wang X, Han L, Yang Y, Wang Q, et al. Metagenomic and transcriptomic analyses reveal the differences and associations between the gut microbiome and muscular genes in angus and chinese simmental cattle. *Front Microbiol*. 2022;13:815915. doi: 10.3389/fmicb.2022.815915

Информация об авторах:

Виталий Александрович Рязанов, кандидат сельскохозяйственных наук, старший научный сотрудник Лаборатории прецизионных технологий в сельском хозяйстве, Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий Российской академии наук, 460000, г. Оренбург, ул. 9 Января, 29, тел.: 8-922-807-71-00.

Владимир Иванович Колпаков, кандидат сельскохозяйственных наук, заведующий Лабораторией прецизионных технологий в сельском хозяйстве, Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий Российской академии наук, 460000, г. Оренбург, ул. 9 Января, 29, тел.: 8-987-341-77-02.

Екатерина Ивановна Тарасова, младший научный сотрудник Лаборатории молекулярно-генетических исследований и металломики в животноводстве, Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий Российской академии наук, 460000, г. Оренбург, ул. 9 Января, 29, тел.: 8-987-896-29-20.

Алексей Николаевич Ручай, кандидат физико-математических наук, старший научный сотрудник Лаборатории прецизионных технологий в сельском хозяйстве, Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий Российской академии наук, 460000, г. Оренбург, ул. 9 Января, 29, тел.: 8-908-058-97-04.

Information about the authors:

Vitaly A Ryazanov, Cand. Sci. (Agriculture), Senior Researcher at the Laboratory of Precision Technologies in Agriculture, Federal Research Centre of Biological Systems and Agrotechnologies of the Russian Academy of Sciences, 29 9 Yanvarya St., Orenburg, 460000, tel.: 8-922-807-71-00.

Vladimir I Kolpakov, Cand. Sci. (Agriculture), Head of the Laboratory of Precision Technologies in Agriculture, Federal Research Centre of Biological Systems and Agrotechnologies of the Russian Academy of Sciences, 29 9 Yanvarya St., Orenburg, 460000, tel.: 8-987-341-77-02.

Ekaterina I Tarasova, Junior Researcher, Laboratory of Molecular Genetic Research and Metallomics in Animal Husbandry, Federal Research Centre of Biological Systems and Agrotechnologies of the Russian Academy of Sciences, 29 9 Yanvarya St., Orenburg, 460000, tel.: 8-987-896-29-20.

Alexey N Ruchai, Cand. Sci. (Physical and Mathematical), Senior Researcher at the Laboratory of Precision Technologies in Agriculture, Federal Research Centre of Biological Systems and Agrotechnologies of the Russian Academy of Sciences, 29 9 Yanvarya St., Orenburg, 460000, tel.: 8-908-058-97-04.

Статья поступила в редакцию 25.09.2024; одобрена после рецензирования 28.10.2024; принята к публикации 16.12.2024.

The article was submitted 25.09.2024; approved after reviewing 28.10.2024; accepted for publication 16.12.2024.