

УДК 636.083.37:665.12

DOI: 10.33284/2658-3135-103-4-139

Оценка воздействия стеариновой кислоты (C_{18:0}) на количественный состав микробиома рубцовой жидкости молодняка крупного рогатого скота

В.А. Рязанов, Г.И. Левахин, Г.К. Дускаев, Б.С. Нуржанов, Е.В. Шейда, В.М. Габидулин
Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий Российской академии наук (г. Оренбург)

Аннотация. Липиды – одни из самых энергоёмких органических соединений, которые способны обогатить рационы жвачных животных. Жиры несут в себе жирорастворимые витамины, необходимые для нормального развития организма.

Большое внимание нужно уделить жирно-кислотному составу жиров, используемых в кормлении жвачных животных, которые состоят из насыщенных и ненасыщенных жирных кислот, однако жирные кислоты по-разному влияют на бактерии рубца. В нашем исследовании мы обратили внимание на изучение стеариновой кислоты (C_{18:0}), которая является насыщенной жирной кислотой и присутствует практически во всех жирах растительного происхождения.

В ходе исследования были определены группы бактерий рубцовой жидкости молодняка крупного рогатого скота под влиянием стеариновой кислоты.

Установлено, что использование жирной кислоты привело к смещению бактерий от грамположительных в сторону грамотрицательных. Так, наибольшие филумы составляли *Firmicutes* (54,6 %) для контрольной группы, с использованием стеариновой кислоты данный показатель составлял *Firmicutes* (25,1 %). Соотношение для контрольной группы для филума *Bacteroidetes* к опытным с использованием стеариновой кислоты составило 1:1,4.

Ключевые слова: крупный рогатый скот, бычки, кормление, стеариновая кислота, микробиом рубца.

UDC 636.083.37:665.12

Assessment of effect of stearic acid (C_{18:0}) on the quantitative composition of the rumen fluid microbiome of the young cattle

Vitaly A Ryazanov, Georgy I Levakhin, Galimzhan K Duskaev, Baer S Nurzhanov
Elena V Sheyda, Vyacheslav M Gabidulin
Federal Research Centre of Biological Systems and Agrotechnologies of the Russian Academy of Sciences (Orenburg, Russia)

Summary. Lipids are one of the most energy-intensive organic compounds that can enrich the diets of ruminants. Fats contain the fat-soluble vitamins necessary for normal development of the body.

Much attention should be paid to the fatty-acid composition of the fats used in ruminant feeding, which are composed of saturated and unsaturated fatty acids, but fatty acids have different effects on rumen bacteria. In our research we paid attention to the study of stearic acid (C_{18:0}), which is a saturated fatty acid and is contained almost in all vegetable fats.

In the process of research there were identified the groups of bacteria from the rumen fluid of young cattle under the influence of stearic acid.

It was found that the use of fatty acid caused the shift in bacteria from gram-positive to gram-negative. Thus, the largest phyla were *Firmicutes* (54.6%) for the control group, with the use of stearic acid this indicator was *Firmicutes* (25.1%). The ratio for the *Bacteroidetes* phylum of the control group to the experimental one using stearic acid was 1:1,4.

Key words: cattle, calf, feeding, stearic acid, rumen microbiome.

Введение.

Включение в рационы крупного рогатого скота жировых компонентов в течение длительного периода способствует увеличению переваримости сухого вещества корма и концентрации молочного жира. Однако данные процессы связаны с количеством жира и типом жирных кислот (Сафиулина Е.Б., 2009). Жирные кислоты, в частности ненасыщенные, могут влиять на рост некоторых групп бактерий рубца и подавлять синтез жира в молочной железе. С другой стороны, насыщенные жирные кислоты, например, пальмитиновая ($C_{16:0}$) и стеариновая ($C_{18:0}$), считаются инертными в рубце и не участвуют в депрессии молочного жира. Как правило, ненасыщенные жирные кислоты относительно токсичны для микробов рубца. Это особенно верно для видов, переваривающих клетчатку. Однако большинство микробов рубца имеют способность выводить токсины и снижать токсический эффект ненасыщенных жиров с помощью процесса, называемого «биогидрирование» (Owens FN et al., 1998; Vossenberg JLCM and Joblin KN, 2003; Jenkins TC et al., 2008). Имеются данные, что повышение уровня жиров и жирных кислот в рационе крупного рогатого скота тормозит процесс переваривания клетчатки в рубце, снижает переваривание органических веществ в передней части желудка. Однако большое количество ненасыщенных жирных кислот может подавлять эти процессы, оказывая воздействие на микробную популяцию рубца (Enjalbert F et al., 2017; Jiao S et al., 2017).

Отдельные виды рубцовой микробиоты (энтодиниоморфы и голотрихии) выработали в ходе эволюции возможность перестраивать ненасыщенные карбоновые кислоты в насыщенные, более поздние исследования подтверждают способность микроорганизмов рубца к биогадрогенизации (Aldai N et al., 2018).

В работах по изучению влияния различных форм жирных кислот установлено, что $C_{16:0}$ (пальмитиновая) и $C_{18:0}$ (стеариновая) кислоты не влияют на переваримость питательных веществ и на рубцовую ферментацию, а переваримость самих кислот зависит от их химической формы (Elliott JP et al., 1994). В другой работе (Liu C et al., 2019) указывается на то, что биосинтез жирных кислот: стеариновой, миристиновой, арахионовой зависит от типа корма.

Установлено влияние отдельных жирных кислот на рубцовый метаболизм, и микробную активность. Отмечалась стимуляция роста *M. ruminantium* при использовании $C_{10:0}$ (каприновая) и $C_{8:0}$ (каприловая), снижение количества простейших при использовании $C_{18:2}$ (линолевая), при небольших концентрациях $C_{10:0}$ (каприновая) и $C_{12:0}$ (лауриновая) активируют рост микроорганизмов *Butyrivibrio*. Добавление $C_{16:0}$ (пальмитиновая) и $C_{18:0}$ (стеариновая) не изменяло ферментации, и отдельно $C_{18:0}$ (стеариновая) подавляла выделение метана (Dohme F et al., 2001; Martin C et al., 2016), выявлена связь в потреблении сухого вещества и выделении метана (Lamp O et al., 2018) с относительным снижением родов, относящихся к *Succinivibrio*, *Ruminococcaceae* и *Ruminiclostridium*, и большим относительным содержанием рода *Bacteroidetes* в рубце при использовании липидной эмульсии, содержащей в своём составе стеариновую кислоту.

Результатами группы исследователей (Belenguer A et al., 2010) установлено изменение бактериального сообщества рубца под действием подсолнечного масла и рыбьего жира, которое зависело в большей степени от межиндивидуальной вариабельности самих бактерий рубца.

При изучении липолиза и биогадрогенирования рубцовой микробиоты большое внимание уделяют *Butyrivibrio* (Enjalbert F et al., 2017). Показано, что небольшие концентрации $C_{18:1}$ (олеиновая) кислоты не оказывают влияния на *Anaerovibrio lipolytica* (strain 5 S), *Peptostreptococcus elsdenii* (type 2), *Bacteroides ruminicola* 46/52 и *Selenomonas ruminantium* (strain 17). В той же работе отметили ингибирующий эффект для $C_{14:0}$ (миристиновая), $C_{16:0}$ (пальмитиновая) и $C_{18:0}$ (стеариновая) кислот в любых концентрациях.

Однако, хотя известен метаболизм и роль некоторых микробов рубца, остаётся трудным установление причинно-следственных связей между количественным и качественным составами микробиоты и течением обменных процессов в рубце в зависимости от ингредиентного состава рационов (Myer PR et al., 2015; Jami E et al., 2014).

Цель исследования.

Оценить влияние стеариновой кислоты на изменение количественного состава бактерий рубца молодняка крупного рогатого скота.

Материалы и методы исследования.

Объект исследования. Бычки красной степной породы средней массой 240-245 кг, в возрасте 12 месяцев.

Обслуживание животных и экспериментальные исследования были выполнены в соответствии с инструкциями и рекомендациями Russian Regulations, 1987 (Order No. 755 on 12.08.1977 the USSR Ministry of Health) и «The Guide for Care and Use of Laboratory Animals (National Academy Press Washington, D.C. 1996)». При выполнении исследований были предприняты меры, чтобы свести к минимуму страдания животных и уменьшения количества исследуемых опытных образцов.

Схема эксперимента. Отбор проб рубцового содержимого осуществляли на модели бычков красной степной породы с фистулой рубца ($n=3$). Исследования проводили методом латинского квадрата в период с 2019 по 2020 гг. в отделе кормления сельскохозяйственных животных и технологии кормов им. С.Г. Леушина ФГБНУ «Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий Российской академии наук». Отдельные физиологические опыты выполнены в условиях Покровского сельскохозяйственного колледжа-филиала ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный аграрный университет».

В эксперименте использована стеариновая кислота, соответствующая ГОСТ 6484-96.

Изучение микробиома рубца производили методом *in vitro* с использованием модели «искусственный рубец», с помощью инкубатора «ANKOM DaisyII» (модификации D200 и D200I) по специализированной методике.

С целью изучения влияния стеариновой кислоты ($C_{18:0}$) на микробиом рубца у фистульных животных через 3 часа после кормления брали пробы рубцового содержимого, которые фильтровали через 4 слоя марли, опираясь на ранее проведенные опыты (AbuGhazaleh AA and Jenkins TC, 2007). Исследуемую стеариновую кислоту добавляли в рубцовую жидкость в дозировке 1 мл на 100 мл рубцовой жидкости и инкубировали в искусственном рубце при постоянной $T +39\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение 24 часов в термостате. После инкубирования производили отбор рубцовой жидкости шприцом-дозатором Экохим ОПА-2-20 в микропробирки типа «Erpendorf» объемом 1,5 мл. Для анализа отбирали 1,5 мл субстрата рубцовой жидкости, по одной пробе для каждого образца.

Метагеномный анализ микроорганизмов рубца. Анализ микрофлоры проводили с помощью MiSeq («Illumina», США) методом секвенирования нового поколения (NGS) с набором реагентов MiSeq® Reagent Kit v3 (600 cycle) в Центре коллективного пользования научным оборудованием «Персистенция микроорганизмов» (Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН). Для биоинформатической обработки результатов использовалась программа PEAR (Pair-End AssembleR, PEAR v0.9.8) (Zhang J et al., 2014). Фильтрация, дупликация, удаление химерных последовательностей, кластеризация, сортировка (отсечка singletons), удаление контаминации выполнялись в программе USEARCH. Для фильтрации использовался алгоритм `-fastq_filter`, для репликации – алгоритм `-derep_prefix`, для кластеризации и удаления химерных последовательностей – алгоритм `-cluster_otus`. Результаты секвенирования обрабатывали с использованием пакета анализа данных Microsoft Excel 10, программного обеспечения Microsoft Office.

Оборудование и технические средства. Термостат ТС-1/80 СПУ (ООО «Амедис Инжиниринг», г. Нижний Новгород, Россия), шприц-дозатор Экохим ОПА-2-20 (ООО «Экротхим», г. Санкт-Петербург, Россия), микропробирки «Erpendorf»

Статистическая обработка. Численные данные были обработаны с помощью программы SPSS «Statistics 20» («IBM», США), рассчитывали средние (M), среднеквадратичные отклонения ($\pm\sigma$), ошибки стандартного отклонения ($\pm SE$). Для сравнения вариантов использовали

непараметрический метод анализа. Различия считали статистически значимыми при $P \leq 0,05$. Рассчитывали также индексы биоразнообразия Шеннона (H'), Симпсона (D), индекс выравненности Пиелу (E) (Елина Е.Е., 2016).

Результаты исследований.

Исследование микробиома рубцовой жидкости у контрольной группы показало, что доминирующими филумами являлись *Firmicutes* (54,6 %), который был представлен классами *Clostridia* (28,6 %), *Bacilli* (15,1%), *Negativicutes* (10,5 %) и филум *Bacteroidetes* (39,2 %), наибольший входящий в него класс *Bacteroidia* (38,0 %) (табл. 1). Малое количество бактерий отмечено для филумов *Candidatus Saccharibacteria*, *Spirochaetes*, *Proteobacteria* не более 2 % от общего количества выделенных таксонов.

Таблица 1. Таксономический состав микробиома рубцовой жидкости *in vitro*, контрольная проба, %

Table 1. Taxonomic composition of microbiome of rumen fluid *in vitro*, control sample, %

Филум/ <i>Phylum</i>	Класс/ <i>Class</i>	Семейство/ <i>Family</i>	Род/ <i>Genus</i>
Firmicutes (54,6 %)	Clostridia (28,6 %)	Ruminococcaceae (7,6 %)	Unclassified Ruminococcaceae (4,7 %)
		Lachnospiraceae (16,5 %)	Unclassified Lachnospiraceae (9,2 %) Butyrivibrio (2,3 %)
	Bacilli (15,1 %)	Streptococcaceae (13,7 %)	Streptococcus (13,7 %)
	Negativicutes (10,5 %)	Acidaminococcaceae (9,7 %)	Succiniclasticum (9,7 %)
Bacteroidetes (39,2 %)	Bacteroidia (38 %)	Prevotellaceae (25 %)	Prevotella (22,4 %)
		Unclassified "Bacteroidales" (10,6%)	Род неизвестен (10,6 %)/ <i>Unknown</i> (10,6%)
Другие* (6,2 %)/ <i>Others</i> * (6.2%)	Другие* (7,7 %)/ <i>Others</i> * (7.7%)	Другие* (16,8 %)/ <i>Others</i> * (16.8%)	Другие* (27,3 %)/ <i>Others</i> * (27.3%)

Примечание: * – в эту группу объединены таксоны, численность каждого из которых не превышает 2 % от общего числа

Note: * – this group includes taxa, the number of each does not exceed 2% of the total

Преобладающее количество выделенных бактерий относилось к семейству *Ruminococcaceae* (7,6 %), представленное родом *Ruminococcaceae* (4,7 %). Остальные определённые рода, относящиеся к семейству *Ruminococcaceae*, не превышали численности более 2 % для каждого отдельного таксона: *Clostridium* IV (0,3 %), *Ruminococcus* (1,2 %), *Saccharofermentans* (1,2 %). В семействе *Lachnospiraceae* (16,5 %) были наиболее выражены *Lachnospiraceae* (9,2 %), *Butyrivibrio* (2,3 %). Род *Streptococcus* (13,7 %) относился к классу *Streptococcaceae* (13,7 %).

Эффект от использования стеариновой кислоты ($C_{18:0}$) позволил установить следующие изменения рубцовой микробиоты. Общее понижение количества микроорганизмов для филума *Firmicutes* на 29,5 % в сравнении с контролем. Повышение для семейства *Ruminococcaceae* на 6,2 %, от-

дельно по родам также отмечено незначительное повышение доли для родов *unclassified_Ruminococcaceae* (7,6 %) и *Ruminococcus* (2,9 %) (табл. 2).

Семейство *Lachnospiraceae* составляло 4,1 %, что меньше, чем в контроле на 12,4 %, род *Lachnospiraceae* и *Butyrivibrio* значительно сократился по отношению к контролю на 7,5 % и 1,6 % соответственно (табл. 2).

Таблица 2. Таксономический состав микробиома рубцовой жидкости *in vitro* с использованием стеариновой кислоты (C_{18:0}), %

Table 2. Taxonomic composition of microbiome of rumen fluid *in vitro* using stearic acid (C_{18:0}), %

Филум / <i>Phylum</i>	Класс / <i>Class</i>	Семейство / <i>Family</i>	Род / <i>Genus</i>
Firmicutes (25,1 %)	Clostridia (20,1 %)	Ruminococcaceae (13,8 %)	unclassified_Ruminococcaceae (7,6%) Род Ruminococcus (2,9%)
		Lachnospiraceae (4,1 %)	unclassified_Lachnospiraceae (1,7 %) Butyrivibrio (0,7 %)
	Negativicutes (3,6 %)	Acidaminococcaceae (2,9 %)	Succiniclasicum (2,9 %)
Bacteroidetes (54,6 %)	Bacteroidia (49,2 %)	Prevotellaceae (30,9 %)	Prevotella (26,5 %) Paraprevotella (3,1 %)
		unclassified_Bacteroidales (12,6 %)	Род неизвестен (12,6 %)/ <i>Unknown</i> (12,6 %)
		Porphyromonadaceae (4,7 %)	unclassified Porphyromonadaceae (4,6 %)
Candidatus Saccharibacteria (9,3 %)	Saccharibacteria_genera_incertae_sedis (9,3 %)	Семейство неизвестно (9,3 %)/ <i>Unknown</i> (9.3%)	Род неизвестен (9,3 %)/ <i>Unknown</i> (9.3%)
Verrucomicrobia (3,0 %)	Subdivision 5 (3,0 %)	Семейство неизвестно (3,0 %)/ <i>Unknown</i> (3.0%)	Род неизвестен (3,0 %)/ <i>Unknown</i> (3.0%)
Другие* (5,5 %)/ <i>Others</i> * (5,5%)	Другие* (8,5 %)/ <i>Others</i> * (8,5%)	Другие* (12,0 %)/ <i>Others</i> * (12,0%)	Другие* (15,9 %)/ <i>Others</i> * (15.9%)

Примечание: * – в эту группу объединены таксоны, численность каждого из которых не превышает 2 % от общего числа

Note: * – this group includes taxa, the number of each does not exceed 2% of the total

Филум *Bacteroidetes* был выше, чем в контроле на 15,4 %, преобладание по классам отмечено для *Bacteroidia*, которое было представлено семействами *Prevotellaceae* (30,9 %), *unclassified Bacteroidales* (12,6 %), *Porphyromonadaceae* (4,7 %) и было выше, чем в контроле на 11,2 %.

Отмечалось значительное увеличение для филума *Candidatus Saccharibacteria* (9,3 %), входящего в него класса *Saccharibacteria genera incertae sedis* (8,1 %) и филума *Verrucomicrobia* (3,0 %) класс *Subdivision 5* (3,0 %) (табл. 2).

Также в исследовании по влиянию стеариновой кислоты на микроорганизмы рубцовой жидкости установлено наличие домена архей, который составлял для контрольного образца рубцовой жидкости, архей – 0,003 %, для стеариновой кислоты – 0,16 %.

Видовая структура сообщества характеризуется не только показателями видового богатства, но и видового разнообразия, учитывающего представленность каждого вида. Для двух больших выделенных филума *Firmicutes* и *Bacteroidetes* на следующем этапе для анализа данных были применены индексы: видового разнообразия Шеннона, доминирования Симпсона и вычислен показатель выравнинности Пиелу. Результаты анализа представлены в таблице 3.

Таблица 3. Различия по индексам Шеннона (H'), Симпсона (D), Пиелу (E) видового разнообразия сообществ микроорганизмов филума *Firmicutes* и *Bacteroidetes*
Table 3. Differences in Shannon (H'), Simpson (D), Pielou (E) indices of species diversity of microbiocenosis of the *Firmicutes* and *Bacteroidetes* phylum

Проба/ Sample	Вид/Species	n _i (число особей i вида) / n _i (number of animals of i species)	p _i (доля особей i вида) (p _i =n _i /N) / p _i (percent of animals of i species) (p _i =n _i /N)	Индекс Шеннона (H') / Shannon index (H')	Индекс Симпсона (D) / Simpson index (D)	Индекс выравнинности Пиелу (E) / Pielou's evenness index (E)
Контрольная/ Control	<i>Firmicutes</i>	18043	0,54	0,33	0,29	0,025
	<i>Bacteroidetes</i>	12963	0,39	0,37	0,15	0,028
Опытная/ Experimental	<i>Firmicutes</i>	11197	0,25	0,35	0,06	0,027
	<i>Bacteroidetes</i>	24341	0,55	0,33	0,3	0,025

Примечание: число N в контрольной группе составило 33010 особей, а для опытной группы – N=44620 особей. В контрольной и опытной пробах число видов S=13

Note: N number in the control group was 33010 animals, and for the experimental group – N=44620 animals. In the control and experimental samples, the number of species was S=13

Установлено, для филума *Firmicutes* введение стеариновой кислоты способствует увеличению видового разнообразия, оцениваемого по индексу Шеннона, при этом закономерно снижается доминирование (индекс Симпсона) и возрастает выравнинность (индекс Пиелу) относительно контрольной пробы.

Отмечено снижение видового разнообразия филума *Bacteroidetes* по индексу Шеннона в опытной пробе относительно контроля (H'=0,37).

Обсуждение полученных результатов.

Через изучение микробиома рубца крупного рогатого скота мы можем прийти к правильному решению проблем в области развития и питания жвачных животных (Huws SA et al., 2018; Макаева А et al., 2020; Atlanderova K et al., 2020; Rayzanov V et al., 2020).

В нашем исследовании изучение влияния стеариновой кислоты на бактерии рубца у молодняка крупного рогатого скота установило уменьшение грамположительных бактерий на уровне класса *Clostridia*, отдельное снижение для семейства *Lachnospiraceae*, что согласуется с данными полученными ранее (Zened A et al., 2013).

В работе Maia MRG et al., 2010 не установлено влияние жирных кислот на увеличение количества грамотрицательных бактерий на уровне филума *Bacteroidetes*, класса *Bacteroidia*, семейства *Prevotellaceae*, род *Prevotella*, так и род бактерий *Prevotella*.

Применение стеариновой кислоты привело в целом к уменьшению в 1,6 % для филума *Firmicutes*, несмотря на это представители семейства *Ruminococcaceae* увеличили свою долю, это можно объяснить различной чувствительностью бактерий к жирам с большим или низким содержанием насыщенных и ненасыщенных жирных кислот (Yang SL et al., 2009).

Снижение численности на уровне рода бактерий *Butyrivibrio* в рубцовой жидкости с использованием стеариновой кислоты косвенно может подтверждать тот факт, что некоторые виды данного рода способны к биогидрогенизации линолевой кислоты до образования стеариновой (Fernie SE, 2003). В нашем опыте мы сразу вносили стеариновую кислоту.

Общее снижение численности микроорганизмов при использовании стеариновой кислоты на уровне филума *Firmicutes*, бактерий, способных расщеплять целлюлозу до образования метана, может снизить выбросы парниковых газов в атмосферу (Wrighta AG and Klieve AV, 2011).

Также в нашей работе было установлено уменьшение численности микроорганизмов в рубцовой жидкости с добавлением стеариновой кислоты для семейства *Lachnospiraceae* на 4 %, кислот-продуцирующих бактерий, что может сказаться на поддержание баланса pH рубца в норме и уберечь от ацидоза.

Повышение количества бактерий для филума *Verrucomicrobia* (3,0 %) в опытных группах (в контроле их доля не превышала 1 %) может также косвенно говорить о снижении выделения парникового газа. Так, данный вид способен окислять метан, тем самым способствуя росту *Candidatus Saccharibacteria* (9,3 %), которые способны сами разрушать различные органические соединения (Kindaichi T et al., 2016).

Выводы.

Как показали исследования на модели *in vitro*, влияние стеариновой кислоты на бактерии рубцовой жидкости неоднозначное. Установлено, что использование стеариновой кислоты приводит к снижению бактерий на уровне филума *Firmicutes* и повышению доли бактерий для филумов *Bacteroidetes*, *Verrucomicrobia*, *Candidatus Saccharibacteria*.

Исследования выполнены в соответствии с планом НИР на 2019-2021 гг. ФГБНУ ФНЦ БСТ РАН (№ 0761-2019-0005)

Литература

1. Елина Е.Е. Биоразнообразие: метод. пособие для бакалавров направления подготовки «Экология и природопользование». Оренбург: Типография «Экспресс-печать», 2016. 36 с. [Elina EE. Bioraznoobrazie: metod. posobie dlya bakalavrov napravleniya podgotovki «Ekologiya i prirodopol'zovanie». Orenburg: Tipografiya «Ekspress-pechat'»; 2016:36 p. (In Russ)].
2. Сафиулина Е.Б. Влияние жировых добавок к рационам молодняка крупного рогатого скота на его рост, развитие и мясную продуктивность: дис. ... канд. с.-х. наук. п. Персиановский, 2009. 151 с. [Safiulina EB. Vliyanie zhirovyykh dobavok k ratsionam molodnyaka krupnogo rogatogo skota na ego rost, razvitie i myasnuyu produktivnost'. [dissertation] p. Persianovskii; 2009:151 p. (In Russ)].
3. AbuGhazaleh A, Jacobson BN. Production of trans C18:1 and conjugated linoleic acid in continuous culture fermenters fed diets containing fish oil and sunflower oil with decreasing levels of forage. *Animal*. 2007;1(5):660-665.doi: 10.1017/S1751731107727489
4. Aldai N, Delmonte P, Alves SP, Bessa RJB, Kramer JKG. Evidence for the initial steps of dha biohydrogenation by mixed ruminal microorganisms from sheep involves formation of conjugated fatty acids. *J Agric Food Chem*. 2018;66(4):842-855. doi: 10.1021/acs.jafc.7b04563
5. Atlanderova K, Makaeva A, Rysaev A, Nurzhanov B, Duskaev G, Rayzanov V. The effect of medicinal extracts on microflora and enzymatic processes of calf rumen. *Journal of Animal Science*. 2020;98(4):258. doi: <https://doi.org/10.1093/jas/skaa278.466>

6. Belenguer A, Toral PG, Frutos P, Hervás G. Changes in the rumen bacterial community in response to sunflower oil and fish oil supplements in the diet of dairy sheep. *J Dairy Sci.* 2010;93(7):3275-3286. doi: 10.3168/jds.2010-3101
7. Dohme F, Machmüller A, Wasserfallen A, Kreuzer M. Ruminant methanogenesis influenced by individual fatty acids supplemented to complete ruminant diets. *Lett. Appl. Microbiol.* 2001;32(1):47-51. doi: 10.1111/j.1472-765x.2001.00863.x
8. Elliott JP, Overton TR, Drackley JK. Digestibility and effects of three forms of mostly saturated fatty acids. *J Dairy Sci.* 1994;77(3):789-798. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(94)77014-4
9. Enjalbert F, Combes S, Zened A, Meynadier A. Rumen microbiota and dietary fat: a mutual shaping. *J Appl Microbiol.* 2017;123(4):782-797. doi: 10.1111/jam.13501
10. Fernie CE. Conjugated linoleic acid. *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition* (2nd ed), Caballero B, Fingals P, Toldra F PhD, editors. Academic Press; 2003:1581-1587.
11. Huws SA, Creevey CJ, Oyama B, Mizrahi I, Denman SE, Popova M, Muñoz-Tamayo R, Forano E, Waters SM, Hess M, Tapio I, Smidt H, Krizsan SJ, Yáñez-Ruiz DR, Belanche A, Guan L, Gruninger RJ, McAllister TA, Newbold CJ, Roehe R, Dewhurst RJ, Snelling TJ, Watson M, Suen G, Hart EH, Kingston-Smith AH, Scollan ND, Prado RM, Pilau EJ, Mantovani HC, Attwood GT, Edwards JE, McEwan NR, Morrisson S, Mayorga OL, Elliott C, Morgavi DP. Addressing global ruminant agricultural challenges through understanding the rumen microbiome: past, present, and future. *Front Microbiol.* 2018;9:2161. doi: 10.3389/fmicb.2018.02161
12. Jami E, White BA, Mizrahi I. Potential role of the bovine rumen microbiome in modulating milk composition and feed efficiency. *PLoS One* 2014;9(1):e85423. doi: 10.1371/journal.pone.0085423
13. Jenkins TC, Wallace RJ, Moate PJ, Mosley EE. Board-invited review: Recent advances in biohydrogenation of unsaturated fatty acids within the rumen microbial ecosystem. *J Anim Sci.* 2008;86(2):397-412. doi: 10.2527/jas.2007-0588
14. Jiao S, Cao H, Dai Y, Wu J, Lv J, Du R, Han B. Effect of high-fat diet and growth stage on the diversity and composition of intestinal microbiota in healthy bovine livestock. *J Sci Food Agric.* 2017;97(14):5004-5013. doi: 10.1002/jsfa.8380
15. Kindaichi T, Yamaoka S, Uehara R, Ozaki N, Ohashi A, Albertsen M, Nielsen PH, Nielsen JL. Phylogenetic diversity and ecophysiology of candidate phylum saccharibacteria in activated sludge. *FEMS microbiology ecology.* 2016;92(6):fiw078. doi: 10.1093/femsec/fiw078
16. Lamp O, Reyer H, Otten W, Nürnberg G, Derno M, Wimmers K, Metges CC, Kuhla B. Intravenous lipid infusion affects dry matter intake, methane yield, and rumen bacteria structure in late-lactating Holstein cows. *J Dairy Sci.* 2018;101(7):6032-6046. doi: 10.3168/jds.2017-14101
17. Liu C, Wu H, Liu S, Chai S, Meng Q, Zhou Z. Dynamic alterations in yak rumen bacteria community and metabolome characteristics in response to feed type. *Front Microbiol.* 2019;10:1116 doi:10.3389/fmicb.2019.01116
18. Maia MRG, Chaudhary LC, Bestwick CS, Richardson AJ, McKain N, Larson TR, Graham IA, Wallace RJ. Toxicity of unsaturated fatty acids to the biohydrogenating ruminal bacterium, *Butyrivibrio fibrisolvens*. *BMC Microbiology.* 2010;10:52. doi:10.1186/1471-2180-10-52
19. Makaeva A, Atlanderova K, Duskaev G, Nurzhanov B, Rysaev A. Effects of folia betulae and méntha piperíta extracts on microbiological and enzymatic characteristics of cattle rumen. *Journal of Animal Science.* 2020;98(4):257-258. doi:https://doi.org/10.1093/jas/skaa278.465
20. Martin C, Ferlay A, Mosoni P, Rochette Y, Chilliard Y, Doreau M. Increasing linseed supply in dairy cow diets based on hay or corn silage: Effect on enteric methane emission, rumen microbial fermentation, and digestion. *Journal of Dairy Science.* 2016;99(5):3445-3456. doi.org/10.3168/jds.2015-10110
21. Myer PR, Smith TP, Wells JE, Kuehn LA, Freetly HC. Rumen microbiome from steers differing in feed efficiency. *PLoS ONE.* 2015;10(6):e0129174. doi: 10.1371/journal.pone.0129174
22. Owens FN, Secrist DS, Hill WJ, Gill DR. Acidosis in cattle: a review. *J Anim Sci.* 1998;76(1):275-286. doi: 10.2527/1998.761275x

23. Rayzanov V, Nurzhanov B, Rysaev A, Duskaev G, Miroschnikov I. Evaluation of the effect of chlortetracycline on ruminal microbiome of ruminant against a background of plant extract. *Journal of Animal Science*. 2020;98(4):258-259. doi:https://doi.org/10.1093/jas/skaa278.467
24. USEARCH. Ultra-fast sequence analysis [Internet] usearch v8.0.1623_i86linux32. Available from: <http://drive5.com/usearch>
25. Vossenbergh JLCM, Joblin KN. Biohydrogenation of C18 unsaturated fatty acids to stearic acid by a strain of *Butyrivibrio hungatei* from the bovine rumen. *Lett Appl Microbiol*. 2003;37(5):424-428. doi: 10.1046/j.1472-765x.2003.01421.x
26. Wright AG, Klieve AV. Does the complexity of the rumen microbial ecology preclude methane mitigation? *Animal Feed Science and Technology*. 2011;166-167:248-253. doi: [10.1016/j.anifeedsci.2011.04.015](https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2011.04.015)
27. Yang SL, Bu DP, Wang JQ, Hu ZY, Li D, Wei HY, Zhou LY, Looor JJ. Soybean oil and linseed oil supplementation affect profiles of ruminal microorganisms in dairy cows. *Animal*. 2009;3(11):1562-1569. <https://doi.org/10.1017/S1751731109990462>
28. Zhang J, Kobert K, Flouri T, Stamatakis A. PEAR: A fast and accurate Illumina Paired-End reAd merger. *Bioinformatics*. 2014;30(5):614-620 doi: 10.1093/bioinformatics/btt593
29. Zened A, Enjalbert FF, Nicot MC, Troegeler-Meynadier A. Starch plus sunflower oil addition to the diet of dry dairy cows results in a trans-11 to trans-10 shift of biohydrogenation. *Journal of Dairy Science*. 2013;96(1):451-459. doi: <http://dx.doi.org/10.3168/jds.2012-5690>

References

1. Elina EE. Biodiversity: guidance manual for bachelors of “Ecology and Nature Management” educational course. Orenburg: Printing house “Express-pechat”; 2016:36 p.
2. Safiulina EB. Influence of fat supplements to the diets of young cattle on its growth, development and meat productivity. [dissertation] p. Persianovskii; 2009:151 p.
3. AbuGhazaleh A, Jacobson BN. Production of trans C18:1 and conjugated linoleic acid in continuous culture fermenters fed diets containing fish oil and sunflower oil with decreasing levels of forage. *Animal*. 2007;1(5):660-665. doi: 10.1017/S1751731107727489
4. Aldai N, Delmonte P, Alves SP, Bessa RJB, Kramer JKG. Evidence for the initial steps of dha biohydrogenation by mixed ruminal microorganisms from sheep involves formation of conjugated fatty acids. *J Agric Food Chem*. 2018;66(4):842-855. doi: 10.1021/acs.jafc.7b04563
5. Atlanderova K, Makaeva A, Rysaev A, Nurzhanov B, Duskaev G, Rayzanov V. The effect of medicinal extracts on microflora and enzymatic processes of calf rumen. *Journal of Animal Science*. 2020;98(4):258. doi: <https://doi.org/10.1093/jas/skaa278.466>
6. Belenguer A, Toral PG, Frutos P, Hervás G. Changes in the rumen bacterial community in response to sunflower oil and fish oil supplements in the diet of dairy sheep. *J Dairy Sci*. 2010;93(7):3275-3286. doi: 10.3168/jds.2010-3101
7. Dohme F, Machmüller A, Wasserfallen A, Kreuzer M. Ruminal methanogenesis influenced by individual fatty acids supplemented to complete ruminant diets. *Lett. Appl. Microbiol*. 2001;32(1):47-51. doi: 10.1111/j.1472-765x.2001.00863.x
8. Elliott JP, Overton TR, Drackley JK. Digestibility and effects of three forms of mostly saturated fatty acids. *J Dairy Sci*. 1994;77(3):789-798. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(94)77014-4
9. Enjalbert F, Combes S, Zened A, Meynadier A. Rumen microbiota and dietary fat: a mutual shaping. *J Appl Microbiol*. 2017;123(4):782-797. doi: 10.1111/jam.13501
10. Fernie CE. Conjugated linoleic acid. *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition* (2nd ed), Caballero B, Fingals P, Toldra FPhD, editors. Academic Press; 2003:1581-1587.
11. Huws SA, Creevey CJ, Oyama B, Mizrahi I, Denman SE, Popova M, Muñoz-Tamayo R, Forano E, Waters SM, Hess M, Tapio I, Smidt H, Krizsan SJ, Yáñez-Ruiz DR, Belanche A, Guan L, Gruninger RJ, McAllister TA, Newbold CJ, Roehe R, Dewhurst RJ, Snelling TJ, Watson M, Suen G, Hart EH, Kingston-Smith AH, Scollan ND, Prado RM, Pilau EJ, Mantovani HC, Attwood GT, Edwards JE,

McEwan NR, Morrisson S, Mayorga OL, Elliott C, Morgavi DP. Addressing global ruminant agricultural challenges through understanding the rumen microbiome: past, present, and future. *Front Microbiol.* 2018;9:2161. doi: 10.3389/fmicb.2018.02161

12. Jami E, White BA, Mizrahi I. Potential role of the bovine rumen microbiome in modulating milk composition and feed efficiency. *PLoS One* 2014;9(1):e85423. doi: 10.1371/journal.pone.0085423

13. Jenkins TC, Wallace RJ, Moate PJ, Mosley EE. Board-invited review: Recent advances in biohydrogenation of unsaturated fatty acids within the rumen microbial ecosystem. *J Anim Sci.* 2008;86(2):397-412. doi: 10.2527/jas.2007-0588

14. Jiao S, Cao H, Dai Y, Wu J, Lv J, Du R, Han B. Effect of high-fat diet and growth stage on the diversity and composition of intestinal microbiota in healthy bovine livestock. *J Sci Food Agric.* 2017;97(14):5004-5013. doi: 10.1002/jsfa.8380

15. Kindaichi T, Yamaoka S, Uehara R, Ozaki N, Ohashi A, Albertsen M, Nielsen PH, Nielsen JL. Phylogenetic diversity and ecophysiology of candidate phylum saccharibacteria in activated sludge. *FEMS microbiology ecology.* 2016;92(6):fiw078. doi: 10.1093/femsec/fiw078

16. Lamp O, Reyer H, Otten W, Nürnberg G, Derno M, Wimmers K, Metges CC, Kuhla B. Intravenous lipid infusion affects dry matter intake, methane yield, and rumen bacteria structure in late-lactating Holstein cows. *J Dairy Sci.* 2018;101(7):6032-6046. doi: 10.3168/jds.2017-14101

17. Liu C, Wu H, Liu S, Chai S, Meng Q, Zhou Z. Dynamic alterations in yak rumen bacteria community and metabolome characteristics in response to feed type. *Front Microbiol.* 2019;10:1116 doi:10.3389/fmicb.2019.01116

18. Maia MRG, Chaudhary LC, Bestwick CS, Richardson AJ, McKain N, Larson TR, Graham IA, Wallace RJ. Toxicity of unsaturated fatty acids to the biohydrogenating ruminal bacterium, *Butyrivibrio fibrisolvens*. *BMC Microbiology.* 2010;10:52. doi:10.1186/1471-2180-10-52

19. Makaeva A, Atlanderova K, Duskaev G, Nurzhanov B, Rysaev A. Effects of folia betulae and mentha piperita extracts on microbiological and enzymatic characteristics of cattle rumen. *Journal of Animal Science.* 2020;98(4):257-258. doi:https://doi.org/10.1093/jas/skaa278.465

20. Martin C, Ferlay A, Mosoni P, Rochette Y, Chilliard Y, Doreau M. Increasing linseed supply in dairy cow diets based on hay or corn silage: Effect on enteric methane emission, rumen microbial fermentation, and digestion. *Journal of Dairy Science.* 2016;99(5):3445-3456. doi.org/10.3168/jds.2015-10110

21. Myer PR, Smith TP, Wells JE, Kuehn LA, Freetly HC. Rumen microbiome from steers differing in feed efficiency. *PLoS ONE.* 2015;10(6):e0129174. doi: 10.1371/journal.pone.0129174

22. Owens FN, Secrist DS, Hill WJ, Gill DR. Acidosis in cattle: a review. *J Anim Sci.* 1998;76(1):275-286. doi: 10.2527/1998.761275x

23. Rayzanov V, Nurzhanov B, Rysaev A, Duskaev G, Miroshnikov I. Evaluation of the effect of chlortetracycline on ruminal microbiome of ruminant against a background of plant extract. *Journal of Animal Science.* 2020;98(4):258-259. doi:https://doi.org/10.1093/jas/skaa278.467

24. USEARCH. Ultra-fast sequence analysis [Internet] usearch v8.0.1623_i86linux32. Available from: <http://drive5.com/usearch>

25. Vossenberg JLCM, Joblin KN. Biohydrogenation of C18 unsaturated fatty acids to stearic acid by a strain of *Butyrivibrio hungatei* from the bovine rumen. *Lett Appl Microbiol.* 2003;37(5):424-428. doi: 10.1046/j.1472-765x.2003.01421.x

26. Wright AG, Klieve AV. Does the complexity of the rumen microbial ecology preclude methane mitigation? *Animal Feed Science and Technology.* 2011;166-167:248-253. doi: [10.1016/j.anifeedsci.2011.04.015](https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2011.04.015)

27. Yang SL, Bu DP, Wang JQ, Hu ZY, Li D, Wei HY, Zhou LY, Looor JJ. Soybean oil and linseed oil supplementation affect profiles of ruminal microorganisms in dairy cows. *Animal.* 2009;3(11):1562-1569. <https://doi.org/10.1017/S1751731109990462>

28. Zhang J, Kobert K, Flouri T, Stamatakis A. PEAR: A fast and accurate Illumina Paired-End reAd merger. *Bioinformatics.* 2014;30(5):614-620 doi: 10.1093/bioinformatics/btt593

29. Zened A, Enjalbert FF, Nicot MC, Troegeler-Meynadier A. Starch plus sunflower oil addition to the diet of dry dairy cows results in a trans-11 to trans-10 shift of biohydrogenation. *Journal of Dairy Science*. 2013;96(1):451-459. doi: <http://dx.doi.org/10.3168/jds.2012-5690>

Рязанов Виталий Александрович, кандидат сельскохозяйственных наук, научный сотрудник отдела кормления сельскохозяйственных животных и технологии кормов им. С.Г. Леушина, Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий Российской академии наук, 460000, г. Оренбург, ул. 9 Января, 29, тел.: 89228077100, e-mail: vita7456@yandex.ru

Левахин Георгий Иванович, доктор сельскохозяйственных наук, профессор, главный научный сотрудник отдела кормления сельскохозяйственных животных и технологии кормов им. С.Г. Леушина, Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий Российской академии наук, 460000, г. Оренбург, ул. 9 Января, 29, тел.: 8(3532)30-81-79

Дускаев Галимжан Калиханович, доктор биологических наук, заведующий отделом кормления сельскохозяйственных животных и технологии кормов им. С.Г. Леушина, Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий Российской академии наук, 460000, г. Оренбург, ул. 9 Января, 29, тел.: 8(3532)30-81-79, e-mail: gduskaev@mail.ru

Нуржанов Баер Серекпаевич, кандидат сельскохозяйственных наук, старший научный сотрудник отдела кормления сельскохозяйственных животных и технологии кормов им. С.Г. Леушина, Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий Российской академии наук, 460000, г. Оренбург, ул. 9 Января, 29, e-mail: baer.nurzhanov@mail.ru

Шейда Елена Владимировна, кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории биологических испытаний и экспертиз, Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий Российской академии наук, 460000, г. Оренбург, ул. 9 Января, 29, сот.: 8-922-862-64-02, e-mail: elena-shejjda@mail.ru

Габидулин Вячеслав Михайлович, доктор сельскохозяйственных наук, ведущий научный сотрудник отдела разведения мясного скота, Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий Российской академии наук, 460000, г. Оренбург, ул. 9 Января, 29, тел.: 8(3532)30-81-74, e-mail: Gabidulin.V.M@yandex.ru

Поступила в редакцию 11 декабря 2020 г.; принята после решения редколлегии 14 декабря 2020 г.; опубликована 31 декабря 2020 г. / Received: 11 December 2020; Accepted: 14 December 2020; Published: 31 December 2020