

УДК 636.085

DOI: 10.33284/2658-3135-104-1-109

Расщепление биосубстратов в рубце. Микробные взаимодействия при деградации волокна (обзор)

М.С. Мирошникова^{1,2}

¹*Оренбургский государственный университет (г. Оренбург)*

²*Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий Российской академии наук (г. Оренбург)*

Аннотация. Микробиом рубца животных представляет собой чрезвычайно сложный механизм разложения структуры биомассы волокон, позволяющий переваривать корм жвачным. Поскольку большая часть съеденного корма состоит из растительной клетчатки, микроорганизмы, принимающие участие в её разложении, имеют огромное значение для экологии микробного сообщества рубца и состояния животного-хозяина. Микробиологические процессы рубцового пищеварения оказывают большое влияние на окружающую среду. В данном литературном обзоре проводится анализ энзимологических основ деградации растительного волокна, даётся анализ распространения генов, кодирующих клетчатколизующих микроорганизмов. Рассматривается взаимодействие микробов с другими представителями микробиоты рубца, в том числе с оценкой сочетанного влияния на структуру сообщества. Представленный анализ имеет важное значение для развития животноводства в части разработки и создания природоподобных технологий, основанных на принципах работы преджелудков жвачных. Изучение данных процессов будет способствовать лучшему пониманию микробной экологии и эволюции анаэробных экосистем.

Ключевые слова: крупный рогатый скот, жвачные животные, ферменты микробиома рубца, глюкозид гидролазы, взаимодействия микроорганизмов, микробная экосистема, биомасса растений.

UDC 636.085

Segregation of biosubstrates in rumen. Microbial interactions in fiber degradation (review)

Maria S Miroshnikova^{1,2}

¹*Orenburg State University (Orenburg, Russia)*

²*Federal Research Centre of Biological Systems and Agrotechnologies of the Russian Academy of Sciences (Orenburg, Russia)*

Summary. Ruminant microbiome is an extremely complex mechanism for the decomposition of the fiber biomass structure. It allows ruminants to digest food. Most of the intake food consists of plant fiber and microorganisms involved in its decomposition. So they are essential for the ecology of the microbial rumen community and the state of the host animal. The microbiological processes of rumen digestion have a great impact on the environment. This literature review analyzes the enzymological basis of the plant fiber degradation. It also analyzes the distribution of genes encoding fiber-lyzing microorganisms. The interaction of microbes with other representatives of the rumen microbiota is considered, including the assessment of the combined effect on the community structure. The presented analysis is important for the development of animal science. It allows to develop and create nature-like technologies based on the principles of the ruminant pre-ventricles. The study of these processes will contribute to a better understanding of microbial ecology and the evolution of anaerobic ecosystems.

Key words: cattle, ruminants, rumen microbiota enzymes, glucoside hydrolases, microorganisms interactions, microbial ecosystem, plant biomass.

Введение.

Проблема использования растительной биомассы со значительным содержанием некрахмальных полисахаридов (НКП) является одной из фундаментальных в сельском хозяйстве и рециклинге. Так, в частности, в животноводстве хорошо известна проблема неэффективного исполь-

зования моногастричными зерна ячменя, пшеницы, ржи, других культур со значительной долей НКП. В скотоводстве использование соломы и других кормов со значительным содержанием сырой клетчатки ограничена биологическими особенностями животных. При организации переработки отходов производства крупяных культур и масла до настоящего времени крайне низка эффективность использования лузги, шелухи и других отходов. В то же время состав этих продуктов позволяет рассматривать их как перспективное сырьё для пищевой промышленности и животноводства. Главная проблема – низкая биологическая доступность органического вещества этих растительных комплексов.

В связи с этим одним из перспективных решений в биотехнологии 21 века станет технология переработки отходов со значительным содержанием НКП, что принципиально возможно через использование природоподобных технологий, основанных на принципах работы преджелудков жвачных. Целью этой работы являлась оценка опыта, накопленного наукой, по проблеме в области изучения ферментативных систем, расщепляющих НКП в преджелудках жвачных.

Дегградация целлюлозы.

В стенках растительных клеток молекулы целлюлозы тесно связаны с гемицеллюлозой, лигнином и пектином, что значительно снижает биодоступность этого вещества (Bayer EA et al., 1998). Для разложения растительных волокон необходим широкий перечень различных гидролаз (Glycoside hydrolase, GH), действующих на молекулу биополимера. В числе известных ферментов – целлюлазы и гемицеллюлазы, которые сгруппированы примерно в 150 семейств GH, классифицированных в соответствии с их последовательностью, функцией и структурными свойствами (Lombard V et al., 2014).

Во время расщепления целлюлозы молекулы этого вещества атакуются на концах цепи экзоглюканазами. Причём у различных организмов эту функцию выполняют разные энзимы, как правило, у бактерий это – семейство GH48; аэробных грибов – GH6, GH7; у анаэробных грибов – GH6 и GH48. У целлюлолитических бактерий ферменты GH48 высоко экспрессируются и представляют собой основную часть секретируемого белка при выращивании в чистой культуре (Artzi L et al., 2017). Вторая группа целлюлаз, которые действуют совместно с экзоглюканазами, это – эндоглюканазы, которые расщепляют целлюлозную цепь изнутри. Основные известные эндоглюканазы соответствуют семейству GH5, GH8 и GH9 у бактерий и семейству GH6, GH7 и GH45 – у грибов (Lombard V et al., 2014). Подгруппа эндоглюканаз, известная как «процессивные» эндоглюканазы, действует сначала как эндоглюканазы, расщепляя цепь изнутри, а затем как экзоглюканазы, продолжая расщепление органических молекул.

Дегградация гемицеллюлозы.

Гемицеллюлоза является вторым основным компонентом клеточной стенки растений. Этот полисахарид состоит из различных веществ, из которых наиболее распространён ксилан. Ксилан организован в цепочки, состоящие из ксилозы (ксилобиозные звенья), которые разветвлены различными сахарами в боковых цепях. Ксиланазы группы эндоксиланаз обычно относятся к семейству GH10, GH11 и GH30. В свою очередь ксиланазы экзоксиланаз – это семейство GH43. При сложном химическом составе ксилан относительно легко и быстро лизируется микроорганизмами.

Группа веществ-компонентов гемицеллюлозы – маннан, ксилоглюкан и β -глюкан – гидролизуются семействами маннаназ GH5, GH26 и ксилоглюканаз GH5, GH12, GH44 или GH74.

Дегградация дополнительных компонентов растения.

Помимо структурных полисахаридов в растительной биомассе широко представлены такие полисахариды, как крахмал, сахара – глюкоза и фруктоза. Ферментативные системы, расщепляющие резервные полисахариды и сахара, значительно проще. Амилазы, гидролизующие крахмал, в основном относятся к семейству GH13. При этом если α -амилазы беспорядочно действуют на крахмальные субстраты, то β -амилазы действуют только с невозстанавливающего конца цепи. Для полного разложения крахмала требуется действие ферментов разветвления, и основным продуктом разложения крахмала является мальтоза – дисахарид, состоящий из двух α -связанных молекул глюкозы, в отличие от целлобиозной единицы целлюлозы, которая представляет собой β -связанную глюкозу.

Ферментативная вооружённость микробной клетки обеспечивает расщепление пектина и других полисахаридов, присутствующих в относительно низких количествах в тканях растений. Этот перечень может дополняться другими вспомогательными ферментами, такими как эстеразы углеводов, лиазы полисахаридов и литические полисахаридмонооксигеназы (Lombard V et al., 2014). В свою очередь полимер ароматического лигнина разлагается окислительными ферментами, такими как пероксидазы и лакказы, в основном продуцируемые грибами (Pollegioni L et al., 2015).

Ферментативный потенциал микробиома рубца.

Метагеномные исследования выявили широкий перечень энзимов, продуцируемых резидентным сообществом микроорганизмов рубца, с совокупным количеством углеводно-активных генов, превышающим 27 тысяч наименований (Hess M et al., 2011), в том числе примерно 3,4 тысячи амилаз (GH13). При этом семейства GH5, GH9, GH45 и GH48 определяют до 98 % общего количества экспрессированных целлюлаз, из которых GH48 был наиболее высоко экспрессированным. Для гемицеллюлаз наиболее широко представлены GH10, GH11 и GH26 (ферменты, расщепляющие маннан или ксилан). Как следует из анализа данных доступных исследований, целлюлазы и гемицеллюлазы – в основном бактериального происхождения, причём большинство из последовательностей целлюлаз синтезируются родами *Ruminococcus* и *Fibrobacter*, а гемицеллюлаз – *Ruminococcus*, *Prevotella* и *Fibrobacter* (Dai X et al., 2015). В рамках фундаментальных работ Hess M с соавторами (2011) и Dai X с коллегами (2015) по программе Hungate1000 геномов (Seshadri R et al., 2018) установлено, что доля генов GH13 сходна для геномов микробных изолятов и метагенома, что свидетельствует о том, что по большей части ферментативные функциональные возможности представлены в изолированных геномах.

Для измерения уровней экспрессии различных семейств GH в содержимом рубца в своё время были разработаны ДНК-чипы (Abot A et al., 2016; Comtet-Marre S et al., 2018). В частности, FibroChip (Comtet-Marre S et al., 2018) был разработан для 20 семейств бактериального GH с наибольшей экспрессией, обнаруженных CAZyChip (Abot A et al., 2016). Последовательности, происходящие из геномов простейших и грибов, были включены в FibroChip. Транскрипты из семейств GH5, GH10 и GH43 были наиболее широко представлены в рубце с *Bacteroides*, *Fibrobacter* и *Ruminococcus* родами, являющихся основными членами микробного сообщества. Транскрипты грибов составили только 8,1 %, простейших – 6,7 % от общей активности (Comtet-Marre S et al., 2018).

Широкомасштабные исследования R. Seshadri и коллег, опубликованные в 2018 году, по выделению и секвенированию микробных изолятов рубца показали, что семейства GH разбросаны по множеству микробных геномов (Seshadri R et al., 2018). Изучая доступные геномы наиболее распространённых видов бактерий в рубце, другая группа исследователей пришла к выводу, что все они кодируют по крайней мере одно из основных семейств GH, перечисленных выше, за исключением типа *Euryarchaeota* (Henderson G et al., 2015; Morais S and Mizrahi I, 2019). Половина секвенированных геномов кодировала несколько GH, что свидетельствует о высокой фибролитической активности этих микроорганизмов. Такое распределение повторяющихся функций в большей части бактериальной популяции рубца отражает как важность этих ферментов GH для функции разложения волокон, так и последующую способность их бактерий-хозяев расти в изобилии и доминировать в этой экосистеме. Кроме того, хотя большинство секвенированных микроорганизмов в рубце содержат ферменты GH13, распределение гемицеллюлаз и целлюлаз более специфично для определённых филогений. Целлюлазы в основном обнаруживаются у родов *Ruminococcus*, *Butyrivibrio*, *Pseudobutyrvibrio*, и *Lachnospiraceae*. Следует отметить, что представители рода *Ruminococcus*, которые представлены наиболее известными деструкторами волокна, способны к деконструкции кристаллической целлюлозы и отличаются наличием по крайней мере одного представителя GH48 (экзоглоуканаза). В свою очередь целлюлазы, в отличие от гемицеллюлаз, почти не характерны для классов *Bacilli* и *Negativicutes Firmicutes*, в филогенезе *Proteobacteria* и *Actinobacteria*. Причём при наличии в геномах генов, кодирующих целлюлазы, количество гемицеллюлаз значительно увеличивается (Morais S and Mizrahi I, 2019).

Таблица 2. Количество ферментов из основных целлюлазы и гемицеллюлаза GH семей в отдельных секвенированных фибролитических видах грибов, обитающих в рубце (Lombard V et al., 2014; Seshadri R et al., 2018)

Table 2. Number of enzymes from the major cellulase and hemicellulase GH families in selected sequenced fibrolytic fungal species inhabiting the rumen (Lombard V et al., 2014; Seshadri R et al., 2018)

Название вида/ <i>Species name</i>	GH										
	5	6	8	9	45	48	10	11	30	43	74
<i>Anaeromyces robustus</i>	26	13	2	9	14	7	15	33	2	18	1
<i>Orpinomyces sp</i>	51	49	1	13	16	14	32	52	3	32	2
<i>Orpinomyces sp. C1A</i>	34	43	2	12	16	21	30	46	-	16	-
<i>Piromyces sp. E2</i>	46	35	2	12	20	14	29	72	3	31	4
<i>Piromyces finnis</i>	29	22	1	12	15	13	21	41	1	14	3

При гидролизе НКП в большом количестве выделяются пентозы и гексозы с последующей диффузией сахаров во внеклеточный матрикс, что запускает новый каскад ферментативных процессов у «вторичных» потребителей, тем самым обеспечивая последующее строительство экологических ниш до трофического уровня. Процесс разложения растительных волокон и последовательная ферментация мономеров сахара в анаэробных условиях сопряжены с производством большого количества водорода, который накапливается в среде рубца.

Роль метаногенов и бактерий, использующих водород.

Археи рубца строго анаэробны и являются единственными известными микроорганизмами из присутствующих в рубце, которые способны продуцировать метан (Hook SE et al., 2010). Такие археи называются метаногенами, и они помимо метана отвечают за выброс других газов в атмосферу при потреблении короткоцепочных жирных кислот (Short-chain fatty acids, SCFA), диоксида углерода и водорода из других микроорганизмов, включая *Bacteroidetes* или *Firmicutes*. Археи обнаруживаются в рубце в диапазоне от 10^6 до 10^8 клеток на мл, что составляет менее 4 % микробного сообщества (Lin C et al., 1997). Они находятся в нижней части трофической цепи из-за необходимости использовать конечные продукты ферментации в качестве субстратов (Morgavi DP et al., 2012), каждый из которых характеризуется различными механизмами (Garcia JL et al., 2000; Borrel G et al., 2013). Наиболее изученный механизм метаногенеза в рубце использует распространённый гидрогенотрофный путь, при котором CO_2 восстанавливается до CH_4 с использованием H_2 . Кроме этого метан может вырабатываться в рубце по метилотрофному пути с использованием других продуктов ферментации, таких как метиламины и метанол, а также ацетата, который используется ацетокластическими метаногенами для производства метана (Rouviere P and Wolfe R, 1988).

Домен архей разбит на два царства: *Euryarchaeota*, состоящее из метаногенов и крайних галофилов; а также *Crenarchaeota*, которое состоит из гипертермофилов и нетермофилов (Jarrell KF et al., 2009). Метаногены, обнаруженные в царстве *Euryarchaeota*, требуют очень низкого окислительно-восстановительного потенциала и являются одними из самых строгих известных анаэробов (Sirohi SK et al., 2010). Согласно метаанализу глобальных данных, 90 % метаногенов рубца принадлежат к следующим родам (Patra A et al., 2017): *Methanobrevibacter* (63,2 % популяции метаногена), *Methanomicrobium* (7,7 % популяции метаногена) *Methanosphaera* (9,8 %) «кластер рубца C».

в настоящее время называемый *Thermoplasma* (7,4 %), и *Methanobacterium* (1,2 %). Большинство метаногенов удаляют газообразный водород путём восстановления CO_2 газообразным водородом с образованием метана. В отличие от этого *Methanosphaera stadtmanae* вырабатывает метан только путём восстановления метанола с помощью H_2 , имея один из самых строгих энергетических обменов из всех метаногенных архей. Производство метана поддерживает низкую концентрацию водорода в рубце, позволяя метаногенам стимулировать рост других видов и обеспечивая более эффективную ферментацию (Ishler V et al., 1996).

В прошлом неоднократно было показано, что гидролиз целлюлозы усиливается за счёт присутствия метаногенов, которые играют роль поглотителя водорода, снижая его парциальное давление и ингибирующий эффект (Cazier EA et al., 2015). В рубце анаэробные целлюлозолитические грибы и бактерии, а также простейшие продемонстрировали полезные взаимоотношения с метаногенами. Например, было показано, что гриб рубца *Neocallimastix* sp. положительно взаимодействует с метаногенами (Mountfort DO et al., 1982). Ранее похожий результат описан в эксперименте при совместном культивировании *F. succinogenes* с *Methanobrevibacter smithii*, а также в сокультурах *M. smithii* и *Rumonococcus flavofaciens* или *R. albus* (Rychlik JL et al., 2000). Наблюдается корреляция между количеством метаногенов и количеством целлюлолитических микроорганизмов в образцах от различных животных (Morgvan B et al., 1996a). В отдельных исследованиях показано, что простейшие играют важную роль в метаногенезе, поставляя водород метаногенам (Newbold CJ et al., 2015), поскольку процедуры дефаунации снижают метаногенез (Hobson PN and Stewart CS, 1997). При снижении парциального давления водорода эти положительные отношения с целлюлолитическими бактериями не ограничиваются метаногенами, такой же эффект описан для потребляющих водород бактерий *S. ruminantium* и грибом *Neocallimastix* sp. (Marvin-Sikkema FD et al., 1990). Более того, было продемонстрировано, что ацетогенные бактерии, использующие водород, при введении в среду увеличивают распад целлюлозы при совместном культивировании с целлюлолитическими микроорганизмами (Morgvan B et al., 1996b). Напротив, в двух независимых исследованиях, посвящённых изучению микробных сетей в рубце, не было обнаружено сильных ассоциаций между археями и простейшими инфузориями (Henderson G et al., 2015; Tapio I et al., 2017). Кроме того, концентрация метаногена выше у стерильных животных, что предполагает хищничество метаногенов простейшими (Morgavi DP et al., 2012; Levy B and Jami E, 2018).

Совместное культивирование с гидрогенотрофами также приводит к значительным изменениям в составе продуктов ферментации, полученных из целлюлозы. Например, взаимодействие между *R. flavofaciens* и *Methanobacterium ruminantium* сопряжено с изменениями выработки конечного метаболита с янтарной кислоты на ацетат (Latham MJ and Wolin MJ, 1977). Эти изменения в составе продуктов ферментации могут потенциально повлиять на общую микробную структуру, перестраивая пищевую сеть рубца на альтернативные пути.

В исследовании Piao H с коллегами (2014) *in situ*, по изучению механизма микробного разложения волокна проса выявлено три фазы: (1) быстрое разрушение 13 % волокна за 30 минут, (2) лаг-фаза, в течение которой не происходило разрушения волокна и количество метаногенов значительно увеличилось и (3) продолжение разложения волокна через 4 часа. Очевидно, что метаногены играют ключевую роль в снижении содержания водорода. Это подтверждает гипотезу о тесном взаимодействии между разрушителями волокна и метаногенами в процессе разложения волокна. Эти водородзависимые взаимодействия также трансформируются в физические взаимодействия, как недавно было обнаружено в симбиотических взаимоотношениях между метаногеном *M. ruminantium* и производителями водорода. В результате этой кооперации метаноген продуцировал адгезиноподобный белок, который мог прилипать к поверхности клеток продуцентов водорода. Действительно, связывание наблюдалось между большим количеством простейших в рубце и бактерией *Butyrivibrio proteoclasticus* (Ng F et al., 2016).

Хотя основное внимание уделялось улучшению гидролиза целлюлозы путём совместного культивирования метаногенов с деструкторами целлюлозы, также сообщалось об усилении разложения ксилана при совместном культивировании *R. flavofaciens* и *M. smithii* (Williams AG et al.,

1994). Кроме того, поглотители гемицеллюлозы, которые также являются продуцентами водорода, проявляют синтрофические взаимодействия с метаногенами (Leahy SC et al., 2010).

Питательные взаимодействия между микроорганизмами рубца во время деградации клетчатки.

Пищевые взаимодействия наблюдались между разрушающими клетчатку микроорганизмами с различными филогенезами и ферментативными функциями. Возможным механизмом этих симбиотических отношений может являться зависимость некоторых фибролитических бактерий от других членов кишечного микробного сообщества в отношении определённых витаминов и предшественников для синтеза аминокислот (Dehority BA, 2003), как и в случае с целлюлолитическими видами. В свою очередь другие микроорганизмы используют преимущества специализированных микроорганизмов (например, целлюлолитических видов), которые производят специальные ферменты (такие, как высокомолекулярные модульные целлюлазы), но не используют продукты разложения волокна в полной мере (Berlemont R and Martiny AC, 2013). Действительно, было показано, что целлодекстрины, полученные на первой стадии разложения целлюлозы, утилизируются несколькими нецеллюлолитическими видами, такими как *S. ruminantium* и *P. ruminicola* (Russell JB, 1985). Деструкторы целлюлозы, таким образом, теряют трудно добываемые целлодекстрины в пользу других микроорганизмов, чтобы получить доступ к ценным веществам, производимым этими популяциями. Например, *F. succinogenes*, культивируемые с бактерией R-25 группы U2 и/или *S. ruminantium*, демонстрировали повышенное производство сукцината и гидролиз волокон (Sawanon S et al., 2011; Fukuma NM et al., 2015). Аналогично *Treponema bryantii* (который также имеет геномный потенциал для производства GH) взаимодействует с целлюлолитической бактерией *F. succinogenes*, усиливая разрушение волокон (Stanton TB and Canale-Parola E, 1980). В других случаях не наблюдалось заметного увеличения деградации волокон при совместном культивировании микроорганизмов, но было установлено чёткое перекрёстное взаимодействие, как например для *P. ruminicola*, которые используют свои протеолитические элементы для доставки ионов аммиака к *R. albus*, разрушающих целлюлозу и обеспечивающих протеолитические бактерии гидролизоспособными растворимыми сахарами (Bryant MP and Wolin MJ, 1975). В другом исследовании Miura H с коллегами (1980) также представили концепцию пищевой взаимозависимости между такими отдельными деструкторами клетчатки в рубце как *R. albus*, *Megasphaera elsdenii* и *Bacteroides amylophilus*. Эти три бактерии нельзя было выращивать как отдельные культуры в основной среде, но *M. elsdenii* можно было совместно культивировать либо с *B. amylophilus*, либо с *R. albus* в той же среде, содержащей крахмал и растворимые сахара. Определяя концентрацию свободных разветвлённых аминокислот и летучих жирных кислот в одиночных и совместных культурах, учёные обнаружили, что в трикультуре производство разветвлённых аминокислот *B. amylophilus* напрямую используется *M. elsdenii* для синтеза разветвлённых жирных кислот, необходимых для роста *R. albus*. Следовательно, предоставляя сообществу микроорганизмов растворимые сахара *R. albus* получает незаменимые разветвлённые жирные кислоты для собственного роста. Поскольку эти обменные питательных веществ невозможны только за счёт диффузии молекул в среде рубца, можно предположить, что эти три популяции являются физически близкими друг к другу (Miura H et al., 1980).

Выводы.

подавляющее большинство микроорганизмов, населяющих рубец, обладают генетическим потенциалом для участия в процессе деградации волокон с чрезвычайно широким разнообразием как по своему ферментативному составу, так и по механизмам разрушения волокон. Превращение растительной биомассы в ценные для жвачных продукты является результатом согласованных действий членов микробного сообщества, разлагающих волокна с помощью энзимов, которые тесно взаимодействуют с другими ассоциированными микробами, не разлагающими волокна, но служащими для поддержки функции их разрушения. Эти взаимоотношения, по-видимому, основаны на метаболическом обмене, который способствует функционированию экосистемы. Исследования

микробиома в настоящее время сосредоточены на деконволюции механизмов, которые способствуют функционированию экосистемы рубца и картированию этих метаболических обменов, имеющих важное значение для выяснения роли каждого из микроорганизмов, участвующих в процессе разложения волокон *in vivo* и с использованием соответствующих инструментов для изучения сообществ высокой сложности *in vitro*. Дальнейшие экспериментальные исследования, способствующие глубокому пониманию структуры и функционирования экосистемы рубца, позволят нам потенциально предсказать и определить, как и когда мы будем иметь возможность воспроизвести его в искусственных условиях. Этому будут посвящены последующие наши исследования.

Исследования выполнены при финансовой поддержке Российского научного фонда проект (№ 20-16-00088)

Литература

1. Abot A, Arnal G, Auer L et al. CAZyChip: dynamic assessment of exploration of glycoside hydrolases in microbial ecosystems. *BMC Genomics*. 2016;17(1):671. doi: 10.1186/s12864-016-2988-4
2. Artzi L, Bayer EA, Morais S. Cellulosomes: bacterial nanomachines for dismantling plant polysaccharides. *Nat Rev Microbiol*. 2017;15(2):83-95. doi: <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2016.164>
3. Bayer EA, Chanzy H, Lamed R, et al. Cellulose, cellulases and cellulosomes. *Curr Opin Struct Biol*. 1998;8(5):548-557. doi: [https://doi.org/10.1016/S0959-440X\(98\)80143-7](https://doi.org/10.1016/S0959-440X(98)80143-7)
4. Bayer EA, Shoham Y, Lamed R. Lignocellulose-decomposing bacteria and their enzyme systems. In: Rosenberg E, DeLong EF, Lory S, Stackebrandt E, Thompson F, editors. *The Prokaryotes*. Berlin, Heidelberg: Springer; 2013. p. 215-266.
5. Berlemont R, Martiny AC. Phylogenetic distribution of potential cellulases in bacteria. *Appl Environ Microbiol*. 2013;79(5):1545-1554. doi: 10.1128/AEM.03305-12
6. Borrel G, O'Toole PW, Harris HM et al. Phylogenomic data support a seventh order of methylotrophic methanogens and provide insights into the evolution of methanogenesis. *Genome Biol Evol*. 2013;5(10):1769-1780. doi: <https://doi.org/10.1093/gbe/evt128>
7. Bryant MP, Wolin MJ. Rumen bacteria and their metabolic interactions. In: Hasegawa T., editor. *Proceedings of First Intersectional Congress of IAMS; 1974 Sept. 1-7; Developmental Microbial Ecology*. Tokyo: Science Council of Japan; 1975. Vol. 2. p. 297-306.
8. Cazier EA, Trably E, Steyer JP et al. Biomass hydrolysis inhibition at high hydrogen partial pressure in solid-state anaerobic digestion. *Bioresour Technol*. 2015;190:106-113. doi: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.04.055>
9. Comtet-Marre S, Chaucheyras-Durand F, Bouzid O et al. FibroChip, a functional dna microarray to monitor cellulolytic and hemicellulolytic activities of rumen microbiota. *Front Microbiol*. 2018;9:215. doi: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00215>
10. Dai X, Tian Y, Li J et al. Metatranscriptomic analyses of plant cell wall polysaccharide degradation by microorganisms in the cow rumen. *Appl Environ Microbiol*. 2015;81(4):1375-1386. doi: 10.1128/AEM.03682-14
11. Dehority BA. *Rumen Microbiology*. Nottingham: Nottingham University Press; 2003:372 p.
12. Fukuma NM, Koike S, Kobayashi Y. Monitoring of gene expression in *Fibrobacter succinogenes* S85 under the co-culture with non-fibrolitic ruminal bacteria. *Arch Microbiol*. 2015;197(2):269-276. doi: <https://doi.org/10.1007/s00203-014-1049-0>
13. Garcia JL, Patel BK, Ollivier B. Taxonomic, phylogenetic, and ecological diversity of methanogenic Archaea. *Anaerobe*. 2000;6(4):205-226. doi: <https://doi.org/10.1006/anae.2000.0345>
14. Haitjema CH, Gilmore SP, Henske JK et al. A parts list for fungal cellulosomes revealed by comparative genomics. *Nat Microbiol*. 2017;2:17087. doi: <https://doi.org/10.1038/nmicrobiol.2017.87>
15. Henderson G, Cox F, Ganesh S et al. Rumen microbial community composition varies with diet and host, but a core microbiome is found across a wide geographical range. *Sci Rep*. 2015;5:14567. doi: <https://doi.org/10.1038/srep14567>

16. Hess M, Sczyrba A, Egan R et al. Metagenomic discovery of biomass-degrading genes and genomes from cow rumen. *Science*. 2011;331(6016):463-467. doi: 10.1126/science.1200387
17. Himmel ME, Xu Q, Luo Y et al. Microbial enzyme systems for biomass conversion: emerging paradigms. *Biofuels*. 2010;1(2):323-341. doi: <https://doi.org/10.4155/bfs.09.25>
18. Hobson PN, Stewart CS, editors. *The Rumen Microbial Ecosystem*. Netherlands: Springer Science & Business Media; 1997:719 p. doi: 10.1007/978-94-009-1453-7
19. Hook SE, Wright A-DG, McBride BW. Methanogens: methane producers of the rumen and mitigation strategies. *Archaea*. 2010;2010:945785. doi: 10.1155/2010/945785
20. Ishler V, Heinrichs AJ, Varga G. From feed to milk: Understanding rumen function. Pennsylvania State University Extension Circular 422. University Park, Pa.: Pennsylvania State University; 1996:27 p.
21. Jarrell KF, Bayley DP, Correia JD et al. Recent about excitement the archaea: The archaea are valuable for studying basic biological questions and have novel biotechnology applications. *BioScience*. 1999;49(7):530-541. doi: <https://doi.org/10.2307/1313474>
22. Latham MJ, Wolin MJ. Fermentation of cellulose by *Ruminococcus flavefaciens* in the presence and absence of *Methanobacterium ruminantium*. *Appl Environ Microbiol*. 1977;34(3):297-301. doi: 10.1128/aem.34.3.297-301.1977
23. Leahy SC, Kelly WJ, Altermann E et al. The genome sequence of the rumen methanogen *Methanobrevibacter ruminantium* reveals new possibilities for controlling ruminant methane emissions. *PLoS One*. 2010;5(1):e8926. doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0008926>
24. Levy B, Jami E. Exploring the prokaryotic community associated with the rumen ciliate protozoa population. *Front Microbiol*. 2018;9:2526. doi: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02526>
25. Lin C, Raskin L, Stahl DA. Microbial community structure in gastrointestinal tracts of domestic animals: comparative analyses using rRNA-targeted oligonucleotide probes. *FEMS Microbiol Ecol*. 1997;22(4):281-294. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.1997.tb00380.x>
26. Lombard V, Golaconda Ramulu H, Drula E et al. The carbohydrate-active enzymes database (CAZY) in 2013. *Nucleic Acids Res*. 2014;42(D1):D490-495. doi: <https://doi.org/10.1093/nar/gkt1178>
27. Marvin-Sikkema FD, Richardson AJ, Stewart CS et al. Influence of hydrogen-consuming bacteria on cellulose degradation by anaerobic fungi. *Appl Environ Microbiol*. 1990;56(12):3793-3797. doi: 10.1128/aem.56.12.3793-3797.1990
28. Miura H, Horiguchi M, Matsumoto T. Nutritional interdependence among rumen bacteria, *bacteroides amylophilus*, *megasphaera elsdenii*, and *ruminococcus albus*. *Appl Environ Microbiol*. 1980;40(2):294-300. doi: 10.1128/aem.40.2.294-300.1980
29. Moraïs S, Mizrahi I. Islands in the stream: from individual to communal fiber degradation in the rumen ecosystem. *FEMS Microbiol Rev*. 2019;43(4):362-379. doi: 10.1093/femsre/fuz007
30. Morgavi DP, Martin C, Jouany JP et al. Rumen protozoa and methanogenesis: not a simple cause-effect relationship. *Br J Nutr*. 2012;107(3):388-397. doi: 10.1017/S0007114511002935
31. Morvan B, Bonnemoy F, Fonty G et al. Quantitative determination of H₂-utilizing acetogenic and sulfate-reducing bacteria and methanogenic archaea from digestive tract of different mammals. *Curr Microbiol*. 1996a;(1);32(3):129-133. doi: <https://doi.org/10.1007/s002849900023>
32. Morvan B, Rieu-Lesme F, Fonty G et al. In vitro Interactions between rumen H₂-producing cellulolytic microorganisms and H₂-utilizing acetogenic and sulfate-reducing bacteria. *Anaerobe*. 1996b;(2);2(3):175-180. doi: <https://doi.org/10.1006/anae.1996.0023>
33. Mountfort DO, Asher RA, Bauchop T. Fermentation of cellulose to methane and carbon dioxide by a rumen anaerobic fungus in a triculture with *Methanobrevibacter* sp. strain RA1 and *Methanosarcina barkeri*. *Appl Environ Microbiol*. 1982;44(1):128-134. doi: 10.1128/aem.44.1.128-134.1982
34. Newbold CJ, de la Fuente G, Belanche A et al. The role of ciliate protozoa in the rumen. *Front Microbiol*. 2015;6:1313. doi: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.01313>
35. Ng F, Kittelmann S, Patchett ML et al. An adhesin from hydrogen-utilizing rumen methanogen *Methanobrevibacter ruminantium* M1 binds a broad range of hydrogen-producing microorganisms. *Environ Microbiol*. 2016;18(9):3010-3021. doi: <https://doi.org/10.1111/1462-2920.13155>

36. Patra A, Park T, Kim M et al. Rumen methanogens and mitigation of methane emission by anti-methanogenic compounds and substances. *J Anim Sci Biotechnol.* 2017;8(1):13. doi: <https://doi.org/10.1186/s40104-017-0145-9>
37. Piao H, Lachman M, Malfatti S et al. Temporal dynamics of fibrolytic and methanogenic rumen microorganisms during in situ incubation of switchgrass determined by 16S rRNA gene profiling. *Front Microbiol.* 2014;5:307. doi: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00307>
38. Pollegioni L, Tonin F, Rosini E. Lignin-degrading enzymes. *FEBS J.* 2015;282(7):1190-213. doi: <https://doi.org/10.1111/febs.13224>
39. Rouviere P, Wolfe R. Novel biochemistry of methanogenesis. *J Biol Chem.* 1988;263(17):7913-7916. doi: [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)68417-0](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)68417-0)
40. Russell JB. Fermentation of cellodextrins by cellulolytic and noncellulolytic rumen bacteria. *Appl Environ Microbiol.* 1985;49(3):572-576. doi: 10.1128/aem.49.3.572-576.1985
41. Rychlik JL, May T. The effect of a methanogen, *Methanobrevibacter smithii*, on the growth rate, organic acid production, and specific ATP activity of three predominant ruminal cellulolytic bacteria. *Curr Microbiol.* 2000;40(3):176-180. doi: <https://doi.org/10.1007/s002849910035>
42. Sawanon S, Koike S, Kobayashi Y. Evidence for the possible involvement of *Selenomonas ruminantium* in rumen fiber digestion. *FEMS Microbiol Lett.* 2011;325(2):170-179. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2011.02427.x>
43. Seshadri R, Leahy SC, Attwood GT et al. Cultivation and sequencing of rumen microbiome members from the Hungate1000 Collection. *Nat Biotechnol.* 2018;36(4):359-367. doi: 10.1038/nbt.4110
44. Sirohi SK, Pandey N, Singh B et al. Rumen methanogens: A review. *Indian J Microbiol.* 2010;50(3):253-262. doi: <https://doi.org/10.1007/s12088-010-0061-6>
45. Stanton TB, Canale-Parola E. *Treponema bryantii* sp. nov., a rumen spirochete that interacts with cellulolytic bacteria. *Arch Microbiol.* 1980;127(2):145-156. doi: <https://doi.org/10.1007/BF00428018>
46. Tapio I, Fischer D, Blasco L et al. Taxon abundance, diversity, co-occurrence and network analysis of the ruminal microbiota in response to dietary changes in dairy cows. *PLoS One.* 2017;12(7):e0180260. doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0180260>
47. Williams AG, Withers SE, Joblin KN. The effect of cocultivation with hydrogen-consuming bacteria on xylanolysis by *Ruminococcus flavefaciens*. *Curr Microbiol.* 1994;29(3):133-138. doi: <https://doi.org/10.1007/BF01570753>

Мирошникова Мария Сергеевна, магистрант, Оренбургский государственный университет, г. Оренбург, 460018, г. Оренбург, просп. Победы, 13; лаборант-исследователь, Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий Российской академии наук, 460000, г. Оренбург, ул. 9 Января, 29, сот.: 8-922-867-57-10, e-mail: marymiroshnikova@mail.ru

Поступила в редакцию 26 февраля 2021 г.; принята после решения редколлегии 15 марта 2021 г.; опубликована 31 марта 2021 г. / Received: 26 February 2021; Accepted: 15 March 2021; Published: 31 March 2021