

УДК 636.085.25:633.88

DOI: 10.33284/2658-3135-104-3-167

### Изменение метагеномного состава рубца при воздействии экстрактов лекарственных растений

**Б.С. Нуржанов, Г.К. Дускаев, О.В. Кван, Е.А. Ажмулдинов**

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

**Резюме.** Ограничения на законодательном уровне использования кормовых антибиотиков привели к поиску новых кормовых средств природного происхождения со схожими свойствами. Из большого разнообразия кормовых добавок выделяются фитобиотики, обладающие иммуно- и ростостимулирующими, а также антиоксидантными свойствами. Согласно схеме исследования особям контрольной группы скармливали основной рацион (ОР), I опытной – ОР+экстракты коры дуба (ЭКД) 33,3 %+листья березы (ЭЛБ) 33,3 %+трава зверобоя (ЭТЗ) 33,3 %, II опытной – ОР+экстракты коры дуба 50 %+листья березы 50 %, III опытной – ОР+экстракты коры дуба 50 %+трава зверобоя 50 %. Экстракты вводили в индивидуальные поилки из расчёта 1,66 мл/кг массы тела. Геномная ДНК была выделена из контрольных и опытных образцов с использованием метода химической экстракции. При подсчёте полученного материала *in situ* было выявлено, что распадаемость сухого вещества зерносмеси при введении экстрактов коры дуба 33,3 %+листьев березы 33,3 %+травы зверобоя 33,3 % была выше по сравнению с II и III группами на 11,98 и 13,52 %. Наименьшей переваримостью сухого вещества зерносмеси отмечалась группа, получавшая экстракт коры дуба 50 % и экстракт травы зверобоя 50 %, этот показатель был ниже на 1,54 % в сравнении со II группой. Применение экстрактов коры дуба 33,3 %+листьев березы 33,3 %+травы зверобоя 33,3 % способствовало увеличению количества бактерий, относящихся к филуму *Firmicutes* на 5,65 и 6,24 % от II и III групп. Введение экстрактов коры дуба и листьев березы оказало положительное влияние на повышение количества микроорганизмов, относящихся к семействам *Muribaculaceae* (на 2,49 и 1,14 %), *Prevotellaceae* (на 9,06 и 8,07 %) и *Candidatus Saccharibacteria* (на 0,06 и 0,34 %) в сравнении с I и III группами.

**Ключевые слова:** бычки, рубец, кормление, переваримость, экстракты, метагеном, бактерии.

UDK 636.085.25:633.88

### Changes in metagenomic composition of rumen under the influence of herbal extracts

**Baer S Nurzhanov, Galimzhan K Duskaev, Olga V Kwan, Elemes A Azhmuldinov**

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

**Abstract.** Legislative restrictions on the use of feed antibiotics have led to the search for new feed products of natural origin with similar properties. Phyto-biotics stand out from a wide variety of feed additives. They have immuno- and growth-stimulating, as well as antioxidant properties. According to the study scheme, animals in the control group received BD, experimental I - BD + Oak bark extracts (OBE) 33.3% + birch leaves (BL) 33.3% + St. John's wort (ETZ) 33.3%, experimental II – BD + Oak bark extracts 50% + birch leaves 50%, III experimental - BD + Extracts of oak bark 50% + St. John's wort 50%. The extracts were administered with individual drinkers at the rate of 1.66 ml/kg body weight. Genomic DNA was isolated from control and experimental samples using the chemical extraction method. According to the results of *in situ* studies, it was found that the digestibility of the dry matter of the grain mixture with the introduction of extracts of oak bark 33.3% + birch leaves 33.3% + St. John's wort herb 33.3% was higher compared to groups II and III by 11.98 and 13.52%. The group that received 50% oak bark extract and 50% St. John's wort extract was found to have the least digestibility of dry matter of the grain mixture; this indicator was 1.54% lower in comparison with group II. The use of oak bark extract 33.3% + birch leaves 33.3% + St. John's wort 33.3% contributed to an increase in the number of bacteria

belonging to the phylum Firmicutes by 5.65 and 6.24% from groups II and III. The introduction of extracts of oak bark and birch leaves promoted better development of bacteria of the families *Muribaculaceae* (by 2.49 and 1.14%), *Prevotellaceae* (by 9.06 and 8.07%), and *Candidatus Saccharibacteria* (by 0.06 and 0.34%) in comparison with groups I and III.

**Keywords:** bulls, rumen, digestibility, extracts, metagenome, bacteria.

### **Введение.**

Известно, что бактериальная масса в рубце жвачных составляет около 10 % сухого вещества содержимого рубца. В 1 мл рубцовой жидкости содержится около  $10^{11}$  бактерий,  $10^3$  -  $10^7$  грибов,  $10^9$  архей и  $10^6$  простейших. Бактериальное сообщество рубца представлено амилитическими (*Bacteriodes ruminicola*, *Streptococcus bovis*, *Succinomonas amylofilica*, *Ruminobacter amylophilus*, *Selenomonas ruminantium*, в основном стрептококки), липолитическими (*Anaerovibrio lipolytica*, продукты – ацетат, пропионат), целлюлозолитическими (*Lachnospira multiparus*, *Fibrobacter succinogenes*, *Butyrivibrio fibrisolvens*, *Ruminococci albus*, *Clostridium lochheadii*) и молочнокислыми бактериями (расщепляют крахмал и сахар до молочной кислоты). К бактериям относятся клостридии, селенонады, бактериоиды, уреолитические бактерии (Колоскова Е.М. и др., 2020).

Установленный в последнее время приоритет в выращивании животных – это введение в типовые рационы кормовых препаратов на природной основе, так как применение определённых подкормок, в частности антибиотиков, ограничивается на законодательном уровне по причине развития устойчивости бактерий (Huyghebaert G et al., 2011). Это создало предпосылки к поиску безопасных кормовых веществ, способные заменить вредные и дорогие аналоги в скотоводстве.

В настоящее время пробиотики, пребиотики, травы, минеральные и растительные вещества считаются хорошими заменителями кормовых антибиотиков (Sasidharan S et al., 2011). Отдельные виды водных растворов из лекарственных растений содержат в своем составе активные компоненты обладающие иммуно- и ростостимулирующими, а так же антиоксидантными свойствами (Newman D and Gordon MC, 2014). Все они объединяются под общим названием — фитобиотики, и часто применяются в качестве кормовых добавок для жвачных с целью укрепления здоровья животного (Abreu AC et al., 2012; Valenzuela-Grijalva NV et al., 2017; Muhammed A Arowolo and Jianhua He, 2018). Все возможные вытяжки из лекарственных растений используются из века в век для предотвращения болезней и их лечения в связи с их распространённостью, дешевизной и минимальными негативными последствиями. Самым апробированным из растений остается *Quercus robur*. Экспериментально было доказано, что его раствор обладает антибактериальной, антиоксидантной, противогрибковой и противоопухолевой способностью (Tolmacheva AA et al., 2014). Кроме того, выступая в качестве ингибитора системы чувствительности кворума (QS) у бактерий, влияет на реорганизацию бактериальной флоры желудочно-кишечного тракта и, как следствие, на продуктивность сельскохозяйственных животных (Duskaev GK et al., 2018; Logachev K et al., 2015; Karimov I et al., 2020).

### **Цель исследования.**

Изучить влияние экстрактов на переваримость сухого вещества корма и метагеномный статус рубца бычков молочной породы.

### **Материалы и методы исследования.**

**Объект исследования.** Рубцовая жидкость молодняка крупного рогатого скота; бычки красной степной породы в возрасте 12 мес. и живой массой 300 кг.

Обслуживание животных и экспериментальные исследования были выполнены в соответствии с инструкциями и рекомендациями российских нормативных актов (1987 г.; Приказ Минздрава СССР No 755 от 12.08.1977 «О мерах по дальнейшему совершенствованию организационных форм работы с использованием экспериментальных животных») и «Guide for the Care and Use

of Laboratory Animals» (National Academy Press, Washington, D.C., 1996). При проведении исследований были предприняты меры для обеспечения минимума страданий животных и уменьшения количества исследуемых опытных образцов.

**Схема эксперимента.** Место проведения исследования – физиологический двор Покровского сельскохозяйственного колледжа-филиала ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный аграрный университет» и ЦКП БСТ РАН (<https://ckp-rf.ru/ckp/77384>). Для приготовления водного экстракта помещали соответствующий компонент лекарственного растения в кастрюлю, заливали её водой (из расчёта: компонент лекарственного растения – 20 г, вода – 0,5 л) и помещали ёмкость на плиту. Кипятили средство в течение 10 минут, после этого настаивали его ещё полчаса и процеживали.

Основной рацион (ОР) включал в себя сено суданковое 2-го укоса, сено люцерновое, концентраты. Животные контрольной группы получали ОР, I опытной – ОР+экстракты коры дуба (ЭКД) 33,3 % + листья березы (ЭЛБ) 33,3 % + трава зверобоя (ЭТЗ) 33,3 %, II опытной – ОР+экстракты коры дуба 50 % + листья березы 50 %, III опытной – ОР+экстракты коры дуба 50 % + трава зверобоя 50 %. Экстракты вводили в индивидуальные поилки из расчёта 1,66 мл/кг массы тела.

Отбор рубцовой жидкости проводился через хроническую фистулу рубца. Переваримость сухого вещества концентратов *in situ* определяли по разности массы образца корма вместе с мешочком и после двухстадийной инкубации и высушивания до постоянной массы при температуре +60 °С по следующей формуле:

$$K=100 (A-B) / C,$$

где K – коэффициент переваримости сухого вещества корма (%);

A – исходная масса образца корма вместе с мешочком (г);

B – масса образца корма вместе с мешочком после переваривания (г);

C – исходная масса образца корма без массы мешочка (г).

Отбор проб для исследования микробиома рубца проводили по традиционной методике, с использованием стерильного оборудования, с последующим размещением проб в стерильные микропробирки типа «эппендорф», в последующем замораживая их при -70 °С в криоморозильнике и хранили, не допуская повторного размораживания.

Геномная ДНК была выделена из контрольных и опытных образцов (n=12) с использованием метода химической экстракции. Чистоту ДНК проверяли электрофорезом в 1,5 % агарозном геле. Концентрацию ДНК определяли количественно с использованием флуорометра Qubit 2.0 с анализом высокой чувствительности dsDNA (Life Technologies).

**Оборудование и технические средства.** Стерильные микропробирки типа «эппендорф» (Nuova Artasa S.R.L., Италия), криоморозильник ULUF65 («ARCTICO», Дания).

Подготовка библиотек ДНК, а также секвенирование проводилось на приборе MiSeq (Illumina, США) с использованием реагентов MiSeq v3c2 x 300 пар оснований в Центре коллективного пользования «Персистентность микроорганизмов» Института клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН (Оренбург, Россия).

**Статистическая обработка.** Статистическую обработку проводили с использованием пакета прикладных программ «Statistica 10.0» («Stat Soft Inc.», США), рассчитывая среднюю величину (M), среднее квадратичное отклонение (σ), ошибку стандартного отклонения (m). Уровень значимости считали достоверным при P ≤ 0,05.

### Результаты исследований.

При подсчёте полученного материала *in situ* (рис. 1) было выявлено, что распадаемость сухого вещества концентрированных кормов при одновременном поступлении водных растворов ЭКД 33,3 % + ЭЛБ 33,3 % + ЭТЗ 33,3 % была выше по сравнению с II и III группами на 11,98 и 13,52 %. Наименьшей переваримостью сухого вещества зерносмеси отмечалась группа, получавшая экстракт коры дуба 50 % и экстракт травы зверобоя 50 %, этот показатель был ниже на 1,54 % в сравнении со II группой.

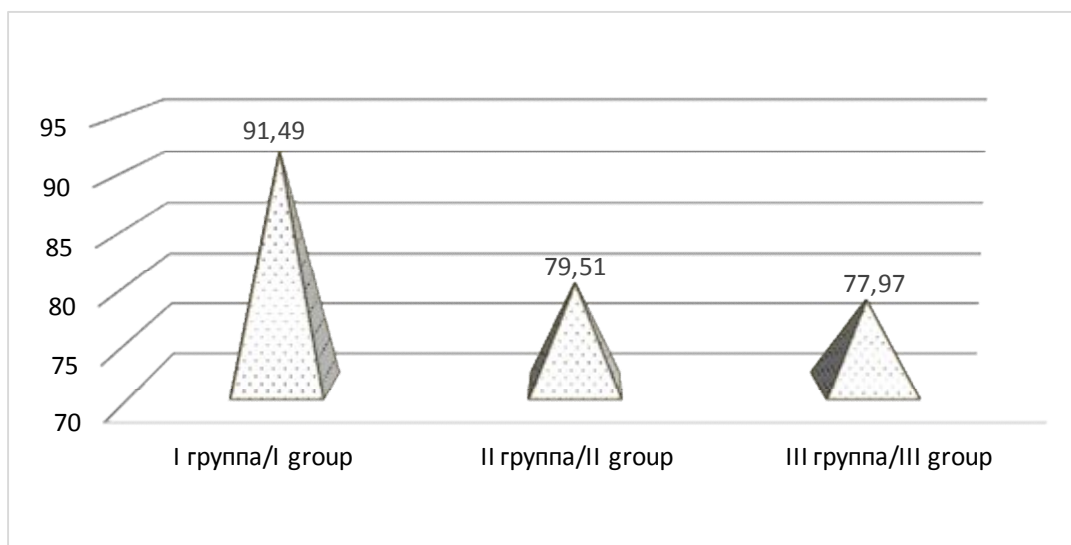


Рис. 1 – Биодоступность сухого вещества концентрированного корма *in situ*, %  
 Figure 1 – Bioavailability of dry matter of concentrated feed *in situ*, %

Экспериментальные данные метагеномного анализа рубцовой жидкости бычков, получавших с основным рационом различные виды растительных экстрактов в разных пропорциях, свидетельствуют о количественных и качественных изменениях в составе микробиома (рис. 2).

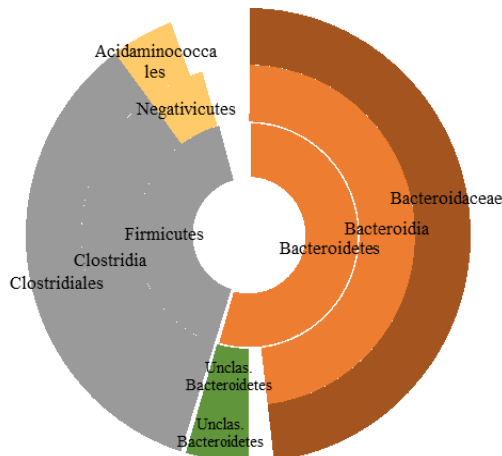


Рис. 2 – Изменение микробиома рубцовой жидкости у бычков I группы  
 Figure 2 – Changes in the microbiome of ruminal fluid in group I

Наиболее выраженным в количественном отношении от общего числа классифицированных бактерий являлся таксон *Bacteria* 99,86-99,94 %.

У животных, получавших экстракты ЭКД 33,3 % + ЭЛБ 33,3 % + ЭТЗ 33,3 % в пробе преобладали следующие филумы: *Bacteroidetes* – 54,39 %, *Firmicutes* – 40,87 %, *Proteobacteria* – 1,1 % от общего количества. Применение этих экстрактов способствовало увеличению количества бактерий, относящихся к филуму *Firmicutes* на 5,65 и 6,24 % от II и III групп.

Микробиом рубцового содержимого особей I группы включал в себя 10 выявленных классов, главные из которых: *Bacteroidia* – 48,01 %, *Clostridia* – 34,89 %, *Negativicutes* – 5,76 %, *Sphingobacteriia* – 1,82 %. При этом количество бактерий из класса *Negativicutes* уменьшилось на 0,72 и 5,13 % в сравнении с II и III группами.

Введение животным I группы ЭКД 33,3 % + ЭЛБ 33,3 % + ЭТЗ 33,3 % спровоцировало максимальный рост числа микроорганизмов семейства *Lachnospiraceae* (на 1,13 и 4,80 %) и *Ruminococcaceae* (на 4,5 и 6,85 %) в сравнении с II и III группами.

Введение экстракта коры дуба 50 % + листья березы 50 % животным II группы способствовало увеличению числа бактерий филума *Bacteroidetes* (на 6,15 %) и уменьшению *Firmicutes* (на 5,65 %) в сравнении с бычками, получавшими экстракты ЭКД 33,3 % + ЭЛБ 33,3 % + ЭТЗ 33,3 % (рис. 3).

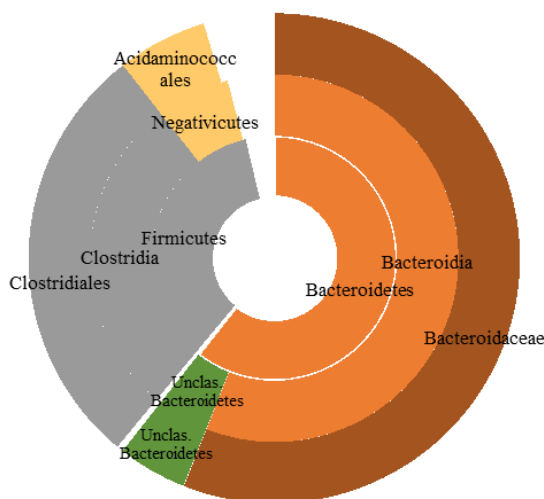


Рис. 3 – Изменение микробиома рубцовой жидкости у бычков II группы  
Figure 3 – Changes in the microbiome of ruminal fluid in group II

Колебание бактерий в пределах филума *Bacteroidetes* у бычков II группы шло в основном за счет увеличения количества микроорганизмов входящих в класс *Bacteroidia*, *unclassified\_Bacteroidetes* и *Candidatus Saccharibacteria*.

Введение ЭКД и ЭЛБ позволило большему росту представителей семейства *Muribaculaceae* (на 2,49 и 1,14 %), *Prevotellaceae* (на 9,06 и 8,07 %) и *Candidatus Saccharibacteria* (на 0,06 и 0,34 %) в сравнении с I и III группами.

Введение экстракта коры дуба 50 % + трава зверобоя 50 % способствовало лучшему развитию бактерий филума *Bacteroidetes* (на 7,73 и 1,58 %) и уменьшению числа бактерий филума *Firmicutes* (на 6,24 и 0,59 %) по сравнению с I и II группой (рис. 4).

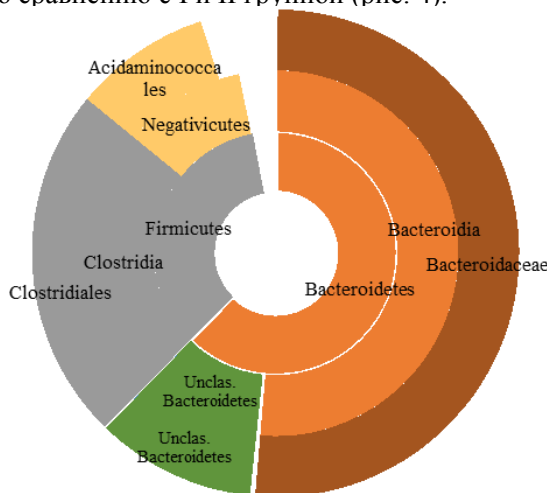


Рис. 4 – Изменение микробиома рубцовой жидкости у бычков III группы  
Figure 4 – Changes in the microbiome of ruminal fluid in group III

Это отразилось на изменении доли в микробиоценозе микроорганизмов классов *Bacteroidia*, *Clostridia* и *Negativicutes*. При этом из всех сравниваемых групп наибольшее количество бактерий класса *Negativicutes* наблюдались у бычков из III группы, что на 5,13 и 4,41 % больше, чем у аналогов из I и II групп.

При введении бычкам ЭКД 50 % + ЭТЗ 50 % наблюдалось уменьшение числа бактерий семейства *Lachnospiraceae* (на 4,8 и 3,67 %) и *Ruminococcaceae* (на 6,85 и 2,35 %) относительно I и II групп. Распределение бактерий по видам происходило в следующей последовательности: *Duncaniella* – 3,21 % от всех обнаруженных бактерий, *Prevotella* – 5,0 % от всех обнаруженных бактерий, неопределённые *unclassified\_Bacteroidales* – 30,13 % от всех обнаруженных бактерий, *unclassified\_Lachnospiraceae* – 3,61 % от всех обнаруженных бактерий, *Sporobacter* – 3,80 % от всех обнаруженных бактерий, *unclassified\_Ruminococcaceae* – 7,9 % от всех обнаруженных бактерий, *Succiniclasticum* – 9,12 % от всех обнаруженных бактерий. Остальные виды бактерий были представлены менее 3 %.

#### Обсуждение полученных результатов.

Анализ литературных источников указывает, что вещества, обнаруженные в растениях, например, изофлавоон, присутствующий в луговом клевере (*Trifolium pratense* L), изменяет ферментацию в преджелудке жвачных. Биоханин А подавляет бактерии, продуцирующие аммиак, и способствует развитию целлюлолитических бактерий (Harlow BE et al., 2020). Аналогичные эффекты наблюдались и в нашем эксперименте.

Вероятным механизмом действия в данном случае может быть различие в составе экстрактов растений. В частности известно, что составные части листьев *Leucaena leucocephala* состоят из десятков веществ (флавоноидов), при этом 4 флавоноида проявляли сильную противовоспалительную активность, 7 показали более сильную антиоксидантную активность, а некоторые подвергались дегликозилированию до агликона кверцетина при анаэробной инкубации с бактериями преджелудка жвачных (Xu Y et al., 2018). Кроме того, известно (Oh S et al., 2017), что включение экстрактов растений в качестве кормовой добавки (*Ginkgo extract*) способны изменить уровни общих бактерий (*Ruminococcus* и *Fibrobacter*) в сторону уменьшения, либо увеличения их численного состава (*Selenomonas*, *Anaerovibrio*, *Ruminobacter*, *Succinivibrio* и *Megasphaera elsdenii*) или изменить типы бактерий (Kasparovska J et al., 2016).

В конечном итоге некоторые экстракты способны положительно повлиять на переваримость сухого вещества рациона (Li D et al., 2016), что согласуется с результатами наших экспериментов.

#### Выводы.

Таким образом, установлено положительное влияние смеси из трёх экстрактов на микробиом рубца жвачных, что оказало положительное влияние на распадаемость сухого вещества концентрированных кормов.

**Исследования выполнены в соответствии с планом НИР за 2021-2023 гг. ФГБНУ ФНЦ БСТ РАН (№ 0761-2019-0005)**

#### Литература

1. Исследование микробиома рубца у овец с использованием молекулярно-генетических методов (обзор) / Е.М. Колоскова, К.С. Остренко, В.А. Езерский, А.Н. Овчарова, Н.В. Белова // Проблемы биологии продуктивных животных. 2020. № 4. С. 5-26. [Koloskova EM, Ezerskiy VA, Ostrenko KS, Ovcharova AN, Belova NV. Studies of the sheep rumen microbiome using molecular genetic methods: a review. Problemy biologii produktivnykh zhivotnykh. 2020;4:5-26. (In Russ)]. doi: 10.25687/1996-6733.prodanimbiol.2020.4.5-26
2. Abreu AC, McBain AJ, Simoes M. Plants as sources of new antimicrobials and resistance-modifying agents. Nat Prod Rep. 2012;29(9):1007-1021. doi: 10.1039/c2np20035j

3. Duskaev GK, Kazachkova NM, Ushakov AS, Nurzhanov BS, Rysaev AF. The effect of purified *Quercus cortex* extract on biochemical parameters of organism and productivity of healthy broiler chickens. *Vet World*. 2018;11(2):235-239. doi: 10.14202/vetworld.2018.235-239
4. Harlow BE, Flythe MD, Kagan IA, Goodman JP, Klotz JL, Aiken GE. Isoflavone supplementation, via red clover hay, alters the rumen microbial community and promotes weight gain of steers grazing mixed grass pastures. *PLoS One*. 2020;15(3):e0229200. doi: 10.1371/journal.pone.0229200
5. Huyghebaert G, Ducatelle R, Van Immerseel F. An update on alternatives to antimicrobial growth promoters for broilers. *Veterinary Journal*. 2011;187(2):182-188. doi: 10.1016/j.tvjl.2010.03.003
6. Karimov I, Kondrashova K, Duskaev G, Kvan O. Evaluation of effects of rumen fluid in combination with probiotic preparations and vanillin on the luminescence of a recombinant strain *E. coli*. In: Zhou P, He Y, Weerasinghe R, editors. *E3S Web of Conferences: 2<sup>nd</sup> International Symposium on Architecture Research Frontiers and Ecological Environment (ARFEE 2019); 2019 December 20-22; Guilin, China*. Les Ulis, France: EDP Science; 2020; 143:02034. doi: <https://doi.org/10.1051/e3sconf/202014302034>
7. Kasparovska J, Pecinkova M, Dadakova K, Krizova L, Hadrova S, Lexa M, Lochman J, Kasparovsky T. Effects of isoflavone-enriched feed on the rumen microbiota in dairy cows. *PLoS One*. 2016;11(4):e0154642. doi: 10.1371/journal.pone.0154642
8. Li D, Zhang Y, Cui Z, He L, Chen W, Meng Q, Ren L. Effects of phytoecdysteroids (PEDS) extracted from cyanotis arachnoidea on rumen fermentation, enzyme activity and microbial efficiency in a continuous-culture system. *PLoS One*. 2016;11(4):e0153584. doi: 10.1371/journal.pone.0153584
9. Logachev K, Karimov I, Duskaev G, Frolov A, Tulebaev S, Zav'yalov O. Study of intercellular interaction of ruminal microorganisms of beef cattle. *Asian Journal of Animal Sciences*. 2015;9(5):248-253.
10. Muhammed A Arowolo, Jianhua He. Use of probiotics and botanical extracts to improve ruminant production in the tropics: A review. *Anim Nutr*. 2018;4(3):241-249. doi: <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2018.04.010>
11. Newman DJ, Gordon MC. Natural products as sources of new drugs from 1981 to 2014. *J Nat Prod*. 2016;79(3):629-661. doi: 10.1021/acs.jnatprod.5b01055
12. Oh S, Koike S, Kobayashi Y. Effect of ginkgo extract supplementation on in vitro rumen fermentation and bacterial profiles under different dietary conditions. *Anim Sci. J*. 2017;88(11):1737-1743. doi: 10.1111/asj.12877
13. Sasidharan S, Chen Y, Saravanan D, Sundram KM, Yoga Latha L. Extraction, isolation and characterization of bioactive compounds from plants' extracts. *Afr J Tradit Complement Altern Med*. 2011;8(1):1-10.
14. Tolmacheva AA, Rogozhin EA, Deryabin DG. Antibacterial and quorum sensing regulatory activities of some traditional Eastern-European medicinal plants. *Acta Pharmaceutica*. 2014;64(2):173-186. doi: 10.2478/acph-2014-0019
15. Valenzuela-Grijalva NV, Pinelli-Saavedra A, Muhlia-Almazan A, Domínguez-Díaz D, González-Ríos H. Dietary inclusion effects of phytochemicals as growth promoters in animal production. *J Anim Sci Technol*. 2017;59:8. doi: 10.1186/s40781-017-0133-9
16. Xu Y, Tao Z, Jin Y, Yuan Y, Dong TTX, Tsim KWK, Zhou Z. Flavonoids, a potential new insight of *leucaena leucocephala* foliage in ruminant health. *J Agric Food Chem*. 2018;66(29):7616-7626 doi: 10.1021/acs.jafc.8b02739

#### References

1. Koloskova EM, Ezerskiy VA, Ostrenko KS, Ovcharova AN, Belova NV. Studies of the sheep rumen microbiome using molecular genetic methods: a review. *Problems of the Biology of Productive Animals*. 2020;4:5-26. doi: 10.25687/1996-6733.prodanimbiol.2020.4.5-26
2. Abreu AC, McBain AJ, Simoes M. Plants as sources of new antimicrobials and resistance-modifying agents. *Nat Prod Rep*. 2012;29(9):1007-1021. doi: 10.1039/c2np20035j

3. Duskaev GK, Kazachkova NM, Ushakov AS, Nurzhanov BS, Rysaev AF. The effect of purified *Quercus cortex* extract on biochemical parameters of organism and productivity of healthy broiler chickens. *Vet World*. 2018;11(2):235-239. doi: 10.14202/vetworld.2018.235-239
4. Harlow BE, Flythe MD, Kagan IA, Goodman JP, Klotz JL, Aiken GE. Isoflavone supplementation, via red clover hay, alters the rumen microbial community and promotes weight gain of steers grazing mixed grass pastures. *PLoS One*. 2020;15(3):e0229200. doi: 10.1371/journal.pone.0229200
5. Huyghebaert G, Ducatelle R, Van Immerseel F. An update on alternatives to antimicrobial growth promoters for broilers. *Veterinary Journal*. 2011;187(2):182-188. doi: 10.1016/j.tvjl.2010.03.003
6. Karimov I, Kondrashova K, Duskaev G, Kvan O. Evaluation of effects of rumen fluid in combination with probiotic preparations and vanillin on the luminescence of a recombinant strain *E. coli*. In: Zhou P, He Y, Weerasinghe R, editors. *E3S Web of Conferences: 2<sup>nd</sup> International Symposium on Architecture Research Frontiers and Ecological Environment (ARFEE 2019); 2019 December 20-22; Guilin, China. Les Ulis, France: EDP Science; 2020; 143:02034. doi: <https://doi.org/10.1051/e3sconf/202014302034>*
7. Kasparovska J, Pecinkova M, Dadakova K, Krizova L, Hadrova S, Lexa M, Lochman J, Kasparovsky T. Effects of isoflavone-enriched feed on the rumen microbiota in dairy cows. *PLoS One*. 2016;11(4):e0154642. doi: 10.1371/journal.pone.0154642
8. Li D, Zhang Y, Cui Z, He L, Chen W, Meng Q, Ren L. Effects of phytoecdysteroids (PEDS) extracted from cyanotis arachnoidea on rumen fermentation, enzyme activity and microbial efficiency in a continuous-culture system. *PLoS One*. 2016;11(4): e0153584. doi: 10.1371/journal.pone.0153584
9. Logachev K, Karimov I, Duskaev G, Frolov A, Tulebaev S, Zav'yalov O. Study of intercellular interaction of ruminal microorganisms of beef cattle. *Asian Journal of Animal Sciences*. 2015;9(5):248-253.
10. Muhammed A Arowolo, Jianhua He. Use of probiotics and botanical extracts to improve ruminant production in the tropics: A review. *Anim Nutr*. 2018;4(3):241-249. doi: <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2018.04.010>
11. Newman DJ, Gordon MC. Natural products as sources of new drugs from 1981 to 2014. *J Nat Prod*. 2016;79(3):629-661. doi: 10.1021/acs.jnatprod.5b01055
12. Oh S, Koike S, Kobayashi Y. Effect of ginkgo extract supplementation on in vitro rumen fermentation and bacterial profiles under different dietary conditions. *Anim Sci. J*. 2017;88(11):1737-1743. doi: 10.1111/asj.12877
13. Sasidharan S, Chen Y, Saravanan D, Sundram KM, Yoga Latha L. Extraction, isolation and characterization of bioactive compounds from plants' extracts. *Afr J Tradit Complement Altern Med*. 2011;8(1):1-10.
14. Tolmacheva AA, Rogozhin EA, Deryabin DG. Antibacterial and quorum sensing regulatory activities of some traditional Eastern-European medicinal plants. *Acta Pharmaceutica*. 2014;64(2):173-186. doi: 10.2478/acph-2014-0019
15. Valenzuela-Grijalva NV, Pinelli-Saavedra A, Muhlia-Almazan A, Domínguez-Díaz D, González-Ríos H. Dietary inclusion effects of phytochemicals as growth promoters in animal production. *J Anim Sci Technol*. 2017;59:8. doi: 10.1186/s40781-017-0133-9
16. Xu Y, Tao Z, Jin Y, Yuan Y, Dong TTX, Tsim KWK, Zhou Z. Flavonoids, a potential new insight of *leucaena leucocephala* foliage in ruminant health. *J Agric Food Chem*. 2018;66(29):7616-7626 doi: 10.1021/acs.jafc.8b02739

**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

**Дускаев Галимжан Калиханович**, доктор биологических наук, ведущий 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.: +7 (35-32) 30-81-70, e-mail: gduskaev@mail.ru



**Кван Ольга Вилориевна**, кандидат биологических наук, и. о. заведующего 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, e-mail: kwan111@yandex.ru

**Ажмулдинов Елемес Ажмулдинович**, доктор сельскохозяйственных наук, профессор, главный научный сотрудник отдела технологии мясного скотоводства и производства говядины, Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий Российской академии наук, Россия, 460000, г. Оренбург, ул. 9 Января, 29, тел.: 8(3532) 30-81-78

Поступила в редакцию 6 августа 2021 г.; принята после решения редколлегии 13 сентября 2021 г.; опубликована 30 сентября 2021 г. / Received: 6 August 2021; Accepted: 13 September 2021; Published: 30 September 2021