

УДК 636.084.1:665.12

DOI: 10.33284/2658-3135-104-3-36

Изменение таксономического профиля микроорганизмов рубцовой жидкости крупного рогатого скота на фоне жиросодержащих кормовых добавок (исследование *in vitro*)

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

Резюме. В статье приводятся результаты по изучению рубцовой жидкости молодняка крупного рогатого скота методом *in vitro* под влиянием новых жировых сочетаний, таких как льняное масло и рыбий жир, смешанные со стеариновой кислотой, на таксономический состав микрофлоры. В ходе исследования установлено, что распределение грамотрицательных и грамположительных бактерий для филумов *Firmicutes* и *Bacteroidetes* составляло 1:2,8 в группе с льняным маслом с добавлением стеариновой кислоты, в группе с рыбьим жиром, обработанным стеариновой кислотой, отношение для данных филумов равнялось 1:1,9. Выявлен домен архей от общего количества биомассы в количестве 0,08 % ($P \leq 0,05$) и 0,09 % ($P \leq 0,05$). Сочетание рыбьего жира и стеариновой кислоты в условиях *in vitro* выявил семейство *Christensenellaceae* (3,8 %).

Ключевые слова: крупный рогатый скот, бычки, кормление, стеариновая кислота, льняное масло, рыбий жир, микробиом рубца, метан.

UDC 636.084.1:665.12

Changes in the taxonomic profile of microorganisms in ruminal fluid of cattle against the background of fat-containing feed additives (in vitro study)

Vitaly A Ryazanov, Georgy I Levakhin, Galimzhan K Duskaev, Elena V Sheyda, Baer S Nurzhanov, Ivan S Miroshnikov

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

Abstract. The article presents the results of the *in vitro* study of ruminal fluid of young cattle under the influence of new fatty combinations, such as flaxseed oil and fish oil mixed with stearic acid on the taxonomic composition of microflora. The study found that the distribution of gram-negative and gram-positive bacteria for the phyla *Firmicutes* and *Bacteroidetes* was 1:2.8 in the group with linseed oil with added stearic acid, in the group with fish oil treated with stearic acid, the ratio for these phyla was 1:1.9. The archaeal domain of the total biomass was revealed in the amount of 0.08% ($P \leq 0.05$) and 0.09% ($P \leq 0.05$). The combination of fish oil and stearic acid *in vitro* revealed the *Christensenellaceae* family (3.8%).

Keywords: cattle, bulls, feeding, stearic acid, flaxseed oil, fish oil, rumen microbiome, methane.

Введение.

Мировой опыт и практика по кормлению и откорму крупного рогатого скота показывают необходимость изучения и применения новейших биотехнологических подходов при использовании специализированных комовых средств и добавок для снижения экономических потерь в данной отрасли (Schneider L et al., 2020; Макаева А et al., 2019).

В условиях, когда крупный рогатый скот кормят полнокомпонентными и высококонцентрированными рационами для повышения продуктивности, происходит нарушение в экосистеме рубца за счёт большого количества структурных углеводов (Ramos SC et al., 2021), а также это приводит к образованию и выбросу большого количества энтерального метана (Vargas JE et al., 2020). Улучшение откормочного процесса возможно через применение растительных масел как наиболее энергоёмких соединений (Hales KE et al., 2017; Sheida EV et al., 2021, Grechkina VV et al., 2021). Также в рационы крупного рогатого скота возможно вводить различные жировые добавки

(Behan AA et al., 2019). Использование растительных жиров в кормлении жвачных животных может послужить способом снижения образования энтерального метана за счёт изменения микробиома рубца, в частности уменьшения метаногенов, архей и простейших, способных продуцировать водород (Morgavi DP et al., 2010; Tapio I et al., 2017a; Debruyne S et al., 2018).

Применение жиров в кормлении жвачных животных сопровождается изменениями в микробной популяции с нарушением ферментативных процессов (Atikah IN et al., 2018). Имеются некоторые исследования по использованию жировых добавок в рационах крупного рогатого скота в части их влияния на переваримость корма (Weld KA and Armentano LE, 2017), однако необходимо углубить знания по воздействию жировых компонентов на таксономический состав рубца для контроля и улучшения ферментативных процессов.

В связи с чем дальнейшее детальное изучение биоразнообразия рубца под воздействием липидов представляет определённый интерес.

Цель исследования.

Определить изменения в микробной популяции рубца молодняка крупного рогатого скота под воздействием смеси жиров и жирной кислоты.

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 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. Исследования проводили методом латинского квадрата в отделе кормления сельскохозяйственных животных и технологии кормов им. С.Г. Леушина, Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий Российской академии наук (ФНЦ БСТ РАН). Отдельные физиологические опыты выполнены в условиях Покровского сельскохозяйственного колледжа-филиала ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный аграрный университет».

Отбор проб рубцового содержимого осуществляли на модели бычков красной степной породы с фистулой рубца (n=3). Рацион: сено – 70 %; зерновой корм – 30 %.

В эксперименте использована стеариновая кислота, соответствующая ГОСТ 6484-96, льняное масло ГОСТ 5791-81, рыбий жир ГОСТ 8714-2014. Изучение микробиома рубца производили методом *in vitro* с использованием модели «искусственный рубец», с помощью инкубатора «ANKOM Daisy II» (модификации D200 и D200I, USA) по специализированной методике.

Была отобрана нативная рубцовая жидкость и приготовлены образцы льняного масла и рыбьего жира в смеси со стеариновой кислотой. У фистульных животных через 3 часа после кормления брали пробы рубцового содержимого, которые фильтровали через 4 слоя марли, опираясь на ранее проведённые опыты (AbuGhazaleh AA and Jenkins TC, 2007). Исследуемые образцы добавляли в рубцовую жидкость в дозировке 1 мл на 100 мл рубцовой жидкости и инкубировали в искусственном рубце при постоянной T +39 °C в течение 24 часов в термостате. После инкубирования производили отбор рубцовой жидкости шприцом-дозатором Экохим ОПА-2-20 в микропробирки типа «Eppendorf» объёмом 1,5 мл. Для анализа отбирали 1,5 мл субстрата рубцовой жидкости, по одной пробе для каждого образца. ДНК-библиотеки для секвенирования были созданы по протоколу «Illumina, Inc.» (США) с праймерами S-D-Bact-0341-b-S-17 и S-D-Bact-0785-a-A-21 к варибельному участку V3-V4 гена 16S рПНК.

Классификацию полученных операционных таксономических единиц (ОТЕ) проводили с использованием интерактивного инструмента VAMPS (<http://vamps.mbl.edu>) и базы данных RDP (<http://rdp.cme.msu.edu>). Некоторые ОТЕ выравнивали с помощью алгоритма BLAST (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>), используя базы данных нуклеотидных последовательностей nr/nt (https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?PROGRAM=blastn&PAGE_TYPE=BlastSearch&LINK_LOC=blasthome) и выравненных последовательностей генов рибосомальной РНК SILVA (<https://www.arb-silva.de>)

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 «Экротех», г. Санкт-Петербург, Россия), микробиологическая посуда «Eppendorf»

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 Пielу (E) (Елина Е.Е., 2016).

Результаты исследований.

Исследование микробиома рубцовой жидкости 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 %). Малое количество бактерий отмечено для филумов *Candidatus Saccharibacteria*, *Spirochaetes*, *Proteobacteria* – не более 2 % от общего количества выделенных таксонов.

Преобладающее количество выделенных бактерий относились к семейству *Ruminococcaceae* (7,6 %), представленное родом *Ruminococcus* (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 %).

Исследование микробиома рубцовой жидкости молодняка крупного рогатого скота в группе с использованием льняного масла, обработанного стеариновой кислотой, выявило несколько наиболее выраженных филумов: *Firmicutes* (20,1 %), *Bacteroidetes* (56,3 %) ($P \leq 0,05$), *Candidatus Saccharibacteria* (7,5 %), *Verrucomicrobia* (4,5 %). Филум *Firmicutes* включал в себя класс *Clostridia* (20,7 %) ($P \leq 0,05$) семейство *Ruminococcaceae* (14,9 %) род *Ruminococcus* (3,1 %), род *Oscillibacter* (2,1 %), численность для семейства *Lachnospiraceae* (3,7 %) и класс *Negativicutes* (2,7 %), семейство *Acidaminococcaceae* (2,1 %), род *Succiniclasicum* (2,1 %). В филум *Bacteroidetes* входил класс *Bacteroidia* (49,1 %), состоящий из семейств: *Prevotellaceae* (30,0 %), *unclassified_Bacteroidales* (14,6 %),

Porphyromonadaceae (3,3%), в семействе *Prevotellaceae* доминировали рода *Prevotella* (26,2 %) и *Paraprevotella* (2,4 %) (рис. 1).

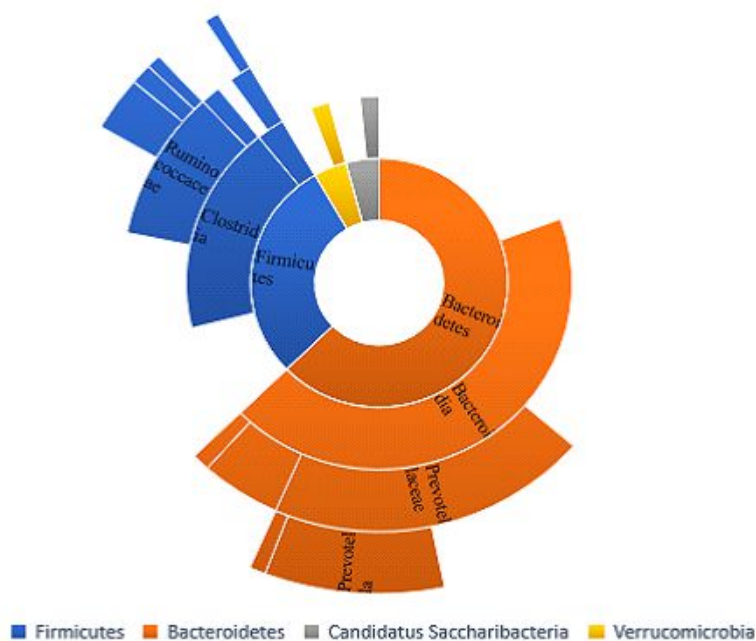


Рис. 1 – Таксономический состав микробиома рубцовой жидкости *in vitro* с использованием льняного масла, обработанного стеариновой кислотой (C_{18:0})

Figure 1 – Taxonomic composition of the microbiome of ruminal fluid *in vitro* using linseed oil treated with stearic acid (C_{18:0})

Изучение влияния рыбьего жира в смеси со стеариновой кислотой на микроорганизмы рубца выделило филумы *Firmicutes* (27,7 %), *Bacteroidetes* (53,0 %), *Candidatus Saccharibacteria* (7,9 %), *Verrucomicrobia* (5,08 %). Филум *Firmicutes* представлен классами *Clostridia* (25,2 %) ($P \leq 0,05$) семейство *Ruminococcaceae* (16,5 %), семейство *Lachnospiraceae* (3,3 %). Класс *Negativicutes* (2,0 %) представлен семейством *Acidaminococcaceae* (1,7 %) род *Succiniclasticum* (1,7 %). Род *Ruminococcus* (3,1 %), род *Oscillibacter* (2,1 %) относились к семейству *Ruminococcaceae*.

Стоит отметить, что использование рыбьего жира в смеси со стеариновой кислотой позволило выделить семейство *Christensenellaceae* (3,8 %) ($P \leq 0,05$) род *Christensenell* (3,8 %), входящие в класс *Clostridia* (рис. 2).

В филум *Bacteroidetes* входил класс *Bacteroidia* (44,6 %), состоящий из семейств: *Prevotellaceae* (28,0 %), *unclassified_Bacteroidales* (12,7 %), *Porphyromonadaceae* (3,1%), в семействе *Prevotellaceae* доминировали рода *Prevotella* (24,0 %) и *Paraprevotella* (2,8 %).

В ходе исследования рубцовой жидкости под воздействием льняного масла и рыбьего жира, предварительно обработанных стеариновой кислотой, установлено присутствие домена архей в количестве 0,08 % ($P \leq 0,05$) и 0,09 % ($P \leq 0,05$) соответственно.

При подсчёте представленности каждого вида отображается структура видового богатства и видового разнообразия, которые в целом отображают биомассу сообщества. Для наиболее выраженных филумов *Firmicutes* и *Bacteroidetes* были рассчитаны индексы: видового разнообразия Шеннона, доминирования Симпсона и вычислен показатель выравниваемости Пиелу. Результаты анализа представлены в таблице 1.

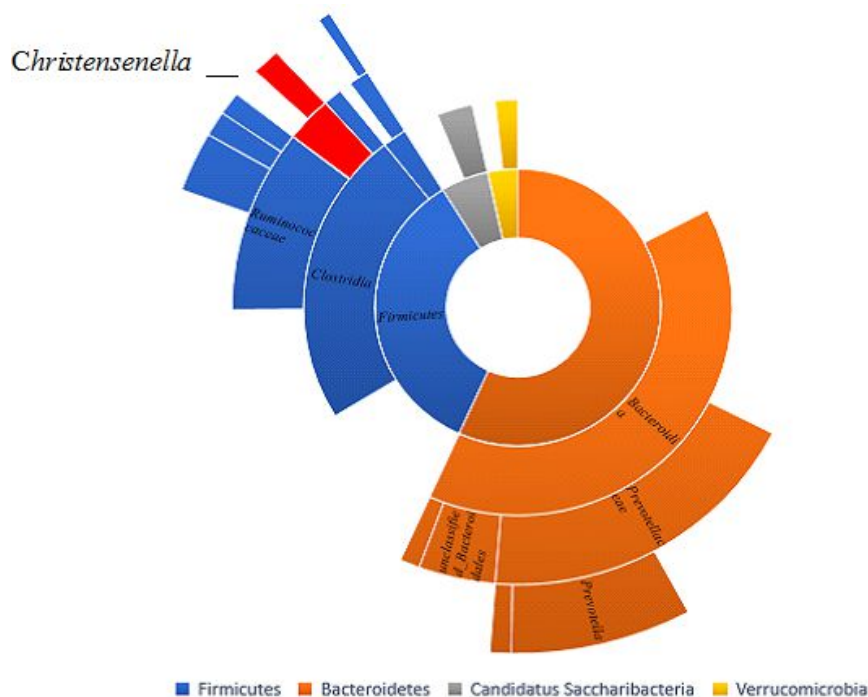


Рис. 2 – Таксономический состав микробиома рубцовой жидкости *in vitro* с использованием рыбьего жира, обработанного стеариновой кислотой (C_{18:0})
 Figure 2 – Taxonomic composition of the microbiome of ruminal fluid *in vitro* using fish oil treated with stearic acid (C_{18:0})

Таблица 1. Различия по индексам Шеннона (H'), Симпсона (D), Пиелу (E) видового разнообразия сообществ микроорганизмов филума Firmicutes и Bacteroidetes
 Table 1. Differences in the Shannon (H'), Simpson (D), Pielou (E) indices of the species diversity of microbial communities of the phylum Firmicutes and Bacteroidetes

Проба/Sample	Вид/Type	ni (число особей i вида)/ ni (number of species i type)	pi (доля особей i вида) (pi=ni/N)/ pi (share of species i type) (pi=ni/N)	Индекс Шеннона (H')/ Shannon index (H')	Индекс Симпсона (D)/ Simpson index (D)	Индекс выравненности Пиелу (E)/ Pielou evenness index (E)
Льняное масло + стеариновая кислота/ Linseed oil + stearic acid	Firmicutes	9637	0,24	0,34	0,05	0,30
	Bacteroidetes	22490	0,56	0,32	0,03	0,28
Рыбий жир + стеариновая кислота/ Fish oil + stearic acid	Firmicutes	11960	0,27	0,35	0,07	0,31
	Bacteroidetes	22870	0,53	0,33	0,28	0,29

Примечание: число N для группы с льняным маслом составило 39978 особей, а для группы с рыбьим жиром – N=43124 особей. Число видов S=13 для двух групп
 Note: the number N for the group with flaxseed oil was 39,978 species, and for the group with fish oil - N = 43,124 specie. The number of species S = 13 for two groups

Из результатов расчётов (табл.1) установлено, что видовое разнообразие, оцениваемое по индексу Шеннона (H), в образцах с льняным маслом и рыбьим жиром с добавлением стеариновой кислоты для филума *Firmicutes* находится выше, чем для филума *Bacteroidetes*, индекс доминирования (D) ниже в образце с рыбьим жиром с добавлением стеариновой кислоты, индекс выравненности (E) возрастает в двух образцах для филума *Firmicutes*.

Обсуждение полученных результатов.

Повышение продуктивных качеств крупного рогатого скота сопряжено с большой нагрузкой на пищеварительный тракт и нарушением ферментативных процессов в рубце из-за применения высококонцентрированных или высоко-компонентных рационов, содержащих в себе большое количество структурных углеводов, за частую приводящих к ацидозу рубца и абсцессам печени (Huebner KL et al., 2019; Cozzi G et al., 2009).

Большая и основная роль в пищеварительном процессе отводится микроорганизмам, населяющим все отделы желудочно-кишечного тракта животного, которые изменяют биомассу сообщества в первую очередь под таким влиянием (Tapio I et al., 2017b).

В нашем исследовании установлено, что распределение грамотрицательных и грамположительных бактерий для филумов *Firmicutes* и *Bacteroidetes* составляло 1:2,8 в группе с льняным маслом и добавлением стеариновой кислоты, в группе с рыбьим жиром, обработанным стеариновой кислотой, отношение для данных филумов равнялось 1:1,9.

В основном в нашем исследовании видовое разнообразие выделенных микроорганизмов находится выше для филума *Firmicutes*, чем для филума *Bacteroidetes*, при использовании рыбьего жира, обработанного стеариновой кислотой, что может говорить о том, что этот состав менее воздействует на микроорганизмы рубца, способные разрушать структурные углеводы, соответственно не нарушая переваривания грубых и других кормов в рубце.

В то же время видовое разнообразие по индексу Шеннона (H) было выше для филума *Firmicutes*, которое составило 0,34 и 0,35.

Для перехода к экологически чистому и высокопродуктивному животноводству не обойтись без применения жировых добавок и растительных масел, которые позволят снизить нагрузку на ЖКТ животного и выбросы энтерального метана (Bayat AR et al., 2017; Benchaar C et al., 2015).

Так, в нашем исследовании обнаружен домен архей от общего количества биомассы в количестве 0,08 % ($P \leq 0,05$) и 0,09 % ($P \leq 0,05$) для групп с льняным маслом и рыбьим жиром с добавлением стеариновой кислоты соответственно. Как известно, данный домен является активным по отношению продуцирования энтерального метана (Morgavi DP et al., 2010).

Применение растительных масел в кормлении высокопродуктивных коров выявило связь образования профиля жирных кислот, наиболее подходящих для питания человека, с большим образованием омега 6 и омега 3 жирных кислот (Salles MSV et al., 2019).

В нашей работе по изучению влияния рыбьего жира с добавлением стеариновой кислоты на микробиом рубцовой жидкости в условиях *in vitro* выявлено семейство *Christensenellaceae* (3,8 %) ($P \leq 0,05$) род *Christensenella* (3,8 %). Данный факт может косвенно подтвердить теорию о том, что нахождение данного вида бактерий возможно способствует накоплению больше мышечной ткани тела, нежели отложению и накоплению жира в туше животного при использовании различных липидов в рационах. Стоит отметить, что *Christensenella minuta* составляют примерно 1 % от всех микроорганизмов, обитающих в кишечнике здоровых людей. Имеются исследования, доказывающие, что увеличение числа бактерий *Christensenella minuta* до 10 % микробиоты кишечника у некоторых млекопитающих и у человека препятствует их ожирению (Goodrich JK et al., 2014).

Выводы.

В ходе исследования были определены изменения в микробной популяции рубца молодняка крупного рогатого скота под воздействием смеси жиров и жирной кислоты, которые не имели больших различий и находились примерно на одном уровне, лишь в группе с рыбьим жиром с добавлением стеариновой кислоты были выделены бактерии семейства *Christensenellaceae*.

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

Литература

1. ГОСТ 5791-81. Масло льняное техническое. Технические условия. Введ. 01.07.1982. М.: Стандартиформ, 2011. 5 с. [GOST 5791-81. Maslo l'nyanoe tekhnicheskoe. Tekhnicheskie usloviya. Vved. 01.07.1982. Moscow: Standartinform; 2011:5 p. (*In Russ*)].
2. ГОСТ 6484-96. Кислота стеариновая техническая (стеарин). Технические условия. Введ. 01.01.1997. М.: Минск: Межгосударственный совет по стандартизации, метрологии и сертификации, 1997. 12 с. [GOST 6484-96. Kislota stearinovaya tekhnicheskaya (stearin). Tekhnicheskie usloviya. Vved. 01.01.1997. Moscow: Minsk: Mezhsudarstvennyi soviet po standartizatsii, metrologii i sertifikatsii; 1997:12 p. (*In Russ*)].
3. ГОСТ 8714-2014. Жир пищевой из рыбы и водных млекопитающих. Технические условия. Введ. 01.07.2015. М.: Стандартиформ, 2019. 5 с. [GOST 8714-2014. Zhir pishchevoi iz ryby i vodnykh mlekopitayushchikh. Tekhnicheskie usloviya. Vved. 01.07.2015. Moscow: Standartinform; 2019:5 p. (*In Russ*)].
4. Елина Е.Е. Биоразнообразие: метод. пособие для бакалавров направления подготовки «Экология и природопользование». Оренбург: Типография «Экспресс-печать», 2016. 36 с. [Elina E.E. Bioraznoobrazie: metod. posobie dlya bakalavrov napravleniya podgotovki «Ekologiya i prirodopol'zovanie». Orenburg: Tipografiya «Ekspress-pechat»; 2016:36 p. (*In Russ*)].
5. 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
6. Atikah IN, Alimon AR, Yaakub H, Abdullah N, Jahromi MF, Ivan M, Samsudin AA. Profiling of rumen fermentation, microbial population and digestibility in goats fed with dietary oils containing different fatty acids. *BMC Vet Res*. 2018;14(1):344. doi: 10.1186/s12917-018-1672-0
7. Bayat AR, Ventto L, Kairenius P, Stefański T, Leskinen H, Tapio I, Negussie E, Vilkki J, Shingfield KJ. Dietary forage to concentrate ratio and sunflower oil supplement alter rumen fermentation, ruminal methane emissions, and nutrient utilization in lactating cows. *Transl Anim Sci*. 2017;1(3):277-286. doi: 10.2527/tas2017.0032
8. Behan AA, Loh TC, Fakurazi S, Kaka U, Kaka A, Samsudin AA. Effects of supplementation of rumen protected fats on rumen ecology and digestibility of nutrients in sheep. *Animals (Basel)*. 2019; 9(7):400. doi: 10.3390/ani9070400
9. Benchaar C, Hassanat F, Martineau R, Gervais R. Linseed oil supplementation to dairy cows fed diets based on red clover silage or corn silage: Effects on methane production, rumen fermentation, nutrient digestibility, N balance, and milk production. *J Dairy Sci*. 2015;98(11):7993-8008. doi: 10.3168/jds.2015-9398.
10. Cozzi G, Brscic M, Gottardo F. Main critical factors affecting the welfare of beef cattle and veal calves raised under intensive rearing systems in Italy: a review. *Ital J Anim Sci*. 2009;8(1):67-80. doi: 10.4081/ijas.2009.s1.67
11. Debruyne S, Ruiz-González A, Artiles-Ortega E, Ampe B, Broeck VDW, Keyser ED, Vandaele L, Goossens K, Fievez V. Supplementing goat kids with coconut medium chain fatty acids in early life influences growth and rumen papillae development until 4 months after supplementation but effects

on in vitro methane emissions and the rumen microbiota are transient. *J Anim Sci.* 2018;96(5):1978-1995. doi: 10.1093/jas/sky070

12. Goodrich JK, Waters JL, Poole AC, Sutter JL, Koren O, Blekman R, Beaumont M, Treuren WV, Knight R, Bell JT, Spector TD, Clark AG, Ley RE. Human genetics shape the gut microbiome. *2014;159(4):789-799. Cell.* doi: 10.1016/j.cell.2014.09.053

13. Grechkina VV, Lebedev SV, Miroshnikov IS, Ryazanov VA, Sheida EV, Korolev VL. Justification of rational and safe biotechnological methods of using fat additives from vegetable raw materials. IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science: International Conference on World Technological Trends in Agribusiness; 2020 4-5 July, Omsk City, Western Siberia, Russian Federation. Bristol, England: IOP Publishing; 2021;624:012160. doi: 10.1088/1755-1315/624/1/012160

14. Hales KE, Foote AP, Brown-Brandl TM, Freetly HC. The effects of feeding increasing concentrations of corn oil on energy metabolism and nutrient balance in finishing beef steers. *J Anim Sci.* 2017;95(2):939-948. doi: 10.2527/jas.2016.0902

15. Huebner KL, Martin JN, Weissend CJ, Holzer KL, Parker JK, Lakin SM, Doster E, Weinroth MD, Abdo Z, Woerner DR, Metcalf JL, Geornaras I, Bryant TC, Morley PS, Belk KE. Effects of a *Saccharomyces cerevisiae* fermentation product on liver abscesses, fecal microbiome, and resistome in feedlot cattle raised without antibiotics. *Sci Rep.* 2019;9:2559. doi: 10.1038/s41598-019-39181-7

16. Makaeva A, Duskaev G, Nurzhanov B, Rysaev A, Rakhmatullin S, Inchagova K, Rayzanov V. PSXII-27 The effect of *Quercus cortex* extract added separately or with probiotic to ruminal fluid of cattle (in vitro) on microbiota and fermentation characteristics. *Journal of Animal Science.* 2019;97(3):413. doi: <https://doi.org/10.1093/jas/skz258.819>

17. Morgavi DP, Forano E, Martin C, Newbold CJ. Microbial ecosystem and methanogenesis in ruminants. *Animal.* 2010;4(7):1024-1036. doi:10.1017/S1751731110000546

18. Ramos SC, Jeong CD, Mamuad LL, Kim SH, Kang SH, Kim ET, Cho Y I, Lee SS, Lee SS. Diet transition from high-forage to high-concentrate alters rumen bacterial community composition, epithelial transcriptomes and ruminal fermentation parameters in dairy cows. *Animals (Basel).* 2021;11(3):838. doi: 10.3390/ani11030838

19. Salles MSV, Abreu LFD, Júnior LCR, César MC, Guimarães JGL, Segura JG, Rodrigues C, Zanetti MA, Pfrimer K, Netto A. Inclusion of sunflower oil in the bovine diet improves milk nutritional profile. *Nutrients.* 2019;11(2):481. doi: 10.3390/nu11020481

20. Schneider L, Volkmann N, Kemper N, Spindler B. Feeding behavior of fattening bulls fed six times per day using an automatic feeding system. *Front Vet Sci.* 2020;7:43. doi: 10.3389/fvets.2020.00043

21. Sheida EV, Lebedev SV, Gubaidullina IZ, Grechkina VV, Ryazanov VA. Biotechnological aspects of the use of vegetable oils in the production of meat products. IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science. 2021;624:012114. doi: 10.1088/1755-1315/624/1/012114

22. SILVA. High Quality Ribosomal RNA databases [Internet] de.NBI. German network for bioinformatics infrastructure [cited 2021 March 15] Available from: <https://www.arb-silva.de>

23. Tapio I, Snelling TJ, Strozzi F, Wallace RJ. The ruminal microbiome associated with methane emissions from ruminant livestock. *Journal of Animal Science and Biotechnology.* 2017a;8:7. doi: 10.1186/s40104-017-0141-0

24. Tapio I, Fischer D, Blasco L, Tapio M, Wallace RJ, Bayat AR, Ventto L, Kahala M, Negussie E, Shingfield KJ, Vilkki J. Taxon abundance, diversity, co-occurrence and network analysis of the ruminal microbiota in response to dietary changes in dairy cows. *PLoS One.* 2017b;12(7):e0180260. doi: 10.1371/journal.pone.0180260

25. U.S. National Library of Medicine. National Center for Biotechnology Information [Internet] BLAST. [cited 2021 March 15] Available from: <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>

26. U.S. National Library of Medicine. National Center for Biotechnology Information [Internet] BLAST. Nucleotide BLAST [cited 2021 March 15] Available from: https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?PROGRAM=blastn&PAGE_TYPE=BlastSearch&LINK_LOC=blasthome

27. VAMPS Visualization and Analysis of Microbial Population Structures [Internet] The Josephine Bay Paul Center. [cited 2021 March 15] Available from: <http://vamps.mbl.edu>
28. Vargas JE, Andrés S, López-Ferreras L, Snelling TJ, Yáñez-Ruiz DR, García-Estrada C, López S. Dietary supplemental plant oils reduce methanogenesis from anaerobic microbial fermentation in the rumen. *Sci Rep.* 2020;10(1):1613. doi: 10.1038/s41598-020-58401-z
29. Weld KA, Armentano LE. The effects of adding fat to diets of lactating dairy cows on total-tract neutral detergent fiber digestibility: A meta-analysis. *Journal of Dairy Science.* 2017;100(3):1766-1779. doi: <https://doi.org/10.3168/jds.2016-11500>
30. 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

References

1. GOST 5791-81. Linseed oil for industrial use. Technical conditions. Intro. 01.07.1982. Moscow: Standartinform; 2011:5 p.
2. GOST 6484-96. Technical stearic acid (stearin). Technical conditions. Intro. 01.01.1997. Moscow: Minsk: Interstate Council for Standardization, Metrology and Certification; 1997:12 p.
3. GOST 8714-2014. Edible fat from fish and aquatic mammals. Technical conditions. Intro. 01.07.2015. Moscow: Standartinform; 2019:5 p.
4. Elina EE. Biodiversity: Method. manual for bachelors of the training programme "Ecology and nature management". Orenburg: Express Printing Printing House; 2016:36 p.
5. 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
6. Atikah IN, Alimon AR, Yaakub H, Abdullah N, Jahromi MF, Ivan M, Samsudin AA. Profiling of rumen fermentation, microbial population and digestibility in goats fed with dietary oils containing different fatty acids. *BMC Vet Res.* 2018;14(1):344. doi: 10.1186/s12917-018-1672-0
7. Bayat AR, Ventto L, Kairenius P, Stefański T, Leskinen H, Tapio I, Negussie E, Vilkkilä J, Shingfield KJ. Dietary forage to concentrate ratio and sunflower oil supplement alter rumen fermentation, ruminal methane emissions, and nutrient utilization in lactating cows. *Transl Anim Sci.* 2017;1(3):277-286. doi: 10.2527/tas2017.0032
8. Behan AA, Loh TC, Fakurazi S, Kaka U, Kaka A, Samsudin AA. Effects of supplementation of rumen protected fats on rumen ecology and digestibility of nutrients in sheep. *Animals (Basel).* 2019; 9(7):400. doi: 10.3390/ani9070400
9. Benchaar C, Hassanat F, Martineau R, Gervais R. Linseed oil supplementation to dairy cows fed diets based on red clover silage or corn silage: Effects on methane production, rumen fermentation, nutrient digestibility, N balance, and milk production. *J Dairy Sci.* 2015;98(11):7993-8008. doi: 10.3168/jds.2015-9398.
10. Cozzi G, Brscic M, Gottardo F. Main critical factors affecting the welfare of beef cattle and veal calves raised under intensive rearing systems in Italy: a review. *Ital J Anim Sci.* 2009;8(1):67-80. doi: 10.4081/ijas.2009.s1.67
11. Debruyne S, Ruiz-González A, Artiles-Ortega E, Ampe B, Broeck VDW, Keyser ED, Vandaele L, Goossens K, Fievez V. Supplementing goat kids with coconut medium chain fatty acids in early life influences growth and rumen papillae development until 4 months after supplementation but effects on in vitro methane emissions and the rumen microbiota are transient. *J Anim Sci.* 2018;96(5):1978-1995. doi: 10.1093/jas/sky070
12. Goodrich JK, Waters JL, Poole AC, Sutter JL, Koren O, Blekhman R, Beaumont M, Treuren WV, Knight R, Bell JT, Spector TD, Clark AG, Ley RE. Human genetics shape the gut microbiome. *2014;159(4):789-799. Cell.* doi: 10.1016/j.cell.2014.09.053
13. Grechkina VV, Lebedev SV, Miroshnikov IS, Ryazanov VA, Sheida EV, Korolev VL. Justification of rational and safe biotechnological methods of using fat additives from vegetable raw materials.

IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science: International Conference on World Technological Trends in Agribusiness; 2020 4-5 July, Omsk City, Western Siberia, Russian Federation. Bristol, England: IOP Publishing; 2021;624:012160. doi: 10.1088/1755-1315/624/1/012160

14. Hales KE, Foote AP, Brown-Brandl TM, Freetly HC. The effects of feeding increasing concentrations of corn oil on energy metabolism and nutrient balance in finishing beef steers. *J Anim Sci.* 2017;95(2):939-948. doi: 10.2527/jas.2016.0902

15. Huebner KL, Martin JN, Weissend CJ, Holzer KL, Parker JK, Lakin SM, Doster E, Weinroth MD, Abdo Z, Woerner DR, Metcalf JL, Geornaras I, Bryant TC, Morley PS, Belk KE. Effects of a *Saccharomyces cerevisiae* fermentation product on liver abscesses, fecal microbiome, and resistome in feedlot cattle raised without antibiotics. *Sci Rep.* 2019;9:2559. doi: 10.1038/s41598-019-39181-7

16. Makaeva A, Duskaev G, Nurzhanov B, Rysaev A, Rakhmatullin S, Inchagova K, Rayzanov V. PSXII-27 The effect of *Quercus cortex* extract added separately or with probiotic to ruminal fluid of cattle (in vitro) on microbiota and fermentation characteristics. *Journal of Animal Science.* 2019;97(3):413. doi: <https://doi.org/10.1093/jas/skz258.819>

17. Morgavi DP, Forano E, Martin C, Newbold CJ. Microbial ecosystem and methanogenesis in ruminants. *Animal.* 2010;4(7):1024-1036. doi:10.1017/S1751731110000546

18. Ramos SC, Jeong CD, Mamuad LL, Kim SH, Kang SH, Kim ET, Cho Y I, Lee SS, Lee SS. Diet transition from high-forage to high-concentrate alters rumen bacterial community composition, epithelial transcriptomes and ruminal fermentation parameters in dairy cows. *Animals (Basel).* 2021;11(3):838. doi: 10.3390/ani11030838

19. Salles MSV, Abreu LFD, Júnior LCR, César MC, Guimarães JGL, Segura JG, Rodrigues C, Zanetti MA, Pfrimer K, Netto A. Inclusion of sunflower oil in the bovine diet improves milk nutritional profile. *Nutrients.* 2019;11(2):481. doi: 10.3390/nu11020481

20. Schneider L, Volkmann N, Kemper N, Spindler B. Feeding behavior of fattening bulls fed six times per day using an automatic feeding system. *Front Vet Sci.* 2020;7:43. doi: 10.3389/fvets.2020.00043

21. Sheida EV, Lebedev SV, Gubaidullina IZ, Grechkina VV, Ryazanov VA. Biotechnological aspects of the use of vegetable oils in the production of meat products. *IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science.* 2021;624:012114. doi: 10.1088/1755-1315/624/1/012114

22. SILVA. High Quality Ribosomal RNA databases [Internet] de.NBI. German network for bioinformatics infrastructure [cited 2021 March 15] Available from: <https://www.arb-silva.de>

23. Tapio I, Snelling TJ, Strozzi F, Wallace RJ. The ruminal microbiome associated with methane emissions from ruminant livestock. *Journal of Animal Science and Biotechnology.* 2017a;8:7. doi: 10.1186/s40104-017-0141-0

24. Tapio I, Fischer D, Blasco L, Tapio M, Wallace RJ, Bayat AR, Ventto L, Kahala M, Negussie E, Shingfield KJ, Vilkki J. Taxon abundance, diversity, co-occurrence and network analysis of the ruminal microbiota in response to dietary changes in dairy cows. *PLoS One.* 2017b;12(7):e0180260. doi: 10.1371/journal.pone.0180260

25. U.S. National Library of Medicine. National Center for Biotechnology Information [Internet] BLAST. [cited 2021 March 15] Available from: <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>

26. U.S. National Library of Medicine. National Center for Biotechnology Information [Internet] BLAST. Nucleotide BLAST [cited 2021 March 15] Available from: https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?PROGRAM=blastn&PAGE_TYPE=BlastSearch&LINK_LOC=blasthome

27. VAMPS Visualization and Analysis of Microbial Population Structures [Internet] The Josephine Bay Paul Center. [cited 2021 March 15] Available from: <http://vamps.mbl.edu>

28. Vargas JE, Andrés S, López-Ferreras L, Snelling TJ, Yáñez-Ruiz DR, García-Estrada C, López S. Dietary supplemental plant oils reduce methanogenesis from anaerobic microbial fermentation in the rumen. *Sci Rep.* 2020;10(1):1613. doi: 10.1038/s41598-020-58401-z

29. Weld KA, Armentano LE. The effects of adding fat to diets of lactating dairy cows on total-tract neutral detergent fiber digestibility: A meta-analysis. *Journal of Dairy Science*. 2017;100(3):1766-1779. doi: <https://doi.org/10.3168/jds.2016-11500>

30. 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

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, 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: gduksaev@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

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

Мирошников Иван Сергеевич, 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

Поступила в редакцию 24 августа 2021 г.; принята после решения редколлегии 13 сентября 2021 г.; опубликована 30 сентября 2021 г. / Received: 24 August 2021; Accepted: 13 September 2021; Published: 30 September 2021