

УДК 636.084.1

DOI: 10.33284/2658-3135-104-3-94

Влияние растительных экстрактов на метагеном рубца

Ш.Г. Рахматуллин, Б.С. Нуржанов, Г.К. Дускаев, О.В. Кван, Е.В. Шейда

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

Резюме. В данной работе выявлено изменение таксономического состава микробиома желудочно-кишечного тракта крупного рогатого скота при включении в питание животных экстрактов (вытяжек) растительного происхождения. Согласно схеме исследования, животные контрольной группы получали основной рацион (ОР), I опытной – ОР+экстракты листьев берёзы (ЭЛБ) 50 % + травы зверобоя (ЭТЗ) 50%, II опытной – ОР+экстракты коры дуба 50 % + травы зверобоя 50 %. Экстракты вводили в индивидуальные поилки из расчёта 1,66 мл/кг массы тела. Введение животным I группы ЭЛБ 50 % + ЭТЗ 50 % позволило повысить число бактерий класса *Bacteroidia* на 1,99 % и уменьшить число бактерий на 0,74 % из класса *Clostridia* и класса *Negativicutes* на 1,39 % по сравнению с контрольной. Видовое разнообразие с наибольшей долей было представлено *Prevotella* – 11,96 % от общего числа, неопределённые *Bacteroidales* – 25,08 % от общего числа, неопределённые *Lachnospiraceae* – 4,73 % от общего числа, неопределённые *Ruminococcaceae* – 10,56 % от общего числа, *Succiniclaticum* – 6,92 % от общего числа. При введении экстрактов кора дуба 50 % + травы зверобоя 50 % бычкам наблюдалось уменьшение числа бактерий семейства *Lachnospiraceae* (на 2,16 и 2,71 %) и *Ruminococcaceae* (на 2,52 и 3,1 %) относительно контрольной и I групп.

Ключевые слова: бычки, красная степная порода, кормление, рубец, вытяжка, таксономический состав.

UDC 636.084.1

Influence of plant extracts on rumen metagenome

Shamil G Rakhmatullin, Bayer S Nurzhanov, Galimzhan K Duskaev, Olga V Kwan, Elena V Sheyda

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

Abstract. In this work, a change in the taxonomic composition of the microbiome of the gastrointestinal tract of cattle was revealed when plant extracts (extracts) were included in the animal diet. According to the study scheme, the animals of the control group received basic diet (BD), I experimental – BD + extracts of birch leaves (EBL) 50% + St. John's wort grass (JWG) 50%, II experimental – BD + extracts of oak bark 50% + St. John's wort grass 50%. The extracts were administered to individual drinkers at the rate of 1.66 ml/kg of body weight. The introduction of EBL 50% + JWG 50 % to animals of group I allowed to increase the number of bacteria of the *Bacteroidia* class by 1.99% and to reduce the number of bacteria by 0.74% from the *Clostridia* class and the *Negativicutes* class by 1.39% compared to the control group. The largest share of species diversity was represented by *Prevotella* – 11.96% of the total number, indeterminate *Bacteroid* – 25.08% of the total number, indeterminate *Lachnospiraceae* – 4.73% of the total number, indeterminate *Ruminococcaceae* – 10.56% of the total number, *Succiniclaticum* – 6.92 % of the total number. When introducing extracts of oak bark 50% + St. John's wort herb 50 % to bulls, a decrease in the number of bacteria of the *Lachnospiraceae* family (by 2.16 and 2.71%) and *Ruminococcaceae* (by 2.52 and 3.1%) was observed relative to the control and I group.

Keywords: bulls, Red Steppe Breed, feeding, rumen, extract, taxonomic composition.

Введение.

Изменчивость эффективности использования корма у жвачных животных частично контролируется микробиотой желудочно-кишечного тракта. Модулирование состава микробиоты может

способствовать более устойчивому и эффективному животноводству. Известно, что существуют различия между составами микробиоты высоко- и низкоэффективных животных как на таксономическом, так и на генетическом уровнях. Эти различия ещё более очевидны с точки зрения уровня потребления (Delgado B et al., 2019; Lei Z et al., 2019).

Запрет на использование антибиотических средств из питания животных способствовал активному поиску веществ с аналогичными свойствами. Одним из путей решения данной проблемы стало изучение свойств химических соединений растительного происхождения, ранее применяемых при лечении болезней животных (Schauder C and Bassler BL, 2001; Mutlur KR et al., 2017; Атландерова К.Н. и др., 2019).

Растительные экстракты, издавна применялись в рационах с целью укрепления иммунитета и снижения окислительной, воспалительной, микробной, паразитарной активности (Newman DJ, 2008). Большинство растений имеют полезные свойства, и создаваемые на их основе биологически активные добавки способны благоприятно повлиять на организм животного. Среди биогенных низкомолекулярных молекул растений выделяют различные вторичные метаболиты, такие как алкалоиды, гликозиды, фенолы и терпеноиды (Hashemi SR and Davoodi H, 2011; Cheng G et al., 2014).

В последнее время во многих странах Европы они обширно применяются в рационах как катализаторы роста и способны защитить организм животных (Manzanilla EG et al., 2004; Namkung H et al., 2004; Zanchi R et al., 2008). Таким образом, хотя фитобиотики являются натуральными добавками, необходимо изучить полноту их функционирования, сбалансированности с рационом и особенно безопасности перед широким применением их в промышленных масштабах. До конца не изучено влияние комплексных растительных экстрактов, включающих смеси лекарственных растений в разном соотношении на количественный и качественный состав бактерий рубца.

Цель исследования.

Изучение влияния экстрактов на метагеномный статус рубца у бычков молочной породы.

Материалы и методы исследования.

Объект исследования. Рубцовое содержимое, бычки красной степной породы средней массой 300 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. Место проведения исследования – физиологический двор Покровского сельскохозяйственного колледжа-филиал ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный аграрный университет» и ЦКП БСТ РАН (<https://ckp-rf.ru/ckp/77384>).

Отбор рубцовой жидкости молодняка крупного рогатого скота (n=3) проводился через хроническую фистулу рубца.

Основной рацион (ОР) включал в себя сено суданковое второго укоса, сено люцерновое, смесь концентратов (ячмень, овёс, пшеница). Животные контрольной группы получали ОР, I опытной – ОР+экстракты листьев березы (ЭЛБ) 50 % (Россия, ООО Фирма «Здоровье»)+травы зверобоя (ЭТЗ) 50 % (Россия, АО «Красногорсклексредства»), II опытной – ОР+экстракты коры дуба 50 % (Россия, АО «Красногорсклексредства»)+травы зверобоя 50 % (Россия, АО «Красногорсклексредства»). Для приготовления экстракта помещали соответствующий компонент лекарственного растения (из расчёта: компонент лекарственного растения – 20 г, вода – 500 мл) в ём-

кость на плиту. Кипятили в течение 10 минут, после этого настаивали его ещё полчаса и процеживали. Экстракты вводили в индивидуальные поилки из расчёта 1,66 мл/кг массы тела.

Отбор проб для исследования микробиома рубца проводили шприцом дозатором «Экохим ОПА-02-20» (ООО «Экросхим», Россия) с последующим размещением проб в стерильные микропробирки типа «Eppendorf» объёмом 1,5 мл (Nuova Aptaca S.R.L., Италия).

Метагеномный анализ содержимого рубца. Микробное биоразнообразие содержимого рубца анализировали 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). При выделении ДНК отобранные пробы содержимого инкубировали при +37 °C в течение 30 мин в 300 мкл стерильного буфера для лизиса (20 mM – EDTA, 1400 mM – NaCl, 100 mM – Tris-HCl, pH – 7,5; 50 мкл – раствора лизоцима в концентрации 100 мг/мл). К смеси добавляли 10 мкл протеиназы К («Thermo Fisher Scientific, Inc.», США) в концентрации 10 мг/мл и додецилсульфат натрия (sodium dodecyl sulfate, SDS) до конечной концентрации 1,0 % и инкубировали в течение 30 мин при +60 °C. ДНК очищали смесью фенола и хлороформа (1:1), осаждали добавлением ацетата натрия (3 M, до 10 % по объёму) и трёх объёмов абсолютного этанола при +20 °C в течение 4 ч. После экстракции смесью фенол-хлороформ-изоамиловый спирт (25:24:1) и хлороформ-изоамиловый спирт (24:1) ДНК в водной фазе осаждали 1 M ацетатом аммония (до 10 % по объёму) и 3-кратным объёмом безводного этанола в течение 12 часов при +20 °C. Осадок ДНК отделяли центрифугированием (12000 об./мин), дважды промывали 80 % этанолом, сушили и растворяли в TE-буфере (1 M – Tris-HCl, pH 8,0 – 1 мл, 0,5 M – EDTA, pH 8,0 – 200 мклб, H₂O – до 100 мл; «Евроген», Россия). Чистоту экстракции оценивали по отрицательному контролю выделения (100 мкл стерильной деионизированной воды). Чистоту полученных препаратов ДНК проверяли электрофорезом в 1,5 % агарозном геле с фотометрией (NanoDrop 8000, «Thermo Fisher Scientific, Inc.», США). Для этого готовили 1,5 % агарозный гель путём растворения навески агарозы в буфере, содержащем 0,04 M Tris, 0,01 M – EDTA-Na, 0,05 M ацетата натрия при pH 7.7, который стерилизовали, затем охлаждали до +50 °C и заливали пластины геля размером 70x100x3 мм. Препарат ДНК в объёме 2 мкл смешивали с красителем в соотношении 5:1, содержащем 0,25 % бромфеноловый синий и 50 % сахарозы в электрофоретическом буфере. Вносили препараты в лунки геля под электрофоретический буфер и проводили электрофорез при напряжении 80 В и силе тока 50 мА в течение двух часов. Для окрашивания гель погружали в раствор бромистого этидия. Концентрацию ДНК измеряли флуориметрическим методом (Qubit 4 Fluorometer «Life Technologies», США).

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 рРНК. NGS-секвенирование выполняли на платформе MiSeq Reagent Kit V3 PE600 («Illumina, Inc.», США). Классификацию полученных операционных таксономических единиц (ОТЕ) проводили с использованием интерактивного инструмента VAMPS и базы данных RDP (<http://rdp.cme.edu>). Некоторые ОТЕ выравнивали с помощью алгоритма BLAST (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>), используя базы данных нуклеотидных последовательностей nr/nt (National Center for Biotechnological Information, NCBI, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) и выровненных последовательностей генов «рибосомальной» РНК SILVA (<https://www.arb-silva.de>).

Для биоинформатической обработки результатов использовали программу PEAR (Pair-End Assembler PEAR v.0.9.8) (Zang J et al., 2014).

Результаты секвенирования обрабатывали с использованием пакета данных Microsoft Excel 2013, программного обеспечения Microsoft Office (США).

Оборудование и технические средства. Лабораторные исследования проводили в Центре коллективного пользования ФНЦ БСТ РАН (аттестат аккредитации № RA.RU.21ПФ59 от 02.12.15).

Исследования микробиома рубца производили с использованием модели «искусственного рубца» с использованием установки – инкубатора «ANKOM Daisy II» (модификации D200 и

D2001). Термостат ТС-1/80 СПУ (ООО «Амедис Инжиниринг», г. Нижний Новгород, Россия), шприц-дозатор Экохим ОПА-2-20 (ООО «Экросхим», г. Санкт-Петербург, Россия), микропробирки «Eppendorf».

Статистическая обработка. Численные данные были обработаны с помощью программы SPSS «Statistics 20» («IBM», США), рассчитывали средние (М), среднеквадратичные отклонения ($\pm\sigma$), ошибки стандартного отклонения ($\pm SE$). Для сравнения вариантов использовали непараметрический метод анализа. Различия считали статистически значимыми при $P \leq 0,05$.

Результаты исследования.

При введении с основным рационом различных видов растительных экстрактов оказывается влияние на изменение микробного состава рубца (рис. 1).

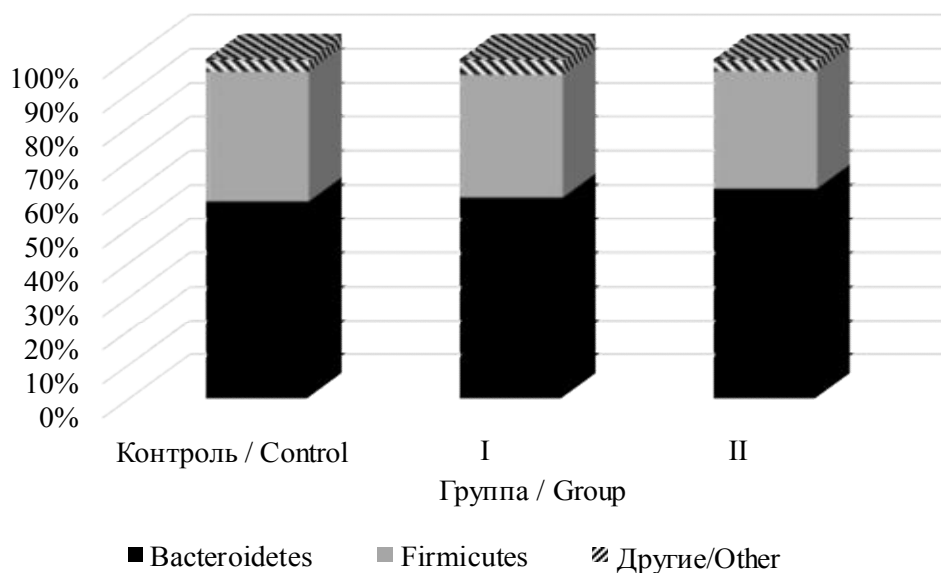


Рис. 1 – Метагеномный анализ рубцовой жидкости по филуму, %
Figure 1 – Metagenomic analysis of ruminal fluid of bulls according to phylum, %

Наиболее выраженным в количественном отношении от общего числа классифицированных бактерий являлся таксон *Bacteria* 99,82-99,90 %. В анализируемых контрольных пробах больше присутствовало филума *Bacteroidetes* – 58,43 % и *Firmicutes* – 38,18 % от общего количества бактерий. Систематический профиль таксонов контрольной группы был представлен в основном 10 выявленными классами, главные из которых *Bacteroidia* – 50,29 %, *Clostridia* – 28,74 %, *Negativicutes* – 9,01 %, *Deltaproteobacteria* – 1,01 %. При этом бактерий из класса *Bacteroidia* оказалось меньше на 1,99 и 0,9 %, а из класса *Clostridia*, напротив, больше на 0,74 и 5,2 % в сравнении с I и II группами.

Введение животным I группы ЭЛБ 50 % + ЭТЗ 50 % позволило повысить число бактерий класса *Bacteroidia* на 1,99 % ($P \leq 0,05$) и уменьшить числа бактерий на 0,74 % из класса *Clostridia* и класса *Negativicutes* на 1,39 % ($P \leq 0,05$) по сравнению с контрольной. Экстракты листьев березы и травы зверобоя способствовали развитию бактерий семейств *Bacteroidaceae* (на 0,27 ($P \leq 0,05$)) и

0,78% ($P \leq 0,05$)), *Prevotellaceae* (на 4,45 ($P \leq 0,01$) и 3,41 % ($P \leq 0,05$)), *Ruminococcaceae* (на 0,58 и 3,1 %), *Lachnospiraceae* (на 0,55 и 2,71 %) *Rikenellaceae* (на 0,14 и 0,99 %), *Candidatus Saccharibacteria* (на 0,64 и 0,73 %) в отличии с контрольной и II группами (рис. 2).

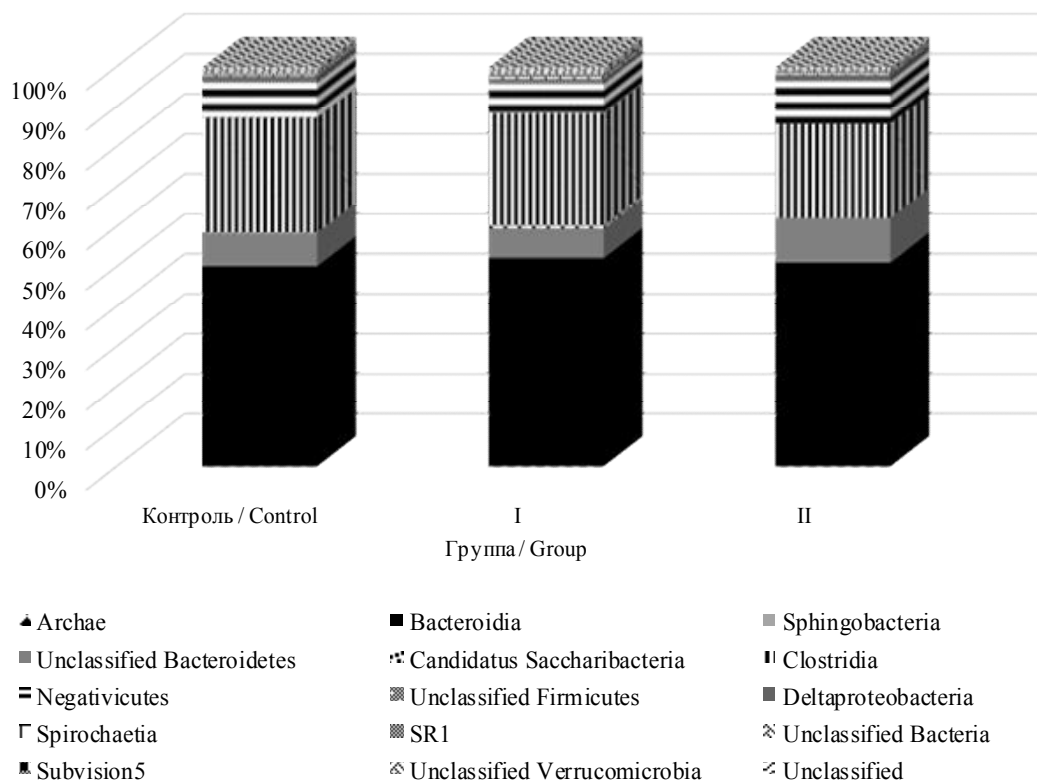


Рис. 2 – Метагеномный анализ рубцовой жидкости по классу, %
Figure 2 – Metagenomic analysis of ruminal fluid of bulls according to class, %

Видовое разнообразие с наибольшей долей было представлено *Prevotella* – 11,96 % от общего числа, неопределённые *Bacteroidales* – 25,08 % от общего числа, неопределённые *Lachnospiraceae* – 4,73 % от общего числа, неопределённые *Ruminococcaceae* – 10,56 % от общего числа, *Succinellastrum* – 6,92 % от общего числа. Остальные виды бактерий были представлены менее 3 %.

Введение экстракта кора дуба 50 % + трава зверобоя 50 % способствовало лучшему развитию бактерий филума Bacteroidetes (на 3,69 ($P \leq 0,05$) и 2,58 % ($P \leq 0,01$)) и уменьшению числа бактерий филума Firmicutes (на 3,55 и 1,49 %) по сравнению с контрольной и I группой (рис. 3).

Это отразилось на изменении доли в микробиоценозе микроорганизмов классов *Bacteroidia*, *Clostridia* и *Negativicutes*. При этом из всех сравниваемых групп наибольшее количество бактерий класса *Negativicutes* наблюдалось у бычков из II группы, что на 1,88 и 3,27 % больше, чем у аналогов из контроля и I группы.

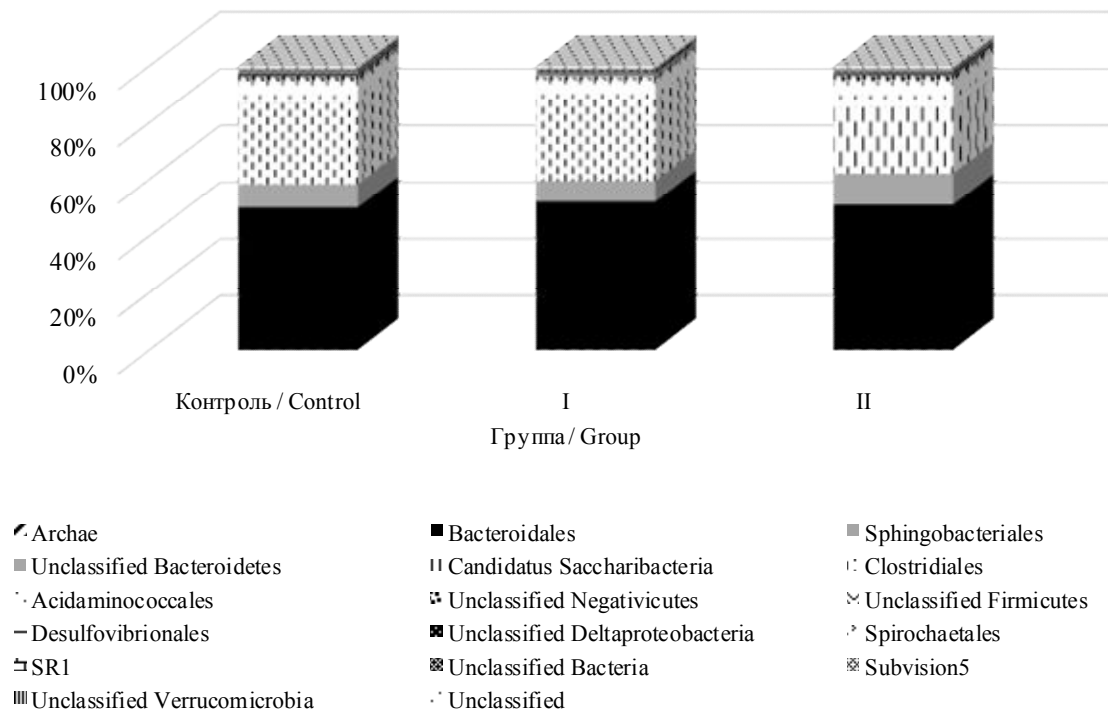


Рис. 3 – Метагеномный анализ рубцовой жидкости по порядку, %
Figure 3 – Metagenomic analysis of ruminal fluid of bulls by order, %

При введении ЭКД 50 % + ЭТЗ 50 % бычкам наблюдалось уменьшение числа бактерий семейства *Lachnospiraceae* (на 2,16 и 2,71 %) и *Ruminococcaceae* (на 2,52 и 3,1 %) относительно контрольной и I групп. Видовое разнообразие было представлено следующим образом: *Duncaniella* (3,21 % от общего числа), *Prevotella* (5,0 % от общего числа), не выявленные *unclassified_Bacteroidales* (30,13 % от общего количества), *unclassified_Lachnospiraceae* (3,61 % от общего числа), *Sporobacter* (3,76 % от общего числа), *unclassified_Ruminococcaceae* (7,9 % от общего числа), *Succiniclasticum* (9,12 % от общего числа). Остальные виды бактерий были представлены менее 3 %.

Обсуждение полученных результатов.

Рубцовое содержимое представлено огромным биоразнообразием микроорганизмов, которые как положительно влияют на получение энергии и аминокислот из небелковой формы азота в белковую, так и негативно воздействуют на пищевую ценность продуктов жвачных из-за большого количества выброса парниковых газов избыточным азотом. Наиболее важным фактором, корректирующим микробиом рубца и его ферментативную активность, является диета. Огромный интерес привлекли растительные экстракты из-за запрета на использование противомикробных стимуляторов роста в животноводстве (Newbold CJ et al., 2020). Растительные экстракты, в состав которых входят полифенолы, фенолы, способствуют уменьшению возникновения метана, а именно защи-

щают белок от распада до аммиака, тем самым снижается уровень азота (Dijkstra J et al., 2011; McSweeney CS et al., 2001; Sinz S et al., 2018).

Выделенный из лугового клевера, например, изофлавоон воздействует на изменение ферментативных процессов рубца таких бактерий, как *Bacteroidetes*, *Proteobacteria*, *Firmicutes* и *Planctomycetes* (Kasparovska J et al., 2016).

Использование экстракта гинкго для жвачных животных способствовало незначительному снижению уровня метана, а также бактерий *Ruminobacter*, *Selenomonas*, *Fibrobacter*, *Ruminococcus* и т. д. (Oh S et al., 2017).

Результаты анализа, проведенного нами, показали, что в микрофлоре желудочно-кишечного тракта жвачных животных преобладающими филумами среди бактерий являются *Bacteroidetes* (58,42-62,12 %) и *Firmicutes* (34,63-38,18 %), что схоже с данными, полученными ранее (Kim M and Wells JE, 2016).

Доминирующими в филуме *Bacteroidetes* является семейство *Prevotellaceae* с преобладанием уровня бактерий, необходимых для расщепления полисахаридов, в опытных группах на 1,04-4,45 % в сравнении с уровнем контрольной группы. Значительный уровень бактерий, участвующих в процессах ферментации целлюлозы до летучих жирных кислот, а также расщепления клетчатки и крахмала: семейств *Ruminococcaceae* (13,04-16,14 %), *Lachnospiraceae* (4,32-7,03 %), *Clostridiales* (1,46-1,58 %) при использовании в питании экстрактов листьев берёзы, зверобоя и коры дуба, что согласуется с результатами ученых (Ильина Л.А., 2017).

Для использования фитохимических веществ для получения целевых реакций без негативного воздействия на полезные популяции микроорганизмов необходимо изучение химических структурно-деятельностных связей (Deryabin D et al., 2019). Более глубокое понимание модулирующего воздействия фитохимикатов на микробные популяции рубца (Duskaev GK et al., 2019) вместе с ферментацией позволит лучше управлять экосистемой рубца и практическим применением данной технологии кормовой добавки в животноводстве (Patra AK and Saxena J, 2009.)

Выводы.

Введение в основной рацион растительных экстрактов способствовало лучшему развитию нормофлоры, что нашло отражение в изменении её количественного и качественного состава.

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

Литература

1. Ильина Л.А. Содержание микроорганизмов в рубце телят разного возраста // Вестник мясного скотоводства. 2017. № 3(99). С. 128-133. [Il'ina LA. The content of microorganisms in rumen of calves of different ages. Herald of Beef Cattle Breeding. 2017;3(99):128-133. (In Russ)].
2. Микробиом рубца крупного рогатого скота при использовании в кормлении экстракта *Quercus cortex* / К.Н. Атландерова, Г.К. Дускаев, А.М. Макаева, Д.М. Муслимова, К.С. Кондрашова // Животноводство и кормопроизводство. 2019. Т. 102. № 4. С. 186-197. [Atlanderova KN, Duskaev GK, Makaeva AM, Muslyumova DM, Kondrashova KS. Cattle rumen microbiome after *Quercus cortex* extract. Animal Husbandry and Fodder Production. 2019;102(4):186-197. (In Russ)]. doi: 10.33284/2658-3135-102-4-186
3. Cheng G, Hao H, Xie S, Wang X, Dai M, Huang L, Yuan Z. Antibiotic alternatives: the substitution of antibiotics in animal husbandry? Front. Microbiol. 2014;5:217. doi: 10.3389/fmicb.2014.00217
4. Delgado B, Bach A, Guasch I, Gonzales C, Guillermo E, Pryce JE, Gonzales-Recio O. Whole rumen metagenome sequencing allows classifying and predicting feed efficiency and intake levels in cattle. Sci Rep. 2019;9(1):11. doi: 10.1038/s41598-018-36673-w

5. Deryabin D, Galadzhieva A, Kosyan D, Duskaev G. Plant-derived inhibitors of ahl-mediated quorum sensing in bacteria: modes of action. *International Journal of Molecular Sciences*. 2019;20(22):5588. doi: 10.3390/ijms20225588
6. Dijkstra J, Oenema O, Bannink A. Dietary strategies to reducing N excretion from cattle: implications for methane emissions. *Curr Opin Environm Sustain*. 2011;3(5):414-422. doi: 10.1016/j.cosust.2011.07.008
7. Duskaev GK, Karimov IF, Levakhin GI, Nurzhanov BS, Rysaev AF, Dusaeva KhB. Ecology of ruminal microorganisms under the influence of quercus cortex extract. *International Journal of Geomate*. 2019;16(55):59-66. doi: 10.21660/2019.55.4673
8. Hashemi SR, Davoodi H. Herbal plants and their derivatives as growth and health promoters in animal nutrition. *Veterinary Research Communications*. 2011;35(3):169-180. doi: 10.1007/s11259-010-9458-2
9. 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
10. Kim M, Wells JE. A meta-analysis of bacterial diversity in the feces of cattle. *Curr Microbiol*. 2016;72(2):145-151. doi: 10.1007/s00284-015-0931-6
11. Lei Zh, Zhang K, Li Ch, Jiao T, Wu J, Wei Y, Tian K, Li Ch, Tang D, Davis DI, Casper DP, Jiang H, Wang X, Wang J. Ruminal metagenomic analyses of goat data reveals potential functional microbiota by supplementation with essential oil-cobalt complexes. *BMC Microbiol*. 2019;19(1):30. doi: 10.1186/s12866-019-1400-3
12. Manzanilla EG, Perez JF, Martin M, Kamel C, Baucells F, Gasa J. Effect of plant extracts and formic acid on the intestinal equilibrium of early-weaned pigs. *J Anim Sci*. 2004;82(11):3210-3218. doi: 10.2527/2004.82113210x
13. McSweeney CS, Palmer B, McNeill DM, Krause DO. Microbial interactions with tannins: nutritional consequences for ruminants. *Anim Feed Sci Technol*. 2001;91(1-2):83-93. doi: 10.1016/S0377-8401(01)00232-2
14. Mutlur KR, Carani VA. Polyphenols activate energy sensing network in insulin resistant models. *Chem Biol Interact*. 2017;275:95-107. doi: 10.1016/j.cbi.2017.07.016
15. Namkung H, Li M, Gong J, Yu H, Cottrill M, De Lange CFM. Impact of feeding blends of organic acids and herbal extracts on growth performance, gut microbiota and digestive function in newly weaned pigs. *Can. J. Anim. Sci.* 2004;84(4):697-704. doi: 10.4141/A04-005
16. Newbold CJ, Ramos-Morales E. Review: Ruminal microbiome and microbial metabolome: effects of diet and ruminant host. *Animal*. 2020;14(S1):s78-s86. doi: 10.1017/S1751731119003252
17. Newman DJ. Natural products as leads to potential drugs: an old process or the new hope for drug discovery? *Journal of Medicinal Chemistry*. 2008;51(9):2589-2599. doi: 10.1021/jm0704090
18. 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
19. Patra AK, Saxena J. Dietary phytochemicals as rumen modifiers: a review of the effects on microbial populations. *Antonie Van Leeuwenhoek*. 2009;96(4):363-375. doi: 10.1007/s10482-009-9364-1
20. RDP Announcements [Internet] [cited 2021 March 15] Available from: <http://rdp.cme.msu.edu>
21. Schauder S, Bassler BL. The languages of bacteria. *Genes & Development*. 2001;15(12):1468-1480. doi: 10.1101/gad.899601
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. Sinz S, Kunz C, Liesegang A, Braun U, Margardt S, Soliva CR, Kreuzer M. In vitro bioactivity of various pure flavonoids in ruminal fermentation, with special reference to methane formation. *Czech J Anim Sci*. 2018;63:293-304. doi: 10.17221/118/2017-CJAS
24. 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>

25. 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
26. VAMPS Visualization and Analysis of Microbial Population Structures [Internet] The Josephine Bay Paul Center. [cited 2021 March 15] Available from: <http://vamps.mbl.edu>
27. Zanchi R, Canzi E, Molteni L, Scozzoli M. Effect of *Camellia sinensis* L. whole plant extract on piglet intestinal ecosystem. *Ann. Microbiol.* 2008;58:147-152. doi: 10.1007/BF03179459
28. Zhang J, Kobert K, Flouri T, Stamatakis A. PEAR: A fast and accurate Illumina Paired-End read merger. *Bioinformatics.* 2014;30(5):614-620. doi: 10.1093/bioinformatics/btt593

References

1. Il'ina LA. The content of microorganisms in rumen of calves of different ages. *Herald of Beef Cattle Breeding.* 2017;3(99):128-133.
2. Atlanderova KN, Duskaev GK, Makaeva AM, Muslyumova DM, Kondrashova KS. Cattle rumen microbiome after *Quercus cortex* extract. *Animal Husbandry and Fodder Production.* 2019;102(4):186-197. doi: 10.33284/2658-3135-102-4-186
3. Cheng G, Hao H, Xie S, Wang X, Dai M, Huang L, Yuan Z. Antibiotic alternatives: the substitution of antibiotics in animal husbandry? *Front. Microbiol.* 2014;5:217. doi: 10.3389/fmicb.2014.00217
4. Delgado B, Bach A, Guasch I, Gonzales C, Guillermo E, Pryce JE, Gonzales-Recio O. Whole rumen metagenome sequencing allows classifying and predicting feed efficiency and intake levels in cattle. *Sci Rep.* 2019;9(1):11. doi: 10.1038/s41598-018-36673-w
5. Deryabin D, Galadzhieva A, Kosyan D, Duskaev G. Plant-derived inhibitors of ahl-mediated quorum sensing in bacteria: modes of action. *International Journal of Molecular Sciences.* 2019;20(22):5588. doi: 10.3390/ijms20225588
6. Dijkstra J, Oenema O, Bannink A. Dietary strategies to reducing N excretion from cattle: implications for methane emissions. *Curr Opin Environm Sustain.* 2011;3(5):414-422. doi: 10.1016/j.cosust.2011.07.008
7. Duskaev GK, Karimov IF, Levakhin GI, Nurzhanov BS, Rysaev AF, Dusaeva KhB. Ecology of ruminal microorganisms under the influence of *quercus cortex* extract. *International Journal of Geomate.* 2019;16(55):59-66. doi: 10.21660/2019.55.4673
8. Hashemi SR, Davoodi H. Herbal plants and their derivatives as growth and health promoters in animal nutrition. *Veterinary Research Communications.* 2011;35(3):169-180. doi: 10.1007/s11259-010-9458-2
9. 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
10. Kim M, Wells JE. A meta-analysis of bacterial diversity in the feces of cattle. *Curr Microbiol.* 2016;72(2):145-151. doi: 10.1007/s00284-015-0931-6
11. Lei Zh, Zhang K, Li Ch, Jiao T, Wu J, Wei Y, Tian K, Li Ch, Tang D, Davis DI, Casper DP, Jiang H, Wang X, Wang J. Ruminal metagenomic analyses of goat data reveals potential functional microbiota by supplementation with essential oil-cobalt complexes. *BMC Microbiol.* 2019;19(1):30. doi: 10.1186/s12866-019-1400-3
12. Manzanilla EG, Perez JF, Martin M, Kamel C, Baucells F, Gasa J. Effect of plant extracts and formic acid on the intestinal equilibrium of early-weaned pigs. *J Anim Sci.* 2004;82(11):3210-3218. doi: 10.2527/2004.82113210x
13. McSweeney CS, Palmer B, McNeill DM, Krause DO. Microbial interactions with tannins: nutritional consequences for ruminants. *Anim Feed Sci Technol.* 2001;91(1-2):83-93. doi: 10.1016/S0377-8401(01)00232-2
14. Mutlur KR, Carani VA. Polyphenols activate energy sensing network in insulin resistant models. *Chem Biol Interact.* 2017;275:95-107. doi: 10.1016/j.cbi.2017.07.016
15. Namkung H, Li M, Gong J, Yu H, Cottrill M, De Lange CFM. Impact of feeding blends of organic acids and herbal extracts on growth performance, gut microbiota and digestive function in newly weaned pigs. *Can. J. Anim. Sci.* 2004;84(4):697-704. doi: 10.4141/A04-005
16. Newbold CJ, Ramos-Morales E. Review: Ruminal microbiome and microbial metabolome: effects of diet and ruminant host. *Animal.* 2020;14(S1):s78-s86. doi: 10.1017/S1751731119003252

17. Newman DJ. Natural products as leads to potential drugs: an old process or the new hope for drug discovery? *Journal of Medicinal Chemistry*. 2008;51(9):2589-2599. doi: 10.1021/jm0704090
18. 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
19. Patra AK, Saxena J. Dietary phytochemicals as rumen modifiers: a review of the effects on microbial populations. *Antonie Van Leeuwenhoek*. 2009;96(4):363-375. doi: 10.1007/s10482-009-9364-1
20. RDP Announcements [Internet] [cited 2021 March 15] Available from: <http://rdp.cme.msu.edu>
21. Schauder S, Bassler BL. The languages of bacteria. *Genes & Development*. 2001;15(12):1468-1480. doi: 10.1101/gad.899601
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. Sinz S, Kunz C, Liesegang A, Braun U, Marguardt S, Soliva CR, Kreuzer M. In vitro bioactivity of various pure flavonoids in ruminal fermentation, with special reference to methane formation. *Czech J Anim Sci*. 2018;63:293-304. doi: 10.17221/118/2017-CJAS
24. 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>
25. 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
26. VAMPS Visualization and Analysis of Microbial Population Structures [Internet] The Josephine Bay Paul Center. [cited 2021 March 15] Available from: <http://vamps.mbl.edu>
27. Zanchi R, Canzi E, Molteni L, Scozzoli M. Effect of Camellia sinensis L. whole plant extract on piglet intestinal ecosystem. *Ann. Microbiol*. 2008;58:147-152. doi: 10.1007/BF03179459
28. Zhang J, Kobert K, Flouri T, Stamatakis A. PEAR: A fast and accurate Illumina Paired-End read merger. *Bioinformatics*. 2014;30(5):614-620. doi: 10.1093/bioinformatics/btt593

Рахматуллин Шамиль Гафиуллинович, кандидат биологических 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, сот.: 8-922-815-72-25, e-mail: shahm2005@rambler.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, тел.: 8(3532) 30-81-79, 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.: 8(3532) 30-81-79, e-mail: gduskaev@mail.ru.

Кван Ольга Вилориевна, кандидат биологических наук, и. о. заведующего отделом 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, сот.: 8-922-548-56-57, e-mail: kwan111@yandex.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

Поступила в редакцию 9 сентября 2021 г.; принята после решения редколлегии 13 сентября 2021 г.; опубликована 30 сентября 2021 г. / Received: 9 September 2021; Accepted: 13 September 2021; Published: 30 September 2021