

ISSN 1817-7204(Print)

ISSN 1817-7239(Online)

УДК 636.32/.38.087.8:612.3

<https://doi.org/10.29235/1817-7204-2022-60-1-91-104>

Поступила в редакцию 10.09.2021

Received 10.09.2021

**К. С. Остренко¹, Е. М. Колоскова¹, В. А. Езерский¹, А. Н. Овчарова¹,
Н. В. Белова¹, Л. А. Ильина², Е. А. Ёылдырым², Г. Ю. Лаптев²**

¹*Всероссийский научно-исследовательский институт физиологии, биохимии и питания животных
филиал ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр животноводства –
ВИЖ имени академика Л. К. Эрнста», Боровск, Калужская обл., Россия*
²*ООО «Биотроф», Санкт-Петербург, Россия*

ВЛИЯНИЕ АДАПТОГЕНА АСКОРБАТА ЛИТИЯ НА МИКРОБИОТУ РУБЦА ОВЕЦ-ЯРОК

Аннотация: Здоровье и продуктивность жвачных животных напрямую зависят от рубцового и кишечного пищеварения. Нормальная микрофлора защищает организм от патогенных микробов, стимулирует иммунную систему, участвует в метаболических реакциях и играет важную роль в энергетическом обмене. Нарушение видового состава микрофлоры рубца под влиянием различных факторов приводит к изменению усвояемости продуктов пищеварения, изменениям ферментативных процессов и развитию прочих патологических процессов. Биологически активные вещества адаптогенной природы могут проявлять иммуномодулирующую и антимикробную активность. Адаптоген аскорбат лития обладает стресс-протекторными, нейротрофическими, нейропротекторными, антиоксидантными, иммуномодулирующими свойствами и в качестве кормовой добавки влияет на микробиоту рубца. В настоящем исследовании при использовании NGS-секвенирования впервые изучено влияние адаптогена аскорбата лития на бактериальное сообщество рубца овец-ярок романовской породы. На фоне длительного содержания овец на основном рационе в условиях вивария ВНИИФБиП нормофлора рубца не подвергалась негативным изменениям. Введение органической соли лития в состав основного рациона в дозировке 10 мг/кг живой массы способствовало усилению процессов ферментации в рубце, достоверному росту целлюлозолитической активности, снижению суммарной доли патогенных и доли некоторых условно-патогенных микроорганизмов в рубцовом содержимом. Полученные данные свидетельствуют о благотворном влиянии введения аскорбата лития в качестве добавки к основному рациону на состав микробиоты рубца овец. **Благодарности.** Работа выполнена в рамках Государственного задания ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр животноводства – ВИЖ имени академика Л.К. Эрнста» (тема АААА-А18-118021590136-7).

Ключевые слова: микробиота, аскорбат лития, овцы, рубец, NGS-секвенирование, целлюлозолитические бактерии, патогенная микрофлора

Для цитирования: Влияние адаптогена аскорбата лития на микробиоту рубца овец-ярок / К. С. Остренко, Е. М. Колоскова, В. А. Езерский, А. Н. Овчарова, Н. В. Белова, Л. А. Ильина, Е. А. Ёылдырым, Г. Ю. Лаптев // Вест. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. аграр. навук. – 2022. – Т. 60, № 1. – С. 91–104. <https://doi.org/10.29235/1817-7204-2022-60-1-91-104>

**Konstantin S. Ostrenko¹, Elena M. Koloskova¹, Vadim A. Ezerskiy¹, Anastasiya N. Ovcharova¹, Nadezhda V. Belova¹,
Larisa A. Il'ina², Elena A. Jyldyrym², Georgij Yu. Laptev²**

¹*All-Russian research Institute of Physiology, Biochemistry and Nutrition of animals - branch of the Federal Science
Center for Animal Husbandry named after Academy Member L. K. Ernst, Borovsk, Kaluga Region, Russian Federation*
²*LLC "Biotrof", Russia, St. Petersburg-Pushkin*

EFFECT OF ADAPTOGEN LITHIUM ASCORBATE ON THE MICROBIOTA OF RUMEN OF YOUNG EWES

Abstract: Health and productivity of ruminants directly depend on the state of rumen and digestion in intestinal tract. Normal microflora protects the body from pathogenic microbes, stimulates the immune system, participates in metabolic reactions and plays an important role in energy metabolism. Disturbance of species composition of microflora in rumen under effect of various factors leads to a state of dysbiosis, disorders of products digestibility, changes in enzymatic processes and other disorders. Biologically active substances of an adaptogenic nature can show immunomodulatory and antimicrobial activity. Adaptogen lithium ascorbate has stress-protective, neurotrophic, neuroprotective, antioxidant, immunomodulatory properties. In this paper, using molecular genetic methods, the effect of lithium ascorbate on composition of rumen microbiota of sheep was studied for the first time. Composition of microbiota was determined by NGS sequencing method. In total, 37 phylums, 76 classes, 98 orders, 225 families and 894 species of microorganisms were identified. It has been determined that introduction of lithium ascorbate at a dose of 10 mg/kg of body weight into the main diet of sheep contributed to increase

in proportion of cellulolytic bacteria from 73.6±1.6% to 75.4±0.9% and over 40% decrease in total number of infusoria in rumen content. Cellulolytic activity of rumen fluid in sheep of the experimental group increased by 38% compared to the animals of the control group. The number of pathogenic bacteria decreased from 2.7% in sheep of the control group to 1.6% in animals of the experimental group, while the content of beneficial bacilli increased from 0.3% to 0.5%, respectively. Content of undesirable and conditionally pathogenic microflora decreased in the sheep of experimental group. The obtained data confirm positive effect of adaptogen lithium ascorbate, introduced into diet at a dosage of 10 mg/kg of body weight, on qualitative and quantitative composition of microbiota in sheep rumen. Therefore, lithium ascorbate, a broad-spectrum adaptogen, can be recommended as a feed additive to the main diet of sheep to improve rumen digestion and increase productivity.

Acknowledgments. The research was carried out as part of State program of FSBRI “Federal Research Center for Livestock - VIZH n.a. Academy Member Ernst” (topic AAAA-A18-118021590136-7).

Keywords: microbiota, adaptogen, feed additive, lithium ascorbate, sheep, rumen, 16S pPHK, NGS sequencing, cellulolytic bacteria, pathogenic microflora

For citation: Ostrenko K.S., Koloskova E.M., Ezerskij V.A., Ovcharova A.N., Belova N.V., Il'ina L.A., Jyldyrym E.A., Laptev G.Yu. Effect of adaptogen lithium ascorbate on the microbiota of rumen in young ewes. *Vestsii Natsyyanal'noy akademii navuk Belarusi. Seryya agrarnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Agrarian series*, 2022, vol. 60, no 1, pp. 91-104 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1817-7204-2022-60-1-91-104>

Введение. Здоровье и продуктивность жвачных животных напрямую связаны с состоянием рубцового и кишечного пищеварения. Рубец крупного рогатого скота и мелких жвачных животных – сложная симбиотическая экосистема, состоящая из бактерий, простейших, грибов и архей, представленных огромным разнообразием видов. В рубце расщепляется до 60 % клетчатки, около 95 % легкопереваримых углеводов, 60–80 % белка кормов. Наряду с полезными в желудочно-кишечном тракте (ЖКТ) уживаются условно-патогенные и патогенные микроорганизмы (МО) [1]. Видовой состав МО рубца меняется при смене рационов, условий содержания, стрессах различной этиологии, состояния здоровья животных.

Роль кишечной микробиоты в формировании адаптивной, стресс-протекторной защиты организма. Микробиота – это совокупность комменсальных, симбиотических и патогенных микроорганизмов (бактерии, археи, простейшие, грибы и вирусы), обнаруженных во всех многоклеточных организмах, изученных на сегодняшний день, от растений до животных. Нормальная микробиота (или нормальная микрофлора) при нормальных обстоятельствах не вызывает заболеваний, безвредна и защищает хозяина. Нормальная микробиота кишечника выполняет разнообразные физиологические функции: пищеварительную, детоксикационную, защитную, иммуногенную, антиканцерогенную, метаболическую, синтетическую, генетическую [2]. Соответственно, нарушение ранней бактериальной колонизации или микробиологии кишечника, нарушения микробиома у сформировавшегося организма могут спровоцировать и вызывать множество заболеваний, например, ожирение [3], заболевания иммунной системы [4], болезни системы кровообращения [5], воспалительные заболевания кишечника [6], онкологию [7], диарею, кишечные колики, бронхиальную астму, синдром раздраженного кишечника и др.

Термин «микробиом» описывает совокупность геномов микроорганизмов либо сами микроорганизмы, населяющие конкретную экологическую нишу. Кишечный микробиом, ранее рассматривавшийся как часть двухкомпонентной кишечно-мозговой оси (коммуникативной системы, обеспечивающей сложное функционирование ЦНС и ЖКТ), является полноправным звеном «микробиом-кишечно-мозговой оси» (*microbiome-gut-brain axis*) [8–10]. Данная система включает нервные, иммунные, эндокринные и паракринные механизмы. Взаимодействие бактерий кишечной микробиоты и нервной системы организма-хозяина осуществляется посредством синтезируемых бактериями низкомолекулярных веществ, нейромедиаторов и гормоноподобных веществ (ацетилхолин и другие холины, серотонин, норадреналин, гистамин и другие амины, жирные кислоты с короткими цепями, гамма-аминомасляная кислота). Секретируемые бактериями нейротрансмиттеры способны действовать на нервные окончания в ЖКТ, стимулировать эпителиальные клетки кишечника, которые в ответ высвобождают молекулы, модулирующие нейротрансдукцию в энтеральной нервной системе, оказывая влияние на мозг и поведение животных [11].

Между стрессом, иммунитетом и кишечной микробиотой существует тесная взаимосвязь. Микробиота рубца и кишечника является важным фактором неспецифической резистентности организма. Стресс оказывает значительное влияние на изменение бактериального баланса кишечника, что, в свою очередь, влияет на иммунитет. Стресс влияет на увеличение проницаемо-

сти кишечного эпителия, что может быть связано как с самим кишечником, так и с сигналами, исходящими из головного мозга [12]. В результате ослабляется иммунитет, происходят потери живой массы и мясной продуктивности. Современные промышленные технологии животноводства ограничивают контакт животных с естественными донорами нормальной микрофлоры. Технологические стрессы, промышленные яды, применение химиопрепаратов, пестицидов, высокая концентрация поголовья на ограниченных территориях, особенно в условиях стойлового содержания животных, нарушение технологии кормления и содержания, неполноценные и несбалансированные рационы кормления, применение кормовых антибиотиков приводят к нарушению микрофлоры кишечника и возникновению стресса. На этом фоне у животных формируются дисбактериозы, снижается естественная резистентность и продуктивность: следствием этих нарушений в организме является изменение состава его органов и тканей, что в конечном итоге приводит к снижению качества животноводческой продукции и экономическим потерям [13]. Одно из важнейших последствий стресса – изменения в составе, разнообразии и количестве бактерий в кишечнике: возрастает количество потенциально опасных бактерий. У кроликов, подвергавшихся тепловому стрессу (до 42 °С), общее микробное число в кишечнике увеличивалось по сравнению с контролем на 12,8 % с одновременным ростом числа условно патогенных видов МО: энтеробактерий – на 11,1 %, энтерококков – на 19,0 %. Тепловой стресс нарушает целостность кишечника, что приводит к повышению кишечной проницаемости для эндотоксина, транслокации кишечных патогенов [14]. Микробиота ЖКТ взрослых крыс, подвергшихся депрессивному воздействию в период раннего развития, по сравнению с животными, выращенными без воздействия стресса, была менее разнообразной [15], что ассоциировалось с повышенной реакцией гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы и повышением провоспалительных цитокинов. У мышей, подвергавшиеся хроническому стрессу в течение 5 недель, развивалось угнетенное состояние, отмечалось значительное снижение уровня лактобактерий [16].

Кишечные инфекции, хронические воспалительные заболевания сопровождаются тревожными, депрессивными расстройствами, нарушениями когнитивной сферы у 60 % пациентов, а тяжелые депрессии почти всегда сопровождаются запорами [17]. В результате изучения влияния микробиоты на развитие тревожных и депрессивных расстройств и оценки терапевтического потенциала пробиотиков в отношении этих заболеваний была выделена особая группа психобиотиков – живых МО, которые при применении в адекватных количествах способны оказывать благотворный эффект на психофизиологическое состояние организма [18]. К психобиотикам можно отнести и некоторые пребиотики, способствующие положительным изменениям состава и активности кишечной микробиоты [19].

На микробиоту ЖКТ самое мощное влияние оказывает пища, но характеристики этого влияния как в норме, так и при воздействии факторов дезадаптации изучены недостаточно. От рациона зависит микробное разнообразие рубца, состояние здоровья и продуктивность жвачных животных. В микробиоте рубца доминируют бактерии, которые вносят наибольший вклад в переваривание и превращение кормов в летучие жирные кислоты (ЛЖК) и микробный белок. Бактериальное сообщество рубца зависит от состава рациона, типов кормов, возраста животных и стратегии кормления. Вариации этих факторов оказывают сильное влияние на метаболизм рубца, что может повлиять как на продуктивность, так и на здоровье жвачных животных. Микробиота рубца может быть сформирована под влиянием кормовых, адаптивных анатомических и физиологических факторов и развиваться в зависимости от особенностей применяемых технологий кормления у разных видов животных. Влияние кормового рациона на структуру микробных сообществ рубца исследовалось у многих видов жвачных животных: яков [20], голштинских молочных коров [21], мехшанских буйволов [22], тибетских овец [23], северных оленей [24], танских овец [25] и коз [26].

Для сохранения здоровья и стимуляции роста, развития животных и получения экологически безопасной и качественной продукции целесообразно применять пробиотические препараты, которые являются биокатализаторами многих жизненно важных процессов в пищеварительном тракте [27]. В настоящее время активно создаются специализированные и функциональные пищевые продукты, обогащенные биологически активными веществами (БАВ) адаптогенного

характера. Многие из них позиционируются в качестве средств, способных повышать устойчивость организма к вредным физическим и токсическим факторам среды, а также проявлять иммуномодулирующую и противомикробную активность. К БАВ нового поколения добавляются новые свойства, а именно: антиоксидантная активность (элиминация радикальных форм кислорода), противовоспалительное действие, антимутагенный эффект (стабилизация генома хозяина и его микробиома), позитивное влияние на психический статус индивида [10]. К последним главным образом относятся некоторые препараты пробиотики, в том числе психобиотики, и адаптогены. К адаптогенам лития относятся и органические соли, в частности, аскорбат лития. Его выраженные антиоксидантные, анксиолитические и нейропротекторные действия могут оказать положительный эффект на кишечную микробиоту, особенно в условиях стресса.

Микробиота рубца овец. В настоящее время большинство исследований по изучению взаимосвязей между эффективностью конверсии корма и микробиомом рубца было проведено на крупном рогатом скоте. Однако в мире насчитывается около 1,2 млрд овец, выращиваемых для производства мяса, молока и шерсти. Овцеводство – важное лесохозяйственное направление на международном уровне, что подтверждается постоянным ежегодным ростом этого сектора [28]. Физиология, биохимия и генетика, технология производства российских овец романовской породы достаточно изучены [29]. Были опубликованы работы по оценке микрофлоры рубца овец романовской породы с использованием классических методов микробиологии [30], оценены роль инфузорий в переваривании содержимого рубца [31], целлюлозолитическая активность микробиоценоза рубца [32].

В работах зарубежных ученых, в первую очередь китайских, для исследования микробиома рубца интенсивно используется NGS-анализ. Объекты исследования – китайско-монгольские [33], тибетские [23; 34–37], овцы Тан [25], монгольские Ху (Hu) [38]. Было показано, что главные отделы ЖКТ овец (рубец, тонкий и толстый кишечник) характеризовались высоким разнообразием МО: лишь 76 ОТЕ (операционных таксономических единиц) были общими для всех отделов кишечника, подавляющее большинство ОТЕ было уникально для каждого отдела [33].

При изучении влияния состава рациона на бактериальное сообщество рубца и показатели роста откормочных ягнят было показано, что гранулирование высокозернового общего рациона изменяло ферментацию в рубце и усиливало утилизацию сахара микробиотой рубца [38]. У овец на выпасе микробиом рубца был разнообразнее, чем при стойловом содержании на концентрированном рационе. Доминирующими из 17 филумов бактерий с разным процентным содержанием в соответствующих группах были *Bacteroidetes* (51 и 39 %), *Firmicutes* (28 и 14 %) и *Proteobacteria* (16 и 46 %): рацион оказывал сильное влияние на характер бактериального доминирования [25]. *Proteobacteria* как важный филум микробиоты в метаболизме рубца доминировал у животных, получающих крахмалсодержащие диеты [22], они же были наиболее распространенным филумом у овец, получавших рацион с высоким содержанием концентратов. В группе выпаса содержание *Fibrobacteres* было выше, чем в группе с концентратным рационом, как и в работе другого коллектива ученых [38]: представители *Fibrobacteres* тесно связаны с деградацией целлюлозы и лигнина. У коз, получавших рацион с высоким содержанием зерна [26], увеличивалась в рубце доля р. *Succinivibrionaceae* и уменьшалось содержание неклассифицированных *Rikenellaceae*, *Erysipelotrichaceae*, *Ruminococcaceae*, *Fibrobacter* и *Lachnospiraceae*, связанных с деградацией целлюлозы и гемицеллюлозы. У овец наблюдали то же самое [25]: *Succinivibrionaceae*, участвующих в деградации крахмала, было больше в рубце овец концентратного рациона. Повышение содержания концентратов в рационе способствовало росту в рубцовой микробиоте овец доли представителей филума *Bacteroidetes* и р. *Prevotella*, но при этом уменьшалось разнообразие МО рубца [23].

На состав микробиоты рубца овец и коз оказывает влияние география обитания [34], разнообразие потребляемых растений [36; 39]. Микробное сообщество рубца у овец меняется и с возрастом: у тибетских ягнят на протяжении первого года жизни доля филума *Bacteroidetes* возросла от 18,9 до 53,9 %, а доля *Proteobacteria* снизилась с 40,8 до 5,9 %. Основные изменения в микробиоте происходили в результате изменения рациона питания. Была показана важная роль

молозива в формировании и преобладании микробного сообщества рубца в течение первого года жизни – способности лактобацилл значительно регулировать микробную структуру рубца [35]. Тесная взаимосвязь между микробным составом и его метаболитами, различная потребность в питании для овец разных возрастов была показана на примере тибетских овец: у тибетских ягнят в возрасте 1 мес. содержание *Firmicutes* и *Tenericutes* в рубце было больше, чем у овец в возрасте 6 мес, у которых была выше доля *Bacteroidetes* и *Spirochaetae*. Микробиота рубца ягнят была менее разнообразна. Если структура микробного сообщества рубца, профиль метаболитов зависели от возраста, концентрация ЛЖК в рубце была относительно стабильной [37]. Эти знания имеют важное значение для регулирования питания и метаболизма животных, опосредованного участием микробиома рубца.

Коррекция микробиоты рубца овец с использованием кормовых добавок. Для создания в рубце оптимальной среды для микробиоты и переваривания кормовых субстратов рациона применяют разные кормовые добавки: эрготропики, грибные культуры, модификаторы, антиоксиданты, ферменты и др. Так, в работах российских исследователей было отмечено положительное влияние дигидрохверцетина, органического йода, шунгита, спирулины, мицеллата кальция в составе основного рациона на состояние рубца овец романовской породы и его микрофлору [40].

В настоящее время активно создаются специализированные и функциональные продукты питания, обогащенные биологически активными веществами адаптогенной природы. Многие из них позиционируются как средства, способные повышать сопротивляемость организма вредным физическим и токсическим факторам окружающей среды, а также проявлять иммуномодулирующую и противомикробную активность. Биологически активные вещества нового поколения характеризуются новыми свойствами: антиоксидантной активностью, противовоспалительным действием, антимутагенным действием (стабилизация генома хозяина и его микробиома), положительным влиянием на психическое состояние индивида [10]. Последние в основном включают некоторые пробиотики, в том числе психобиотики, и адаптогены. Органические соли лития являются адаптогенами, а выраженные антиоксидантные, анксиолитические и нейропротекторные эффекты аскорбата лития могут оказывать положительное влияние на микробиоту кишечника, особенно в условиях стресса [41].

Методы изучения микробиоты. В отличие от классических методов изучения микроорганизмов (микроскопия, культивирование на питательных средах, биохимические) современные методы молекулярно-генетического анализа (T-RFLP (*terminal restriction fragment length polymorphism*) и NGS (секвенирование следующего поколения) позволяют без стадии культивирования изучить практически 100 % популяции МО и получить полный профиль биологического разнообразия. Основным объектом метагеномных исследований является ген 16S рРНК, кодирующий 16S рибосомную РНК – маркер для идентификации микроорганизмов [42], присутствующий в геноме всех известных бактерий и архей, но не у вирусов и эукариот. Этот ген имеет как консервативные последовательности, одинаковые у всех прокариот, так и видоспецифичные, степень сходства которых отражает эволюционное родство разных видов. Нуклеотидные последовательности гена 16S рРНК всех известных в настоящее время бактерий и архей находятся в открытом доступе. Оказалось, что путем культивирования на средах можно определить лишь 7–10 % состава микробиоты кишечника, где обитает более тысячи видов МО, 99 % из которых являются анаэробами, и их состав имеет сильное несоответствие с данными, полученными традиционными методами [43]. Применение передовых технологий NGS (*next generation sequencing* – секвенирование следующего поколения) для метагеномного анализа с соответствующим программным обеспечением мощно продвинуло вперед изучение состава и функционирования микробиома [44]. Этот метод секвенирования стал привлекательным подходом и для выявления патогенных МО¹.

Молекулярно-генетические исследования в отличие от традиционных посевов на питательные среды дают возможность выявлять статистически значимые различия в составе микробио-

¹ Gu W., Miller S., Chiu C. Y. Clinical metagenomic next-generation sequencing for pathogen detection // *Annu. Rev. of Pathology*. 2019. Vol. 14. P. 319-338.

ма рубца жвачных разного возраста, уровня продуктивности и здоровья. Полученные данные впервые в мировой практике позволили определить границы нормального содержания в рубце микроорганизмов – представителей полезной, нежелательной и условно-патогенной микробиоты – в соответствии с возрастом и физиологическим состоянием животного. В хозяйствах эти нормы сегодня широко востребованы. Их применяют для оценки состояния микробиома рубца².

Цель работы – изучение влияния адаптогена аскорбата лития на микробиоту рубца овец-ярок.

Материалы и методы исследований. Эксперимент проводили на овцах романовской породы в возрасте 18–24 мес на базе вивария ВНИИФБиП животных в 2020 г. По принципу парных аналогов были сформированы две группы животных (опытная и контрольная группы), по 8 гол. в каждой. Все опытные животные содержались в одном помещении. Кормление осуществляли по технологической схеме вивария с добавлением изучаемого препарата в соответствующей дозировке к получаемому рациону. Животные находились на основном рационе для овец (ОР, гранулированный комбикорм «Комбикорм для коз и овец КК-85 (МРС)»): концентрат – 500 г, сено разнотравное – 1,5 кг. Вода была в свободном доступе.

Аскорбат лития был синтезирован в лаборатории иммунобиотехнологии и микробиологии Всероссийского научно-исследовательского института физиологии, биохимии и питания сельскохозяйственных животных. Содержание микроэлемента лития в составе дигидрата аскорбата лития составляло 3,18 %. Органическую соль лития вводили в основной рацион начиная с первого дня исследования в дозировке 10 мг/кг живой массы. Продолжительность эксперимента составила 60 дней. Взятие рубцового содержимого проводили откачиванием через ротоглоточный зонд в колбу Бунзена с помощью вакуумного насоса Комовского. Для удаления непереваренных остатков корма содержимое отфильтровывали через несколько слоев марли.

Тотальную бактериальную ДНК из исследуемых образцов выделяли с использованием набора “Genomic DNA Purification Kit” (Fermentas, Inc., Литва). Для проведения молекулярно-генетических исследований точную концентрацию выделенной ДНК определяли с помощью флуориметра Qubit (Invitrogen, Inc., США) с использованием наборов “Quant-iT dsDNA Broad-Range Assay Kit” (Invitrogen, Inc., США). Амплификацию для последующего проведения NGS-секвенирования осуществляли с использованием ДНК-амплификатора Verity (Life Technologies, Inc., США) с помощью эубактериальных праймеров (IDT), 343F (5'-CTCCTACGGRRSGCAGCAG-3') и 806R (5'-GGACTACNVGGGTWTCTAAT-3'), фланкирующих варибельный участок V1V3 гена 16S рРНК. Метагеномное секвенирование было осуществлено в ООО «Биотроф» на геномном секвенаторе MiSeq (Illumina, Inc., США) с набором “MiSeq Reagent Kit v3” (Illumina, Inc., США). Таксономическую принадлежность микроорганизмов до рода определяли с помощью программы RDP Classifier³.

Целлюлозолитическую активность содержимого рубца определяли по методу Долгова, основанному на измерении разницы в весе целлюлозы до и после ее инкубации в модифицированной среде Чюрлиса с содержимым рубца. Для подсчета количества инфузорий содержимое рубца сразу после отбора фильтровали через два слоя марли, фиксировали и окрашивали 4%-ным водным раствором формальдегида с метиловым зеленым в соотношении 1:5. Расчет проводили в счетной камере Горяева под микроскопом⁴.

Результаты и их обсуждение. Таксономическая иерархия микроорганизмов рубца овец, основанная на результатах NGS секвенирования, представлена следующими результатами. Основными обнаруженными доменами являлись *Bacteria* (бактерии) (95,66±0,52 % от общего числа МО) и *Archaea* (архебактерии) (0,18±0,05 %). Микробиота рубца овец была представлена 37 филумами (типами) бактерий, из них 8 – с долей более 1 % от общего числа микроорганизмов. Доминирующими филумами были *Bacteroidetes* (53–60 %) и *Firmicutes* (24–29 %) (рис. 1, А). Филум *Bacteroidetes* был представлен в основном классом *Bacteroidia* (около 55 % от общего

² Нормы содержания микрофлоры в рубце крупного рогатого скота: метод. рекомендации / ООО «БИОТРОФ»; подгот.: Г. Ю. Лаптев [и др.]. СПб.: БИОТРОФ, 2014. 32 с.

³ Classifier – Start [Electronic resource]. Mode of access: <https://rdp.cme.msu.edu/classifier/classifier.jsp>.

⁴ Тараканов Б. В. Методы исследования микрофлоры пищеварительного тракта сельскохозяйственных животных и птицы. М.: Науч. мир, 2006. 187 с.

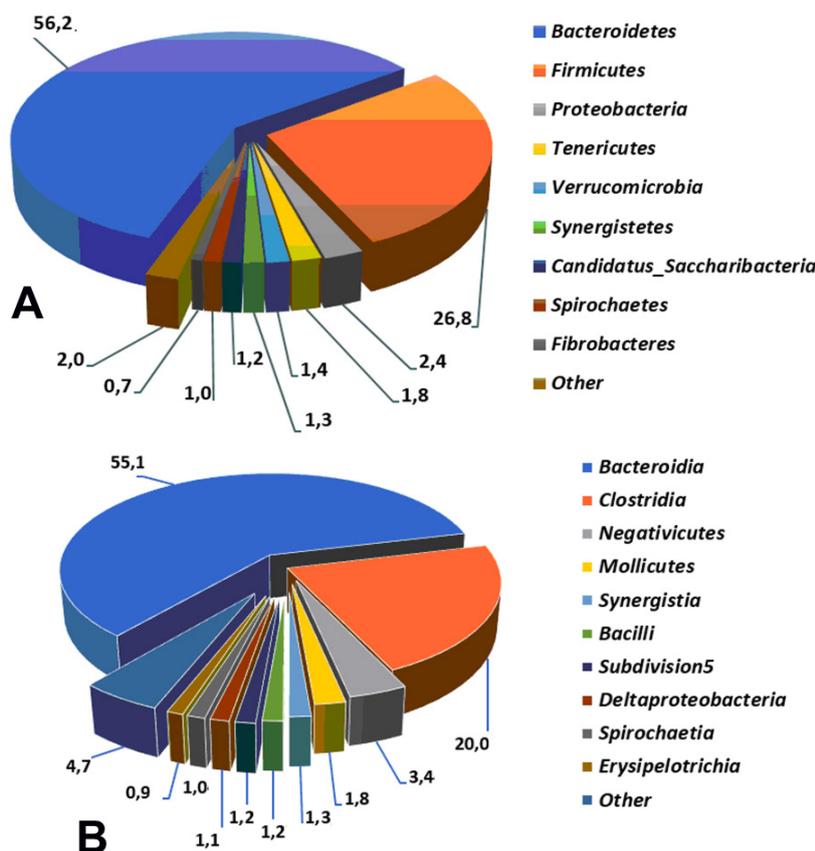


Рис. 1. Основные филумы (А) и классы (В) микробиоты рубца овец, % содержания от общего количества микроорганизмов. Показаны первые 11 самых крупных из обнаруженных филумов и классов

Fig. 1. The main phylums (A) and classes (B) of the sheep rumen microbiota, % of the total count of microorganisms. The first 10 largest of the detected phylums and classes are shown

количества МО). Микроорганизмы филума *Firmicutes* в рубце овец были представлены преимущественно классами *Clostridia* (около 20 %), *Bacilli* (1 %) (рис.1, B). Всего в содержимом рубца овец было обнаружено 76 классов бактерий (10 из них с долей выше 1 %), 98 порядков бактерий (7 порядков – с долей более 1 %, главные из которых – *Bacteroidales* – 55 % и *Clostridiales* – до 20 %), идентифицировано 225 семейств микроорганизмов. В целом было определено 894 вида микроорганизмов, большинство из которых – некультивируемы.

Целлюлозолитические бактерии, расщепляющие клетчатку растительных кормов до летучих жирных кислот, являются доминирующими бактериями рубца мелких и крупных жвачных животных. Общая доля целлюлозолитических бактерий в тотальной рубцовой микробиоте у овец контрольной и опытной групп была высокой – 73,6 и 75,4 % соответственно. В содержимом рубца изученных овец они были представлены бактериями сем. *Ruminococcaceae* (11–12 %), *Lachnospiraceae*, *Clostridiaceae*, *Eubacteriaceae*, *Thermoanaerobacteraceae* филума *Firmicutes*, *Prevotellaceae* (32–37 %) и *Flavobacteriaceae* филума *Bacteroidetes* (табл. 1). Кроме того, нормальная микрофлора рубцового содержимого овец была представлена лактат-утилизирующими (ЛЖК-синтезирующими) бактериями (*Veillonellaceae*), ферментирующими молочную кислоту до летучих жирных кислот, используемыми организмом в метаболических процессах. Их содержание в рубце у овец контрольной и опытной группы составило 2,7 и 2,3 % соответственно. Полезные бифидобактерии (*Bifidobacteriales*) в пробах рубцового содержимого овец отсутствовали у 43 % исследованных проб, в остальных – до 0,005 %. Суммарная доля бацилл в пробах рубцового содержимого овец опытной группы была достоверно выше, чем у овец контрольной группы (0,52 % против 0,31 %).

Таблица 1. Содержание бактерий нормофлоры в рубце овец контрольной и опытной групп, % от общего количества бактерий. Опыт проведен на базе вивария ВНИИФБиП животных, 2020 г.

Table 1. Count of normoflora bacteria in the rumen of sheep of the control and experimental groups, % of the total number of bacteria. The experiment was carried out on the basis of the VNIIFBiP animal vivarium, 2020

Вид бактерии	Контроль (n=4)	LiAsc (n=4)
<i>Целлюлозолитические бактерии</i>		
<i>Bacteroidetes</i>	55,63 ± 2,02	57,69 ± 1,89
<i>Ruminococcaceae</i>	11,96 ± 0,72	11,89 ± 1,25
<i>Lachnospiraceae</i>	4,37 ± 0,27	3,86 ± 0,19
<i>Clostridiaceae</i>	1,22 ± 0,06	0,95 ± 0,18
<i>Eubacteriaceae</i>	0,42 ± 0,02	0,98 ± 0,16
<i>Peptostreptococcaceae</i>	0,02 ± 0,00	0,04 ± 0,02
<i>Thermoanaerobacterales</i>	0,02 ± 0,01	0,01 ± 0,00
Сумма целлюлозолитиков	73,64 ± 1,62	75,42 ± 0,94
<i>Лактат-утилизирующие бактерии</i>		
<i>Veillonellaceae</i>	2,67 ± 0,15	2,29 ± 0,53
<i>Другие</i>		
<i>Bifidobacteriales</i>	0,002 ± 0,002	0,005 ± 0,007
Сумма бацилл	0,31 ± 0,02	0,52 ± 0,04

Целлюлозолитическая активность (ЦА) содержимого рубца, определенная методом Долгова, была значительно выше у овец, получавших с кормом аскорбат лития, чем у овец контрольной группы (табл. 1), что подтверждается и данными секвенирования NGS.

Значительная роль в процессах трансформации питательных веществ растительного происхождения в рубце жвачных принадлежит простейшим, представленным в рубце инфузориями. Количество инфузорий в рубце крупного рогатого скота составляет 10^4 – 10^6 в 1 мл рубцовой жидкости, тогда как у домашних овец оно характеризуется довольно бедным видовым составом и низким количеством видов. С повышением количества инфузорий отмечается снижение активности целлюлозолитических бактерий, и наоборот, уменьшение инфузорий способствует нарастанию ЦА бактерий [31]. Такая же закономерность была отмечена и в нашем эксперименте: при уменьшении количества инфузорий в рубцовом содержимом опытных овец относительно этого показателя у животных контрольной группы на более чем на 30 % ЦА рубцового содержимого у овец, потреблявших аскорбат лития с кормом, соответственно, увеличивалась на 38 % (табл. 2).

Таблица 2. Целлюлозолитическая активность рубцового содержимого овец на фоне применения аскорбата лития (M±m). Опыт проведен на базе вивария ВНИИФБиП животных, 2020 г.

Table 2. Cellulolytic activity of sheep rumen content on the background of lithium ascorbate application (M±m). The experiment was carried out on the basis of the VNIIFBiP animal vivarium, 2020

Вариант опыта	Целлюлозолитическая активность, %	Общее количество инфузорий $\times 10^3$ /мл
<i>До исследования</i>		
Контроль (n=8)	11,9 ± 0,7	142,4 ± 4,2
LiAsc (n=8)	11,5 ± 1,2	147,2 ± 7,6
<i>Через 60 сут</i>		
Контроль (n=8)	11,8 ± 0,5	152,6 ± 3,5
LiAsc (n=8)	16,3 ± 1,5*	97,1 ± 2,7*

* $P < 0,05$ по t-критерию при сравнении с контролем.

Высокая доля целлюлозолитических бактерий в рубцовом содержимом обеих групп свидетельствует о достаточно высоком уровне содержания животных. Тем не менее рост ЦА у овец опытной группы можно объяснить повышением стресс-резистентности организма в целом под действием ионов лития: повышение иммунологического статуса позволяет снизить уровень патогенных и условно-патогенных МО.

Увеличение долей нежелательной, условно-патогенной и патогенной микрофлоры в симбионтном сообществе рубца напрямую взаимосвязано со снижением уровня продуктивности

и состоянием здоровья животных [45]. Лактобактерии, ферментирующие моносахара до молочной кислоты, относятся к нежелательной микрофлоре рубца: в результате их избыточного содержания (выше 1 % для коров в период сухостоя)⁵ происходит значительное понижение рН рубцовой жидкости, что негативно сказывается на ферментативной активности целлюлозолитических бактерий. Содержание *Lactobacillales* в рубце овец опытной группы было ниже, чем у животных контрольной группы. Сем. *Enterobacteriaceae* кроме нормальной микрофлоры включает в себя и патогенов: шигеллы, сальмонеллы и некоторые виды эшерихий, многие из которых могут являться возбудителями гастроэнтеритов. В исследованных пробах энтеробактерий было незначительное количество, причем у овец опытной группы – в два раза меньше, чем в рубце овец контрольной группы. *Actinomycetales* – нежелательные микроорганизмы рубца, которые могут являться возбудителями актиномикозов. Их суммарная доля в образцах рубцового содержимого животных обеих групп была незначительной (табл. 3).

Таблица 3. Содержание «нежелательной» и условно-патогенной микрофлоры в рубце овец, %. Опыт проведен на базе вивария ВНИИФБиП животных, 2020 г.

Table 3. Content of “undesirable” and conditionally pathogenic microflora in sheep rumen, %. The experiment was carried out on the basis of the VNIIFBiP animal vivarium, 2020

Вид микроорганизма	Контроль (n=4)	LiAsc (n=4)
<i>Lactobacillales</i>	0,57 ± 0,09	0,42 ± 0,26
<i>Enterobacteriaceae</i>	0,04 ± 0,02	0,02 ± 0,003 *
<i>Actinomycetales</i>	0,08 ± 0,01	0,08 ± 0,03

У клинически здоровых животных в рубце помимо представителей нормальной микрофлоры в небольших количествах выявляются возбудители различных заболеваний. В образцах рубцового содержимого овец контрольной и опытной групп было обнаружено более 50 видов патогенных микроорганизмов. Доминировали три группы патогенов: микоплазмы, трепонемы и стрептококки (табл. 4), доля которых, тем не менее, была невысокой. В незначительных количествах были обнаружены моракселлы, псевдомонады, стафилококки, сукцинивибрио, эризипелотрикссы и хольдемании.

Таблица 4. Содержание патогенных микроорганизмов в рубце овец контрольной и опытных групп, %. Опыт проведен на базе вивария ВНИИФБиП животных, 2020 г.

Table 4. Count of pathogenic microorganisms in the rumen of sheep of the control and experimental groups, %. The experiment was carried out on the basis of the VNIIFBiP animal vivarium, 2020

Вид патогена	Контроль	LiAsc
<i>Микоплазмы</i>		
<i>Anaeroplasma bactoclasticum</i>	0,81±0,03	0,16±0,03
<i>Anaeroplasma sp.</i>	0,12±0,01	0,11±0,04
Прочие	0,13±0,01	0,07±0,02
Сумма микоплазм	1,06±0,03	0,34±0,03*
<i>Трепонемы</i>		
<i>Treponema sp.</i>	0,60±0,02	0,33±0,05
<i>Trep. isoptericolens</i>	0,16±0,12	0,03±0,02
<i>Treponema parvum</i>	0,14±0,04	0,06±0,03
<i>Treponema bryantii</i>	0,09±0,03	0,12±0,01
Прочие	0,15±0,02	0,15±0,01
Сумма трепонем	1,14±0,04	0,69±0,03*
<i>Стрептококки</i>		
<i>Strept. acidominimus</i>	0,06± 0,01	0,06±0,05
<i>Streptococcus sp.</i>	0,05±0,01	0,03±0,01
Прочие	0,38±0,14	0,45±0,12
Всего	2,65±0,36	1,58±0,35*

* $P < 0,05$.

⁵ Современные способы улучшения здоровья и роста продуктивности жвачных животных / В. Н. Романов [и др.]. Дубровицы: ФГБНУ ФНЦ ВИЖ им. Л. К. Эрнста. 2019. 128 с.

Общее содержание условно-патогенной и патогенной микрофлоры было незначительным в рубце у животных обеих групп. Однако по сравнению с контрольной группой суммарное содержание патогенов у животных опытной группы было достоверно ниже (1,58 % против 2,65 %), что свидетельствует о положительном влиянии аскорбата лития на качественный состав микробиоты.

Выводы. В настоящем исследовании при использовании NGS впервые изучено влияние адаптогена аскорбата лития на бактериальное сообщество рубца овец-ярок романовской породы. Всего было выявлено 37 филумов, 76 классов, 98 порядков, 225 семейств и 894 вида микроорганизмов. Установлено, что введение аскорбата лития в дозе 10 мг/кг живой массы в основной рацион овец способствовало увеличению доли целлюлозолитических бактерий от $73,6 \pm 1,6$ до $75,4 \pm 0,9$ % и снижению общего количества инфузорий в содержимом рубца более чем на 40 %. Целлюлозолитическая активность рубцовой жидкости овец опытной группы увеличилась на 38 % по сравнению с животными контрольной группы. Количество патогенных бактерий снижалось от 2,7 % у овец контрольной группы до 1,6 % у животных опытной группы, при этом содержание полезных бацилл увеличилось от 0,3 до 0,5 % соответственно. У овец опытной группы снизилось содержание нежелательной и условно-патогенной микрофлоры. Полученные данные подтверждают положительное влияние адаптогена аскорбата лития, введенного в рацион в дозировке 10 мг/кг живой массы, на качественный и количественный состав микробиоты рубца овец.

Благодарности. Работа выполнена в рамках Государственного задания ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр животноводства – ВИЖ им. академика Л.К. Эрнста» (тема АААА-А18-118021590136-7).

Список использованных источников

1. Сенчук, И. В. Диагностика нарушений рубцового пищеварения у овец / И. В. Сенчук // Изв. с.-х. науки Тавриды. – 2019. – № 17 (180). – С. 156–163.
2. Shreiner, A. B. The gut microbiome in health and in disease / A. B. Shreiner, J. Y. Kao, V. B. Young // Current Opinion in Gastroenterology. – 2015. – Vol. 31, N 1. – P. 69–75. <https://doi.org/10.1097/MOG.0000000000000139>
3. Role of gut microbiota in the aetiology of obesity: proposed mechanisms and review of the literature / M. J. Khan [et al.] // J. of Obesity. – 2016. – Vol. 2016. – Art. 7353642. <https://doi.org/10.1155/2016/7353642>
4. Zheng, D. Interaction between microbiota and immunity in health and disease / D. Zheng, T. Liwinski, E. Elinav // Cell Research. – 2020. – Vol. 30, N 6. – P. 492–506. <https://doi.org/10.1038/s41422-020-0332-7>
5. Yan, H. Hematopoiesis and the bacterial microbiome / H. Yan, M. T. Baldrige, K. Y. King // Blood. – 2018. – Vol. 132, N 6. – P. 559–564. <https://doi.org/10.1182/blood-2018-02-832519>
6. Glassner, K. L. The microbiome and inflammatory bowel disease / K. L. Glassner, B. P. Abraham, E. M. M. Quigley // J. of Allergy and Clinical Immunology. – 2020. – Vol. 145, N 1. – P. 16–27. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2019.11.003>
7. Cancer and the gut microbiota: an unexpected link / L. Zitvogel [et al.] // Science Translational Medicine. – 2015. – Vol. 7, N 271. – P. 271ps1. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3010473>
8. Кирпиченко, А. А. Психобиотики: способна ли микробиота кишечника оказывать влияние на психическое здоровье хозяина? / А. А. Кирпиченко, И. Ю. Ким // Вестн. Витеб. гос. мед. ун-та. – 2017. – Т. 16, № 2. – С. 26–42. <https://doi.org/10.22263/2312-4156.2017.2.26>
9. The microbiota-gut-brain axis / J. F. Cryan [et al.] // Physiol. Rev. – 2019. – Vol. 99, N 4. – P. 1877–2013. <https://doi.org/10.1152/physrev.00018.2018>
10. Олескин, А. В. Пробиотики, психобиотики и метабиотики: проблемы и перспективы / А. В. Олескин, Б. А. Шендеров // Физ. и реабилитац. медицина, мед. реабилитация. – 2020. – Т. 2, № 3. – С. 233–243. <https://doi.org/10.36425/rehab25811>
11. Foster, J. A. Gut-brain axis: how the microbiome influences anxiety and depression / J. A. Foster, K.-A. McVey Neufeld // Trends in Neurosciences. – 2013. – Vol. 36, N 5. – P. 305–312. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2013.01.005>
12. Hooper L. V. Interactions between the microbiota and the immune system / L. V. Hooper, D. R. Littman, A. J. Macpherson // Science. – 2012. – Vol. 336, N 6086. – P. 1268–1273. <https://doi.org/10.1126/science.1223490>
13. Загоруй, А. В. Ветеринарно-санитарная характеристика свинины, полученной при убое стрессчувствительных животных / А. В. Загоруй // Актуальные проблемы инфекционной патологии и биотехнологии : материалы X Междунар. студенч. науч. конф., 30–31 мая 2017 г. / Ульянов. гос. аграр. ун-т. – Ульяновск, 2017. – Ч. 1. – С. 159–161.
14. Воздействие теплового стресса на микробиоту кишечника / Е. А. Ажмулинов [и др.] // Животноводство и кормопроизводство. – 2019. – Т. 102, № 4. – С. 163–173. <https://doi.org/10.33284/2658-3135-102-4-163>
15. Early life stress alters behavior, immunity, and microbiota in rats: implications for irritable bowel syndrome and psychiatric illnesses / S. M. O'Mahony [et al.] // Biol. Psychiatry. – 2009. – Vol. 65, N 3. – P. 263–267. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2008.06.026>

16. Microbiota alteration is associated with the development of stress-induced despair behavior / I. A. Marin [et al.] // *Sci. Rep.* – 2017. – Vol. 7. – Art. 43859. <https://doi.org/10.1038/srep43859>
17. *Dinan, T. G.* Melancholic microbes: a link between gut microbiota and depression? / T. G. Dinan, J. F. Cryan // *Neurogastroenterology a. Motility.* – 2013. – Vol. 25, N 9. – P.713–719. <https://doi.org/10.1111/nmo.12198>
18. *Dinan, T. G.* Psychobiotics: a novel class of psychotropic / T. G. Dinan, C. Stanton, J. F. Cryan // *Biol. Psychiatry.* – 2013. – Vol. 74, N 10. – P. 720–726. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2013.05.001>
19. Dietary prebiotics: current status and new definition / G. R. Gibson [et al.] // *Food Science a. Technology Bull.* – 2011. – Vol. 7. – P. 1–19. <https://doi.org/10.1616/1476-2137.15880>
20. Dynamic alterations in yak rumen bacteria community and metabolome characteristics in response to feed type / C. Liu [et al.] // *Frontiers in Microbiology.* – 2019. – Vol. 10. – Art. 1116. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01116>
21. Metagenomic assessment of the functional potential of the rumen microbiome in Holstein dairy cows / D.W. Pitta [et al.] // *Anaerobe.* – 2016. – Vol. 38. – P. 50–60. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2015.12.003>
22. Metagenomic analysis of the rumen microbiome of steers with wheat-induced frothy bloat / D. W. Pitta [et al.] // *Frontiers in Microbiology.* – 2016. – Vol. 7. – Art. 689. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00689>
23. Effect of dietary concentrate to forage ratio on growth performance, rumen fermentation and bacterial diversity of Tibetan sheep under barn feeding on the Qinghai-Tibetan plateau / H. Liu [et al.] // *Peer J.* – 2019. – Vol. 7. – Art. 7462. <https://doi.org/10.7717/peerj.7462>
24. Сезонные изменения микробиома рубца у северного оленя (*Rangifer tarandus*) в условиях Российской Арктики / Л. А. Ильина [и др.] // *С.-х. биология.* – 2020. – Т. 55, № 4. – С. 697–713. <https://doi.org/10.15389/agrobiolog.2020.4.697rus>
25. Effect of different feeding methods on rumen microbes in growing Chinese Tan sheep / Z. Fu [et al.] // *Rev. Brasileira de Zootecnia.* – 2020. – Vol. 49. – Art. e20190258. <https://doi.org/10.37496/rbz4920190258>
26. High-grain feeding causes strong shifts in ruminal epithelial bacterial community and expression of Toll-like receptor genes in goats / J. Liu [et al.] // *Frontiers in Microbiology.* – 2015. – Vol. 6. – Art. 167. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00167>
27. *Ноздрин, Г. А.* Теоретические и практические основы применения пробиотиков на основе бацилл в ветеринарии / Г. А. Ноздрин, А. Б. Иванова А. Г. Ноздрин // *Вестн. НГАУ.* – 2011. – № 5 (21). – С. 87–95.
28. Invited review: Current production trends, farm structures, and economics of the dairy sheep and goat sectors / G. Pulina [et al.] // *J. of Dairy Science.* – 2018. – Vol. 101, N 8. – P. 6715–6729. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-14015>
29. *Арсеньев, Д. Д.* Технология романовского овцеводства / Д. Д. Арсеньев, В. Ю. Лобков. – Ярославль : Ярослав. ГСХА, 2011. – 267 с.
30. Биокоррекция ферментативных и микробиологических процессов в рубце, межзачаточный обмен у овец путем применения в питании антиоксиданта и органического йода / Ю. П. Фомичев [и др.] // *Рос. с.-х. наука.* – 2019. – № 4. – С. 43–47. <https://doi.org/10.31857/S2500-26272019443-47>
31. *Чёрная, Л. В.* Особенности жизнедеятельности эндобионтных инфузорий в желудке овец / Л. В. Чёрная // *Международ. журн. приклад. и фундам. исслед.* – 2016. – № 3, ч. 3. – С. 402–404.
32. *Артемяева, О. А.* Изучение микробиоценоза у гибридных и чистопородных животных / О. А. Артемяева, Е. Н. Колодина, Т. И. Логвинова // *Новости науки в АПК.* – 2018. – № 2 (11), ч. 1. – С. 247–250. <https://doi.org/10.25930/5er7-ch98>
33. Microbial community compositions in the gastrointestinal tract of Chinese Mongolian sheep using Illumina MiSeq sequencing revealed high microbial diversity / Y. Zeng [et al.] // *AMB Express.* – 2017. – Vol. 7, N 1. – P. 75–86. <https://doi.org/10.1186/s13568-017-0378-1>
34. Convergent evolution of rumen microbiomes in high-altitude mammals / Z. Zhang [et al.] // *Current Biology.* – 2016. – Vol. 26, N 14. – P. 1873–1879. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2016.05.012>
35. Dynamics and stabilization of the rumen microbiome in yearling Tibetan sheep / L. Wang [et al.] // *Sci. Rep.* – 2019. – Vol. 9, N 1. – Art. 19620. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-019-56206-3>
36. Diversity and composition of rumen bacteria, fungi, and protozoa in goats and sheep living in the same high-altitude pasture / S. Langda [et al.] // *Animals.* – 2020. – Vol. 10, N 2. – Art. 186. <https://doi.org/10.3390/ani10020186>
37. Rumen microbiome and metabolome of tibetan sheep (*ovis aries*) reflect animal age and nutritional requirement / H. Li [et al.] // *Frontiers in Veterinary Science.* – 2020. – Vol. 7. – Art. 609. <https://doi.org/10.3389/fvets.2020.00609>
38. Comparison of the rumen bacterial community, rumen fermentation and growth performance of fattening lambs fed lowgrain, pelleted or non-pelleted high grain total mixed ration / E. B. Trabi [et al.] // *Animal Feed Science a. Technology.* – 2019. – Vol. 253. – P. 1–12. <https://doi.org/10.1016/j.anifeeds.2019.05.001>
39. *Odenyo A. A.* Tannin-tolerant ruminal bacteria from East African ruminants / A. A. Odenyo, P. O. Osuji // *Canad. J. of Microbiology.* – 1998. – Vol. 44, N 9. – P. 905–909. <https://doi.org/10.1139/cjm-44-9-905>
40. Сравнительная оценка природных кормовых добавок по функциональному действию на процессы пищеварения и микробиоту рубца у овец (*ovis aries*) / Ю. П. Фомичев [и др.] // *С.-х. биология.* – 2020. – Т. 55, № 4. – С. 770–783. <https://doi.org/10.15389/agrobiolog.2020.4.770rus>
41. Органические соли лития – эффективные антистрессовые препараты нового поколения / К. С. Остренко [и др.] // *Проблемы биологии продуктив. животных.* – 2017. – № 2. – С. 5–28.
42. *Janda, J. M.* 16S rRNA gene sequencing for bacterial identification in the diagnostic laboratory: pluses, perils, and pitfalls / J. M. Janda, S. L. Abbott // *J. of Clinical Microbiology.* – 2007. – Vol. 45, N 9. – P. 2761–2764. <https://doi.org/10.1128/JCM.01228-07>
43. A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing / J. Qin [et al.] // *Nature.* – 2010. – Vol. 464, N 7285. – P. 59–65. <https://doi.org/10.1038/nature08821>

44. Shotgun metagenomics, from sampling to analysis / C. Quince [et al.] // *Nature Biotechnology*. – 2017. – Vol. 35, N 9. – P. 833–844. <https://doi.org/10.1038/nbt.3935>

45. Лантнев, Г. Микробиом рубца – основа здоровья коров / Г. Лантнев, Е. Ыылдырым, Л. Ильина // *Животноводство России*. – 2020. – № 4. – С. 42–45.

References

1. Senchuk I. V. Diagnostics of color digestion disorders in sheep. *Izvestiya sel'skokhozyaistvennoi nauki Tavriy = Transactions of Taurida Agricultural Science*, 2019, no. 17 (180), pp. 156-163 (in Russian).
2. Shreiner A. B., Kao J. Y., Young V. B. The gut microbiome in health and in disease. *Current Opinion in Gastroenterology*, 2015, vol. 31, no. 1, pp. 69-75. <https://doi.org/10.1097/MOG.0000000000000139>
3. Khan M. J., Gerasimidis K., Edwards C. A., Shaikh M. G. Role of gut microbiota in the aetiology of obesity: proposed mechanisms and review of the literature. *Journal of Obesity*, 2016, vol. 2016, art. 7353642. <https://doi.org/10.1155/2016/7353642>
4. Zheng D., Liwinski T., Elinav E. Interaction between microbiota and immunity in health and disease. *Cell Research*, 2020, vol. 30, no. 6, pp. 492-506. <https://doi.org/10.1038/s41422-020-0332-7>
5. Yan H., Baldridge M.T., King K. Y. Hematopoiesis and the bacterial microbiome. *Blood*, 2018, vol. 132, no. 6, pp. 559-564. <https://doi.org/10.1182/blood-2018-02-832519>
6. Glassner K. L., Abraham B. P., Quigley E. M. M. The microbiome and inflammatory bowel disease. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 2020, vol. 145, no. 1, pp. 16-27. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2019.11.003>
7. Zitvogel L., Galluzzi L., Viaud S., Vétizou M., Daillère R., Kroemer G., Merad M. Cancer and the gut microbiota: an unexpected link. *Science Translational Medicine*, 2015, vol. 7, no. 271, p. 271ps1. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3010473>
8. Kirpichenka A. A., Kim I. Y. Psychobiotics: can gut microbiota influence host's mental health? *Vestnik Vitebskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta = Vestnik of Vitebsk State Medical University*, 2017, vol. 16, no. 2, pp. 26-42 (in Russian). <https://doi.org/10.22263/2312-4156.2017.2.26>
9. Cryan J. F., O'Riordan K. J., Cowan C. S. M., Sandhu K. V., Bastiaansen T. F. S., Boehme M. (et al.). The microbiota-gut-brain axis. *Physiological Reviews*, 2019, vol. 99, no. 4, pp. 1877-2013. <https://doi.org/10.1152/physrev.00018.2018>.
10. Oleskin A. V., Shenderov B. A. Probiotics, psychobiotics, and metabiotics: problems and prospects. *Fizicheskaya i reabilitatsionnaya meditsina, meditsinskaya reabilitatsiya = Physical and Rehabilitation Medicine, Medical Rehabilitation*, 2020, vol. 2, no. 3, pp. 233–243. <https://doi.org/10.36425/rehab25811> (in Russian)
11. Foster J. A., McVey Neufeld K.-A. Gut-brain axis: how the microbiome influences anxiety and depression. *Trends in Neurosciences*, 2013, vol. 36, no. 5, pp. 305–312. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2013.01.005>.
12. Hooper L. V., Littman D. R., Macpherson A. J. Interactions between the microbiota and the immune system. *Science*, 2012, vol. 336, no. 6086, pp. 1268-1273. <https://doi.org/10.1126/science.1223490>
13. Zagoruy A. V. Veterinary and sanitary characteristic of pork, received at slaughter of stress sensible animals. *Aktual'nye problemy infektsionnoi patologii i biotekhnologii: materialy X Mezhdunarodnoi studencheskoi nauchnoi konferentsii, 30–31 maya 2017 g.* [Actual problems of infectious pathology and biotechnology: proceedings of the X international student scientific conference, May 30–31, 2017]. Ulyanovsk, 2017, pt. 1, pp. 159-161 (in Russian)
14. Azhmuldinov E. A., Titov M. G., Kizaev M. A., Babicheva I. A., Soboleva N. V., Malchikov R. V., Kholodilina T. N. The effect of heat stress on the intestinal microbiota. *Zhivotnovodstvo i kormoproizvodstvo = Animal Husbandry and Fodder Production*, 2019, vol. 102, no. 4, pp. 163-173 (in Russian). <https://doi.org/10.33284/2658-3135-102-4-163>
15. O'Mahony S. M., Marchesi J. R., Scully P., Codling C., Ceolho A. M., Quigley E. M., Cryan J. F., Dinan T. G. Early life stress alters behavior, immunity, and microbiota in rats: implications for irritable bowel syndrome and psychiatric illnesses. *Biological Psychiatry*, 2009, vol. 65, no. 3, pp. 263-267. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2008.06.026>
16. Marin I. A., Goertz J. E., Ren T., Rich S. S., Onengut-Gumuscu S., Farber E., Wu M., Overall C. C., Kipnis J., Gaultier A. Microbiota alteration is associated with the development of stress-induced despair behavior. *Scientific Reports*, 2017, vol. 7, art. 43859. <https://doi.org/10.1038/srep43859>
17. Dinan T. G., Cryan J. F. Melancholic microbes: a link between gut microbiota and depression? *Neurogastroenterology a. Motility*, 2013, vol. 25, no. 9, pp. 713-719. <https://doi.org/10.1111/nmo.12198>
18. Dinan T. G., Stanton C., Cryan J. F. Psychobiotics: a novel class of psychotropic. *Biological Psychiatry*, 2013, vol. 74, no. 10, pp. 720-726. <https://doi.org/biopsych.2013.05.001>
19. Gibson G. R., Scott K. P., Rastall R. A., Tuohy K. M., Hotchkiss A., Dubert-Ferrandon A., Gareau M., Murphy E. F., Saulnier D., Loh G., Macfarlane S., Delzenne N., Ringel Y., Kozianowski G., Dickmann R., Lenoir-Wijnkoop I., Walker C., Buddington R. Dietary prebiotics: current status and new definition. *Food Science and Technology Bulletin*, 2011, vol. 7, pp. 1-19. <https://doi.org/10.1616/1476-2137.15880>
20. Liu C., Wu H., Liu S., Chai S., Meng Q., Zhou Z. Dynamic alterations in yak rumen bacteria community and metabolome characteristics in response to feed type. *Frontiers in Microbiology*, 2019, vol. 10, art. 1116. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01116>
21. Pitta D. W., Indugu N., Kumar S., Vecchiarelli B., Sinha R., Baker L. D., Bhukya B., Ferguson J. D. Metagenomic assessment of the functional potential of the rumen microbiome in Holstein dairy cows. *Anaerobe*, 2016, vol. 38, pp. 50-60. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2015.12.003>
22. Pitta D. W., Pinchak W. E., Indugu N., Vecchiarelli B., Sinha R., Fulford J. D. Metagenomic analysis of the rumen microbiome of steers with wheat-induced frothy bloat. *Frontiers in Microbiology*, 2016, vol. 7, art. 689. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00689>

23. Liu H., Xu T., Xu S., Ma L., Han X., Wang X., Zhang X., Hu L., Zhao N., Chen Y., Pi L., Zhao X. Effect of dietary concentrate to forage ratio on growth performance, rumen fermentation and bacterial diversity of Tibetan sheep under barn feeding on the Qinghai-Tibetan plateau. *Peer J.* 2019, vol. 7, art. 7462. <https://doi.org/10.7717/peerj.7462>
24. Ilina L. A., Filippova V. A., Layshev K. A., Yildirim E. A., Dunyashev T. P., Brazhnik E. A., Dubrovin A. V., Sobolev D. V., Tiurina D. G., Novikova N. I., Laptev G. Yu., Yuzhakov A. A., Romanenko T. M., Vylko Yu. P. Variation in the Russian Arctic reindeer (*Rangifer tarandus*) rumen microbiome related to season change. *Sel'skokhozyaistvennaya biologiya = Agricultural Biology*, 2020, vol. 55, no. 4, pp. 697-713 (in Russian). <https://doi.org/10.15389/agrobiology.2020.4.697rus>
25. Fu Z., Xu X., Zhang J., Zhang L. Effect of different feeding methods on rumen microbes in growing Chinese Tan sheep. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 2020, vol. 49, art. e20190258. <https://doi.org/10.37496/rbz4920190258>
26. Liu J., Bian G., Zhu W., Mao S. High-grain feeding causes strong shifts in ruminal epithelial bacterial community and expression of Toll-like receptor genes in goats. *Frontiers in Microbiology*, 2015, vol. 6, art. 167. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00167>
27. Nozdrin G. A., Ivanova A. B., Nozdrin A. G. Theoretical and practical bases of applying probiotics based on bacilli in veterinary science. *Vestnik NGAU = Bulletin of the NSAU*, 2011, no. 5 (21), pp. 87-95 (in Russian).
28. Pulina G., Milán M. J., Lavín M. P., Theodoridis A., Morin E., Capote J., Thomas D. L., Francesconi A. H. D., Caja G. Invited review: Current production trends, farm structures, and economics of the dairy sheep and goat sectors. *Journal of Dairy Science*, 2018, vol. 101, no. 8, pp. 6715-6729. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-14015>
29. Arsen'ev D. D., Lobkov V. Yu. *The technology of Romanov sheep breeding*. Yaroslavl, Yaroslavl State Agricultural Academy, 2011. 268 p. (in Russian).
30. Fomichev Yu. P., Bogolyubova N. V., Mishurov A. V., Rykov R. A. Biocorrection enzymatic and microbiological processes in the rumen, intermediate metabolism of sheep by applying to the feeding of oxidant and organic iodine. *Rossiiskaya sel'skokhozyaistvennaya nauka [Russian Agricultural Sciences]*, 2019, no. 4, pp. 43-47 (in Russian). <https://doi.org/10.31857/S2500-26272019443-47>
31. Chernaya L. V. Features of vital activity endobiontynyh ciliates in the stomach sheep. *Mezhdunarodnyi zhurnal prikladnykh i fundamental'nykh issledovaniy = International Journal of Applied and Fundamental Research*, 2016, no. 3, pt. 3, pp. 402-404 (in Russian).
32. Artemieva O. A., Kolodina E. N., Logvinova T. I. Study of microbio-cenosis in hybrid and non-cross animals. *Novosti nauki v APK [News of Science in the Agroindustrial Complex]*, 2018, no. 2 (11), pt. 1, pp. 247-250 (in Russian). <https://doi.org/10.25930/5er7-ch98>
33. Zeng Y., Zeng D., Ni X., Zhu H., Jian P., Zhou Y., Xu S., Lin Y., Li Y., Yin Z., Pan K., Jing B. Microbial community compositions in the gastrointestinal tract of Chinese Mongolian sheep using Illumina MiSeq sequencing revealed high microbial diversity. *AMB Express*, 2017, vol. 7, no. 1, pp. 75-86. <https://doi.org/10.1186/s13568-017-0378-1>
34. Zhang Z., Xu D., Li W., Hao J., Wang J., Xin Z., Wang W., Qiang Q., Huang X., Zhou J. Convergent evolution of rumen microbiomes in high-altitude mammals. *Current Biology*, 2016, vol. 26, no. 14, pp. 1873-1879. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2016.05.012>
35. Wang L., Zhang K., Zhang C., Feng Y., Zhang X., Wang X., Wu G. Dynamics and stabilization of the rumen microbiome in yearling Tibetan sheep. *Scientific Reports*, 2019, vol. 9, no. 1, art. 19620. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-56206-3>
36. Langda S., Zhang C., Zhang K., Gui B., Ji D., Deji C., Cuoji A., Wang X., Wu Y. Diversity and composition of rumen bacteria, fungi, and protozoa in goats and sheep living in the same high-altitude pasture. *Animals*, 2020, vol. 10, no. 2, art. 186. <https://doi.org/10.3390/ani10020186>
37. Li H., Yu Q., Li T., Shao L., Su M., Zhou H., Qu J. Rumen microbiome and metabolome of tibetan sheep (*ovis aries*) reflect animal age and nutritional requirement. *Frontiers in Veterinary Science*, 2020, vol. 7, art. 609. <https://doi.org/10.3389/fvets.2020.00609>
38. Trabi E. B., Seddik H., Xie F., Lin L., Mao S. Comparison of the rumen bacterial community, rumen fermentation and growth performance of fattening lambs fed lowgrain, pelleted or non-pelleted high grain total mixed ration. *Animal Feed Science and Technology*, 2019, vol. 253, pp. 1-12. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2019.05.001>
39. Odenyo A. A., Osuji P. O. Tannin-tolerant ruminal bacteria from East African ruminants. *Canadian Journal of Microbiology*, 1998, vol. 44, no. 9, pp. 905-909. <https://doi.org/10.1139/cjm-44-9-905>
40. Fomichev Yu. P., Bogolyubova N. V., Romanov V. N., Kolodina E. N. Comparative assessment of natural feed additives for functional effects on the digestive processes in the rumen of sheep (*Ovis aries*). *Sel'skokhozyaistvennaya biologiya = Agricultural Biology*, 2020, vol. 55, no. 4, pp. 770-783 (in Russian). <https://doi.org/10.15389/agrobiology.2020.4.770rus>
41. Ostrenko K. S., Galochkina V. P., Koloskova E. M., Galochkin V. A. Organic lithium salt are effective anti-stress preparations of a new generation. *Problemy biologii produktivnykh zhivotnykh = Problems of Productive Animal Biology*, 2017, no. 2, pp. 5-28.
42. Janda J. M., Abbott S. L. 16S rRNA gene sequencing for bacterial identification in the diagnostic laboratory: pluses, perils, and pitfalls. *Journal of Clinical Microbiology*, 2007, vol. 45, no. 9, pp. 2761-2764. <https://doi.org/10.1128/JCM.01228-07>
43. Qin J., Li R., Raes J., Arumugam M., Burgdorf K. S., Manichanh C. (et al.). A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. *Nature*, 2010, vol. 464, no. 7285, pp. 59-65. <https://doi.org/10.1038/nature08821>
44. Quince C., Walker A.W., Simpson J.T., Loman N.J., Segata N. Shotgun metagenomics, from sampling to analysis. *Nature Biotechnology*, 2017, vol. 35, no. 9, pp. 833-844. <https://doi.org/10.1038/nbt.3935>
45. Laptev G., Ylydyrym E., Ilyina L. Rumen microbiome: basis of cow health. *Zhivotnovodstvo Rossii = Animal Husbandry of Russia*, 2020, no. 4, pp. 42-45 (in Russian).

Информация об авторах

Колоскова Елена Михайловна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории пищеварения и межклеточного обмена, Всероссийский научно-исследовательский институт физиологии, биохимии и питания животных, филиал ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр животноводства – ВИЖ имени академика Л. К. Эрнста» (п. Институт, Боровск, 290013, Калужская обл., Россия). E-mail: heleko3@yandex.ru

Езерский Вадим Аркадьевич – младший научный сотрудник лаборатории микробиологии и иммунобиотехнологии, Всероссийский научно-исследовательский институт физиологии, биохимии и питания животных, филиал ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр животноводства – ВИЖ имени академика Л. К. Эрнста» (п. Институт, Боровск, 290013, Калужская обл., Россия). E-mail: ez.vadim@yandex.ru

Остренко Константин Сергеевич – доктор биологических наук, зав. лабораторией микробиологии и иммунобиотехнологии, Всероссийский научно-исследовательский институт физиологии, биохимии и питания животных, филиал ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр животноводства – ВИЖ имени академика Л. К. Эрнста» (п. Институт, Боровск, 290013, Калужская обл., Россия). E-mail: ostrenkoks@gmail.com

Овчарова Анастасия Никитовна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории микробиологии и иммунобиотехнологии, Всероссийский научно-исследовательский институт физиологии, биохимии и питания животных, филиал ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр животноводства – ВИЖ имени академика Л. К. Эрнста» (п. Институт, Боровск, 290013, Калужская обл., Россия). E-mail: naka7@yandex.ru

Белова Надежда Викторовна – младший научный сотрудник лаборатории микробиологии и иммунобиотехнологии, Всероссийский научно-исследовательский институт физиологии, биохимии и питания животных, филиал ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр животноводства – ВИЖ имени академика Л. К. Эрнста» (п. Институт, Боровск, 290013, Калужская обл., Россия). E-mail: navikbel@mail.ru

Ильина Лариса Александровна – кандидат биологических наук, начальник молекулярно-генетической лаборатории ООО «БИОТРОФ» (Загребский б-р, 19, корп. 1, 192284, г. Санкт-Петербург, Россия). E-mail: ilina@biotrof.ru

Йылдырым Елена Александровна – доктор биологических наук, главный биотехнолог, ООО «БИОТРОФ» (Загребский б-р, 19, корп. 1, 192284, г. Санкт-Петербург, Россия). E-mail: i deniz@biotrof.ru

Лаптев Георгий Юрьевич – доктор биологических наук, директор ООО «БИОТРОФ» (Загребский б-р, 19, корп. 1, 192284, г. Санкт-Петербург, Россия).

Information about the authors

Elena M. Koloskova - Ph.D. (Biological). All-Russian research Institute of Physiology, Biochemistry and Nutrition of animals - branch of the Federal Science Center for Animal Husbandry named after Academy Member L. K. Ernst (township Institute, Borovsk 290013, Kaluga Region, Russia). E-mail: heleko3@yandex.ru

Vadim A. Ezerskij - Research assistant scientist, All-Russian research Institute of Physiology, Biochemistry and Nutrition of animals - branch of the Federal Science Center for Animal Husbandry named after Academy Member L. K. Ernst (township Institute, Borovsk 290013, Kaluga Region, Russia). E-mail: ez.vadim@yandex.ru

Konstantin S. Ostrenko - D. Sc. (Biological), All-Russian research Institute of Physiology, Biochemistry and Nutrition of animals - branch of the Federal Science Center for Animal Husbandry named after Academy Member L. K. Ernst (township Institute, Borovsk 290013, Kaluga Region, Russia). E-mail: ostrenkoks@gmail.com

Anastasiya N. Ovcharova - Ph.D. (Biological). All-Russian research Institute of Physiology, Biochemistry and Nutrition of animals - branch of the Federal Science Center for Animal Husbandry named after Academy Member L. K. Ernst (township Institute, Borovsk 290013, Kaluga Region, Russia). E-mail: naka7@yandex.ru

Nadezhda V. Belova - Research assistant scientist, All-Russian research Institute of Physiology, Biochemistry and Nutrition of animals - branch of the Federal Science Center for Animal Husbandry named after Academy Member L. K. Ernst (township Institute, Borovsk 290013, Kaluga Region, Russia). E-mail: navikbel@mail.ru

Larisa A. Il'ina - Ph.D. (Biological). Head of the molecular genetic laboratory of "BIOTROF" Ltd (19, korp. 1, Zagrebskiibulv., St. Petersburg, 192284, Russia). E-mail: ilina@biotrof.ru

Elena A. Jyldyrym - D. Sc. (Biological), "BIOTROF" Ltd (19, korp. 1, Zagrebskiibulv., St. Petersburg, 192284, Russia). deniz@biotrof.ru

Georgij Yu. Laptev - D. Sc. (Biological), director of "BIOTROF" Ltd (19, korp. 1, Zagrebskiibulv., St. Petersburg, 192284, Russia).