

Изучение влияния различных добавок на ферментативные процессы в рубце и таксономический состав микробиома

Е. В. Шейда^{1, 2}✉

¹Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий Российской академии наук, Оренбург, Россия

²Оренбургский государственный университет, Оренбург, Россия

✉E-mail: elena-shejda@mail.ru

Аннотация. Цель. Исследование направлено на изучение таксономического состава микробиоты рубца и процессов ферментации *in vitro* в ответ на добавление растительного жира отдельно и комплексе с ультрадисперсными частицами Cr₂O₃ в рацион жвачных животных. **Методология и методы.** Контрольный рацион без добавления масла был представлен отрубями пшеничными, а опытные дополнялись только подсолнечным маслом (3 %) или подсолнечным маслом (3 %) с дополнительным введением УДЧ Cr₂O₃ в дозировке 0,2 мг/кг СВ. Были определены переваримость СВ в рубце, конечные продукты ферментации (летучие жирные кислоты, обмен азота) и таксономический состав микробиома рубца. Исследования проводили методом *in vitro* с помощью установки-инкубатора ANKOM DaisyII по специализированной методике, уровень летучих жирных кислот (ЛЖК) в содержимом рубца определяли методом газовой хроматографии на хроматографе газовом «Кристаллюкс-4000М», определение форм азота – по ГОСТ 26180-84. Микробное биоразнообразие содержимого рубца проводили с помощью MiSeq (Illumina, США) методом секвенирования нового поколения (NGS) с набором реагентов MiSeq® Reagent Kit v3 (600 cycle). **Результаты и практическая значимость.** Применение добавок не изменяло микробное разнообразие, однако на уровне семейств выявлено повышение в группе, получавшей подсолнечное масло: Lachnospiraceae – на 9,5 %, Lentimicrobiaceae – на 0,6 % относительно контроля. Напротив, в группе с применением комплекса подсолнечное масло с УДЧ оксида хрома отмечено снижение Lachnospiraceae на 1,12 %, Succinivibrionaceae на 2,4 %. Использование в рационах молодняка крупного рогатого скота добавок растительного жира и комбинированное добавление подсолнечного масла с УДЧ Cr₂O₃ оказывают позитивное влияние на интенсивность течения обменных процессов в рубце и могут быть использованы для повышения продуктивности жвачных животных. **Научная новизна.** Впервые описаны особенности течения ферментативных процессов в рубце на фоне комбинированного использования жиров и УДЧ Cr₂O₃.

Ключевые слова: подсолнечное масло, ультрадисперсные частицы, хром, переваримость, летучие жирные кислоты, обмен азота, микробиом, рубец, жвачные.

Для цитирования: Шейда Е. В. Изучение влияния различных добавок на ферментативные процессы в рубце и таксономический состав микробиома // Аграрный вестник Урала. 2022. № 03 (218). С. 72–82. DOI: 10.32417/1997-4868-2022-218-03-72-82.

Дата поступления статьи: 20.01.2022, **дата рецензирования:** 31.01.2022, **дата принятия:** 08.02.2022.

Постановка проблемы (Introduction)

Для увеличения энергетической плотности рациона в корм жвачных животных дополнительно вводят жиры. Пищевые добавки с растительными маслами также могут быть использованы для коррекции микробного сообщества и процессов ферментации в рубце [7, с. 331]. Конкретные группы микроорганизмов и их взаимодействия играют ключевую роль в нескольких аспектах животноводства, включая воздействие на окружающую среду [19, с. 1–5], качество мясной и молочной продукции

[1, с. 12; 12, с. 16–20; 15, с. 8], эффективность использования кормов [3, с. 3–4], поэтому использование добавок растительных масел как отдельно, так и в комплексе с другими компонентами в кормлении молодняка крупного рогатого скота на откорме представляет большой интерес.

Изучение таксономического состава микробиома рубца при включении растительных жиров показало наличие бактериальных сообществ, принимающих участие в биогидрировании летучих жирных кислот (ЛЖК) в рубце [12, с. 621; 20, с. 11]. Другие

исследования показали, что некоторые бактериальные группы могут быть вовлечены в процессы био-гидрирования, хотя интенсивность этого процесса зависит от источника липидов, поскольку токсичная природа двойной связи может различаться у разных жирных кислот [7, с. 332].

Включение пищевых добавок в рацион жвачных с целью улучшения качества продукта не должно отрицательно влиять на ключевые виды микробиома рубца, участвующие в расщеплении пищевых волокон. Известны виды, расщепляющие клетчатку (например, *Ruminococcus*), и другие доминирующие, универсальные в питании группы (например, *Prevotella*), а также следует учитывать факт, что пищевая добавка может повлиять на соотношение представителей микробного сообщества рубца [9, с. 189–196; 14, с. 14]. Баланс видов бактерий также отвечает за поддержание здорового рН в желудочно-кишечном тракте.

Существует нехватка данных о влиянии пищевых добавок с маслом на другие виды микроорганизмов, особенно те, которые играют большую роль в процессах метаболизма рубца. Часто в исследованиях, оценивающих влияние различных добавок на пищеварение в рубце, не рассматривается одновременное воздействие на деградацию рациона, процессы ферментации и изменения в ключевых видах микроорганизмов и структуре сообщества в целом.

Цель исследования – изучить дополнительное введение подсолнечного масла отдельно и в сочетании с УДЧ оксида хрома в рацион молодняка крупного рогатого скота; выяснить, как оно влияет на процессы ферментации в рубце и таксономический состав микробиома.

Методология и методы исследования (Methods)

Объектом исследования является рубцовое содержимое, полученное от бычков казахской белой породы с хронической фистулой рубца средней массой 240–255 кг в возрасте 10–11 месяцев.

Обслуживание животных и экспериментальные исследования были выполнены в соответствии с инструкциями и рекомендациями нормативных актов (Приказ Минздрава СССР № 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, чтобы свести к минимуму страдания животных и уменьшить количество исследованных опытных образцов.

Схема эксперимента

Исследования производили методом *in vitro* с помощью установки-инкубатора ANKOM DaisyII (модификации D200 и D200I) по специализированной методике. В качестве дисперсионной среды

была выбрана дистиллированная вода. Экспериментальные исследования производили на модели бычков с фистулой рубца ($n = 3$) методом латинского квадрата.

Для исследования были приготовлены I контрольный (в качестве субстрата – пшеничные отруби) и опытные образцы: II – пшеничные отруби с добавлением подсолнечного масла в количестве 3 % от СВ рациона, III – тот же рацион что и во II, но с дополнительным введением УДЧ Cr_2O_3 в дозировке 0,2 мг/кг СВ.

В исследованиях использовали нерафинированное подсолнечное масло первичного холодного отжима, высшего сорта, ТУ 10.41.59-001-95662146-2017 (соответствует требованиям ТР ТС 024/2011. Технический регламент на масложировую продукцию). Изготовитель: ООО «Хлебодар», Россия, 461705, Оренбургская область, Асекеевский район, ст. Заглядино, ул. Элеваторная, 2. Исследуемое масло добавляли в количестве 3 % от сухого вещества (СВ) рациона путем замешивания в корм (в качестве субстрата использовали пшеничные отруби).

УДЧ частицы хрома Cr_2O_3 ($d = 91$ нм, удельная поверхность – 9 м²/г, Z-потенциал – $93 \pm 0,53$ мВ), содержали 99,8 % Cr, получены методом плазмохимического синтеза (ООО «Платина», г. Москва). Перед включением в рацион наночастицы диспергировали в физиологическом растворе с помощью ультразвукового диспергатора УЗДН-2 («НПП Академприбор», Россия) (35 кГц, 300 Вт, 10 мкА, 30 мин.).

Лабораторные исследования проводили в Испытательном центре ЦКП ФНЦ БСТ РАН: уровень летучих жирных кислот (ЛЖК) в содержимом рубца определяли методом газовой хроматографии на хроматографе газовом «Кристаллюкс-4000М», определение форм азота – по ГОСТ 26180-84.

Метагеномный анализ содержимого рубца

Микробное биоразнообразие содержимого рубца проводили с помощью MiSeq (Illumina, США) методом секвенирования нового поколения (NGS) с набором реагентов MiSeq® Reagent Kit v3 (600 cycle) в Центре коллективного пользования научным оборудованием «Персистенция микроорганизмов» (Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН, Оренбург). При выделении ДНК отобранную пробу содержимого инкубировали при +37 °С 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 SDS до конечной концентрации 1,0 % и инкубировали в течение 30 мин. при +60 °С. ДНК очищали смесью фенола и хлороформа (1:1), осаждали добавлением ацетата натрия (3 M, до 10 % по объему) и трех объемов абсолютного этанола при +20 °С в течение 4 ч.

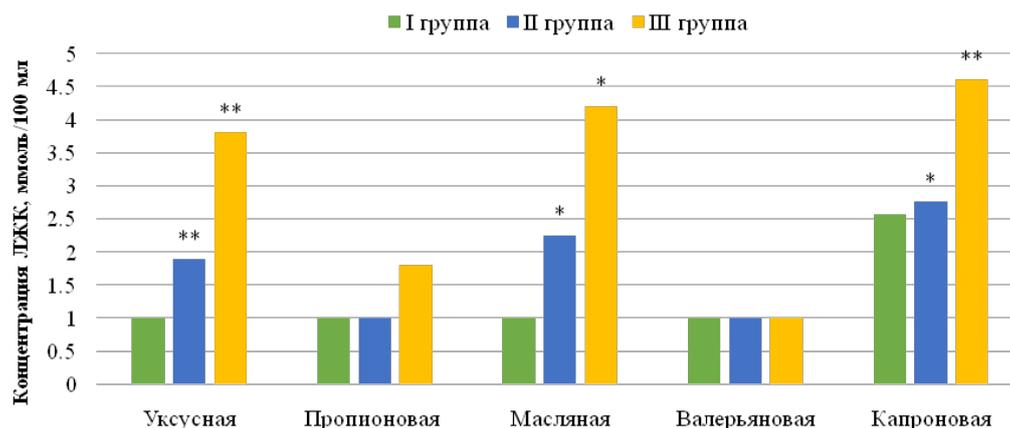


Рис. 1. Концентрация летучих жирных кислот в рубцовой жидкости при дополнительном включении жиров и УДЧ оксида хрома, ммоль/100 мл. * $P \leq 0,05$; ** $P \leq 0,01$

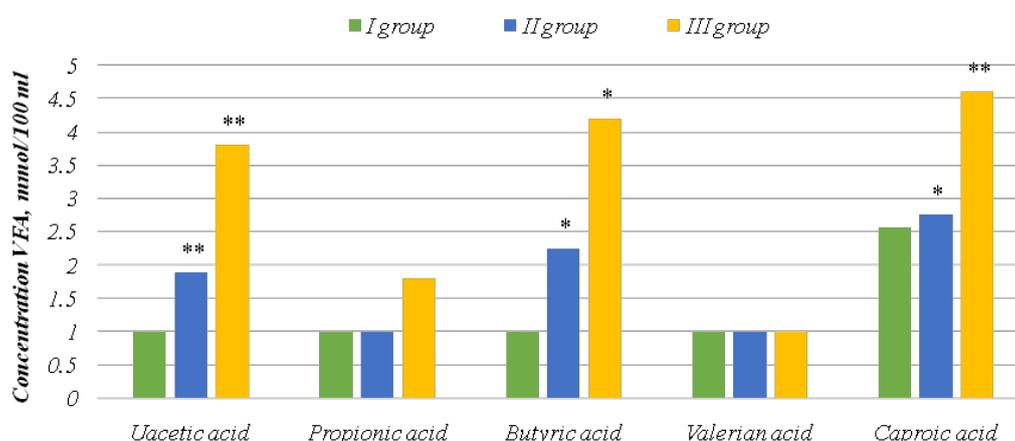


Fig. 1. Concentration of volatile fatty acids in the scar fluid with additional inclusion of fats and chromium oxide, mmol/100 ml. * $P \leq 0,05$; ** $P \leq 0,01$

После экстракции смесью фенол-хлороформ-изоамилового спирта (25:24:1) и хлороформ-изоамилового спирта (24:1) ДНК в водной фазе осаждали 1 М ацетатом аммония (до 10 % по объему) и трехкратным объемом безводного этанола в течение 12 ч при +20 °С. Осадок ДНК отделяли центрифугированием (12 000 об/мин, 10 мин.), дважды промывали 80-процентным этанолом, сушили и растворяли в ТЕ-буфере (1 М Tris-HCl, pH 8,0 – 1 мл, 0,5 М EDTA, pH 8,0 – 200 мкл, H₂O – до 100 мл; «Евроген», Россия). Чистоту экстракции оценивали по отрицательному контролю выделения (100 мкл автоклавированной деионизированной воды). Чистоту полученных препаратов ДНК проверяли электрофорезом в 1,5-процентном агарозном геле с фотометрией (NanoDrop 8000, Fisher Scientific, Inc., США). Концентрацию ДНК измеряли флуориметрическим методом (прибор Qubit 2.0 с высокой чувствительностью определения dsDNA, 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 (Illumina, Inc., США) с набором реактивов MiSeq Reagent Kit V3 PE600 (Illumina, Inc., США). Классификацию полученных операционных таксономических единиц (ОТЕ) проводили с использованием интерактивного инструмента *Visualization and Analysis of Microbial Population Structures* и базы данных RDP¹. Некоторые ОТЕ выравнивали с помощью алгоритма *Basic local alignment search tool*², используя базы данных нуклеотидных последовательностей nr/nt (National Center for Biotechnological Information, NCBI³ и выровненных последовательностей генов рибосомальной РНК SILVA⁴.

Для биоинформатической обработки результатов используется программа PEAR (Pair-End Assembler, PEAR v0.9.8)⁵.

¹ <https://vamps2.mbl.edu>.

² [https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast](https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?PROGRAM=blastn&PAGE_TYPE=BlastSearch&LINK_LOC=blasthome).

³ <https://www.ncbi.nlm.nih.gov>.

⁴ <https://www.arb-silva.de>.

⁵ Zhang J., Kobert K., Flouri T., Stamatakis A. PEAR: A fast and accurate Illumina Paired-End reAd merger // *Bioinformatics*. 2014. No. 30 (5). Pp. 614–620. DOI: 10.1093/bioinformatics/btt593.

Результаты секвенирования обрабатывали с использованием пакета анализа данных Microsoft Excel 10, программного обеспечения Microsoft Office (США).

Статистическая обработка

Численные данные были обработаны с помощью программы SPSS Statistics 20 (IBM, США), рассчитывали средние (M), среднеквадратичные отклонения ($\pm\sigma$), ошибки стандартного отклонения ($\pm SE$).

Таблица 1
Содержание азотистых фракций в рубцовой жидкости при дополнительном включении жиров и УДЧ Cr_2O_3 , мг%

Группа	Показатель				
	Общий азот	Белковый азот	Небелковый азот	Аммиачный азот	Мочевинный азот
I	91,2 ± 0,41	70,76 ± 0,34	21,2 ± 0,40	4,1 ± 0,22	5,1 ± 0,16
II	70,4 ± 0,44*	64,2 ± 0,38*	22,4 ± 0,38	3,8 ± 0,32	6,2 ± 0,21
III	94,1 ± 0,32*	74,6 ± 0,51*	20,8 ± 0,24*	4,6 ± 0,41	5,0 ± 0,14

Примечание. * $P \leq 0,05$.

Table 1
The content of nitrogenous fractions in the scar fluid with the additional inclusion of fats and ultradisperse Cr_2O_3 , mg%

Groups	Indicator				
	Total nitrogen	Protein nitrogen	Non-protein nitrogen	Ammonia nitrogen	Urea nitrogen
I	91.2 ± 0.41	70.76 ± 0.34	21.2 ± 0.40	4.1 ± 0.22	5.1 ± 0.16
II	70.4 ± 0.44*	64.2 ± 0.38*	22.4 ± 0.38	3.8 ± 0.32	6.2 ± 0.21
III	94.1 ± 0.32*	74.6 ± 0.51*	20.8 ± 0.24*	4.6 ± 0.41	5.0 ± 0.14

Note.* $P \leq 0.05$.

Таблица 2
Таксономический состав (преобладающие таксоны) микробиома рубцовой жидкости in vitro, контроль, %

Филум	Класс	Семейство	Род
Firmicutes (17,28 ± 0,94)	Clostridia (9,15 ± 0,35)	Ruminococcaceae (4,87 ± 0,06)	Unclassified Ruminococcaceae (2,73 ± 0,08)
		Lachnospiraceae (2,57 ± 0,31)	Unclassified Lachnospiraceae (1,28 ± 0,24)
	Bacilli (1,93 ± 0,35)	Streptococcaceae (1,57 ± 0,23)	Streptococcus (1,57 ± 0,23)
		Lactobacillaceae (0,35 ± 0,05)	Limosilactobacillus (0,29 ± 0,04)
Negativicutes (5,46 ± 0,40)	Selenomonadaceae (3,86 ± 0,10)	Selenomonadales (2,62 ± 0,08)	
Bacteroidetes (50,42 ± 1,32)	Bacteroidia (46,97 ± 1,23)	Prevotellaceae (12,37 ± 0,56)	Prevotella (10,05 ± 0,53)
		Lentimicrobiaceae (2,59 ± 0,06)	Lentimicrobium (2,59 ± 0,06)
		Unclassified Bacteroidales (28,75 ± 0,81)	Unclassified (2,25 ± 0,05)
		Rikenellaceae (2,07 ± 0,12)	Millionella (0,98 ± 0,06)
	Mucinivorans (1,11 ± 0,05)		
Unclassified (0,28 ± 0,01)			
Unclassified Bacteroidetes (3,43 ± 0,12)	Unclassified Bacteroidetes (3,43 ± 0,12)	Unclassified Bacteroidetes (3,43 ± 0,12)	
Proteobacteria (10,18 ± 0,32)	Alphaproteobacteria (1,18 ± 0,04)	Unclassified Alphaproteobacteria (0,97 ± 0,02)	Unclassified Alphaproteobacteria (0,97 ± 0,02)
	Deltaproteobacteria (1,52 ± 0,02)	Bdellovibrionaceae (1,17 ± 0,01)	Vampirovibrio (1,17 ± 0,01)
	Gammaproteobacteria (7,37 ± 0,29)	Succnivibrionaceae (7,28 ± 0,29)	Succinivibrio (6,89 ± 0,25)
Spirochaetes (4,31 ± 0,10)	Spirochaetia (4,31 ± 0,10)	Sphaerochaetaceae (4,24 ± 0,09)	Sphaerochaeta (2,98 ± 0,04)
Verrucomicrobia (13,13 ± 0,24)	Subdivision5 (13,01 ± 0,24)	Subdivision5 (13,01 ± 0,24)	Subdivision5 (13,01 ± 0,24)
Другие* (4,68 ± 0,04)			

Примечание. * В эту группу объединены таксоны, численность каждого из которых не превышает 2 % от общего числа.

Table 2

Taxonomic composition (predominant taxa) of the microbiome of scar fluid in vitro, control, %

Phylum	Class	Family	Genus
<i>Firmicutes</i> (17.28 ± 0.94)	<i>Clostridia</i> (9.15 ± 0.35)	<i>Ruminococcaceae</i> (4.87 ± 0.06)	<i>Unclassified Ruminococcaceae</i> (2.73 ± 0.08)
		<i>Lachnospiraceae</i> (2.57 ± 0.31)	<i>Unclassified Lachnospiraceae</i> (1.28 ± 0.24)
	<i>Bacilli</i> (1.93 ± 0.35)	<i>Streptococcaceae</i> (1.57 ± 0.23)	<i>Streptococcus</i> (1.57 ± 0.23)
		<i>Lactobacillaceae</i> (0.35 ± 0.05)	<i>Limosilactobacillus</i> (0.29 ± 0.04)
	<i>Negativicutes</i> (5.46 ± 0.40)	<i>Selenomonadaceae</i> (3.86 ± 0.10)	<i>Selenomonadales</i> (2.62 ± 0.08)
	<i>Bacteroidetes</i> (50.42 ± 1.32)	<i>Bacteroidia</i> (46.97 ± 1.23)	<i>Prevotellaceae</i> (12.37 ± 0.56)
<i>Lentimicrobiaceae</i> (2.59 ± 0.06%)			<i>Lentimicrobium</i> (2.59 ± 0.06)
<i>Unclassified Bacteroidales"</i> (28.75 ± 0.81)			<i>Unclassified</i> (2.25 ± 0.05)
<i>Rikenellaceae</i> (2.07 ± 0.12%)			<i>Millionella</i> (0.98 ± 0.06)
		<i>Mucinivorans</i> (1.11 ± 0.05)	
		<i>Unclassified</i> (0.28 ± 0.01)	
<i>Unclassified Bacteroidetes</i> (3.43 ± 0.12)		<i>Unclassified Bacteroidetes</i> (3.43 ± 0.12)	<i>Unclassified Bacteroidetes</i> (3.43 ± 0.12)
<i>Proteobacteria</i> (10.18 ± 0.32)	<i>Alphaproteobacteria</i> (1.18 ± 0.04)	<i>Unclassified Alphaproteobacteria</i> (0.97 ± 0.02)	<i>Unclassified Alphaproteobacteria</i> (0.97 ± 0.02)
	<i>Deltaproteobacteria</i> (1.52 ± 0.02)	<i>Bdellovibrionaceae</i> (1.17 ± 0.01)	<i>Vampirovibrio</i> (1.17 ± 0.01)
	<i>Gammaproteobacteria</i> (7.37 ± 0.29)	<i>Succnivibrionaceae</i> (7.28 ± 0.29)	<i>Succinivibrio</i> (6.89 ± 0.25)
<i>Spirochaetes</i> (4.31 ± 0.10)	<i>Spirochaetia</i> (4.31 ± 0.10)	<i>Sphaerochaetaceae</i> (4.24 ± 0.09)	<i>Sphaerochaeta</i> (2.98 ± 0.04)
<i>Verrucomicrobia</i> (13.13 ± 0.24)	<i>Subdivision5</i> (13.01 ± 0.24)	<i>Subdivision5</i> (13.01 ± 0.24)	<i>Subdivision5</i> (13.01 ± 0.24)
<i>Other*</i> (4.68 ± 0.04)			

Note. * This group includes taxa, the number of each of which does not exceed 2% of the total number.

Для сравнения вариантов использовали непараметрический метод анализа. Различия считали статистически значимыми при $p \leq 0,05$, $p \leq 0,01$, $p \leq 0,001$.

Результаты исследований (Results)

Для выяснения сложного вопроса о роли жировых добавок в использовании питательных веществ рациона важно изучить действие данных компонентов на обменные процессы в рубце. Дополнительное включение жиров и комбинации жиров с Cr_2O_3 в ультрадисперсной форме, показало достоверное повышение переваримости сухого вещества (СВ) рациона в опытных группах относительно контрольной (переваримость СВ в контрольной группе составила 64,0 %). Так, во II группе данный показатель увеличился на 4 % ($p \leq 0,05$), в III на 4,8 % ($p \leq 0,05$).

Включение добавок оказывает специфическое влияние на образование основных метаболитов рубцового пищеварения (рис. 1).

При использовании в рационе подсолнечного масла индивидуально и в комплексе с УДЧ оксида хрома не зафиксировано резких отклонений концентрации водородных ионов рубцовой жидкости (РЖ), разница между I и II группами составила 1,6 %, между I и III – 3,1 %, все полученные зна-

чения были в пределах физиологической нормы и оказались в пределах 6,2–6,4.

В опытных группах относительно контроля отмечено повышение уровня ЛЖК в сторону ацетата и бутирата. Во II группе концентрация уксусной кислоты увеличивалась на 46,8 % ($p \leq 0,01$), масляной – на 55,6 % ($p \leq 0,05$), капроновой – на 6,9 % ($p \leq 0,05$), в III группе уксусной кислоты – на 73,7 % ($p \leq 0,01$), масляной – на 76,2 % ($p \leq 0,05$), капроновой – на 44,3 % ($p \leq 0,01$). Дополнительное использование хрома и жира в рационе увеличивало уровень пропионата в РЖ на 44,4 % относительно контрольного значения.

Дополнительное введение в рацион жира и хрома с Cr_2O_3 оказывает значительное влияние на количественный состав азотсодержащих веществ в рубцовом содержимом (таблица 1). Относительно контроля во II группе отмечено снижение количества общего азота на 22,8 % ($p \leq 0,05$), белкового азота – на 9,3 % ($p \leq 0,05$), при этом количество небелкового и мочевинового азота оказалось выше на 5,4 % и 17,7 % соответственно. Совместное использование подсолнечного масла и УДЧ Cr_2O_3 повышало количество в РЖ общего азота на 3,1 % ($p \leq 0,05$), белкового азота – на 5,1 % ($p \leq 0,05$). Уровень небелкового и мочевинового азота в III группе относительно контроля оказался ниже на 2,0 % ($p \leq 0,05$).

Таксономический состав микробиома рубцовой жидкости *in vitro*, подсолнечное масло, %

Филум	Класс	Семейство	Род	
Firmicutes (14,91 ± 0,62)	Clostridia (8,77 ± 0,33)	Ruminococcaceae (4,89 ± 0,11)	Unclassified Ruminococcaceae (2,56 ± 0,07)	
		Lachnospiraceae (12,09 ± 0,21)	Unclassified Lachnospiraceae (1,01 ± 0,08)	
	Bacilli (1,38 ± 0,26)	Streptococcaceae (0,90 ± 0,18)	Streptococcus (13,7)	
		Lactobacillales (0,48 ± 0,11)	Limosilactobacillus (0,41 ± 0,11)	
	Negativicutes (4,09 ± 0,13%)	Bacteroidia (51,17 ± 1,31%)	Selenomonadaceae (3,38 ± 0,1)	Selenomonadales (3,38 ± 0,1)
			Prevotellaceae (13,12 ± 0,88)	Prevotella (10,74)
Bacteroidetes (54,71 ± 1,29%)	Bacteroidia (51,17 ± 1,31%)	Lentimicrobiaceae (3,22 ± 0,11%)	Lentimicrobium (3,22 ± 0,11%)	
		Unclassified Bacteroidales (32,07 ± 0,62)	Unclassified (32,07 ± 0,62)	
		Rikenellaceae (2,12 ± 0,04%)	Millionella (0,94 ± 0,03)	
			Mucinivorans (0,86 ± 0,02)	
			Unclassified (0,32 ± 0,02)	
		Proteobacteria (8,71 ± 0,31)	Deltaproteobacteria (1,25 ± 0,08)	Bdellovibrionaceae (1,18 ± 0,08)
Gammaproteobacteria (6,33 ± 0,27)	Succinivibrionaceae (6,29 ± 0,27)		Succinivibrio (5,94 ± 0,30)	
Spirochaetes (4,23 ± 0,26)	Spirochaetia (4,23 ± 0,26)	Sphaerochaetaceae (4,2 ± 0,26)	Sphaerochaeta (3,01 ± 0,14)	
			Unclassified (1,18 ± 0,12)	
Verrucomicrobia (12,89 ± 0,43)	Subdivision5 (12,78 ± 0,43)	Subdivision5 (12,78 ± 0,43)	Subdivision5 (12,78 ± 0,43)	
Другие* (4,56 ± 0,021 %)				

Примечание. * В эту группу объединены таксоны, численность каждого из которых не превышает 2% от общего числа.

Table 3

Taxonomic composition of the microbiome of scar fluid *in vitro*, sunflower oil, %

Phylum	Class	Family	Genus	
Firmicutes (14.91 ± 0.62)	Clostridia (8.77 ± 0.33)	Ruminococcaceae (4.89 ± 0.11)	Unclassified Ruminococcaceae (2.56 ± 0.07)	
		Lachnospiraceae (12.09 ± 0.21)	Unclassified Lachnospiraceae (1.01 ± 0.08)	
	Bacilli (1.38 ± 0.26)	Streptococcaceae (0.90 ± 0.18)	Streptococcus (13.7)	
		Lactobacillales (0.48 ± 0.11)	Limosilactobacillus (0.41 ± 0.11)	
	Negativicutes (4.09 ± 0.13%)	Bacteroidia (51.17 ± 1.31%)	Selenomonadaceae (3.38 ± 0.1)	Selenomonadales (3.38 ± 0.1)
			Prevotellaceae (13.12 ± 0.88)	Prevotella (10.74)
Bacteroidetes (54.71 ± 1.29%)	Bacteroidia (51.17 ± 1.31%)	Lentimicrobiaceae (3.22 ± 0.11%)	Lentimicrobium (3.22 ± 0.11%)	
		Unclassified Bacteroidales (32.07 ± 0.62)	Unclassified (32.07 ± 0.62)	
		Rikenellaceae (2.12 ± 0.04%)	Millionella (0.94 ± 0.03)	
			Mucinivorans (0.86 ± 0.02)	
			Unclassified (0.32 ± 0.02)	
		Proteobacteria (8.71 ± 0.31)	Deltaproteobacteria (1.25 ± 0.08)	Bdellovibrionaceae (1.18 ± 0.08)
Gammaproteobacteria (6.33 ± 0.27)	Succinivibrionaceae (6.29 ± 0.27)		Succinivibrio (5.94 ± 0.30)	
Spirochaetes (4.23 ± 0.26)	Spirochaetia (4.23 ± 0.26)	Sphaerochaetaceae (4.2 ± 0.26)	Sphaerochaeta (3.01 ± 0.14)	
			Unclassified (1.18 ± 0.12)	
Verrucomicrobia (12.89 ± 0.43)	Subdivision5 (12.78 ± 0.43)	Subdivision5 (12.78 ± 0.43)	Subdivision5 (12.78 ± 0.43)	
Other* (4.56 ± 0.021)				

Note. * This group includes taxa, the number of each of which does not exceed 2% of the total number.

Хорошо известно, что функции желудочно-кишечного тракта выходят за рамки переваривания и усвоения питательных веществ. Постоянный контакт биомассы микроорганизмов желудочно-кишечного тракта с компонентами рациона делает его основным звеном в иммунной системе. Наши исследования были сосредоточены на изучении таксономического состава микробиома рубца при изменении рациона, из-за решающей роли рубца в пищеварении крупного рогатого скота (таблицы 2, 3, 4).

Как в контрольной, так и в опытных группах доминирующим филумом оказались *Bacteroidetes*, они составляли более 50 %, причем следует отметить, что в опытных группах относительно контроля численность представителей данного филума была выше: в группе с использованием подсолнечного масла – на 4,3 %, с добавлением к данному рациону УДЧ оксида хрома – на 12 %.

Второй по численности филумом – *Firmicutes*, однако в опытных группах его количество была ниже на 15,2 % относительно контроля.

Дополнительное включение подсолнечного масла отдельно и совместно с УДЧ Cr₂O₃ привело к снижению численности представителей филумов

Proteobacteria и *Verrucomicrobia*: во II группе на 1,5 % и 0,24 %, в III группе на 3,3 % и 4,2 %, соответственно.

Использование добавок не изменяло микробное разнообразие, однако на уровне семейств выявлено повышение во II группе *Lachnospiraceae* на 9,5 %, *Lentimicrobiaceae* – на 0,6 % относительно контроля. Напротив, в III группе отмечено снижение *Lachnospiraceae* на 1,12 %, *Succnivibrionaceae* – на 2,4 % (таблицы 3, 4). Численность представителей семейства *Ruminococcaceae* в контрольной и опытных группах имела разницу менее 0,1 %.

При совместном использовании растительного жира и оксида хрома зафиксировано повышение численности семейства *Prevotellaceae* на 9,1 % (таблица 4). Обилие семейств *Selenomonadaceae*, *Lentimicrobiaceae*, *Unclassified Bacteroidales* также в опытной группе относительно контроля повышалось, но в незначительной степени.

Дополнительно включение хрома в жировой рацион уменьшало количество представителей семейств *Ruminococcaceae*, *Lachnospiraceae*, *Streptococcaceae*, *Lactobacillales*, *Rikenellaceae*, *Succnivibrionaceae*, *Sphaerochaetaceae* и *Subdivision5* на 0,06 %, 1,1 %, 0,9 %, 0,2 %, 0,3 %, 2,4 %, 1,1 % и 4,2 % соответственно относительно контроля.

Таблица 4
Таксономический состав микробиома рубцовой жидкости *in vitro*, подсолнечное масло с дополнительным включением УДЧ Cr₂O₃, %

Филум	Класс	Семейство	Род
Firmicutes (14,4 ± 0,96)	Clostridia (7,94 ± 0,48)	Ruminococcaceae (4,81 ± 0,23)	Unclassified Ruminococcaceae (2,69 ± 0,17)
		Lachnospiraceae (1,45 ± 0,15)	Unclassified Lachnospiraceae (0,77 ± 0,05)
	Bacilli (0,87 ± 0,17)	Streptococcaceae (0,72 ± 0,17)	Streptococcus (0,72 ± 0,17%)
		Lactobacillales (0,15 ± 0,01)	Limosilactobacillus (0,12 ± 0,02)
Negativicutes (5,04 ± 0,47%)	Selenomonadaceae (3,97 ± 0,34)	Selenomonas (3,22 ± 0,27)	
Bacteroidetes (62,39 ± 1,61)	Bacteroidia (59,0 ± 1,60)	Prevotellaceae (21,43 ± 2,49)	Prevotella (11,07 ± 1,01)
			Unclassified Prevotellaceae (2,39 ± 0,10)
		Lentimicrobiaceae (2,98 ± 0,29%)	Lentimicrobium (2,98 ± 0,29)
		Unclassified Bacteroidales (32,23 ± 1,21)	Unclassified (32,23 ± 1,21)
		Rikenellaceae (1,75 ± 0,11 %)	Millionella (0,81 ± 0,04)
			Mucinivorans (0,64 ± 0,08)
		Unclassified (0,30 ± 0,01)	
	Unclassified Bacteroidetes (3,36 ± 0,46)	Unclassified Bacteroidetes (3,36 ± 0,46)	Unclassified Bacteroidetes (3,36 ± 0,46)
Proteobacteria (6,89 ± 0,61)	Deltaproteobacteria (1,03 ± 0,09)	Bdellovibrionaceae (0,98 ± 0,10)	Vampirovibrio (0,98 ± 0,10)
	Gammaproteobacteria (4,94 ± 0,46)	Succnivibrionaceae (4,90 ± 0,44)	Succinivibrio (4,34 ± 0,41)
Spirochaetes (3,14 ± 0,08)	Spirochaetia (3,14 ± 0,08)	Sphaerochaetaceae (3,12 ± 0,08)	Sphaerochaeta (2,52 ± 0,05)
Verrucomicrobia (8,91 ± 1,20)	Subdivision5 (8,83 ± 1,20)	Subdivision5 (8,83 ± 1,20)	Subdivision5 (8,83 ± 1,20)
Другие* (4,27 ± 0,004)			

Примечание: * В эту группу объединены таксоны, численность каждого из которых не превышает 2 % от общего числа.

Taxonomic composition of the microbiome of the scar fluid *in vitro*, sunflower oil with additional inclusion of UDP Cr₂O₃, %

Phylum	Class	Family	Genus
Firmicutes (14.4 ± 0.96)	Clostridia (7.94 ± 0.48)	Ruminococcaceae (4.81 ± 0.23)	Unclassified Ruminococcaceae (2.69 ± 0.17)
		Lachnospiraceae (1.45 ± 0.15)	Unclassified Lachnospiraceae (0.77 ± 0.05)
	Bacilli (0.87 ± 0.17)	Streptococcaceae (0.72 ± 0.17)	Streptococcus (0.72 ± 0.17%)
		Lactobacillales (0.15 ± 0.01)	Limosilactobacillus (0.12 ± 0.02)
	Negativicutes (5.04 ± 0.47%)	Selenomonadaceae (3.97 ± 0.34)	Selenomonas (3.22 ± 0.27)
Bacteroidetes (62.39 ± 1.61)	Bacteroidia (59.0 ± 1.60)	Prevotellaceae (21.43 ± 2.49)	Prevotella (11.07 ± 1.01)
			Unclassified Prevotellaceae (2.39 ± 0.10)
		Lentimicrobiaceae (2.98 ± 0.29%)	Lentimicrobium (2.98 ± 0.29)
		Unclassified Bacteroidales (32.23 ± 1.21)	Unclassified (32.23 ± 1.21)
	Rikenellaceae (1.75 ± 0.11 %)	Millionella (0.81 ± 0.04)	
		Mucinivorans (0.64 ± 0.08)	
		Unclassified (0.30 ± 0.01)	
Unclassified Bacteroidetes (3.36 ± 0.46)	Unclassified Bacteroidetes (3.36 ± 0.46)	Unclassified Bacteroidetes (3.36 ± 0.46)	
Proteobacteria (6.89 ± 0.61)	Deltaproteobacteria (1.03 ± 0.09)	Bdellovibrionaceae (0.98 ± 0.10)	Vampirovibrio (0.98 ± 0.10)
	Gammaproteobacteria (4.94 ± 0.46)	Succnivibrionaceae (4.90 ± 0.44)	Succinivibrio (4.34 ± 0.41)
Spirochaetes (3.14 ± 0.08)	Spirochaetia (3.14 ± 0.08)	Sphaerochaetaceae (3.12 ± 0.08)	Sphaerochaeta (2.52 ± 0.05)
Verrucomicrobia (8.91 ± 1.20)	Subdivision5 (8.83 ± 1.20)	Subdivision5 (8.83 ± 1.20)	Subdivision5 (8.83 ± 1.20)
Other* (4.27 ± 0.004)			

Note: * This group includes taxa, the number of each of which does not exceed 2% of the total number.

Включение комплекса подсолнечное масла и УДЧ оксида хрома способствовало снижению численности рода *Sphaerochaeta* на 0,5 %, тогда как использование растительного масла, напротив, повысило численность данного рода.

Обсуждение и выводы (Discussion and Conclusion)

Целью данного исследования было охарактеризовать изменения в интенсивности обменных процессов в рубце и составе микробиома после приема пищевых добавок в рацион бычков с подсолнечным маслом и УДЧ Cr₂O₃. Наши данные показывают, что добавление масла подсолнечника в рацион крупного рогатого скота влияет на состав основных метаболитов в рубцовом содержимом и соотношение некоторых бактериальных сообществ [7, с. 336–338].

Использование добавок подсолнечного масла индивидуально и в комплексе с УДЧ оксида хрома повлияло на усвояемость питательных веществ в рубце, повышая переваримость СВ на 2,7 % и 3,2 % соответственно при сравнении с контрольным рационом [2, с. 12].

Баланс азота был немного выше при использовании подсолнечного масла с УДЧ Cr₂O₃ и значительно снижался при включении растительного жира в рацион [6, с. 782–784].

С точки зрения влияния добавок на концентрацию летучих жирных кислот в рубцовой жидкости рацион с использованием подсолнечного масла привел к повышению уровня ЛЖК в сторону ацетата и бутирата. А рацион с добавлением к подсолнечному маслу УДЧ оксида хрома максимально повышал концентрацию всех обнаруженных жирных кислот относительно контроля: уксусной и пропионовой кислот в 2 раза ($p \leq 0,01$), масляной – в 1,9 раза ($p \leq 0,05$), капроновой – в 1,8 раза ($p \leq 0,01$) [16, с. 58; 21, с. 874–876].

Мы провели подробный анализ таксономического состава микробного сообщества в содержимом рубца, отобранном при скармливании различных рационов. Существенных различий в бактериальных сообществах не наблюдалось, за исключением незначительного сдвига в соотношении Bacteroidales/Clostridiales, которое, как известно, широко варьируется у отдельных животных [5, с. 121].

Независимо от состава рациона во всех группах доминирующими по численности оказались *Bacteroidetes*, особенно *Bacteroidia*, а также *Firmicutes*, особенно *Clostridia*. Клостридии, такие как производящие бутират семейства *Lachnospiraceae* и *Ruminococcaceae*, имели большую численность при стандартном рационе и с использованием растительного масла, добавление УДЧ Cr_2O_3 снижало численность *Lachnospiraceae* в 1,8 раза относительно контрольного рациона [10, с. 196; 11, с. 54; 18, с. 54–56].

Когда бычков кормили рационом с включением подсолнечного масла, мы обнаружили, что количество бактерий родов *Ruminococcaceae*, *Bacteroidetes*, *Succinivibrio* и *Lachnospiraceae* в рубце было снижено по сравнению с бычками, которых кормили стандартным рационом без масла. Бактериальные роды *Prevotella*, *Selenomonadales*, *Streptococcus* и *Lentimicrobium* в рубце были единственными родами, концентрация которых была выше в рубце бычков, которых кормили растительным жиром. J. E. Vargas с коллегами [17, с. 24] продемонстрировали, что бактерии, вероятно, биогидрируют из-за токсичной природы двойной связи; поэтому неуди-

вительно, что при скармливании жиров у многих родов бактерий численность снижается.

Добавка подсолнечного масла с оксидом хрома в ультрадисперсной форме увеличивала относительно контрольной диеты численность представителей *Selenomonadales* на 0,6 %. Использование данной добавки также увеличивало обилие семейства *Bacteroidales* на 3,5 % и *Prevotellaceae* на 1 %. С другой стороны, данный состав рациона характеризовался снижением обилия *Ruminococcaceae*, *Lachnospiraceae*, *Streptococcus*, некультурных *Bacteroidetes* [4, с. 1–3; 8, с. 2–6; 13, с. 5–9].

На основании полученных результатов сделан вывод о том, что использование в рационах молодняка крупного рогатого скота добавок растительного жира и комбинированное добавление подсолнечного масла с УДЧ Cr_2O_3 оказывает позитивное влияние на интенсивность течения обменных процессов в рубце и состояние его экосистемы, что позволяет прогнозировать повышение продуктивности жвачных животных.

Благодарности (Acknowledgements)

Исследования выполнены при поддержке гранта РНФ № 20-16-00088.

Библиографический список (References)

1. Bayat A. R., Vilkki J., Razzaghi A., Leskinen H., Kettunen H., Khurana R., Brand T., Ahvenjarvi S Evaluating the effects of high-oil rapeseed cake or natural additives on methane emissions and performance of dairy cows // *Journal of dairy science*. 2022. No. 105 (2). Pp. 1211–1224. DOI: 10.3168/jds.2021-20537.
2. Behan A. A., Akhtar M. T., Loh T. C., Fakurazi S., Kaka U., Muhamad A., Samsudin A. A. Meat quality, fatty acid content and NMR metabolic profile of dorper sheep supplemented with bypass fats [e-resource] // *Foods*. 2021. No. 10 (5). Article number 1133. URL: <https://www.mdpi.com/2304-8158/10/5/1133/xml> (date of reference: 13.01.2022). DOI: 10.3390/foods10051133.
3. Cancino-Padilla N., Catalan N., Siu-Ting K., Creevey C. J., Huws S. A., Romero J., Vargas-Bello-Perez E. Long-Term Effects of Dietary Supplementation with Olive Oil and Hydrogenated Vegetable Oil on the Rumen Microbiome of Dairy Cows [e-resource] // *Microorganisms*. 2021. No. 9 (6). Article number 1121. URL: <https://www.mdpi.com/2076-2607/9/6/1121> (date of reference: 15.01.2022). DOI: 10.3390/microorganisms9061121.
4. Darabighane B., Tapio I., Ventto L., Kairenius P., Stefanski T., Leskinen H., Shingfield K. J., Vilkki J., Bayat A. R. Effects of Starch Level and a Mixture of Sunflower and Fish Oils on Nutrient Intake and Digestibility, Rumen Fermentation, and Ruminal Methane Emissions in Dairy Cows [e-resource] // *Animals*. 2021. No. 11 (5). Article number 1310. URL: <https://www.mdpi.com/2076-2615/11/5/1310> (date of reference: 12.01.2022). DOI: 10.3390/ani11051310.
5. Del Valle T. A., Zilio E. M. C., Ghizzi L. G., Marques J. A., Dias M. S. S., Souza J. M., Silva T. B. P., Scognamiglio N. T., Nunes A. T., Gheller L. S., Silva G. G., Rennó F. P. Effect of calcium salts of fatty acids and level of rumen degradable protein on nitrogen metabolism and performance of dairy cows fed corn silage-based diets [e-resource] // *Livestock Science*. 2021. No. 254. Article number 104770. URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1871141321003784?via%3Dihub> (date of reference: 13.01.2022). DOI: 10.1016/j.livsci.2021.104770.
6. Enjalbert F., Combes S., Zened A., Meynadier A Rumen microbiota and dietary fat: a mutual shaping // *Journal of applied microbiology*. 2017. No. 123 (4). Pp. 782–797. DOI: 10.1111/jam.13501.
7. Huws S. A., Kim E. J., Cameron S. J. S., Girdwood S. E., Davies L., Tweed J., Vallin H., Scollan N. D. Characterization of the rumen lipidome and microbiome of steers fed a diet supplemented with flax and echium oil // *Microbial biotechnology*. 2015. No. 8 (2). Pp. 331–341. DOI: 10.1111/1751-7915.12164.
8. Ibrahim N. A., Alimon A. R., Yaakub H., Samsudin A. A., Candyrine S. C. L., Mohamed W. N. W., Noh A. M., Fuat M. A., Mookiah S. Effects of vegetable oil supplementation on rumen fermentation and microbial population in ruminant: a review [e-resource] // *Tropical animal health and production*. 2021. No. 53 (4). Article number 422. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34331142> (date of reference: 15.01.2022). DOI: 10.1007/s11250-021-02863-4.

9. Lasseur J., Bonaudo T., Choisis J.-P., Houdart M., Napoléone M., Tichit M., Dedieu B. Livestock and territory: which interactions and what questions? [Élevage et territoires: quelles interactions et quelles questions?]. *Inra Productions Animales*. 2019. No. 32 (2). Pp. 189–204. DOI: 10.20870/productions-animales.2019.32.2.2504 (In French)
10. Matamoros C., Klopp R. N., Moraes L. E., Harvatine K. J. Meta-analysis of the relationship between milk trans-10 C18:1, milk fatty acids <16 C, and milk fat production // *Journal of Dairy Science*. 2020. 103 (11). Pp. 10195–10206. DOI: 10.3168/jds.2019-18129.
11. Prom C. M., dos Santos Neto J. M., Newbold J. R., Lock A. L. Abomasal infusion of oleic acid increases fatty acid digestibility and plasma insulin of lactating dairy cows // *Journal of Dairy Science*. 2021. No. 104 (12). Pp. 12616–12627. DOI: 10.3168/jds.2021-20954.
12. Kapoor R., Reaney M. Conjugated Linoleic Acid Oils [e-resource] // In book: *Bailey's Industrial Oil and Fat Products*. 2020. URL: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1002/047167849X.bio048.pub2> (date of reference: 12.01.2022). DOI: 10.1002/047167849X.bio048.pub2.
13. Sato Y., Takebe H., Tominaga K., Oishi K., Kumagai H., Yoshida T., Hirooka H. Taxonomic and functional characterization of the rumen microbiome of Japanese Black cattle revealed by 16S rRNA gene amplicon and metagenome shotgun sequencing [e-resource] // *FEMS Microbiology Ecology*. 2021. No. 97 (12). Article number 152. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34864967> (date of reference: 12.01.2022). DOI: 10.1093/femsec/fiab152.
14. Thanh L. P., Phakachod N., Suksombat W., Loo J. J., Hang T. T. T. Partial substitution of fish oil for linseed oil enhances beneficial fatty acids from rumen biohydrogenation but reduces ruminal fermentation and digestibility in growing goats [e-resource] // *Translational Animal Science*. 2021. No. 5 (3). Article number txab116. URL: <https://www.researchgate.net/publication/353097271> (date of reference: 15.01.2022). DOI: 10.1093/tas/txab116.
15. Vargas J. E., Andrés S., López-Ferreras L., López S. Effects of supplemental plant oils on rumen bacterial community profile and digesta fatty acid composition in a continuous culture system (RUSITEC) [e-resource] // *Anaerobe*. 2020. No. 61. Article number 102143. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31896059> (date of reference: 12.01.2022). DOI: 10.1016%2fj.anaerobe.2019.102143.
16. Vargas J. E., Andres S., Lopez S. Effect of Sunflower and Marine Oils on Ruminal Microbiota, In vitro Fermentation and Digesta Fatty Acid Profile // *Frontiers in microbiology*. 2017. No. 8. Article number 1124. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28676798> (date of reference: 13.01.2022). DOI: 10.3389/fmicb.2017.01124.
17. Wang M., Chen M., Bai J., Zhang J., Su R., Franco M., Ding Z., Zhang X., Zhang Y., Guo X. Ensiling characteristics, in vitro rumen fermentation profile, methane emission and archaeal and protozoal community of silage prepared with alfalfa, sainfoin and their mixture [e-resource] // *Animal Feed Science and Technology*. 2022. No. 284. Article number 115154. URL: <https://jukuriluke.fi/handle/10024/551049> DOI: 10.1016/j.anifeedsci.2021.115154 (date of reference: 12.01.2022).
18. Wang S. P., Giller K., Kreuzer M., Ulbrich S. E., Braun U., Schwarm A. Contribution of Ruminal Fungi, Archaea, Protozoa, and Bacteria to the Methane Suppression Caused by Oilseed Supplemented Diets [e-resource] // *Frontiers in microbiology*. 2017. No. 8. Article number 1864. URL: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2017.01864/full> (date of reference: 12.01.2022). DOI: 10.3389/fmicb.2017.01864.
19. Xu Q., Qiao Q., Gao Y., Hou J., Hu M., Du Y., Zhao K., Li X. Gut Microbiota and Their Role in Health and Metabolic Disease of Dairy Cow [e-resource] // *Frontiers in Nutrition*. 2021. No. 8. Article number 701511. URL: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fnut.2021.701511/full> (date of reference: 12.01.2022). DOI: 10.3389/fnut.2021.701511.
20. Yanza Y. R., Szumacher-Strabel M., Jayanegara A., Kasenta A. M., Gao M., Huang H. H., Patra A. K., Warzych E., Cieslak A. The effects of dietary medium-chain fatty acids on ruminal methanogenesis and fermentation in vitro and in vivo: A meta-analysis // *Journal of animal physiology and animal nutrition*. 2021. No. 105 (5). Pp. 874–889. DOI: 10.1111/jpn.13367.

Об авторах:

Елена Владимировна Шейда^{1,2}, научный сотрудник лаборатории биологических испытаний и экспертиз¹, старший научный сотрудник института биоэлементологии², ORCID 0000-0002-2586-613X, AuthorID 569299; +7 922 862-64-02, elena-shejda@mail.ru

¹ Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий Российской академии наук, Оренбург, Россия

² Оренбургский государственный университет, Оренбург, Россия

Study of the effect of various additives on enzymatic processes in the rumen and the taxonomic composition of the microbiome

E. V. Sheyda^{1,2}✉

¹Federal Scientific Center of Biological Systems and Agrotechnologies of the Russian Academy of Sciences, Orenburg, Russia

²Orenburg State University, Orenburg, Russia

✉E-mail: elena-shejjda@mail.ru

Abstract. Purpose. The study is aimed at studying the taxonomic composition of the rumen microbiota and fermentation processes in vitro in response to the addition of vegetable fat separately and in combination with ultrafine Cr₂O₃ particles in the diet of ruminants. **Methodology and methods.** The control diet without the addition of oil was represented by wheat bran, and the experimental ones were supplemented only with sunflower oil (3 %) or sunflower oil (3 %) with additional administration of Cr₂O₃ UFP, at a dosage of 0.2 mg/kg DM. The digestibility of DM in the rumen, the end products of fermentation (volatile fatty acids, nitrogen metabolism) and the taxonomic composition of the rumen microbiome were determined. The studies were carried out by the in vitro method using the ANKOM DaisyII incubator according to a specialized technique, the level of volatile fatty acids (LFA) in the contents of the scar was determined by gas chromatography on a gas chromatograph “Kristallyuks-4000M”, determination of nitrogen forms according to GOST 26180-84. Microbial biodiversity of the rumen contents was carried out using MiSeq (Illumina, USA) by the new generation sequencing method (NGS) with a set of reagents MiSeq® Reagent Kit v3 (600 cycle). **Results and practical significance.** The use of additives did not change the microbial diversity, however, at the family level, an increase was revealed in the group receiving sunflower oil, Lachnospiraceae by 9.5 %, Lentimicrobiaceae by 0.6 % relative to the control, on the contrary, in the group using the sunflower oil complex with chromium oxide UFP, a decrease in Lachnospiraceae by 1.12 %, Succnivibrionaceae by 2.4 % was noted. The use of vegetable fat additives in the diets of young cattle and the combined addition of sunflower oil with Cr₂O₃ UFP have a positive effect on the intensity of the course of metabolic processes in the rumen and can be used to increase the productivity of ruminants. **Scientific novelty.** For the first time, the features of the course of enzymatic processes in the rumen against the background of the combined use of fats and Cr₂O₃ UFP are described.

Keywords: sunflower oil, ultrafine particles, chromium, digestibility, volatile fatty acids, nitrogen metabolism, microbiome, rumen, ruminants.

For citation: Sheyda E. V. Izuchenie vliyaniya razlichnykh dobavok na fermentativnye protsessy v rubtse i taksonomicheskiy sostav mikrobioma [Study of the effect of various additives on enzymatic processes in the rumen and the taxonomic composition of the microbiome] // Agrarian Bulletin of the Urals. 2022. No. 03 (218). Pp. 72–82. DOI: 10.32417/1997-4868-2022-218-03-72-82. (In Russian.)

Date of paper submission: 20.01.2022, **date of review:** 31.01.2022, **date of acceptance:** 08.02.2022.

Authors' information:

Elena V. Sheyda^{1,2}, candidate of biological sciences, research associate of the laboratory of biological tests and expertise¹, senior researcher at the Institute of bioelementology², ORCID 0000-0002-2586-613X, AuthorID 569299; +7 922 862-64-02, elena-shejjda@mail.ru

¹Federal Scientific Center of Biological Systems and Agrotechnologies of the Russian Academy of Sciences, Orenburg, Russia

²Orenburg State University, Orenburg, Russia