

## Влияние биологической кормовой добавки на микробиоту, показатели молочной продуктивности и воспроизводства коров голштинской породы

Т. С. Сметанникова<sup>1,2</sup>, В. А. Филиппова<sup>1,3</sup>, Е. А. Йылдырым<sup>1,3</sup>✉, И. А. Ключникова<sup>1</sup>, Л. А. Ильина<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup> Санкт-Петербургский государственный аграрный университет, Санкт-Петербург, Пушкин, Россия

<sup>2</sup> АО «Гатчинское», д. Большие Колпаны, Ленинградская область, Россия

<sup>3</sup> ООО «БИОТРОФ», Санкт-Петербург, Россия

✉ E-mail: deniz@biotrof.ru

**Аннотация.** В условиях интенсивного животноводства организм коров испытывает множество стрессов, особенно в транзитный период. Важно разработать биологическую стратегию кормления, которая будет способствовать улучшению молочной продуктивности при минимальных нарушениях фертильности коров. **Цель** работы – исследование эффекта биологической кормовой добавки, в состав которой входят штамм бактерии *Bacillus mucilaginosus*, смесь органических кислот и растительных веществ, применяемой в транзитный период лактации, на показатели молочной продуктивности и воспроизводства коров голштинской породы. **Методы.** 40 животных-аналогов были разделены на две группы: 1-я (контрольная) группа получала основной рацион (ОР), 2-я (опытная) группа получала ОР и биологическую кормовую добавку «АнтиКлос» (ООО «БИОТРОФ», Россия). **Результаты.** Анализ данных лактационных кривых на протяжении 150 дней лактации показал, что животные опытной группы имели более высокий уровень молочной продуктивности по сравнению с контрольной группой как по окончании периода скармливания кормовой добавки «АнтиКлос», так и в период последействия (до 120 суток после отела) ( $P \leq 0,05$ ). Так, по завершении периода скармливания кормовой добавки «АнтиКлос» продуктивность животных контрольной группы составляла  $44,3 \pm 1,44$  кг, опытной группы –  $48,4 \pm 1,89$  кг. Сервис-период в контроле был длиннее, чем в опытной группе, на 7,9 суток. Индекс осеменения в опытной группе снизился с 2,2 (в контроле) до 1,9. Случаи выявления у животных кист яичников сократились в 2 раза по сравнению с контролем.

**Ключевые слова:** АнтиКлос, кормовая добавка, коровы голштинской породы, молочная продуктивность, параметры воспроизводства

**Благодарности.** Исследование выполнено при финансовой поддержке гранта РФФИ № 24-16-00131.

**Для цитирования:** Сметанникова Т. С., Филиппова В. А., Йылдырым Е. А., Ключникова И. А., Ильина Л. А. Влияние биологической кормовой добавки на показатели молочной продуктивности и воспроизводства коров голштинской породы // Аграрный вестник Урала. 2024. Т. 24, № 12. С. 1694–1704. DOI: <https://doi.org/10.32417/1997-4868-2024-24-12-1694-1704>.

**Дата поступления статьи:** 13.06.2024, **дата рецензирования:** 10.09.2024, **дата принятия:** 07.11.2024.

# The influence of a biological feed additive on the microbiota, milk productivity and reproduction parameters of Holstein cattle

T. S. Smetannikova<sup>1,2</sup>, V. A. Filippova<sup>1,3</sup>, E. A. Yyldyrym<sup>1,3</sup>✉, I. A. Klyuchnikova<sup>1</sup>, L. A. Ilyina<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup> Saint Petersburg State Agrarian University, Saint Petersburg, Pushkin, Russia

<sup>2</sup> Gatchinskoe JSC, Bolshie Kolpany village, Leningrad region, Russia

<sup>3</sup> BIOTROF LLC, Saint Petersburg, Russia

✉ E-mail: deniz@biotrof.ru

**Abstract.** In context of intensive animal husbandry, the body of cattle feels a lot of stress, especially during the transition period. It is important to develop a biological feeding strategy that will contribute to improving milk productivity with minimal fertility disorders of cattle. **Purpose** of the research is to study the effect of a biological feed additive based on a strain of the bacterium *Bacillus mucilaginosus*, organic acids and plant substances used during the transition period of lactation, on the indicators of milk productivity and reproduction of Holstein cattle. **Methods.** 40 animal analogues were divided into two groups: 1 – control group – were fed the main ration, 2 – experimental group – were fed the main ration and the biological feed additive “AntiKlos” (BIOTROF LLC, Russia). **Results.** Analysis of the data of lactation curves during 150 days of lactation showed that the animals of the experimental group had a higher level of milk productivity compared with the control group as at the end of the period of feeding the “AntiKlos” feed additive, as during the aftereffect (up to 120 days after calving) ( $P \leq 0.05$ ). Therefore, at the end of the feeding period of the “AntiKlos” feed active the productivity of animals in control group was  $44.3 \pm 1.44$  kg, in experimental group –  $48.4 \pm 1.89$  kg. Service period in the control group 1 was higher than in the experimental group 2 by 7.9 days. The insemination index under the influence of the “AntiKlos” feed additive decreased from 2.2 (in control group) to 1.9 (in experimental group), cases of detection of ovarian cysts in animals decreased by 2 times compared with the control.

**Keywords:** AntiKlos, feed additive, Holstein cattle, milk productivity, reproduction parameters

**Acknowledgments.** The study was carried out with the financial support of the Russian Science Foundation grant No. 24-16-00131.

**For citation:** Smetannikova T. S., Filippova V. A., Yyldyrym E. A., Klyuchnikova I. A., Ilyina L. A. The effect of a biological feed additive on indicators of dairy productivity and reproduction of Holstein cows. *Agrarian Bulletin of the Urals*. 2024; 24 (12): 1694–1704. DOI: <https://doi.org/10.32417/1997-4868-2024-24-12-1694-1704>. (In Russ.)

**Date of paper submission:** 13.06.2024, **date of review:** 10.09.2024, **date of acceptance:** 07.11.2024.

## Постановка проблемы (Introduction)

В мире производство молочной продукции считается одним из ведущих секторов экономики. Так, в 2020 году мировое производство молока достигло почти 906 миллионов тонн [1]. Любой сбой в производстве молока, вызванный заболеванием или другой патологией у лактирующих коров, может привести к существенным экономическим потерям, а инфекционные заболевания, возникающие в цепочке производства продукции животноводства могут приводить к угрозам для общественного здравоохранения, таким как возникновение устойчивости к антибиотикам.

На сегодняшний день увеличение содержания энергии и сахаров в рационе молочного скота с помощью концентрированных кормов для роста молочной продуктивности является общепринятой практикой в животноводстве. Однако это может

приводить к дисбиозу микробиоты рубца, последующим изменениям ферментации в рубце и, как следствие, к метаболическим нарушениям, которые ухудшают здоровье коров и в конечном счете молочную продуктивность [2]. Нарушение микробиома связано с тем, что избыточное количество сахаров и крахмала вызывает повышенное накопление органических кислот в рубце и из-за нестабильности буферных механизмов может негативно повлиять на микробиоту [3]. Фактически при более низких значениях pH некоторые виды бактерий «процветают» в ущерб другим, прежде всего целлюлозолитикам и бактериям, продуцирующим летучие жирные кислоты (ЛЖК), в результате меняется метаболический профиль. Такие условия могут вызвать увеличение численности болезнетворных микроорганизмов, а также выработку токсинов.

Для животных наиболее критическим периодом является переходный (транзитный) – 21 день до и 21 день после отела. Это критическая фаза, когда крупный рогатый скот наиболее остро нуждается в дополнительной поддержке для полного восстановления лактации и функции воспроизводства за счет профилактики метаболических расстройств [4].

Повышенная потребность в энергии и питательных веществах для синтеза молозива и молока в сочетании со снижением потребления корма приводит к тому, что коровы в переходный период испытывают отрицательный энергетический баланс и дефицит микроэлементов. Это стимулирует организм мобилизовать жировые отложения в виде незатерифицированных жирных кислот, в крови накапливается бета-гидроксималяновая кислота. Высокопродуктивные животные часто не способны адаптироваться к этой метаболической проблеме. Чрезмерное повышение уровня данных веществ часто связано с плохими продуктивными и репродуктивными показателями. Развитие ожирения печени ухудшает ее глюконеогенную активность, что снижает уровень глюкозы в крови и секрецию инсулина. Это будет способствовать большей мобилизации липидов и увеличению скорости поглощения жирных кислот печенью, а также усилению кетогенеза.

Дисбаланс потребности в энергии и поступления питательных веществ часто приводит к различным метаболическим нарушениям, таким как жировая инфильтрация печени, кетоз (клинический или субклинический), рубцовый ацидоз (подострый или острый), молочная лихорадка (субклиническая или клиническая) и нарушения иммунной функции. В транзитный период у молочных коров может появиться предрасположенность к проблемам с воспроизводством, таким как клинический и субклинический эндометрит, снижение частоты зачатия, эмбриональная смертность и др. [4]. Поэтому от успеха транзитного периода зависят не только последующая молочная продуктивность на протяжении всей лактации, но и показатели воспроизводства, а значит, рентабельность коров.

В связи с запретом на использование антибиотиков для стимуляции роста и профилактики заболеваний животных, а также обязательным сокращением использования противомикробных препаратов растет спрос на продукты, которые будут оказывать аналогичное положительное влияние на производство и здоровье [5]. Именно поэтому пробиотики в последнее время оказались в центре научного интереса, их использование на животноводческих фермах начало значительно возрастать [6].

Важно разработать биологическую стратегию кормления, которая будет способствовать улучшению молочной продуктивности при минимальных нарушениях метаболизма и фертильности и минимальном риске для окружающей среды. Мы пока-

зали, что фитопробиотик «Провитол» регулирует состав микробиоты влажной коров через оптимизацию состава микробиома рубца [7]. Наиболее значительные положительные эффекты для здоровья жвачных животных следует ожидать в периоды выраженного стресса для животного и его микробиома, т. е. в периоды отъема, начала лактации, перехода на корм, богатый легкоусвояемыми углеводами, транзитный период. Применение биологических кормовых добавок в транзитный период может профилактировать нарушения состояния здоровья коров в наиболее уязвимую фазу, что может оказать долгоиграющее позитивное действие на зоотехнические показатели и уровень воспроизводительной способности [7].

#### Методология и методы исследования (Methods)

Эксперимент по скормливанию кормовой добавки проводили в коммерческом животноводческом хозяйстве Ленинградской области на коровах молочного направления голштинской породы второй – третьей лактации. Соблюдались все пункты требований Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (ETS № 123, Страсбург, 1986). Живая масса коров – 700 кг, среднесуточный надой за предыдущую лактацию – 45 кг. Животные были в одинаковых условиях на беспривязном содержании. 40 животных были разделены на две группы по методу групп-аналогов (по 20 животных в каждой группе): 1-я (контрольная) группа получала основной рацион (ОР), 2-я (опытная) группа получала ОР и биологическую кормовую добавку «АнтиКлос» (ООО «БИОТРОФ», Россия). Расчет рационов коров проводили с применением программы AMTS.Cattle.Professional (<https://agmodelsystems.com>).

«АнтиКлос» содержит штамм бактерии *Bacillus mucilaginosus*, органические кислоты и растительные вещества. Штамм *B. mucilaginosus* является собственностью коллекции ООО «БИОТРОФ». Клетки штамма – неподвижные палочки с округлыми концами. Штамм формирует эндоспоры, расположенные субтерминально, имеет жгутики. По сведениям НИИЦ токсикологии и гигиенической регламентации биопрепаратов – филиала ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России, штамм не имеет свойств вирулентности и токсигенности, нетоксичен для лабораторных животных. Штамм *B. mucilaginosus* культивируют при температуре 37 °С на среде ГРМ-питательный бульон следующего состава (г/л): пептон ферментативный – 8, панкреатический гидролизат рыбной муки – 8, натрий хлористый – 4, pH = 7,2 ± 0,2 (ООО «Сиана», Россия). В лаборатории ООО «БИОТРОФ» определена активность штамма *B. mucilaginosus* в отношении клостридий. Культуру (предварительно выращиваемую 1 сутки) штамма высевали штрихом на плотные

агаризованные среды RCB и кровяной агар (ООО «БИОМЕДИА», Россия) по диаметру (диагонали) чашки Петри стерильным тампоном. Посевы инкубировали при температуре 37 °С в течение 24 ч. Высоковирулентные штаммы *Clostridium perfringens* 13124, 10543, 12916 (коллекция ATCC) засеивали в пробирки с тиогликолевой средой и инкубировали в условиях анаэробноза при 37 °С в течение 24 ч. Оценку результатов проводили в соответствии с GPhM 1.7.2.0009.15 (Determination of the specific activity of probiotics). Штаммы *C. perfringens* были выбраны из коллекции согласно их способности к синтезу различных токсинов, т. е. принадлежности к различным типам в соответствии с современной классификацией. Штамм *C. perfringens* 13124 относится к типу А, поскольку выделяет  $\alpha$  токсин (CPA) и перфринголизин О (PfoA), *C. perfringens* 12916 (тип F) синтезирует CPA и энтеротоксин (CPE), *C. perfringens* 10543 (тип С) производит одновременно 4 токсина: CPA, CPE, beta2 токсин (CPB2), Pfoa. Это позволило предположить высокий уровень из вирулентности и способность вызывать клостридиозы у животных и птиц. Кроме того, методом лунок (диффузии в агаризованную питательную среду) была проведена оценка антимикробной активности *Bacillus* spp. к другим бактериальным видам, таким как *E. coli* K-12 F+Str.R (KS-507), *Salmonella typhimurium* LT2, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Pseudomonas aeruginosa* TO (коллекция ВКПМ), которые часто являются этиологическим началом гастроэнтеритов у животных, включая смешанные инфекции. Чашки Петри со средой агар Мюллера – Хинтона (ООО «БИОЛАЙТ СПб», Россия) предварительно засеивали тест-штаммами. Затем в толще остывшей агаризованной среды стерильными металлическими цилиндрами проделывали отверстия диаметром 8 мм. 100 мкл суточной культуры штамма *B. mucilaginosus* (которую культивировали на среде ГРМ при 37 °С в течение 24 часов) в концентрации  $1 \times 10^8$  КОЕ/мл помещали в лунки. В качестве контрольного варианта использовали стерильную среду ГРМ. Чашки Петри культивировали в условиях анаэробноза при температуре 38 °С. Через 24 часа роста оценивали уровень антимикробной активности.

Кормовая добавка вводилась в состав полнорационного рациона опытной группы 2 из расчета по 50 г/гол/сут в транзитный период – за 21 день до отела (сухостой), затем 21 после отела – в новотельный период.

Показатели молочной продуктивности и параметры воспроизводства (продолжительность сервис-периода, индекс осеменения, факт установления стельности, кисты яичников) были получены с помощью автоматизированной системы управления стадом AfiMilk (AfiFarm, <https://www.afimilk.com/ru/afifarm>) (AfiMilk Ltd, США).

Для анализа состава микробиоты у трех клинически здоровых коров из каждой группы отбирали пробы химуса прямой кишки в конце периода скармливания добавки (на 21-й день после отела). Отбор осуществляли с соблюдением условий асептики. Образцы отбирали непосредственно из прямой кишки каждого животного, используя одноразовые перчатки. Пробы замораживали при –30 °С и транспортировали при отрицательных температурах для исследований состава микробиоты.

В лаборатории ООО «БИОТРОФ+» суммарную ДНК из образцов выделяли с использованием набора Genomic DNA Purification Kit (Thermo Fisher Scientific, Inc., США). Оценку состава микроорганизмов методом ПЦР в реальном времени на термоджеле ДТ Lite-4 (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия). Использовали «Набор реактивов для проведения ПЦР-РВ в присутствии интеркалирующего красителя EVA Green» (ЗАО «Синтол», Россия). Перечень праймеров (5'-3') находится в таблице 1, условия амплификации: 95 °С – 3 мин. (1 цикл), 95 °С – 1 мин., 57,6 °С – 1 мин., 72 °С – 1 мин. (40 циклов), 72 °С – 5 мин. (1 цикл).

Математическую и статистическую обработку результатов проводили с использованием стандартной методики однофакторного дисперсионного анализа в программах Microsoft Excel XP/2010, R-Studio (Version 1.1.453) (<https://rstudio.com>). Для оценки достоверности использовали *t*-критерий Стьюдента.

### Результаты (Results)

Анализ данных лактационных кривых на протяжении 150 дней лактации показал, что животные опытной группы 2 имели более высокий уровень молочной продуктивности по сравнению с контрольной группой 1 как по окончании периода скармливания кормовой добавки «АнтиКлос», так и в период последействия (до 120 суток после отела) ( $P \leq 0,05$ ) (рис. 1). Так, по завершении периода скармливания кормовой добавки «АнтиКлос» продуктивность животных контрольной группы 1 составляла  $44,3 \pm 1,44$  кг, опытной группы 2 –  $48,4 \pm 1,89$  кг. В период последействия кормовой добавки достоверная разница по уровню молочной продуктивности между опытной группой 2 и контрольной группой 1 сохранялась до 120-го дня лактации ( $P \leq 0,05$ ), далее нивелировалась ( $P > 0,05$ ). Увеличенная молочная продуктивность в опытной группе 2 может быть связана с восстановлением под влиянием добавки нарушенного метаболизма животных. Дело в том, что в транзитный период (в который применяли «АнтиКлос» на опытной группе 2) обычно происходит снижение потребления сухого вещества у животных из-за растущего плода, что сопровождается чрезмерной мобилизацией тканей организма для компенсации энергетических потребностей. В новотельный период и период на-

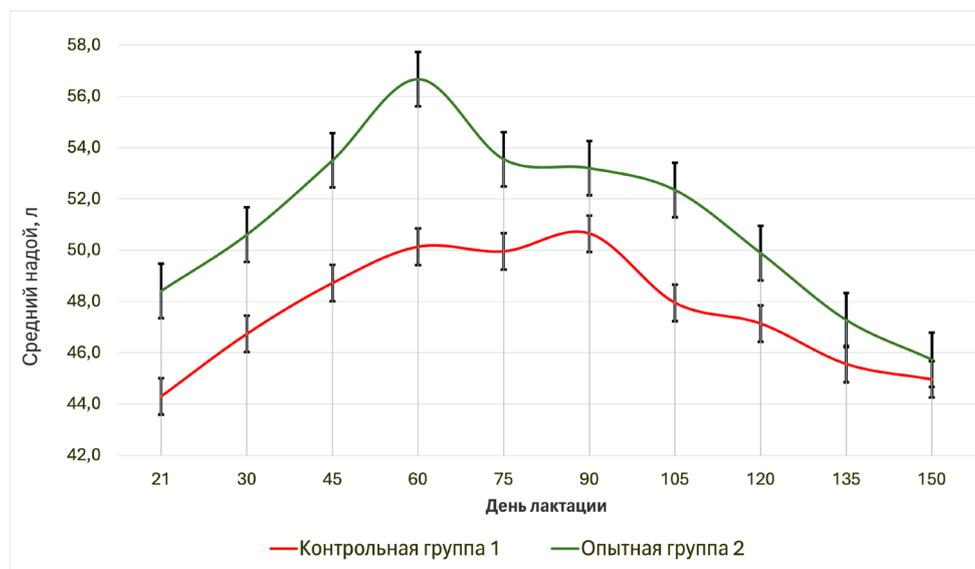


Рис. 1. Лактационные кривые коров голштинской породы в контрольной группе 1 ( $n = 20$ ) и опытной группе 2 ( $n = 20$ )

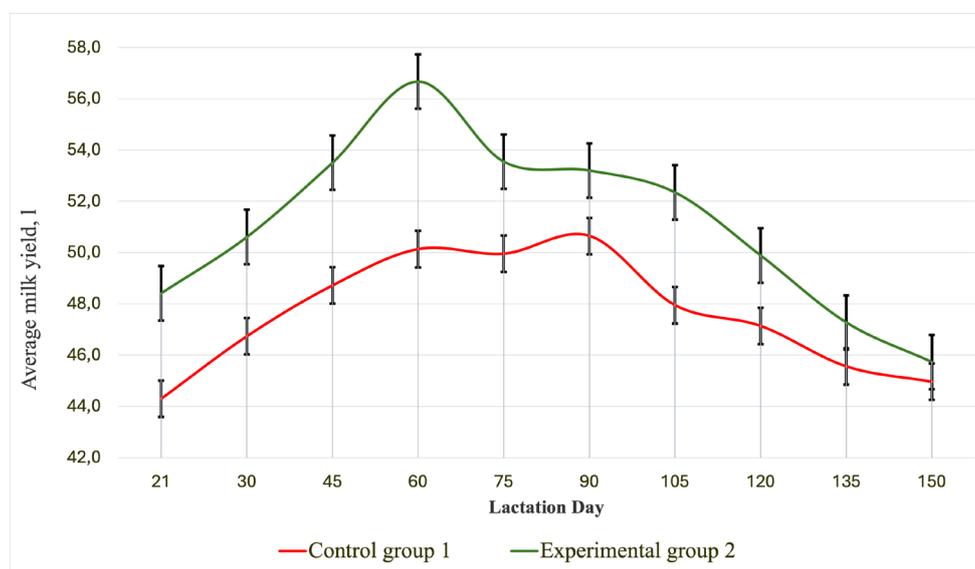


Fig. 1. Lactation curves of Holstein cattle in control group 1 ( $n = 20$ ) and experimental group 2 ( $n = 20$ )

чала пика лактации молочные коровы, как правило, испытывают дефицит энергии [8]. Высокие энергетические потребности для производства молока не удовлетворяются из-за физиологических ограничений, связанных с потреблением корма. Было высказано предположение, что этот энергетический дефицит оказывает пагубное воздействие на здоровье и фертильность [4]. Восстановление массы тела и метаболического профиля до нормального уровня может наступить только через 20 недель после начала лактации [4]. Добавление в рацион кормовой добавки в опытной группе 2, вероятно, поддерживало гомеостаз микробиоты рубца, что приводило к профилактике метаболических заболеваний, повышало эффективность переработки корма, и в итоге приводило к увеличению производства молока [10].

Максимальный эффект от применения добавки в транзитный период отмечался в период после-

действия на пике лактации: разница между опытной группой 2 и контрольной группой 1 составляла 11,5 % ( $P > 0,05$ ).

Рентабельность молочной фермы во многом зависит не только от производства молока, но и от репродуктивных показателей [10]. Одним из параметров воспроизводства, признанных критическими для оценки репродуктивных показателей фермы, является сервис-период [11]. По данным рис. 2 видно, что сервис-период в контрольной группе 1 был длиннее, чем в опытной группе 2, на 7,9 суток. Сервис-период — это ключевой параметр воспроизводства: чем он меньше, тем эффективнее используются ресурсы молочного предприятия. Улучшение ритмов воспроизводства приводит к получению дополнительной прибыли, в частности, в виде дополнительного молока.

Таксоны микроорганизмов	Последовательности праймеров
Общее количество бактерий	ACT CCT ACG GGA GGC AGC AG GTA TTA CCG CGG CTG CTG GCA
<i>Lactobacillus</i> sp.	AGC AGT AGG GAA TCT TCC A CAC CGC TAC ACA TGG AG
<i>Megasphaera</i> sp., <i>Veillonella</i> sp. и <i>Dialister</i> sp.	GATGGGGACAACAGCTGGA GACTCTGTTTTGGGG
<i>Streptococcus</i> sp.	AATTCTAATACGACTCACTATAGGGCAAGTCGAGCGAACAGACGA TGTCACCGGCAGTCAACTTA
<i>Lachnobacterium</i> sp. и <i>Clostridium</i> sp.	GTGAAATGCGTAGAGATTAGGAA GATYYGCGATTACTAGYAACTC
<i>Atopobium</i> sp.	AGTTTGATCCTGGCTCAG ATTACCGCGGCTGCTGG
<i>Staphylococcus</i> sp.	GGC CGT GTT GAA CGT GGT CAA ATC TIA CCA TTT CAG TAC CTT CTG GTA A
Сем. <i>Fusobacteriaceae</i>	CGCAGAAGGTGAAAGTCCTGTAT TGGTCCTCACTGATTCACACAGA
Сем. <i>Enterobacteriaceae</i>	CAT TGA CGT TAC CCG CAG AAG AAG C CTC TAC GAG ACT CAA GCT TGC
<i>Prevotella</i> sp. и <i>Porphyromonas</i> sp.	GAGTACGCCGGCAACGGTGA TCACCGTTGCCGGCGTACTC
<i>Mobiluncus</i> sp. и <i>Corynebacterium</i> sp.	GGAAGGAYGCATCTTGGCAGTCT CATYGGGAARTCRCCGATGA
<i>Peptostreptococcus</i> sp.	AGAGTTTGATCMTGGCTCAG ACGGGCGGTGTGTRC
<i>Eubacterium</i> sp.	TCCCTTACTAGGCACCCA AGGGAAUGAUCCGUGGGU

Table 1  
Primer sequences for bacterial analysis

Microorganism taxa	Primer sequences
Total number of bacteria	ACT CCT ACG GGA GGC AGC AG GTA TTA CCG CGG CTG CTG GCA
<i>Lactobacillus</i> sp.	AGC AGT AGG GAA TCT TCC A CAC CGC TAC ACA TGG AG
<i>Megasphaera</i> sp., <i>Veillonella</i> sp. and <i>Dialister</i> sp.	GATGGGGACAACAGCTGGA GACTCTGTTTTGGGG
<i>Streptococcus</i> sp.	AATTCTAATACGACTCACTATAGGGCAAGTCGAGCGAACAGACGA TGTCACCGGCAGTCAACTTA
<i>Lachnobacterium</i> sp. and <i>Clostridium</i> sp.	GTGAAATGCGTAGAGATTAGGAA GATYYGCGATTACTAGYAACTC
<i>Atopobium</i> sp.	AGTTTGATCCTGGCTCAG ATTACCGCGGCTGCTGG
<i>Staphylococcus</i> sp.	GGC CGT GTT GAA CGT GGT CAA ATC TIA CCA TTT CAG TAC CTT CTG GTA A
Ph. <i>Fusobacteriaceae</i>	CGCAGAAGGTGAAAGTCCTGTAT TGGTCCTCACTGATTCACACAGA
Ph. <i>Enterobacteriaceae</i>	CAT TGA CGT TAC CCG CAG AAG AAG C CTC TAC GAG ACT CAA GCT TGC
<i>Prevotella</i> sp. and <i>Porphyromonas</i> sp.	GAGTACGCCGGCAACGGTGA TCACCGTTGCCGGCGTACTC
<i>Mobiluncus</i> sp. and <i>Corynebacterium</i> sp.	GGAAGGAYGCATCTTGGCAGTCT CATYGGGAARTCRCCGATGA
<i>Peptostreptococcus</i> sp.	AGAGTTTGATCMTGGCTCAG ACGGGCGGTGTGTRC
<i>Eubacterium</i> sp.	TCCCTTACTAGGCACCCA AGGGAAUGAUCCGUGGGU

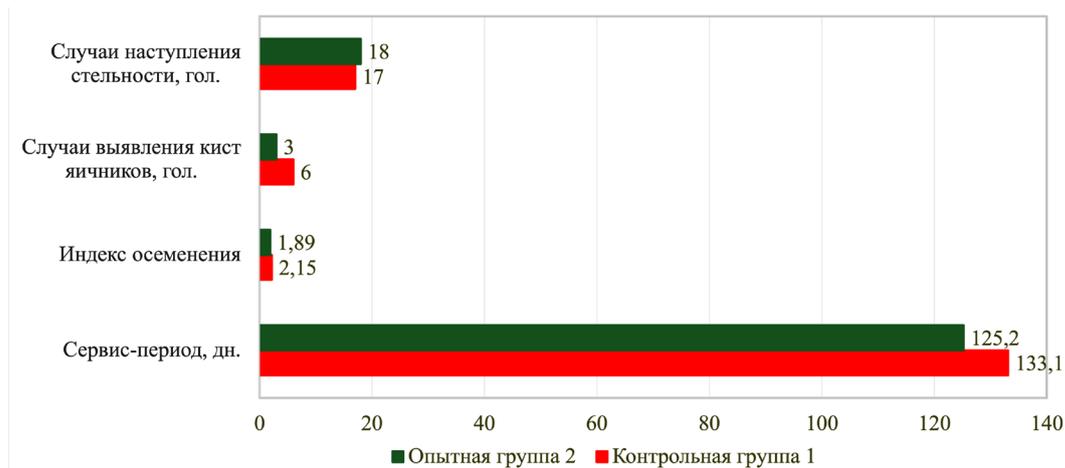


Рис. 2. Результаты сравнения некоторых параметров воспроизводства у коров голштинской породы контрольной группы 1 и опытной группы 2

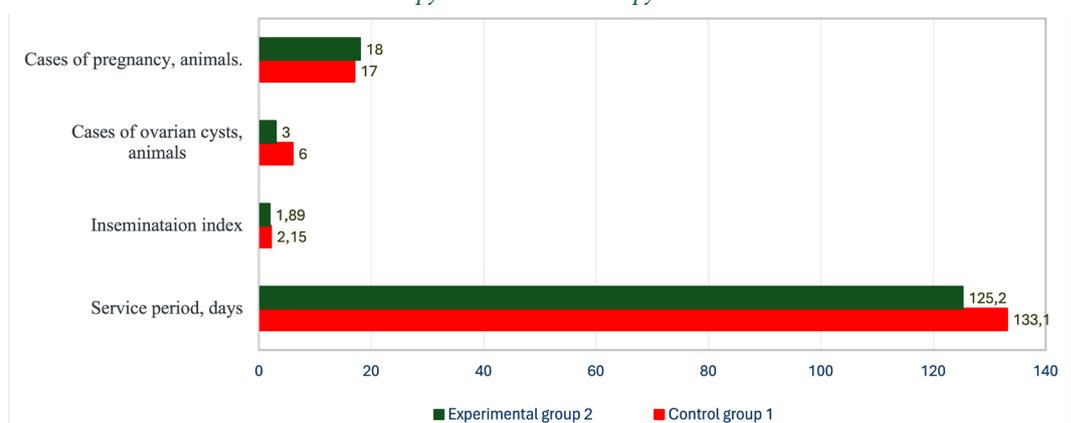


Fig. 2. The results of comparing some reproduction parameters in Holstein cattle of control group 1 and experimental group 2

По данным рис. 2 видно также, что индекс осеменения под влиянием кормовой добавки «Анти-Клос» снизился с 2,2 (в контрольной группе 1) до 1,9 (в опытной группе 2), случаи выявления у животных кист яичников сократились в 2 раза по сравнению с контролем. Кисты являются одной из наиболее частых дисфункций яичников у молочного скота, которая снижает репродуктивные возможности и часто приводит к значительным экономическим потерям [11]. Анэструс является наиболее значимым клиническим признаком, наблюдаемым у молочного скота, страдающего этим заболеванием, что приводит к увеличению количества дней до плодотворного осеменения. Этиопатогенез кистозного перерождения яичников у молочного скота представляет собой сложный процесс, который предполагает изменение различных физиологических процессов (фолликулогенез, стероидогенез, овуляция, экспрессия мРНК матричных металлопротеиназ и их ингибиторов) под влиянием ряда факторов, таких как рацион, стресс, уровень менеджмента стада, нарушения обмена веществ. Таким образом, поскольку в этиологии кист яичников участвует несколько взаимосвязанных путей, на сегодняшний день невозможно определить точный механизм, вызывающий это заболевание. Интересно,

что метаболические нарушения в организме коров, коррелирующие с гормональным дисбалансом, могут резко изменить нейроэндокринную обратную связь на уровне нейронов, приводя к образованию кист [12]. Высокая заболеваемость кистами яичников у молочного скота в раннем новотельном периоде подтверждает эту гипотезу, поскольку именно в этот период у животных наблюдаются отрицательный энергетический баланс и риск развития метаболических нарушений.

На следующем этапе исследования был проведен анализ состава микроорганизмов химуса прямой кишки коров. Как видно из таблицы 2, в прямой кишке коров под влиянием введения в рацион биологической кормовой добавки «АнтиКлос» (опытная группа 2) происходило увеличение доли представителей нормобиоты по сравнению с контролем 1 ( $P \leq 0,05$ ). Так, например, количество *Eubacterium* sp. в опытной группе 2 увеличивалось в 2,4 раза по сравнению с контролем I ( $P \leq 0,05$ ). Целлюлолитические рода *Eubacterium* являются ключевыми участниками процесса расщепления целлюлозы, которая иным образом не переваривается организмом-хозяином [13]. Одним из основных вкладов целлюлолитической микробиоты является обеспечение организма-хозяина энергией посредством

метаболизма сложных цепей клетчатки в летучие жирные кислоты (ЛЖК). Кроме того, ЛЖК благотворно влияют на целостность мембран кишечника, местный кишечный иммунитет и играют роль в коммуникации «микробиота – кишечник – здоровье». Содержание других представителей нормобиоты – бактерий *Streptococcus* sp. – в опытной группе 2 увеличивалось на 3 порядка по сравнению с контрольной 1 ( $P \leq 0,001$ ). Представитель рода *Streptococcus* – *Str. thermophilus* – бактерия, продуцирующая молочную кислоту, ингибирующую развитие патогенов, и оказавшаяся клинически ценной для снижения уровня уремиических токсинов в кишечнике [14].

При использовании биологической кормовой добавки (опытная группа 2) отмечено уменьшение количества таксонов, среди которых много оппортунистических и патогенных видов, по сравнению с контролем 1 ( $P \leq 0,05$ ) (таблица 2). Так, содержа-

ние *Staphylococcus* sp. снижалось в 2,2 раза, *Peptostreptococcus* sp. – в 2,3 раза. Представители семейства Fusobacteriaceae полностью нивелировались из просвета кишечника коров опытной группы 2. Тогда как в контрольной группе 1 их содержание составляло  $8,4 \times 10^4 \pm 5,1 \times 10^3$  геномов/г. Стоит отметить, что нарушение микробиома кишечника, или дисбиоз, связывают с растущим числом хронических заболеваний у человека [15]. У жвачных животных большинство метаболических нарушений, возникающих в начале и середине лактации, таких как лактатный ацидоз рубца, снижение жирности молока и проблемы воспроизводства, еще более тесно связаны с нарушением состава и функции микробиома пищеварительной системы [16]. Подобно нашим результатам, ранее другие [16] также связывали кормление высококонцентратными рационами с увеличением популяций патогенных бактерий в рубце и прямой кишке коров.

Таблица 2  
Количество микроорганизмов в содержимом прямой кишки коров, геномов/г

Таксоны микроорганизмов	Контрольная группа 1 (n = 3)	Опытная группа 2 (n = 3)
Общее количество бактерий	$1,4 \times 10^8 \pm 6,5 \times 10^6$	$1,2 \times 10^8 \pm 8,7 \times 10^6$
<i>Lactobacillus</i> sp.	$4,3 \times 10^2 \pm 31$	$6,7 \times 10^2 \pm 40^*$
<i>Megasphaera</i> sp., <i>Veillonella</i> sp. и <i>Dialister</i> sp.	$3,7 \times 10^6 \pm 1,9 \times 10^5$	$2,4 \times 10^6 \pm 1,5 \times 10^5^*$
<i>Streptococcus</i> sp.	$8,3 \times 10^2 \pm 49$	$1,1 \times 10^5 \pm 7,2 \times 10^3^{****}$
<i>Lachnobacterium</i> sp. и <i>Clostridium</i> sp.	$2,7 \times 10^7 \pm 1,9 \times 10^6$	$5,5 \times 10^7 \pm 3,0 \times 10^6^*$
<i>Atopobium</i> sp.	$1,3 \times 10^3 \pm 78$	$6,9 \times 10^2 \pm 35^{**}$
<i>Staphylococcus</i> sp.	$2,4 \times 10^4 \pm 1,7 \times 10^3$	$1,1 \times 10^4 \pm 5,9 \times 10^3^*$
Сем. Fusobacteriaceae	$8,4 \times 10^4 \pm 5,1 \times 10^3$	<п.д.о. ****
Сем. Enterobacteriaceae	$3,9 \times 10^5 \pm 2,7 \times 10^4$	$7,2 \times 10^5 \pm 5,0 \times 10^4^*$
<i>Prevotella</i> sp. и <i>Porphyromonas</i> sp.	$7,6 \times 10^7 \pm 4,7 \times 10^6$	$7,3 \times 10^7 \pm 4,2 \times 10^6$
<i>Mobiluncus</i> sp. и <i>Corynebacterium</i> sp.	$2,7 \times 10^3 \pm 1,1 \times 10^2$	$7,7 \times 10^3 \pm 3,7 \times 10^2^*$
<i>Peptostreptococcus</i> sp.	$4,8 \times 10^6 \pm 2,7 \times 10^5$	$2,1 \times 10^6 \pm 1,3 \times 10^5^*$
<i>Eubacterium</i> sp.	$3,4 \times 10^6 \pm 2,1 \times 10^5$	$8,2 \times 10^6 \pm 4,9 \times 10^5^*$

Примечание. \*  $P \leq 0,05$ , \*\*  $P \leq 0,01$ , \*\*\*  $P \leq 0,001$ , \*\*\*\* < п. д. о. – предел достоверного определения методом ПЦР в реальном времени (при сравнении опытной группы 2 с контрольной группой 1).

Table 2  
Quantity of microorganisms in the contents of the cow's rectum, genomes/g

Microorganism taxa	Control group 1 (n = 3)	Experimental group 2 (n = 3)
Total number of bacteria	$1.4 \times 10^8 \pm 6.5 \times 10^6$	$1.2 \times 10^8 \pm 8.7 \times 10^6$
<i>Lactobacillus</i> sp.	$4.3 \times 10^2 \pm 31$	$6.7 \times 10^2 \pm 40^*$
<i>Megasphaera</i> sp., <i>Veillonella</i> sp., <i>Dialister</i> sp.	$3.7 \times 10^6 \pm 1.9 \times 10^5$	$2.4 \times 10^6 \pm 1.5 \times 10^5^*$
<i>Streptococcus</i> sp.	$8.3 \times 10^2 \pm 49$	$1.1 \times 10^5 \pm 7.2 \times 10^3^{****}$
<i>Lachnobacterium</i> sp., <i>Clostridium</i> sp.	$2.7 \times 10^7 \pm 1.9 \times 10^6$	$5.5 \times 10^7 \pm 3.0 \times 10^6^*$
<i>Atopobium</i> sp.	$1.3 \times 10^3 \pm 78$	$6.9 \times 10^2 \pm 35^{**}$
<i>Staphylococcus</i> sp.	$2.4 \times 10^4 \pm 1.7 \times 10^3$	$1.1 \times 10^4 \pm 5.9 \times 10^3^*$
Ph. Fusobacteriaceae	$8.4 \times 10^4 \pm 5.1 \times 10^3$	<m.a.v. ****
Ph. Enterobacteriaceae	$3.9 \times 10^5 \pm 2.7 \times 10^4$	$7.2 \times 10^5 \pm 5.0 \times 10^4^*$
<i>Prevotella</i> sp., <i>Porphyromonas</i> sp.	$7.6 \times 10^7 \pm 4.7 \times 10^6$	$7.3 \times 10^7 \pm 4.2 \times 10^6$
<i>Mobiluncus</i> sp., <i>Corynebacterium</i> sp.	$2.7 \times 10^3 \pm 1.1 \times 10^2$	$7.7 \times 10^3 \pm 3.7 \times 10^2^*$
<i>Peptostreptococcus</i> sp.	$4.8 \times 10^6 \pm 2.7 \times 10^5$	$2.1 \times 10^6 \pm 1.3 \times 10^5^*$
<i>Eubacterium</i> sp.	$3.4 \times 10^6 \pm 2.1 \times 10^5$	$8.2 \times 10^6 \pm 4.9 \times 10^5^*$

Note. \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ , \*\*\*  $P < 0.001$ , \*\*\*\* < m.a.v. is the limit of reliable determination by real-time PCR (when comparing experimental group 2 with control group 1).

**Обсуждение и выводы (Discussion and Conclusion)**

В последние годы приводится все больше данных о том, что селекционно-генетический отбор коров по высокому надою приводит к появлению животных с нарушениями воспроизводительных функций и различных физиологических параметров [17]. Применение в нашем эксперименте биологической кормовой добавки на основе штамма *B. mucilaginosus*, органических кислот и растительных веществ в транзитный период лактации приводило к улучшению показателей молочной продуктивности и одновременно параметров воспроизводства крупного рогатого скота. Более успешный менеджмент поголовья в транзитный период является ключом к прибыльности молочного стада из-за при-  
сущей данному периоду высокой заболеваемости и

связанных с этим затрат, включая ухудшение показателей воспроизводства [16]. Механизмом действия кормовой добавки явилось восстановление нормального микробиома рубца коров, что оказало влияние на здоровье животных во время последующей лактации, а также положительно повлияло на фертильность. Важно отметить, что наши исследования показывают, что микробиом кишечника и производимые кишечной микробиотой метаболиты представляют собой новый рубеж в профилактике проблем воспроизводства. В дальнейшем это требует продолжения эксперимента по проведению углубленных молекулярно-биологических исследований состава эндометрия коров под влиянием кормовой добавки.

**Библиографический список**

1. FAO. 2021. Dairy Market Review: Overview of global dairy market developments in 2020, April 2021. Rome [Электронный ресурс]. URL: <https://openknowledge.fao.org> (дата обращения: 10.08.2024).
2. Mu Y., Qi W., Zhang T., Zhang J., Mao S. Multi-omics analysis revealed coordinated responses of rumen microbiome and epithelium to high-grain-induced subacute rumen acidosis in lactating dairy cows // *mSystems*. 2022. No. 7. DOI: 10.1128/msystems.
3. Ricci S., Pacífico C., Castillo-Lopez E., Rivera-Chacon R., Schwartz-Zimmermann H. E., Reisinger N., Berthiller F., Zebeli Q., Petri R. M. Progressive microbial adaptation of the bovine rumen and hindgut in response to a step-wise increase in dietary starch and the influence of phytogenic supplementation // *Frontiers in Microbiology*. 2022. No. 22. DOI: 10.3389/fmicb.
4. Tufarelli V., Puvača N., Glamočić D., Pugliese G., Colonna M. A. The Most Important Metabolic Diseases in Dairy Cattle during the Transition Period // *Animals (Basel)*. 2024. No. 14. DOI: 10.3390/ani14050816.
5. Várhidi Z., Máté M., Ózsvári L. The use of probiotics in nutrition and herd health management in large Hungarian dairy cattle farms // *Frontiers in Veterinary Science*. 2022. No. 9. DOI: 10.3389/fvets.2022.957935.
6. Shridhar P. B., Amachawadi R. G., Tokach M., Patel I., Gangiredla J., Mammel M., Nagaraja T. G. Whole genome sequence analyses-based assessment of virulence potential and antimicrobial susceptibilities and resistance of *Enterococcus faecium* strains isolated from commercial swine and cattle probiotic products // *The Journal of Animal Science*. 2022. No. 100. DOI: 10.1093/jas/skac030.
7. Лаптев Г. Ю., Новикова Н. И., Йылдырым Е. А., Ильина Л. А., Тарлавин Н. В. Микробиом сельскохозяйственных животных: связь со здоровьем и продуктивностью. Санкт-Петербург: Проспект науки, 2020. 336 с.
8. Gross J. J. Dairy cow physiology and production limits // *Animal Frontiers*. 2023. No. 13. DOI: 10.1093/af/vfad014.
9. Softic A., Martin A. D., Skjerve E., Fejzic N., Goletic T., Kustura A., Granquist E. G. Reproductive Performance in a Selected Sample of Dairy Farms in Una-Sana Canton, Bosnia and Herzegovina // *Veterinary Medicine International*. 2020. No. 16. DOI: 10.1155/2020/2190494.
10. Borş S. I., Borş A. Ovarian cysts, an anovulatory condition in dairy cattle // *Veterinary Medicine and Science*. 2020. No. 82. DOI: 10.1292/jvms.20-0381.
11. Xu X., Bai J., Liu K., Xiao L., Qin Y., Gao M., Liu Y. Association of Metabolic and Endocrine Disorders with Bovine Ovarian Follicular Cysts // *Animals*. 2021. No. 13. DOI: 10.3390/ani13213301.
12. Froidurot A., Jullian V. Cellulolytic bacteria in the large intestine of mammals // *Gut Microbes*. 2022. No. 14. DOI: 10.1080/19490976.2022.2031694.
13. Vitetta L., Llewellyn H., Oldfield D. Gut Dysbiosis and the Intestinal Microbiome: *Streptococcus thermophilus* a Key Probiotic for Reducing Uremia // *Microorganisms*. 2019. No. 7. DOI: 10.3390/microorganisms7080228.
14. Afzaal M., Saeed F., Shah Y. A., Hussain M., Rabail R., Socol C. T., Hassoun A., Pateiro M., Lorenzo J. M., Rusu A. V., Aadil R. M. Human gut microbiota in health and disease: Unveiling the relationship // *Frontiers in Microbiology*. 2022. No. 13. DOI: 10.3389/fmicb.2022.999001.
15. Kim S. H., Ramos S. C., Valencia R. A., Cho Y. I., Lee S. S. Heat Stress: Effects on Rumen Microbes and Host Physiology, and Strategies to Alleviate the Negative Impacts on Lactating Dairy Cows // *Frontiers in Microbiology*. 2022. No. 13. DOI: 10.3389/fmicb.2022.804562.

16. Wang A., Brito L. F., Zhang H., Shi R., Zhu L., Liu D., Guo G., Wang Y. Exploring milk loss and variability during environmental perturbations across lactation stages as resilience indicators in Holstein cattle // *Frontiers in Genetics*. 2022. No. 13. DOI: 10.3389/fgene.2022.1031557.

#### Об авторах:

**Татьяна Сергеевна Сметанникова**, аспирант факультета зооинженерии и биотехнологии, Санкт-Петербургский государственный аграрный университет, Санкт-Петербург, Пушкин, Россия; главный зоотехник по селекционной работе, АО «Гатчинское», д. Большие Колпаны, Ленинградская область, Россия; ORCID 0000-0003-2566-288X, AuthorID 1168218. *E-mail: tanyha.95@mail.ru*

**Валентина Анатольевна Филиппова**, заведующая лабораторией кормления, Санкт-Петербургский государственный аграрный университет, Санкт-Петербург, Пушкин, Россия; биотехнолог молекулярно-генетической лаборатории, ООО «БИОТРОФ», Санкт-Петербург, Россия; ORCID 0000-0001-8789-9837, AuthorID 162830. *E-mail: filippova@biotrof.ru*

**Елена Александровна Йылдырым**, доктор биологических наук, профессор кафедры крупного животноводства, Санкт-Петербургский государственный аграрный университет, Санкт-Петербург, Пушкин, Россия; главный биотехнолог молекулярно-генетической лаборатории, ООО «БИОТРОФ», Санкт-Петербург, Россия; ORCID 0000-0002-5846-5105, AuthorID 714700. *E-mail: deniz@biotrof.ru*

**Ирина Александровна Ключникова**, аспирант факультета зооинженерии и биотехнологии, Санкт-Петербургский государственный аграрный университет, Санкт-Петербург, Пушкин, Россия; ORCID 0009-0008-6484-1235, AuthorID 1212627. *E-mail: klyuchnikova.irinaa@yandex.ru*

**Лариса Александровна Ильина**, доктор биологических наук, профессор кафедры крупного животноводства, Санкт-Петербургский государственный аграрный университет, Санкт-Петербург, Пушкин, Россия; начальник молекулярно-генетической лаборатории, АО «Гатчинское», д. Большие Колпаны, Ленинградская область, Россия; ORCID 0000-0003-2789-4844, AuthorID 673421. *E-mail: ilina@biotrof.ru*

#### References

1. FAO. 2021. Dairy Market Review: Overview of global dairy market developments in 2020, April 2021. Rome [Internet] [cited 2024 Aug 10]. Available from: <https://openknowledge.fao.org>.
2. Mu Y., Qi W., Zhang T., Zhang J., Mao S. Multi-omics Analysis Revealed Coordinated Responses of Rumen Microbiome and Epithelium to High-Grain-Induced Subacute Rumen Acidosis in Lactating Dairy Cows. *mSystems*. 2022; 7. DOI: 10.1128/msystems.
3. Ricci S., Pacífico C., Castillo-Lopez E., Rivera-Chacon R., Schwartz-Zimmermann H. E., Reisinger N., Berthiller F., Zebeli Q., Petri R. M. Progressive microbial adaptation of the bovine rumen and hindgut in response to a step-wise increase in dietary starch and the influence of phytogenic supplementation. *Frontiers in Microbiology*. 2022; 22. DOI: 10.3389/fmicb.
4. Tufarelli V., Puvača N., Glamočić D., Pugliese G., Colonna M. A. The Most Important Metabolic Diseases in Dairy Cattle during the Transition Period. *Animals (Basel)*. 2024; 14. DOI:10.3390/ani14050816.
5. Várhidi Z., Máté M., Ózsvári L. The use of probiotics in nutrition and herd health management in large Hungarian dairy cattle farms. *Frontiers in Veterinary Science*. 2022; 9. DOI: 10.3389/fvets.2022.957935.
6. Shridhar P. B., Amachawadi R. G., Tokach M., Patel I., Gangiredla J., Mammel M., Nagaraja T. G. Whole genome sequence analyses-based assessment of virulence potential and antimicrobial susceptibilities and resistance of *Enterococcus faecium* strains isolated from commercial swine and cattle probiotic products. *The Journal of Animal Science*. 2022; 100. DOI:10.1093/jas/skac030.
7. Laptev G. Yu., Novikova N. I., Yildirim E. A., Ilyina L. A., Tarlavin N. V. *Microbiome of farm animals: connection with health and productivity*. Saint Petersburg: Prospekt nauki, 2020. 336 p. (In Russ.)
8. Gross J. J. Dairy cow physiology and production limits. *Animal Frontiers*. 2023; 13. DOI: 10.1093/af/vfad014.
9. Softic A., Martin A. D., Skjerve E., Fejzic N., Goletic T., Kustura A., Granquist E. G. Reproductive Performance in a Selected Sample of Dairy Farms in Una-Sana Canton, Bosnia and Herzegovina. *Veterinary Medicine International*. 2020; 16. DOI: 10.1155/2020/2190494.
10. Borş S. I., Borş A. Ovarian cysts, an anovulatory condition in dairy cattle. *Veterinary Medicine and Science*. 2020; 82. DOI: 10.1292/jvms.20-0381.
11. Xu X., Bai J., Liu K., Xiao L., Qin Y., Gao M., Liu Y. Association of Metabolic and Endocrine Disorders with Bovine Ovarian Follicular Cysts. *Animals*. 2021; 13. DOI: 10.3390/ani13213301.
12. Froidurot A., Julliand V. Cellulolytic bacteria in the large intestine of mammals. *Gut Microbes*. 2022; 14. DOI: 10.1080/19490976.2022.2031694

13. Vitetta L., Llewellyn H., Oldfield D. Gut Dysbiosis and the Intestinal Microbiome: *Streptococcus thermophilus* a Key Probiotic for Reducing Uremia. *Microorganisms*. 2019; 7. DOI: 10.3390/microorganisms7080228.
14. Afzaal M., Saeed F., Shah Y. A., Hussain M., Rabail R., Socol C. T., Hassoun A., Pateiro M., Lorenzo J. M., Rusu A. V., Aadil R. M. Human gut microbiota in health and disease: Unveiling the relationship. *Frontiers in Microbiology*. 2022; 13. DOI: 10.3389/fmicb.2022.999001.
15. Kim S. H., Ramos S. C., Valencia R. A., Cho Y. I., Lee S. S. Heat Stress: Effects on Rumen Microbes and Host Physiology, and Strategies to Alleviate the Negative Impacts on Lactating Dairy Cows. *Frontiers in Microbiology*. 2022; 13. DOI: 10.3389/fmicb.2022.804562.
16. Wang A., Brito L. F., Zhang H., Shi R., Zhu L., Liu D., Guo G., Wang Y. Exploring milk loss and variability during environmental perturbations across lactation stages as resilience indicators in Holstein cattle. *Frontiers in Genetics*. 2022; 13. DOI: 10.3389/fgene.2022.1031557.

**Authors' information:**

**Tatyana A. Smetannikova**, postgraduate of the department of large livestock, Saint Petersburg State Agrarian University, Saint Petersburg, Pushkin, Russia; chief zootechnician for breeding work, Gatchinskoe JSC, Bolshie Kolpany village, Leningrad region, Russia; ORCID 0000-0003-2566-288X AuthorID 1168218.

*E-mail: tanyha.95@mail.ru*

**Valentina A. Filippova**, head of the laboratory of feeding, Saint Petersburg State Agrarian University, Saint Petersburg, Pushkin, Russia; biotechnologist of the molecular genetic laboratory, BIOTROF LLC, Saint Petersburg, Russia; ORCID 0000-0001-8789-9837, AuthorID 162830. *E-mail: filippova@biotrof.ru*

**Elena A. Yyldyrym**, doctor of biological sciences, professor of the department of large livestock, Saint Petersburg State Agrarian University, Saint Petersburg, Pushkin, Russia; chief biotechnologist of the molecular genetic laboratory, BIOTROF LLC, Saint Petersburg, Russia; ORCID 0000-0002-5846-5105, AuthorID 714700.

*E-mail: deniz@biotrof.ru*

**Irina A. Klyuchnikova**, postgraduate of the faculty of bioengineering and biotechnology, Saint Petersburg State Agrarian University, Saint Petersburg, Pushkin, Russia; ORCID 0009-0008-6484-1235, AuthorID 1212627.

*E-mail: klyuchnikova.irinaa@yandex.ru*

**Larisa A. Ilyina**, doctor of biological sciences, professor of the department of large livestock, Saint Petersburg State Agrarian University, Saint Petersburg, Pushkin, Russia; head of the molecular genetic laboratory, BIOTROF LLC, Saint Petersburg, Russia; ORCID 0000-0003-2789-4844, AuthorID 673421. *E-mail: ilina@biotrof.ru*