



Сравнительная характеристика кишечного микробиома местного крупного рогатого скота и скота абердин-ангусской породы, импортированного в Казахстан

А. Т. Даугалиева¹, С. Т. Даугалиева², М. А. Кинеев³, Б. С. Арынгазиев⁴, А. И. Сембаева⁵, Т. А. Лаврентьева⁶

^{1,3-6} ТОО «Казахский научно-исследовательский институт животноводства и кормопроизводства» (ТОО «КазНИИЖИ»), г. Алматы, Казахстан

² ТОО «Научно-производственный центр микробиологии и вирусологии», г. Алматы, Казахстан

¹ <https://orcid.org/0000-0002-7703-7798>, e-mail: aida1979@bk.ru

² <https://orcid.org/0000-0002-8826-3942>, e-mail: saule.daugalieva@mail.ru

³ <https://orcid.org/0000-0003-2170-6160>, e-mail: K_maratAK@mail.ru

⁴ <https://orcid.org/0000-0002-0256-4972>, e-mail: berik_aryngaziev@mail.ru

⁵ <https://orcid.org/0000-0003-3392-208X>, e-mail: sembaeva_aigul@mail.ru

⁶ <https://orcid.org/0000-0002-70444-0613>, e-mail: tane4ka_84_25@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Микробиом животных играет существенную роль во всех жизненно важных процессах организма. Его изучение необходимо для детального понимания процессов, происходящих между микроорганизмами, населяющими определенный орган, и их взаимосвязи с клетками макроорганизма. Оценка состояния микробного сообщества животных и его функции может оказать неоценимую помощь в поиске новых стратегий повышения эффективности кормления и сохранения здоровья крупного рогатого скота. Целью исследования было сравнение таксономической структуры микробиома кишечника крупного рогатого скота абердин-ангусской породы, импортированного в Казахстан, и коров местных пород с помощью технологии секвенирования нового поколения. Был определен полный микробный состав содержимого кишечника животных при исследовании образцов экскрементов без предварительной стадии микробиологического культивирования на питательных средах. Результаты 16S метагеномного анализа показали, что доминирующими бактериальными таксонами в микробиоме кишечника животных обеих групп на уровне типа были *Firmicutes* и *Proteobacteria* примерно в одинаковом количестве. На уровне бактериальных семейств численность представителей *Clostridiaceae* была немного больше у коров абердин-ангусской породы (19,7%), чем у скота местной породы (15,4%). Представители семейств *Bacteroidaceae*, *Peptococcaceae*, *Ruminococcaceae* и *Coriobacteriaceae* преобладали в микробном сообществе кишечника местного скота. Данные микроорганизмы участвуют в синтезе витаминов, стимулируют иммунную функцию организма, нормализуют пищеварение, увеличивают усвояемость питательных веществ и, как следствие, повышают привесы у животных. Бактерии семейства *Prevotellaceae* были выявлены в небольшом количестве (0,5%) только у коров местной породы, которые имели высокие привесы. На уровне рода значительное разнообразие наблюдали в микробиоме местного скота: всего 65 таксонов против 40 у абердин-ангусов. Установлено, что в кишечном микробиоме крупного рогатого скота местных пород содержится меньшее количество метаногенов и большее количество ацетогенов.

Ключевые слова: микробиом, крупный рогатый скот, абердин-ангусская порода, секвенирование нового поколения

Благодарности: Работа профинансирована и выполнена в рамках грантового проекта Комитета науки Министерства образования и науки Республики Казахстан ИРН АР09259133 «Исследование микробиома желудочно-кишечного тракта крупного рогатого скота с целью уменьшения выбросов парниковых газов».

Для цитирования: Даугалиева А. Т., Даугалиева С. Т., Кинеев М. А., Арынгазиев Б. С., Сембаева А. И., Лаврентьева Т. А. Сравнительная характеристика кишечного микробиома местного крупного рогатого скота и скота абердин-ангусской породы, импортированного в Казахстан. *Ветеринария сегодня*. 2022; 11 (1): 53–60. DOI: 10.29326/2304-196X-2022-11-1-53-60.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Даугалиева Сауле Тлековна, кандидат ветеринарных наук, ведущий научный сотрудник, ТОО «Научно-производственный центр микробиологии и вирусологии», 050010, Республика Казахстан, г. Алматы, ул. Богенбай батыра, 105, e-mail: saule.daugalieva@mail.ru.

Comparative analysis of intestinal microbiome of local cattle and Aberdeen Angus cattle imported to Kazakhstan

A. T. Daugaliyeva¹, S. T. Daugaliyeva², M. A. Kineev³, B. S. Aryngaziyev⁴, A. I. Sembaeva⁵, T. A. Lavrentieva⁶

^{1,3-6} Kazakh Research Institute of Livestock and Fodder Production LLP, Almaty, Kazakhstan

² Scientific Production Center of Microbiology and Virology LLP, Almaty, Kazakhstan

¹ <https://orcid.org/0000-0002-7703-7798>, e-mail: aida1979@bk.ru

² <https://orcid.org/0000-0002-8826-3942>, e-mail: saule.daugalieva@mail.ru

© Даугалиева А. Т., Даугалиева С. Т., Кинеев М. А., Арынгазиев Б. С., Сембаева А. И., Лаврентьева Т. А., 2022

³<https://orcid.org/0000-0003-2170-6160>, e-mail: K_maratAK@mail.ru

⁴<https://orcid.org/0000-0002-0256-4972>, e-mail: berik_aryngaziev@mail.ru

⁵<https://orcid.org/0000-0003-3392-208X>, e-mail: sembaeva_aigul@mail.ru

⁶<https://orcid.org/0000-0002-70444-0613>, e-mail: tane4ka_84_25@mail.ru

SUMMARY

Animal microbiome plays a significant role in all the vital body processes. Studying the microbiome is essential for gaining a detailed insight into the interactions among microorganisms inhabiting a certain organ and their relationship with macroorganism cells. Evaluating the state of animal microbial community and its function can provide an invaluable assistance in seeking new strategies to improve feed efficiency and maintain cattle health. The aim of the study was to compare the taxonomic structure of the intestinal microbiome of Aberdeen Angus cattle imported to Kazakhstan with that of local breed cows using next generation sequencing technology. The tests of fecal samples allowed for determination of the complete microbial composition of animal intestinal contents, while leaving out the preliminary stage of microbiological cultivation using nutrient media. The results of 16S metagenomic analysis showed that *Firmicutes* and *Proteobacteria* were predominant bacterial taxa at the phylum level in the intestinal microbiome in both groups of animals, with their numbers being roughly the same. At the bacterial family level, the number of *Clostridiaceae* was a little higher in Aberdeen Angus cows (19.7%) than in the local breed cattle (15.4%). The representatives of the families *Bacteroidaceae*, *Peptococcaceae*, *Ruminococcaceae* and *Coriobacteriaceae* prevailed in the gut microbial community of local cattle. These microorganisms are involved in the synthesis of vitamins, they stimulate the immune function of the body, normalize digestion, improve nutrient utilization and thus contribute to body weight gain in animals. Small numbers (0.5%) of bacteria of the family *Prevotellaceae* were detected only in the local breed cows demonstrating high body weight gain. The microbiome of the local cattle was characterized by a considerable diversity at the genus level: the total number of taxa amounted to 65, whereas in Aberdeen Angus cattle it was 40. It was found that the intestinal microbiome of local breed cattle includes less methanogens and more acetogens.

Keywords: microbiome, cattle, Aberdeen Angus, next generation sequencing

Acknowledgements: The study was funded and carried out within the framework of the grant project of the Science Committee of the Ministry of Education and Science of the Republic of Kazakhstan IRN AR09259133 "Cattle gastrointestinal microbiome studies aimed to reduce greenhouse gas emissions".

For citation: Daugaliyeva A. T., Daugaliyeva S. T., Kineev M. A., Aryngaziyev B. S., Sembaeva A. I., Lavrentieva T. A. Comparative analysis of intestinal microbiome of local cattle and Aberdeen Angus cattle imported to Kazakhstan. *Veterinary Science Today*. 2022; 11 (1): 53–60. DOI: 10.29326/2304-196X-2022-11-1-53-60.

Conflict of interest: The authors declare no conflict of interest.

For correspondence: Saule T. Daugaliyeva, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Leading Researcher, Scientific Production Center of Microbiology and Virology LLP, 050010, Republic of Kazakhstan, Almaty, Bogenbai Batyr str., 105, e-mail: saule.daugaliyeva@mail.ru.

ВВЕДЕНИЕ

Жвачные животные, включая крупный и мелкий рогатый скот, являются важным источником получения продуктов питания для человека. Абердин-ангусская порода коров (абердин-ангус) считается самой популярной в мире для производства мраморного мяса. При этом говядина обладает изумительным вкусом и необычайной сочностью. Животные данной породы неприхотливы, быстро растут и набирают мясную массу. Всего лишь за одни сутки прирост массы бычков может составлять от 1 до 5 кг. Благодаря скороспелости и высокому качеству мяса данная порода получила широкое распространение, и поэтому в последние годы в Республику Казахстан импортируется большое количество абердин-ангусов. Однако процесс адаптации скота в условиях Казахстана не изучен, в том числе неизвестно, какое влияние на организм и продуктивность животных оказывает местный климат и рацион кормления.

Микробиом является важной составляющей живых организмов, оказывающей влияние на иммунитет, продуктивность и жизнедеятельность животных. Кишечный микробиом коров, включающий в себя бактерии, археи, простейшие и грибы, обеспечивает выработку различных ферментов, необходимых для расщепления растительных волокон на летучие жирные кислоты

и микробный сырой белок. Изучение состава микробного сообщества, участвующего в микробном метаболизме рубца, представляет большой интерес при разработке новых стратегий для повышения эффективности кормления и сохранения здоровья крупного рогатого скота [1]. В состав микробиома также входят метаногенные археи, от которых зависит количество выделяемого животными метана, что является одной из проблем современной экологии.

Большая часть микробов не культивируется *in vitro* и не может быть выращена на лабораторных питательных средах. Процесс выращивания анаэробов довольно сложен из-за медленного роста микробов, необходимости ограничения доступа кислорода и других требований, предъявляемых к параметрам культивирования [2]. Метагеномный анализ позволяет описать микробное сообщество с помощью высокопроизводительной технологии секвенирования нового поколения (NGS) на основе идентификации ДНК, минуя стадию микробиологического культивирования. Секвенирование гипервариабельных областей высококонсервативных и универсальных генов 16S рРНК широко используется для характеристики бактериальных сообществ и архей [3, 4].

Целью работы было сравнение таксономической структуры микробиома кишечника крупного рогатого скота абердин-ангусской породы и местных пород

для оценки его влияния на иммунитет, продуктивность животных, выработку метана в условиях Республики Казахстан.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Образцы фекалий отбирали из прямой кишки в трех повторностях от трех голов крупного рогатого скота абердин-ангусской породы седьмого поколения и трех голов коров местных пород в хозяйствах, расположенных на соседних фермах в Алматинской области. Все образцы кишечного содержимого немедленно замораживали в сухом льду и доставляли в лабораторию, где хранили при минус 80 °С до выделения ДНК.

16S метагеномный анализ проводили на секвенаторе MiSeq (Illumina, США) с использованием набора для секвенирования MiSeq reagent Kit V3 (300 cycle) (Illumina, США).

Микробную ДНК из фекалий экстрагировали с помощью набора PureLink™ Microbiome DNA Purification Kit согласно протоколу производителя (Invitrogen, США). Концентрацию ДНК измеряли на флуориметре Qubit® 2.0 (Invitrogen, США).

Генетические библиотеки готовили согласно протоколу 16S Metagenomic Sequencing Library Preparation (Part # 15044223 Rev. A, Illumina, США). Варибельные V3 и V4 регионы 16S рРНК гена были амплифицированы с помощью универсальных праймеров с добавлением адаптеров Illumina: прямой праймер – 5'-TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAGCCTACGGGNGGWGAG-3' и обратный праймер – 5'-GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGGACTACHVGGGTATCTAATCC-3' [5]. Реакционная смесь содержала: 2,5 µL ДНК-матрицы, по 5 µL каждого праймера с концентрацией 1 µM, 12,5 µL 2× KAPA HiFi HotStart ReadyMix (Kapa Biosystems, Inc., США). ПЦР-амплификация была проведена в термоциклере Eppendorf Mastercycler pro S (Eppendorf, Германия) по следующей программе: 95 °С – 3 мин; 25 циклов: 95 °С – 30 с, 55 °С – 30 с, 72 °С – 30 с; один цикл при 72 °С – 5 мин.

Концентрацию и размер ПЦР-продукта определяли на Bioanalyzer 2100 (Agilent, США).

Далее к каждому образцу добавляли адаптеры Nextera XT Index primer (Illumina, США) путем амплификации в реакционной смеси: 12,5 µL KAPA HiFi HotStart ReadyMix, по 5 µL каждого индекс-праймера, 10 µL воды и по 5 µL ПЦР-продукта. Программа амплификации: 95 °С – 3 мин; 8 циклов: 95 °С – 30 с, 55 °С – 30 с, 72 °С – 30 с; один цикл при 72 °С – 5 мин.

ПЦР-продукт до и после добавления индексов был очищен с помощью набора Agencourt AMPure PCR purification kit (Beckman Coulter, Inc., США).

Полученные библиотеки были нормализованы до концентрации 4 nM и объединены в общий пул. Библиотеки соединяли с реагентом для контроля секвенирования MiSeq™ PhiX Control Kit (Illumina, США), вносили в картридж набора для секвенирования, затем картридж и проточную ячейку загружали в прибор. Реакцию секвенирования осуществляли с помощью программного обеспечения MiSeq™ Control Software v2.6. Пул библиотек секвенировали в приборе MiSeq (Illumina, США) с помощью набора MiSeq reagent Kit V3 (300 cycle) (Illumina, США).

Анализ и обработка данных были проведены с помощью программного обеспечения MiSeq™ Reporter Software (Illumina, США). Таксономическая классификация осуществлялась путем сравнения с данными 16S рРНК гена из международной базы данных Greengenes Database Lawrence Berkeley National Laboratory (LBNL, США) (<http://greengenes.lbl.gov>).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Таксономическую идентификацию всех присутствующих в кишечном микробиоме бактерий проводили по следующим таксономическим рангам: царство, отдел, класс, порядок, семейство, род и вид.

Как показано на рисунке 1а, большинство оперативных таксономических единиц, выявленных в фекалиях

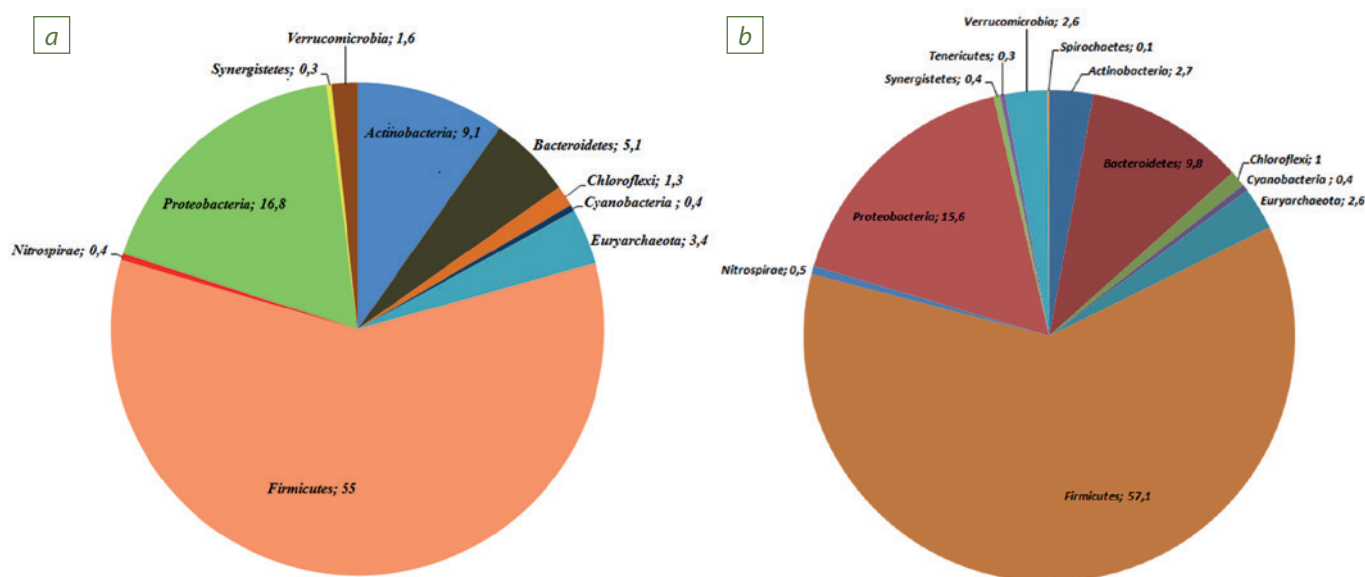


Рис. 1. Относительная численность (% от общего количества) основных типов бактерий, обнаруженных в микробиоме кишечника крупного рогатого скота: а – абердин-ангусская порода и б – местные породы Казахстана

Fig. 1. Relative abundance (% of the total number) of major types of bacteria detected in the intestinal microbiome of cattle: а – Aberdeen Angus and б – local breeds of Kazakhstan

скота абердин-ангусской породы, были отнесены к следующим типам бактерий: *Firmicutes* (55%), *Proteobacteria* (16,8%), *Actinobacteria* (9,1%), *Bacteroidetes* (5,1%), *Euryarchaeota* (3,4%), *Verrucomicrobia* (1,6%). При этом у скота местных пород преобладали такие типы бактерий, как *Firmicutes* (57,1%), *Proteobacteria* (15,6%), *Bacteroidetes* (9,8%), *Actinobacteria* (2,7%), *Euryarchaeota* (2,6%) и *Verrucomicrobia* (2,6%) (рис. 1b).

Как отмечают S. Y. Mao et al. [6] и R. W. Li et al. [7], чрезмерное кормление зерном крупного рогатого скота снижает численность представителей типа *Bacteroidetes* в микробном сообществе пищеварительного тракта, что, в свою очередь, приводит к интенсивному размножению и увеличению числа условно-патогенных микроорганизмов типов *Firmicutes* и *Proteobacteria*. При повышенной концентрации фекального крахмала наблюдается увеличение численности представителей типа *Bacteroidetes* и снижение доли *Firmicutes* [8]. В нашем случае коровам абердин-ангусской породы скармливали фураж (силос, сенаж) без добавления концентрированных кормов. Крупный рогатый скот местных пород выпасался на пастбище. Установлено, что у животных обеих пород в структуре кишечного микробиома бактерии типов *Firmicutes* и *Proteobacteria* преобладали над типом *Bacteroidetes*. Представители типа *Bacteroidetes* являются основными деструкторами сложных полисахаридов клеточной стенки растений ввиду наличия у них гликозидгидролазы и полисахаридной лиазы. Поскольку синтезируемые в организме крупного рогатого скота бактериями фер-

менты способствуют расщеплению и перевариванию клетчатки, снижение доли *Bacteroidetes* может привести к нарушению процессов пищеварения у животных [7, 8]. При увеличении в микробиоме кишечника числа микроорганизмов типов *Firmicutes*, *Proteobacteria* и *Cyanobacteria*, участвующих в переваривании и усвоении питательных веществ кормов, происходит заметное увеличение показателей прироста массы тела животного [9–11].

Представленные на рисунке 2 данные показывают, что на уровне бактериальных семейств у коров абердин-ангусской породы в микробном сообществе кишечника преобладали *Clostridiaceae* (19,7%), *Lachnospiraceae* (7,1%), *Enterobacteriaceae* (6,7%), *Planococcaceae* (5,9%), *Moraxellaceae* (4,1%), *Ruminococcaceae* (3,4%), *Methanobacteriaceae* (3,3%), *Coriobacteriaceae* (2,5%), *Peptostreptococcaceae* (2,1%), *Corynebacteriaceae* (1,8%), *Porphyromonadaceae* и *Erysipelotrichaceae* (по 1,0%). У местных коров преобладали следующие бактериальные семейства: *Clostridiaceae* (15,4%), *Lachnospiraceae* (8,5%), *Moraxellaceae* (7,0%), *Planococcaceae* (6,8%), *Ruminococcaceae* (5,5%), *Enterobacteriaceae* и *Coriobacteriaceae* (по 3,3%), *Methanobacteriaceae* и *Veillonellaceae* (по 2,5%), *Bacteroidaceae* (2,2%), *Porphyromonadaceae* (1,6%).

По имеющимся в литературе данным [12–14], бактерии семейств *Lachnospiraceae*, *Enterobacteriaceae*, *Turicibacteraceae* и *Bifidobacteriaceae* являются доминирующими в микробиоте кишечника крупного рогатого скота, основная часть рациона которого состоит из зерновых

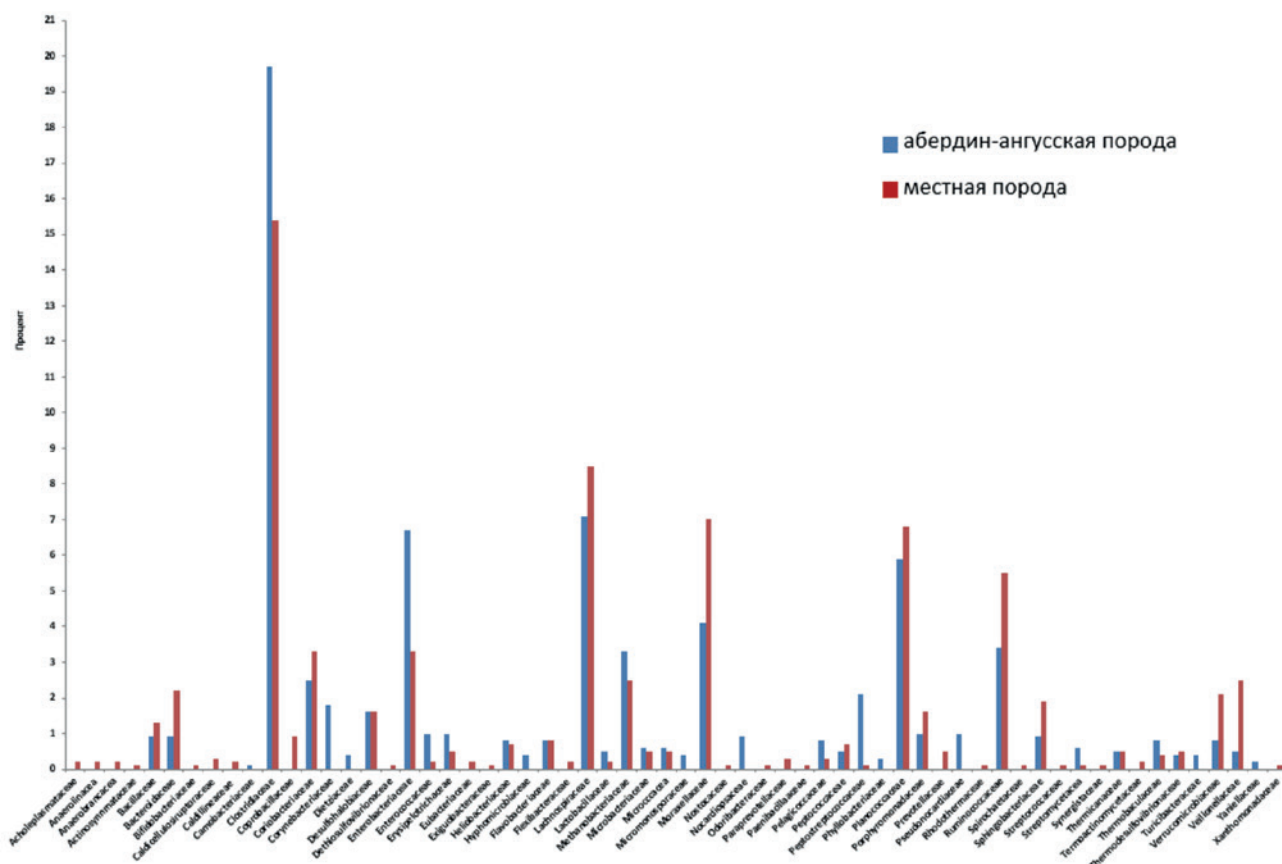


Рис. 2. Микробный профиль бактериального сообщества кишечника на уровне семейства крупного рогатого скота абердин-ангусской и местных пород Казахстана

Fig. 2. Gut microbial community profile (bacterial family level) of Aberdeen Angus and local breed cattle of Kazakhstan

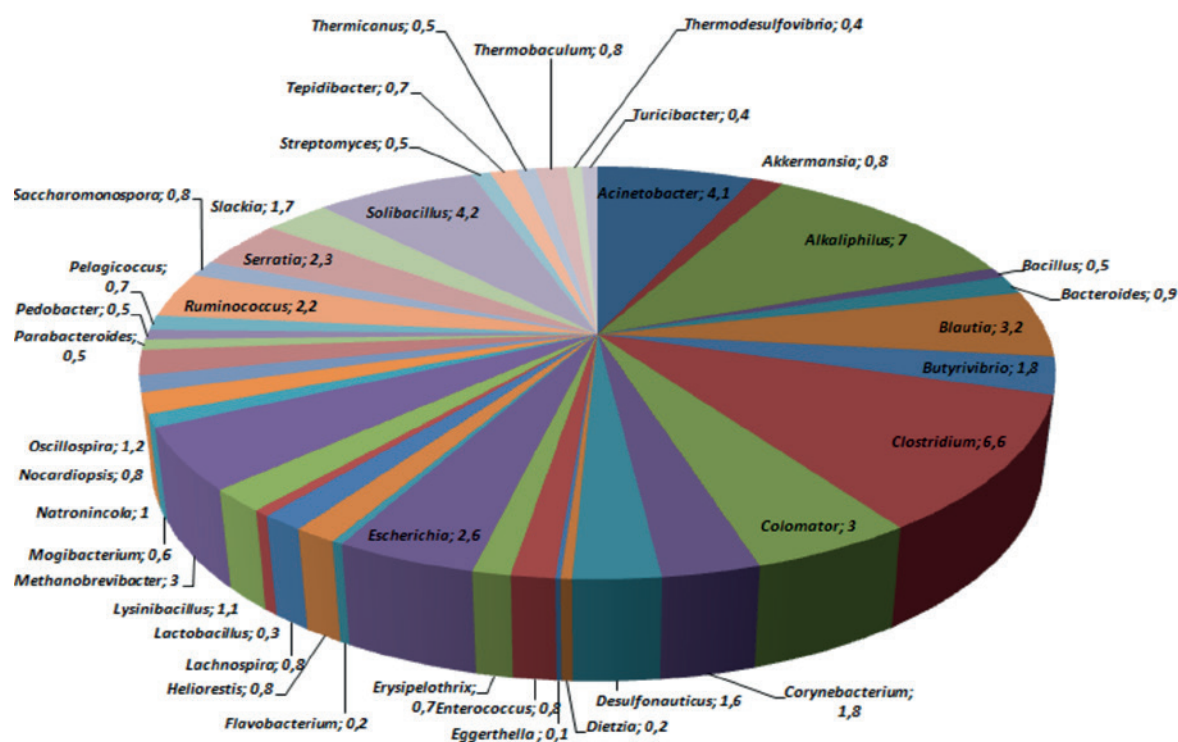


Рис. 3. Микробный профиль бактериального сообщества кишечника на уровне рода у крупного рогатого скота абердин-ангусской породы

Fig. 3. Gut microbial community profile (bacterial genus level) in Aberdeen Angus cattle

культур, тогда как представителей *Bacteroidaceae*, *Porphyromonadaceae*, *Paraprevotellaceae* значительно чаще выявляют у животных, питающихся травой. Однако полученные в настоящем исследовании результаты не подтвердили данное утверждение. Микроорганизмы семейств *Bacteroidaceae* и *Peptococcaceae*, участвующие в синтезе витаминов, нормализующие процесс пищеварения, стимулирующие иммунную функцию организма и подавляющие патогенные микробы, были обнаружены в большем количестве у местного скота. Считается, что численность *Prevotellaceae* в 10 раз больше у коров, которым скармливают необработанное зерно, чем у животных, получавших исключительно фураж. При проведении метагеномного анализа в рамках данной работы микроорганизмы этого семейства были выявлены в небольшом количестве (0,5%) у скота местных пород.

Ruminococcaceae является наиболее многочисленным семейством микроорганизмов в составе микробиома прямой кишки животных, питающихся травой. Эта группа бактерий использует пищевые волокна в качестве источника энергии. Повышенное количество *Ruminococcaceae* и *Lachnospiraceae* в микробном сообществе кишечника указывает на более полную ферментацию клетчатки, крахмала и увеличение усвояемости питательных веществ. Также представителями этих таксонов являются ацетогены, которые используют водород в качестве источника энергии. Численность данных микроорганизмов увеличивается при уменьшении образования метана, что и наблюдали в опыте у местного крупного рогатого скота. У коров, находящихся на зерновом откорме, бактерии семейства *Ruminococcaceae* преобразуют первичные желчные кислоты во вторичные и тем самым способствуют нормальному пищеварению [15–17].

Высокая численность *Clostridiaceae* наблюдается в тощей кишке у животных, получавших концентрированные корма, и у телят, отнятых от коров-матерей. Большинство представителей *Clostridiaceae* являются комменсалами и участвуют в переваривании углеводов и белков. Некоторые *Clostridiaceae*, такие как *Clostridium perfringens*, являются причиной ряда инфекционных заболеваний человека и животных [16, 17]. Бактерии семейства *Coriobacteriaceae* могут модулировать метаболизм липидов у животного, поэтому их обнаруживают в большом количестве у бычков с высокими привесами [16].

Shabat S. K. et al. установили, что у дойных коров с наименьшей эффективностью использования корма в кишечном микробиоме преобладали микроорганизмы семейства *Lachnospiraceae* [18]. F. Li et al. также наблюдали, что доля бактерий *Lachnospiraceae* увеличивалась у крупного рогатого скота с низкой эффективностью использования корма [19]. Однако эти данные не согласуются с исследованиями P. R. Myer et al., которые доказали, что представители семейства *Lachnospiraceae* более многочисленны в составе микрофлоры бычков с наибольшими привесами [20]. Возрастание численности *Lachnospiraceae* способствует более активному расщеплению пищевых компонентов бактериальными ферментами в слепой кишке, что приводит к повышенному синтезу летучих жирных кислот и увеличению количества питательных веществ. Многие представители *Lachnospiraceae* производят микробный метаболит бутират, который является источником энергии для эпителиальных клеток кишечника [3, 14, 15]. В проведенном исследовании у местного скота было выявлено большее количество *Lachnospiraceae* по сравнению

с абердин-ангусами. Как отмечено P. R. Myer et al., численность микробов семейства *Erysipelotrichaceae* была больше в слепой кишке бычков с наибольшими привесами и наименьшим среднесуточным потреблением корма [20]. Бактерии *Erysipelotrichaceae* участвуют в метаболизме липидов, и сокращение их количества способствует повышению кишечной проницаемости и развитию воспаления [15]. Данные микроорганизмы были выявлены у всех коров абердин-ангусской породы и одного животного местной породы. Семейство *Enterobacteriaceae* включает в себя, наряду с безвредными симбионтами, известные патогены [16]. В нашем исследовании бактерии рода *Serratia* были обнаруже-

ны у абердин-ангусов в 2,3% случаев и у коров местной породы – в 0,9%, бактерии рода *Escherichia* выявлены у всех животных породы абердин-ангус (2,6%) и у одной коровы местной породы (1,2%). Известно, что микроорганизмы *Escherichia* тормозят кишечный транзит и двигательную активность кишечника [21], представители родов *Escherichia* и *Streptococcus* продуцируют токсичные соединения [20]. Как показало исследование, наиболее многочисленным видом микроорганизмов из обнаруженных у всех абердин-ангусов и у двух голов местного скота была *Escherichia albertii*, отличающаяся от *Escherichia coli* наличием дополнительного *eae* гена [22]. *Escherichia coli* выявили только у одной головы местного скота (0,3%). При исследовании проб фекалий местного скота у одного животного был выявлен геном бактерий *Clostridiaceae* (1,3%). Доля кишечной палочки существенно увеличивается при воспалительных процессах в кишечнике, что приводит к дисбактериозу. У коров, в структуре рациона которых преобладает зерно, наблюдали увеличение числа популяций патогенных *Escherichia coli* и *Clostridium perfringens* в рубце и задней кишке [7].

Родовой профиль бактерий, выявленных у коров абердин-ангусской и местной пород, отображен на рисунках 3 и 4.

Как показано на рисунке 3, роды бактерий *Alkaliphilus* (7,0%), *Clostridium* (6,6%), *Acinetobacter* (4,1%), *Solibacillus* (4,2%), *Blautia* (3,2%), *Colomator* и *Methanobrevibacter* (3,0%), *Serratia* (2,3%), *Ruminococcus* (2,2%), *Escherichia* (2,6%) были основными таксонами микробиома прямой кишки у крупного рогатого скота абердин-ангусской породы. У крупного рогатого скота местных пород преобладали роды бактерий *Clostridium* (7,5%), *Acinetobacter* (7,0%), *Blautia* (3,7%), *Solibacillus* (2,7%), *Alkaliphilus* и *Colomator* (2,6%), *Ruminococcus* и *Oscillospira* (2,5%), *Escherichia* (1,2%) (рис. 4).

Метан, образуемый населяющими рубец крупного рогатого скота метаногенными бактериями, является одним из источников загрязнения атмосферы [23]. Род бактерий *Methanobrevibacter* был обнаружен у всех коров абердин-ангусской породы и у двух голов местного скота, род *Methanosphaera* выявлен только у одной коровы местной породы.

Представители рода *Lactobacillus* были обнаружены только у двух животных абердин-ангусской породы. Лактобациллы продуцируют молочную кислоту (лактат) в качестве основного конечного продукта углеводного метаболизма и участвуют в биотрансформации желчных кислот. При проведении настоящего исследования бактерии родов *Lactobacillus*, *Streptococcus* и *Sharpea* были выявлены у одной коровы местной породы, *Selenomonas* обнаружен у двух голов местного скота. Микроорганизмы рода *Ruminococcus* участвуют в разложении полисахаридов [15, 17]. Как показывают литературные данные, численность *Ruminococcus* бывает значительно больше у животных, получающих зерно, тогда как *Solibacillus* и *Acinetobacter* чаще выявляют у коров, которым скормливают траву [3, 16], что согласуется с результатами наших экспериментов.

Известно, что микроорганизмы родов *Streptococcus* и *Bifidobacterium* преобладают в микробном сообществе кишечника крупного рогатого скота, получавшего рацион с высокой долей зерна и при ацидозе рубца. Данные бактерии производят молочную кислоту в ре-

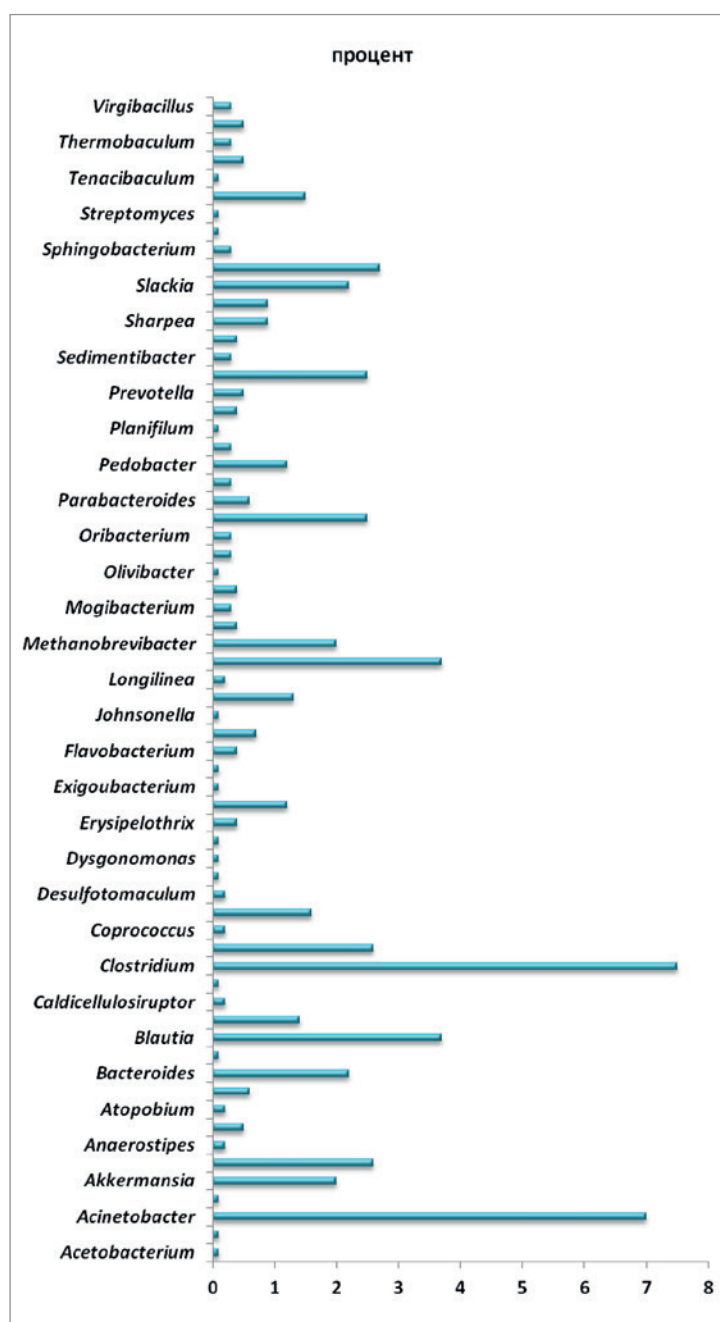


Рис. 4. Микробный профиль бактериального сообщества кишечника на уровне рода у крупного рогатого скота местных пород

Fig. 4. Gut microbial community profile (bacterial genus level) in local breed cattle

зультате ферментации крахмала в рубце [14, 16]. *Bifidobacterium* также обладают антимикробной активностью, производят ацетат [14, 15]. В нашем исследовании только у одной коровы местной породы присутствовали представители данных родов.

Микроорганизмы родов *Butyrivibrio* и *Blautia* часто встречаются у бычков при эффективном откорме [11]. Бактерии *Butyrivibrio* разлагают пектин, фенилаланин, тирозин и триптофан [12, 15]. Общей чертой бактерий рода *Blautia* является утилизация водорода и диоксида углерода и способность продуцировать ацетат (уксусную кислоту) во время расщепления сложных углеводов. Бактерии рода *Akkermansia* производят жирные кислоты, такие как ацетат, пропионат и бутират. Численность аккермансий снижается на фоне воспалительных заболеваний кишечника [15, 20]. Бактерии рода *Lysinibacillus* в процессе метаболизма различных сахаров и простых углеводов используют кислород. *Alcaliphilus peptidifermentans* – микроорганизм, ферментирующий пептиды и способный восстанавливать Fe (III) [24], был выявлен у трех абердин-ангусов и двух голов местного скота.

У животных, получавших концентрированные корма, представители бактериального рода *Prevotella* являются основными продуцентами пропионата и сукцината [7]. *Prevotella* расщепляет полисахариды и белки, присутствует в рубце и способна эффективно расти в кислой среде при pH 5,1 [12, 14]. Численность данных бактерий увеличивается при ингибировании метаногенеза. Кроме того, превотелла способна разлагать пектин и является поставщиком метанола в рубце [12, 23]. Бактерии этого рода были выявлены только у двух коров местной породы.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в исследованиях была определена таксономическая структура и проведена сравнительная характеристика бактериального микробиома кишечника импортных и местных пород крупного рогатого скота.

Преобладание бактериального типа *Euryarchaeota* у абердин-ангусов в сравнении с местным скотом свидетельствует о повышенном образовании метана. Так, метаногенные бактерии родов *Methanobrevibacter* и *Methanosphaera* чаще выявляли у скота абердин-ангусской породы. Бактериальные семейства *Lachnospiraceae* и *Blautia* преобладали в кишечном микробиоме местного скота, что показывает его преимущество над абердин-ангусами, так как данные семейства являются ацетогенами. Микроорганизмы семейства *Prevotellaceae*, также являющиеся ацетогенами, обнаружены только у местного скота.

Условно-патогенные микроорганизмы рода *Serratia* были выявлены у всех исследуемых импортных коров. У одного животного местной породы обнаружили *Escherichia coli* и бактерии рода *Serratia*, еще у одной коровы выявили *Clostridium perfringens*.

Представители семейств *Bacteroidaceae* и *Peptococcaceae* преобладали в микробном сообществе кишечника местного скота. Бактерии семейства *Prevotellaceae* были выявлены только у коров местной породы, которые имели высокие привесы. Представители семейств *Ruminococcaceae* и *Coriobacteriaceae* преобладали у местного скота. Данные микроорганизмы нормализуют пищеварение, увеличивают усвояемость питательных веществ и, как следствие, повышают привесы у живот-

ных. Бактерии рода *Bifidobacterium* были обнаружены у одной головы местного крупного рогатого скота.

Таким образом, результаты исследования показали, что в кишечном микробиоме крупного рогатого скота местных пород в меньшем количестве содержатся метаногены и широко представлены ацетогены, а также выявлен ряд патогенов, что, видимо, связано с пастбищным содержанием.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Carberry C. A., Kenny D. A., Han S., McCabe M. S., Waters S. M. Effect of phenotypic residual feed intake and dietary forage content on the rumen microbial community of beef cattle. *Appl. Environ. Microbiol.* 2012; 78 (14): 4949–4958. DOI: 10.1128/AEM.07759-11.
2. Rufenner W. H. Jr., Nelson W. O., Wolin M. J. Maintenance of the rumen microbial population in continuous culture. *Appl. Microbiol.* 1963; 11 (3): 196–201. DOI: 10.1128/am.11.3.196-201.1963.
3. Matthews C., Crispie F., Lewis E., Reid M., O'Toole P. W., Cotter P. D. The rumen microbiome: a crucial consideration when optimising milk and meat production and nitrogen utilisation efficiency. *Gut. Microbes.* 2019; 10 (2): 115–132. DOI: 10.1080/19490976.2018.1505176.
4. Pace N. R., Stahl D. A., Lane D. J., Olsen G. J. The Analysis of Natural Microbial Populations by Ribosomal RNA Sequences. In: *Advances in Microbial Ecology*. Eds. K. C. Marshall. Vol. 9. Boston: Springer; 1986; Chapter 1: 1–55. DOI: 10.1007/978-1-4757-0611-6_1.
5. Klindworth A., Pruesse E., Schweer T., Peplies J., Quast C., Horn M., Glöckner F. O. Evaluation of general 16S ribosomal RNA gene PCR primers for classical and next-generation sequencing-based diversity studies. *Nucleic Acids Res.* 2013; 41 (1): e1. DOI: 10.1093/nar/gks808.
6. Mao S. Y., Zhang R. Y., Wang D. S., Zhu W. Y. Impact of subacute ruminal acidosis (SARA) adaptation on rumen microbiota in dairy cattle using pyrosequencing. *Anaerobe.* 2013; 24: 12–19. DOI: 10.1016/j.anaerobe.2013.08.003.
7. Li R. W., Connor E. E., Li C., Baldwin VI R. L., Sparks M. E. Characterization of the rumen microbiota of pre-ruminant calves using metagenomic tools. *Environ. Microbiol.* 2012; 14 (1): 129–139. DOI: 10.1111/j.1462-2920.2011.02543.x.
8. Khafipour E., Li S., Tun H. M., Derakhshani H., Moossavi S., Plaizier J. C. Effects of grain feeding on microbiota in the digestive tract of cattle. *Animal Frontiers.* 2016; 6 (2): 13–19. DOI: 10.2527/af.2016-0018.
9. Shanks O. C., Keltz C. A., Archibeque S., Jenkins M., Newton R. J., McLellan S. L., et al. Community structures of fecal bacteria in cattle from different animal feeding operations. *Appl. Environ. Microbiol.* 2011; 77 (9): 2992–3001. DOI: 10.1128/AEM.02988-10.
10. Plaizier J. C., Li S., Tun H. M., Khafipour E. Nutritional models of experimentally-induced subacute ruminal acidosis (SARA) differ in their impact on rumen and hindgut bacterial communities in dairy cows. *Front. Microbiol.* 2017; 7:2128. DOI: 10.3389/fmicb.2016.02128.
11. Myer P. R. Bovine genome-microbiome interactions: metagenomic frontier for the selection of efficient productivity in cattle systems. *mSystems.* 2019; 4 (3): e00103-19. DOI: 10.1128/mSystems.00103-19.
12. Kim M., Park T., Yu Z. Metagenomic investigation of gastrointestinal microbiome in cattle. *Asian-Australas. J. Anim. Sci.* 2017; 30 (11): 1515–1528. DOI: 10.5713/ajas.17.0544.
13. Kelly W. J., Leahy S. C., Kamke J., Soni P., Koike S., Mackie R., et al. Occurrence and expression of genes encoding methyl-compound production in rumen bacteria. *Anim. Microbiome.* 2019; 1 (1): 15. DOI: 10.1186/s42523-019-0016-0.
14. Wallace R. J., Sasson G., Garnsworthy P. C., Tapio I., Gregson E., Bani P., et al. A heritable subset of the core rumen microbiome dictates dairy cow productivity and emissions. *Sci. Adv.* 2019; 5 (7): eaav8391. DOI: 10.1126/sciadv.aav8391.
15. Bach A., López-García A., González-Recio O., Elcoso G., Fàbregas F., Chaucheyras-Durand F., Castex M. Changes in the rumen and colon microbiota and effects of live yeast dietary supplementation during the transition from the dry period to lactation of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 2019; 102 (7): 6180–6198. DOI: 10.3168/jds.2018-16105.
16. Freetly H. C., Dickey A., Lindholm-Perry A. K., Thallman R. M., Keele J. W., Foote A. P., Wells J. E. Digestive tract microbiota of beef cattle that differed in feed efficiency. *J. Anim. Sci.* 2020; 98 (2): skaa008. DOI: 10.1093/jas/skaa008.
17. Liu J., Liu F., Cai W., Jia C., Bai Y., He Y., et al. Diet-induced changes in bacterial communities in the jejunum and their associations with bile acids in Angus beef cattle. *Anim. Microbiome.* 2020; 2 (1): 33. DOI: 10.1186/s42523-020-00051-7.
18. Shabat S. K., Sasson G., Doron-Faigenboim A., Durman T., Yaacoby S., Berg Miller M. E., et al. Specific microbiome-dependent mechanisms

underlie the energy harvest efficiency of ruminants. *ISME J.* 2016; 10 (12): 2958–2972. DOI: 10.1038/ismej.2016.62.

19. Li F., Guan L. L. Metatranscriptomic profiling reveals linkages between the active rumen microbiome and feed efficiency in beef cattle. *Appl. Environ. Microbiol.* 2017; 83 (9):e00061-17. DOI: 10.1128/AEM.00061-17.

20. Myer P. R., Smith T. P., Wells J. E., Kuehn L. A., Freetly H. C. Rumen microbiome from steers differing in feed efficiency. *PLoS One.* 2015; 10 (6):e0129174. DOI: 10.1371/journal.pone.0129174.

21. Zhang G., Wang Y., Luo H., Qiu W., Zhang H., Hu L., et al. The association between inflammaging and age-related changes in the ruminal and fecal microbiota among lactating Holstein cows. *Front. Microbiol.* 2019; 10:1803. DOI: 10.3389/fmicb.2019.01803.

22. Лычкова А. Э. Взаимодействие электромоторной активности гладких мышц и микрофлоры кишечника. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология.* 2012; 11: 84–90. eLIBRARY ID: 21589953.

Lychkova A. E. Interaction of myoelectrical activity of the intestinal smooth muscles and microflora. *Experimental and Clinical Gastroenterology.* 2012; 11: 84–90. eLIBRARY ID: 21589953.

23. Martinez-Fernandez G., Denman S. E., Yang C., Cheung J., Mitsumori M., McSweeney C. S. Methane inhibition alters the microbial community, hydrogen flow, and fermentation response in the rumen of cattle. *Front. Microbiol.* 2016; 7:1122. DOI: 10.3389/fmicb.2016.01122.

24. Khafipour E., Li S., Plaizier J. C., Krause D. O. Rumen microbiome composition determined using two nutritional models of subacute ruminal acidosis. *Appl. Environ. Microbiol.* 2009; 75 (22): 7115–7124. DOI: 10.1128/AEM.00739-09.

Поступила в редакцию / Received 09.06.2021

Поступила после рецензирования / Revised 23.07.2021

Принята к публикации / Accepted 10.08.2021

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Даугалиева Аида Тлековна, кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник ТОО «Казахский научно-исследовательский институт животноводства и кормопроизводства», г. Алматы, Республика Казахстан.

Даугалиева Сауле Тлековна, кандидат ветеринарных наук, ведущий научный сотрудник ТОО «Научно-производственный центр микробиологии и вирусологии», г. Алматы, Республика Казахстан.

Кинеев Марат Айдарович, доктор сельскохозяйственных наук, профессор, академик НАН Казахстана, главный научный сотрудник ТОО «Казахский научно-исследовательский институт животноводства и кормопроизводства», г. Алматы, Республика Казахстан.

Арынгазиев Берик Серикович, кандидат сельскохозяйственных наук, старший научный сотрудник ТОО «Казахский научно-исследовательский институт животноводства и кормопроизводства», г. Алматы, Республика Казахстан.

Сембаева Айгуль Ибрагимовна, магистр, младший научный сотрудник ТОО «Казахский научно-исследовательский институт животноводства и кормопроизводства», г. Алматы, Республика Казахстан.

Лаврентьева Татьяна Александровна, бакалавр, младший научный сотрудник ТОО «Казахский научно-исследовательский институт животноводства и кормопроизводства», г. Алматы, Республика Казахстан.

Aida T. Daugaliyeva, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Senior Researcher, Kazakh Research Institute of Livestock and Fodder Production LLP, Almaty, Republic of Kazakhstan.

Saule T. Daugaliyeva, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Leading Researcher, Scientific Production Center of Microbiology and Virology LLP, Almaty, Republic of Kazakhstan.

Marat A. Kineev, Doctor of Agricultural Science, Professor, Academician of the NAS of the Republic of Kazakhstan, Chief Researcher, Kazakh Research Institute of Livestock and Fodder Production LLP, Almaty, Republic of Kazakhstan.

Berik S. Aryngazyev, Candidate of Agricultural Science, Senior Researcher, Kazakh Research Institute of Livestock and Fodder Production LLP, Almaty, Republic of Kazakhstan.

Aigul I. Sembaeva, Master, Researcher, Kazakh Research Institute of Livestock and Fodder Production LLP, Almaty, Republic of Kazakhstan.

Tatyana A. Lavrentieva, Bachelor, Researcher, Kazakh Research Institute of Livestock and Fodder Production LLP, Almaty, Republic of Kazakhstan.