ISSN 2074-9414 (Print)
ISSN 2313-1748 (Online)

https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-4-2550
https://elibrary.ru/YDRSHS

Оригинальная статья
https://fptt.ru

Влияние обогащенных рационов на состав и функциональный профиль микробиома рубца баранчиков

Т. М. Гиро[1,*], Л. А. Ильина[2,3]

[1] *Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К. А. Тимирязева, Москва, Россия*

[2] *ООО «БИОТРОФ», Санкт-Петербург, Россия*

[3] *Санкт-Петербургский государственный аграрный университет, Пушкин, Санкт-Петербург, Россия*

Поступила в редакцию: 02.08.2024
Принята после рецензирования: 23.08.2024
Принята к публикации: 09.09.2024

**Т. М. Гиро: girotm@sgau.ru, https://orcid.org/0000-0003-3039-1324*
Л. А. Ильина: https://orcid.org/0000-0003-2789-4844

© Т. М. Гиро, Л. А. Ильина, 2024

Аннотация.
Микробиота пищеварительного тракта жвачных животных представляет собой сложную экологическую систему, ведущая роль которой состоит в ферментации компонентов кормов и защите организма от колонизации условно-патогенной и патогенной микрофлорой. Взаимодействие микробиоты с организмом-хозяином на фоне присутствия в рационах различных нутриентов усложняет понимание их влияния на пищеварительные процессы, иммунитет и продуктивность животных. Цель исследования – изучение с применением метода NGS-секвенирования состава и функционального профиля микробных сообществ рубца баранчиков эдильбаевской породы, выращенных с использованием рационов, обогащенных органическими добавками на основе эссенциальных микроэлементов.
Объектом исследования было рубцовое содержимое 7-месячных баранчиков эдильбаевской породы, получавших в составе рациона кормовые добавки на основе микроэлементов Йоддар-Zn и ДАФС-25. Для эксперимента было сформировано 4 группы животных: контрольная (ОР), I опытная (ОР + Йоддар-Zn), II опытная (ОР + ДАФС-25), III опытная (ОР + Йоддар-Zn + ДАФС-25). Состав и функциональный профиль микробиома рубца баранчиков изучали с применением современного молекулярно-генетического метода NGS-секвенирование. Биоинформатический анализ данных выполняли с помощью программного обеспечения Qiime2 ver. 2020.8. Статистическую обработку полученных результатов проводили по стандартной методике.
Результаты эксперимента свидетельствуют о положительном влиянии использованных в рационах кормовых добавок на показатели роста и развития баранчиков. Наибольшие показатели живой массы получены у животных III опытной группы, в рацион которых включали кормовые добавки Йоддар-Zn и ДАФС-25. В составе микробиома происходило изменение соотношения бактерий фил *Firmicutes:Bacteroidetes*, что говорит о потенциальном смещении метаболических процессов в сторону повышения соотношения летучих жирных кислот ацетат:пропионат. Наибольший сдвиг в микробиоме рубца отмечен у животных при использовании в рационах селен-содержащей добавки ДАФС-25 как отдельно, так и в сочетании с препаратом Йоддар-Zn. Применение кормовых добавок в рационах баранчиков не приводило к повышению в рубце относительной численности бактерий *Proteobacteria*, *Mycoplasma*, *Escherichia-Shigella*, роль которых преимущественно связана с развитием различных воспалительных процессов у организма-хозяина.
При использовании в рационе кормовых добавок в функциональном профиле микробиома рубца баранчиков наблюдалось усиление метаболических путей микробиоты рубца, связанных с углеводным и энергетическим обменом, а также синтезом витаминов и кофакторов. Кроме того, выявлены закономерности модификации микробиома, что свидетельствует о позитивном влиянии добавок на метаболические процессы в организме, являясь предпосылкой более полного усвоения кормовых ингредиентов, которые и послужили причиной повышения продуктивности животных опытных групп.

Ключевые слова. Баранчики, жвачные животные, рацион, кормовые добавки, эссенциальные микроэлементы, микробиоценоз, NGS-секвенирование

Финансирование. Исследования выполнены за счет гранта Российского научного фонда № 19-76-10013-П «Разработка и внедрение технологии производства и хранения экологически безопасной баранины, обогащенной эссенциальными микроэлементами».

Для цитирования: Гиро Т. М., Ильина Л. А. Влияние обогащенных рационов на состав и функциональный профиль микробиома рубца баранчиков // Техника и технология пищевых производств. 2024. Т. 54. № 4. С. 848–871. https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-4-2550

https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-4-2550
https://elibrary.ru/YDRSHS

Original article
Available online at https://fptt.ru/en

Effect of Diet Supplements on Rumen Microbiome in Young Ram

Tatiana M. Giro[1,*], Larisa A. Ilina[2,3]

[1] *Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy, Moscow, Russia*

[2] *LLC BIOTROF, St. Petersburg, Russia*

[3] *Saint-Petersburg State Agrarian University, Pushkin, St. Petersburg, Russia*

Received: 02.08.2024
Revised: 23.08.2024
Accepted: 09.09.2024

**Tatiana M. Giro: girotm@sgau.ru, https://orcid.org/0000-0003-3039-1324*
Larisa A. Ilina: https://orcid.org/0000-0003-2789-4844

© T.M. Giro, L.A. Ilina, 2024

Abstract.
The gastrointestinal microbiome of ruminants is a complex ecological system. It ferments feed components and protects the body from opportunistic and pathogenic microflora. The interaction between the microbiota and the host organism depends on the diet, which complicates the scientific understanding of their impact on digestive processes, immunity, and yield. The article describes the composition and functional profile of microbiome in the rumen of young Edilbay rams fed with organic additives based on essential microelements.
The samples were obtained from seven-month-old Edilbay rams, which received Ioddar-Zn and DAFS-25 feed additives. The study involved four groups of animals: control (no additives), experimental group I (Yoddar-Zn), experimental group II (DAFS-25), and experimental group III (Yoddar-Zn + DAFS-25). The composition and functional profile of the microbiome were studied using the NGS sequencing. The bioinformatics data analysis involved Qiime2 ver. 2020.8 and standard statistical methods.
The feed additives had a positive effect on the growth and development of the rams. The highest live weight indicators belonged to experimental group III, which received Yoddar-Zn and DAFS-25. The ratio of Firmicutes and Bacteroidetes phylum changed, indicating a potential shift in metabolic processes towards an increase in the ratio of volatile fatty acids (acetate / propionate). The greatest changes were observed in animals that consumed the selenium additive DAFS-25, both separately and with Ioddar-Zn. The additives did not increase the count of Proteobacteria, Mycoplasma, and Escherichia-Shigella, which are associated with inflammatory processes.
The feed additives affected the functional profile of rumen microbiome in young rams: they improved the carbohydrate and energy metabolism, as well as the synthesis of vitamins and cofactors. In addition, the research revealed some patterns of microbiome modification, which indicated a positive effect of the additives on metabolic processes, resulting in a more efficient digestion of feed ingredients and, eventually, in increased meat yield.

Keywords. Rams, ruminants, diet, feed additives, essential trace elements, microbiome, NGS sequencing

Financing. The research was supported by the Russian Science Foundation, grant No. 19-76-10013-P: Production and storage of environmentally safe mutton fortified with essential trace elements.

For citation: Giro TM, Ilina LA. Effect of Diet Supplements on Rumen Microbiome in Young Ram. Food Processing: Techniques and Technology. 2024;54(4):848–871. (In Russ.). https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-4-2550

Введение

Ожидаемо, что в ближайшее 30-летие население мира увеличится до 9,7 млрд к 2050 г. (ООН, 2019 г.). При этом отмечаемый рост ВВП в развивающихся странах и урбанизация неизбежно направляют концепцию питания в сторону увеличения потребления белковых продуктов животного происхождения [1]. В связи с этим постепенно возрастает и спрос на продукцию животноводства для удовлетворения пищевых потребностей быстро растущего населения, среди которых одним из перспективных направлений является овцеводство [2].

Баранина отличается высокой пищевой ценностью и может использоваться в продуктах для здорового питания. Эффективным способом придания функциональных свойств мясным продуктам признана прижизненная модификация мясного сырья путем оптимизации кормовых рационов, обогащенных функциональными

ингредиентами. В настоящее время установлено, что на формирование качественных характеристик мяса влияет комплекс факторов [3, 4].

Тип питания, качество корма и наличие в нем достаточного количества необходимых минеральных веществ могут оказывать существенное влияние на формирование структуры и функциональный профиль микробного сообщества рубца жвачных. Микроорганизмы рубца жвачных выполняют важнейшие функции в организме, связанные с ферментацией растительных кормов до доступных животным соединений, таких как ЛЖК (летучие жирные кислоты – ацетат, пропионат, бутират и пр.), аммиак, липиды и др. Благодаря сложной анаэробной микробиоте, включающей бактерии, археи, грибы и инфузории, жвачные животные способны использовать растительную клетчатку в качестве источника энергии и питательных веществ. Микроорганизмы рубца, общее видовое разнообразие которых достигает нескольких тысяч, играют различную роль в переваривании соединений кормов и действуют при этом синергически, ферментируя структурные углеводы, белки и жиры растений в результате взаимообусловленных ферментативных процессов [5]. Поэтому доступность питательных веществ может изменять состав микробного сообщества рубца и связанные с ним функции, такие как деградация клетчатки и гидрирование жирных кислот [5]. На фоне высококонцентратных рационов в микробиоте рубца КРС преобладали бактерии с амилолитической способностью *Prevotella ruminicola*, *Prevotella brevis*, *Prevotella bryantii* и *Prevotella albensis*, а на фоне повышенного количества грубых кормов – увеличивалось общее биоразнообразие микробиоты и количество целлюлозолитических видов [6, 7].

Предыдущие исследования подчеркнули существенное влияние состава рациона на усвоение кормов, что оказалось связанным с составом микробиома рубца у различных жвачных животных [6, 8]. В связи с этим в качестве кормовых добавок внимание исследователей привлекают некоторые природные вещества и соединения растительного происхождения с выраженными антимикробными свойствами. Действие данных препаратов основано на коррекции микробиома рубца, направленной на улучшение переваривания клетчатки, ингибирование избыточного выделения аммиака за счет частичного подавления протеолиза, снижение метанообразования и повышение продуктивности животных [9, 10]. Таким образом, стратегия коррекции рациона жвачных путем использования кормовых добавок позволяет снижать затраты на такие необходимые ресурсы, как корма, вакцины, лекарства и нежелательную экологическую нагрузку на окружающую среду [11].

Наличие и количество минералов в рационах жвачных может оказывать влияние на ферментацию кормов в рубце. Отмечалось, что добавление селена в рационы КРС приводило к модификации состава микробиома рубца и соотношения ЛЖК [12]. По данным исследователей, введение в рационы минеральных добавок было связано с количеством в рубце продуцентов таких ЛЖК, как пропионат, изобутират и изовалерат [13, 14]. В других исследованиях отмечалось отсутствие эффекта или отрицательное влияние на ферментативные процессы в рубце, в частности, в ответ на добавление марганца и цинка в рационы животных. Реакция микробиома зависела от источника минералов [13, 15].

В последние годы пристальное внимание исследователей сосредоточено на изучении влияния таких микроэлементов, как цинк, селен, железо, на продуктивные качества животных. В частности, селен все чаще рассматривается как кормовая добавка для повышения усвояемости кормов и продуктивности животных [16, 17]. Выявлено, что применение селена эффективно для нормализации обмена веществ, повышения общей резистентности организма и продуктивности животных [18]. В целой серии исследований было установлено, что добавление цинка в рационы жвачных улучшает такие параметры, как потребление корма, эффективность его усвоения и среднесуточный прирост живой массы животных [18, 19]. Исследователями показано наличие корреляции указанных зоотехнических параметров выращивания животных, в частности прироста живой массы, с содержанием некорых представителей рубцовой микробиоты [19].

Тем не менее на сегодняшний день многие аспекты влияния микроэлементов на здоровье и продуктивность сельскохозяйственных животных изучены недостаточно. В частности, не было получено достаточно сведений о механизмах влиянии микроэлементов на организм хозяина и на микробиоту желудочно-кишечного тракта, особенно у жвачных животных.

Для более глубокого понимания процесса формирования качественных показателей баранины в рамках данного исследования был проведен высокопроизводительный молекулярно-генетический анализ методом NGS-секвенирования. Был изучен состав микробиоценоза содержимого рубца баранчиков, которые выращивались с добавлением эссенциальных микроэлементов в рацион. Метод NGS-секвенирования, основанный на анализе последовательностей гена 16S рРНК, представляет один из наиболее востребованных на сегодняшний день молекулярных методов для «омиксных» исследований. Он позволяет детально охарактеризовать изменения в микробных сообществах таких сложных экосистем, как микробиом рубца жвачных, что позволяет по-новому взглянуть на структуру и функции этих сложных микробных сообществ при различных воздействиях [20].

Проведенные исследования позволили сделать важный шаг к пониманию процессов, происходящих в многокомпонентной матрице под названием «мясо», и оценить перспективы производства высококачественной баранины, обогащенной эссенциальными микроэлементами.

Цель исследования состояла в изучении с применением метода NGS-секвенирования состава и функционального профиля микробных сообществ рубца баранчиков эдильбаевской породы, выращенных с использованием рационов, обогащенных органическими добавками на основе эссенциальных микроэлементов. В задачи входило изучение вклада эссенциальных микроэлементов в составе рационов в формирование микробных сообществ рубца, а также оценка безопасности их применения при откорме баранчиков в промышленных условиях.

Объекты и методы исследования

Для исследования был проведен научно-хозяйственный эксперимент на базе УПП «Экспериментальное животноводство» Краснокутского филиала Саратовского государственного аграрного университета им. Н. И. Вавилова в 2020–2021 гг. Для эксперимента при отъеме от овцематок методом пар-аналогов было сформировано 4 опытные группы из 4-месячных баранчиков эдильбаевской породы, по 10 голов в каждой группе.

Основной рацион животных включал комбикорм ОК-81-2 («Тосненский комбикормовый завод», Россия), предназначенный для молодняка коз и овец старше 4 месяцев. В рационах животных были использованы комплексные кормовые добавки, предназначенные для повышения питательной ценности кормов, восполнения дефицита макро- и микронутриентов со сбалансированным химическим составом и высокой биологической ценностью: Йоддар-Zn и ДАФС-25.

Кормовая добавка Йоддар-Zn (ТУ 10.91.10-253-10514645-2019) является источником цинка (12,5 ± 1,25 мкг/1000 мг кормовой добавки) и биодоступного йода в органической форме – 3 мг на 100 г (в т. ч. связанного йода 33 ± 3,3 мкг на 1000 мг кормовой добавки) и кремния – не менее 1,0 %.

Добавка ДАФС-25 представляет собой органическое соединение – диацетофенонилселенид (ТУ 9337-001-26880895-96, свидетельство о гос. регистрации № ПВР 2.04.0185-96), массовая доля селена составляет не менее 0,04 мг на 100 г и кремния – не менее 0,75 %.

В таблице 1 представлена схема эксперимента. Рацион контрольной группы животных включал дополнительно к основному рациону – 300 г/гол. в сутки комбикорма, I опытной группы – основной рацион + 300 г/гол. в сутки комбикорма + 300 мг/гол. в сутки Йоддар-Zn; II опытной группы – основной рацион + 300 г/гол. в сутки комбикорма + 0,5 мг/гол. в сутки ДАФС-25; III опытной группы – основной рацион + 300 г/гол. в сутки комбикорма + 300 мг/гол. в сутки Йоддар-Zn + 0,5 мг/гол. в сутки ДАФС-25.

Согласно ТУ 10.91.10-252-10514645-2019 и ТУ 10.91.10-253-10514645-2019 Поволжского НИИ производства и переработки мясомолочной продукции (г. Волгоград), совместно с добавками Йоддар-Zn и ДАФС-25 корм был дополнен препаратом Коретрон в количестве 1,0 % от массы корма и жмыхом тыквенным холодного прессования, представляющим белково-углеводный компонент в количестве 20,0 % от массы корма.

Состав тыквенного жмыха: сырой протеин – 22–37 %, сырой жир – 21,15 %, сырая клетчатка – 11,18 %, незаменимые аминокислоты (в том числе – до 3,28 % от общего белка), макро- и микроэлементы (селен – до 3 мг/кг), каротиноиды и витамин Е.

В ходе эксперимента оценивались показатели роста и развития животных посредством взвешиваний и учета основных измерений тела, начиная с начала эксперимента (в 4-месячном возрасте) и заканчивая его окончанием (в 7-месячном возрасте).

По завершении опыта (105 суток) и достижении животными возраста 7 мес. провели контрольный убой традиционным способом в условиях убойного пункта УПП «Экспериментальное животноводство» в соответствии с требованиями Технического регламента Таможенного Союза о безопасности мяса и мясной продукции ТР ТС 034/2013. Перед убоем все животные подвергались 24-часовой голодной выдержке.

Пробы содержимого рубца у контрольных и опытных групп баранчиков отбирали в стерильные контейнеры (Пан Эко, Россия) сразу после забоя животных, после чего был проведен анализ микробиального состава. Отбор образцов рубцового содержимого осуществляли с применением условий асептики. Хранение и транспортировку образцов осуществляли в специальных контейнерах при температуре –20 °С.

Лабораторное исследование образцов методом NGS-секвенирования для анализа состава микробного сообщества рубца животных провели в условиях молекулярно-генетической лаборатории ООО «БИОТРОФ». Для этого из образцов выделяли тотальную ДНК, используя набор Genomic DNA Purification Kit (Fermentas, Inc., Литва) согласно рекомендациям производителя. Конечную концентрацию тотальной ДНК в растворе измеряли на флуориметре Qubit (Invitrogen,

Таблица 1. Схема эксперимента

Table 1. Course of experiment

Группа	Контроль	I опытная	II опытная	III опытная
Рацион	Основной рацион	Основной рацион + Йоддар-Zn	Основной рацион + ДАФС-25	Основной рацион + Йоддар-Zn + ДАФС-25

Inc., США) с наборами Qubit dsDNA BR Assay Kit (In-vitrogen, Inc., США) в соответствии с рекомендациями производителя.

Микробиом рубца оценивали методом NGS-секвенирования на платформе MiSeq (Illumina, Inc., США) с праймерами для V3-V4 региона 16S рРНК. Прямой праймер: 5′-TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAGCCTACGGGNGGCWGCAG-3′, обратный праймер: 5′- GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGGACTACHVGGGTATCTAATCC-3′. Секвенирование проводили с использованием реагентов для подготовки библиотек Nextera® XT IndexKit (Illumina, Inc., США), для очистки ПЦР-продуктов Agencourt AMPure XP (Beckman Coulter, Inc., США) и для секвенирования MiSeq® ReagentKit v2 (500 cycle) (Illumina, Inc., США). Максимальная длина полученных последовательностей составила 2½250 п.н.

Биоинформатический анализ данных выполняли с помощью программного обеспечения Qiime2 ver. 2020.8. После первоначального импорта последовательностей в формат Qiime2 парные строки прочтений выравнивали. Далее последовательности фильтровали по качеству с использованием настроек по умолчанию. Шумовые последовательности фильтровали методом Deblur, при этом использовали максимальную длину последовательности обрезки, равную 250 п.н. Для анализа таксономии использовали справочную базу данных Silva 138.

На основании таблицы оперативно-таксономических единиц с помощью плагинов программного пакета Qiime2 рассчитывали индексы α-разнообразия и строили графики зависимости числа оперативно-таксономических единиц от числа прочтений.

Реконструкцию и прогнозирование функционального содержания метагенома, семейств генов, ферментов выполняли при помощи программного комплекса PICRUSt2 (v.2.3.0). С программой работали согласно рекомендованному сценарию, все настройки использовали по умолчанию. Для анализа метаболических путей и ферментов пользовались базой данных MetaCyc. Прогнозируемые профили метаболических путей MetaCyc оценивали по обилию ASV (Amplicon Sequence Variants).

Статистическую обработку полученных результатов проводили по стандартной методике, с помощью приложения Microsoft Excel 2010 (Microsoft Corp., США) и пакета для статистического анализа данных StatPlus 2009 Professional 5.8.4 for Windows (StatSoft Inc., США) с использованием *t*-критерия Стьюдента для оценки достоверности различий между выборками в опыте и в контроле (Scheuer, 2013).

Результаты и их обсуждение

Влияние кормовых добавок на показатели роста и развития животных. По результатам исследований установили положительное влияние всех используемых в рационах кормовых добавок на показатели роста и развития баранчиков. Результаты оценки динамики живой массы молодняка исследуемых животных отражены в таблице 2.

В начале эксперимента показатели живой массы 4-месячных баранчиков составили в контрольной группе – 31,16 ± 0,22 кг, в I группе – 31,27 ± 0,19 кг, во II группе – 31,46 ± 0,17 кг, в III группе – 31,68 ± 0,21 кг. В конце проведения эксперимента баранчики возрастом 7 месяцев имели среднюю живую массу в контрольной группе – 40,47 ± 0,31 кг, I опытной группе – 41,63 ± 0,35 кг, II – 43,52 ± 0,29 кг, III – 45,21 ± 0,37 кг. В период эксперимента подопытные животные не выбывали.

Животные I опытной группы, в состав рациона которых включали кормовую йодсодержащую добавку Йоддар-Zn, по показателю средней живой массы превышали контрольную группу на 2,79 %, что составляет 1,2 кг. Баранчики II группы, получавшие в составе рациона селенсодержащую добавку ДАФС-25, по живой

Таблица 2. Динамика живой массы эдильбаевских баранчиков

Table 2. Effect of additives on live weight of Edilbay rams

Показатель	Группа			
	Контрольная	I	II	III
При рождении				
Живая масса, кг	3,84 ± 0,03	3,89 ± 0,02	3,93 ± 0,02	3,98 ± 0,03
4 месяца				
Живая масса, кг	31,16 ± 0,22	31,27 ± 0,19	31,46 ± 0,17	31,68 ± 0,21
Абсолютный прирост, кг	27,32 ± 0,21	27,38 ± 0,33	25,53 ± 0,23	27,70 ± 0,30
Среднесуточный прирост, г	227,70 ± 0,33	228,20 ± 0,18	229,40 ± 0,16	230,80 ± 0,05
7 месяцев				
Живая масса, кг	40,47 ± 0,31	41,63 ± 0,35	43,52 ± 0,29	45,21 ± 0,37*
Абсолютный прирост, кг	3,10 ± 0,02	3,45 ± 0,05	4,01 ± 0,03	4,49 ± 0,06
Среднесуточный прирост, г	103,30 ± 0,36	115,00 ± 0,24*	133,70 ± 0,28*	149,70 ± 0,37*

Примечание: *$p \leq 0,05$ по отношению к контрольной группе.

Note: *$p \leq 0.05$ vs. control.

массе превышали показатели контрольной группы на 7,01 %, что составило 3,1 кг. Наибольшие показатели живой массы выявлены у баранчиков III опытной группы, в рационах которых включали обе исследуемые кормовые добавки – Йоддар-Zn и ДАФС-25. Их показатели живой массы превышали контрольные на 10,48 %, что составило 4,27 кг.

При анализе результатов среднесуточного прироста живой массы подопытных баранчиков в возрастной период 120–210 дней установлено, что данные показатели у I опытной группы превышают контрольную группу на 10,17; II – на 22,74 и III – на 31,00 %.

Показатели абсолютных приростов живой массы животных (табл. 2) продемонстрировали, что у баранчиков экспериментальных групп относительно контрольной группы в период от 120–210 дней превышают в I группе на 10,14; во II – на 22,69; в III – на 30,96 %.

В наблюдениях за состоянием экспериментальных животных установлено, что введение в рационы животных кормовых добавок приводит к нормализации обменных процессов в организме, регуляции пищеварительной деятельности, что способствует улучшению поедаемости кормов и, как следствие, повышению приростов живой массы.

Полученные результаты исследований согласуются с ранее выявленными закономерностями влияния кормовых добавок на основе йода, цинка и селена в рационах различных сельскохозяйственных животных.

Биологическая ценность йода, вследствие которой его часто используют в рационах животных [21], связана с включением его в биосинтез гормонов щитовидной железы – трийодтиронина (T3) и тетрайодтиронина / тироксина (T4). У жвачных йод, поступающий в организм, легко всасывается (от 70 до 90 %) в рубце, сетке и сычуге (NRC, 2015), в тонком кишечнике, затем попадает в печень через воротную вену и далее в щитовидную железу, где его доля достигает 80 % [22]. Гормоны щитовидной железы способствуют усилению образования энергии и клеточного дыхания в организме, поэтому действие йода на организм связывают с его влиянием на энергетический обмен, мышечную функцию, рост, кровообращение, иммунную защиту и циклы фертильности [23]. Избыток йода, как и некоторых других микроэлементов, может вызывать токсический эффект у животных. Описаны случаи интоксикации организма человека и животных на фоне избытка йода в макроводорослях, которые использовались в их питании [24].

Исследования по влиянию йода на организм жвачных были выполнены на дойном поголовье КРС, тогда как действие на других жвачных, таких как овцы, практически отсутствует [25, 26]. В исследовании подтвердили позитивное влияние кормовой добавки Йоддар-Zn на показатели роста и развития баранчиков, что могло быть обусловлено биологическим действием данного препарата, включающего йод и цинк в органической форме, на организм. Интересно, что ранее было показано, что при одновременном поступлении в организм животных с йодом органического цинка, являющегося ко-фактором супероксиддисмутаз, отсутствует рост количества супероксид радикалов, что и приводит к улучшению биосинтеза гормонов щитовидной железы.

Рассматривая пользу цинка для организма животных, в частности млекопитающих, необходимо отметить его участие в функционировании более 300 ферментов, особенно связанных с синтезом ДНК, процессах роста и деления клеток, формирования иммунитета [27, 28]. Недостаток или избыток цинка может вызывать токсический эффект в организме животных, прежде всего, связанный с нарушением работы иммунной системы организма [29]. У полигастричных животных, в отличие от моногастричных, на фоне субклинического дефицита цинка не снижается выработка антител или устойчивость к заболеваниям, а на фоне клинического – изменяется профиль сывороточных лейкоцитов [30]. По современным представлениям, органические источники цинка (протеинат Zn, ZnAA и метионин Zn) более биодоступны, чем неорганические, которые наиболее часто используются в минеральных добавках для жвачных животных – ZnSO 4 и ZnO [31]. Результаты исследований подтверждают ранее полученные данные об улучшении показателей продуктивности жвачных животных при использовании в рационах органических источников цинка. Ранее исследователи в результате применения в рационах жвачных органического цинка по сравнению с неорганическими отмечали более высокие показатели роста [32], переваривания кормов, в частности аминокислот [33]. Несмотря на широкий спектр исследований по изучению влияния цинка на здоровье и продуктивность животных, в настоящий момент не известно, связано ли благотворное воздействие цинка исключительно с его воздействием на организм хозяина или же он оказывает позитивное влияние и на микробиоту желудочно-кишечного тракта.

В нашем исследовании наиболее высокие показатели продуктивности баранчиков отмечались при совместном использовании препаратов Йоддар-Zn и ДАФС-25. Ранее сообщалось мнение о том, что усиление действия йодсодержащих препаратов добавками селена может быть обусловлено тем, что селензависимые ферменты участвуют в дийодинации тироксина и тем самым воспрепятствуют нарушению функции щитовидной железы и регулируют синтез простогландинов [34]. Используемый в нашем исследовании препарат ДАФС-25 – органическое соединение диацетофенонилселенид (90 %) с массовой долей селена не менее 25 % [3]. Это вещество 1,5-дифенил-3-селенопентандион-1,5 (DAPS-25; селенолин, селенобел, дополнительные химические названия: диацетофенонилселенид, бис (бензоилметил) селенид) является очень малотоксичным (по сравнению, напри-

мер, с селенитами). Поэтому данное соединение в последние десятилетия весьма эффективно применяется для компенсации дефицита селена в различных организмах, а также для профилактики и лечения инфекционных заболеваний. Ранее было показано, что ДАФС-25 нормализует деятельность иммунной системы, оказывает антиоксидантное и детоксирующее влияние на живой организм, устраняет вероятность беломышечной болезни и жирового гепатоза печени. ДАФС-25 применяется для повышения резистентности молодняка сельскохозяйственных животных и птицы к возбудителям различных инфекционных болезней. Препарат участвует в процессах тканевого дыхания и окислительного фосфорилирования, выполняет роль замедлителя определенных ферментных систем, обладает антитоксическими свойствами, а также препятствует переокислению жирных кислот и накоплению в организме ядовитых веществ, чем нормализует обмен веществ [35].

По мнению исследователей, селен является одним из важнейших микроэлементов для жвачных животных, дефицит которого является основной причиной экономических потерь, поскольку он приводит к развитию метаболической дисфункции в организме [36]. Выявлено, что при недостатке селена развивается мышечная дисфункция, происходит нарушение передачи сигналов, регулирующих рост мышечных клеток, и активация генов их атрофии [37]. Происходит подавление генов, кодирующих селенопротеин, в поджелудочной железе и скелетных мышцах [38]. Недостаток селеноцистеина, входящего в состав активных центров ферментов, участвующих в синтезе тироксина, таких как йодтирониндейодиназы и тиоредоксинредуктазы, приводит к дисфункции щитовидной железы [36, 39]. Селенопротеины, содержащие селеноцистеин, играют важную роль в функционировании Т-лимфоцитов и естественных клеток-киллеров, которые способны убивать опухолевые клетки и патогены [40]. Считается, что селен снижает гибель клеток после тяжелых инфекций из-за его ингибирующего действия в отношении временного рецепторного потенциала меластатина 2 – кальциевого канала, участвующего в апоптозе клеток [41]. Он оказывает прямое антипатогенное действие – превращение неорганических форм (например, селенита) в двухвалентную форму элемента, окисляет тиоловые группы в активном центре вирусной протеиндисульфидизомеразы, превращая их в неактивные сульфидрильные группы [42]. Дефицит селена в организме связан с такими проблемами у домашнего скота, как беломышечная болезнь, задержка плаценты, плохая вынашиваемость, остеопороз, мастит [43]. Еще одной из ключевых функций селена является противодействие окислительному стрессу [44]. Около 3 % его основной формы – селенопротеинов – участвует в синтезе Se-зависимой глутатионпероксидазы (GSH-Px), которая удаляет свободные радикалы, такие как активные формы кислорода (АФК) [39, 41]. Все компоненты этой системы способствуют восстановлению дисульфидов белков в рибонуклеотидредуктазе, тиоредоксинпероксидазе и протеиндисульфидизомеразе, которые регулируют синтез и репарацию ДНК, выработку антиоксидантов и функционирование эндоплазматического ретикулума [39].

Основным источником селена в рационах животных являются неорганические соли, прежде всего, селенит натрия [45]. Тем не менее по современным представлениям, биодоступность органического селена выше, чем из неорганических источников [46]. В целом полученные данные по повышению продуктивных показателей баранчиков при использовании в их рационах препарата ДАФС-25 согласуются с другими ранее проведенными исследованиями, где было продемонстрировано, что восполнение в рационах телят недостатка селена способствовало восстановлению показателей роста мышечной ткани и улучшению качества мяса [47].

Влияние кормовых добавок на таксономический профиль микробиоты рубца. По современным представлениям, микроорганизмы рубца, взаимодействуя с организмом хозяина посредством различных механизмов, выполняют важнейшие функции физиологии жвачных животных. Различные факторы окружающей среды, особенно рационы кормления и кормовые добавки, могут оказывать влияние на состав микробных сообществ рубца, что, в свою очередь, воздействует на процессы переваривания кормов и, следовательно, на метаболизм жвачных животных [48].

В нашем исследовании на основе метода NGS-секвенирование последовательностей гена 16S рРНК было выявлено, что доминирующими таксонами рубца баранчиков были представители филумов *Bacteroidota* и *Firmicutes* (рис. 1), что согласуется с предыдущими исследованиями для различных жвачных животных [49, 50]. *Bacteroidota* и *Firmicutes* являются одними из наиболее важных таксономических групп бактерий. Благодаря их участию в разложении растительных полисахаридов и синтезе летучих жирных кислот посредством выделения метаболических ферментов [49]. В целом доминирование в рубце филумов *Bacteroidota* и *Firmicutes* объясняет сходство бактериальных сообществ различных жвачных, рацион которых преимущественно состоит из растительных соединений.

Помимо *Bacteroidota* и *Firmicutes*, другие бактерии филума *Actinobacteriota* представляют собой ключевой таксон, который, несмотря на относительно меньшее содержание в рубце, выполняет важную роль в поддержании гомеостаза и состоянии здоровья кишечника, участвует в формировании иммунного ответа хозяина и осуществляет биодеградацию крахмала [51]. Одним из наиболее значимых таксонов филума *Actinobacteriota* является род *Bifidobacterium*. Это анаэробные актинобактерии, использующие гликозилгидролазы (GHS) для разрушения гликозидных связей между двумя или более сахарами, благодаря чему способны

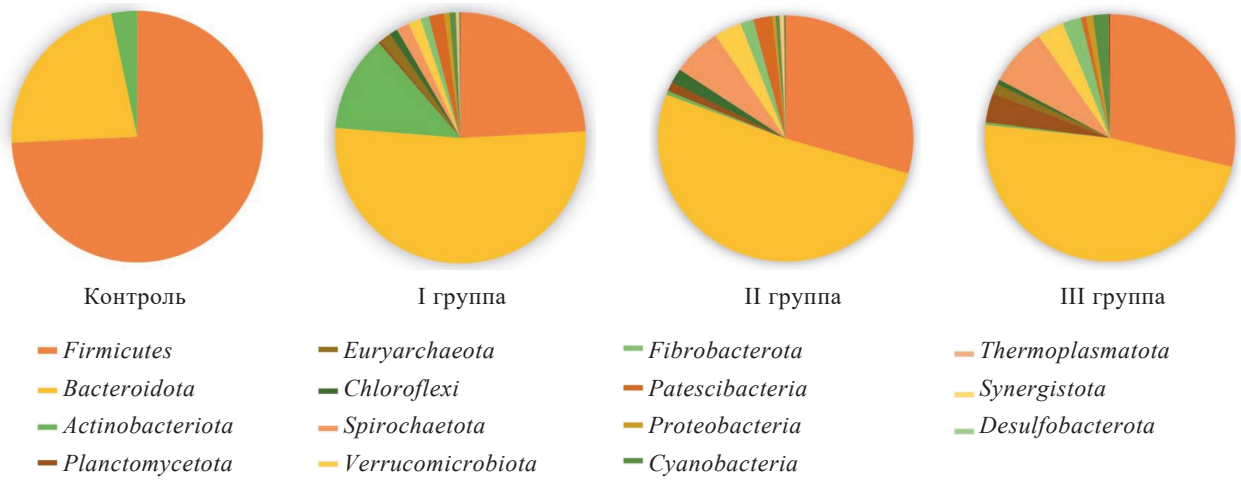

Рисунок 1. Состав микробиома рубца на уровне фил, %, у эдильбаевских баранов в возрасте 7 месяцев в зависимости от состава рациона при откорме: контрольная группа, I группа – основной рацион + Йоддар-Zn; II группа – основной рацион + ДАФС-25; III группа – основной рацион + Йоддар-Zn + ДАФС-25 (n = 5 в группе)

Figure 1. Rumen microbiome at phylum level, %, in seven-month-old Edilbay rams: control (no additives), experimental group I (Yoddar-Zn), experimental group II (DAFS-25), and experimental group III (Yoddar-Zn + DAFS-25), n = 5 per group

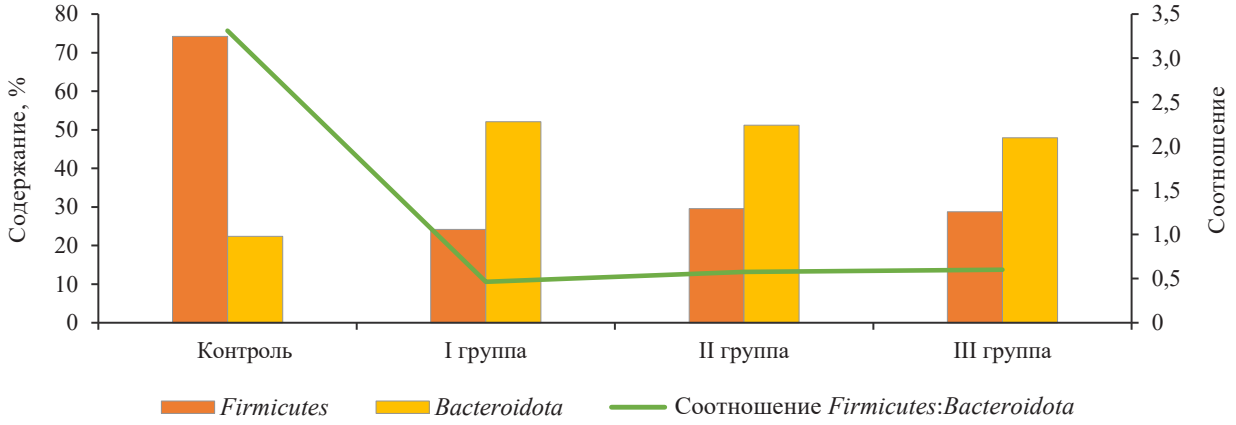

Рисунок 2. Представленность филумов *Firmicutes* и *Bacteroidota* в рубце эдильбаевских баранов в возрасте 7 месяцев в зависимости от состава рациона при откорме: контрольная группа, I группа – основной рацион + Йоддар-Zn; II группа – основной рацион + ДАФС-25; III группа – основной рацион + Йоддар-Zn + ДАФС-25 (n = 5 в группе)

Figure 2. *Firmicutes* and *Bacteroidota* in rumen of seven-month-old Edilbay rams: control (no additives), experimental group I (Yoddar-Zn), experimental group II (DAFS-25), and experimental group III (Yoddar-Zn + DAFS-25), n = 5 per group

деградировать крахмалистые полисахариды, приводя к образованию высоких концентраций ацетата, защищающих организм хозяина от размножения патогенов в пищеварительном тракте [52].

Другие выявленные в рубце баранчиков бактерии по результатам таксономической оценки были отнесены к филумам *Planctomycetota*, *Euryarchaeota*, *Chloroflexi*, *Spirochaetota*, *Verrucomicrobiota*, *Fibrobacterota*, *Patescibacteria*, *Proteobacteria*, *Cyanobacteria*, *Thermoplasmatota*, *Synergistota*, *Desulfobacterota*, *Elusimicrobiota*, общая представленность которых в рубце животных составила суммарно от 11,3 до 22,9 %.

Анализируя степень воздействия используемых в рационах животных кормовых добавок на основе эссенциальных микроэлементов на микробиом рубца, прежде всего, стоит отметить их существенное влияние на соотношение *Bacteroidota* и *Firmicutes*. Контрольная группа животных отличалась высоким содержанием *Firmicutes* и меньшим – *Bacteroidota*, соотношение которых составило 3,31, тогда как у особей опытных групп это отношение достоверно смещалось в сторону филума *Bacteroidota* (рис. 2).

Для оценки влияния в рационах животных кормовых добавок на основе эссенциальных микроэлементов

был проведен анализ состава микробного сообщества рубца баранчиков на уровне классов (рис. 3) и на уровне родов (рис. 4). Определены основные отличающиеся между экспериментальными группами таксономические группы микроорганизмов (рис. 5).

Оценивая микробное сообщество рубца баранчиков на уровне классов, выявлено, что у контрольной группы животных преобладающими были бактерии классов *Clostridia*, *Bacilli* и *Negativicutes*, в то время как у опытных классов *Bacteroidia*, и в меньшей степени класса *Clostridia*.

Бактерии класса *Bacteroidia* у животных опытных групп представлены преимущественно таксонами *Rikenellaceae* RC9 и *Prevotellaceae*, относительная численность которых у них была достоверно выше ($p \leq 0{,}05$) по сравнению с контрольной группой. Некоторые бактерии филы *Bacteroidota* способны к разложению гемицеллюлозы в содержимом рубца [53].

Представители *Rikenellaceae* RC9 семейства *Rikenellaceae* играют важную роль в ферментации сырой клетчатки, гемицеллюлозы и метаболизме липидов [54, 55]. Ранее выявлено, что уменьшение в рационах животных количества нейтрально-детергентной клетчатки приводило к снижению содержания данных микроорганизмов [56]. Отмечается положительная корреляция между количеством в рубце бактерий семейства *Rikenellaceae* с уровнем pH в рубце и с соотношением летучих жирных кислот (ЛЖК) ацетат:пропионат [57]. Выявленное повышение содержания *Rikenellaceae* RC9 в рубце баранчиков опытных групп может свидетельствовать об усилении у них процессов деградации некрахмалистых полисахаридов под воздействием кормовых добавок, что способствует повышению усвоения кормов и позитивно отражается на продуктивных показателях животных.

Доля в рубце животных опытных групп представителей *Prevotellaceae* UCG-003 была достоверно более высокой (при $p \leq 0{,}05$) по сравнению с контрольной, где они практически не выявлялись. Ранее было установлено, что *Prevotellaceae* UCG-003 способны к утилизации ЛЖК с разветвленной цепью и принимают участие в метаболизме глюкозы [58]. Согласно недавним данным, бактерии *Prevotellaceae* UCG-003 являются чувствительными к уровню pH в содержимом рубца [59].

Отмечено, что доля других представителей семейства *Prevotellaceae* рода *Prevotella* у исследуемых животных практически не отличалась. Исключением стали животные II опытной группы (основной рацион + ДАФС-25), у которых относительная численность превотелл была в 1,5 раза больше по сравнению с контрольной группой. Сообщалось, что некоторые представители рода *Prevotella* благодаря широкой ферментативной активности способны к деградации таких соединений, как протеин, крахмал и ксилан, гемицеллюлоза и пектин, преимущественно с образованием пропионата и ацетата [60–62]. Ранее была установлена положительная корреляция между высоким количеством бактерий рода *Prevotella* в рубце животных и эффективностью усвоения ими кормов [60].

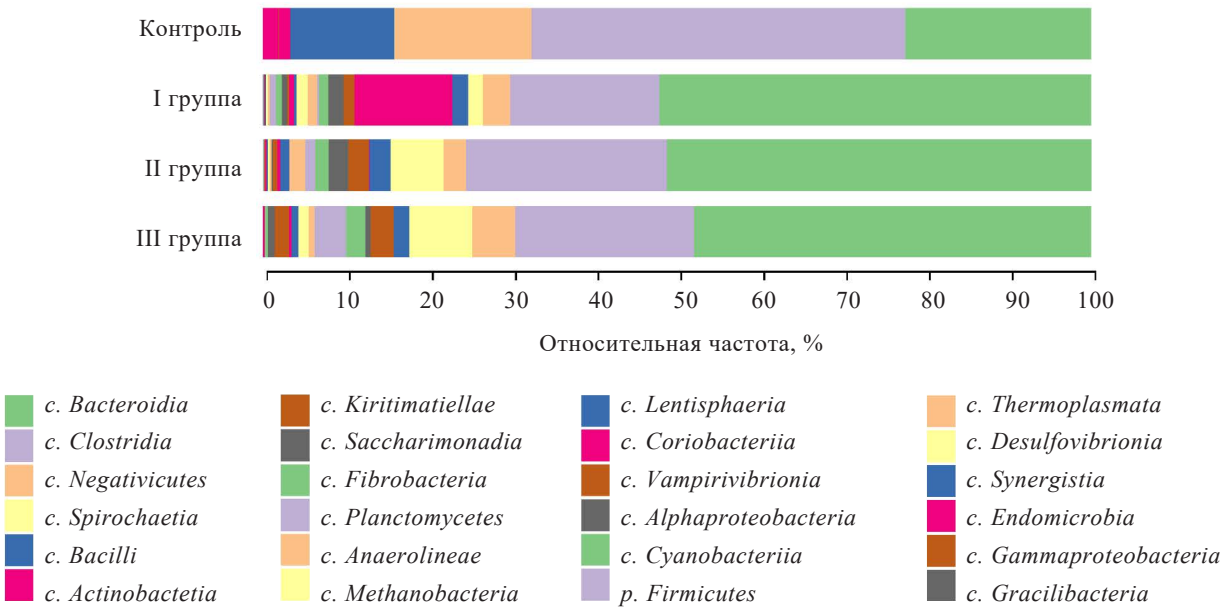

Рисунок 3. Состав микробиома рубца на уровне классов, %, у эдильбаевских баранов в возрасте 7 месяцев в зависимости от состава рациона при откорме: контрольная группа, I группа – основной рацион + Йоддар-Zn; II группа – основной рацион + ДАФС-25; III группа – основной рацион + Йоддар-Zn + ДАФС-25 (n = 5 в группе)

Figure 3. Rumen microbiome at class level, %, in seven-month-old Edilbay rams: control (no additives), experimental group I (Yoddar-Zn), experimental group II (DAFS-25), and experimental group III (Yoddar-Zn + DAFS-25), n = 5 per group

Рисунок 4. Состав микробиома рубца на уровне родов, %, у эдильбаевских баранов в возрасте 7 месяцев в зависимости от состава рациона при откорме: контрольная группа, I группа – основной рацион + Йоддар-Zn; II группа – основной рацион + ДАФС-25; III группа – основной рацион + Йоддар-Zn + ДАФС-25 (n = 5 в группе)

Figure 4. Rumen microbiome at genus level, %, in seven-month-old Edilbay rams: control (no additives), experimental group I (Yoddar-Zn), experimental group II (DAFS-25), and experimental group III (Yoddar-Zn + DAFS-25), n = 5 per group

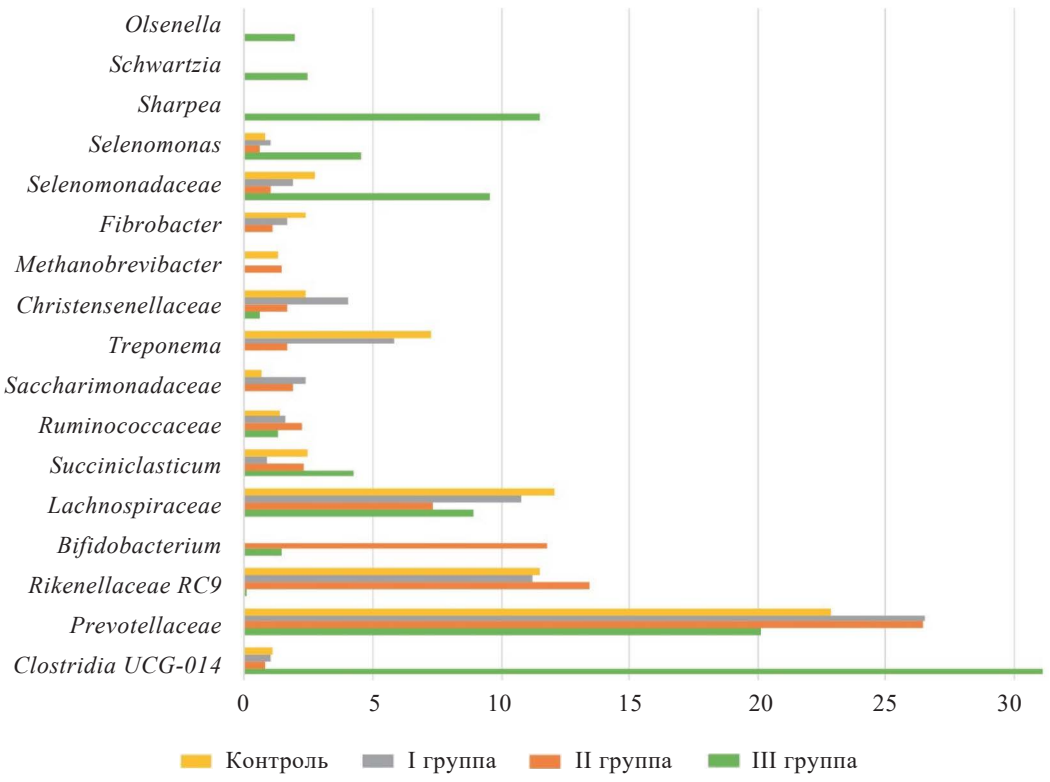

Рисунок 5. Различия в составе микробиома рубца, %, у эдильбаевских баранов в возрасте 7 месяцев в зависимости от состава рациона при откорме: контрольная группа, I группа – основной рацион + Йоддар-Zn; II группа – основной рацион + ДАФС-25; III группа – основной рацион + Йоддар-Zn + ДАФС-25 (n = 5 в группе)

Figure 5. Differences in rumen microbiome composition (%) in seven-month-old Edilbay rams: control (no additives), experimental group I (Yoddar-Zn), experimental group II (DAFS-25), and experimental group III (Yoddar-Zn + DAFS-25), n = 5 per group

Рассматривая изменения в относительной численности представителей класса *Clostridia*, произошедшие в рубце баранчиков под действием кормовых добавок, мы отметили следующие закономерности. Общее относительное содержание данных бактерий у животных контрольной группы было достоверно более высоким (45,22 ± 2,41 %, $p \leq 0,05$) по сравнению с опытными (в I группе – 18,05 ± 1,07 %; во II группе – 24,30 ± 0,94 % и в III группе – 21,63 ± 2,99 %). Преобладающими в рубце баранчиков контрольной группы были представители *Clostridia_UCG-014* (31,09 ± 2,17 %), что выше в 28–38 раз по сравнению с опытными группами. В настоящее время метаболические функции данного таксона практически не описаны. Ранее сообщалось о корреляционной связи количества *Clostridia_UCG-014* в фекалиях мышей с биосинтезом пропионата [63].

Отмечено, что у опытных животных значимо повышалась доля бактерий представителей класса *Clostridia – Christensenellaceae* R-7 – в 2,67, 6,60 и 3,92 раза ($p \leq 0,05$) для I, II и III опытных групп соответственно по сравнению с контролем. Ранее на примере других жвачных – яков – было выявлено более высокое содержание данного таксона у животных на свободном выпасе, чем у особей, которые содержались на общехозяйственном рационе с включением концентратов. Сообщалось, что бактерии семейства *Christensenellaceae* тесно связаны со здоровьем животных и показателями мясной продуктивности [64]. Основными метаболитами бактерий семейства *Christensenellaceae* являются ацетат и бутират, образующиеся при сбраживании структурных углеводов [65]. Содержание данных микроорганизмов быстро изменяется в ответ на повышение в рационе количества продуктов животного или растительного происхождения [66]. В частности, корреляция между присутствием бактерий *Christensenellaceae* с катаболизмом белков и метаболитами белкового обмена [67]. Другая интересная корреляция отмечена между количеством данных микроорганизмов в рубце, шириной соска, толщиной эпителия и рогового слоя. Таким образом, повышение представленности в рубце исследованных нами животных опытных групп бактерий *Christensenellaceae* R-7 может свидетельствовать об улучшении развития рубца и, соответственно, о повышении абсорбции и переваривания питательных веществ [68].

Бактерии семейства *Lachnospiraceae* класса *Clostridia* относятся к основным представителям рубца жвачных, основным метаболитом которых является масляная кислота [69, 70]. Положительное действие

данного соединения на организм КРС связывают с его влиянием на длину, ширину и площадь поверхности эпителиальных сосочков рубца [71]. В нашем исследовании у животных опытных групп отмечена тенденция к повышению содержания данных бактерий – в 1,20 и 1,34 раза для II и III опытных групп соответственно по сравнению с контролем.

Под влиянием кормовых добавок нами детектировано повышение в рубце животных опытных групп относительной численности других бактерий родов *Fibrobacter*, *Saccharofermentans* и *Treponema*, ассоциированных с ферментацией питательных соединений кормов [72–74].

Содержание бактерий рода *Fibrobacter* в рубце животных опытных групп достоверно повышалось от значений 0,020 ± 0,004 % в контрольной группе – до 1,08 ± 0,09, 1,66 ± 0,12 и 2,38 ± 0,21 % ($p \leq 0,05$) соответственно для I, II и III групп. Данные микроорганизмы считаются одними из наиболее распространенных и эффективных деструкторов лигноцеллюлозных соединений в рубце КРС [75]. Показана высокая эффективность рода *Fibrobacter* в деградации кристаллической целлюлозы и полисахаридов клеточной стенки растений [76].

Представленность бактерий рода *Saccharofermentans* из класса *Clostridia* в рубце животных опытных групп достоверно увеличивалось от значений 0,020 ± 0,003 % у контрольных животных – до 1,56 ± 0,12, 1,48 ± 0,19 и 0,86 ± 0,08 % ($p \leq 0,05$) соответственно для I, II и III групп. Доля представителей бактерий рода *Treponema* из филума *Spirochaetota* достоверно возрастала от 0,010 ± 0,002 % в контроле до 1,68 ± 0,13, 5,82 ± 0,41, 7,28 ± 1,24 % ($p \leq 0,05$) соответственно для I, II и III групп. Установлено, что относительная доля бактерий родов *Fibrobacter* и *Treponema* имела высокие коэффициенты корреляции с соотношением ацетат:пропионат и молярной долей ацетата. Применение кормовых добавок, в особенности у групп II и III, способствовало смещению отношения ЛЖК в рубце животных опытных групп в сторону ацетата. Выявлена способность бактерий филы *Spirochaetota* к разложению пектина и гемицеллюлозы в рубце КРС и чувствительность к изменениям уровня pH. У некоторых представителей данной филы обнаружены липополисахариды на внешней мембране, выступающие в качестве основного поверхностного антигена [77].

У животных опытной группы I, рацион которой содержал кормовую добавку Йоддар-Zn, отмечено значительное увеличение относительной численности рода *Bifidobacterium* филума *Actinobacteriota* (в 3,71 раза при $p \leq 0,05$), которые способны к деградации крахмалистых полисахаридов преимущественно с образованием ацетата, проявляющего, как правило, высокие антимикробные свойства в отношении патогенов [52]. Соответственно, кормовая добавка Йоддар-Zn, в составе которой содержатся цинк и йод, потенциально способна оказывать высокий вклад в продуктивность и здоровье жвачных путем модуляции бактериального сообщества рубца.

Интересно, что в нашем исследовании выявлено достоверно более высокое содержание в рубце животных I и II опытных групп метаногенных архей рода *Methanobrevibacter* из филума *Euryarchaeota*, относительная численность которых повышалась от 0,020 ± 0,004 до 1,47 ± 0,17 и 1,33 ± 0,12 % ($p \leq 0,05$) соответственно. В большинстве исследований содержимого рубца дойных коров род *Methanobrevibacter*, преимущественно использующий H_2 в качестве субстрата для восстановления CO_2 до CH_4, являлся доминирующим [6].

Высокое значение в процессах ферментации кормов в рубце жвачных играют ЛЖК-синтезирующие и ЛЖК-ферментирующие бактерии порядка *Negativicutes* [16]. Известно, что ЛЖК подавляют условно-патогенные микроорганизмы и являются питательными соединениями для организма-хозяина и микробиоты рубца. В связи с этим наличие определенных ЛЖК может приводить к коррекции многочисленных обменных процессов в организме хозяина, в частности, способствуя повышению иммунитета и продуктивности жвачных животных. Отмечено, что у животных контрольной группы относительное количество данных микроорганизмов бактерии *Negativicutes* (в т. ч. представителей родов *Selenomonas*, *Oscillospiraceae* UCG-005, *Anaerovibrio*, *Megasphaera*, *Succiniclasticum*) было достоверно выше – в 4,93, 6,03 и 3,17 раза соответственно ($p \leq 0,05$) по сравнению с показателями для I, II и III опытных групп. Ранее сообщалось, что представленность данных бактерий в рубце жвачных отрицательно коррелировала с уровнем pH и положительно – с количеством пропионата [78].

Более высокой у животных контрольной группы была и относительная доля продуцентов молочной кислоты рода *Olsenella* из филы *Actinobacteriota* ($p \leq 0,05$). У животных контрольной группы значимо более высокой была представленность доля кислот-образующих бактерий рода Sharpea из семейства *Erysipelatoclostridiaceae, Sharpea azabuensis* и *Megasphaera* sp. Ранее было показано, что данные микроорганизмы выступают в качестве важных лактат-продуцирующих микроорганизмов, увеличение доли которых в рубце овец сопровождалось повышением числа транскриптов, связанных с биосинтезом лактата, пропионата и бутирата, и меньшим количеством выделяемого животными метана [79].

Вместе с тем в рубце баранчиков II и III групп, рационы которых содержали кормовую добавку ДАФС-25, достоверно повышалась представленность бактерий рода *Quinella* из порядка *Negativicutes*. У животных всех опытных групп наблюдалась тенденция к повышению содержания других кислот-ферментирующих представителей *Veillonellaceae*_UCG-001 из класса *Negativicutes*. Сообщалось, что численность рода *Quinella* снижается с повышением количества

концентратов в рационах животных и отрицательно коррелирует с концентрацией пропионата и уровнем pH в рубце животных [80].

Доля представителей *Proteobacteria*, *Mycoplasma*, *Escherichia-Shigella*, роль которых традиционно связана с развитием различных воспалительных процессов у всех исследуемых животных, была минорной и практически не менялась при использовании в рационах кормовых добавок.

Таким образом, очевидно, что введение в рацион баранчиков всех исследуемых кормовых добавок отразилось на микробиоме рубца, смещая его потенциальные метаболические функции в сторону усиления деградации растительных полисахаридов с изменением соотношения ЛЖК в сторону повышения биосинтеза ацетата и снижения пропионата. В совокупности выявляемые при использовании в рационах животных кормовых добавок закономерности модификации микробиома свидетельствуют об их позитивном влиянии на метаболические процессы в организме баранчиков, являясь предпосылкой более полного усвоения кормовых ингредиентов, что и явилось причиной повышения продуктивности животных опытных групп.

Полученные результаты согласуются с ранее опубликованными данными. В целом, все используемые в рационах баранчиков кормовые добавки приводили к повышению в рубце доли бактерий, участвующих в деградации некрахмалистых полисахаридов. Аналогичный эффект детектирован C. Wang с соавторами в исследовании влияния различных дозировок цинка (10, 20 или 30 мг/кг ZnSO4 в сухом веществе) в рационах дойных коров голштинской породы на состав микробиома рубца [81]. В исследовании под действием высоких дозировок цинка отмечено повышение представленности общего количества бактерий и, в частности, целлюлозолитических видов – *Ruminococcus albus*, *Ruminococcus flavefaciens*, *Fibrobacter succinogenes* и *Butyrivibrio fibrisolvens*. В другом исследовании на ягнятах, рацион которых включал 70 мг/кг цинка в сухом веществе в виде хелатного комплекса цинка с аминокислотами, также отмечены значительные сдвиги в относительной численности микроорганизмов, связанных с ферментацией кормов. При этом повышение в рубце доли целлюлозолитических бактерий *Ruminococcus albus* и продуцентов молочной кислоты *Streptococcus bovis* наряду со снижением представленности *Ruminococcus flavefaciens* [82]. Повышение в рационах животных селена приводило к существенному увеличению содержания целлюлозолитических бактерий семейства *Lachnospiraceae* [16], общего количества анаэробных грибов-хитридиомицетов, простейших, метаногенов и бактерий *Ruminococcus albus*, *Ruminococcus flavefaciens*, *Butyrivibrio fibrisolvens*, *Fibrobacter* succinogenes, *Ruminobacter amylophilus* [17, 83, 84]. Селенит натрия в различных концентрациях способствовал повышению активности целого спектра ферментов – ксиланазы, протеазы и α-амилазы, пектиназы, целлобиазы и карбоксиметилцеллюлазы в рубце [17, 83, 84].

Интересно, что в нашем эксперименте применение кормовой добавки ДАФС-25 отдельно и в сочетании с Йоддар-Zn (II и III опытные группы) приводило к наибольшему увеличению содержания микроорганизмов, метаболические способности которых в основном связаны с образованием ацетата – *Fibrobacter*, *Lachnospiraceae*, *Saccharimonadaceae*, *Treponema*, *Christensenellaceae*. Полученные данные согласуются с исследованиями на ягнятах и овцах, получающих в составе рациона органические или неорганические источники селена. У опытных групп животных отмечено повышение в рубце количество таких ЛЖК, как изобутират и изовалерат [85]. В других экспериментах исследователи, напротив, при использовании в рационах различных источников селена отмечали усиление образования пропионата по отношению к другим ЛЖК в рубце дойных коров, быков голштинской породы, коз, овец и ягнят [16, 17, 85–87]. Добавление селена в рационы животных сопровождалось улучшением усвояемости сухого вещества, органического вещества, сырого протеина, нейтрально-детергентной, кислотно-детергентной и сырой клетчатки, крахмала у различных видов жвачных [17, 83, 86, 88].

Влияние кормовых добавок на функциональный профиль микробиоты рубца. Для изучения влияния кормовых добавок на функциональный профиль микробиоты рубца баранчиков использовали программное обеспечение PICRUSt, позволяющее проводить прогнозирование функций микробных сообществ. Это один из современных инструментов для анализа функционального профиля, который все чаще применяется для исследования микробиоты желудочно-кишечного тракта человека и животных. Базы данных PICRUSt основаны на результатах высокопроизводительного секвенирования микробиомов и отдельных штаммов. По результатам реконструкции и функциональной аннотации базы данных MetaCyc-pathway в микробном сообществе рубца баранчиков мы обнаружили 323 прогнозируемых метаболических путей. Большинство выявленных метаболических путей оказались связанными с такими прогнозируемыми функциями, как метаболизм аминокислот, кофакторов и витаминов, углеводов, гликанов, энергетический метаболизм.

Анализируя представленность метаболических путей различных функциональных категорий со значительными различиями в зависимости от применения кормовых добавок, мы обнаружили значительные отличия по активности 126 прогнозируемых метаболических путей между экспериментальными группами. Наиболее отличающимися были пути, связанные с энергетическим обменом, метаболизмом жирных кислот, углеводов, мочевины, аминокислот, кофакторов и витаминов. Различия отмечены по метаболическим путям микробиоты рубца, которые относились к белко-

вому (биосинтез аминокислот, превращение азотистых соединений), липидному (биосинтез липидов, олеата, пальмитолеата), углеводному (расщепление сложных полисахаридов), энергетическому обмену (цикл Кребса), синтезу ЛЖК (уксусной, пропионовой, масляной, молочной), нуклеиновых кислот, нуклеотидов и нуклеозидов, кофакторов и коферментов (ацетил-CoA, убихинолы 7-10), витаминов, образованию клеточной стенки и спорообразованию (синтез пептидогликана, тейховых кислот).

При использовании в рационах животных кормовых добавок нами наблюдалось выраженное усиление метаболических путей, связанных с углеводным и энергетическим обменом. В частности, интересные закономерности отмечены под влиянием кормовых добавок в рубце животных, связанные с прогнозируемыми путями метаболизма ЛЖК (рис. 6).

Во всех экспериментальных группах на фоне кормовых добавок отмечалось значительное достоверное ($p \leq 0{,}05$) повышение в микробиоме рубца относительного обилия путей, связанных с биосинтезом (R,R)-бутандиола P125-PWY (superpathway of (R,R)-butanediol biosynthesis) от 0,020 ± 0,004 % в контрольной группе до 6,65 ± 0,41, 7,74 ± 0,36, 4,74 ± 0,17 % – в опытных группах I, II и III соответственно. В настоящее время метаболическая функция 2,3-бутандиола изучена недостаточно. Данное соединение может предотвращать внутриклеточное закисление посредством образования нейтральных соединений вместо кислот. Также сообщалось об участии данного метаболического пути в регуляции соотношения NADH/NAD + у бактерий [74].

Под действием кормовой добавки ДАФС-25 у животных II опытной группы отмечено значимое повышение относительного обилия генов пути ферментации L-лизина до ацетата и бутаноата P163-PWY (L-lysine fermentation to acetate and butanoate) в 14,2 раза ($p \leq 0{,}05$) по сравнению с контрольными животными. У животных I и II опытных групп, в рационах которых вводили препараты Йоддар-Zn и ДАФС-25, отмечалась тенденция к повышению обилия генов путей ферментации пирувата в бутаноат CENTFERM-PWY (pyruvate fermentation to butanoate) в 1,25 и 1,33 раза, суперпути PWY-6590 ацидогенной ферментации *Clostridium acetobutylicum* (superpathway of *Clostridium acetobutylicum* acidogenic fermentation) в 1,24 и 1,31 раза, пути β-окисления жирных кислот I FAO-PWY (fatty acid and beta;-oxidation I) в 1,37 и 1,44 раза.

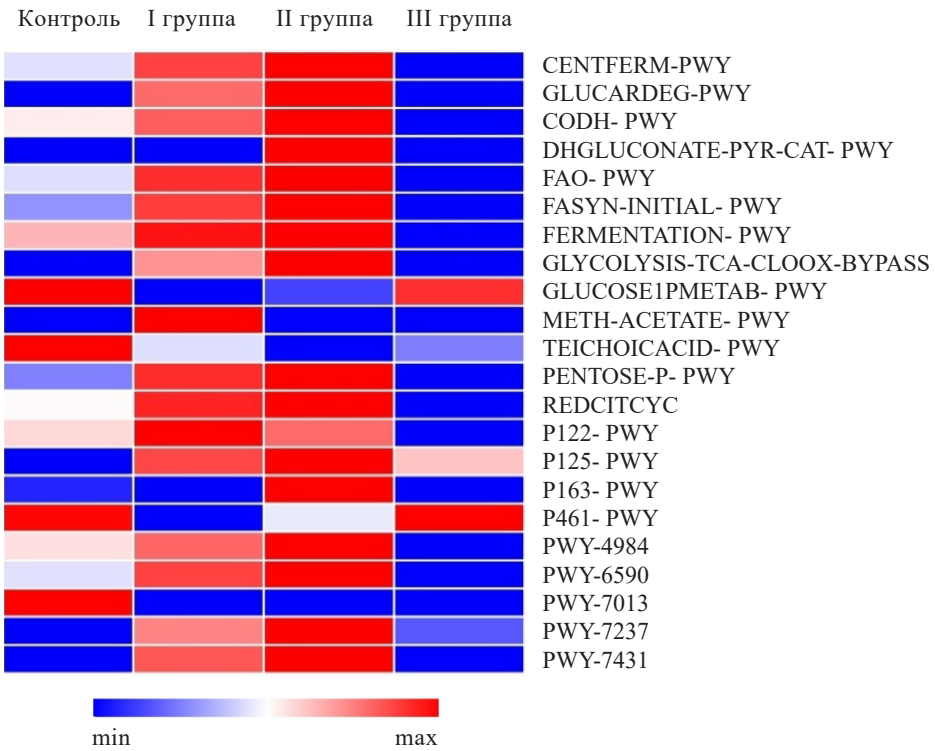

Рисунок 6. Различия в представленности основных прогнозируемых метаболических путей в микробиоме рубца, %, у эдильбаевских баранов в возрасте 7 месяцев в зависимости от состава рациона при откорме: контрольная группа, I группа – основной рацион + Йоддар-Zn; II группа – основной рацион + ДАФС-25; III группа – основной рацион + Йоддар-Zn + ДАФС-25 (n = 5 в группе)

Figure 6. Differences in major predicted metabolic pathways in the rumen microbiome, %, in seven-month-old Edilbay rams: control (no additives), experimental group I (Yoddar-Zn), experimental group II (DAFS-25), and experimental group III (Yoddar-Zn + DAFS-25), n = 5 per group

Полученные результаты об изменении относительного обилия прогнозируемых метаболических путей обмена ЛЖК под влиянием кормовых добавок согласуются с продемонстрированными выше результатами таксономического анализа микробиома рубца баранчиков по повышению представленности ЛЖК-продуцирующих бактерий. Ранее сообщалось об ассоциации метаболических путей биосинтеза бутаноата с целлюлозолитическими микроорганизмами, в т. ч. *Roseburia hominis*, *Ruminococcus callidus*, *Lachnospiraceae*, *Bacteroides uniformis* [89–91]. Известно, что бактерии *Clostridium acetobutylicum* являются продуцентами таких ценных продуктов, как бутанол, ацетон и этанол.

Представленность других метаболических путей, связанных с ферментацией кислот, была выше у животных I и II опытных групп. Одним из них является путь FERMENTATION-PWY (mixed acid fermentation), относительное обилие которого повышалось в микробиоме животных в 1,13 и 1,14 раза соответственно. В ходе данного метаболического пути происходит выделение в анаэробной среде энергии посредством фосфорилирования на уровне субстрата, при котором донором электронов выступает органическое соединение, а акцептором электронов – другое органическое соединение с меньшим содержанием энергии.

Интересно, что в микробном сообществе рубца животных всех опытных групп происходило достоверное ($p \leq 0{,}05$) снижение относительного обилия генов метаболического пути деградации L-1,2-пропандиола PWY-7013 (L-1,2-propanediol degradation), в ходе которого образуется пропаонат (пропионат). Пропионат является одним из важнейших предшественников образования глюкозы, выступая при этом в качестве одного из важнейших факторов поддержания процесса глюконеогенеза. В ходе глюконеогенеза происходит высвобождение части оксалоацетата, тогда как ацетат активно начинает включаться в цикл трикарбоновых кислот (цикл Кребса) с выделением энергии.

Под влиянием кормовых добавок Йоддар-Zn и ДАФС-25 в рубцовой жидкости животных опытных групп I и II по сравнению с контролем происходило снижение относительного содержания генов метаболического пути P461-PWY (hexitol fermentation to lactate, formate, ethanol and acetate) ферментации гекситола до лактата, формиата, этанола и ацетата – в 1,52 и 1,33 раза. В рамках данного пути конечный продукт гликолиза – пируват – может затем метаболизироваться различными способами, что приводит к образованию (S)-лактата, формиата, этанола и ацетата в зависимости от условий. При наличии избытка глюкозы основным продуктом ферментации является (S)-лактат, но при ограничении количества глюкозы образуются только формиат, этанол и ацетат [92].

У баранчиков I и II опытных групп наблюдалась тенденция к увеличению относительного содержания прогнозируемых путей биосинтеза лактата. Об этом свидетельствует активация пути P122-PWY (heterolactic fermentation – ферментация глюкозы в лактат), в котором при использовании глюкозы в качестве источника углерода происходит образование эквимолярных количеств лактата, этанола и диоксида углерода и следов ацетата [92].

Обращает на себя внимание более высокое у животных опытной группы I по сравнению с другими животными обилие генов путей метаногенеза из ацетата METH-ACETATE-PWY (methanogenesis from acetate), при котором происходит фосфорилирование ацетата до ацетил-КоА, который затем подвергается ферментативному превращению под действием комплекса ацетил-КоА декарбонилазы / синтазы [93].

В целом полученные нами результаты свидетельствуют о потенциальной активации прогнозируемых метаболических путей, связанных с биосинтезом различных ЛЖК, таких как пропионат, ацетат, бутират, что подтверждается данными о представленности в рубце животных исследуемых групп ряда микроорганизмов. Интересно, что в опытных группах животных при использовании в рационах кормовых добавков Йоддар-Zn и ДАФС-25 преимущественно наблюдалась активация прогнозируемых метаболических путей, связанных с биосинтезом масляной и уксусной кислот, тогда как в контрольной группе животных и при совместном использовании кормовых добавок преобладали метаболические пути биосинтеза пропионата.

Интересные закономерности отмечены нами при анализе прогнозируемых метаболических путей, ассоциированных с окислением глюкозы у животных I и II опытных групп. В частности, при использовании в рационах баранчиков препарата ДАФС-25 наблюдалась достоверная ($p \leq 0{,}05$) активация пути окислительной деградации глюкозы DHGLUCONATE-PYRCAT-PWY (glucose degradation, oxidative).

Введение в рационы животных I и II опытных групп кормовых добавок Йоддар-Zn и ДАФС-25 приводило к достоверному ($p \leq 0{,}05$) повышению активности метаболических путей суперпути гликолиза, пируватдегидрогеназы, TCA и образованию глиоксилата GLYCOLYSIS-TCA-GLYOX-BYPASS (superpathway of glycolysis, pyruvate dehydrogenase, TCA, and glyoxylate bypass). У I и II опытных групп повышалась активация путей пентозофосфатного пути окисления глюкозы PENTOSE-P-PWY (pentose phosphate pathway) и пути ацетил-КоА CODH-PWY (reductive acetyl coenzyme A pathway). Полученные закономерности свидетельствуют об усилении путей микробного биосинтеза и окисления глюкозы.

Введение в рационы животных I и II опытных групп приводило к угнетению пути деградации глюкозы и глюкозо-1-фосфата GLUCOSE1PMETAB-PWY (glucose and glucose-1-phosphate degradation) в 1,48 и 1,40 раза по сравнению с контрольной группой. Это может свидетельствовать о более высокой скорости метаболизма посредством гликолиза или возмож-

ном накоплении гликогена под влиянием кормовых добавок Йоддар-Zn и ДАФС-25 [94].

Помимо этого, у животных опытных групп I и II отмечается активация путей биосинтеза жирных кислот, выявлено усиление суперпути инициации биосинтеза жирных кислот FASYN-INITIAL-PWY (superpathway of fatty acid biosynthesis initiation) и пути цикла мочевины PWY-4984 (urea cycle). Функции жирных кислот в организме связаны со строительством блоков для синтеза фосфолипидных компонентов мембран клеток, обеспечением внутриклеточных коммуникаций посредством передачи липидов и тиоэфиров (ацил-транспортирующие белки) [95]. В ходе метаболического пути PWY-4984 (urea cycle) происходит образование мочевины из аминогрупп аммиака и L-аспартата, где промежуточными продуктами выступают L-орнитин, L-цитруллин, L-аргинино-сукцинат и L-аргинин.

При введении в рационы животных кормовых добавок отмечалось усиление метаболических путей, связанных с метаболизмом витаминов и кофакторов, в т. ч. коэнзимов B (P241-PWY) и M (P261-PWY), аденозилкобаламина (P381-PWY), биотина (BIOTIN-BIOSYNTHESIS-PWY, PWY-5005), никотинамида (NAD-BIOSYNTHESIS-II NAD), пиримидоксина (PYRI-DOXSYN-PWY), филлохинона (PWY-5863), убихинона (PWY-6708), пиримидина (PWY-7198), меннахинона (PWY-5896, PWY-5897 и др.) (рис. 7).

Повышение представленности прогнозируемых метаболических путей биосинтеза витамина B6, убихинона и других терпеноид-хинонов, рибофлавина и путей пентозофосфата может свидетельствовать о усилении биосинтеза жирных кислот, что соотносится с описанными выше закономерностями. Ранее было обнаружено, что биосинтез биотина II (PWY-5005) коррелирует с образованием пропионата в рубце. Биотин является важнейшим коферментом в образовании комплекса ацетил-КоА-карбоксилазы, пропионил-КоА-карбоксилазы и пируваткарбоксилазной активности [96]. Пропионил-КоА-карбоксилаза отвечает за преобразование (S)-метилмалонил-КоА в пропаноил-КоА, а затем пропаноил-КоА путем использования сукцината преобразуется в пропионат, который может использоваться для удовлетворения метаболических потребностей организма-хозяина и микробиоты рубца [96, 97].

Ранее была выявлена положительная корреляция между образованием биотина (PWY-5005), биосинтезом

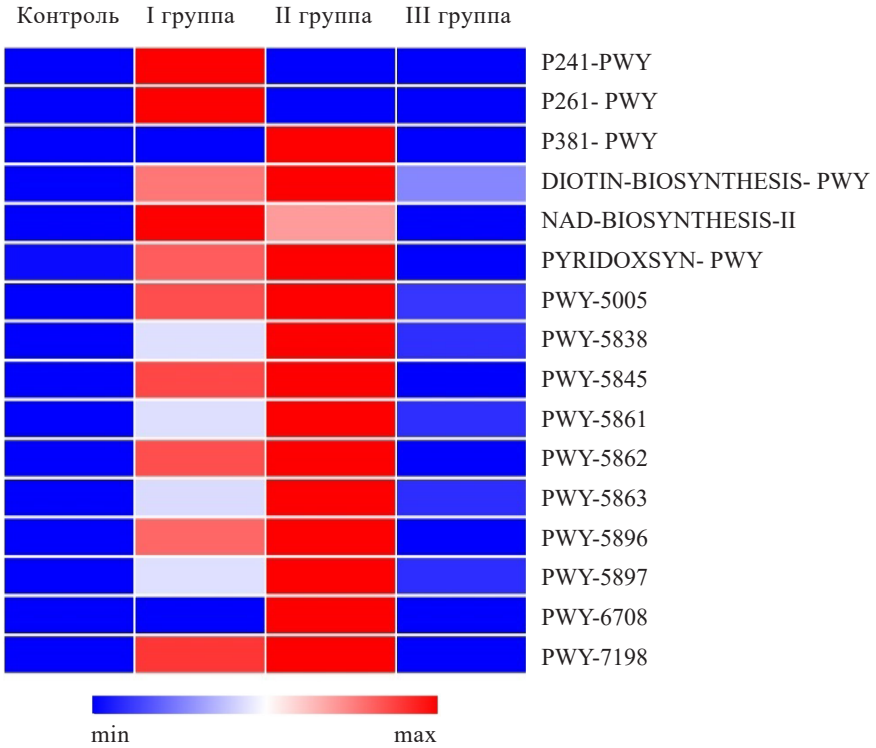

Рисунок 7. Различия в представленности прогнозируемых путей метаболизма витаминов и кофакторов в микробиоме рубца, %, у эдильбаевских баранов в возрасте 7 месяцев в зависимости от состава рациона при откорме: контрольная группа, I группа – основной рацион + Йоддар-Zn; II группа – основной рацион + ДАФС-25; III группа – основной рацион + Йоддар-Zn + ДАФС-25 (n = 5 в группе)

Figure 7. Differences in predicted vitamin and cofactor metabolic pathways in rumen microbiome, %, in seven-month-old Edilbay rams: control (no additives), experimental group I (Yoddar-Zn), experimental group II (DAFS-25), and experimental group III (Yoddar-Zn + DAFS-25), n = 5 per group

в рубце некоторых ЛЖК и присутствием в рубце таких бактерий, как *Fibrobacter*, *Butyrivibrio*, *Lachnospiraceae* NK4A136, *Ruminococcaceae* UCG-013 и *Eubacterium oxidoreducen*s, а также отрицательная корреляция с представленностью бактерий родов *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, биосинтезом молочной кислоты и гексоз. Виды бактерий *Bifidobacterium* и *Lactobacillus* не имеют пути синтеза биотина, однако экспрессируют свободный транспортер биотина, что предполагает конкуренцию данных микроорганизмов с хозяином за образуемый витамин. Поскольку биотин необходим для выживания и роста микроорганизмов, снижение количества биотина может приводить к дисбиозу кишечника [98].

При использовании в рационах животных добавок, обогащенных эссенциальными микроэлементами, в содержимом рубца наблюдалось снижение активности пути биосинтезом тейхоевой кислоты поли (глицеролфосфатной) стенки (TEICHOICACID-PWY – teichoic acid (poly-glycerol) biosynthesis). Ранее положительная корреляционная связь обнаружена между биосинтезом лактата, содержанием бактерий *Lactobacillus* и биосинтезом тейхоевой кислоты поли (глицеролфосфатной) стенки. Тейхоевые кислоты, которые ковалентно связаны с пептидогликаном цитоплазматической мембраны грамположительных бактерий, важны для целостности клеточной стенки [99]. Увеличение концентрации потенциально воспалительных веществ, таких как липополисахариды (ЛПС) и липотейхоевые кислоты (ЛТА), обычно связано с дисбактериозом [100].

Под действием кормовых добавок в рационах у животных опытных групп наблюдалась активация пути биосинтеза биогенных аминов (PWY-7431 – aromatic biogenic amine degradation), который связан с бактериальной деградацией ароматических кольцевых гидроксилированных биогенных аминов – октопамина, тирамина, дофамина и (R)-синефрина. Ароматические и алифатические биогенные амины синтезируются путем декарбоксилирования аминокислот и выполняют важные физиологические функции как у эукариот, так и у прокариот. Отмечалось, что ароматические биогенные аминокислоты могут иметь антистрессовый эффект [101].

Итак, выявленные закономерности свидетельствуют о выраженном позитивном влиянии кормовых добавок на таксономический и функциональный профиль микробиома рубца, что способствовало коррекции метаболических функций организма и оказало действие на продуктивность баранчиков. В настоящее время механизмы регуляции метаболизма, в частности энергетического, у жвачных животных под действием микроэлементов детально не изучены. Согласно современным представлениям, взаимодействие микроорганизмов и метаболитов в рубце может влиять на формирование фенотипических признаков у хозяина [102]. Вероятно, действие микроэлементов способствует улучшению функционирования пищеварительных процессов у жвачных животных посредством множества взаимосвязанных механизмов, что и приводит к более эффективной ферментации кормов в рубце. В нашем исследовании введение в рационы кормовых добавок на основе йода, цинка и селена приводило к изменению состава микробиоты рубца и его метаболической активности, в т. ч. повышению доли целлюлозолитических микроорганизмов и видов, способных к использованию микроэлементов. Повышение представленности углевод-активных бактерий в рубце способствует активации образования энергии в организме жвачных, преимущественно за счет образования ЛЖК. Летучие жирные кислоты поддерживают pH рубца на оптимальном уровне, а также влияют на различные сигнальные механизмы, связанные с регуляцией состояния иммунитета и роста животных. В целом эти данные согласуются с полученными ранее сведениями исследователей и нашими результатами по продуктивным показателям животных при использовании кормовых добавок Йоддар-Zn и ДАФС-25.

Изменения в составе микробиома исследованных баранчиков под действием кормовых добавок могут быть обусловлены тем, что микроорганизмы имеют свои потребности в микроэлементах. Сообщалось о влиянии микроэлементов на здоровье кишечника, о чем свидетельствует улучшение показателей его развития и усиления барьерной функции, а также содержания микробиоты [103]. Согласно исследованиям A. Mehri, йод может усиливать активность ряда ферментов [104]. В исследовании E. Y. Hilal с соавторами, показано, что цинк может не только напрямую влиять на организм-хозяина, но и оказывать действие непосредственно на микробиоту рубца [105]. На примере цинка установлено, что микроорганизмы рубца могут иметь собственную потребность в данном микроэлементе. W. J. Miller сообщал о том, что добавление в рационы жвачных животных растворимых источников цинка может быть перенаправлено на микроорганизмы желудочно-кишечного тракта, о чем свидетельствует низкая концентрация данного микроэлемента в сыворотке крови исследуемых животных [82, 106]. В экосистемах с высокой микробной биомассой и широким разнообразием конкуренция за микроэлементы может быть значительной, при этом одним из ее признаков является высокое сродство к ресурсам их поступления [107]. Высокие уровни цинка вытесняют марганец *Streptococcus* pneumoniae, вызывая гибель их клеток [108]. В другом случае, при введении в рационы овец цинка в сочетании с пробиотическими штаммами родов *Bacillus*, *Lactobacillus* и *Saccharomyces*, усвоение цинка организмом хозяина повышалось [109]. По мнению авторов, на эффективность действия микроэлементов как микробиотой рубца, так и организмом жвачных влияет их биодоступность. Неорганический селен может быть высокотоксичным и с мень-

шей вероятностью попадает в молоко и мясо, что ограничивает рост растущих животных (например, ягнят и телят) [110–118].

Выводы

В исследовании был проведен анализ состава и функционального профиля микробиома рубца баранчиков методом NGS-секвенирования для оценки влияния на него органических добавок, обогащенных эссенциальными микроэлементами.

Полученные результаты продемонстрировали, что наиболее значимые изменения в микробиоме рубца наблюдаются на фоне применения кормовых добавок, используемых в рационах животных. Были связаны с изменением в рубце соотношения представителей фил *Firmicutes:Bacteroidetes*, в частности с повышением содержания бактерий, участвующих в деградации некрахмалистых полисахаридов. Выявленные закономерности в изменении микробиома под действием кормовых добавок свидетельствуют о потенциальном смещении метаболических процессов микробиоты рубца в сторону образования ацетата и снижения пропионата. Применение кормовой добавки ДАФС-25 отдельно и в сочетании с Йоддар-Zn приводило к наибольшему увеличению содержания микроорганизмов, метаболические способности которых в основном связаны с образованием ацетата – *Fibrobacter*, *Lachnospiraceae*, *Saccharimonadaceae*, *Treponema*, *Christensenellaceae*. Одновременно в рубце исследуемых животных происходило снижение пропионат-синтезирующих бактерий порядка *Negativicutes* и лактат-синтезирующих видов рода *Sharpea*. Доля представителей *Proteobacteria*, *Mycoplasma*, *Escherichia-Shigella*, роль которых традиционно связана с развитием различных воспалительных процессов, у всех исследуемых животных была минорной и практически не менялась при использовании в рационах кормовых добавок.

Для изучения влияния кормовых добавок на функциональный профиль микробиоты рубца баранчиков использовали программное обеспечение PICRUSt, позволяющее проводить прогнозирование функций микробных сообществ. При использовании в рационах животных кормовых добавок наблюдалось усиление метаболических путей, связанных с углеводным и энергетическим обменом, в частности, с путями метаболизма ЛЖК. На фоне применения в рационах баранчиков добавок, обогащенных эссенциальными микроэлементами, отмечалось усиление метаболических путей, связанных с метаболизмом витаминов и кофакторов. В совокупности выявляемые при использовании кормовых добавок в рационах животных закономерности модификации микробиома свидетельствуют о позитивном влиянии на метаболические процессы, являясь предпосылкой более полного усвоения кормовых ингредиентов, которые и послужили причиной повышения продуктивности животных опытных групп. Выявленные изменения в микробном сообществе рубца положительно соотносятся с результатами повышения продуктивных показателей животных в результате скармливания кормовой добавки.

Результаты исследований микробиома содержимого рубца баранчиков позволяют констатировать, что кормовые добавки ДАФС-25 и Йоддар-Zn не оказывают отрицательного влияния на качество баранины, и утверждать о возможности их применения при откорме животных в промышленных условиях. Применение метода NGS-секвенирования открывает путь к созданию новых эффективных техлогий выращивания мелкого рогатого скота, а также позволяет оценить безопасность применения обогащенных рационов при откорме животных в промышленных условиях.

Критерии авторства

Авторы в равной степени участвовали в написании рукописи и несут равную ответственность за плагиат.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Contribution

All the authors contributed equally to the study and bear equal responsibility for information published in this article.

Conflict of interest

The authors declared no potential conflict of interests regarding the research, authorship, and / or publication of this article.

References/Список литературы

1. Henchion M, Hayes M, Mullen AM, Fenelon M, Tiwari B. Future protein supply and demand: strategies and factors influencing a sustainable equilibrium. Foods. 2017;6(7):53. https://doi.org/10.3390/foods6070053

2. Hunter MC, Smith RG, Schipanski ME, Atwood LW, Mortensen DA. Agriculture in 2050: recalibrating targets for sustainable intensification. Bioscience. 2017;67(4):386–391. https://doi.org/10.1093/biosci/bix010

3. Gorlov IF. Selenium in cattle feeds and dietary supplements. Moscow: Vestnik of the Russian Agricultural Science, 2005. 189 p. (In Russ.). [Горлов И. Ф. Использование селена при производстве продукции животноводства и БАДов. Москва: Вестник Российской академии сельскохозяйственных наук, 2005. 189 с.]. https://elibrary.ru/QKWTOX

4. Bogolyubova NV, Korotky VP, Zenkin AS, Ryzhov VA, Buryakov NP. Digestion and metabolism indices of sheep when using activated charcoal supplement. OnLine Journal of Biological Sciences. 2017;17(2):121–127. https://doi.org/10.3844/ojbsci.2017.121.127

5. Newbold CJ, Ramos-Morales E. Review: ruminal microbiome and microbial metabolome: effects of diet and ruminant host. Animal. 2020;14(1):s78–s86. https://doi.org/10.1017/S1751731119003252

6. Henderson G, Cox F, Ganesh S, Jonker A, Young W, Collaborators GRC, *et al.* Rumen microbial community composition varies with diet and host, but a core microbiome is found across a wide geographical range. Scientific Reports. 2015;5:14567. https://doi.org/10.1038/srep14567

7. Tapio I, Fischer D, Blasco L, Tapio M, Wallace RJ, Bayat AR, *et al.* Taxon abundance, diversity, co-occurrence and network analysis of the ruminal microbiota in response to dietary changes in dairy cows. PloS One. 2017;12(7):e0180260. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0180260

8. Fomichev YuP, Bogolyubova NV, Romanov VN, Kolodina EN. Comparative assessment of natural feed additives for functional effects on the digestive processes in the rumen of sheep *(Ovis Aries).* Agricultural Biology. 2020;55(4):770–783. (In Russ.). https://doi.org/10.15389/agrobiology.2020.4.770rus; https://elibrary.ru/PVTONG

9. Kobayashi Y, Oh S, Myint H, Koike S. Use of Asian selected agricultural byproducts to modulate rumen microbes and fermentation. Journal of Animal Science and Biotechnology. 2016;7:70. https://doi.org/10.1186/s40104-016-0126-4

10. Hendawy AO, Shirai M, Takeya H, Sugimura S, Miyanari S, Taniguchi S, *et al.* Effects of 5-aminolevulinic acid supplementation on milk production, iron status, and immune response of dairy cows. Journal of Dairy Science. 2019;102(12): 11009–11015. https://doi.org/10.3168/jds.2018-15982

11. Nabi F, Arain MA, Hassan F, Umar M, Rajput N, Alagawany M, *et al.* Nutraceutical role of selenium nanoparticles in poultry nutrition: A review. World's Poultry Science Journal. 2020;76(3):459–471. https://doi.org/10.1080/00439339.2020.1789535

12. Hendawy AO, Sugimura S, Sato K, Mansour MM, Abd El-Aziz AH, Samir H, *et al.* Effects of selenium supplementation on rumen microbiota, rumen fermentation, and apparent nutrient digestibility of ruminant animals: a review. Fermentation. 2022;8(1):4. https://doi.org/10.3390/fermentation8010004

13. Liu C, Li XH, Chen YX, Cheng ZH, Duan QH, Meng QH, *et al.* Age-related response of rumen microbiota to mineral salt and effects of their interactions on enteric methane emissions in cattle. Microbial Ecology. 2017;73:590–601. https://doi.org/10.1007/s00248-016-0888-4

14. Váradyová Z, Mravčáková D, Holodová M, Grešáková Ľ, Pisarčíková J, Barszcz M, *et al.* Modulation of ruminal and intestinal fermentation by medicinal plants and zinc from different sources. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition. 2018;102(5):1131–1145. https://doi.org/10.1111/jpn.12940

15. Vigh A, Criste A, Gragnic K, Moquet L, Gerard C. Ruminal solubility and bioavailability of inorganic trace mineral sources and effects on fermentation activity measured in vitro. Agriculture. 2023;13(4):879. https://doi.org/10.3390/agriculture13040879

16. Cui X, Wang Z, Tan Y, Chang S, Zheng H, Wang H, *et al.* Selenium Yeast Dietary Supplement Affects Rumen Bacterial Population Dynamics and Fermentation Parameters of Tibetan Sheep (*Ovis aries*) in Alpine Meadow. Frontiers in Microbiology. 2021;12:663945. https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.663945

17. Zhang ZD, Wang C, Du HS, Liu Q, Guo G, Huo WJ, *et al.* Effects of sodium selenite and coated sodium selenite on lactation performance, total tract nutrient digestion and rumen fermentation in Holstein dairy cows. Animal. 2020;14(10):2091–2099. https://doi.org/10.1017/S1751731120000804

18. Naderi M, Puar P, Zonouzi-Marand M, Chivers DP, Niyogi S, Kwong RWM. A comprehensive review on the neuropathophysiology of selenium. Science of The Total Environment. 2021;767:144329. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.144329

19. Ishaq SL, Johnson SP, Miller ZJ, Lehnhoff EA, Olivo S, Yeoman CJ, *et al.* Impact of cropping systems, soil inoculum, and plant species identity on soil bacterial community structure. Microbial Ecology. 2017;73:417–434. https://doi.org/10.1007/s00248-016-0861-2

20. Koloskova EM, Ezerskiy VA, Ostrenko KS, Ovcharova AN, Belova NV. Studies of the sheep rumen microbiome using molecular genetic methods: a review. Problems of Productive Animal Biology. 2020;(4):5–26. (In Russ.). https://doi.org/10.25687/1996-6733.prodanimbiol.2020.4.5-26; https://elibrary.ru/VXFFAO

21. Grabez V, Coll-Brasas E, Fulladosa E, Hallenstvedt E, Håseth TT, Øverland M, *et al.* Seaweed inclusion in finishing lamb diet promotes changes in micronutrient content and flavour-related compounds of raw meat and dry-cured leg (Fenalår). Foods. 2022;11(7):1043. https://doi.org/10.3390/foods11071043

22. Paulíková I, Kovác G, Bíris J, Paulík S, Seidel H, Nagy O. Iodine toxicity in ruminants. Veterinární medicína. 2002;47(12):343–350. https://doi.org/10.17221/5845-VETMED

23. Huszenicza GY, Kulcsar M, Rudas P. Clinical endocrinology of thyroid gland function in ruminants. Veterinární medicína. 2002;47(7):199–210. https://doi.org/10.17221/5824-VETMED

24. Makkar HPS, Tran G, Hauzé V, Giger-Reverdin S, Lessire M, Lebas F, *et al.* Seaweeds for livestock diets: A review. Animal Feed Science and Technology. 2016;212:1–17. https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2015.09.018

25. Antaya NT, Ghelichkhan M, Pereira ABD, Soder KJ, Brito AF. Production, milk iodine, and nutrient utilization in Jersey cows supplemented with the brown seaweed *Ascophyllum nodosum* (kelp meal) during the grazing season. Journal of Dairy Science. 2019;102(9):8040–8058. https://doi.org/10.3168/jds.2019-16478

26. Silva LHP, Reis SF, Melo ATO, Jackson BP, Brito AF Supplementation of *Ascophyllum nodosum* meal and monensin: Effects on diversity and relative abundance of ruminal bacterial taxa and the metabolism of iodine and arsenic in lactating dairy cows. Journal of Dairy Science. 2022;105(5):4083–4098. https://doi.org/10.3168/jds.2021-21107

27. MacDonald RS. The role of zinc in growth and cell proliferation. The Journal of Nutrition. 2000;130(5):1500S–1508S. https://doi.org/10.1093/jn/130.5.1500S

28. Engle TE. Effects Of Mineral Nutrition of Immune Function and Factors That Affect Trace Mineral Requirements of Beef Cattle. Wyoming: University of Nebraska; 2001. 87 p.

29. López-Alonso M. Trace minerals and livestock: not too much not too little. International Scholarly Research Notices. 2012;2012(1):704825. https://doi.org/10.5402/2012/704825

30. Spears JW. Trace mineral bioavailability in ruminants. The Journal of Nutrition. 2003;133(5):1506S–1509S. https://doi.org/10.1093/jn/133.5.1506S

31. Cao J, Henry PR, Guo R, Holwerda RA, Toth JP, Littell RC, *et al*. Chemical characteristics and relative bioavailability of supplemental organic zinc sources for poultry and ruminants. Journal of Animal Science. 2000;78(8):2039–2054. https://doi.org/10.2527/2000.7882039x

32. Gunter SA, Malcolm-Callis KJ, Duff GC, Kegley EB. Performance of steers supplemented with zinc during grazing and receiving at the feedlot. The Professional Animal Scientist. 2001;17(4):280–286. https://doi.org/10.15232/S1080-7446(15)31641-7

33. Froetschel MA, Martin AC, Amos HE, Evans JJ. Effects of zinc sulfate concentration and feeding frequency on ruminal protozoal numbers, fermentation patterns and amino acid passage in steers. Journal of Animal Science. 1990;68(9):2874–2884. https://doi.org/10.2527/1990.6892874x

34. Krasnoslobodtseva AS, Shulaev GM. Efficiency of application of preparations “Iodis-Concentrate” in complex with “DAFS-25” in diets of heifers. Tambov University Reports. Series: Natural and Technical Sciences. 2009;14(1):125–127. (In Russ.). [Краснослободцева А. С., Шулаев Г. М. Эффективность применения препаратов «Йодис-концентрат» в комплексе с «ДАФС-25» в рационах телок // Вестник Тамбовского университета. Серия: естественные и технические науки. 2009. Т. 14. № 1. С. 125–127.]. https://elibrary.ru/KXFWIV

35. Berestov DS, Merzlyakova EA, Troshin EI. Antioxidant effect of DAFS-25 on fattening bulls and preventing the effects of radiation exposure. Russian Journal of Veterinary Pathology. 2007;(1):188–192. (In Russ.). [Берестов Д. С., Мерзлякова Е. А., Трошин Е. И. Антиоксидантный эффект ДАФС-25 при откорме бычков и в профилактике последствий лучевого воздействия. Ветеринарная патология. 2007. № 3. С. 188–192.]. https://elibrary.ru/OFNABB

36. Hofstee P, McKeating DR, Bartho LA, Anderson ST, Perkins AV, Cuffe JSM. Maternal selenium deficiency in mice alters offspring glucose metabolism and thyroid status in a sexually dimorphic manner. Nutrients. 2020;12(1):267. https://doi.org/10.3390/nu12010267

37. Zhang F, Teng Z, Wang L, Wang L, Huang T, Zhang X. Dietary selenium deficiency and excess accelerate ubiquitin-mediated protein degradation in the muscle of rainbow trout *(Oncorhynchus mykiss)* via Akt/FoxO3a and NF-κB signaling pathways. Biological Trace Element Research. 2021;200:1361–1375. https://doi.org/10.1007/s12011-021-02726-x

38. Xu J, Wang L, Tang J, Jia G, Liu G, Chen X, Cai J, *et al.* Pancreatic atrophy caused by dietary selenium deficiency induces hypoinsulinemic hyperglycemia via global down-regulation of selenoprotein encoding genes in broilers. PLoS ONE. 2017;12(8):e0182079. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0182079

39. Arshad MA, Ebeid HM, Hassan FU. Revisiting the effects of different dietary sources of selenium on the health and performance of dairy animals: A review. Biological Trace Element Research. 2021;199:3319–3337. https://doi.org/10.1007/s12011-020-02480-6

40. Hadrup N, Ravn-Haren G. Absorption, distribution, metabolism and excretion (ADME) of oral selenium from organic and inorganic sources: A review. Journal of Trace Elements in Medicine and Biology. 2021;67:126801. https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2021.126801

41. Fakhrolmobasheri M, Nasr-Esfahany Z, Khanahmad H, Zeinalian M. Selenium supplementation can relieve the clinical complications of COVID-19 and other similar viral infections. International Journal for Vitamin and Nutrition Research. 2021;91(3-4):197–199. https://doi.org/10.1024/0300-9831/a000663

42. Jin Z, Du X, Xu Y, Deng Y, Liu M, Zhao Y, *et al.* Structure of Mpro from SARS-CoV-2 and discovery of its inhibitors. Nature. 2020;582:289–293. https://doi.org/10.1038/s41586-020-2223-y

43. Lee MRF, Fleming HR, Cogan T, Hodgson C, Davies DR. Assessing the ability of silage lactic acid bacteria to incorporate and transform inorganic selenium within laboratory scale silos. Animal Feed Science and Technology. 2019;253:125–134. https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2019.05.011

44. He L, Zhao J, Wang L, Liu Q, Fan Y, Li B, *et al.* Using nano-selenium to combat Coronavirus Disease 2019 (COVID-19)? Nano Today. 2021;36:101037. https://doi.org/10.1016/j.nantod.2020.101037

45. Arce-Cordero JA, Monteiro HF, Lelis AL, Lima LR, Restelatto R, Brandao VLN, *et al.* Copper sulfate and sodium selenite lipid-microencapsulation modifies ruminal microbial fermentation in a dual-flow continuous-culture system. Journal of Dairy Science. 2020;103(8):7068–7080. https://doi.org/10.3168/jds.2019-17913

46. Galbraith ML, Vorachek WR, Estill CT, Whanger PD, Bobe G, Davis TZ, *et al.* Rumen microorganisms decrease bioavailability of inorganic selenium supplements. Biological Trace Element Research. 2016;171:338–343. https://doi.org/10.1007/s12011-015-0560-8

47. Zhang R, Zhu W, Zhu W, Liu J, Mao S. Effect of dietary forage sources on rumen microbiota, rumen fermentation and biogenic amines in dairy cows. Journal of the Science of Food and Agriculture. 2014;94(9):1886–1895. https://doi.org/10.1002/jsfa.6508

48. Liu K, Zhang Y, Yu Z, Xu Q, Zheng N, Zhao S, *et al.* Ruminal microbiota–host interaction and its effect on nutrient metabolism. Animal Nutrition. 2021;7(1):49–55. https://doi.org/10.1016/j.aninu.2020.12.001

49. Söllinger A, Tveit AT, Poulsen M, Noel SJ, Bengtsson M, Bernhardt J, *et al.* Holistic assessment of rumen microbiome dynamics through quantitative metatranscriptomics reveals multifunctional redundancy during key steps of anaerobic feed degradation. Msystems. 2018;3(4):e00038-18. https://doi.org/10.1128/msystems.00038-18

50. Wu S, Cui Z, Chen X, Zheng L, Ren H, Wang D, *et al.* Diet-ruminal microbiome-host crosstalk contributes to differential effects of calf starter and alfalfa hay on rumen epithelial development and pancreatic α-amylase activity in yak calves. Journal of Dairy Science. 2021;104(4):4326–4340. https://doi.org/10.3168/jds.2020-18736

51. Ryan SM, Fitzgerald GF, van Sinderen D. Screening for and identification of Starch-, Amylopectin-, and Pullulan-Degrading activities in bifidobacterial strains. Applied and Environmental Microbiology. 2006;72(8):5289–5296. https://doi.org/10.1128/AEM.00257-06

52. Pokusaeva K, Fitzgerald GF, van Sinderen D. Carbohydrate metabolism in Bifidobacteria. Genes Nutrition. 2011;6:285–306. https://doi.org/10.1007/s12263-010-0206-6

53. Hernández R, De Mares MC, Jimenez H, Reyes A, Caro-Quintero A. Functional and phylogenetic characterization of bacteria in bovine rumen using fractionation of ruminal fluid. Frontiers in Microbiology. 2022;13:813002. https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.813002

54. Zhang K. Research Gi Development and Rumen Microbiome From 0 to 56-day-ole at Cashmere Goat. 2017.

55. Sun L, Jia H, Li J, Yu M, Yang Y, Tian D, *et al.* Cecal gut microbiota and metabolites might contribute to the severity of acute myocardial ischemia by impacting the intestinal permeability, oxidative stress, and energy metabolism. Frontiers in Microbiology 2019;10:1745. https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01745

56. Zened A, Combes S, Cauquil L, Mariette J, Klopp C, Bouchez O, *et al.* Microbial ecology of the rumen evaluated by 454 GS FLX pyrosequencing is affected by starch and oil supplementation of diets. FEMS Microbiology Ecology. 2013;83(2):504–514. https://doi.org/10.1111/1574-6941.12011

57. Qiu X, Qin X, Chen L, Chen Z, Hao R, Zhang S, *et al.* Serum biochemical parameters, rumen fermentation, and rumen bacterial communities are partly driven by the breed and sex of cattle when fed high-grain diet. Microorganisms. 2022;10(2):323. https://doi.org/10.3390/microorganisms10020323

58. Liu YJ, Wang C, Liu Q, Guo G, Huo WJ, Zhang YL, *et al*. Effects of sodium selenite addition on ruminal fermentation, microflora and urinary excretion of purine derivatives in Holstein dairy bulls. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition. 2019;103(6):1719–1726. https://doi.org/10.1111/jpn.13193

59. Mao SY, Huo WJ, Zhu WY. Microbiome-metabolome analysis reveals unhealthy alterations in the composition and metabolism of ruminal microbiota with increasing dietary grain in a goat model. Environmental Microbiology. 2016;18(2):525–541. https://doi.org/10.1111/1462-2920.12724

60. Purushe J, Fouts DE, Morrison M, White BA, Mackie RI, Coutinho PM, *et al.* Comparative genome analysis of *Prevotella ruminicola* and *Prevotella bryantii*: insights into their environmental niche. Microbial Ecology. 2010;60:721–729. https://doi.org/10.1007/s00248-010-9692-8

61. Rubino F, Carberry C, Waters SM, Kenny D, Mccabe MS, Creevey CJ. Divergent functional isoforms drive niche specialisation for nutrient acquisition and use in rumen microbiome. International Society for Microbial Ecology Journal. 2017;11(4):932–944. https://doi.org/10.1038/ismej.2017.34

62. Deusch S, Camarinha-Silva A, Conrad J, Beifuss U, Rodehutscord M, Seifert J. A structural and functional elucidation of the rumen microbiome influenced by various diets and microenvironments. Frontiers in Microbiology. 2017;8:1605. https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01605

63. He Z, Ma Y, Chen X, Liu S, Xiao J, Wang Y, *et al.* Protective effects of intestinal gallic acid in neonatal dairy calves against extended-spectrum β-lactamase producing enteroaggregative *Escherichia coli* infection: modulating intestinal homeostasis and colitis. Frontiers in Nutrition. 2022;9:864080. https://doi.org/10.3389/fnut.2022.864080

64. Goodrich JK, Waters JL, Poole AC, Sutter JL, Koren O, Blekhman R, *et al.* Human genetics shape the gut microbiome. Cell. 2014;159(4):789–799. https://doi.org/10.1016/j.cell.2014.09.053

65. Morotomi M, Nagai F, Watanabe Y. Description of *Christensenella minuta* gen. nov., sp. nov., isolated from human faeces, which forms a distinct branch in the order *Clostridiales*, and proposal of *Christensenellaceae* fam. nov. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. 2012;62(1):144–149. https://doi.org/10.1099/ijs.0.026989-0

66. David LA, Maurice CF, Carmody RN, Gootenberg DB, Button JE, Wolfe BE, *et al.* Diet rapidly and reproducibly alters the human gut microbiome. Nature. 2014;505:559–563. https://doi.org/10.1038/nature12820

67. Manor O, Zubair N, Conomos MP, Xu X, Rohwer JE, Krafft CE, *et al.* A Multi-omic Association Study of Trimethylamine N-Oxide. Cell reports. 2018;24(4):935–946. https://doi.org/10.1016/j.celrep.2018.06.096

68. Huang C, Ge F, Yao X, Guo X, Bao P, *et al.* Microbiome and Metabolomics Reveal the Effects of Different Feeding Systems on the Growth and Ruminal Development of Yaks. Frontiers in Microbiology. 2021;12:682989. https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.682989

69. Kittelmann S, Seedorf H, Walters WA, Clemente JC, Knight R, Gordon JI, *et al.* Simultaneous amplicon sequencing to explore co-occurrence patterns of bacterial, archaeal and eukaryotic microorganisms in rumen microbial communities. PLoS One. 2013;8(2):e47879. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0047879

70. Haas KN, Blanchard JL *Kineothrix alysoides*, gen. nov., sp. nov., a saccharolytic butyrate-producer within the family *Lachnospiraceae*. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. 2017;67(2):402–410. https://doi.org/10.1099/ijsem.0.001643

71. Xu H, Collins JF, Bai L, Kiela PR, Lynch RM, Ghishan FK. Epidermal growth factor regulation of rat NHE2 gene expression. American Journal of Physiology-Cell Physiology. 2001;281(2):C504–C513. https://doi.org/10.1152/ajpcell.2001.281.2.C504

72. Bekele AZ, Koike S, Kobayashi Y. Phylogenetic diversity and dietary association of rumen *Treponema* revealed using group-specific 16S rRNA gene-based analysis. FEMS Microbiology Letters. 2011;316(1):51–60. https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2010.02191.x

73. Nyonyo T, Shinkai T, Mitsumori M. Improved culturability of cellulolytic rumen bacteria and phylogenetic diversity of culturable cellulolytic and xylanolytic bacteria newly isolated from the bovine rumen. FEMS Microbiology Ecology. 2014;88(3):528–537. https://doi.org/10.1111/1574-6941.12318

74. Zhao C, Li Y, Chen Q, Guo Y, Sun B, Liu D. Effect of organic acids on fermentation quality and microbiota of horseshoe residue and corn protein powder. AMB Express. 2024;14:58. https://doi.org/10.1186/s13568-024-01686-4

75. Ransom-Jones E, Jones DL, Mccarthy AJ, Mcdonald JE. The *Fibrobacteres*: an important phylum of cellulose-degrading bacteria. Microbiology Ecology. 2012;63:267–281. https://doi.org/10.1007/s00248-011-9998-1

76. Béra-Maillet C, Mosoni P, Kwasiborski A, Suau F, Ribot Y, Forano E. Development of a RT-qPCR method for the quantification of *Fibrobacter succinogenes* S85 glycoside hydrolase transcripts in the rumen content of gnotobiotic and conventional sheep. Journal of Microbiological Methods. 2009;77(1):8–16. https://doi.org/10.1016/j.mimet.2008.11.009

77. Karami A, Sarshar M, Ranjbar R, Zanjani RS. The Phylum Spirochaetaceae. In: Rosenberg E, editor. The Prokaryotes: Other Major Lineages of Bacteria and The Archaea. Germany: Springer Berlin Heidelberg. 2014. pp. 915–929.

78. Savin KW, PJ Moate, Williams SRO, Bath C, Hemsworth J, Wang J, *et al.* Dietary wheat and reduced methane yield are linked to rumen microbiome changes in dairy cows. PLoS One. 2022;17(5):e0268157. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0268157

79. Kamke J, Kittelmann S, Soni P, Li Y, Tavendale M, Ganesh S, *et al.* Rumen metagenome and metatranscriptome analyses of low methane yield sheep reveals a *Sharpea*-enriched microbiome characterised by lactic acid formation and utilisation. Microbiome. 2016;4:56. https://doi.org/10.1186/s40168-016-0201-2

80. Yi S, Dai D, Wu H, Chai S, Liu S, Meng Q, *et al.* Dietary Concentrate-to-Forage Ratio Affects Rumen Bacterial Community Composition and Metabolome of Yaks. Frontiers in Nutrition. 2022;9:927206. https://doi.org/10.3389/fnut.2022.927206

81. Wang C, Xu Y, Han L, Liu Q, Guo G, Huo W, *et al.* Effects of zinc sulfate and coated zinc sulfate on lactation performance, nutrient digestion and rumen fermentation in Holstein dairy cows. Livestock Science. 2021;251:104673. https://doi.org/10.1016/j.livsci.2021.104673

82. Ishaq SL, Page CM, Yeoman CJ, Murphy TW, Van Emon ML, Stewart WC. Zinc AA supplementation alters yearling ram rumen bacterial communities but zinc sulfate supplementation does not. Journal of Animal Science. 2019;97(2):687–697. https://doi.org/10.1093/jas/sky456

83. Du HS, Wang C, Wu ZZ, Zhang GW, Liu Q, Guo G, *et al.* Effects of rumen-protected folic acid and rumen-protected sodium selenite supplementation on lactation performance, nutrient digestion, ruminal fermentation and blood metabolites in dairy cows. Journal of the Science of Food and Agriculture. 2019;99(13):5826–5833. https://doi.org/10.1002/jsfa.9853

84. Liu H, Xu T, Xu S, Ma L, Han X, Wang X, *et al.* Effect of dietary concentrate to forage ratio on growth performance, rumen fermentation and bacterial diversity of Tibetan sheep under barn feeding on the Qinghai-Tibetan plateau. Peer Journal. 2019;7:e7462. https://doi.org/10.7717/peerj.7462

85. Miltko R, Rozbicka-Wieczorek JA, Wiesyk E, Czauderna M. The influence of different chemical forms of selenium added to the diet including carnosic acid, fish oil and rapeseed oil on the formation of volatile fatty acids and methane in the rumen, and fatty acid profiles in the rumen content and muscles of lambs. Acta Veterinaria. 2016;66(3):373–391. https://doi.org/10.1515/acve-2016-0032

86. Shahid A, Moolchand M, Soomro SA, Giasuddin SM, Kalhoro NH, Kaka A, *et al.* Influence of dietary selenium yeast supplementation on fermentation pattern, papillae morphology and antioxidant status in rumen of goat. Pakistan Journal of Zoology. 2020;52(2):565–571. https://doi.org/10.17582/journal.pjz/20190205120240

87. Liu YJ, Zhang ZD, Dai SH, Wang Y, Tian XF, Zhao JH, *et al.* Effects of sodium selenite and coated sodium selenite addition on performance, ruminal fermentation, nutrient digestibility and hepatic gene expression related to lipid metabolism in dairy bulls. Livestock Science. 2020;237:104062. https://doi.org/10.1016/j.livsci.2020.104062

88. Samo SP, Malhi M, Gadahi J, Lei Y, Kaciwal AB, Soomro SA. Effect of organic selenium supplementation in diet on gastrointestinal tract performance and meat quality of goat. Pakistan Journal of Zoology. 2018;50(3):995–1001. https://doi.org/10.17582/journal.pjz/2018.50.3.995.1003

89. Ye X, Zhou L, Zhang Y, Xue S, Gan QF, Fang S. Effect of host breeds on gut microbiome and serum metabolome in meat rabbits. BMC Veterinary Research. 2021;17:24. https://doi.org/10.1186/s12917-020-02732-6

90. Wu I-W, Lee C-C, Hsu H-J, Sun C-Y, Chen Y-C, Yang K-J, *et al.* Compositional and functional adaptations of intestinal microbiota and related metabolites in CKD patients receiving dietary protein restriction. Nutrients. 2020;12(9):2799. https://doi.org/10.3390/nu12092799

91. Zhu W, Yan J, Zhi C, Zhou Q, Yuan X. 1,25(OH)2D3 deficiency-induced gut microbial dysbiosis degrades the colonic mucus barrier in *Cyp27b1* knockout mouse model. Gut Pathogens. 2019;11:8. https://doi.org/10.1186/s13099-019-0291-z

92. Ricci S, Pacífico C, Castillo-Lopez E, Rivera-Chacon R, Schwartz-Zimmermann HE, Reisinger N, *et al.* 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;13:920427. https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.920427

93. Pacífico C, Petri RM, Ricci S, Mickdam E, Wetzels SU, Neubauer V, *et al.* Unveiling the Bovine Epimural Microbiota Composition and Putative Function. Microorganisms. 2021;9(2):342. https://doi.org/10.3390/microorganisms9020342

94. Hackmann TJ, Firkins JL. Maximizing efficiency of rumen microbial protein production. Frontiers in Microbiology. 2015;6:465. https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00465

95. Tsuchiya Y, Chiba E, Kimura A, Kawashima K, Hasunuma T, Kushibiki S, *et al*. Predicted functional analysis of rumen microbiota suggested the underlying mechanisms of the postpartum subacute ruminal acidosis in Holstein cows. Journal of Veterinary Science. 2023;24(2):e27. https://doi.org/10.4142/jvs.22246

96. Weiss B. Effect of supplemental biotin on performance of lactating dairy cows. Proceedings DIGAL Conference. Chihuahua Mexico: Delicias; 2001. 7–17.

97. Streit WR, Entcheva P. Biotin in microbes, the genes involved in its biosynthesis, its biochemical role and perspectives for biotechnological production. Applied Microbiology and Biotechnology. 2003;61:21–31. https://doi.org/10.1007/s00253-002-1186-2

98. Hayashi A, Mikami Y, Miyamoto K, Kamada N, Sato T, Mizuno S, *et al.* Intestinal dysbiosis and biotin deprivation induce alopecia through overgrowth of *Lactobacillus murinus* in mice. Cell Reports. 2017;20:1513–1524. https://doi.org/10.1016/j.celrep.2017.07.057

99. Colagiorgi A, Turroni F, Mancabelli L, Serafini F, Secchi A, van Sinderen D, *et al.* Insights into teichoic acid biosynthesis by *Bifidobacterium bifidum* PRL2010. FEMS Microbiology Letters. 2015;362(17):fnv141. https://doi.org/10.1093/femsle/fnv141

100. Garcia M, Bradford BJ, Nagaraja TG. Invited review: ruminal microbes, microbial products, and systemic inflammation. The Professional Animal Scientists. 2017;33(6):635–650. https://doi.org/10.15232/pas.2017-01663

101. Lu X, Ce Q, Jin L, Zheng, J, Sun M, Tang X, *et al.* Deoiled sunflower seeds ameliorate depression by promoting the production of monoamine neurotransmitters and inhibiting oxidative stress. Food and Function. 2021;12(2):573–586. https://doi.org/10.1039/D0FO01978J

102. Mao SY, Zhang RY, Wang DS, Zhu WY. Impact of subacute ruminal acidosis (SARA) adaptation on rumen microbiota in dairy cattle using pyrosequencing. Anaerobe. 2013;24:12–19. https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2013.08.003

103. Liu Q, Zhang Y, Zhang J, Du Z, He B, Qin J, et al. Organic Iodine Improves the Growth Performance and Gut Health of Fujian Yellow Rabbits. Animals. 2024;14(13):935. https://doi.org/10.3390/ani14131935

104. Mehri A. Trace elements in human nutrition (II)–An update. International Journal of Preventive Medicine. 2020;11:2. https://doi.org/10.4103/ijpvm.IJPVM_48_19

105. Hilal EY, Elkhairey MAE, Osman AOA. The role of zinc, manganse and copper in rumen metabolism and immune function: a review article. Open Journal of Animal Sciences. 2016;6:304–324. https://doi.org/10.4236/ojas.2016.64035

106. Miller WJ. Zinc nutrition of cattle: a review. Journal of Dairy Science. 1970;53(8):1123–1135. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(70)86355-X

107. Ma L, Terwilliger A, Maresso AW. Iron and zinc exploitation during bacterial pathogenesis. Metallomics. 2015;7(12):1541–1554. https://doi.org/10.1039/c5mt00170f

108. McDevitt CA, Ogunniyi AD, Valkov E, Lawrence MC, Kobe B, McEwan AG, et al. A molecular mechanism for bacterial susceptibility to zinc. PLoS Pathogens. 2011;7(11):e1002357. https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1002357

109. Kwak WS, Kim YI, Choi DY, Lee YH. Effect of feeding mixed microbial culture fortified with trace minerals on ruminal fermentation, nutrient digestibility, nitrogen and trace mineral balance in sheep. Journal of Animal Science and Technology. 2016;58:21. https://doi.org/10.1186/s40781-016-0102-8

110. Lee MRF, Fleming HR, Whittington F, Hodgson C, Suraj PT, Davies DR. The potential of silage lactic acid bacteria-derived nano-selenium as a dietary supplement in sheep. Animal Production Science. 2019;59(11):1999–2009. https://doi.org/10.1071/AN19258

111. Romero-Pérez A, García-García E, Zavaleta-Mancera A, Ramírez-Bribiesca JE, Revilla-Vázquez A, Hernández-Calva LM, *et al.* Designing and evaluation of sodium selenite nanoparticles *in vitro* to improve selenium absorption in ruminants. Veterinary Research Communications. 2010;34:71–79. https://doi.org/10.1007/s11259-009-9335-z

112. Grabez V, Coll-Brasas E, Fulladosa E, Hallenstvedt E, Håseth TT, Øverland M, *et al.* Seaweed inclusion in finishing lamb diet promotes changes in micronutrient content and flavour-related compounds of raw meat and dry-cured leg (Fenalår). Foods. 2022;11(7):1043. https://doi.org/10.3390/foods11071043

113. Hendawy AO, Khattab MS, Sugimura S, Sato K. Effects of 5-aminolevulinic acid as a supplement on animal performance, iron status, and immune response in farm animals: A review. Animals. 2020;10(8):1352. https://doi.org/10.3390/ani10081352

114. Li X, Højberg O, Canibe N, Jensen BB. Phylogenetic diversity of cultivable butyrate-producing bacteria from pig gut content and feces. Journal of Animal Science. 2016;94(3):377–381. https://doi.org/10.2527/jas.2015-9868

115. Makkar HPS, Tran G, Hauzé V, Giger-Reverdin S, Lessire M, Lebas F, Ankers P. Seaweeds for livestock diets: A review. Animal Feed Science and Technology. 2016;212:1–17. https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2015.09.018

116. NRC (National Research Council) Nutrient Requirements of Beef Cattle. 8th Revised Edition. Washington, DC: National Academies Press. 2015.

117. Giro TM, Kulikovsky AV, Giro AV. Effect of Essential Microelements on Proteomic Profile of Lamb Muscle Tissue Protein. Food Processing: Techniques and Technology. 2023;53(2):396–403. (In Russ.). https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-2-2443

118. Giro TM, Ilina LA, Kulikovsky AV, Ziruk IV, Giro AV. Molecular genetic studies of microbiocenosis and microstructure of jejunum wall in young rams grown on biofortified feed additives. Foods and Raw Materials. 2022;10(2):310–317. https://doi.org/10.21603/2308-4057-2022-2-541