

УДК: 636.294:579.62:577.2
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2023.2.18

ОСОБЕННОСТИ МИКРОБИОМА РУБЦА У СЕВЕРНЫХ ОЛЕНЕЙ ПРИ НЕКРОБАКТЕРИОЗЕ

Лайшев К.А.^{1*} – доктор ветеринарных наук, академик РАН, главный научный сотрудник (ORCID 0000-0003-2490-6942), Ильина Л.А.² – доктор биологических наук, главный научный сотрудник (ORCID 0000-0003-2789-4844), Южаков А.А.¹ – доктор сельскохозяйственных наук, главный научный сотрудник (ORCID 0000-0002-0633-4074)

¹ - ФГБНУ «Санкт-Петербургский Федеральный исследовательский центр Российской академии наук», г. Санкт Петербург, layshev@mail.ru

² - Общество ограниченной ответственности "Биотроф+", Санкт-Петербург

* layshev@mail.ru

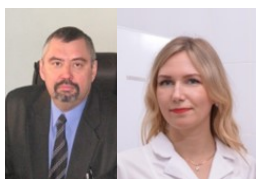
Ключевые слова: северные олени, болезни северных оленей, некробактериоз, микроорганизмы.

Keywords: reindeer, reindeer diseases, necrobacteriosis, microorganisms

Поступила: 15.04.2023

Принята к публикации: 10.05.2023

Опубликована онлайн: 29.06.2023



РЕФЕРАТ

Северные олени являются уникальным видом животных, которые приспособились к суровым арктическим условиям. Адаптационные особенности строения желудочно-кишечного тракта северных оленей позволяет поедать активно переваривать и усваивать лишайники, листву, кустарники, подснежную зелень. Наряду с полезной микрофлорой, в рубце северных оленей обитают патогенные и условно патогенные микроорганизмы. Цель наших исследований - изучить и сравнить особенности микробиома рубца у здоровых и больных некробактериозом северных оленей. Предметом исследования служили пробы рубцового содержимого, отобранные у 38 северных оленей (*Rangifer tarandus*) ненецкой породы разных возрастных групп. Изучения микробиома проводили способом NGSсеквенирования на платформе для секвенирования последующего поколения MiSeq (Illumina, США) с применением праймеров для V3-V4 региона 16S рРНК.

На основании проведенных исследований удалось установить, что микробиом рубца северных оленей в летний и зимний периоды характеризуется определенными отличиями. В летний пастбищный период регистрируется наличие большего количества таких патогенных бактерий, как *Fusobacterium sp.*, *Parvimonas sp.* и *Porphyromonas endodontalis*, при этом в спектре патогенных микроорганизмов наиболее часто выделяли бактерий рода *Fusobacterium*, которые считаются основным инфекционным возбудителем при некробактериозе. В этот же период в пробах рубца у оленей устанавливали наличие бактерий рода *Sharpea*, входящих в филу *Erysipelotrichaceae*, которые ферментируют сахара с образованием молочной кислоты и могут вызывать развитие лактатного ацидоза. У телят в процессе болезни снижается количество грибов-хитридиомикетов, которые, участвуют в ферментации полисахаридов.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Северные олени являются уникальным видом животных, которые приспособились к суровым арктическим условиям. Адаптационные механизмы к длительным низким температурам вызвали определенные анатомо-физиологические изменения у животных. Так густой плотный шерстный покров, насыщенный воздухом, способствует защите тела оленя в зимний период, слабо развитые потовые железы снижение и сужение кожных капилляров уменьшает теплоотдачу, а большое количество поверхностных кровеносных сосудов в слизистой оболочке трахеи согревает вдыхаемый холодный воздух, расширенные фаланги пальцев конечностей облегчают движению по глубокому снегу и т.д. [1].

Несомненно, определенные адаптационные изменения претерпели и пищеварительная система северных оленей: адаптационные особенности строения желудочно-кишечного тракта животных отличается по сравнению с другими представителями семейства оленьих и позволяет поедать лишайники, листву, кустарники, подснежную зелень, активно переваривать и усваивать.

Следует отметить уникальность профиля микроорганизмов, обитающих в рубце северных оленей, которые участвуют в переваривании большого количества растительной клетчатки. Ранее проведенные нами исследования позволили установить, что по таксономической принадлежности более 80 % выявленных 361 микроорганизмов относится к четырем бактериальным филумам - *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria* и *Proteobacteria*, менее представленными оказались *Tenericutes*, *Fusobacteria*, *Acidobacteria* и *Cyanobacteria*. [2, 3].

Наряду с полезной микрофлорой, в рубце северных оленей обитают патогенные и условно патогенные микроорганизмы, среди которых следует, в первую очередь, выделить *Fusobacterium necrophorum*. Именно эта бактерия является основным этиологическим инфектом возникновения некробактериоза в олене-

водческих стадах.

Некробактериоз - инфекционная болезнь северных оленей, которая постоянно регистрировалась в оленеводческих хозяйствах Арктической зоны РФ. По данным отдельных исследователей, заболеваемость оленей некробактериозом может составляла 10-30% от общего числа животных в стаде а летальность больных животных могла достигать 50-80%. Болезнь отмечали только в летний и ранний осенний периоды, среди заболевших животных до 60% составляют телята текущего года рождения. [4, 5].

Так по данным Плоховой А в 2005 и 2006 г. оленеводческих стадах РФ ежегодно некробактериозом заболело более 30 тыс. оленей, а пало от 5,0 до 7,0 тыс. животных. [6].

В настоящее время данная болезнь практически не встречается в отчетности ветеринарных специалистов по болезням северных оленей. Это связано с тем, что Приказом Минсельхоза России от 19.12.2011 № 476 некробактериоз внесен в перечень заразных, в том числе особо опасных болезней животных, по которым могут устанавливаться ограничительные мероприятия (карантин). По нашему мнению, некробактериоз по прежнему встречается в оленеводческих хозяйствах, так как неоднократно видели в оленеводческих стадах с клиническими проявлениями некробактериоза (гнойно-некротические поражения дистальных участков конечностей).

Несомненно, мы согласны с учеными, которые считают, что при возникновении некробактериоза у оленей наряду с *Fusobacterium necrophorum* негативную роль играют и другие микроорганизмы. Для примера, А.М.Самандас, исследуя бактериологически патологический материал, полученный из гнойно-некротических очагов дистальных участков конечностей оленей, только в 35% случаев выделил возбудитель некробактериоза в монокультуре, а в 65% случаев *F. necrophorum* выделяли в ассоциации с другой патогенной микрофлорой: чаще всего высевали стафилококки - 45-50%, споровые анаэ-

робы 26 - 31%, микробы кишечной группы - 15-20%, стрептококки - 13-15%. Близкие по показателям цифры результаты были получены и у других исследователей [7].

При эпизоотологическом обследовании некробактериозных очагов следует учитывать, что *Fusobacterium necroforum* является естественным обитателем желудочно-кишечного тракта северных оленей, об этом в своих работах впервые указывали Б.В. Маслухин и А.Г. Маслухина, которые выделяли бактерии *F. necroforum* у телят оленей начиная с 5-дневного возраста. В своих работах авторы указывали, что возбудитель некробактериоза выделен в 40% случаев из кала животных, бактерионосительство продолжается в течении всего года. [8].

Позже С. Самойлов засвидетельствовать прежде полученные результаты, исследовав выделение *F. necroforum* из 7 содержимого рубца и кала домашних и диких северных оленей. Он отмечал, что от 30 особей выделено бактериологически 10 культур из рубцового содержимого и 7 из каловых масс оленей, в 6 вариантах одновременно выделяли культуры и из рубца, и из каловых масс. Четыре культуры возбудителя некробактериоза выделены от диких северных оленей, что указывает на факт природной очаговости болезни. Возбудитель некробактериоза выделяли в летнее и в зимнее время года у оленей разного пола и возраста. [9].

Таким образом очевидно, что этиология некробактериоза у северных оленей связана с составом патогенных микроорганизмов в рубце животных. Несомненно, имеет место ведущая роль *F. necrophorum* в возникновении болезни у оленей, однако, учитывая возможность синергетического действия при совместном расселении фузобактерии и микрофлорой других экологических ниш организма животного, например, рубца, возможно ожидать осложненных форм болезни (гнойно-некротические поражения ротовой полости, гнойные эндоперикардиты, плевриты и пневмо-перикардиты, гнойно-некротические поражения печени и т.д.).

Цель наших исследований - изучить и сравнить особенности микробиома рубца у здоровых и больных некробактериозом северных оленей.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ / MATERIALS AND METHOD

Предметом изучения служили 38 особей северных оленей (*Rangifer tarandus*) ненецкой породы разных возрастных групп (телята 4-8 мес. и взрослые особи).

Диагноз на некробактериоз у больных животных ставили на основании клинических признаков, которые проявлялись при движении животного в виде хромоты опирающейся конечности или конечность удерживалась на весу. В области венчика копыта обнаруживали инфицированную рану в виде гнойно-некротической язвы с сильным воспалением окружающих тканей. У отдельных оленей отмечали флегмонозно-гнойное воспаление с поражением более глубоких слоев тканей, сухожильных влагалищ и сухожилий.

Пробы рубцового содержимого отбирали в летний и зимний периоды в оленеводческих стадах Ямало-Ненецкого и Ненецкого автономных округов при помощи зонда и в течении 2 часов замораживали и хранили при температуре -20°C. Полную ДНК из образцов отделяли с помощью комплекта Genomic DNA Purification Kit («Fermentas, Inc. Литва») как рекомендовано в рекомендациях производителя. Количество ДНК измеряли флуорометром Qubit® 2. 0 (Life Technologies, США). Выделенную ДНК для последующего анализа так же сохраняли при температуре -20°C.

Изучения микробиома проводили способом NGS секвенирования на платформе для секвенирования последующего поколения MiSeq (Illumina, США) с применением праймеров для V3-V4 региона 16S рРНК. Обработку полученных видов и контроль качества проводился в соответствии с программой QIIME2 ver. 10 (<https://PP.razbor.ru/> Полученных результатов был выполнен в программном обеспечении QIIME2. Индексы α -биоразнообразия (в рамках сопоставления выборок), вклю-

чая Шеннона, Chao1, Симпсона и предполагаемые OTU, были проанализированы с применением параметров по умолчанию в программном обеспечении QIIME2. Общие и неповторимые OTU между разными видами оленей были рассчитаны и визуализированы при помощи пакета VennDiagram в программном обеспечении R. Для исключения редких таксонов комплекты данных, в анализ сети общей встречаемости были интегрированы лишь таксоны с сравнительной численностью больше 0,01%, встречающиеся как минимум в 50% всех образцов внутри любого вида животных.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

По результатам проведенных исследований 61% филотипов у здоровых и больных некробактериозом взрослых оленей были отнесены к филуму *Firmicutes*, бактерий филумов *Bacteroidetes*, *Actinobacteria* и *Proteobacteria* было несколько меньше, а минимальное количество было отнесено к филоумам *Fusobacteria*, *Acidobacteria*, *Cyanobacteria*, 22,8% филотипов по базам идентифицировать не удалось.

При сравнительном анализе микробиома рубца у здоровых и больных некробактериозом оленей установлено более высокое количество фузобактерий (филум *Fusobacteria*) у больных взрослых особей в 1,79 раза ($P < 0,05$), у больных телят по сравнению со здоровыми в 2,65

раза ($P < 0,05$), что является доказательством доминирующего значения микроорганизмов рода *Fusobacterium* (в т. ч. *F. necrophorum*) при возникновении некробактериоза (Рисунок 1). О полиэтиологическом происхождении некробактериоза свидетельствует обнаруженное у больных некробактериозом животных увеличенное содержание других патогенных бактерий, в том числе, возбудителей гнойно-некротических инфекций. Так у всех больных оленей отмечено высокое наличие бактерий рода *Staphylococcus* ($P < 0,05$) и семейства *Pseudomonadaceae* ($P < 0,05$), а молодых животных зафиксировано большее присутствие в содержимом рубца кампилобактерий (семейство *Campylobacteriaceae*) и (семейства *Enterobacteriaceae*) в 1,96 раза ($P < 0,05$) и 2,38 раз соответственно ($P < 0,05$) в сопоставлении с клинически здоровыми особями (Рисунок 1).

Следует также отметить, что наши исследования показали у клинически больных некробактериозом оленей уменьшенное число микроорганизмов, участвующих в ферментации углеводов лишайниковых кормов ($P < 0,05$), и бактерий, участвующих в ферментации полисахаридов с образованием летучих жирных кислот (ЛЖК) класса *Clostridia* (в том числе семейств *Lachnospiraceae*, *Eubacteriaceae* и *Clostridiaceae*).

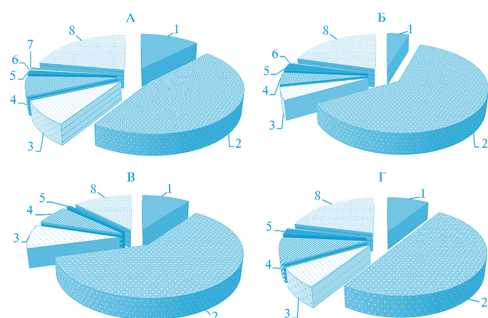


Рис. 1 Бактериальный профиль микроорганизмов в рубце северных оленей: А - взрослые здоровые, Б - взрослые больные некробактериозом, В - телята здоровые, Г - телята больные некробактериозом. Микроорганизмы: 1 - *Bacteroidetes*; 2 - *Firmicutes*; 3 - *Actinobacteria*; 4 - *Proteobacteria*; 5 - *Fusobacteria*; 6 - *Cyanobacteria*; 7 - *Acidobacteria*; 8 - неклассифицированные нуклеотидные последовательности.

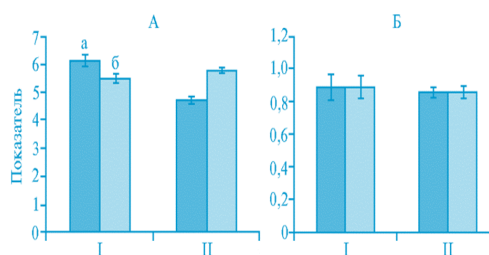


Рис. 2 Профиль микроорганизмов в пробах рубца взрослых животных и телят северных оленей ($\bar{X} \pm x$): а - индекс Шеннона, б - индекс Симпсона; I - здоровые, II - олени с некробактериозной патологией.

У всех некробактериозных оленей отмечено подлинно меньшее, число бактерий филума *Bacteroidetes* (включающего роды *Bacteroides*, *Prevotella*), которые участвуют в процессе ферментации крахмала, клетчатки, и прочих углеводов, а также белков дезаминирующих аминокислоты. а у заболелых телят зафиксировано падение числа бактерий порядка *Negativicutes* (родов *Megasphaera*, *Selenomonas*), а именно эти микроорганизмы стабилизируют уровень кислотности в рубце животных и препятствуют развитию лактатного ацидоза за счет расщепления пропионовой, уксусной, масляной, молочной и прочих органических кислот. Приведенные выше результаты подтверждены изменениями экологических индексов (Рисунок 2).

ОБСУЖДЕНИЕ/ DISCUSSION

Таким образом, на основании проведенных исследований удалось установить, что микробиом рубца северных оленей в летний и зимний периоды характеризуется определенными отличиями. Так в летний пастбищный период регистрируется наличие большего количества таких патогенных бактерий, как *Fusobacterium sp.*, *Parvimonas sp.* и *Porphyromonas endodontalis*, при этом в спектре патогенных микроорганизмов наиболее часто выделяли бактерий рода *Fusobacterium*, которые считаются основным инфекционным возбудителем при некробактериозе.

Кроме того, в летний период в пробах рубца у оленей устанавливали наличие бактерий рода *Sharpea*, входящих в филу *Erysipelotrichaceae*, которые ферментируют сахара с образованием молочной кислоты, как следствие изменение кислотности в преджелудке, нарушение переваривания клетчатки и развитие лактатного ацидоза, который в свою очередь провоцирует повреждение эпителия рубца и способствует проникновению патогенных фузобактерий через слизистую рубца в кровь. [10-12]

Следует отметить влияние других микроорганизмов, выделяемых из рубца

северных оленей в летний период. Так патогенные бактерии, по данным некоторых авторов способствуют развитию хронических болезней полости рта, в частности – хронических периодонтитов [13].

Бактерии рода *Oscillospira* относятся к кластеру *Clostridia* IV, являются анаэробами, недавно их идентифицировали как маркер, связанный с различными патологическими процессами у животных, в частности, худобой [14].

На основании выше сказанного, можно сделать заключение о том, что профиль микроорганизмов содержимого рубца у северных оленей в летний характеризуется увеличением количества патогенных видов бактерий: таких как, *Fusobacterium sp.*, *Parvimonas sp.* и *Porphyromonas endodontalis*, которые можно выделить как микроорганизмы-маркеры патологических процессов (некробактериоз, лактатный ацидоз, болезни полости рта и др.). Результаты проведенных исследований могут послужить основой для постановки окончательного диагноза на некробактериоз в оленеводческих стадах и разработки специально ветеринарно-профилактических мероприятий по борьбе с указанной инфекцией.

PECULIARITIES OF THE RUMINAL MICROBIOME IN REINDEER DURING NECROBACTERIOSIS

Laishev K.A.¹*, Doctor of Veterinary Sciences, Academician of the Russian Academy of Sciences, Chief Researcher (ORCID 0000-0003-2490-6942), Ilyina L.A.², Doctor of Biological Sciences, Chief Researcher (ORCID 0000-0003-2789-4844), Yuzhakov A.A.¹, Doctor of Agricultural Sciences, Chief Researcher (ORCID 0000-0002-0633-4074)

1- St. Petersburg Federal Research Center of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, layshev@mail.ru

2- Biotrof+ LTD, St. Petersburg

ABSTRACT

Reindeer are a unique animal species that have adapted to the harsh Arctic conditions. Adaptive features of the structure of the gastrointestinal tract of reindeer allows you to eat actively digest and assimilate lichens,

foliage, shrubs, snowy greens. Along with beneficial microflora, pathogenic and conditionally pathogenic microorganisms live in the reindeer rumen. The purpose of our research is to study and compare the features of the rumen microbiome in healthy and sick reindeer with necrobacteriosis. The subject of the study was samples of cicatricial contents taken from 38 reindeer (*Rangifer tarandus*) of the Nenets breed of different age groups. Microbiome studies were performed by NGS sequencing on the MiSeq next generation sequencing platform (Illumina, USA) using primers for the V3-V4 region of 16S rRNA.

Based on the studies, it was possible to establish that the microbiome of the reindeer rumen in summer and winter is characterized by certain differences. During the summer grazing period, the presence of a greater number of pathogenic bacteria such as *Fusobacterium sp.*, *Parvimonas sp.* and *Porphyromonas endodontalis*, while in the spectrum of pathogenic microorganisms, bacteria of the genus *Fusobacterium*, which are considered the main infectious agent in necrobacteriosis, were most often isolated. In the same period, the presence of bacteria of the genus *Sharpea*, belonging to the phylum *Erysipelotrichaceae*, which ferment sugars with the formation of lactic acid and can cause the development of lactic acidosis, was established in deer rumen samples. In calves, during the disease, the number of chytridiomycete fungi, which are involved in the fermentation of polysaccharides, decreases.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Забродин В.А., Лайшев К.А., Белова Л.М., Логинова О.А., Савельев Д.В., Лайшев А.Х., Климонтов М.И., Мицкевич В.Ю., Силков А.М. Болезни северных оленей Санкт-Петербург - Пушкин.- 2019. - 270 с.
2. Ilna L.A., Filippova V.A., Brazhnik E.A., Dubrovin A.V., Yildirim E.A., Dunyashev T.P., Laptev G.Y., Novikova N.I., Sobolev D.V., Yuzhakov A.A., Laishev K.A. The comparative analysis of the ruminal bacterial population in reindeer (*Rangifer tarandus* L.) from the Russian Arctic zone: regional and seasonal effects //Animals.- 2021.- T. 11. № 3. С. 1-18.
3. Ильина Л.А.; Лайшев К.А., Лаптев Г.Ю.; Никонов И.Н., Зайцев С.Ю. Молекулярно-генетический подход к оценке микробного сообщества рубца северного оленя //Ветеринария, зоотехния и биотехнология.- 2017.- № 9. - С. 45-50.
4. Прокудин А.В., Лайшев К.А. Актуальная эпизоотология инфекционных болезней домашних северных оленей полуострова Таймыр: некробактериоз // Иппология и ветеринария.- 2019.- № 4.- С. 26-30.
5. Маслова Е.Н., Куртеков В.А. Анализ заболеваемости некробактериозом северных оленей в условиях ЯНАО Тазовского района //Научная жизнь.- 2018.- №11.- С. 104-110.
6. Плохова А.А. Эпизоотическая ситуация и разработка научно обоснованной системы ветеринарно-санитарных мероприятий по борьбе с некробактериозом северных оленей в Российской Федерации: Автореф. дис. канд. ветеринар. наук, Щелково.- 2007. - 26 с.
7. Самандас А.М. Оптимизация системы защиты северных оленей от гнуса, оводов и некробактериоза на Крайнем Севере: Автореф. дис. д-ра ветер. наук, СПб.- 2011. - 47 с.
8. Маслухин Б.В и Маслухина А. Г О носительстве северными оленями возбудителя некробациллеза и культурно-биохимических свойствах бактерий некроза, выделенных из рубца // Тр. НИИСХ Крайнего Севера,- 1971.- Т. 19.- С. 34-49.
9. Самойлов С.Г. Эпизоотологическое обоснование и оптимизация лечебно-профилактических мероприятий при некробактериозе северных оленей: Автореф дис. канд. ветеринар. наук.- Новосибирск, 2006. - 18 с.
11. Nocek, J. E. Bovine acidosis: implications on laminitis. J. Dairy Sci., 1997, 80: 1005-1028
12. Oliveros, J.C. Venny. An interactive tool for comparing lists with Venn's diagrams. 2015 [https:// bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/index.html](https://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/index.html)
13. Smith, G. R., Till, D., Wallace, L. M.,

Noakes, D. E. Enhancement of the infectivity of *Fusobacterium necrophorum* by other bacteria. *Epidemiol. Infect.*- 1989.- 102(3): 447-458.

14. Sundset M. A., Præsteng, K. E., Cann, I. K. O., Mathiesen, S. D., Mackie, R. I., Novel rumen bacterial diversity in two geographically separated sub-species of reindeer // *Microbial. Ecol.*, 2007, 54(3), 424–438.

REFERENCES

1. V. A. Zabrodin, K. A. Laishev, L. M. Belova, O. A. Loginova, D. V. Saveliev, A. Kh. Laishev, M. I. Klimontov, and V. Yu. Silkov A.M. Reindeer diseases St. Petersburg - Pushkin. - 2019. - 270 p. (In Russ.)

2. Ilina L.A., Filippova V.A., Brazhnik E.A., Dubrovin A.V., Yildirim E.A., Dunyashev T.P., Laptev G.Y., Novikova N.I., Sobolev D.V., Yuzhakov A.A., Laishev K.A. The comparative analysis of the ruminal bacterial population in reindeer (*Rangifer tarandus* L.) from the Russian Arctic zone: regional and seasonal effects // *Animals*.- 2021.- V. 11. No. 3. P. 1-18.

3. Ilyina L.A.; Laishev K.A., Laptev G.Yu.; Nikonov I.N., Zaitsev S.Yu. Molecular genetic approach to assessing the microbial community of the reindeer rumen // *Veterinary science, zootechnics and biotechnology*. - 2017. - No. 9. - P. 45-50. (In Russ.)

4. Prokudin A.V., Laishev K.A. Actual epizootology of infectious diseases of domestic reindeer of the Taimyr Peninsula: necrobacteriosis // *Hippology and veterinary medicine*.- 2019.- No. 4.- P. 26-30. (In Russ.)

5. Maslova E.N., Kurtekov V.A. Analysis of the incidence of necrobacteriosis in reindeer in the conditions of the YaNAO of the Tazovsky district // *Nauchnaya zhizn*.- 2018.- No. 11.- P. 104-110. (In Russ.)

6. Plokhova A.A. Epizootic situation and development of a scientifically based system of veterinary and sanitary measures to combat reindeer necrobacteriosis in the Russian Federation: Abstract of the thesis. dis. cand. vet. Sciences, Shchelkovo. - 2007. - 26 p. (In Russ.)

7. Samandas A.M. Optimization of the reindeer protection system from midges, gadflies and necrobacteriosis in the Far North: Abstract of the thesis. dis. Dr. vet. Sciences, St. Petersburg - 2011. - 47 p.

8. Maslukhin, B.V. and Maslukhina, A.G., On the Carriage of Necrobacillosis Causative Agent by Reindeer and Cultural and Biochemical Properties of Necrosis Bacteria Isolated from Rumen, *Tr. Research Institute of Agriculture of the Far North*, - 1971.- T. 19.-S. 34-49.

9. Samoilov S.G. Epizootic substantiation and optimization of therapeutic and prophylactic measures for reindeer necrobacteriosis: Abstract of the thesis. cand. vet. Sciences. - Novosibirsk, 2006. - 18 p.

11. Nocek, J. E. Bovine acidosis: implications on laminitis. *J. Dairy Sci.*, 1997, 80: 1005-1028

12. Oliveros, J.C. Venny. An interactive tool for comparing lists with Venn's diagrams. 2015 [https:// bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/index.html](https://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/index.html)

13. Smith, G. R., Till, D., Wallace, L. M., Noakes, D. E. Enhancement of the infectivity of *Fusobacterium necrophorum* by other bacteria. *epidemiol. Infect.*- 1989.- 102(3): 447-458.

14. Sundset M. A., Præsteng, K. E., Cann, I. K. O., Mathiesen, S. D., Mackie, R. I., Novel rumen bacterial diversity in two geographically separated sub-species of reindeer, *Microbial. Ecol.*, 2007, 54(3), 424–438.