

УДК 636.083.37:665.12

DOI: 10.52419/issn2072-2419.2022.3.27

ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ БАКТЕРИЙ КИШЕЧНИКА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА, ВЫЯВЛЕННОЕ С ПОМОЩЬЮ ВЫСОКОПРОИЗВОДИТЕЛЬНОГО СЕКВЕНИРОВАНИЯ

Сухинин А.А., д.б.н., профессор <https://orcid.org/0000-0002-1245-3440> ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины», Санкт-Петербург, Краснопеев А.Ю. <https://orcid.org/0000-0002-3368-4678>, Горшкова А.С. <https://orcid.org/0000-0003-2408-0837>, Белых О.И. <https://orcid.org/0000-0002-1188-7351>, Липко И. <https://orcid.org/0000-0002-6214-2974>, Потапов С.А. <https://orcid.org/0000-0003-1391-6731>, Тихонова И.В. <https://orcid.org/0000-0002-4323-6799> ФГБОУН «Лимнологический институт» СО РАН, Иркутск, Батомункуев А.С., к.в.н., доцент <https://orcid.org/0000-0002-2263-6355>, Логинов С.Н. ФГБОУ ВО «Иркутский государственный аграрный университет им. А.А. Ежевского», Иркутск

Ключевые слова: крупный рогатый скот, микробиом кишечника, бактерии, 16S рРНК ген, биоинформатический анализ

Keywords: cattle, gut microbiome, bacteria, 16S rRNA gene, bioinformatics analysis



РЕФЕРАТ

В последнее время активно исследуется микробиота кишечника и ее роль для развития и здоровья домашних животных. Состав микробиома кишечника влияет на усвоение пищи, состояние иммунной системы животного, продуктивность и показатели роста домашнего скота. Также в кишечнике животных обитают специфические филоны бактерий, которые могут служить маркерами фекального загрязнения в окружающей среде. Нами проведено исследование микробиома кишечника 12 животных, разделенных на две группы – телята и взрослые коровы. Выявлены бактерии таксонов *Actinobacteriota*, *Bacteroidota*, *Campilobacterota*, *Chloroflexi*, *Cyanobacteria*, *Desulfobacterota*, *Fibrobacterota*, *Firmicutes*, *Fusobacterota*, *Halobacterota*, *Elusimicrobiota*, *Euryarchaeota*, *Proteobacteria*, *Patescibacteria*, *Spirochaetota*, *Thermoplasmata*, *Verrucomicrobia* и небольшое количество неклассифицированных микроорганизмов.

Показано, что микробиом кишечника телят отличается от микробиома взрослых коров, а диарея влияет на состав кишечника молодых животных, снижая биоразнообразие обитателей. У телят индекс Шеннона составлял от 3,18 до 4,3, у взрослых животных от 4,41 до 5,24. Сравнение микробиомов кишечника здоровых телят и телят с диареей проведено с помощью t-критерия Хатчесона, разница оказалась значительной ($P < 0.0001$). Основные филумы бактерий кишечника телят – *Bacteroidota* и *Firmicutes*, причем разнообразие и количество микробных линий *Bacteroidota* увеличивается с возрастом. Фирмикуты семейств *Lactobacillae* и *Lactobacillales* *fa*, а также семейство *Selenomonadaceae* являются маркерами ювенильного возраста животных. Специфичные для телят *Bacteroidota* – представители *Tannerellaceae* и *Marinifilaceae*. Микробиом взрослых животных на уровне филумов отличается присутствием бактерий *Verrucomicrobiota*, *Desulfobacterota*, архей *Methanobacteria* и *Methanomicrobia*. На уровне семейств и родов, сформировавшийся микробиом коров имеет уникальных представителей *Bacteroidota* и *Firmicutes*.

Таким образом, нами приведены данные об основных представителях бактерий здо-

рового кишечника коров и телят, что впоследствии можно использовать для диагностики физиологического состояния животных, а также в экологических исследованиях для выявления фекального загрязнения окружающей среды.

ВВЕДЕНИЕ

Появление крупных предприятий, позволяющих содержать значительное количество животных и птицы на ограниченной территории часто приводит к возникновению заболеваний различной этиологии, снижению продуктивности и долголетия сельскохозяйственных животных и птицы [4, 14]. Изучение сообществ микробов в пищеварительном тракте жвачных животных, особенно крупного рогатого скота (КРС), очень важно в связи с возможностью быстрой диагностики и профилактики многих патологий пищеварительной системы, связанных с неправильным питанием, которое обычно сопровождается развитием патогенных и условно-патогенных микроорганизмов [10]. Рубец является самым важным органом пищеварения, однако отбор проб содержимого рубца сопряжен с инвазивным вмешательством в организм животного.

Метод секвенирования ампликонов фрагмента гена 16S РНК позволяет оценить метаболический потенциал микрофлоры пищеварительного тракта человека и животных [2, 7, 9]. В настоящее время приведены данные изучения микрофлоры рубца северных оленей в зависи-

мости от сезона [6], рубца коров в эксперименте по влиянию кормовых добавок [1, 8]. В России не так много работ, посвященных изучению бактериальной составляющей кишечника КРС, и общераспространенными являются классические бактериологические исследования – это методы специфического окрашивания микроорганизмов для последующего микропирования либо исследование активности различных физиологических групп бактерий кишечника. Мы предполагаем, что состав кишечного микробиома также отражает физиологическое состояние животного, и для рутинных исследований нужны сведения о его составе.

Целью исследований было определение состава микробиома кишечника КРС у телят и взрослых животных в условиях хозяйств Иркутской области.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Для исследования было отобрано 12 животных, содержащихся в ООО МИП «Новоямское» Иркутского района Иркутской области (табл.1).

Содержание животных. Шесть телят содержались на базе, где находится телятник и родильное отделение. Телят с

Таблица 1.

Объекты и объем исследований

№	Инвентарный номер	Пол	Возраст	Фекалии
N1	19540	Телка	3 недели	Жидкий стул
N2	1039	Бык	3 недели	Жидкий стул
N3	1023	Бык	1 месяц	Норм
N4	19517	Телка	3 месяца	Жидкий стул
N5	19536	Телка	1 месяц	Норм
N6	19530	Телка	3 недели	Норм
N7	1362	Телка	5 лет	Норм
N8	155	Телка	3 года	Норм
N9	29	Телка	3 года	Норм
N10	1504	Телка	4 года	Жидкий стул
N11	125	Телка	3 года	Норм
N12	180	Телка	2,5 года	Норм

рождения и до 14-дневного возраста содержали в индивидуальных боксах в родильном отделении. При достижении животными 14-дневного возраста, они переводились в телятник, где находились в клетках по 6 голов до 3-месячного возраста. Коровы содержались привязно в отдельных боксах коровника. Кормление животных. Телятам до 14-дневного возраста выпаивали молозиво трехкратно по 2 литра утром, в обед и вечером. Телятам до 3-месячного возраста выпаивали молозиво по 3 литра утром и вечером, дополнительно скармливали дробленое зерно, сено, в доступе всегда витаминно-минеральные блоки. Рацион коров состоял из силоса, сена и дробленки (ячмень, овес, пшеница). Водопой. В каждой клетке оборудованы автоматические поилки. Их дезинфекцию осуществляли ТриМакс активом в 0,1% концентрации.

Для исследования фекалии животных отбирали в пробирки типа Эпиндорфа, с помощью стерильных штапелей. ДНК выделяли из 200 мкл суспензии (100 мкл биоматериала суспендированного в ТЕ буфере с 1% лизоцимом (рН 8.0). После этого выделение продолжали набором Экстра ДНК Био по инструкции производителя (Алкор Био, Санкт-Петербург).

Очищенную ДНК использовали в качестве матрицы для метагеномного анализа фрагмента гена 16S рРНК с праймерами 343F (CTCCTACGGRRSGCAG) и 806RB (GGACTACNVGGGTWTCTAAT). Секвенирование выполнено в компании Geneoffice (Санкт-Петербург) с помощью MiSeq (Illumina, USA).

Оценку качества библиотек ампликонов проводили с помощью программы FastQC V.0.11.9 (<http://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc>, дата последнего доступа: 8 мая 2021 г.), праймеры и ложные последовательности удалены с помощью программы cutadapt v1.14. Метагеномные данные обработаны с использованием пакета DADA2 для языка программирования R с параметрами: maxN (максимальное количество допустимых неопределенных оснований) = 0, maxEE (максимальное количество ожидаемых ошибок прочтения в последовательности) = с (2,4), включая выравнивание, фильтрацию химер, короткие и ложные последовательности и кластеризацию точных вариантов последовательностей (ESV) [13]. Фрагменты гена 16S рРНК выровнены и таксономически отнесены с использованием базы данных SILVA v.138.1 с

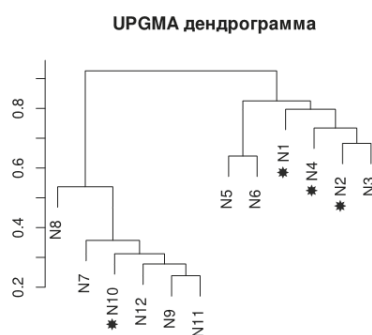


Рис. 1. Дендрограмма микробиомов кишечника крупного рогатого скота, построенная на основании секвенирования фрагментов гена 16S рРНК. N1-N6 - телята, N7-N12 - взрослые животные. Звездочкой обозначены животные с диареей

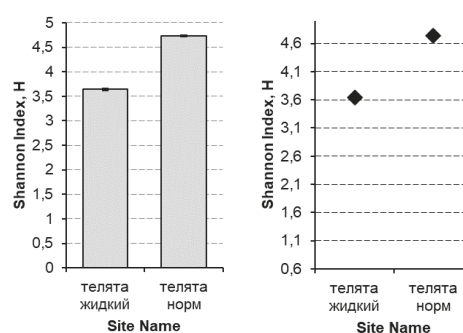


Рис. 2. График показателей индекса Шеннона для микробиома кишечника здоровых телят и телят с диареей ($P < 0.0001$).

лись к животным с диареей, а высокие – к телятам с нормальным стулом). У взрослых животных индексы разнообразия были выше - от 4,41 до 5,24 и никак не связаны с диареей. UPMGA-анализ показал, что генетические последовательности бактерий микробиома телят группируются отдельно от микробиома взрослых особей (рис.1). На основании кластерного анализа, микробиом взрослых животных более однороден (за исключением животного №8), даже у коровы №10 он не отличался от других, несмотря на нарушение стула. Диарея у телят приводила к значимому изменению бактериальной составляющей кишечника, однако в кластере находились и здоровые телята (№3).

Сравнение микробиомов двух групп телят было проведено с помощью t-критерия Хатчесона, определяющего значимость разницы разнообразия по индексу Шеннона между двумя выборками [20].

В первую группу входили животные, у которых наблюдался жидкий стул, во вторую – особи без явных признаков нару-

Таксон

- Actinobacteriota
- Bacteria_unclassified
- Bacteroidota
- Campylobacterota
- Chloroflexi
- Cyanobacteria
- Desulfobacterota
- Elastimicrobiota
- Euryarchaeota
- Fibrobacterota
- Firmicutes
- Fusobacteriota
- Halobacterota
- Patescibacteria
- Proteobacteria
- Spirochaetota
- Thermoplasmatota
- unknown_unclassified
- Verrucomicrobiota

[illegible]

30

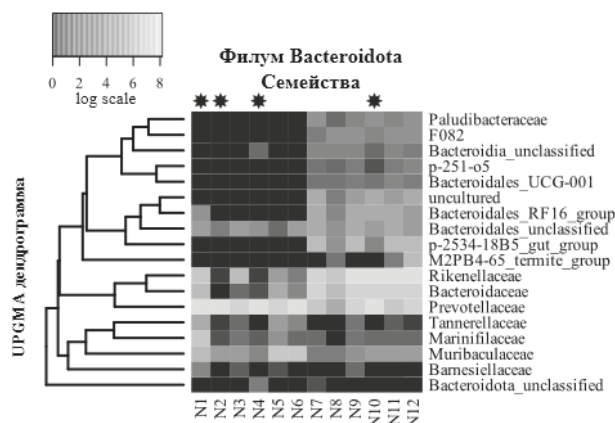


Рис.5. Тепловая карта, отображающая состав *Bacteroidota* кишечника коров и телят

шения пищеварения. У первой группы в микробиоме насчитывалось всего 249 разнообразных OTU, а у второй обнаружено 425 неповторяющихся OTU. Разница между микробиомами телят с диареей и здоровых оказалась значительной ($P < 0.0001$) (Рис. 2).

В микробиомах кишечника КРС выявлены представители таксонов *Actinobacteriota*, *Bacteroidota*, *Campilobacterota*, *Chloroflexi*, *Cyanobacteria*, *Desulfobacterota*, *Fibrobacterota*, *Firmicutes*, *Fusobacterota*, *Halobacterota*, *Elusimicrobiota*, *Euryarchaeota*, *Proteobacteria*, *Patescibacteria*, *Spirochaetota*, *Thermoplasmata*, *Verrucomicrobia* и неклассифицированные бактерии. На долю *Bacteroidota* и *Firmicutes* приходится более 80% всего выявленного бактериального сообщества (Рис 3).

Firmicutes является самым разнообразным филумом (856 Otu) в микробиоме кишечника КРС. Этот филум был доминирующим у телят. Всего зарегистрировано 43 семейства, либо подобным семейству групп (рис. 4).

Общими для телят и взрослых коров являлись представители семейства кластридий *Christensenellaceae_R-7_group*, *Clostridia_UCG-014_fa*, *UGG-005 Monoglobaceae*, *Erysipelotrichaceae*, *Anaerofustaceae*, *Oscillospiraceae* и *Oscillospirales_fa*, *Lachnospiraceae*, *Ruminococcaceae*, *RF39_fa*. Для каждой возрастной

группы характерны свои микроорганизмы на уровне вида, рода. Например, кластридии рода *Faecalibacterium* – продуценты физиологически важной для эпителия кишечника масляной кислоты – разные у телят и коров, и более представлены в ювенильном возрасте. Ранее уже показывали присутствие *Faecalibacterium* в кишечнике здоровых телят [19]. Было отмечено, что высокий уровень этих микроорганизмов способствует благоприятному развитию телят и снижению заболеваемости за счет продукции бутирата, обуславливающего созревание иммунологической системы [17, 23].

В кишечнике коров, по нашим данным, доминируют несколько семейств фирмикут: *Lachnospiraceae*, *Oscillospiraceae*, *Ruminococcaceae*, *Anaerovoracaceae*, *Christensenellaceae*. Представители *Ruminococcaceae* являются активными целлюлолитиками [5]. Доминирующее семейство кластридий *Oscillospiraceae* представлено большим количеством ОТЕ, но из них известным родом является только *Oscillibacter*, остальные – неизвестные рода групп *NK4A214_group* и *Oscillospiraceae_unclassified*. Оба семейства (*Oscillospiraceae*, *Ruminococcaceae*) являются многочисленными в рубце жвачных животных (Еще одно доминирующее семейство кластридий у взрослых коров - *UCG-010* еще менее изучено, оно иденти-

фицировано молекулярно-биологически. Семейство *Acidaminococcaceae* у взрослых животных и телят представлено разными видами рода *Phascolarctobacterium*, строго специфичными для своей возрастной группы. Только у телят встречались представители двух семейств порядка *Lactobacillales* – *Lactobacillae* и *Lactobacillales* *fa.* Эти данные подтверждают исследования, что лактобациллы доминируют в микрофлоре телят с рождения [3]. Также семейство *Selenomonadaceae*, обнаруженное у телят, представлено бактерией *Anaerovibrio lipolyticus*. Эта бактерия участвует в анаэробном гидролизе липидов у жвачных животных, геном ее содержит, по меньшей мере, три кластера липаз [26]. Неклассифицированные представители семейств *Peptostreptococcaceae* и *Peptococcaceae* ранее описаны в микрофлоре кишечника [11, 21].

Филум *Bacteroidota* - второй по разнообразию и числу последовательностей (369 Оту), но именно эта группа сильно отличается по составу в микробиомах телят и взрослых животных (рис. 5). Филум представлен порядком *Bacteroidales*. Эти грамотрицательные неспорообразующие, неподвижные палочковидные бактерии относятся к строгим или факультативным анаэробам [18].

По данным секвенирования, обнаружено 18 семейств, из которых *Bacteroidaceae*, *Prevotellaceae*, *Muribaculaceae*, *Rikenellaceae*, *Marinifilaceae*, группа *Bacteroidales unclassified* являются основными обитателями кишечника исследованных животных. Представители семейств *Rikenellaceae*, *Marinifilaceae*, *Tannerellaceae*, *Paludibacteriaceae* и *Barnesiellaceae* являются сахаролитиками и обитателями ЖКТ гомеотермических животных, где ферментируют широкий спектр углеводов, включая арабинозу, целлобиозу, фруктан, фруктозу, глицерин, лактозу, мальтозу, рафинозу, сахарозу, ксилан и ксилозу [24]. Больше разнообразие и количество выявлено у взрослых животных, исключительно у коров присутствуют *Paludibacteriaceae*, группа F082, группа p-251-o5, группа *Bacteroidales* UGG-

001, группа p-2534-18B5 *gut group*. Микробом взрослого животного отличается как разнообразием, так и численностью *Bacteroidota* семейств *Rikenellaceae* и *Bacteroidaceae*.

Бактерии семейства *Bacteroidaceae* описал Pribram в 1933 г. Одним из доминирующих является род *Bacteroides*. Бактерии этого рода являются мутуалистическими, составляя наиболее значительную часть микробиоты желудочно-кишечного тракта млекопитающих [16], где они играют фундаментальную роль в переработке сложных молекул в более простые соединения. *Bacteroides* используют доступные простые сахара, но основными источниками энергии в кишечнике являются сложные гликаны, полученные от хозяина и растений [22]. Бактерии семейства *Prevotellaceae* наиболее многочисленны в рубце и задней кишке КРС и овец, где они способствуют расщеплению белковой и углеводной пищи. Аннотированы два рода этого семейства – *Alloprevotella* и *Prevotella*. Однако процент гомологии при анализе указывает, что эти рода криптогамные, в которых скрыты другие рода, не описанные вследствие некультивируемости. У телят обнаружены в большем количестве анаэробные бактерии семейств *Tannerellaceae* и *Marinifilaceae*, которые уже ранее отмечались исследователями у крольчат при вскармливании молоком [12]. Вероятно, эта группа зависит от присутствия молока в рационе, как и кисло-молочные бактерии, поскольку она почти не встречается в кишечнике при переходе на твердую пищу.

В общих для коров и телят семействах (*Rikenellaceae*, *Muribaculaceae*, *Prevotellaceae*, *Muribaculaceae*, неклассифицированные *Bacteroidales*) различия наблюдаются на уровне родов. В недавнем исследовании на мышах было показано, что представители семейства *Muribaculaceae* являются основными утилизаторами моносахаридов слизи кишечника [25]. У коров род *Muribaculaceae* *ge* включает виды «телят» и «взрослых животных». Основными родами, обитающими в кишечнике коров, являются *Bacteroides*,

Prevotella, *Alloprevotella*, *Alistipes*, *Anaerocella*, *Sodaliophilus*, *Parapedobacter*, *Muriabaculum*, *Sediminibacterium*, *Paludibacter*, *Phocaeicola*, *Butyricimonas*, *Duncaniella*, *Carboxylicivirga*, *Barnesiella*, *Coprobacter* и *Solitalea*, однако большинство родов не идентифицируется. Многие филогенетические группы бактериоидов (на уровне семейств, родов и видов) до сих пор не имеют определенного систематического положения, однако данные высокопроизводительного секвенирования показывают, одни представители характерны для раннего возраста, а другие – только для взрослых животных.

Из минорной микрофлоры, *Desulfobacterota* (под *Mailhella*, *Bradymonadales* *ge*) присутствовали только у взрослых особей. Археи класса *Methanobacteria* (*Methanobrevibacter*) и *Methanomicrobia* (*Methanocorpusculum*) выявлены только у взрослых коров и связаны с усвоением растительной пищи. Ранее показано, что эти *Methanobrevibacter* населяют рубец коров и выделяют большое количество метана при неэффективном усвоении корма [15]. Таким образом, правильный выбор кормов может сократить продукцию этого парникового газа. Филум *Verrucomicrobiota* характерен только для кишечника взрослых коров и представлен последовательностями муколитических бактерий рода *Akkermansia*. Аналогично, бактерии рода *Candidatus_Saccharimonas* (*Patescibacteria*), также отмечены только у взрослых животных. У телят выявлены несколько флотипов актинобактерий рода *Bifidobacterium*, близких к *Bifidobacterium pseudolongum*, которые дополняли физиологическую группу молочно-кислых бактерий.

Протеобактерии составляли небольшую долю микробиома, но являлись специфичными только для кишечника, у взрослых животных самыми распространенными являлись представители порядка *Rhodospirillales* (выделены в новое семейство), а также *Enterobacterales* (*Ruminobacter*, *Escherichia-Shigella*), *Pseudomonadales* (*Acinetobacter*, *Pseudomonas*), *Burkholderiales* (*Oligella*, *Parasutter-*

ella). У теленка с расстройством стула (№1) обнаружено большее разнообразие протеобактерий по сравнению с другими животными.

Ранее в обзорах указывалось, что большинство обитателей кишечника малого и крупного рогатого скота не культивируется [7]. Так как культивирование кишечных обитателей подразумевает создание сложных сред с анаэробными условиями, альтернативное изучение физиология этих микроорганизмов может быть проведено с помощью shotgun-секвенирования всего сообщества и последующем восстановлением и аннотацией бактериальных геномов в нем. Исследование микробиомов с помощью высокопроизводительного секвенирования обеспечивает предварительный уровень исследования выявляет качественный состав микрофлоры.

ВЫВОДЫ

Нами проведено описание состава бактерий кишечника коров. Выявлена разница в составе микрофлоры кишечника в зависимости от возраста. Это обуславливается основным вкладом микроорганизмов преджелудков (рубец, сетка, книжка) в пищеварение взрослых животных. У телят пищеварение проходит по моногастрическому типу, в сычуге, и со временем заменяется на рубцовое переваривание растительной пищи. Хотя телята в возрасте около одного месяца уже имеют развитый рубец, однако, он намного меньше, чем у полновозрастного животного. Филы *Firmicutes* и *Bacteroidota* являются общими доминантами в кишечнике коров всех возрастов, однако доля *Firmicutes* больше у молодых животных. Микробиом кишечника телят отличается от взрослых животных наличием молочно-кислых бактерий (*Lactobacillus*, *Bifidobacterium*), а также меньшей представленностью *Bacteroidota* и уникальными микробными линиями этого таксона, характерными только для телят. У взрослых животных в микробном сообществе дополнительно к таксонам *Firmicutes* и *Bacteroidota*, отмечены *Desulfobacterota*, *Verrucomicrobiota*, *Patescibacteria* и метанообразующие археи.

БЛАГОДАРНОСТИ

Биоинформатические расчеты для определения состава бактериальных сообществ выполнены при поддержке государственной бюджетной темы ЛИН СО РАН № 0279-2021-0015. Секвенирование выполнено в компании Geneoffice (Санкт-Петербург) с помощью MiSeq (Illumina, USA). Все расчеты проводились на вычислительном кластере «Академик В.М. Матросов», Иркутский суперкомпьютерный центр СО РАН, <http://hpc.icc.ru>.

GENETIC DIVERSITY OF CATTLE INTESTINAL BACTERIA DETECTED BY HIGH-OUTPUT SEQUENCING

Suhinin A.A., Doctor of Biological Sciences, Professor <https://orcid.org/0000-0002-1245-3440> St. Petersburg State University of Veterinary Medicine, St. Petersburg, Krasnopeev A.Yu. <https://orcid.org/0000-0002-3368-4678>, Gorshkova A.S. <https://orcid.org/0000-0003-2408-0837>, Belykh O.I. <https://orcid.org/0000-0002-1188-7351>, Lipko I. <https://orcid.org/0000-0002-6214-2974>, Potapov S.A. <https://orcid.org/0000-0003-1391-6731>, Tikhonova I.V. <https://orcid.org/0000-0002-4323-6799> Federal State Budgetary Educational Institution "Limnological Institute" SB RAS, Irkutsk, Batomunkuev A.S., PhD, Associate Professor <https://orcid.org/0000-0002-2263-6355>, Loginov S.N. Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "Irkutsk State Agrarian University. A.A. Yezhevsky, Irkutsk

ABSTRACT

The gut microbiota and its development for the health of pets are currently being actively developed. The composition of the gut microbiome is found in the reduction of food intake, the state of the immune system of animals, productivity and growth in livestock content. Also found in the colon are unusual pathogen phyla that can serve as markers of fecal contamination in the environment. We conducted a study of the intestinal microbiome of 12 animals divided into two groups - calves and adult cows. Bacteria of taxa of Actinobacteriota, Bacteroidota, Campilobacterota, Chloroflexi, Cyanobacteria, Desulfobacterota, Fibrobacterota,

Firmicutes, Fusobacterota, Halobacterota, Elusimicrobiota, Euryarchaeota, Proteobacteria, Patescibacteria, Spirochaetota, Thermoplasmata, Verrucomicrobia and a large number of unclassified bacteria were identified.

It has been shown that the intestinal microbiome of calves differs from that of adult cows, and diarrhea affects the composition of the intestines of young animals, reducing the biodiversity of the inhabitants. In calves, the Shannon index ranged from 3.18 to 4.3, in adult animals from 4.41 to 5.24. Comparison of the gut microbiomes of healthy calves and calves with diarrhea was carried out using the Hutcheson t-test, the difference was significant ($P < 0.0001$). The main phyla of calf intestinal bacteria are Bacteroidota and Firmicutes, moreover, the diversity and number of microbial lines of Bacteroidota increases with age. Firmicutes of the families Lactobacillaceae and Lactobacillales fa, as well as the family Selenomonadaceae, are markers of the juvenile age of animals. Calf-specific Bacteroidota are representatives of Tannerellaceae and Marinifilaceae. The microbiome of adult animals at the phylum level is distinguished by the presence of bacteria Verrucomicrobiota, Desulfobacterota, archaea Methanobacteria and Methanomicrobia. At the level of families and genera, the formed microbiome of cows has unique representatives of Bacteroidota and Firmicutes.

Thus, we have presented data on the main representatives of healthy intestinal bacteria of cows and calves, which can later be used to diagnose the physiological state of animals, as well as in environmental studies to detect fecal environmental pollution.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Атландрова, К.Н. Микробиом рубца крупного рогатого скота при использовании в кормлении экстракта *Quercus cortex* / К.Н. Атландрова, Г.К. Дускаев, А.М. Макаева, Д.М. Муслимова, К.С. Кондрашова // Животноводство и кормопроизводство. - 2019. - Т. 102. - № 4
2. Бережная, А.В. Молекулярно-генетический и функциональный анализ генома бактерий *Bacillus velezensis* БИМ

- И-439Д // Прикладная биохимия и микробиология.- 2019.- 4 (55).- Р. 366-377 (doi:10.1134/S0555109919040032)
- 3.Вербицкий, А. А. Особенности формирования нормобиоценоза кишечника у телят в первые недели жизни // Ученые записки учреждения образования «Витебская государственная академия ветеринарной медицины.- 2020.- № 2 (56).- С. 4-8.
- 4.Джавадов, Э.Д. Инфекционная патология в промышленном птицеводстве: реалии и перспективы // Ветеринария и кормление.- 2016.- № 2.- С. 24-27.
- 5.Иванов, А.В. Изучение микробиоты рубца коров методом T-RFLP. Современные нормативы / А.В. Иванов // Дайджест Сельское хозяйство. Наука и Практика.- 2017.- № 4.- С. 1-6
- 6.Ильина, Л.А. Сезонные изменения микробиома рубца у северного оленя (*Rangifer tarandus*) в условиях Российской Арктики / Л.А. Ильина, В.А. Филиппова, К.А. Лайшев, Е.А. Йылдырым, Т.П. Дуняшев, Е.А. Бражник, А.В. Дубровин, Д.В. Соболев, Д.Г. Тюрина, Н.И. Новикова, Г.Ю. Лаптев, А.А. Южаков, Т.М. Романенко, Ю.П. Вылко // Сельскохозяйственная биология.- 2020.- № 4 (55).- С. 697-713. (doi:10.15389/agrobiology.2020.4.697rus)
- 7.Колоскова, Е.М. Исследование микробиома рубца овец с использованием молекулярно-генетических методов / Е.М. Колоскова, К.С. Остренко, В.А. Езерский, А.Н. Овчарова, Н.В. Белова // Проблемы биологии продуктивных животных.- 2020.- 4.- С. 5-26 (doi:10.25687/1996-6733.prodanimbiol.2020.4. 5-26)
- 8.Крупин, Е.О. Влияние экспериментальной кормовой добавки на активность ферментов сыворотки крови и показатели рубцовой жидкости коров / Е.О. Крупин, Ш.К. Шакиров, Т.В. Жарехина, М.Ш. Тагиров // Вестник казанского ГАУ.- 2018.- 2 (49).- С. 37-41 (doi:10.12737/article_5b3501f95428b9.94497492)
- 9.Стома, И.О. Микробиом человека.- Минск: Доктор Дизайн, 2018
- 10.Хамидуллин, И.Р. Идентификация микроорганизмов рубца крупного рогатого скота // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины.- 2016.- 3 (227).- С. 112-114.
- 11.Azad, E. Characterization of the rumen and fecal microbiome in bloated and non-bloated cattle grazing alfalfa pastures and subjected to bloat prevention strategies / E. Azad, H. Derakhshani, R.J. Forster // Sci Rep.- 2019.- 9.- P. 4272 <https://doi.org/10.1038/s41598-019-41017-3>
- 12.Beaumont, M. Gut microbiota derived metabolites contribute to intestinal barrier maturation at the suckling-to-weaning transition / M. Beaumont, C. Paës, E. Mussard, C. Knudsen, L. Cauquil, P. Aymard, C. Barilly, B. Gabinaud, O. Zemb, S. Fourre, R. Gautier, C. Lencina, H. Eutamène, V. Theodorou, C. Canlet, S. Combes // Gut Microbes.- 2020.- 11.- P. 1268-1286 (doi:10.1080/19490976.2020.1747335)
- 13.Callahan, B. DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data / B. Callahan, P. McMurdie, M. Rosen, A.W. Han, A.J.A. Johnson, S.P. Holmes // Nat. Methods.- 2016.- 13.- P. 581-583. (doi:10.1038/nmeth.3869)
- 14.Collier, C.T. Coccidia-induced mucogenesis promotes the onset of necrotic enteritis by supporting *Clostridium perfringens* growth / C.T. Collier // Veterinary Immunology and Immunopathology.- 2008.- 122.- P. 104-115. (doi:10.1016/j.vetimm.2007.10.014)
- 15.Danielsson, R. Methane Production in Dairy Cows Correlates with Rumen Methanogenic and Bacterial Community Structure / R. Danielsson, J. Dicksveld, L. Sun, H. Gonda, B. Müller, A. Schnürer, J. Bertilsson // Front. Microbiol.- 2017.- 8.- P. 226 (doi: 10.3389/fmicb.2017.00226)
- 16.Dorland WAN (editor) (2003). Dorland's Illustrated Medical Dictionary. Philadelphia, 2003. Saunders. ISBN 978-0-7216-0146-5.
- 17.Furusawa, Y. Commensal microbe-derived butyrate induces the differentiation of colonic regulatory / Y. Furusawa, Y. Obata, S. Fukuda, T.A. Endo, G. Nakato, D. Takahashi, Y. Nakanishi, C. Uetake, K. Kato, T. Kato // T cells. Nature, 2013.- 504.- P. 446-450.
- 18.Garcia-Lopez, M. Analysis of 1,000 Type

- Strain Genomes Improves Taxonomic Classification of Bacteroidetes / M. Garcia-Lopez, J. P. Meier-Kolthoff, B. J. Tindall, S. Gronow, T. Woyke, N. C. Kyrpides, R. L. Hahnke, M. Goker // *Front Microbiol.*- 2019.- 10.- P. 2083 (doi: 10.3389/fmicb.2019.02083)
- 19.Hang, B.P.T., Wredle, E. & Dicksved, J. Analysis of the developing gut microbiota in young dairy calves—impact of colostrum microbiota and gut disturbances / B.P.T. Hang, E. Wredle, J. Dicksved // *Trop Anim Health Prod.*- 2021.- 53.- P. 50 <https://doi.org/10.1007/s11250-020-02535-9>
- 20.Hutcheson, K. A test for comparing diversities based on the Shannon formula / K. Hutcheson // *Journal of Theoretical Biology.*- 1970.- 29.- P. 151-154 (doi: 10.1016/0022-5193(70)90124-4)
- 21.Mao, S. Characterising the bacterial microbiota across the gastrointestinal tracts of dairy cattle: membership and potential function // *Sci. Rep.*- 2015.- 5.- P. 16116 (doi: 10.1038/srep16116)
- 22.Martens, E.C. Mucosal glycan foraging enhances fitness and transmission of a saccharolytic human gut bacterial symbiont / E.C. Martens, H.C. Chiang, J.I. Gordon // *Cell Host & Microbe.*- 2008.- 4 (5).- P. 447–457 (doi:10.1016/j.chom.2008.09.007)
- 23.Oikonomou, G. Fecal microbial diversity in pre-weaned dairy calves as described by pyrosequencing of metagenomic 16S rDNA. Associations of *Faecalibacterium* species with health and growth / G. Oikonomou, A. Teixeira, C. Foditsch, M. L. Bicalho, V. S. Machado, R. C. Bicalho // *PLoS One.*- 2013.- 8.- P. 63157.
- 24.Ormerod, K.L. Genomic characterization of the uncultured Bacteroidales family S24-7 inhabiting the guts of homeothermic animals / K.L. Ormerod, D.L.A. Wood, N. Lachner, S.L. Gellatly, J.N. Daly, J.D. Parsons, C.G.O. Dal'Molin, R.W. Palfreyman, L.K. Nielsen, M.A. Cooper // *Microbiome.*- 2016.- 4.- P. 36.
- 25.Pereira, F., Rational design of a microbial consortium of mucosal sugar utilizers reduces clostridioides difficile colonization / Pereira F., Wasmund K., Cobankovic I., Jehmlich N., Hherbold C., Kang Soo Lee, Sziranyi B., Vesely C., Decker T., Stocker R., Warth B., Von bergen M., Wagner M., Berry D // *Nat. commun*, 2020, 11: 5104 (doi:10.1038/s41467-020-18928-1)
- 26.Privé, F. Identification and Characterization of Three Novel Lipases Belonging to Families II and V from *Anaerovibrio lipolyticus* 5ST / Privé F, Kaderbhai NN, Girdwood S, Worgan HJ, Pinloche E, Scollan ND, et al. // *PLoS ONE.*- 2013.- 8(8).- e69076 (<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0069076>)
- 27.Quast, C. The SILVA ribosomal RNA gene database project: Improved data processing and web-based tools / C. Quast, E. Pruesse, P. Yilmaz, J. Gerken, T. Schweer, P. Yarza, J. Peplies, F.O. Glöckner // *Nucleic Acids Res.*- 2013.- 41.- P. 590-596 (doi:10.1093/nar/gks1219)
- 28.Schloss, P.D. Introducing mothur: Open-source, platform-independent, community-supported software for describing and comparing microbial communities / P.D. Schloss, S.L. Westcott, T. Ryabin, J.R. Hall, M. Hartmann, E.B. Hollister, R.A. Lesniewski, B.B. Oakley, D.H. Parks, C.J. Robinson // *Appl. Environ. Microbiol.*- 2009.- 75.- P. 7537-7541 (doi:10.1128/AEM.01541-09)