

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ФИТОГЕНИКОВ НА МЕТАНООБРАЗОВАНИЕ В ОРГАНИЗМЕ ОВЕЦ МЕТОДАМИ *IN VITRO*

Н.С. КОЛЕСНИК, Н.В. БОГОЛЮБОВА ✉

ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр животноводства – ВИЖ имени академика Л.К. Эрнста, Московская обл., г.о. Подольск, пос. Дубровицы, Российская Федерация, ✉ 652202@mail.ru

STUDYING THE INFLUENCE OF PHYTOGENICS ON METHANE FORMATION IN THE BODY OF SHEEP USING *IN VITRO* METHODS

N.S. KOLESNIK, N.V. BOGOLYUBOVA ✉

L.K. Ernst Federal Research Center for Animal Husbandry, Moscow region, Podolsk urban district, Dubrovitsy village, Russian Federation, ✉ 652202@mail.ru

Аннотация. В статье представлены результаты исследования влияния конденсированных танинов *Lárix dahúrica* и дигидрокверцетина на метаногенез в организме овец *in vitro*. Скармливание овцам добавки танина (5 г/гол в сутки) и дигидрокверцетина (0,1 г/гол в сутки) способствовало значительному снижению выделения парниковых газов в рубце. Наблюдается эффект синергизма в комплексе танинов с дигидрокверцетином.

Ключевые слова: метаногенез, фитогеники, парниковые газы, фистульные овцы

Summary. The article presents the results of a study of the effect of condensed tannins of *Lárix dahúrica* and dihydroquercetin on methanogenesis in the body of sheep *in vitro*. Feeding sheep with tannin supplements (5 g/head per day) and dihydroquercetin (0.1 g/head per day) contributed to a significant reduction in the emission of greenhouse gases in the rumen. A synergistic effect is observed in the complex of tannins with dihydroquercetin.

Keywords: methanogenesis, phytochemicals, greenhouse gases, fistula sheep

Введение. Концентрация различных парниковых газов (ПГ), в основном метана (CH₄) и углекислого газа (CO₂), в атмосфере постоянно увеличивается в результате деятельности человека. Метан является парниковым газом, который в 30 раз мощнее CO₂, если учитывать потенциал глобального потепления [1]. Во всем мире на долю животноводства приходится около 14-15% от общего объема антропогенных выбросов ПГ, основным источником которых является CH₄ (39,1%) [2]. Данное обстоятельство делает жвачных животных одним из основных источников антропогенных выбросов метана.

Основная доля CH₄ от животноводства является естественным побочным продуктом микробной ферментации углеводов. Микроорганизмы рубца разлагают растительные полисахариды для синтеза летучих жирных кислот (ЛЖК), в основном ацетата, пропионата и бутирата, а также газов (CO₂ и H₂). Также в рубце имеются анаэробные метаногенные археи, продуцирующие метан посредством использования

избытка H₂ и CO₂ в качестве основных субстратов [3]. Однако ряд метилотрофных метаногенов используют в качестве субстратов для синтеза CH₄ другие соединения, такие как метанол, метиламин и муравьиную кислоту, продуцируемые другими микроорганизмами рубца [4]. Следует также отметить, что производство метана археями представляет собой потерю энергии в размере около 2-12% от общего потребления энергии [5].

Одной из задач устойчивого животноводства является минимизация выбросов кишечного метана при выращивании жвачных животных при одновременном повышении эффективности переработки корма и использования питательных веществ в рационе. Проводятся многочисленные исследования, направленные на снижение выбросов ПГ, от секвенирования генома метаногенов рубца до внедрения инновационных методов и технологий, направленных на сокращение выбросов метана [6].

Перспективными стратегиями по снижению выбросов CH₄ жвачными животными являются кормовые, влияющие на метаногенез за счёт управления кормлением и питанием. В частности, повышение доли концентрированных кормов в рационе, с увеличением которых повышается его энергетическая плотность, а доля структурных углеводов снижается, так же, как и pH рубца, приводит к снижению выработки CH₄ на единицу потребляемого сухого вещества (СВ) и ферментированного корма [7]. Среди фитогенных кормовых добавок, способствующих снижению газообразования, важное значение приобрели танины, которые, как известно, ингибируют рост метаногенов, образуют комплексы с микробными ферментами или клеточными стенками, тем самым снижая доступность питательных веществ для микроорганизмов рубца [8]. Среди вторичных метаболитов растений важное значение приобрели также флавоноиды, проявляющие противовоспалительные, антиоксидантные и антимикробные свойства. Эффекты этих соединений (в частности кверцетина) в отношении

микробов рубца желательны, и их следует рассматривать как альтернативные соединения для манипулирования микробиомом рубца с целью поддержания целлюлозолитических бактерий с более низкой популяцией простейших и метаногенов [9]. Особый интерес приобретают комплексное использование продуктов фитобиоценозов с целью усиления их синергетического действия для снижения газообразования в рубце.

Таким образом, целью нашей работы было изучение влияния комплекса фитогеников на метанообразование в организме овец *in vitro*.

Материалы и методы. Исследования, направленные на изучение влияния комплекса фитогеников на метаногенез в организме овец, проводились методом латинского квадрата 2×3 на баранчиках романовской породы в возрасте 2-х лет, в количестве 6 голов с живой массой 55 ± 2 кг, с хроническими фистулами рубца по Басову в условиях физиологического двора и в лабораториях ФГБНУ ФИЦ ВИЖ им. Л.К. Эрнста в 2023 г. Схема опыта представлена в таблице 1.

Согласно схеме опыта, животным скармливали 40% концентратов от общей питательности рациона. В качестве добавки скармливали конденсированные танины (КТ) листовницы даурской (*Lárix dahúrica*) в количестве 5 г на голову в сутки и дигидрокверцетин (ДКВ) в количестве 0,1 г на голову в сутки. Продолжительность каждого периода составляла 30 дней.

Основной рацион и условия содержания животных (температурный, влажностный, световой режимы и газовый состав воздуха в помещении) в исследуемые периоды были одинаковы и в пределах зоогигиенических норм. Протокол исследования на животных был одобрен биоэтической комиссией ФГБНУ ФИЦ ВИЖ имени Л.К. Эрнста (протокол № 2, от 20 марта 2023 г.).

У всех животных ($n=6$) нами с помощью зонда отбирались пробы рубцового содержимого для исследования газообразования в рубце. Рубцовое содержимое в количестве 50 мл помещали в шприц Жане на 150 мл. Шприцы с исследуемой жидкостью помещали в термостат при $38-39$ °С. По подъему поршня судили о количестве выделяющегося газа. Объем газа фиксировали каждые 3 часа.

Обработку полученных данных выполняли в программе Microsoft Excel с расширенным пакетом анализа данных. Результаты исследований считали высокодостоверными при $p < 0,001$ и достоверными при $p < 0,01$ и $p < 0,05$. При $p < 0,1$ до $p > 0,05$ – тенденция к достоверности полученных данных. При $p > 0,1$ разницу считали недостоверной. Сравнительный анализ изучаемых групп проводили по методу Тьюки-Крамера.

Результаты и обсуждения. Объем выделившегося газа в контрольной группе (А) после первого измерения составил $12,67 \pm 0,82$ мл против $11,67 \pm 0,89$ мл в группе, получавшей танин (В). Наименьшее количество газа ($8,33 \pm 1,03$ мл)

выделилось в группе, получавшей комплексную добавку на основе танина и ДКВ (С). После второго измерения объемы газа составили $20,67 \pm 1,50$ мл для группы А, $16,33 \pm 1,03$ мл для группы В и $11,33 \pm 1,63$ мл для группы С. Результаты опыта представлены в таблице 2.

После первого измерения наблюдаются достоверные различия в количестве газа между группами А и С, а также группами В и С. Также наблюдается тенденция к снижению выделения газов, в частности CH_4 , в группе В, получавшей добавку танинов *Lárix dahúrica* к рациону, однако достоверных отличий этой группы с контрольной обнаружено не было. После второго измерения наблюдаются достоверные различия между всеми исследуемыми группами, причем наилучший результат получен в группе С, получавшей комплексную добавку на основе конденсированных танинов *Lárix dahúrica* и ДКВ. Скармливание овцам конденсированных танинов *Lárix dahúrica* поспособствовало снижению выделения газов в рубцовом содержимом на 26,5%, что соотносится с данными других исследований [10]. Механизм, за счёт которого танины снижают выделение метана, не до конца изучен. Сообщается, что танины воздействуют непосредственно на метаногены в рубце, связываясь с белковым адгезином или частями клеточной оболочки, препятствуя образованию комплекса метаноген-простейшие и уменьшая межвидовой перенос H_2 . Также предполагается, что косвенное ингибирование метаногенеза происходит за счет снижения доступности питательных веществ

Таблица 1. Схема физиологических исследований

Table 1. Scheme of physiological studies

Вариант опыта	Характеристика кормления
I	Сено-концентратный рацион
II	Сено-концентратный рацион с включением танина (5 г/гол в сутки)
III	Сено-концентратный рацион с включением комплекса фитогеников (танин 5 г/гол в сутки + ДКВ 0,1 г/гол в сутки)*

Таблица 2. Объем выделившегося газа в шприцах Жане в зависимости от времени ($n=6$)

Table 2. The volume of gas released in Janet syringes depending on time ($n=6$)

Время	Объем газа, мл			Р-Значение
	контроль (А)	танин 5 г/гол (В)	танин 5 г/гол + ДКВ 0,1 г/гол (С)	
11:00	0	0	0	-
14:00	12,67 ^{AC}	11,67	8,33 ^{BC}	3,16E-06
17:00	20,67 ^{AC}	16,33 ^{AB}	11,33 ^{BC}	3,90E-08

Примечания: А – контрольная группа; В – опытная группа (танин); С – опытная группа (танин+ДКВ); ДКВ – дигидрокверцетин

для микроорганизмов рубца, что впоследствии снижает усвояемость субстрата и косвенно ингибирует микробные популяции рубца. Полученные результаты позволяют сделать вывод о наличии эффекта синергизма в отношении конденсированных танинов *Lárix dahúrica* и дигидрокверцетина.

Выводы. Итогом эксперимента по изучению *in vitro* влияния комплекса фитогеников на эмиссию метана у овец показало положительное воздействие дозировки конденсированных танинов *Lárix dahúrica* 5 г/гол в сутки, а также комплекса танин (5 г/гол в сутки) + ДКВ (0,1 г/гол в сутки) на снижение количества выделяемого животными метана.

Скармливание овцам конденсированных танинов *Lárix dahúrica* поспособствовало снижению выделения газов в рубцовом содержимом на 26,5%.

Выявлен эффект синергетического действия конденсированных танинов *Lárix dahúrica* и дигидрокверцетина на метаногенез в организме жвачных животных.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии у них конфликта интересов. Исследования проведены при финансовой поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации по Государственному заданию FGGN-2022-0009.

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare that they have no conflict of interest. The research was carried out with the financial support of the Ministry of Education and Science of the Russian Federation under the State Assignment FGGN-2022-0009.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Camer-Pesci B., Laird D., Keulen M. et al. Opportunities of *Asparagopsis* sp. cultivation to reduce methanogenesis in ruminants: A critical review • *Algal Research*, 2023. P. 103308.
2. Gerber P.J. et al. Technical options for the mitigation of direct methane and nitrous oxide emissions from livestock: a review • *Animal*, 2013. Vol. 7. № . s2. Pp. 220-234.
3. Hook S.E., Wright A. – D.G., McBride B.W. Methanogens: methane producers of the rumen and mitigation strategies • *Archaea*, 2010. 2010. Pp. 1-11.
4. Janssen P.H., Kirs M. Structure of the archaeal community of the rumen • *Applied and environmental microbiology*, 2008. T. 74. № . 12. Pp. 3619-3625.
5. Wallace R.J., Rooke J.A., Duthie C.A. et al. Archaeal abundance in post-mortem ruminal digesta may help predict methane emissions from beef cattle • *Sci Reports*, 2014. 4 (2). P. 5892.
6. Seshadri R. et al. Cultivation and sequencing of rumen microbiome members from the Hungate1000 Collection • *Nature biotechnology*, 2018. Vol. 36. № . 4. Pp. 359-367.

7. Janssen P.H. Influence of hydrogen on rumen methane formation and fermentation balances through microbial growth kinetics and fermentation thermodynamics • *Animal Feed Science and Technology*, 2010. T. 160. № . 1-2. Pp. 1-22.

8. Боголюбова Н.В., Зеленченкова А.А., Колесник Н.С., Лахонин П.Д. Метанообразование в рубце и методы его снижения с использованием алиментарных факторов (обзор) • *Сельскохозяйственная биология*, 2022. Т. 57. № . 6. С. 1025-1054.

Bogolyubova N.V., Zelenchenkova A.A., Kolesnik N.S., Lahonin P.D. Rumen methane production and its reduction using nutritional factors (review) • *Agricultural biology*, 2022. T. 57. No. 6. Pp. 1025-1054.

9. Фомичев Ю.П., Боголюбова Н.В., Романов В.Н., Колодина Е.Н. Сравнительная оценка природных кормовых добавок по функциональному действию на процессы пищеварения и микробиоту рубца у овец (*ovis aries*) • *Сельскохозяйственная биология*, 2020. Т. 55. № . 4. С. 770-783.

Fomichev Yu.P., Bogolyubova N.V., Romanov V.N., Kolodina E.N. Comparative assessment of natural feed additives for functional effects on the digestive processes in the rumen of sheep (*ovis aries*) • *Agricultural biology*, 2020. T. 55. No. 4. Pp. 770-783.

10. El-Zaiat H.M., Kholif A.E., Moharam M.S. et al. The ability of tanniniferous legumes to reduce methane production and enhance feed utilization in Barki rams: *in vitro* and *in vivo* evaluation • *Small Ruminant Research*, 2020. T. 193. P. 106259.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Никита Сергеевич Колесник, мл. науч. сотрудник, аспирант, e-mail: kominisiko@mail.ru;

Надежда Владимировна Боголюбова, доктор биол. наук, вед. науч. сотрудник, e-mail: 652202@mail.ru.

ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр животноводства – ВИЖ имени академика Л.К. Эрнста», 42132, Россия, Московская область, городской округ Подольск, поселок Дубровицы, дом 60; тел.: (4967) 65-11-63, e-mail: priemnaya-vij@mail.ru

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Nikita S. Kolesnik, junior researcher, graduate student, e-mail: kominisiko@mail.ru;

Nadezhda V. Bogolyubova, Doctor of Biological Sciences, leading researcher, e-mail: 652202@mail.ru.

Federal State Budgetary Scientific Institution “Federal Research Center for Animal Husbandry – VIZH named after Academician L.K. Ernsta”, 42132, Russia, Moscow region, Podolsk urban district, Dubrovitsy village, building 60; tel.: (4967) 65-11-63, e-mail: priemnaya-vij@mail.ru

Поступила в редакцию / Received 19.04.2024

Поступила после рецензирования / Revised 26.04.2024

Принята к публикации / Accepted 03.05.2024