

Научная статья/Research Article

УДК 636.32/38.084.41:612.22

DOI: 10.36718/1819-4036-2024-6-94-100

Алена Анатольевна Зеленченкова^{1✉}, Надежда Владимировна Боголюбова²,

Никита Сергеевич Колесник³, Полина Сергеевна Вьючная⁴,

Павел Дмитриевич Лахонин⁵, Елена Александровна Гладырь⁶

^{1,2,3,4,5,6}Федеральный исследовательский центр ВИЖ им. Л.К. Эрнста, поселок Дубровицы, городской округ Подольск, Московская область, Россия

¹aly4383@mail.ru

²652202@mail.ru

³kominisiko@mail.ru

⁴vyuchnaya@gmail.com

⁵lakhonin.99@mail.ru

⁶elenagladyr@mail.ru

ВЛИЯНИЕ КОНЦЕНТРАТНОГО ТИПА КОРМЛЕНИЯ НА ВЫРАБОТКУ МЕТАНА У ОВЕЦ

Цель исследования – изучить влияние рационов с разным уровнем концентратов на образование метана в организме овец. В статье представлены исследования на овцах романовской породы с фистулами рубца в условиях физиологического двора ВИЖ им. Л.К. Эрнста. Эксперимент проведен методом групп периодов. В первый период овцы получали сено-концентратный рацион с содержанием 20 % концентратов, во второй – 30 % концентратов, в третий – 40 % концентратов по питательности. Рационы для животных были сбалансированы по питательной и энергетической ценности, уровню минеральных веществ согласно нормам. В результате установлено, что при вводе 20, 30 и 40 % концентратов в рацион овец количество выделенного CH_4 составило 21,10; 17,88 и 15,88 л/сут соответственно, т. е. повышение концентратной части рациона в 2 раза способствует снижению выработки CH_4 в ЖКТ в 1,33 раза. Показатель рН рубца при рационе с вводом 20 % ($p \leq 0,01$), 30 и 40 % концентратов снижался через 3 часа после кормления, до кормления между первым и третьим периодом уровень рН понизился с 6,71 до 6,25 ($p \leq 0,05$); количество кислых метаболитов (ЛЖК) увеличивалось с 6,65 до 7,21 Ммоль/100 мл до кормления и с 7,63 до 8,45 Ммоль/100 мл через три часа после кормления; амилолитическая активность рубца после кормления постепенно увеличивалась с 12,73 до 14,21 при смене рациона на более концентрированный. С увеличением уровня концентратов снизилось количество метаногенов *Methanobrevibacter smithii*, *Methanospaera stadtmanae* как в рубце, так и в толстом отделе кишечника.

Ключевые слова: питание, овцы, концентраты, микробиом, метаногены, парниковые газы, метан, метаболизм

Для цитирования: Влияние концентратного типа кормления на выработку метана у овец / А.А. Зеленченкова [и др.] // Вестник КрасГАУ. 2024. № 6. С. 94–100. DOI: 10.36718/1819-4036-2024-6-94-100.

Благодарности: исследование выполнено при финансовой поддержке Минобрнауки России в рамках реализации национального проекта «Наука и университеты» (FGGN-2022-0009).

Alena Anatolyevna Zelenchenkova^{1✉}, Nadezhda Vladimirovna Bogolyubova²,
Nikita Sergeevich Kolesnik³, Polina Sergeevna Vyuchnaya⁴,
Pavel Dmitrievich Lakhonin⁵, Elena Alexandrovna Gladyr⁶

^{1,2,3,4,5,6}Federal Research Center for Animal Husbandry named after L.K. Ernst, Dubrovitsy settlement, Podolsk urban District, Moscow Region, Russia

¹aly4383@mail.ru

²652202@mail.ru

³kominisiko@mail.ru

⁴vyuchnaya@gmail.com

⁵lakhonin.99@mail.ru

⁶elenagladyr@mail.ru

EFFECT OF CONCENTRATE FEEDING TYPE ON METHANE PRODUCTION IN SHEEP

*The aim of the study is to investigate the effect of diets with different levels of concentrates on methane formation in sheep. The paper presents studies on Romanov sheep with rumen fistulas in the physiological yard of the Ernst All-Russian Institute of Animal Husbandry. The experiment was conducted using the period group method. In the first period, the sheep received a hay-concentrate diet containing 20 % concentrates, in the second – 30 % concentrates, in the third – 40 % concentrates by nutritional value. The animal diets were balanced in terms of nutritional and energy value, the level of minerals according to the standards. As a result, it was found that with the introduction of 20, 30 and 40 % concentrates in the sheep diet, the amount of released CH₄ was 21.10; 17.88 and 15.88 l/day, respectively, i.e. an increase in the concentrate part of the diet by 2 times contributes to a decrease in CH₄ production in the gastrointestinal tract by 1.33 times. The pH of the rumen with a diet containing 20 % ($p \leq 0.01$), 30 and 40 % concentrates decreased 3 hours after feeding; before feeding, between the first and third periods, the pH level decreased from 6.71 to 6.25 ($p \leq 0.05$); the amount of acid metabolites (VFA) increased from 6.65 to 7.21 mmol/100 ml before feeding and from 7.63 to 8.45 mmol/100 ml three hours after feeding; the amylolytic activity of the rumen after feeding gradually increased from 12.73 to 14.21 when changing the diet to a more concentrated one. With an increase in the level of concentrates, the amount of methanogens *Methanobrevibacter smithii*, *Methanosphaera stadtmanae* decreased both in the rumen and in the large intestine.*

Keywords: nutrition, sheep, concentrates, microbiome, methanogens, greenhouse gases, methane, metabolism

For citation: Effect of concentrate feeding type on methane production in sheep / A.A. Zelenchenkova [et al.] // Bulliten KrasSAU. 2024;(6): 94–100 (In Russ.). DOI: 10.36718/1819-4036-2024-6-94-100.

Acknowledgments: research has been implemented with the financial support of the Russian Ministry of Education and Science as part of the national project “Science and Universities” (FGGN-2022-0009).

Введение. В процессе ферментации корма в рубце образуются газы, основные из которых углекислый газ (CO₂), метан (CH₄), водород (H₂), азот (N₂) и сероводород (H₂S). Метан является естественным побочным продуктом микробной ферментации углеводов и в меньшей степени аминокислот в рубце. Синтез метана предположительно служит для выравнивания окислительно-восстановительного баланса, и его выход может варьироваться у разных животных, несмотря на одинаковые условия кормления [1].

Метан играет важную роль в круговороте углерода в природных средах, и его преоб-

ладающим источником является продукция метаногенных архей [2]. Большинство метаногенов удаляют газообразный водород путем восстановления CO₂ газообразным H₂ с образованием метана [3]. Синтез метана позволяет избежать накопления H₂, который подавляет нормальную функцию микробных ферментов, участвующих в переносе электронов [4]. Предполагалось, что если бы жвачные животные вовсе не производили метан, то pH рубца неуклонно бы снижался и ухудшилось бы переваривание клетчатки [5].

При увеличении количества концентратов (особенно содержащих крахмал) в рационе

снижается количество целлюлозолитических бактерий и увеличивается количество амилолитических бактерий за счет изменения соотношения субстратов [6, 7]. Из-за изменения соотношения летучих жирных кислот (ЛЖК) уменьшается количество водорода, доступного метаногенным археям, и снижается рН рубца, что еще больше ингибирует (снижает) популяции целлюлозолитических бактерий, простейших и метаногенов [8, 9].

Если бы метаногенез был ингибирован и доступный H_2 был перенаправлен на альтернативные метаболические пути, дающие энергию, можно было бы ожидать увеличения продуктивности. Таким образом, снижение выработки CH_4 потенциально может улучшить продуктивность при том же энергетическом потреблении животным, при условии, что метаболизм в рубце не будет нарушен.

Цель исследования – изучить влияние рационов с разным уровнем концентратов на образование метана в организме овец.

Объект, материал и методы. Исследование было проведено методом групп-периодов на овцах романовской породы в возрасте 2 лет, в количестве 6 голов с живой массой 36–42 кг, с хроническими фистулами рубца по Басову в условиях физиологического двора ФГБНУ ФИЦ ВИЖ им. Л.К. Эрнста.

Животным 1-го периода скармливали 20 % концентратов, 2-го – 30, 3-го периода 40 % концентратов. Основной рацион (ОР) соответствовал по показателям энергетической и питательной ценности требованиям для данного возрастного и весового показателя животных (Калашников А.П. и др., 2003). Анализ показателей рубцовой ферментации проводили в отделе физиологии и биохимии ВИЖ им Л.К. Эрнста.

Для характеристики рубцового пищеварения у животных брали пробы содержимого рубца за 1 ч до кормления и через 3 ч после кормления для определения следующих показателей: рН, общее количество ЛЖК – методом паровой дистилляции в аппарате Маркгама; амилолитическая активность – фотометрическим методом.

В конце каждого балансового опыта у всех животных ($n = 6$) отбирались пробы рубцового и содержимого толстого отдела кишечника для генетического исследования толстокишечной и рубцовой микробиоты. Использовали метод

ПЦР-РВ с флуоресцентной детекцией. Для этого применяли комплект реагентов «Колонофлор-16 (премиум)» ООО «Альфалаб» (Россия, г. Санкт-Петербург) в соответствии с инструкцией производителя в модификации лаборатории фундаментальных основ питания сельскохозяйственных животных и рыб ФГБНУ ФИЦ ВИЖ им. Л.К. Эрнста при сотрудничестве с лабораторией молекулярной генетики сельскохозяйственных животных ФГБНУ ФНЦ ВИЖ им. Л.К. Эрнста.

Интерпретацию результатов амплификации осуществляли с использованием программного обеспечения, входящего в состав набора «Колонофлор-16 (премиум)», согласно инструкции производителя.

Выделение метана учитывалось в метаболических камерах открытого типа. Для изучения газообразования животное помещалось в камеру и содержалось в ней в течение 2 смежных суток. Камеру открывали в 9-00 и 16-00 для задачи концентрированных и грубых кормов.

Полученные в опыте материалы обработаны биометрически с использованием метода дисперсионного анализа (ANOVA), посредством программы STATISTICA, version 13 Ru, StatSoft, Inc., 2011 (www.statsoft.com). При этом вычислены следующие величины: среднеарифметическая (M), среднеквадратическая ошибка ($\pm m$) и уровень значимости (p). Результаты исследований считали высокодостоверными при $p \leq 0,001$ и достоверными при $p \leq 0,01$ и $p \leq 0,05$. При $p \leq 0,1$ до $p \geq 0,05$ – тенденция к достоверности полученных данных. При $p \geq 0,1$ разницу считали недостоверной.

Результаты и их обсуждение. Высокий уровень концентратов в рационах (свыше 50 %) взрослых жвачных является физиологически противоестественным, так как нарушает процессы рубцового пищеварения и повышает заболеваемость [10].

В наших исследованиях показатели рубцового метаболизма у исследуемых овец отображены в таблице 1.

В текущем эксперименте рН при рационе с вводом 20 % ($p \leq 0,01$), 30 и 40 % концентратов снижался через 3 ч после кормления. Также наблюдается постепенное повышение кислотности рубцового содержимого до кормления между первым и третьим периодом, где уровень рН

понижился с 6,71 до 6,25 ($p \leq 0,05$). Помимо снижения рН, можно отметить увеличение количества кислых метаболитов (ЛЖК) с 6,65 до 7,21 Ммоль/100 мл до кормления и с 7,63 до 8,45 Ммоль/100 мл через 3 ч после кормления.

Образование ЛЖК в рубце тесно связано с производством метана [11]. ЛЖК могут оказать влияние на снижение рН ферментации до уров-

ня ниже 6,0, тем самым подавляя пролиферацию метаногенных микроорганизмов. Правильное распределение ЛЖК для различных физиологических процессов обеспечивает эффективное использование энергии и поддерживает рост, воспроизводство, продуктивность и выбросы метана [12].

Таблица 1

Показатели рубцового метаболизма у овец (n = 6)

Группа	Время взятия проб	
	до кормления	3 ч после кормления
Показатель рН		
20 % концентратов	6,71 ± 0,09	6,28 ± 0,09**
30 % концентратов	6,68 ± 0,07	6,31 ± 0,16
40 % концентратов	6,25 ± 0,08*	6,26 ± 0,04
ЛЖК, Ммоль/100мл		
20 % концентратов	6,65 ± 0,47	7,63 ± 0,58
30 % концентратов	6,80 ± 0,39	7,99 ± 0,46
40 % концентратов	7,21 ± 0,33	8,45 ± 0,13
Амилолитическая активность, Е/мл		
20 % концентратов	12,73 ± 0,66	
30 % концентратов	13,00 ± 1,03	
40 % концентратов	14,21 ± 0,33	

* $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$.

Таким образом, в нашем исследовании по мере повышения процента концентратов в рационе 2-летних овец повышается кислотность рубцовой жидкости в пределах нормы и общее количество летучих жирных кислот, что применимо при концентрированном типе кормления.

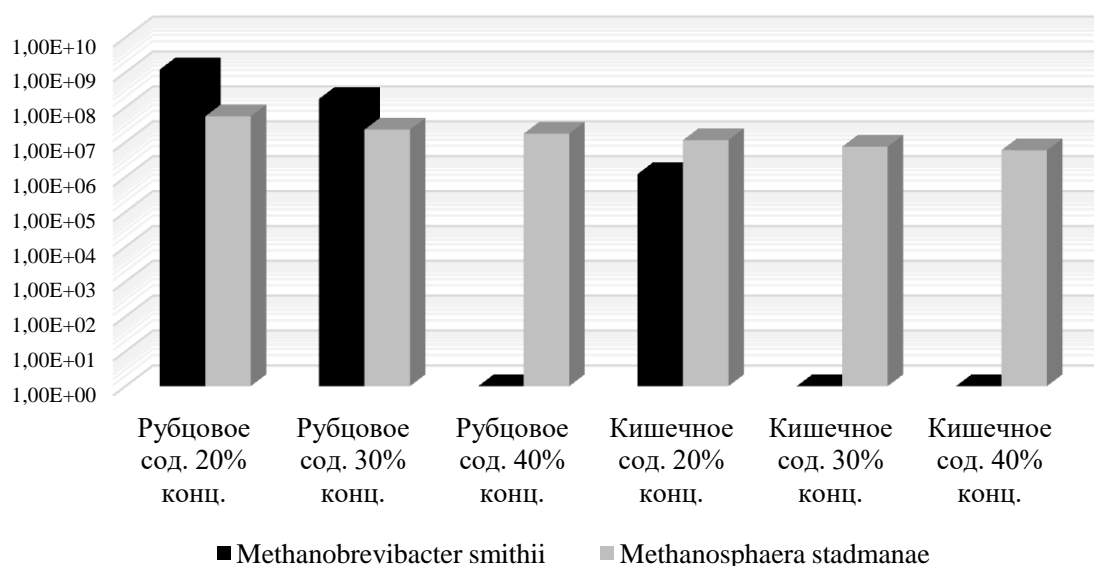
Амилолитические бактерии, в основном стрептококки, представлены в рубце многочисленной группой. В наших опытах амилолитическая активность рубца после еды постепенно увеличивалась с 12,73 до 14,21 при смене рациона на более концентрированный.

Производство метана в рубце в первую очередь связано с метаболической активностью метаногенных архей, вырабатывающих метан в качестве побочного продукта. Основные виды метаногенных архей: *Methanobrevibacter smithii*, *Methanosphaera stadtmanae*, *Methanomicrobium mobile* и *Methanosarcina spp.* [13]. Эти археи используют H_2 , CO_2 и метанол для синтеза метана [14, 15].

В наших исследованиях с увеличением уровня концентратов снижается количество *Methanobrevibacter smithii*, *Methanosphaera stadtmanae* как в рубце, так и в кишечнике (рис. 1).

Наиболее зависящими от концентратного типа кормления оказались *Methanobrevibacter smithii*. Их количество заметно сократилось в рубцовом содержимом при вводе 40 % концентратов, а в кишечном содержимом начиная с ввода 30 и 40 % концентратов. *Methanosphaera stadtmanae* оказались более устойчивыми к повышению уровня вводимых концентратов, что требует дальнейшего изучения.

Изучение выделения метана из организма овец при различном уровне концентратов в рационе показало, что при увеличении доли концентрированных кормов снижается выделение метана и углекислого газа из организма животных в результате количественного изменения метаногенов в ЖКТ овец (табл. 2).



Содержание метаногенов

Таблица 2

Выделение метана из организма овец при различных уровнях концентратов в рационе

Группа	Выделение CH ₄ , л/сут
20 % концентратов	21,10±0,33
30 % концентратов	17,88±0,35
40 % концентратов	15,88±0,15

При вводе 20, 30 и 40 % концентратов в рацион овец количество выделенного CH₄ составило 21,10; 17,88 и 15,88 л/сут соответственно. Повышение концентратной части рациона в 2 раза способствует снижению выработки CH₄ ЖКТ в 1,33 раза.

Заключение. Увеличение в рационах романовских овец концентратов оказало влияние на рубцовое пищеварение: показатель pH при рационе с вводом 20 % ($p \leq 0,01$), 30 и 40 % концентратов снижался через 3 ч после кормления, до кормления между первым и третьим периодом уровень pH понизился с 6,71 до 6,25 ($p \leq 0,05$); количество кислых метаболитов (ЛЖК) увеличивалось с 6,65 до 7,21 Ммоль/100 мл до кормления и с 7,63 до 8,45 Ммоль/100 мл через 3 ч после кормления; амилалитическая активность рубца после еды постепенно увеличивалась с 12,73 до 14,21 при смене рациона на более концентрированный. Повышение в рационах овец концентратов с 20 до 40 % способствует снижению выработки CH₄ ЖКТ в 1,33 раза за счет снижения количества метаногенов *Methanobrevibacter smithii*, *Methanosphaera stadmanae* как в рубце, так и в кишечнике.

Список источников

1. Samal L., Dash S.K. Nutritional Interventions to Reduce Methane Emissions in Ruminants // Animal Feed Science and Nutrition-Production, Health and Environment. IntechOpen, 2022. DOI: 10.5772/intechopen.101763.
2. Hydrogenotrophic methanogenesis in archaeal phylum *Verstraetearchaeota* reveals the shared ancestry of all methanogens / B.A. Berghuis [et al.] // Proceedings of the National Academy of Sciences. 2019. № 11. P. 5037–5044.
3. The rumen microbiome: a crucial consideration when optimising milk and meat production and nitrogen utilisation efficiency / C. Matthews [et al.] // Gut microbes. 2019. № 2. P. 115–132. DOI: 10.1080/19490976.2018.1505176.
4. Microbial ecosystem and methanogenesis in ruminants / D.P. Morgavi [et al.] // Animal. 2012. № 5. P. 1024–1036. DOI: 10.1017/S1751731110000546.
5. Methane inhibition alters the microbial community, hydrogen flow, and fermentation response in the rumen of cattle / G. Martinez-

- Fernandez [et al.] // Frontiers in Microbiology. 2016. № 7. P. 1122. DOI: 10.3389/fmicb.2016.01122.*
6. Subacute ruminal acidosis challenge changed in situ degradability of feedstuffs in dairy goats / *F. Li [et al.] // Journal of Dairy Science. 2014. № 8. P. 5101–5109. DOI: 10.3168/jds.2013-7676.*
 7. Characterization of rumen bacterial diversity and fermentation parameters in concentrate fed cattle with and without forage / *R.M. Petri [et al.] // Journal of Applied Microbiology. 2012. № 6. P. 1152–1162. DOI: 10.1111/j.1365-2672.2012.05295.x.*
 8. Enteric methane mitigation strategies in ruminants: a review / *Ribeiro L.G. Pereira [et al.] // Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias. 2015. № 2. P. 124–143. DOI: 10.17533/udea.rccp.v28n2a02.*
 9. Enteric methane mitigation interventions / *J.Q. Fouts [et al.] // Translational Animal Science. 2022. № 2. txac041. DOI: 10.1093/tas/txac041.*
 10. *Погосян Д.Г., Гаджимусаев Р.С. Физиологические особенности молодняка овец при раннем интенсивном откорме // Проблемы биологии продуктивных животных. 2017. № 3. С. 77–86.*
 11. Measuring methane production from ruminants / *J. Hill [et al.] // Trends in Biotechnology. 2016. № 1. P. 26–35.*
 12. *González L.A., Kyriazakis I., Tedeschi L.O. Review: Precision nutrition of ruminants: Approaches, challenges and potential // Animal. 2018. P. 246–261.*
 13. Archaea are interactive components of complex microbiomes / *C. Moissl-Eichinger [et al.] // Trends Microbiol. 2018. Vol. 26. P. 70–85.*
 14. *Welander, P.V., Metcalf, W.W. Loss of the mtr operon in Methanosarcina blocks growth on methanol, but not methanogenesis, and reveals an unknown methanogenic pathway // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2005. Vol. 102. P. 10664–10669.*
 15. Diverse hydrogen production and consumption pathways influence methane production in ruminants / *C. Greening [et al.] // ISME J. 2019. Vol. 13. P. 2617–2632.*

References

1. *Samal L., Dash S.K. Nutritional Interventions to Reduce Methane Emissions in Ruminants // Animal Feed Science and Nutrition-Production, Health and Environment. IntechOpen, 2022. DOI: 10.5772/intechopen.101763.*
2. Hydrogenotrophic methanogenesis in archaeal phylum *Verstraetearchaeota* reveals the shared ancestry of all methanogens / *B.A. Berghuis [et al.] // Proceedings of the National Academy of Sciences. 2019. № 11. P. 5037–5044.*
3. The rumen microbiome: a crucial consideration when optimising milk and meat production and nitrogen utilisation efficiency / *C. Matthews [et al.] // Gut microbes. 2019. № 2. P. 115–132. DOI: 10.1080/19490976.2018.1505176.*
4. Microbial ecosystem and methanogenesis in ruminants / *D.P. Morgavi [et al.] // Animal. 2012. № 5. P. 1024–1036. DOI: 10.1017/S1751731110000546.*
5. Methane inhibition alters the microbial community, hydrogen flow, and fermentation response in the rumen of cattle / *G. Martinez-Fernandez [et al.] // Frontiers in Microbiology. 2016. № 7. P. 1122. DOI: 10.3389/fmicb.2016.01122.*
6. Subacute ruminal acidosis challenge changed in situ degradability of feedstuffs in dairy goats / *F. Li [et al.] // Journal of Dairy Science. 2014. № 8. P. 5101–5109. DOI: 10.3168/jds.2013-7676.*
7. Characterization of rumen bacterial diversity and fermentation parameters in concentrate fed cattle with and without forage / *R.M. Petri [et al.] // Journal of Applied Microbiology. 2012. № 6. P. 1152–1162. DOI: 10.1111/j.1365-2672.2012.05295.x.*
8. Enteric methane mitigation strategies in ruminants: a review / *Ribeiro L.G. Pereira [et al.] // Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias. 2015. № 2. P. 124–143. DOI: 10.17533/udea.rccp.v28n2a02.*
9. Enteric methane mitigation interventions / *J.Q. Fouts [et al.] // Translational Animal Science. 2022. № 2. txac041. DOI: 10.1093/tas/txac041.*
10. *Pogosyan D.G., Gadzhimusaev R.S. Физиологические особенности молодняка овец при*

- rannem intensivnom otkorme // Problemy biologii produktivnyh zhivotnyh. 2017. № 3. S. 77–86.
11. Measuring methane production from ruminants / J. Hill [et al.] // Trends in Biotechnology. 2016. № 1. P. 26–35.
 12. González L.A., Kyriazakis I., Tedeschi L.O. Review: Precision nutrition of ruminants: Approaches, challenges and potential // Animal. 2018. P. 246–261.
 13. Archaea are interactive components of complex microbiomes / C. Moissl-Eichinger [et al.] // Trends Microbiol. 2018. Vol. 26. P. 70–85.
 14. Welander, P.V., Metcalf, W.W. Loss of the mtr operon in Methanosarcina blocks growth on methanol, but not methanogenesis, and reveals an unknown methanogenic pathway // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2005. Vol. 102. P. 10664–10669.
 15. Diverse hydrogen production and consumption pathways influence methane production in ruminants / C. Greening [et al.] // ISME J. 2019. Vol. 13. P. 2617–2632.

Статья принята к публикации 12.02.2024 / The article accepted for publication 12.02.2024.

Информация об авторах:

Алена Анатольевна Зеленченкова¹, старший научный сотрудник, заведующий лабораторией фундаментальных основ питания сельскохозяйственных животных и рыб, кандидат сельскохозяйственных наук

Надежда Владимировна Боголюбова², ведущий научный сотрудник, заведующий отделом физиологии и биохимии сельскохозяйственных животных, доктор биологических наук

Никита Сергеевич Колесник³, младший научный сотрудник лаборатории фундаментальных основ питания сельскохозяйственных животных и рыб

Полина Сергеевна Вьючная⁴, младший научный сотрудник лаборатории фундаментальных основ питания сельскохозяйственных животных и рыб

Павел Дмитриевич Лахонин⁵, младший научный сотрудник лаборатории фундаментальных основ питания сельскохозяйственных животных и рыб

Елена Александровна Гладырь⁶, ведущий научный сотрудник, заведующий лабораторией молекулярной генетики сельскохозяйственных животных, кандидат биологических наук

Information about the authors:

Alena Anatolyevna Zelenchenkova¹, Senior Researcher, Head of the Laboratory of Fundamental Principles of Nutrition of Farm Animals and Fish, Candidate of Agricultural Sciences

Nadezhda Vladimirovna Bogolyubova², Leading Researcher, Head of the Department of Physiology and Biochemistry of Farm Animals, Doctor of Biological Sciences

Nikita Sergeevich Kolesnik³, Junior Researcher, Laboratory of Fundamental Principles of Nutrition of Farm Animals and Fish

Polina Sergeevna Vyuchnaya⁴, Junior Researcher, Laboratory of Fundamental Principles of Nutrition of Farm Animals and Fish

Pavel Dmitrievich Lakhonin⁵, Junior Researcher, Laboratory of Fundamental Principles of Nutrition of Farm Animals and Fish

Elena Alexandrovna Gladyr⁶, Leading Researcher, Head of the Laboratory of Molecular Genetics of Farm Animals, Candidate of Biological Sciences

