

doi: 10.31043/2410-2733-2019-2-90-97

УДК 576.64

Л. А. Ильина¹, К. А. Лайшев², Е. А. Ыылдырым¹, В. А. Филиппова¹, Т. П. Дуняшев¹, А. В. Дубровин¹,
Д. В. Соболев¹, Н. И. Новикова¹, Г. Ю. Лаптев¹, А. А. Южаков², Т. М. Романенко³

Популяционная структура микробных сообществ в рубце северных оленей Российской Арктики в зимний период по данным высокопроизводительного секвенирования

Аннотация. Микробиота рубца северного оленя играет важную роль в переваривании пищи посредством ферментов, продуцируемых микроорганизмами-симбионтами рубца. В связи с этим широкий интерес представляет изучение адаптационных приспособлений организма северных оленей к возможности эффективного использования ими для питания скудных растительных ресурсов пространств Арктики. В настоящем исследовании впервые представлены результаты оценки популяционной структуры микробных сообществ рубца *Rangifer tarandus* Российской Арктики в зимний период по данным высокопроизводительного секвенирования. Особенностью рациона северного оленя в зимне-весенний период является высокая доля лишайников в рационе (до 70%) по сравнению с летне-осенним (не более 10–15%). Образцы содержимого рубца отбирали в зимне-весенний период в 2018 году в Ямало-Ненецком автономном округе у телят (6–8 месяцев, $n=3$), молодняка (1–2 года, $n=3$) и взрослых особей (3–6 лет, $n=6$) северных оленей ненецкой породы. Состав бактериального сообщества рубца северных оленей анализировали в лаборатории компании «БИОТРОФ+» методом NGS-секвенирования (next-generation sequencing). Результаты показали, что доминирующее положение в микробных сообществах, как и у других жвачных, занимали представители фил *Firmicutes* и *Bacteroidetes*, общее содержание которых у животных различных возрастных групп достоверно не различалось. На более низких таксономических уровнях в составе микробиоты у телят отмечено более высокое содержание целлюлозолитических микроорганизмов родов *Ruminococcus*, *Butyrivibrio*, *Coprococcus* по сравнению с молодняком и взрослыми особями ($p<0.05$). При этом доля кислот-утилизирующих бактерий родов *Succinivibrio* и *Selenomonas* у телят была ниже по сравнению с молодыми и взрослыми особями ($p<0.05$). Данные таксономического анализа состава микробных сообществ подтверждаются результатами оценки биоразнообразия при помощи экологических индексов. По результатам оценки показателей α - и β -разнообразия микробных сообществ рубца наибольшая уникальность выявлена для микробиомов взрослых особей в сравнении с молодняком и телятами. В целом, полученные результаты подтверждают мнение исследователей о том, что микробное сообщество может отражать физиологическое состояние животных.

Ключевые слова: северные олени, *Rangifer tarandus*, микробиом рубца, бактериальное сообщество, молекулярно-генетические методы, NGS-секвенирование, онтогенез, зимне-весенний период, Российская Арктика.

Авторы:

Ильина Лариса Александровна — кандидат биологических наук, начальник молекулярно-генетической лаборатории; e-mail: ilina@biotrof.ru;

Лайшев Касим Анверович — доктор ветеринарных наук, профессор, член-корреспондент РАН, +7 (812) 476-79-14, e-mail: layshev@mail.ru;

Ыылдырым Елена Александровна — кандидат биологических наук, биотехнолог; e-mail: deniz@biotrof.ru;

Филиппова Валентина Анатольевна — биотехнолог; e-mail: filippova@biotrof.ru;

Дуняшев Тимур Петрович — аспирант, биотехнолог; e-mail: timur@biotrof.ru;

Дубровин Андрей Валерьевич — аспирант, биотехнолог; e-mail: dubrowin.a.v@yandex.ru;

Соболев Дмитрий Валентинович — кандидат биологических наук, специалист; e-mail: sdv@biotrof.ru;

Новикова Наталья Ивановна — кандидат биологических наук, зам. директора; e-mail: natalia-iv-nov@rambler.ru;

Лаптев Георгий Юрьевич — доктор биологических наук, директор; e-mail: georg-laptev@gambler.ru;

Южаков Александр Александрович — главный научный сотрудник, доктор сельскохозяйственных наук; e-mail: alyuzhakov@yandex.ru.

Романенко Татьяна Михайловна — кандидат биологических наук, директор, e-mail: nmshos@atnet.ru

- ¹ Общество с ограниченной ответственностью «БИОТРОФ+», Россия, 192284, г. Санкт-Петербург, Загребский б., д. 19, корп. 1, кв. 13;
- ² ФГБНУ «Северо-Западный центр междисциплинарных исследований проблем продовольственного обеспечения», Россия, 196608, г. Санкт-Петербург — Пушкин, шоссе Подбельского, д. 7;
- ³ Федеральный исследовательский центр комплексного изучения Арктики РАН им. Н. П. Лаврова РАН, Нарьян-Марская сельскохозяйственная станция, 166004 Россия, Ненецкий автономный округ, г. Нарьян-Мар, ул. Рыбников, 1А.

Введение. Микробиом рубца у северного оленя менее изучен по сравнению с другими жвачными животными, хотя его исследование представляет значительный интерес в связи с оценкой адаптационно-физиологических и анатомических приспособлений организма, позволяющих использовать низкий по питательности рацион тундры и лесотундры [1, 2].

Микробиота рубца северного оленя играет важную роль в ферментации растительных кормов, поскольку усвоение растительных кормов рациона у северных оленей происходит, как и у других жвачных, посредством ферментов, продуцируемых микроорганизмами-симбионтами рубца [3, 4]. В летний период олени находятся на пастбищном содержании, их рацион состоит из смеси многолетних трав и кустарников. Зимой рацион северного оленя на 70% состоит из лишайников, которые очень токсичны для многих животных, например, для овец, коров из-за содержания в них усниновой кислоты — токсичного метаболита лишайников.

Поэтому микробное сообщество рубца жвачных может отражать как региональные особенности корма, так и общее физиологическое состояние животных. Функциональное назначение грибного сообщества рубца северного оленя сводится к трансформации растительных полимеров (преимущественно, клетчатки) в питательные субстраты — основного и часто единственного источника энергетических ресурсов жизнеобеспечения. Благодаря бактериальным ферментам происходит усвоение протеинов, углеводов, липидов кормов. Археи участвуют в процессах ферментации кормов, поддержании газового состава в рубце жвачных [1, 3, 4].

К немаловажным функциям анаэробной микрофлоры рубца северных оленей относят ее способность к детоксификации вторичных фенольных метаболитов лишайников: усниновой кислоты и др. [5–7].

До 90-х годов прошлого столетия исследования микроорганизмов в рубце северных оленей были основаны на изучении культивируемых штаммов на искусственных питательных средах [1, 8]. Были изучены некоторые штаммы бактерий, грибов рубца северных оленей [5, 9, 10]. Существенно расширить понимание состава микробиома рубца и других мест обитания позволило развитие молекулярно-генетических методов изучения микроорганизмов, таких как высокопроизводительное секвенирование (NGS-sequencing). Важная особенность метагеномных исследований — отсутствие необходимости в культивировании микроорганизмов, что является принципиальным моментом, поскольку до 99% микроорганизмов биосферы не поддаются культивированию на искусственных питательных средах.

Современные знания о микробной экосистеме рубца жвачных в значительной степени основаны на результатах исследования КРС, овец [11].

В настоящей работе выполнены молекулярно-генетические исследования микробиоценоза рубца северных оленей Ненецкой породы, обитающих на территории Ямало-Ненецкого автономного округа России.

Цель работы заключалась в изучении таксономического состава бактериального сообщества рубца особей *Rangifer tarandus* в зимний период методом NGS-секвенирования (next generation sequencing).

Материалы и методы исследований. Образцы содержимого рубца отбирали в осенне-зимний период в ноябре 2017 года у телят (6–8 месяцев, $n=3$), молодых (1–2 года, $n=3$) и взрослых особей (3–6 лет, $n=6$) Ненецкой породы из оленеводческой бригады № 2 Ямальского отдела ФГБНУ ВНИИВЭА на территории Приуральского района Ямало-Ненецкого автономного округа в 20–100 км от г. Салехард и в 20–40 км от поселка Харп (рис. 1). В период исследований основное поголовье составляло 1328 голов, сохранность взрослых

была 97%, деловой выход телят — 69,5%, яловость — 9,8%. Структура стада Ямальского отдела ВНИИВЭА на период исследования составляла в %: важенки — 42,5, производители и третьяки — 8,7, ремонтный молодняк — 14,6, быки — 7,5, телята — 27,2. Олени в стаде невысокие, компактные животные, обладающие хорошими мясными и выдающимися рабочими качествами, имеют относительно крупную голову с хорошо развитыми рогами. Окрас преимущественно бурой масти различной интенсивности, не менее 10% оленей имеют белую и пёструю окраску. По характеру растительности территория, на которой выпасались олени, типична для лесотундры приуральского сектора Западной Сибири и Южного Ямала. Состав усредненного пастбищного рациона северных оленей включал 55% ягеля, 20% ветоши травянистых растений, 18% кустарников и кустарничков, до 5% подснежной зелени и до 2% мхов.

Молекулярно-генетический анализ бактериального сообщества рубца северных оленей проводили в лаборатории компании ООО «БИОТРОФ+» (Санкт-Петербург) с применением NGS-секвенирования. Выделение тотальной ДНК для проведения молекулярно-биологических анализов осуществляли согласно методике, описанной в Маниатисом с соавторами [12] в собственной модификации. Метагеномное секвенирование осуществляли на геномном секвенаторе MiSeq («Illumina, Inc.», США) с набором MiSeq Reagent Kit v2 («Illumina, Inc.», США). Максимальная длина полученных последовательностей составила 2x250 нт. Об-

работка полученных ридов, включающая перекрытие, фильтрацию по качеству (Q30), триммирование праймеров проводилось с помощью биоинформатической платформы Illumina. Определение таксономической принадлежности микроорганизмов до рода проводили с применением программы RDP Classifier (<https://rdp.cme.msu.edu/classifier/classifier.jsp>).

Результаты и их обсуждение. По результатам NGS-секвенирования среднее количество проанализированных последовательностей (ридов) в 1 образце составляло 18340, минимальное — 6232, максимальное — 27581. Количество ОТЕ составило от 2221 до 8913, индекс Шеннона варьировал в пределах 4,00–4,27 в зависимости от образца.

В составе метагеномного сообщества рубца северных оленей было представлено 25 фил атрибутируемых микроорганизмов. В составе микрофлоры на уровне филумов доминировали *Firmicutes* (до 69,3%) и *Bacteroidetes* (до 31,5%). В меньшей степени в сообществе рубца оказались представлены бактерии филумов *Proteobacteria* (до 1,5%), *Euryarchaeota* (до 4,9%), *Verrucomicrobia* (до 4,3%), TM7 (до 3,2%). Процентное соотношение представителей остальных филумов составляет менее 1% от всего бактериального сообщества (*Spirochaetes*, *Cyanobacteria*, *Actinobacteria*, *Planctomycetes*, *Nitrospirae*, *Chloroflexi*, *Synergistetes*, *Fibrobacteres*, *Fusobacteria* и др.). У некоторых особей выявлены условно-патогенные и патогенные микроорганизмы, в т.ч. представителей семейств *Campylobacteraceae* (до 0,1%), *Enterobacteriaceae* (до 0,1%), *Paenibacillaceae* (до 0,1%), *Mycoplasmataceae* (до 0,3%) и пр.

В других исследованиях микробиоты рубца жвачных, в т.ч. северного оленя, бактерии фил *Firmicutes* и *Bacteroidetes*, были также наиболее представленными. Так в исследовании Роре с соавторами было показано, что доля филы *Bacteroidetes* была наиболее высокой (61%) в сообществе рубца северного оленя и составляла более половины от всего сообщества, а доля бактерий филы *Firmicutes* достигала 30% [13]. Оставшиеся минорные микроорганизмы были отнесены к протеобактериям, спирохетам и хлорофлексам. В фекальных бактериальных сообществах северного оленя по результатам Zielińska с соавторами среди 14 фил более 95% последовательностей также было пред-

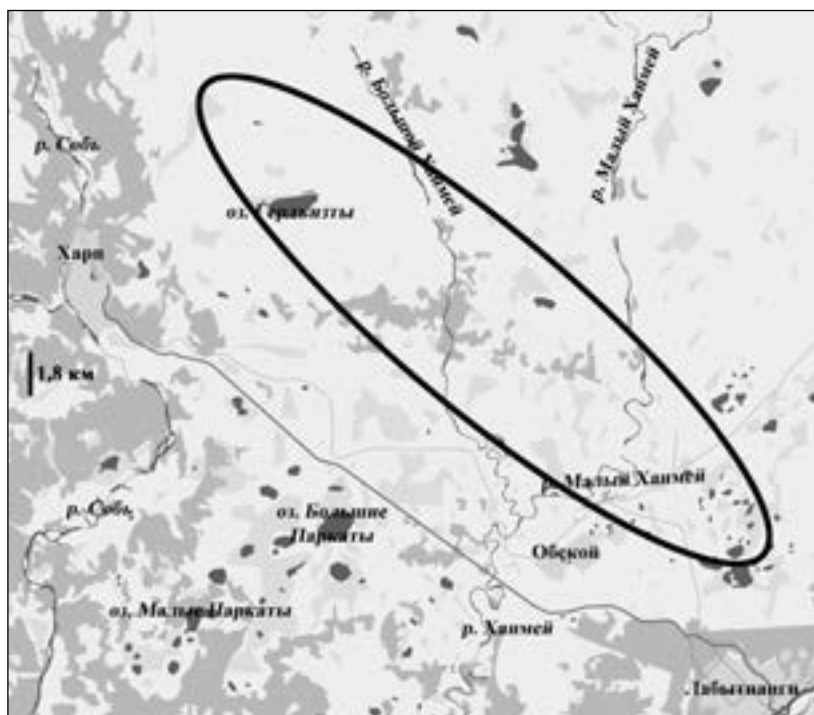


Рис. 1. Регион отбора образцов содержимого рубца северных оленей

ставлено филами *Firmicutes* и *Bacteroidetes*. В частности, доля *Firmicutes* составила 56,53%, а и *Bacteroidetes* — 39,17% от общего числа последовательностей. Остальные 5% сообщества были представлены филами *Tenericutes*, *Cyanobacteria*, *TM7*, *Actinobacteria*, *Proteobacteria*, *Verrucomicrobia*, *Elusimicrobia*, *Planctomycetes*, *Fibrobacteres*, *Spirochaetes*, *Chloroflexi*, and *Deferribacteres* [14].

В течение онтогенеза у исследованных нами особей северных оленей наблюдались изменения в соотношении количества филотипов и таксономических групп микробиоты рубца (табл. 1, рис. 2). Необходимо отметить, что достоверных изменений в микробиоте рубца на уровне фил не наблюдалось. При этом наибольшие возрастные изменения были детектированы в составе филума *Firmicutes*. В рубце у телят общее содержание целлюлозолитических бактерий родов *Ruminococcus*, *Butyrivibrio*, *Coprococcus*, обладающих потенциальной способностью к гидролизу углеводов растительных кормов с образованием летучих жирных кислот (Hungate, 1966), было выше ($p < 0,05$) по сравнению с молодняком и взрослыми особями. Доля кислот-утилизирующих бактерий родов *Succiniclasticum* и *Selenomonas*, которые относятся к физиологически важной группе микроорганизмов для жвачных, поскольку позволяют поддерживать в рубце необходимый уровень кислотности за счет способности утилизировать образующиеся в результате сбраживания моносахаров, олиго- и полисахаридов кислоты (включая уксусную, пропионовую, масляную, молочную и другие) [15], в рубце молодых и взрослых особей была выше ($p < 0,05$) по сравнению с телятами.

Ранее Хендерсон с соавторами при исследовании исследуя 32 видов домашнего скота, продемонстрировали, что ряд представителей филумов *Firmicutes* и *Bacteroidetes*, как бактерии родов *Prevotella*, *Butyrivibrio*, *Ruminococcus*, оставалось стабильным у всех изученных животных. Авторы показали, что указанные микроорганизмы мож-

но отнести к коровому сообществу микробиоты рубца, изменение доли которых связано, прежде всего, с идентичностью видов хозяина, а не с питанием или другими факторами (например, возрастом животных). Содержание же других представителей микробных сообществ, таких как бактерии семейств *Lachnospiraceae*, *Ruminococcaceae*, *Bacteroidales* и *Clostridiales*, могло изменяться в зависимости от питания и окружающей среды, определяя тем самым и уникальность каждого вида жвачных [16].

В связи с этим наличие изменений в составе микробиоты рубца у исследованных нами особей северных оленей подтверждает мнение исследователей о том, что микробное сообщество может также отражать физиологическое состояние животных.

В таблице 1 приведены значения параметров α -биоразнообразия бактериальных сообществ рубца северных оленей: операционные таксономические единицы или виды (OTUs), индексы биоразнообразия Chao1 и Шеннона. Как видно из таблицы 1,

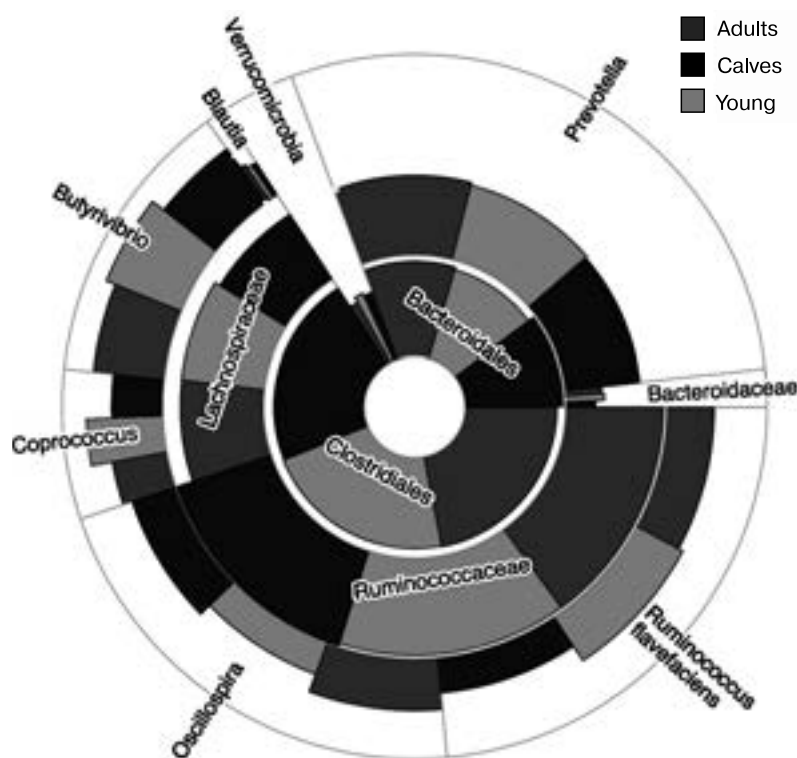


Рис. 2. Среднее соотношение доминирующих бактериальных таксонов в рубце северных оленей

Таблица 1. Значения параметров α -биоразнообразия

Варианты	Количество операционных таксономических единиц	Индекс разнообразия Chao1	Индекс разнообразия Шеннона
Телята	3983.33±1705.21	707.10±78.15	4.07±0.03
Молодняк	5676.67±1129.72	832.73.0±41.02	4.05±0.06
Взрослые	6765.50±1596.84	865.43±154.55	4.14±0.10

с возрастом животных отмечена тенденция к повышению числа операционных таксономических единиц. Интересно, что у взрослых животных по сравнению с телятами и молодняком отмечена тенденция к увеличению у них значения индекса Индекс Chao1, который, помимо видового богатства, учитывает соотношение синглетонов ($n=1$) к дублетам ($n=2$), придавая больший вес редким видам. При этом у взрослых северных оленей наблюдалось некоторое увеличение индекса разнообразия Шеннона, учитывающего видовое богатство и равномерность операционных таксономических единиц, что свидетельствует о большей неоднородности их бактериального сообщества рубца по сравнению с телятами и молодыми особями животными.

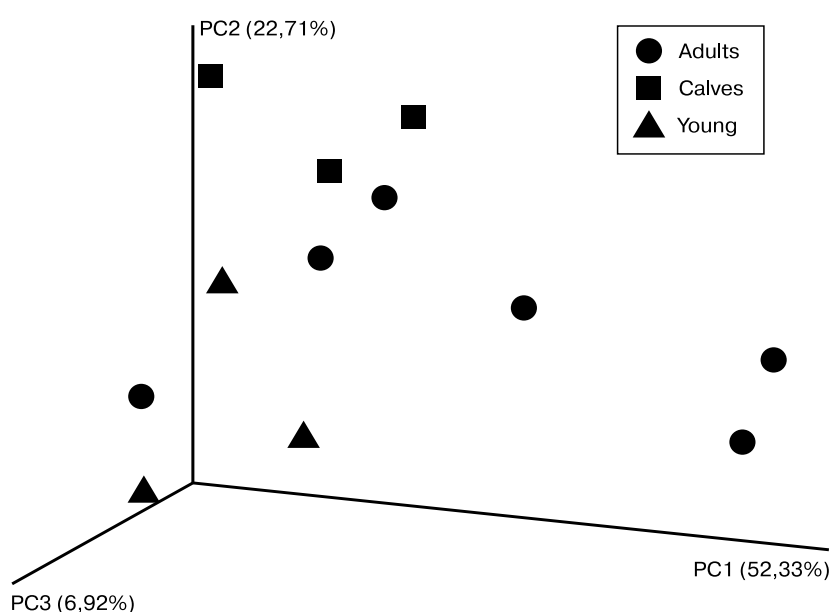


Рис. 3. Сравнительный анализ бактериального сообщества рубца северных оленей с применением метода главных компонент (Principal Component Analysis)

По результатам оценки β -разнообразия методом главных компонент, которые представлены в виде трехмерного графика PCoA Emperor (рис. 3), наиболее значимые отличия в составе бактериального сообщества рубца детектированы для взрослых особей (3-6 лет) по сравнению с телятами и молодыми особями.

Выводы. Итак, в работе впервые представлены результаты исследования популяционной структуры микробных сообществ рубца северных оленей Российской Арктики в зимний период по данным высокопроизводительного секвенирования. При таксономическом анализе состава микробных сообществ в рубце *Rangifer tarandus* выявлено 25 атрибутируемых филумов, среди которых доминирующее положение занимали представители фил *Firmicutes* и *Bacteroidetes*. Наибольшие возрастные изменения у северных оленей были детектированы в составе бактерий филы *Firmicutes*. При этом у телят отмечено более высокое содержание целлюлозолитических микроорганизмов родов *Ruminococcus*, *Butyrivibrio*, *Coprococcus* по сравнению с молодняком и взрослыми особями ($p<0.05$). Тогда как доля кислот-утилизирующих бактерий родов *Succiniclasticum* и *Selenomonas* у телят была ниже по сравнению с молодыми и взрослыми особями ($p<0.05$). В целом, судя по результатам оценки биоразнообразия при помощи экологических индексов, установлено, что наибольшая уникальность выявлена для микробиомов взрослых особей *Rangifer tarandus*.

Исследование выполнено при поддержке гранта Российского научного фонда для реализации научного проекта №17-76-20026 «Микробиоценоз рубца Rangifer tarandus Арктических регионов России как фундаментальная основа получения перспективных биотехнологий для сельскохозяйственных животных»

Литература

1. Тараканов Б. В. Методы исследования микрофлоры пищеварительного тракта сельскохозяйственных животных и птицы. М.: «Научный мир». — 2006. — 188 с.
2. Мухачев А.Д. Северное оленеводство в странах мира / А.Д. Мухачев, К.А. Лайшев // Норильск. — 2007.
3. Church D. C. Ruminant Animal: Digestive physiology and nutrition. New Jersey: Prentice Hall, 1993.
4. Morgavi D. P. Rumen microbial (meta)genomics and its application to ruminant production / D. P. Morgavi, W. J. Kelly, P. H. Janssen, G. T. Attwood // Animal. — 2013. — № 7 (1). — 184–201.
5. Orpin C. G. Seasonal changes in the ruminal microflora of the high-arctic Svalbard reindeer (*Rangifer tarandus platyrhynchus*) / C.G. Orpin, S.D. Mathiesen, Y. Greenwood, A.S. Blix // Appl. Environ. Microb. — 1985. — № 50 (1). — 144–151.
6. Sundset M. A. Eubacterium rangiferina, a novel usnic acid-resistant bacterium from the reindeer rumen / M. A. Sundset, A. Kohn, S. D. Mathiesen, K. E. PrKsteng // Naturwissenschaften. — 2008. — V. 95. — P. 741–749.

7. Salgado-Flores A., Hagen L. H., Ishaq S. L., Zamanzadeh M., Wright A-DG., Pope P.B. rumen and cecum microbiomes in Reindeer (*Rangifer tarandus tarandus*) are changed in response to a lichen diet and may affect enteric methane emissions. *PLoS ONE*. 2016. 11(5): e0155213.
8. Hungate R. E. The rumen and its microbes. Academic Press, NY, 1966.
9. Mathiesen S. D. Microbial ecology of the gastrointestinal tract in reindeer — changes through season. In: *Microbial ecology of the growing animal* / S. D. Mathiesen, R. I. Mackie, A. Aschfalk, E. Ringø, M. A. Sundset // *Biology of the growing animals*. Elsevier Press, Oxford. — 2005. — 73–100.
10. Sundset M. A. Novel rumen bacterial diversity in two geographically separated sub-species of reindeer / M. A. Sundset, K. E. PrKsteng, I. K. O. Cann, S. D. Mathiesen, R. I. Mackie // *Microbial. Ecol.* — 2007. — V. 54. — P. 424–438.
11. Jami E. Composition and similarity of bovine rumen microbiota across individual animals / E. Jami, I. Mizrahi // *PLoS ONE*. — 2012. — V. 7 (3). — e33306.
12. Maniatis T., Frich Je., Sjembruk Dzh. Molecular cloning. M.: Mir, 1984. 480 p.
13. Pope P.B. Metagenomics of the Svalbard reindeer rumen microbiome reveals abundance of polysaccharide utilization loci. / P.B. Pope, A.K. Mackenzie, I. Gregor, W. Smith, M. A. Sundset, A. C. McHardy, M. Morrison, V. Eijsink // *PLoS One*. — 2012. — № 7. — e38571.
14. Zielińska S. New insights into the microbiota of the Svalbard Reindeer *Rangifer tarandus platyrhynchus*. / S. Zielińska, D. Kidawa, L. Stempniewicz, M. Łoś, J. M. Łoś. // *Frontiers in Microbiology*. — 2016. — № 7. — 170.
15. Nocek J. E. Bovine acidosis: implications on laminitis / J. E. Nocek // *J. Dairy Sci.* — 1997. — V. 80. — P. 1005–1028.
16. Henderson G. Rumen microbial community composition varies with diet and host, but a core microbiome is found across a wide geographical range. / G. Henderson, F. Cox, S. Ganesh, A. Jonker, W. Young, Global Rumen Census Collaborators, P.H. Janssen. // *Sci. Rep.* — 2015. — № 5. — 14567.

Ilina L.¹, Layshev K.², Yildirim E.¹, Filippova V.¹, Dunyashev T.¹, Dubrovin A.¹, Sobolev D.¹, Novikova N.¹, Laptev G.¹, Yuzhakov A.², Romanenko T.³

Population structure of microbial communities in the Russian Arctic reindeer's rumen in the winter period according to high-throughput sequencing data

Abstract. *The reindeer's rumen microbiota plays an important role in the digestion of feed with enzymes produced by rumen microsymbiotes. In this regard, the study of reindeer adaptations, the possibility of effective use plant feed resources of the Arctic are of wide interest. This study presents for the first time the results of the assessment of the population structure of the microbial communities of the Rangifer tarandus rumen in the winter period according to high-throughput sequencing data. A special feature of the reindeer ration in the winter-spring period is the high proportion of lichens in the diet (up to 70%) as compared with the summer-autumn (no more than 10-15%). Samples of the rumen content were collected in the winter-spring period in 2018 in the Yamalo-Nenets Autonomous District from calves (6–8 months, n=3), young (1–2 years, n=3) and adults (3–6 years, n=6) reindeer of the Nenets breed. The composition of the bacterial community of the reindeer rumen was analyzed in the laboratory of the company BIOTROF + by the method of NGS sequencing (next-generation sequencing). The results showed that representatives of Firmicutes and Bacteroidetes occupied a dominant position in microbial communities like in other ruminants. The total content of this bacteria in animals of different age groups was not significantly different. The composition of the microbiota in calves was presented with a higher content of cellulolytic microorganisms of the genera Ruminococcus, Butyrivibrio, Coprococcus compared with young and adults (p<0.05). The share of acid-utilizing bacteria of the genera Succiniclasticum and Selenomonas in calves was lower compared with young and adult individuals (p<0.05). The taxonomic analysis for the composition of microbial communities is confirmed by the results of biodiversity assessment using environmental indices. According to the results of assessment of α and β -diversity of the microbial communities of the rumen, the greatest uniqueness was found for the microbiomes of adults in comparison with calves and young. In general, the obtained results confirm the opinion of researchers that the microbial community can reflect the physiological state of animals.*

Key words: reindeer *Rangifer tarandus*, rumen bacterial community, molecular-genetic methods, NGS-sequencing, ontogeny, winter-spring period, Russian Arctic regions.

Authors:

Ilina L. — PhD (Biol. Sci.), Head of the Molecular-genetic laboratory; e-mail: ilina@biotrof.ru;

Laishev K. — Dr. Habil. (Vet. Sci.), professor, corresponding member of the Russian Academy of Sciences; e-mail: layshev@mail.ru;

Ilydyrym E. — PhD (Biol. Sci.), biotechnologist; e-mail: deniz@biotrof.ru;

Filippova V. — biotechnologist; e-mail: filippova@biotrof.ru;

Dunyashev T. — biotechnologist; e-mail: timur@biotrof.ru;

Dubrowin A. — biotechnologist; e-mail: dubrowin@biotrof.ru;

Sobolev D. — specialist; e-mail: sdv@biotrof.ru;

Novikova N. — director; e-mail: natalia-iv-nov@rambler.ru;

Laptev G. — Dr. Habil. (Biol. Sci.), director; e-mail: georg-laptev@rambler.ru;

Yuzhakov A. — Chief Researcher, Doctor of Agricultural Sciences; e-mail: alyuzhakov@yandex.ru;

Tatyana M. — PhD (Biol. Sci.), Director; e-mail: nmshos@atnet.ru.

- ¹ «BIOTROF+» Ltd, Russia, 192284, St. Petersburg, Zagrebiskij b., 19 (1);
- ² FGBNU Northwest Center for Interdisciplinary Research of food supply problems, Russia, 196608, St. Petersburg — Pushkin, highway Podbelskogo, 7;
- ³ Federal Research Center for Complex Study of the Arctic, Russian Academy of Sciences. N.P. Laverova RAS, Naryan-Mar Agricultural Station, 166004 Russia, Nenets Autonomous District, Naryan-Mar, ul. Rybnikov, 1A.

References

1. Tarakanov B. V. Methods for studying microflora of the digestive tract of agricultural animals and poultry. Moscow, 2006.
2. Mukhachev A. D., Layshev K. A. The world of reindeer. Norilsk, 2007.
3. Church D. C. Ruminant Animal: Digestive physiology and nutrition. New Jersey: Prentice Hall, 1993.
4. Morgavi D. P. Rumen microbial (meta)genomics and its application to ruminant production / D. P. Morgavi, W. J. Kelly, P. H. Janssen, G. T. Attwood // *Animal*. — 2013. — № 7 (1). — 184–201.
5. Orpin C. G. Seasonal changes in the ruminal microflora of the high-arctic Svalbard reindeer (*Rangifer tarandus platyrhynchus*) / C.G. Orpin, S.D. Mathiesen, Y. Greenwood, A.S. Blix // *Appl. Environ. Microb.* — 1985. — № 50 (1). — 144–151.
6. Sundset M. A. Eubacterium rangiferina, a novel usnic acid-resistant bacterium from the reindeer rumen / M. A. Sundset, A. Kohn, S. D. Mathiesen, K. E. PrKsteng // *Naturwissenschaften*. — 2008. — V. 95. — P. 741–749.
7. Salgado-Flores A., Hagen L. H., Ishaq S. L., Zamanzadeh M., Wright A-DG., Pope P.B. rumen and cecum microbiomes in Reindeer (*Rangifer tarandus tarandus*) are changed in response to a lichen diet and may affect enteric methane emissions. *PLoS ONE*. 2016. 11(5): e0155213.
8. Hungate R. E. The rumen and its microbes. Academic Press, NY, 1966.
9. Mathiesen S. D. Microbial ecology of the gastrointestinal tract in reindeer — changes through season. In: *Microbial ecology of the growing animal* / S. D. Mathiesen, R. I. Mackie, A. Aschfalk, E. Ringø, M. A. Sundset // *Biology of the growing animals*. Elsevier Press, Oxford. — 2005. — 73–100.
10. Sundset M. A. Novel rumen bacterial diversity in two geographically separated sub-species of reindeer / M. A. Sundset, K. E. PrKsteng, I. K. O. Cann, S. D. Mathiesen, R. I. Mackie // *Microbial. Ecol.* — 2007. — V. 54. — P. 424–438.
11. Jami E. Composition and similarity of bovine rumen microbiota across individual animals / E. Jami, I. Mizrahi // *PLoS ONE*. — 2012. — V. 7 (3). — e33306.
12. Maniatis T., Fritch Je., Sjembruk Dzh. Molecular cloning. M.: Mir, 1984. 480 p.
13. Pope P.B. Metagenomics of the Svalbard reindeer rumen microbiome reveals abundance of polysaccharide utilization loci. / P.B. Pope, A.K. Mackenzie, I. Gregor, W. Smith, M. A. Sundset, A. C. McHardy, M. Morrison, V. Eijsink // *PLoS One*. — 2012. — № 7. — e38571.
14. Zielińska S. New insights into the microbiota of the Svalbard Reindeer *Rangifer tarandus platyrhynchus*. / S. Zielińska, D. Kidawa, L. Stempniewicz, M. Łoś, J. M. Łoś. // *Frontiers in Microbiology*. — 2016. — № 7. — 170.
15. Nocek J. E. Bovine acidosis: implications on laminitis / J. E. Nocek // *J. Dairy Sci.* — 1997. — V. 80. — P. 1005–1028.
16. Henderson G. Rumen microbial community composition varies with diet and host, but a core microbiome is found across a wide geographical range. / G. Henderson, F. Cox, S. Ganesh, A. Jonker, W. Young, Global Rumen Census Collaborators, P.H. Janssen. // *Sci. Rep.* — 2015. — № 5. — 14567.