

УДК 579.62

## ОЦЕНКА РАЗНООБРАЗИЯ МИКРОБИОМА КИШЕЧНИКА КОЗЫ ДОМАШНЕЙ *Capra hircus*

© 2025 г. В. В. Володин<sup>1</sup>, Н. С. Гладыш<sup>1</sup>\*, А. К. Пискунов<sup>2</sup>, Ю. А. Столповский<sup>2</sup>,  
Ж. В. Самсонова<sup>3</sup>, Н. Ю. Саушкин<sup>3</sup>, А. А. Кудрявцев<sup>4</sup>, А. В. Кудрявцева<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Москва, Россия

<sup>2</sup>Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва, Россия

<sup>3</sup>Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

<sup>4</sup>Московский государственный университет технологий и управления им. К.Г. Разумовского  
(Первый казачий университет), Москва, Россия

\* e-mail: natalyagladish@gmail.com

Поступила в редакцию 13.12.2024 г.

После доработки 18.12.2024 г.

Принята к публикации 15.01.2025 г.

Домашние козы *Capra hircus* остаются востребованными сельскохозяйственными животными, от здоровья которых зависит качество и количество получаемой продукции животноводства. Здоровье животных обеспечивается условиями содержания и питания, в том числе качеством усвоения пищи, в процессы которого существенный вклад вносят микроорганизмы, населяющие пути ЖКТ. Жвачные животные, в частности козы, — носители уникального сообщества бактерий, которое может меняться в зависимости от возраста и региона проживания. Основной проблемой на сегодня остается определение нормальных представителей микробиома кишечника коз и выявление тех участников консорциума, которые могут варьировать без признаков заболеваний. Исследование, основанное на имеющихся опубликованных данных, способствует решению этой проблемы.

**Ключевые слова:** *Capra hircus*, домашняя коза, микробиом кишечника, метагеномные исследования

**DOI:** 10.31857/S0042132425020026, **EDN:** GCZAVL

### ВВЕДЕНИЕ

Сообщество микроорганизмов, называемое микробиомом и населяющее пути пищеварительного тракта, играет значимую роль в переваривании и усвоении питательных элементов. Микробиом вносит существенный вклад в ферментирование короткоцепочечных жирных кислот, сахаров и целлюлозы (Cholewińska et al., 2020; Wessels, 2022). Поскольку жвачные животные питаются исключительно пищей растительного происхождения, микроорганизмы, способствующие усвоению сложноорганизованных и неперевариваемых ферментами животных молекул, в значительной степени могут определять состояние здоровья. Как следствие, нарушение нормального состава микробиома может провоцировать развитие некоторых заболеваний ЖКТ, в частности диареи и колита (Zhang et al., 2023). Но нарушения функционирования этого сообщества могут приводить не только к заболевани-

ям пищеварительных путей, но и к иным метаболическим патологиям, которые в итоге приводят к снижению продуктивности сельскохозяйственных животных (Cholewińska et al., 2021).

Козы *Capra hircus* остаются экономически важными животными во всем мире, благодаря которым человечество получает мясо и молоко, шкуру и волокно (Lu, 2023), что подтверждается растущим количеством разводимых коз по всему миру (Lohani, Bhandari, 2021). Несмотря на значимость для экономических нужд и продовольственной безопасности, исследований, посвященных составу микробиома коз, мало. Остро ощущается проблема определения границ спектра нормальных представителей сообщества микроорганизмов пищеварительного тракта коз, поскольку очевидно, что это сообщество динамично и его видовой состав может отличаться даже при благополучном состоянии животных в зависимости от самых разнообразных условий. В первую очередь это относится к различиям,

связанным с географией отбора образцов для исследований микробиома и с возрастом исследуемых коз.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использованы сторонние (доступные для применения другими исследователями) метагеномные данные, полученные из базы данных SRA NCBI. Для дальнейшего анализа были отобраны 112 образцов, места происхождения которых относятся к Китаю, Индии, Египту и России (номера Bioproject PRJNA910349, PRJNA977464, PRJNA785979, PRJNA646846 соответственно) (Guo et al., 2020). Прочтения были обрезаны, фильтрованы, и удалены остатки адаптеров при помощи Trimmomatic 0.39. Далее чтениям были присвоены таксоны при помощи Kraken2 с использованием базы данных Silva-138 (McMurdie, Holmes, 2013; Quast et al., 2013; Wood et al., 2019).

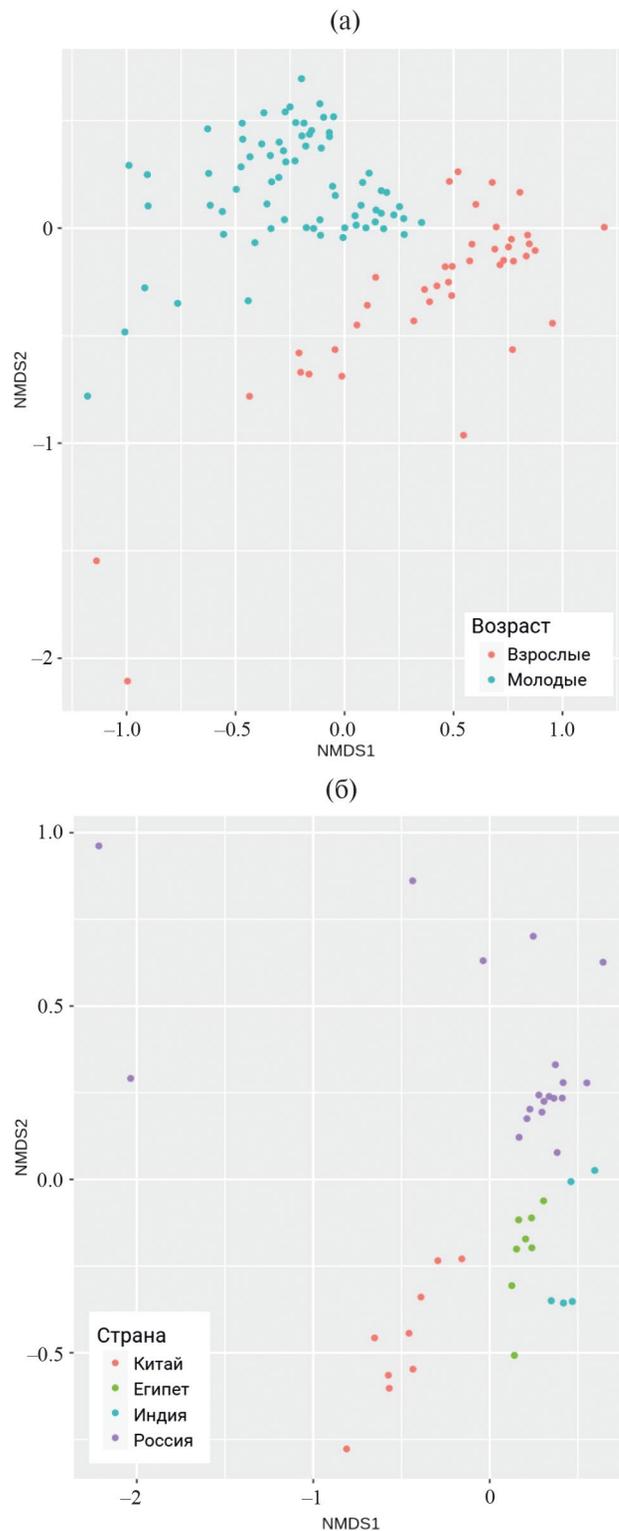
Далее для оценки дифференциальной представленности были использованы пакеты phyloseq и edgeR. Оценку статистической достоверности осуществляли квазивероятностным F-тестом, поправка на множественное тестирование проведена методом Бенджамини–Хохберга. Кластеризация выполнена посредством расчета несходства Брея–Кертиса и последующего неметрического многомерного шкалирования.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Нашей основной задачей была первичная оценка микробного разнообразия кишечника, которое возможно исследовать неинвазивными методами. Вначале было оценено общее разнообразие ( $\alpha$ -разнообразии). Первичная оценка разнообразия показала, что общее таксономическое разнообразие представителей кишечного микробиома у коз в первые месяцы жизни выше, чем у взрослых особей. Так, у взрослых коз обнаруживается в среднем 250 таксонов в образце, у молодых животных – около 400.

Исключением является группа FE-M, особи которой по исходным данным являются матерями молодых животных: у этих особей обнаруживается около 600 таксонов в среднем. Вероятно, такая изменчивость сообщества связана с общей подготовкой к выращиванию потомства и передаче ему специфичной микробиоты.

Далее было рассчитано  $\beta$ -разнообразие посредством расчета несходства Брея–Кертиса с целью оценить общее различие групп. Образцы были разделены по возрасту и стране происхождения. Визуализацию  $\beta$ -разнообразия провели путем неметрического многомерного шкалирования (рис. 1а, б). В результате мы обнаружили,



**Рис. 1.** График, визуализирующий кластеризацию образцов путем расчета несходства Брея–Кертиса и дальнейшего неметрического многомерного шкалирования. Выделены группы взрослых (красный) и молодых (бирюзовый) животных (а) и группы взрослых животных (б) происхождением из Китая (красный), Египта (зеленый), Индии (бирюзовый) и России (фиолетовый).

что образцы разделяются как по возрасту, так и по стране происхождения. Такие результаты говорят о вариабельности микробиоты кишечника не только в зависимости от возраста и ассоциированного с этим режима питания, но и от мест обитания (разведения) животных. Это позволяет в перспективе создать тест-систему, которая будет способна определить примерный возраст и страну происхождения животного по метагеномным данным, полученным из фекалий.

Мы оценили дифференциальную представленность различных родов бактерий у взрослых и молодых животных. Наиболее выраженное различие между представленными в образцах таксонами бактерий наблюдается между козами разных возрастов (рис. 2). Обнаружено 87 родов, дифференциально представленных в разных группах (табл. 1).

Причем в этом ключе самым интересным обнаружением стали такие рода, которые рас-

**Таблица 1.** Топ-30 таксонов, дифференциально представленных между группами взрослых и молодых коз

Род	LogFC	LogCPM	p (QLF test)	FDR
<i>Treponema</i>	6.92	13.1	1.32367E-40	1.35014E-38
<i>Prevotellaceae_UCG-004</i>	5.89	11.9	7.11517E-38	3.62874E-36
<i>Fournierella</i>	-7.36	14.1	1.18825E-29	2.42403E-28
<i>Parabacteroides</i>	-7.54	15.9	2.60752E-28	4.43279E-27
<i>Butyricoccus</i>	-8.62	16.6	1.39852E-26	1.58499E-25
<i>Prevotellaceae_UCG-003</i>	4.75	11.9	1.64149E-34	4.18581E-33
<i>Fibrobacter</i>	6.79	11.9	9.40117E-36	3.1964E-34
<i>Rikenellaceae_RC9_gut_group</i>	5.67	16.5	1.17617E-25	9.99742E-25
<i>dgA-11_gut_group</i>	5.52	11.3	4.56439E-28	6.65096E-27
<i>Phascolarctobacterium</i>	4.75	12.3	3.76496E-26	3.84026E-25
<i>Candidatus_Endoecteinascidia</i>	-6.95	12.7	5.95846E-25	4.34116E-24
<i>Ruminiclostridium</i>	4.42	10.9	2.7997E-27	3.56961E-26
<i>Prevotellaceae_UCG-001</i>	4.90	11.6	3.07062E-25	2.40926E-24
<i>Escherichia-Shigella</i>	-6.10	15.5	4.66677E-17	1.83081E-16
<i>Butyricimonas</i>	-5.10	11.6	1.45811E-18	7.08224E-18
<i>[Eubacterium]_ruminantium_group</i>	3.69	10.2	5.65297E-26	5.24184E-25
<i>Prevotellaceae_UCG-009</i>	3.74	12.4	1.22327E-18	6.23867E-18
<i>Lactobacillus</i>	-5.13	15.2	6.35097E-14	1.58E-13
<i>Desulfovibrio</i>	-3.94	14.6	6.51988E-18	3.02285E-17
<i>Lachnoclostridium</i>	-3.81	14.9	6.96054E-19	3.73671E-18
<i>Erysipelatoclostridium</i>	-4.00	11.4	3.35468E-17	1.42574E-16
<i>Lachnospiraceae_FCS020_group</i>	2.58	10.1	1.6687E-19	1.00122E-18
<i>Candidatus_Soleaferrea</i>	2.42	11.3	1.62234E-20	1.03424E-19
<i>Faecalicoccus</i>	-6.88	12.5	1.17841E-16	4.29278E-16
<i>Franconibacter</i>	-5.07	10.7	7.60589E-17	2.87334E-16
<i>Prevotellaceae_UCG-002</i>	2.55	12.4	4.65237E-17	1.83081E-16
<i>Serratia</i>	-4.62	11.5	5.71336E-14	1.45691E-13
<i>Saccharofermentans</i>	2.84	9.7	5.3527E-19	3.0332E-18
<i>Lachnospiraceae_AC2044_group</i>	3.77	11.7	2.78906E-21	1.89656E-20
<i>Pantoea</i>	-4.79	10.7	5.93693E-16	1.95344E-15

Примечание: LogFC – логарифм по основанию 2 изменения представленности между группами сравнения; LogCPM – логарифм по основанию 2 количества нормализованных чтений на миллион; p (QLF test) – p-значение, полученное квази-вероятностным F-тестом; FDR – коэффициент ложного обнаружения, полученный применением поправки Бенджамини–Хохберга.

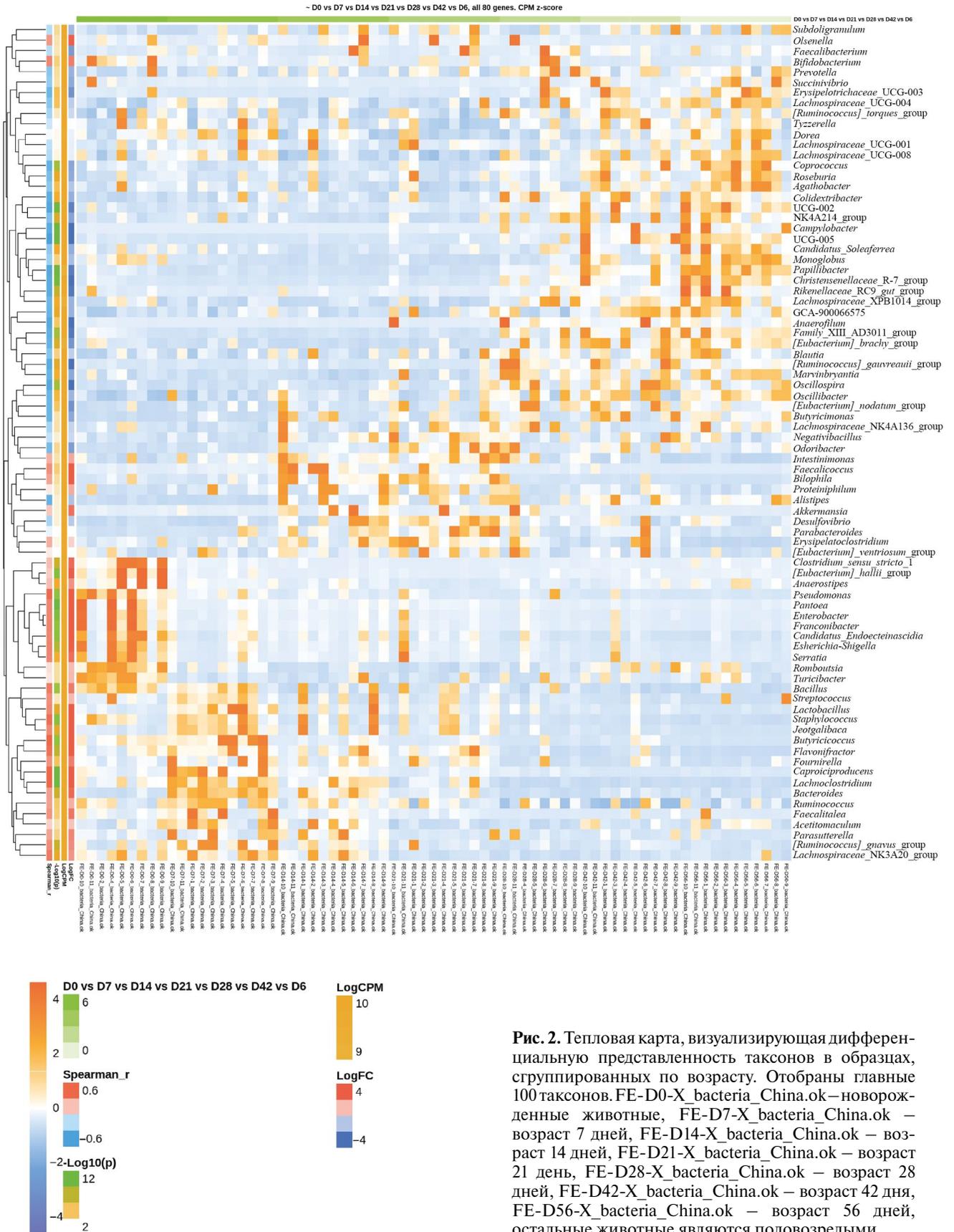


Рис. 2. Тепловая карта, визуализирующая дифференциальную представленность таксонов в образцах, сгруппированных по возрасту. Отобраны главные 100 таксонов. FE-D0-X\_bacteria\_China.ok – новорожденные животные, FE-D7-X\_bacteria\_China.ok – возраст 7 дней, FE-D14-X\_bacteria\_China.ok – возраст 14 дней, FE-D21-X\_bacteria\_China.ok – возраст 21 день, FE-D28-X\_bacteria\_China.ok – возраст 28 дней, FE-D42-X\_bacteria\_China.ok – возраст 42 дня, FE-D56-X\_bacteria\_China.ok – возраст 56 дней, остальные животные являются половозрелыми.

пространены в группе молодых животных, но практически не встречаются у взрослых, в частности *Butyricoccus*, *Parabacteroides*, *Fournierella*, *Escherichia-Shigella*, *Butyricimonas*, *Lactobacillus*. Представители этих сообществ описаны у новорожденных жвачных животных, в частности коров (Arshad et al., 2021). Стоит отметить, что их распространенность также постепенно снижается с возрастом, что напрямую связано с особенностями питания козлят на ранних этапах постнатального развития.

У взрослых животных в свою очередь происходит постепенная колонизация и замещение существенной части микробиома кишечника бактериями родов *Treponema*, *Prevotella*, *Fibrobacter*, семейств Rikenellaceae, Lachnospiraceae (рис. 2). Виды в рамках этих родов традиционно считаются симбиотическими микроорганизмами жвачных, основная роль которых – способствование перевариванию растительной пищи, разложению сложных полисахаридов до легко усваиваемых низкомолекулярных соединений, в частности короткоцепочечных жирных кислот

(Nordhoff et al., 2005; Flint et al., 2008; Graf, 2014; Seshadri et al., 2018; Arjun et al., 2023).

Далее мы оценили, какие рода вносят наиболее существенный относительный вклад в состав микробиома кишечника у взрослых коз. В целом основной состав микробиома достаточно вариабелен и собран из множества таксонов, которые в относительных числах представлены менее чем 5% от общего числа (рис. 3). Более крупные по численности рода также варьируют в зависимости от региона проживания животного. Единственный род, который встречается практически у всех животных и является одним из доминантов, – *Prevotella*, представители которого в составе нормальной микробиоты встречаются у животных, потребляющих растительную пищу (Wu et al., 2011; Ley, 2016). Кроме того, представители этого рода способны к перевариванию целлюлозы (Betancur-Murillo et al., 2023), что позволяет считать их одним из ключевых компонентов микробиома коз. У животных из России и Индии доминируют *Acinetobacter*, *Bacteroides*, *Akkermansia* и *Alistipes*. У животных

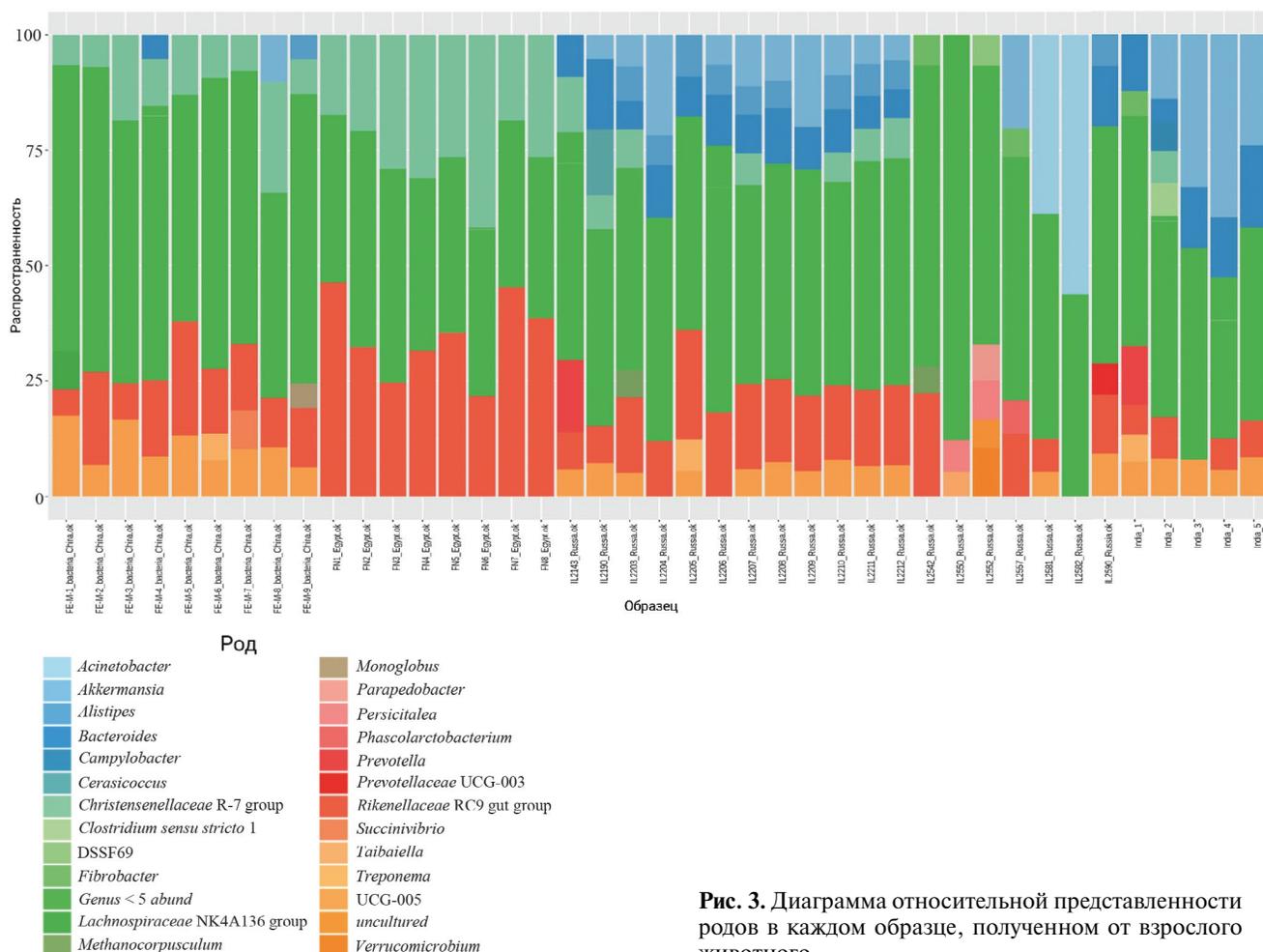


Рис. 3. Диаграмма относительной представленности родов в каждом образце, полученном от взрослого животного.

из Египта и Китая доминируют *Clostridium sensu stricto 1*.

Основной вопрос, возникающий при рассмотрении подобного результата, — это методология сбора образцов для анализа, которая не указана авторами полученных данных. В связи с этим возникают сомнения, что *Acinetobacter* может быть представителем микробиома коз, поскольку виды в составе этого рода являются облигатными аэробами и населяют почву и воду (Doughari et al., 2011). Наши сомнения подкреплены тем, что не у всех взрослых коз обнаруживаются представители данного рода, что поднимает вопрос о разработке адекватной методологии отбора образцов микробиома.

Тем не менее остальные из наиболее представленных родов бактерий — *Bacteroides*, *Akkermansia* и *Alistipes* — являются строгими анаэробами и были обнаружены ранее в составе микробиома кишечника (Parker et al., 2020; Zafar, Saier, 2021; Chiantera et al., 2023). Причем разные штаммы этих бактерий могут как способствовать здоровью организма, так и быть потенциальными возбудителями заболеваний. Однако существующие данные о вкладе этих штаммов бактерий в здоровье организма относятся к человеку, диета которого строго отличается от коз.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, мы утверждаем, что существуют выраженные различия в таксономическом разнообразии кишечной микробиоты как между новорожденными и взрослыми козами, так и между взрослыми козами разных стран. Для полноты и корректности проведения подобных исследований необходимо унифицировать метод отбора проб для проведения анализов, поскольку, по результатам нашего исследования, существует вероятность, что образцы были отобраны разными способами, а это может существенно исказить результаты экспериментов в данном направлении.

## БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы благодарят сотрудников ЦКП “Геном” ([https://www.eimb.ru/ru1/ckp/ccu\\_genome\\_c.php](https://www.eimb.ru/ru1/ckp/ccu_genome_c.php)) за поддержку в выполнении части работ.

## ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена при финансовой поддержке грантов Российского научного фонда: гранты № 24-14-00456 (анализ оптимальных методов для дальнейших потоковых исследований микробиома кишечника коз, анализ динамики заселения кишечника) и № 22-76-10053 (получение перечня таксономиче-

ских групп бактерий, потенциально способных влиять на адаптивность животных).

## КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

## СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Статья не содержит собственных исследований с участием людей и животных в качестве объектов изучения.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Arjun S., Neha P., Mohith Sai S.R., Ravi L. Microbial symbionts in ruminants // Microbial symbionts: functions and molecular interactions on host. Ch. 27 / Ed. D. Dharamadurai. N.Y.: Acad. Press, 2023. P. 493–509.
- Arshad M.A., Hassan F., Rehman M.S. et al. Gut microbiome colonization and development in neonatal ruminants: strategies, prospects, and opportunities // Anim. Nutr. 2021. V. 7 (3). P. 883–895.
- Betancur-Murillo C.L., Aguilar-Marín S.B., Jovel J. Prevotella: a key player in ruminal metabolism // Microorganisms. 2023. V. 11 (1). 1.
- Chiantera V., Laganà A.S., Basciani S. et al. A critical perspective on the supplementation of *Akkermansia muciniphila*: benefits and harms // Life. 2023. V. 13 (6). 1247.
- Cholewińska P., Czyż K., Nowakowski P., Wyrostek A. The microbiome of the digestive system of ruminants — a review // Anim. Health Res. Rev. 2020. V. 21 (1). P. 3–14.
- Cholewińska P., Górniak W., Wojnarowski K. Impact of selected environmental factors on microbiome of the digestive tract of ruminants // BMC Vet. Res. 2021. V. 17 (1). 25.
- Doughari H.J., Ndakidemi P.A., Human I.S., Benade S. The ecology, biology and pathogenesis of *Acinetobacter* spp.: an overview // Microbes Environ. 2011. V. 26 (2). P. 101–112.
- Flint H.J., Bayer E.A., Rincon M.T. et al. Polysaccharide utilization by gut bacteria: potential for new insights from genomic analysis // Nat. Rev. Microbiol. 2008. V. 6 (2). P. 121–131.
- Graf J. The family Rikenellaceae // The prokaryotes: other major lineages of bacteria and the archaea / Eds E. Rosenberg et al. Berlin, Heidelberg: Springer, 2014. P. 857–859.
- Guo J., Li P., Zhang K. et al. Distinct stage changes in early-life colonization and acquisition of the gut microbiota and its correlations with volatile fatty acids in goat kids // Front. Microbiol. 2020. V. 11. P. 584742.
- Ley R.E. Prevotella in the gut: choose carefully // Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol. 2016. V. 13 (2). P. 69–70.
- Lohani M., Bhandari D. The importance of goats in the world // Profe. Agric. Work. J. 2021. V. 6 (2). 9.
- Lu C.D. The role of goats in the world: society, science, and sustainability // Small Rumin. Res. 2023. V. 227. 107056.

- McMurdie P.J., Holmes S. Phyloseq: an R package for reproducible interactive analysis and graphics of microbiome census data // PLoS One. 2013. V. 8 (4). e61217.
- Nordhoff M., Taras D., Macha M. et al. *Treponema berlinense* sp. nov. and *Treponema porcinum* sp. nov., novel spirochaetes isolated from porcine faeces // Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 2005. V. 55 (4). P. 1675–1680.
- Parker B.J., Wearsch P.A., Veloo A.C.M., Rodriguez-Palacios A. The genus *Alistipes*: gut bacteria with emerging implications to inflammation, cancer, and mental health // Front. Immunol. 2020. V. 11. P. 906.
- Quast C., Pruesse E., Yilmaz P. et al. The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools // Nucl. Acids Res. 2013. V. 41. P. D590–D596.
- Seshadri R., Leahy S.C., Attwood G.T. et al. Cultivation and sequencing of rumen microbiome members from the Hungate1000 Collection // Nat. Biotechnol. 2018. V. 36 (4). P. 359–367.
- Wessels A.G. Influence of the gut microbiome on feed intake of farm animals // Microorganisms. 2022. V. 10 (7). 1305.
- Wood D.E., Lu J., Langmead B. Improved metagenomic analysis with Kraken 2 // Gen. Biol. 2019. V. 20 (1). 257.
- Wu G.D., Chen J., Hoffmann C. et al. Linking long-term dietary patterns with gut microbial enterotypes // Science. 2011. V. 334 (6052). P. 105–108.
- Zafar H., Saier M.H.Jr. Gut *Bacteroides* species in health and disease // Gut Microbes. 2021. V. 13 (1). P. 1–20.
- Zhang H., Rehman M.U., Chang Y.-F., Zhaoxin T. Editorial: the potential role of gut microbiome in animal gut-linked diseases // Front. Microbiol. 2023. V. 14. 1179481.

## Evaluation of Gut Microbial Diversity of the Domestic Goat *Capra hircus*

V. V. Volodin<sup>a</sup>, N. S. Gladyshev<sup>a,\*</sup>, A. K. Piskunov<sup>b</sup>, Yu. A. Stolpovskiy<sup>b</sup>,  
Zh. V. Samsonova<sup>c</sup>, N. Yu. Saushkin<sup>c</sup>, A. A. Kudryavtsev<sup>d</sup>, A. V. Kudryavtseva<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Engelhardt Institute of Molecular Biology, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

<sup>b</sup> Vavilov Institute of General Genetic, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

<sup>c</sup> Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

<sup>d</sup> Razumovskiy Moscow State University of Technologies and Management  
(First Cossack University), Moscow, Russia

\*e-mail: natalyagladish@gmail.com

Domestic goats remain important as farm animals, whose health influences the quality and yield of livestock products. Animal health depends on housing conditions and nutrition, including effective digestion, which is significantly influenced by microorganisms inhabiting the pathways of the gastrointestinal tract. Ruminants, such as goats, host a unique community of bacteria, that varies depending on age and region of residence. One major challenge is identifying the normal members of the goat gut microbiome, and distinguishing these from members that may vary in goats without indicating disease. This study synthesizes available published data to address this issue.

**Keywords:** *Capra hircus*, domestic goat, gut microbiome, metagenomic studies