

Обзоры, проблемы

УДК 636.087:591.132.7:631.95

doi: 10.15389/agrobiology.2022.6.1025rus

**МЕТАНООБРАЗОВАНИЕ В РУБЦЕ И МЕТОДЫ ЕГО СНИЖЕНИЯ
С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ АЛИМЕНТАРНЫХ ФАКТОРОВ***
(обзор)

Н.В. БОГОЛЮБОВА, А.А. ЗЕЛЕНЧЕНКОВА, Н.С. КОЛЕСНИК, П.Д. ЛАХОНИН

Метан — один из важных парниковых газов, обладающий более высоким потенциалом глобального потепления, чем углекислый газ. Сельское хозяйство, особенно животноводство, считается крупнейшим сектором производства антропогенного метана. Среди домашнего скота жвачные животные являются основными источниками метана. Производство и выбросы метана жвачными животными в мире увеличиваются с увеличением численности жвачных животных, что способствует удовлетворить потребности в питательных веществах растущего населения во всем мире. В рубце жвачных преобладает гидрогенофильный сценарий метаногенеза — непрерывного процесса, осуществляемого археями, при котором метан образуется в результате реакции водорода и углекислого газа. За последние 50 лет опубликованы результаты огромного количества исследований, которые улучшили понимание сложных процессов ферментации рубца и метаногенеза у жвачных животных, а также средств, с помощью которых можно измерить и снизить выработку метана в организме жвачных (К.А. Beauchemin с соавт., 2020). Все известные стратегии по снижению образования метана в организме жвачных животных можно разделить на две группы. Первая группа объединяет стратегии управления процессом с помощью рационов и других факторов, влияющих на микрофлору рубца. Качество, способ подготовки кормов, соотношение концентрированных и грубых кормов в рационе влияют на выбросы метана. Некоторые корма могут повышать выработку пропионата или снижать выработку ацетата, уменьшая концентрацию водорода в рубце, который будет преобразован в метан. К кормовым стратегиям также относят использование модификаторов — кормовых добавок, которые прямо или косвенно ингибируют метаногенез, и осуществление биологического контроля (дефаунизация, применение препаратов бактерицинов, бактериофагов, иммунизация), направленные на снижение содержания метаногенов. Ко второй группе стратегий можно отнести повышение продуктивности животных за счет генетических и других факторов. Повышение продуктивности позволит снизить образование метана в организме на единицу продукции (мяса или молока) (М. Islam с соавт., 2019). Применение кормовых факторов различной природы (жировые добавки, органические кислоты, пробиотики, ионофоры, фитогеники) может служить стратегией для снижения метанообразования в организме жвачных (М. Wanapat с соавт., 2021; R.D. Maques с соавт., 2021; S.H. Kim с соавт., 2020). Манипуляции с питанием представляют собой упрощенный и прагматичный подход, который может обеспечить более высокую продуктивность животных и снижение уровня выбросов данного газа (M.D. Najmul с соавт., 2018). В обзоре, наряду с описанием процесса метаногенеза, обобщаются результаты современных исследований по вопросу влияния на образование метана в организме жвачных различных алиментарных факторов (структура и состав рационов, применение фитогеников — сапонинов, танинов, флавоноидов и эфирных масел). Тип рациона, качество объемистых и концентрированных кормов, их химический состав, соотношение, подготовка к скармливанию влияют на выбросы метана в организме жвачных. При этом многообещающим подходом к смягчению выделения метана служит добавление небольшого количества зерна в грубые корма и скармливание кормов высокого качества, использование корма с меньшим содержанием клетчатки и более высоким содержанием растворимых углеводов. Использование фитогеников (кормовых добавок, произведенных из различных ботанических частей растений) — дешевый и экологичный способ снижения образования парниковых газов. Это также положительно влияет на резистентность животных. В литературе представлены довольно немногочисленные работы по изучению *in vitro* эффективности применения флавоноидов и других вторичных метаболитов растений для снижения эмиссии метана. Полученные результаты вариabельны и зависят от вида фитогеника, его характеристик, рациона животных. Требуется проведение исследований *in vivo*, в том числе для установления оптимальных дозировок фитогеников, дающих положительные результаты. Актуальным и перспективным представляется комбинирование различных фитогеников. Необходим комплексный подход к снижению газообразования в организме жвачных при одновременном сохранении активности ферментации, процессов переваривания и усвоения питательных веществ кормов.

Ключевые слова: жвачные, парниковые газы, метаногенез, качество рациона, структура рациона, фитогеники, сапонины, танины, флавоноиды, эфирные масла.

Влияние выбросов парниковых газов (ПГ) на изменение климата при-

* Работа выполнена при финансовой поддержке Минобрнауки России, тема FGGN-2022-0009.

обрело масштабы глобальной и публично обсуждаемой проблемы экологии и здравоохранения как в мире, так и в России. Сельское хозяйство — один из крупнейших источников парниковых газов, при этом грамотное использование потенциала отрасли способно ограничить скорость глобального потепления повышением температуры на 2 °С к концу века (1).

Усилия глобального сообщества по предотвращению климатических изменений преимущественно сконцентрированы на сокращении выбросов углекислого газа (CO₂). При этом метан (CH₄), закись азота (N₂O) и другие парниковые газы, не содержащие CO₂ и выделяемые в процессе получения продукции растениеводства и животноводства, тоже вносят вклад в глобальное потепление. Метан (CH₄) — один из трех основных парниковых газов (ПГ), помимо двуокиси углерода (CO₂) и закиси азота (N₂O), у которого потенциал влияния на глобальное потепление в 28 раз выше, чем у двуокиси углерода (CO₂) (1-3). Сельское хозяйство из-за наращивания объемов землепользования и сокращения пространств поглощения CO₂ (леса, органические почвы) участвует в увеличении образования углекислого газа. Животноводство и особенно жвачные животные представляют собой крупнейший источник прямых выбросов; синтетические удобрения также вносят большой вклад в прямые выбросы; на животноводческие и рыбоводные фермы приходится 31 % парниковых газов (4). На сектор животноводства приходится примерно 18 % глобальных антропогенных выбросов ПГ.

Среди домашнего скота жвачные вырабатывают около 81 % парниковых газов (5) из-за массивного метаногенеза, осуществляемого микробами рубца, которые производят 90 % общего количества CH₄, выделяемого жвачными животными (6). Жвачные выделяют в год около 115 млн т CH₄, который образуется в результате ферментации, осуществляемой в рубце комплексом бактерий, архей, простейших и грибов (7). В глобальном масштабе выбросы CH₄ от молочного и мясного скотоводства составляют соответственно 30 и 35 % выбросов в животноводстве. Буйволы и мелкие жвачные вносят меньший вклад: на них приходится соответственно 8,7 и 6,7 % отраслевых выбросов (8). Коровы и другие жвачные животные — рекордсмены по выбросам метана. В их многокамерных желудках бактерии помогают переваривать пищу, синтезируя метан как побочный продукт. Он выделяется в атмосферу через отрыжку, хотя небольшая его часть вырабатывается и в кишечнике. Пищеварительная система других сельскохозяйственных животных отличается от таковой у жвачных. Куры и свиньи выделяют меньше парниковых газов, но их количество в разы больше вырабатываемого растениями ореха или горох. Рыбы, выращиваемые в пресной воде, тоже служат источником парниковых газов: экскременты и неиспользованный корм откладываются на дно прудов, где почти нет кислорода, то есть создаются условия, идеальные для появления метана.

Вредное влияние метана на состояние атмосферы подтверждается тем, что при условно принятом глобальном потенциале потепления (ГПП) углекислого газа, равном 1, у метана ГПП = 21, период полураспада метана составляет 11 лет, а продолжительность нахождения в атмосфере Земли превышает 100 лет. Из этого следует, что метан как парниковый газ не менее опасен, чем углекислый газ.

Жвачные животные могут производить от 250 до 500 л метана в сутки, а вклад крупного рогатого скота в глобальное потепление, которое может произойти в ближайшие 50-100 лет, оценивается в размере чуть менее 2 %. Несмотря на то, что выбросы на единицу животноводческой продукции уменьшились, их общемировой объем вырос из-за увеличения

популяции животных (8). Ожидается, что к 2050 году общие выбросы CH_4 от жвачных животных значительно возрастут вследствие повышения спроса на молоко и мясо с учетом роста народонаселения мира (9). Этим определяется важность проблемы снижения выбросов CH_4 в животноводстве и внимание к вопросам экологии в целом со стороны государственных структур (10).

Уменьшить образование метана в пищеварительной системе животных можно за счет использования различных кормовых добавок, антибиотиков и вакцин, а также посредством включения в рацион крупного рогатого скота высококачественных грубых кормов. Кроме того, снижение объемов и интенсивности выбросов можно обеспечить за счет применения современных методов повышения продуктивности животных. Эта стратегия весьма привлекательна, поскольку одновременно увеличивает прибыль фермерских хозяйств (11).

На выброс метана от животных влияют объемы потребляемых кормов, тип углеводов в рационе, способы подготовки кормов к скармливанию, кормовые добавки различной природы, регулирующие состояние микробных процессов. Управление этими процессами может снизить метанообразование в рубце жвачных и, как следствие, эмиссию метана в атмосферу. Изучение биохимических, микробиологических и генетических аспектов метанообразования в рубце жвачных необходимо для применения алиментарных факторов, позволяющих сокращать выбросы CH_4 в животноводстве.

В последние годы были опубликованы результаты огромного числа исследований, которые углубили понимание сложных процессов ферментации рубца и метаногенеза у жвачных животных, а также представления о средствах и способах снижения выработки метана в организме жвачных (12).

Цель настоящего обзора — обобщить современные данные о влиянии алиментарных факторов, в частности структуры и состава рационов, фитогеников различной природы (сапонинов, танинов, флавоноидов и эфирных масел), на образование метана у жвачных.

Механизмы метанообразования у жвачных животных. Микробная экосистема рубца очень стабильна и оптимизирована благодаря естественному отбору микроорганизмов, но не полностью эффективна. Одна из причин этого — потеря энергии из-за выбросов метана (13). Для животного-хозяина образование CH_4 означает потерю от 2 до 12 % общей потребляемой энергии, которая могла бы быть доступна для роста или производства продукции (14).

Углеводы служат основным источником энергии для жвачных животных. В рубце полисахариды (главным образом целлюлоза, гемицеллюлоза и крахмал) гидролизуются до глюкозы и других гексоз и пентоз. Далее моносахариды метаболизируются в летучие жирные кислоты (ЛЖК) и CO_2 . Метаболический водород высвобождается при превращениях моносахаридов в ЛЖК, восстанавливая внутриклеточные кофакторы, и для продолжения ферментации кофакторы должны повторно окисляться. Это происходит в значительной степени за счет гидрогеназной активности и образования диводорода (H_2 , то есть молекулярного водорода). Диводород не накапливается в рубце, потому что передается от консорциума бактерий, простейших и грибов, осуществляющих ферментацию, к метаногенным археям, которые используют H_2 для восстановления CO_2 и других одноуглеродных соединений до CH_4 (15, 16).

Метаногены можно разделить на три группы в зависимости от используемого субстрата: производные метана: метилотрофные, гидрогено-трофные и ацетатные (ацетокластические) (17, 18). H_2 и CO_2 служат основ-

ными субстратами метаногенов, и гидрогенотрофный метаногенез считается преобладающим путем образования CH_4 в рубце (19). Существует большое разнообразие метаногенных архей по форме (кокки, спириллы, палочки различной формы), подвижности (подвижные и неподвижные) и другим свойствам, но общие физиологические характеристики метаногенов заключаются в потребности в анаэробии и использовании энергии, образование которой сопряжено с босинтезом метана, в качестве ее единственного источника (20). Согласно метаанализу глобальных данных, 90 % метаногенов рубца принадлежат к следующим родам (21): *Methanobrevibacter* (63,2 % популяции метаногенов), *Methanomicrobium* (7,7 % популяции метаногенов), *Methanosphaera* (9,8 %), «кластер рубца С», в настоящее время называемый *Thermoplasma* (7,4 %), и *Methanobacterium* (1,2 %). Производство метана из H_2 и CO_2 снижает парциальное давление H_2 , тем самым способствуя продолжению брожения. Без удаления H_2 дальнейшее повторное окисление восстановленных кофакторов будет ингибироваться накоплением H_2 , что, как следствие, ингибирует выработку ЛЖК (16, 22). Кроме того, функциональная группа метаногенов также использует формиат (до 18 % от общего количества метана в рубце), ацетат, метанол, метиламины (моно-, ди- и три-метиламин) и спирт, но из-за биологических особенностей указанных микроорганизмов это играет небольшую роль в общем уровне образования этого газа (23). Например, *Methanosphaera stadtmanae* вырабатывает метан только за счет восстановления метанола с участием водорода, имея один из самых строгих энергетических обменов из всех метаногенных архей (21).

На образование метана расходуется максимальное количество водорода в рубце. Меньшая его часть используется для производства пропионата. Сильная положительная связь между концентрациями водорода и пропионата указывает на то, что повышенный уровень H_2 в рубце может активировать реакции, вовлекающие водород в производство пропионата (24). Пропионат (альтернативный поглотитель водорода для CH_4) служит основным предшественником глюкозы для жвачных, поэтому его уровень желателно повышать у животных с высокой потребностью в глюкогенных предшественниках (25). Восстановительный ацетогенез (образование ацетата из CO_2 и H_2) также желателен как процесс включения водорода в метаболизм, поскольку ацетат служит источником энергии и строительным блоком в синтезе длинноцепочечных жирных кислот. Тем не менее редуцирующий ацетогенез термодинамически проигрывает метаногенезу в нормальном рубце, но может быть полезным стоком водорода для усиления ферментации в рубце, ингибируемой метаногенезом. Теоретически перенаправление водорода от метаногенеза к образованию конечных продуктов ферментации, которые могут быть поглощены и использованы животным-хозяином, а также к синтезу микробной биомассы помогает не только уменьшить выбросы CH_4 , но и потенциально способно повысить продуктивность животного. Однако до сих пор этот потенциал последовательно не реализовывался (26).

Микробиота рубца играет важную роль в производстве биогенного метана. Информация о том, как наследственные факторы хозяина влияют на изменчивость микробиоты рубца и их совместное воздействие на выброс метана, ограничены. Q. Zhang с соавт. (27), используя байесовскую модель, в выборке из 750 молочных коров оценили совместный вклад генотипа хозяина и микробиоты в выброс метана хозяином. Исследование показало, что генотип хозяина и микробиота объясняют соответственно 24 и 7 % вариаций активности метаногенеза у хозяина. Кроме того, оказалось, что определенные гены хозяина были в значительной степени связаны с составом микробиоты рубца (27).

Стратегии снижения выбросов метана. По мнению разных авторов, выбросы метана у молочных коров составляют от 151 до 497 г/сут (28). Эта величина зависит от климатических условий (29), генотипа (30), направления продуктивности, возраста (31), а также качества и состава рациона (32, 33) и обеспеченности пищевых потребностей животных (34, 35). Так, у лактирующих коров образуется больше CH_4 (354 г/сут), чем у сухостойных (269 г/сут) и у телок (223 г/сут). Молочная овца выделяет 8,4 кг CH_4 на голову в год. Голштинские коровы производят больше CH_4 (299 г/сут), чем помеси (264 г/сут). Выбросы метана у телок, пасущихся на удобренных пастбищах, выше (223 г/сут), чем у их аналогов на необработываемых пастбищах (179 г/сут). У мясного скота средние выбросы CH_4 варьируются от 161 до 323 г/сут. Взрослые мясные коровы выделяют CH_4 в количестве 240-396 г/сут, овцы суффолка — 22-25 г/сут. Ежегодные выбросы CH_4 от одного зубра составляют 72 кг (28). В 10-летнем наблюдении в Новой Зеландии S.J. Rowe с соавт. (36) отмечали, что овцы с низким выбросом CH_4 имели высокий настриг шерсти, были стройнее и отличались от аналогов с высоким выбросом CH_4 жирнокислотным профилем мышечной ткани (36).

Разработка стратегий снижения выделения метана в организме жвачных в процессе ферментации представляет научный и практический интерес. Предлагаемые подходы можно разделить на несколько категорий. Так, известны стратегии, влияющие на метаногенез через факторы питания. В частности, некоторые корма способны повышать выработку пропионовой кислоты или снижать синтез ацетата, уменьшая концентрацию H_2 , который потенциально может служить источником образования метана. К кормовым стратегиям также относят использование так называемых модификаторов, изменяющих процессы в рубце, — веществ, прямо или косвенно ингибирующих метаногенез или обеспечивающих биологический контроль (дефаунизация, бактериоцины, бактериофаги и иммунизация) биоты рубца, направленный на направлены на снижение содержания метаногенов. Увеличение продуктивности животных на генетическом уровне и за счет оптимизации условий содержания для лучшего использования питательных веществ в организме, что повышает эффективности кормления и снижает выбросы газов на единицу продукта (мяса или молока). Если ежегодный надой молока останется постоянным, но он будет получен от меньшего числа коров, то общие выбросы CH_4 окажутся сниженными.

Ряд предложенных стратегий снижения выработки метана у жвачных был рассмотрен ранее, в том числе многие были пересмотрены (2, 37, 38). В вопросе стратегий специальный интерес представляют обзоры, посвященные методам измерения эмиссии метана и их применению (39-41), в том числе у молочного скота (42, 43), а также изучению метаногенов и их роли в метаногенезе (44).

Среди кормовых стратегий изменения режимов кормления представляют собой упрощенный и прагматичный подход, который может обеспечить более высокую продуктивность животных и снизить выбросы CH_4 (4). Изменение в рационах — наиболее распространенный пример такой стратегии. Среди способов управления метаногенеза с помощью факторов питания можно выделить две основные категории — улучшение качества корма и изменение его количества, потребляемого за одно кормление, а также применение кормовых добавок, которые либо непосредственно ингибируют метаногены, либо изменяют метаболические пути, приводя к уменьшению образования субстрата для синтеза метана.

1. Влияние качества кормов и структуры рационов на выделение метана у животных

Фактор	Вид животных, <i>n</i>	Метод определения метана	Влияние на процессы образования метана в организме	Ссылка
Качество корма (высокое, среднее и низкое)	12 телок (6 гол. голштинской породы и 6 гол. Шароле × Симментальская порода, 12 мес, ЖМ 310 кг)	С использованием индикаторного газа с гексафторидом серы (SF ₆)	Количество метана на 1 кг переваренного органического вещества было самым высоким на низкокачественных рационах	(32)
Возраст животных и содержание концентратов в рационе	45 телок (9, 12 и 15 мес), рационы с разным содержанием концентратов (30, 40, 50 %)	С использованием индикаторного газа с гексафторидом серы (SF ₆)	Телки в возрасте 9, 12 и 15 мес со средней массой 267,7; 342,1 и 418,6 кг произвели 105,2; 137,4 и 209,4 г СН ₄ /сут. Среднее отношение СН ₄ к валовому потреблению энергии 0,054; 0,064; 0,0667. С увеличением уровня концентратов снижалось выделение метана	(31)
Структура рациона	40 бычков Continental × British (6 мес, живая масса 252 кг)	С использованием индикаторного газа с гексафторидом серы (SF ₆)	Выработка метана в сутки при высоком содержании грубых или объемистых кормов (83,5 % силоса:11,5 % зерна) была на 42 % выше, чем при высоком содержании зерна в рационах (41,8 % силоса:41,7 % зерна)	(150)
Качество кормов (сено низкого качества + белковые добавки: 0,29 % от ЖМ ХМ или 0,41 % от ЖМ СБ)	23 помесных британских бычков (ЖМ 344 кг)	Камера для количественного определения газа открытого цикла (GreenFee emission monitoring system GEM; «C-Lock Inc.», Rapid City, SD)	Животные, получавшие ХМ, имели более высокие выбросы СН ₄ (211 г/сут), чем получавшие СБ (197 г/сут). С белковыми добавками выбросы были выше, чем в контроле (175 г/сут). Выбросы метана в процентах от потребления ВЭ были самыми низкими при потреблении животными СБ (7,66 %), промежуточными — при потреблении ХМ (8,46 %) и самыми высокими — в контроле (10,53 %)	(33)
Состав рациона, генотип животных, возраст	Рубцовая жидкость помесных коров лимузинская × швицкая (мясные) и лимузинская × голштинская (молочно-мясные)	in vitro	Первый фактор — рацион: льянное семя снизило выход метана (на 6,5 %), общую продукцию газа (на 3,6 %) и соотношение метан/общий газ (на 2,7 %) Второй фактор — генотип: меньший выход метана (на 15 %) отмечали у помесных коров лимузинская × швицкая по сравнению с помесными коровами лимузинская × голштинская Третий фактор — возраст. У мясных животных с возрастом выброс метана увеличивался, у молочно-мясных самые высокие значения были у молодых и старых животных	(30)
Качество кормов	16 ягнят получали рацион из райграса двух стадий вегетации — до цветения и на поздней стадии цветения	С использованием индикаторного газа с гексафторидом серы (SF ₆)	Разницы между рационами в выбросах метана не наблюдалось	(48)

Качество корма и состав рациона	9 телок (ЖМ 329 кг) зебу Брахман получали один из трех рационов: сено ХК, сено НК и сено низкого качества + патока + мочевина (НК + Д)	С использованием индикаторного газа с гексафторидом серы (SF ₆)	Эмиссия метана (г/сут) была одинакова в группах НК (110,4) и НК + Д (125,8) и ниже, чем в группе ХК (181,5). Значения СН ₄ /кг потребленного СВ были максимальны в группе НК (31,0) и НК + Д (29,8) и меньше при рационе ХК (23,0) (снижение эмиссии на 30 % по сравнению с группой НК)	(45)
Качество кормов	Естественные травяные пастбища и сорго, естественные травяные пастбища и люцерна	С использованием индикаторного газа с гексафторидом серы (SF ₆)	Эмиссия метана была меньше у коров, пасущихся на сорго, чем у пасущихся на естественных травяных пастбищах; у коров на естественных пастбищах и получавших сено люцерны выделение метана было одинаковым. Рационы низкого качества увеличивают выход метана	(49)
Качество кормов и уровень потребления	56 лактирующих молочных коров голштино-фризской породы, рацион из травяного силоса, кукурузного силоса и комбикорма (70:10:20). Животные разделены на 2 группы: с высоким (96-е сут лактации) и низким (217-е сут лактации) потреблением СВ	Камера для количественного определения газа открытого цикла	Общее количество выделенного метана в сутки не различалось между группами. Относительные выбросы метана (12,8±0,56 г/кг молока) были меньше (на 12 %) при высоком потреблении корма и более высоких надоях молока. Выделение метана увеличивалось с ухудшением качества травы, независимо от уровня потребления	(35)
Качество кормов (культурные и естественные пастбища)	11 лактирующих коров швицкой породы	С использованием индикаторного газа с гексафторидом серы (SF ₆)	При выпасе коров на культурных пастбищах выбросы метана на единицу как потребленного, так и переваренного ОВ были ниже, чем при выпасе на естественных пастбищах	(50)
Качество рациона	12 помесных (Ху × Хан) сухостойных овцематок (в возрасте 3 года, ЖМ 32 кг) получали кукурузную солому, люцерну и концентраты в соотношениях 60:0:40, 60:15:25 или 60:30:10	Респираторная камера открытого цикла	Увеличение доли люцерны в рационе снижало выделение метана в сутки, в том числе по отношению к потребленным СВ и ОВ	(54)
Качество кормов	Различные системы выпаса, заключались в изменении плотности животных на 1 га (1 корова/га и 2,5 коровы/га), в связи с этим менялось качество травостоя	Метод газового индикатора гексафторида серы (SF ₆)	Выбросы метана на единицу потребления ВЭ (4,6 %) была невысокой для пасущихся животных	(46)

Продолжение таблицы 1

Уровень кормления	290-302 гол. (420 кг) и 1105-1251 гол. (430 кг) мясного скота, кормление вволю/ограниченный рацион	Автоматические системы отбора проб	В структуре выбросов СН ₄ с откормочной площадки в течение суток при кормлении вволю наблюдали один пик, при ограниченном кормлении — несколько пиков. Общие выбросы не изменялись	(34)
Питательность рациона и климатические условия	30 сухостойных симментальских коров и мясные коровы Гельбфи (663 кг ЖМ)	С использованием индикаторного газа с гексафторидом серы (SF ₆)	При использовании белковых добавок в кормах с низким содержанием белка и при длительном воздействии холода выбросы СН ₄ снижаются	(29)
Состав рациона	8 лактирующих коров голштино-фризской породы, рационы на основе силоса или силос + сено	Респирационная камера открытого цикла	У коров, которые получали рацион на основе силоса и сена, суточные выбросы метана были больше. Не отмечали различий в выбросах метана в расчете на 1 кг потребленного СВ или на 1 кг молока	(52)
Состав рациона	16 лактирующих коров	Респирационная камера	Добавление обработанных семян масличных культур как источников жирных кислот снижало выработку метана в среднем на 13 %	(62)
Уровень потребления и качество силоса из райграса	56 лактирующих коров голштино-фризской породы	Респирационная камера открытого цикла	Улучшение качества травяного силоса за счет заготовки корма на более ранней стадии роста растений значительно снижает кишечные выбросы СН ₄ независимо от ПСВ	(35)

Примечание. ЖМ — живая масса, СВ — сухое вещество, ХМ — хлопковая мука, СБ — сухая барда, ХК — хорошее качество, НК — низкое качество, Д — добавки, ВЭ — валовая энергия, ОВ — органическое вещество, ПСВ — потребление сухого вещества.

Качество кормов. Изучению влияния качества кормов и структуры рационов на выработку метана у жвачных уделяется значительное внимание (табл. 1). Скорость образования метана в рубце зависит от состава рациона, типа углеводов (целлюлоза или крахмал), белков и липидов — компонентов, оказывающих наибольшее влияние на метаногенез (21, 35), а также от физиологических факторов, таких как как время пищеварения в рубце.

Известно, что качество корма влияет на образование CH_4 в рубце (32, 45). Высококачественный корм (например, молодые растения) может снизить выработку CH_4 за счет изменения метаболического пути, поскольку этот корм содержит больше легко ферментируемых углеводов и меньше нейтрально-детергентной клетчатки (НДК), что повышает усвояемость и увеличивает скорость прохождения корма через желудочно-кишечный тракт (46). Сообщалось, что при скармливании кукурузного силоса линейно снижался выход CH_4 (21,7; 23,0; 21,0 и 20,1 г/кг СВ) и выбросы CH_4 в виде доли от общего потребления энергии (6,3; 6,7; 6,3 и 6,0 %) при использовании растений более поздних стадий зрелости (47). Однако другие авторы не отмечали различий в выбросах метана при изменении стадии созревания травы, использованной для заготовки сена (48). Выделение метана в процессе ферментации различается при выпасе жвачных на естественных и искусственных пастбищах (49, 50), а также зависит от качества травостоя (46). Разные виды кормов также могут неодинаково влиять на выбросы CH_4 из-за различий в химическом составе (51). Так, при замене волокнистого концентрата крахмалистым концентратом производство метана снизилось на 22 %, а при использовании так называемого защищенного крахмала — на 17 %. Выработка метана была ниже в случае бобовых по сравнению со злаковыми кормами (на 28 %) и в случае силоса по сравнению с сеном (на 20 %) (51, 52). Бобовые корма дают меньший выход CH_4 , что объясняется наличием конденсированных дубильных веществ, низким содержанием клетчатки, высоким потреблением сухого вещества и высокой скоростью прохождения (53). Увеличение потребления люцерны в качестве замены концентрата может значительно снизить выбросы CH_4 (54).

Обработка и хранение кормов также влияют на выбросы CH_4 (55, 56). Например, измельчение или гранулирование может снизить выбросы CH_4 в расчете на 1 кг потребленного сухого вещества, поскольку из-за малого размера частиц их разложение в рубце ускоряется. Метаногенез, как правило, ниже при скармливании силосованных кормов (52) (предположительно потому, что силосованные корма уже частично ферментированы в процессе силосования). Авторы еще одного исследования (35) показали, что выбросы кишечного CH_4 от молочных коров при разных уровнях потребления корма зависят от питательной ценности и химического состава травяного силоса. Корм на основе молодых растений с меньшим содержанием клетчатки и повышенным — растворимых углеводов обладает улучшенным качеством, также благоприятный результат дает добавление небольшого количества зерна в фураж.

Образование метана в рубце жвачных также зависит от количества и состава концентратов в рационе (54). Благодаря меньшему количеству клеточных стенок и легко ферментируемым углеводам (крахмалу и сахару) концентраты способствуют выработке пропионовой кислоты, уменьшая выброс CH_4 (55). Отмечалось, что снижение выброса CH_4 происходило при добавлении концентратов в рационы в количестве 80 и 90 %, тогда как при их

доле, равной 35 или 60 %, эффекта не наблюдали (57). Повышение доли концентратов в рационе жвачных нельзя считать удачной стратегией снижения выработки метана, поскольку рационы с высоким содержанием концентратов содержат мало структурных волокон и в долгосрочной перспективе нарушают функцию рубца, приводя к подострому или острому ацидозу. Вероятно, необходим подбор оптимальных соотношений грубых кормов и концентратов в структуре рациона.

Состав концентратов также влияет на образование газов в рубце, поскольку разные ингредиенты имеют неодинаковый углеводный состав. Среди неструктурных компонентов сахар более метаногенен, чем крахмал. Все углеводные фракции вносят вклад в образование CH_4 , из них наименьший у крахмала (вероятно, из-за образования ЛЖК с преобладанием пропионата). Большое количество крахмала в корме снижает потери энергии через кишечник по сравнению с рационами, в которых преобладают грубые корма (58). Ферментация крахмала способствует выработке пропионата в рубце за счет создания альтернативного стока H_2 (59), более низкого рН рубца, ингибирования роста метаногенов, уменьшения количества простейших в рубце и ограничения межвидового переноса H_2 между метаногенами и простейшими. Кроме того, скармливание крахмала, который может избежать ферментации в рубце, потенциально снабжает животных-хозяев энергией, при этом метаногенез в рубце подавляется. До 30 % крахмала кукурузы может не подвергнуться ферментации в рубце и перевариться в тонком кишечнике (60). Сведения о влиянии защищенного крахмала на снижение выбросов метана пока очень ограничены, что требует дальнейшего изучения проблемы. Сахар, наоборот, быстро и полностью разлагается в рубце, увеличивая выработку бутирата за счет пропионата, тем самым делая сахарные концентраты более метаногенными по сравнению с крахмалом (61). Сахара усиливают выработку масляной кислоты при более высоком парциальном давлении H_2 и более высоком рН рубца, что было подтверждено I.K. Hindrichsen и M. Kreuzer (61), которые сообщили о повышении продукции CH_4 на 40 % при использовании сахарозы (по сравнению с крахмалом) при высоком рН рубцового содержимого, в то время как при низком рН — продукция метана снижалась.

Восполнение дефицита протеина белковыми добавками (29) и добавление обработанных семян масличных культур (как источников жирных кислот) (62) в рационы может значительно снизить выбросы CH_4 .

Таким образом, тип рациона жвачных, качество объемистых и концентрированных кормов и их химический состав, соотношение грубых и концентрированных кормов, предварительная подготовка кормов влияют на выбросы метана в атмосферу. Как многообещающий подход к снижению эмиссии метана рассматривается добавление небольшого количества зерна в фураж и скармливание кормов высокого качества, использование корма с меньшим содержанием клетчатки и более высоким содержанием растворимых углеводов.

Кормовые добавки, влияющие на выработку метана. *Жировые добавки* (63). Механизм подавления метаногенеза жиром индуцируется за счет снижения ферментации органических веществ, усвояемости клетчатки, а также за счет прямого ингибирования метаногенов в рубце (64). Данные по образованию метана в организме жвачных при использовании жировых добавок достаточно противоречивы. Например, дополнительное вклю-

чение льняного масла в рацион крупного рогатого скота способствовало увеличению видового разнообразия микробиоты рубца, численности бактерий филума *Bacteroidetes* (64,2 %), а также достоверному повышению представителей домена архей рубца, участвующих в метаногенезе (65).

Органические кислоты. Вероятно, органические кислоты стимулируют выработку пропионовой кислоты в рубце, действуя как поглотители водорода, тем самым уменьшая количество выделяемого CH_4 (66). Малат, акрилат, оксалоацетат и фумарат — промежуточные продукты ферментации углеводов, преобразуемые в пропионат или используемые в анаболизме для синтеза аминокислот или других молекул. Они могут вступать в реакцию с водородом, что уменьшает его количество, доступное для образования метана (21). Добавки с органическими кислотами в основном тестировались по влиянию на синтез метана *in vitro*, что дало противоречивые результаты. Использование органических кислот в рационах для снижения образования газов *in vivo* требует дальнейшего изучения. Кроме того, использование органических кислот может быть ограничено риском закисления рубца, провоцирующего ацидозы у животных.

Ионофоры. Ионофоры, которые могут изменять движение катионов (в частности, кальция, калия, натрия) через клеточные мембраны, классифицируются как антибиотики и синтезируются почвенными микроорганизмами. Среди ионофоров чаще всего для снижения выбросов метана используются монензин и лазалоцид. Механизм их влияния на метаногенез связан с воздействием на количество простейших и бактерий в рубце. Ионофоры действуют как антимикробные средства, способные нарушать градиент концентрации ионов кальция, калия, водорода и натрия через определенные микробные мембраны, иницируя неэффективный ионный цикл и обеспечивая конкурентное преимущество для одних микроорганизмов за счет других. Эти соединения предпочтительно подавляют рост грамположительных бактерий, которые производят лактат, ацетат, бутират, формиат и водород в качестве конечных продуктов, чем снижается доступность водорода для метаногенов (67). Несмотря на то, что ионофоры могут снижать выработку метана, они, по-видимому, также ухудшают потребление сухого вещества как у молочных коров, так и у мясных бычков (68). Также было показано, что эффект ионофоров со временем ослабевает из-за адаптации простейших и развития резистентности у сукцинат- и пропионатопродуцирующих бактерий (21). Временный эффект ионофоров и усиливающееся общественное давление с целью сокращения использования противомикробных кормовых добавок в сельскохозяйственном производстве ограничивают возможности для долгосрочного решения проблемы выбросов CH_4 с помощью ионофоров.

Пробиотики. В основе влияния пробиотиков на образование газов в рубце может лежать, во-первых, увеличение числа бактерий из-за разделения деградированных углеводов между микробными клетками и ферментированными продуктами, во-вторых, сдвиг процессов утилизации водорода от метаногенеза к восстановительному ацетогенезу. Гомоацетогенные бактерии производят ацетат из CO_2 и H_2 и играют важную роль в повторном использовании ферментативного водорода в толстом кишечнике у моногастричных. Например, совместное скармливание экстракта моринги и живой культуры дрожжей (*Saccharomyces cerevisiae*) в экспериментах *in vitro*, выполненных с использованием рубцового содержимого коз, способствовало снижению продукции метана (69).

S. H. Kim с соавт. (70) указывают на то, что большинство пробиотиков снижают выработку CH_4 , влияя на активность микроорганизмов рубца без неблагоприятного воздействия на животных. Кроме того, пробиотики усиливают ферментацию в рубце (70). В других исследованиях показано, что влияние пробиотиков на газообмен зависит от их состава. Так, результаты *in vitro* у жвачных животных показали, что обычные и инкапсулированные пробиотики из группы молочнокислых бактерий снижали выработку метана соответственно на 6,1 и 33,1 % по сравнению с контролем. При этом авторы отмечали увеличение общего газообразования на 15,7 и 23,3 % при использовании тех же пробиотиков (71). В работе G. Guo и соавт. (72) молочнокислые бактерии способствовали не только сокращению выброса CH_4 на единицу выхода ЛЖК, но и улучшали качество ферментации и усвояемость клетчатки силоса. Отмечено снижение образования метана в рубце молочных коров при использовании в рационе смеси пропионовых и лактобактерий при высоком содержании крахмала и клетчатки в рационах (73). Однако механизм ингибирования синтеза метана молочнокислыми бактериями на до сих пор до конца не исследован, поэтому в будущем необходимо дополнительное изучение их влияния на микроорганизмы. В работе на телках голштинской породы использование в рационе денитрифицирующей бактерии рубца *Paenibacillus 79R4* (79R4) способствовало снижению образования метана в рубце при внутримышечном введении нитрата и уменьшению токсичности нитритов (отмечалось снижение концентрации метгемоглобина в плазме крови) (74). Кормовые добавки, содержащие в своем составе *B. licheniformis*, эффективно снижали выбросы метана у овец *in vivo* с сопутствующим улучшением использования энергии и белка (75).

Суммируя, отметим, что исследования эффективности использования пробиотиков для снижения эмиссии метана и других газов противоречивы, а эксперименты *in vivo* немногочисленны. Из-за доступности и широкого применения пробиотиков в животноводстве представляет интерес изучение их эффективности и поиска лучших продуктов и их комплексов для снижения образования метана.

Фитогеники. Термин фитогенные кормовые добавки или фитогеники был введен в 1980-е годы компанией «Delacon Biotechnik GmbH» (Австрия) и объединяет широкую группу природных веществ, получаемых из трав, специй и их экстрактов, к примеру эфирных масел, сапонинов, танинов, флавоноидов. Подобные добавки содержат множество активно действующих компонентов. Помимо улучшения вкусовых качеств и, как следствие, увеличения привлекательности корма, они повышают ферментативную активность в желудочно-кишечном тракте животных, усвояемость питательных веществ, проявляют антиоксидантные свойства, улучшают состояние слизистой желудка и репродуктивную функцию (76).

На этой части нашего обзора хотелось бы остановиться более подробно. В таблице 2 представлены результаты исследований *in vivo* по использованию сапонинов, танинов, флавоноидов и эфирных масел с целью снижения выделения метана в организме жвачных животных.

Вторичные продукты фитобиоценозов. Вторичные метаболиты растений долгое время считались токсичными для животных и назывались антипитательными факторами (77, 78). Тем не менее в последние несколько десятилетий интерес к этим компонентам в кормлении животных растет благодаря их эффекту в борьбе с паразитами, влиянию на ферментацию рубца и синтез метана (79).

2. Эксперименты in vivo по изучению влияния сапонинов, танинов, флавоноидов и эфирных масел на выделение метана у жвачных животных

Фактор	Вид животных, порода	Рацион животных	Влияние на процессы образования метана в организме	Ссылка
Конденсированные танины из <i>Lotus pedunculatus</i>	Овцы в возрасте 3-4 года и коровы фризской породы на завершающей стадии лактации	Пастбище на основе райграса, затем люцерны и затем <i>Lotus pedunculatus</i>	Снижение эмиссии метана на количество ПСВ	(96)
Экстракт танина (гидролизуемые дубильные вещества; экстракт древесины <i>Castanea sativa</i>) и сапонины (сарсапонин; экстракт <i>Yucca schidigera</i>)	Ягнята	Сено:концентраты (1:1) и дополнительно пшеничный крахмал; добавляли дубильные вещества (1 и 2 г/кг СВ или 2 и 30 мг/кг СВ)	Эмиссия метана увеличивалась при низкой дозе танина по сравнению с контролем без добавок	(119)
Концентрированный таннинсодержащий корм (<i>Sericea lespedeza</i>)	24 самки ангорских коз (ЖМ 41,5 кг)	Пастбище с <i>Sericea lespedeza</i> и овсяницей тростниковой	Снижение эмиссии метана на 30 % (г/сут) и на 50 % (г/кг ПСВ)	(97)
Экстракт <i>Acacia mearnsii</i>	Овцы (75 г СВ фуража на 1 кг метаболической массы тела)	Частичная замена райграса (<i>Lolium perenne</i>) или красным клевером (<i>Trifolium pratense</i>) или люцерной (<i>Medicago sativa</i>) с добавлением 0 или 41 г экстракта <i>Acacia mearnsii</i> с содержанием 0,615 г/г КТ на 1 кг СВ	Снижение эмиссии метана на 15, 13 и 11 % (кДж/МДж ВЭ)	(98)
Конденсированные танины из растения <i>Lespedeza striata</i>	24 годовалых помесных козленка пород бурская × испанская (7/8 бурской породы)	Сорго суданское + 33; 67 и 100 г танинов	Снижение абсолютного выделения метана на 32,8; 47,3 и 58,4 %	(99)
Листва двух богатых танинами кустарниковых бобовых <i>Calliandra calothyrsus</i>	6 ягнят швейцарской породы Уайт Хилл	Замена 1/3 или 2/3 высококачественного травянистого бобового корма кустарниковыми бобовыми <i>Calliandra calothyrsus</i>	Снижение эмиссии метана на 24 % в сутки в расчете на единицу корма и энергии	(100)
Танины, извлеченные из коры черного акации (<i>Acacia mearnsii</i> , КТ 60,3 %)	60 лактирующих коров	Пастбище с райграсом, дробленое зерно триitikале (5 кг/сут), танин (163 и 326 г/сут со снижением до 244 г/сут к 17-м сут)	Снижение эмиссии метана на 14 и 29 % в соответствии с дозой (около 10 и 22 % ПСВ)	(102)

Мякоть семян тыквы (<i>Terminalia chebula</i>), головки чеснока (<i>Allium sativum</i>) и их смесь Экстракт <i>Yucca schidigera</i> (YS)	16 овец (возраст 22 мес, ЖМ 29,96±1,69 кг) Овцы на откорме	Корм:концентрат (50:50) + фитодобавки (1 % СВ рациона, отдельно или в смеси) Травяной силос:концентрат (70:30) + 120 мг экстракта YS/кг СВ	Снижение эмиссии метана до 24 % к переваренному СВ и потребленному СВ Снижение эмиссии метана в расчете на массу тела	(103) (104)
Экстракта танина <i>Acacia mearnsii</i>	12 молочных коров голштинской породы	Пастбищная трава просо + 6 кг концентратов + 120 г танинового экстракта	Снижение эмиссии метана на 32 %	(146)
Танины каштана или танины каштана + танины квербахо	75 помесных бычков (ЖМ 292±4,1 кг)	Люцерна:ячмень (50:50) + танины каштана (0,25 % СВ) или танины каштана (0,125 или 0,75 % СВ) + танины квербахо (0,125 или 0,75 % СВ)	Снижения эмиссии метана не наблюдали	(80)
Сапонины чая отдельно и в сочетании с соевым маслом	32 ягненка-отъемыша Хучжоу (возраст 50 сут, ЖМ 14,2±1,38 кг)	60 % китайской дикой ржи (<i>Aneurolepidium chinese</i> Kitagawa) и 40 % смеси концентратов + сапонины 3 г/сут (или сапонины 3 г/сут + соевое масло 3 % ПСВ)	Суточная продукция метана снижалась соответственно на 27,7 и 18,9 %	(117)
Сапонины чая	12 овец Ху (возраст 7 мес, ЖМ 21,5±1,80 кг)	600 г/кг китайской дикой ржи и 400 г/кг смеси концентратов, 3 г/сут сапонинов чая	Снижение продукции СН ₄ в рубце, эффект сходен с таковым от дефаунизации	(118)
Конденсированный танин дубильных видов акаций	Овцы бапеди (возраст 1 год, ЖМ 25±1,6 кг)	80 % травяного сена и 20 % концентратов, очищенный конденсированный танин (0, 30, 40, 50 г/кг СВ)	Снижение выделения метана на 51-60 %	(81)
Конденсированные танины и сапонины, полученные из измельченных стручков <i>Enterolobium cyclocarpum</i> (Jacq.) Griseb., смешанные с листвой <i>Gliricidia sepium</i> (Jacq.) Steud.	4 помесные телки (<i>Bos taurus</i> × <i>Bos indicus</i>) (возраст 12 мес, ЖМ 218±18 кг)	79,9 % сена <i>Brachiaria brizantha</i> (Hochst. ex A. Rich.) и 20,1 % сбалансированной смеси на основе соевого шрота, отрубей, тростниковой патоки и минералов, 15, 30 и 45 % СВ на основе сухих и измельченных листьев <i>G. sepium</i> и стручков <i>E. cyclocarpum</i> в равных пропорциях	Выделение метана снизилось в 0,16 раза (в расчете на ПСП)	(120)
Высушенные листья <i>Leucaena leucocephala</i> (DLL)	4 помесные телки (<i>Bos taurus</i> × <i>Bos indicus</i>) (ЖМ 310±9,6 кг)	Сено и концентраты + высушенные листья <i>Leucaena leucocephala</i> (DLL) (0, 12, 24 и 36 % СВ)	Сокращение образования метана (в среднем на 25 % (на 1 кг ПП)	(121)
Левкаена (<i>Leucaena leucocephala</i> (Lam.) De Wit (<i>leucaena</i>) сорта Cunningham в свежем виде	8 телок породы Люцерна (возраст 19±3 мес, ЖМ 218±18 кг)	100 % звездчатки <i>Cynodon plectostachyus</i> K. Schum) и 76 % звездчатки с 24 % левкаены <i>Leucaena leucocephala</i> (Lam.) De Wit (<i>leucaena</i>) сорта Cunningham в свежем виде	Не наблюдали увеличения эмиссии метана при повышении продуктивности, что снижало выбросы метана на 1 кг продукции	(122)

Мука из стручков <i>Samanea saman</i>	4 помесных нетелей (<i>Bos taurus</i> × <i>B. indicus</i>) (ЖМ 261,5±1,29 кг)	Измельченные корма из зеленой травы, соевая мука, пшеничные отруби и патока из сахарного тростника, минеральные вещества с добавлением молотых стручков <i>S. saman</i> составляли 0, 10, 20 и 30 % СВ	При дозировке молотых стручков <i>S. saman</i> 30 % СВ выбросы метана на одно животное сократились на 50,9 % (в абсолютных единицах) и на 56,9 % (в расчете на 1 кг ПСВ)	(82)
Дубильные вещества из тропических бобовых трав <i>Desmanthus leptophyllus</i> и <i>D. bicornutus</i>	14 бычков мясной породы Droughtmaster (возраст 12 мес, ЖМ 296±5 кг)	Сено родосской травы (<i>Chloris gayana</i>) с добавлением десмантуса в свежем виде (0, 15, 31 и 22 % СВ)	Линейное снижение эмиссии метана без снижения потребления СВ	(147)
Экстракты листьев шелковицы и ресвератрол из <i>Polygonum cuspidatum</i>	10 помесных овцематок-первоокоток (Dogreg × Nan, ЖМ 60,0±1,73 кг)	Основной рацион без добавок, с добавлением флавоноидов из листьев шелковицы (2 г/сут на овцу) и с добавлением ресвератрола (0,25 г/сут на овцу)	Снижение образования СН ₄ на 10,64 % в расчете на 1 кг ПСВ	(142)
Смесь эфирных масел, содержащих масло семян кориандра, эвгенол и геранилацетат	4 коровы голштинской породы (ЖМ 603±70 кг, СВ) 296-е сут лактации и 4 мясные телки бельгийской голубой породы (ЖМ 484±111 кг)	Молочный скот — травяной силос (460 г/кг СВ), кукурузный силос (370 г/кг СВ) и соевый шрот (50 г/кг СВ), концентраты, 0,2 г/сут смеси эфирных масел (120 г/кг СВ); мясной скот — кукурузный силос вволю и докорм концентратами, 0,2 г/сут эфирных масел	После 6 нед приема добавок у молочного скота выбросы СН ₄ снизились (г/сут) на 15 %, в расчете на потребленное СВ — на 14 % (p = 0,07), у мясного скота эти показатели имели тенденцию к увеличению на 10 и 11 %, в расчете на массу тела — к снижению на 20 %	(143)
Смесь масел семян кориандра, геранилацетат и эвгенол	149 коров голштино-фризской породы ранней лактации	Кормосмесь из травы, цельнозерновой пшеницы, кукурузного силоса, 1 г смеси эфирных масел с питьевой водой	Снижение образования метана с 438 до 411 г/сут	(144)
Смесь эфирных масел (0,17 г/кг СВ), лауриновая кислота (65 г/кг СВ), смесь эфирных масел вместе с лауриновой кислотой	8 коров (ЖМ 610±59 кг)	Кормосмесь из 40 % кукурузного силоса, 30 % травяного силоса и 30 % концентратов	Снижение эмиссии метана в большей степени было выражено при использовании смеси добавок	(148)
Смесь фитогенных добавок из высушенных и измельченных листьев <i>Populus deltoides</i> и <i>Eucalyptus citriodora</i> (50:50 по массе)	12 лактирующих буйволиц Мурра (<i>Bubalus bubalis</i>) (ЖМ 510,50 ± 32,12 кг) на ранней стадии лактации	Измельченные молодые растения сорго, пшеничная солома и смеси концентратов с фитогенными добавками (15 г/кг СВ)	Снижение концентрации метана в выдыхаемом воздухе на 37,3 %	(148)

Примечание. ЖМ — живая масса, СВ — сухое вещество, ПСВ — потребленное сухое вещество, ВЭ — валовая энергия, ПСП — переваренный сырой протеин, ПП — переваримый протеин, ВЭ — валовая энергия.

Сапонины и танины. Недавно было признано потенциальное влияние вторичных метаболитов растений (ВМР) на снижение образования метана. Эффект подавления выделения этого газа за счет ВМР связан в основном с антимикробными свойствами ВМР (80). Растения производят множество вторичных соединений, среди которых большое внимание уделялось конденсированным дубильным веществам (81, 82) и сапонидам (83). Три основных растительных соединения, эффективных для снижения выбросов метана *in vitro*, — это конденсированные дубильные вещества, сапонины и эфирные масла (84).

Танины — природные полифенольные биомолекулы, которые содержатся в коре, древесине, плодах, листьях, цветах и корнях большинства видов растений. Танины относятся к подклассу растительных полифенолов (78). В нескольких исследованиях оценивалась взаимосвязь между рационами, богатыми танинами, и образованием CH_4 в организме жвачных как *in vivo*, так и *in vitro* (62, 85-87). Танины в зависимости от химической структуры можно разделить на гидролизуемые и конденсированные (88, 89). Следует отметить, что конденсированные танины более изучены в отношении эффекта, оказываемого на продукцию метана, чем гидролизуемые танины. Танины обладают способностью снижать синтез метана в рубце прямо или косвенно — посредством ингибирования роста соответственно метаногенов или популяции простейших (78), что подтверждено в исследованиях *in vitro* (90, 91).

Существует несколько возможных гипотез, объясняющих механизмы действия дубильных веществ на снижение образования метана в организме животного (89). Одна из них предполагает прямое влияние конденсированных танинов на метаногенные археи рубца за счет связывания белкового адгезина или частей клеточной оболочки, что нарушает формирование метаноген-протозойного комплекса, снижает межвидовой перенос водорода и ингибирует рост метаногена. Высокая молекулярная масса и полифенольная природа дубильных веществ приводят к образованию комплексов с микробными ферментами или клеточными стенками. Проявляемая активность может вызывать ингибирование целлюлозолитических или протеолитических бактерий или метаногенов (92). Механизм действия дубильных веществ строго зависит от их химической структуры, а также от вида бактерий (78). Другим возможным объяснением служит не прямое ингибирование за счет уменьшения доступности питательных веществ (углеводов, аминокислот) для микроорганизмов рубца и образования таннин-белковых комплексов в рубце (93), что снижает усвояемость корма и нарушает структуру микробиоты рубца. Последняя теория предполагает, что конденсированные танины сами действуют как поглотители водорода, уменьшая его доступность для восстановления углекислого газа до метана (89). Было установлено, что конденсированные танины сильнее связываются с питательными веществами, чем гидролизованные танины, в основном из-за более высокой степени полимеризации, что затрудняет их деградацию в рубце (91). В другой работе эти же авторы отмечают, что, наоборот, гидролизованные танины обладали большей способностью к осаждению белка, что связано с повышенной биологической активностью и более высокой способностью подавлять образование метана по сравнению с конденсированными танинами (91).

В исследовании *in vivo* на фистульных овцах изучали непосредственное ингибирование некоторых грамположительных специализированных фибролитических бактерий рубца (*Fibrobacter succinogenes*, *Ruminococcus albus*, *Ruminococcus flavefaciens*, *Butyrivivrio proteoclasticus*) конденсированными

танинами (94). G.C. Waghorn и S.L. Woodward (95) сообщают, что конденсированные танины лотоса снижают выработку метана в расчете на потребляемое сухое вещество) примерно на 15 % у овец и у молочных коров. Подобный эффект был отмечен и в других исследованиях (96). При скормлении козам леспедезы многолетней *Lespedeza cuneata*, содержащей конденсированные танины, обнаружили снижение продукции метан на 57 % в пересчете на 1 кг потребленного сухого вещества по сравнению с отмеченной у коз, которых кормили смесью *Digitaria ischaetum* и *Festuca arundinacea* (97). Было обнаружено, что у овец, поедающих акацию чернотольную *Acacia mearnsii* с содержанием танина 41 г/кг сухого вещества, метаногенез снижается на 13 % (98). Снижение метаногенеза при использовании танинов из растения *Lespedeza striata* в рационе коз отмечали G. Animut с соавт. (99). Содержащие танин *Callinada calothyrsus* и *Fleminga macrophylla* уменьшали образование метана у ягнят на 24 % (100), но экстракт конденсированного танина из *Schinopsis quebrachocolorado* (62) и содержащий танин силос сорго (101), скормливаемые крупному рогатому скоту, не подавляли метаногенез. Снижение метаногенеза в экспериментах *in vivo* на коровах и овцах при использовании танина из разных источников отмечали в ряде исследований (102-104).

Сапонины — природные детергенты, химически определяемые как высокомолекулярные гликозиды, в которых сахара связаны с тритерпеновой или стероидной агликоновой частью. Являясь вторичными метаболитами растений, сапонины обладают способностью модулировать ферментацию в рубце при одновременном снижении образования метана и концентрации аммиака (105). Сапонины воздействуют в основном на популяцию простейших (106-108), нарушая у них целостность клеточной мембраны (109, 110). Симбиоз простейших с метаногенными бактериями в рубце хорошо известен, и было высказано предположение, что селективное подавление простейших может оказаться многообещающим подходом к снижению продукции метана. Растения, богатые сапонинами, обладают потенциалом для увеличения потока микробного белка из рубца, повышения эффективности использования корма и снижения метаногенеза.

R. Wallace с соавт. (111) предположили, что сапонины могут разрушать клетки простейших, образуя комплексы со стеролами на поверхности мембраны, которые затем разрушаются и распадаются. Кроме того, некоторые сапонины влияют на различные типы мембранных белков, например на белки Ca^{2+} каналов и Na^{+}/K^{+} АТФазу (112). E. Ramos-Morales с соавт. (113) предположили, что действие сапонинов на простейших носит временный характер из-за того, что бактерии могут расщеплять сапонины до сапогенинов — соединений, которые не могут воздействовать на простейших.

Было показано, что сапонины *in vitro* ингибируют простейших, а также ограничивают доступность водорода для метаногенеза (114). Исследование *in vitro* показало, что жидкие экстракты *Yucca schidigera* и *Quillaja saponaria*, добавленные в количестве от 2 до 6 мл/л рубцовой жидкости, уменьшают количество простейших в рубце и потенциально могут изменять содержания аммиака, концентрацию пропионата и соотношение ацетата и пропионата. В том же исследовании эффект *Y. schidigera* проявлялся в снижении скорости и образования и объема метана в зависимости от дозы соответственно на 42 и 32 %, тогда как у *Q. saponaria* эффект ингибирования метаногенеза не проявлялся (115).

В исследовании *in vivo* экстракт *Y. schidigera* в составе рациона (в количестве 120 мг) способствовал снижению образования метана у откармливаемых овец (104). В исследовании L. Holtshausen с соавт. (116) коровы

получали порошок цельного растения *Y. schidigera* (10 г/кг сухого вещества) или порошок цельного растения *Q. saponaria* (10 г/кг сухого вещества), оба порошка содержат сапонин. Авторы заявили, что предыдущие исследования *in vitro* выявили снижение продукции метана при более высокой дозе сапонинов (15 г/кг сухого вещества и более), но этих значений избежали *in vivo*, чтобы свести к минимуму влияние на усвояемость корма (114). В естественных условиях эффект растительной добавки не обнаружили, и авторы пришли к выводу, что снижение содержания метана *in vitro*, вероятно, было связано с уменьшением переваримости и ферментации корма (116). Сапонины чая отдельно или в сочетании с жировыми добавками способствовали снижению выделения метана у овец *in vivo* (117, 118).

Эффективными в отношении выбросов метана оказались сочетания танинов и сапонинов в рационах жвачных (119, 120). В ряде других экспериментов *in vivo* на жвачных животных также отмечали снижение выделения метана у животных при включении в рацион сапонинов и танинов (121-123).

Флавоноиды и эфирные масла. Флавоноиды представляют собой полифенолы со скелетом C₆-C₃-C₆, которые содержатся в семенах и овощах и проявляют противовоспалительные, антиоксидантные и антимикробные свойства (124). Флавоноиды обладают высокой биологической активностью, ослабляя или предупреждая клеточные повреждения, вызываемые свободными радикалами (125). Флавоноиды воздействуют на грамположительные микроорганизмы, угнетая функции цитоплазматической мембраны, ингибируя синтез клеточной стенки бактерий или нуклеиновых кислот. Показано, что флавоноиды, включаемые в рацион жвачных, способствовали повышению продуктивности за счет увеличения продукции пропионата по сравнению с ацетатом (126). Оценивалось влияние различных флавоноидов (флавона, мирицетина, нарингина, катехина, рутина, кверцетина и кемпферола) в концентрации 4,5 % от СВ на микробную активность рубца *in vitro* (127). Результаты показали, что все флавоноиды, кроме нарингина и кверцетина, снижали способность микробиоты к деградации сухого вещества. Выработка газов уменьшалась под действием флавона, мирицетина и кемпферола, тогда как нарингин, рутин и кверцетин заметно увеличивали его продукцию. Флавоноиды достоверно подавляли выработку метана. Общая концентрация ЛЖК уменьшалась в присутствии флавона, мирицетина и кемпферола. Все флавоноиды, кроме нарингина и кверцетина, значительно снижали активность карбоксиметилцеллюлазы, целлюлазы, ксиланазы и β-глюкозидазы, содержание пуринов и микробный синтез белка. Под действием флавонов, мирицетина, катехина, рутина и кемпферола микробиальная популяция рубца сокращалась. Рост популяции простейших и метаногенов подавляли нарингин и кверцетин. Результаты этого исследования показали, что нарингин и кверцетин в концентрации 4,5 % СВ потенциально подходят для подавления продукции метана без какого-либо негативного влияния на микробную ферментацию в рубце.

Коммерческий цитрусовый экстракт смеси флавоноидов снижал выработку метана, численность гидрогенотрофных метаногенных архей, при этом увеличивал концентрацию пропионата и популяцию *Megasphaera elsdenii* *in vitro* (128). У коров голштинской породы при добавлении в рацион экстракта флавоноидов люцерны (60 мг/кг массы тела) возрастало соотношение валериановой кислоты и общего количества ЛЖК в рубце, улучшался состав молока и переваримость питательных веществ, отмечалась тенденция к росту рубцовой популяции *Butyrivibrio fibrisolvens* (129). В эксперименте *in vitro* было обнаружено, что флавоноид лютеолин-7-глюкозид

восстанавливает метан (130). Судя по имеющимся данным, флавоноиды обладают способностью снижать выбросы метана, но необходимы дальнейшие исследования, проводимых *in vivo*.

В экспериментах *in vitro* было изучено влияние сочетания порошка чеснока и экстракта горького апельсина на выработку метана, ферментацию рубца и усвояемость корма при различных структурах рационов (соотношения грубых кормов в виде трав к концентратам) (131). Результаты показали сильное подавление продукции метана во всех вариантах: для рациона, состоящего только из травы, эффективность добавки составила 44,0 %, при дополнении рациона концентратами в соотношении 20:80 — 69,2 %. Применение флавоноидов значительно увеличивало концентрацию аммиачного азота и снижало рН, усвояемость органического вещества и клетчатки при этом не уменьшалась. При использовании этих факторов питания, независимо от рационов, наблюдалось изменение ферментации в рубце с образованием меньшего количества ацетата и большего количества пропионата и бутирата при повышении общего количества ЛЖК.

Известен способ снижения концентрации метана в рубце жвачных за счет использования лекарственных растений — травы полыни (10,0 г/кг СВ рациона), корневищ и корней девясила (6,0 г/кг СВ рациона) (132). Также предлагалось перорально вводить кормовую композицию, содержащую флаваноны из цитрусового растения. Авторы использовали композиции с разным сочетанием компонентов — неогесперидина, понцирина, нарингина (133).

Эфирные масла — летучие вторичные метаболиты растительного происхождения с очень сильными антимикробными свойствами, которые подавляют рост и жизнеспособность большинства микроорганизмов в рубце (134). Механизм действия эфирных масел варьируется в зависимости от их вида (135). Все эфирные масла содержат химические компоненты (терпеноиды, фенолы и фенолы) и функциональные группы, которые обладают сильными антимикробными свойствами. Из-за липофильной природы эфирные масла обладают высоким сродством к микробным клеточным мембранам (136). При применении эфирного масла метаногенез в рубце снижается, особенно за счет сокращения микробных популяций. Тем не менее механизмы влияния эфирных масел на процессы ферментации в рубце жвачных требуют более углубленного изучения.

Влияние вторичных метаболитов растений на метанообразование изучалось *in vitro* (137). Сравнивались девять концентраций следующих метаболитов: 8-гидроксихинолин, α -терпинеол, камфора, борнилацетат, α -пинен, тимохинон и тимол. Все соединения продемонстрировали способность изменять ферментацию в рубце и снижать продукцию CH_4 . Минимальные концентрации, снижающие выработку CH_4 , были следующими: 8-гидроксихинолин — 8 мг/л, тимохинон — 120 мг/л, тимол — 240 мг/л, смесь α -терпинеол + камфора + борнилацетат + α -пинен — 480 мг/л. Эти эффекты авторы связывают с изменением структуры бактериального сообщества рубца (137). Как показало ионное полупроводниковое секвенирование, влияние вторичных метаболитов растений в наибольшей степени проявилось в преобладании относительной численности семейств *Lachnospiraceae*, *Succinivibrionaceae*, *Prevotellaceae*, неклассифицированных *Clostridiales* и *Ruminococcaceae*. Продукция CH_4 отрицательно коррелировала с относительной численностью *Succinivibrionaceae* и положительно — с относительной численностью *Ruminococcaceae*.

В других экспериментах, также выполненных *in vitro*, изучали влияние экстракта маклеи сердцевидной (*Macleaya cordata*) в шести концентрациях (0,01; 0,11; 0,21; 0,31; 0,41 и 0,51 %) при инкубации в течение 12 и 24 ч на образование метана (138). Оно снижалось в зависимости от дозы экстракта маклеи после 3, 6, 9 и 12 ч инкубации, но увеличивалось через 24 ч. Добавление 0,11 % экстракта *M. cordata* эффективно уменьшало выработку метана, не влияя на переваривание СВ *in vitro*.

Результаты исследований D. Petrić с соавт. (139) *in vitro* показывают, что субстрат, содержащий смесь лекарственных растений (полынь, ромашка, фумитория и мальва), обладал сильной антиоксидантной способностью в содержимом рубца и имел потенциал для снижения содержания выработки метана. Тимол в дозировке 200 мг/л при инкубации в рубцовом содержимом в течение 24 ч способствовал снижению образования метана, что авторы связывают с изменениями в количественном составе бактерий, архей и простейших (140).

Использование смеси эфирных масел, биофлавоноидов и дубильных веществ в рационах животных значительно сократило общее выделение газов, что отмечали для метана в эксперименте *in vitro* через 16, 20 и 24 ч инкубации. Кроме того, в рубце наблюдали снижение концентрации уксусной кислоты и повышение — пропионовой через 16 и 24 ч. Группа животных, получавших смесь, показала повышение надоев молока и потребления СВ при сохранении качества молока (141).

В целом следует подчеркнуть, что число работ по изучению влияния флавоноидов и других вторичных метаболитов растений на образование метана *in vivo* очень ограничено. В дополнение к приведенным выше примерам можно отметить работы по оценке эффективности подавления метанообразования в рубце крупного рогатого скота смесью эфирных масел, включенных в рационы (142-146). Другие эксперименты *in vivo* касались изучения выделения газов у овец и буйволов в процессе ферментации при использовании в рационах смеси фитогенных добавок (147, 148). Таким образом, число исследований *in vivo*, посвященных использованию флавоноидов и других вторичных метаболитов растений для снижения эмиссии метана, весьма ограничено. Полученные результаты вариабельны и зависят от типа метаболита, его характеристик и рациона животных. Кроме продолжения исследований по оценке потенциала фитогеников для практики животноводства, необходимы долгосрочные наблюдения в связи с возможной адаптацией микроорганизмов рубца к биоактивному метаболиту, а также выявление различий между его эффектами *in vitro* и *in vivo*. Перспективным направлением снижения эмиссии метана в атмосферу представляется комплексное использование различных фитогеников в рационах животных.

Подводя итоги, отметим несколько важных, по нашему мнению, аспектов. Хотя усилиями генетиков, селекционеров, специалистов по кормлению животных выбросы метана на единицу животноводческой продукции существенно снижены, растущие потребности в продуктах питания требуют дальнейшего снижения как интенсивности выбросов на единицу продукции, так и абсолютных выбросов от одного животного. Однако имеющиеся данные об эффективности различных стратегий по снижению эмиссии метана в организме жвачных животных разных видов противоречивы (149). Современные методы позволяют более точно оценивать образование парниковых газов в организме животных, но остаются дорогостоящими и технически сложными, поэтому их применение в основном ограничено областью

научных исследований. Разработка биомаркеров образования метана находится на относительно ранней стадии и должна в дальнейшем стать приоритетным направлением. Также требуется дополнительное изучение пробиотиков, фитогеников, других кормовых факторов и их комплексов как потенциальных средств снижения эмиссии метана с учетом структуры рационов, дозировки, вида животных и других факторов. Кроме того, важно понимать, что исследователи пока что не обладают достаточной информацией о влиянии стратегий сокращения выбросов метана в атмосферу на продуктивность, здоровье животных, состояние антиоксидантой и гормональной систем, структуру микробиома рубца.

Итак, за последние 50 лет выполнено значительное число исследований, углубивших понимание сложных процессов ферментации и метаногенеза в рубце у жвачных животных и позволивших составить представление о средствах, с помощью которых можно снизить образование метана. Однако устойчивые стратегии решения проблемы все еще не приняты. Как показывают результаты исследований, применение кормовых факторов различной природы (ионофоры, пробиотики, вторичные метаболиты растений) может служить дешевой и экологичной стратегией снижения метанообразования в организме жвачных при положительном влиянии на резистентность животных. Актуальным и перспективным подходом представляется сочетание различных фитогеников. В многочисленных исследованиях *in vitro* эффективность уменьшения выбросов метана зависит от многих факторов. Поэтому необходим комплексный подход к снижению газообразования в организме жвачных при одновременном сохранении состояния ферментативных процессов, переваримости и усвоения питательных веществ кормов рационов.

ФГБНУ Федеральный исследовательский центр
животноводства — ВИЖ им. академика Л.К. Эрнста,
142132 Россия, Московская обл., г.о. Подольск, пос. Дубровицы, 60,
e-mail: 652202@mail.ru ✉, aly4383@mail.ru, kominisiko@mail.ru,
lakhonin.99@mail.ru

Поступила в редакцию
5 октября 2022 года

Sel'skokhozyaistvennaya biologiya [Agricultural Biology], 2022, V. 57, № 6, pp. 1025-1054

RUMEN METHANE PRODUCTION AND ITS REDUCTION USING NUTRITIONAL FACTORS (review)

N.V. Bogolyubova✉, *A.A. Zelenchenkova*, *N.S. Kolesnik*, *P.D. Lakhonin*

Ernst Federal Research Center for Animal Husbandry, 60, pos. Dubrovitsy, Podolsk District, Moscow Province, 142132 Russia, e-mail 652202@mail.ru (✉ corresponding author), aly4383@mail.ru, kominisiko@mail.ru, lakhonin.99@mail.ru

ORCID:

Bogolyubova N.V. orcid.org/0000-0002-0520-7022

Kolesnik N.S. orcid.org/0000-0002-4267-5300

Zelenchenkova A.A. orcid.org/0000-0001-8862-3648

Lakhonin P.D. orcid.org/0000-0002-7354-0337

The authors declare no conflict of interests

Acknowledgements:

Supported financially by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (FGGN-2022-0009).

Received October 5, 2022

doi: 10.15389/agrobiol.2022.6.1025eng

Abstract

Methane is a powerful greenhouse gas with a higher global warming potential than carbon dioxide. Agriculture, especially animal husbandry, is considered the largest sector of anthropogenic methane production. Of farm animals, ruminants are the main producers of methane. Its world production and emissions are increasing due to abundant population of ruminants. The hydrogenotrophic

scenario of methanogenesis from hydrogen and carbon dioxide, carried out by ruminal archaea, prevails. Over the past 50 years, numerous research papers have substantially improved our understanding of rumen fermentation and methanogenesis to develop strategies for assessing and reducing methane emission (K.A. Beauchemin et al., 2020). One of the proposed strategies is dietary intervention, i.e. improved diets and the use of nutritional factors that affect the ruminal microbiota. The quality, feed preparation, the ratio of concentrated and roughage feeds affect methane emissions. Some feeds may increase propionate production or decrease acetate production by reducing the level of ruminal hydrogen converted to methane. Another strategy is the use of modifiers, the feed additives that directly or indirectly inhibit methanogenesis, and biocontrol manipulation using defaunization agents, bacteriocins, bacteriophages, and immunization aimed at reducing the counts of methanogens. The strategy may be also based on genetically or technologically improved productivity performance. With higher productivity, the relative methane emission per unit of meat or dairy product is reduced (M. Islam et al., 2019). Fat additives, organic acids, probiotics, ionophores, phytochemicals can serve as strategies to reduce methane formation in ruminants (M. Wanapat et al., 2021; R.D. Marques et al., 2021; S.H. Kim et al., 2020). Feeding manipulation is a simplistic and pragmatic approach to improve animal productivity with a reduced CH₄ emission (M.D. Najmul et al., 2018). In the review, along with a description of methanogenesis, we also summarized modern research data on the influence of various alimentary factors (i.e., special diets, phytochemical saponins, tannins, flavonoids and essential oils) on CH₄ emission. The type of diet, the quality of bulky and concentrated feeds, their chemical composition, ratio, pre-feeding preparation affect methane emission in ruminants. However, a promising approach to mitigate methane emissions is adding a small amount of grain to roughage and feeding high quality forages with less fiber and higher levels of soluble carbohydrates. Phytochemicals made from various botanical parts of plants is a cheap and environmentally friendly agents to reduce greenhouse gas emissions. Phytochemicals also positively affect animal resistance. There are few studies on the in vitro efficacy of flavonoids and other secondary plant metabolites as agents for reducing methane emissions. The data obtained are variable and depend on the type of herbal preparations, their characteristics and the diet fed to the animals. Further in vivo studies should establish the optimal dosages of phytochemicals that provide a positive effect. The combination of various phytochemicals seems to be relevant and promising. An integrated approach should provide high fragmentation activity, effective digestion and assimilation of feed nutrients.

Keywords: ruminants, greenhouse gases, methanogenesis, diet quality, diet composition, phytochemicals, saponins, tannins, flavonoids, essential oils.

REFERENCES

1. Pachauri R.K., Allen M.R., Barros V.R., Broome J., Cramer W., Christ R., Church J.A., Clarke L., Dahe Q., Dasgupta P., Dubash N.K., Edenhofer O., Elgizouli I., Field C.B., Forster P., Friedlingstein P., Fuglestvedt J., Gomez-Echeverri L., Hallegatte S., Hegerl G., Howden M., Jiang K., Jimenez Cisneros B., Kattsov V., Lee H., Mach K.J., Marotzke J., Mastrandrea M.D., Meyer L., Minx J., Mulugetta Y., O'Brien K., Oppenheimer M., Pereira J.J., Pichs-Madruga R., Plattner G.-K., Purner H.-O., Power S.B., Preston B., Ravindranath N.H., Reisinger A., Riahi K., Rusticucci M., Scholes R., Seyboth K., Sokona Y., Stavins R., Stocker T.F., Tschakert P., van Vuuren D., van Ypersele J.-P. *Climate change 2014: synthesis report. Contribution of working groups I, II and III to the fifth assessment report of the intergovernmental panel on climate change* /R. Pachauri, L. Meyer (eds). Geneva, Switzerland, IPCC, 2014.
2. Islam M., Lee S.S. Advanced estimation and mitigation strategies: a cumulative approach to enteric methane abatement from ruminants. *Journal of Animal Science and Technology*, 2019, 61(3): 122-137 (doi: 10.5187/jast.2019.61.3.122).
3. Skytt T., Nielsen S.N., Jonsson, B.G. Global warming potential and absolute global temperature change potential from carbon dioxide and methane fluxes as indicators of regional sustainability – a case study of Jämtland, Sweden. *Ecological Indicators*, 2020, 110: 105831 (doi: 10.1016/j.ecolind.2019.105831).
4. Haque M.N. Dietary manipulation: a sustainable way to mitigate methane emissions from ruminants. *Journal of Animal Science and Technology*, 2018, 60(1): 15 (doi: 10.1186/s40781-018-0175-7).
5. Hristov A.N., Oh J., Lee C., Meinen R., Montes F., Ott T., Firkins J., Rotz A., Dell C., Adesogan A., Yang W., Tricarico J., Kebreab E., Waghorn G., Dijkstra J., Oosting S. *Mitigation of greenhouse gas emissions in livestock production. A review of options for non-CO₂ emissions. FAO Animal Production and Health Paper No.177*. P.J. Gerber, B. Henderson, H.P.S. Makkar (eds.). FAO, Rome, 2013.
6. McAllister T.A., Meale S.J., Valle E., Guan L.L., Zhou M., Kelly W.J., Henderson G., Attwood G.T., Janssen P.H. Ruminant nutrition symposium: use of genomics and transcriptomics to identify strategies to lower ruminal methanogenesis. *Journal of Animal Science*, 2015, 93(4): 1431-1449 (doi: 10.2527/jas.2014-8329).
7. Sandoval-Pelcastre A.A., Ramirez-Mella M., Rodríguez-Ávila N.L., Candelaria-Martínez B.

- Árboles y arbustos tropicales con potencial para disminuir la producción de metano en ruminantes. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 2020, 23(33): 1-16.
8. Opio C., Gerber P., Mottet A., Falcucci A., Tempio G., MacLeod M., Vellinga T., Henderson B., Steinfeld H. *Greenhouse gas emissions from ruminant supply chains — a global life cycle assessment*. FAO, Rome, 2013.
 9. Gerber P.J., Steinfeld H., Henderson B., Mottet A., Opio C., Dijkman J., Falcucci A., Tempio G. *Tackling climate change through livestock — a global assessment of emissions and mitigation opportunities*. FAO, Rome, 2013.
 10. Ukaz Prezidenta RF ot 4 noyabrya 2020 g. № 666 «O sokrashchenii vybrosov parnikovyykh gazov» [Decree of the President of the Russian Federation of November 4, 2020 No. 666 «On the reduction of greenhouse gas emissions»]. Available: <https://www.garant.ru/products/ipo/prime/doc/74756623>. Accessed: 22.08.2022 (in Russ.).
 11. Petrunina I.V., Gorbunova N.A. *Pishchevye sistemy*, 2022, 5(3): 202-211 (doi: 10.21323/2618-9771-2022-5-3-202-211) (in Russ.).
 12. Beauchemin K.A., Ungerfeld E.M., Eckard R.J., Wang M. Review: Fifty years of research on rumen methanogenesis: lessons learned and future challenges for mitigation. *Animal*, 2020, 14(S1): 2-6 (doi: 10.1017/S1751731119003100).
 13. Calabrò S. Plant secondary metabolites. In: *Rumen microbiology: from evolution to revolution*. A.K. Puniya, R. Singh, D.N. Kamra (eds.). Springer, New Delhi, India, 2015: 153-189 (doi: 10.1007/978-81-322-2401-3_11).
 14. Rooke J.A., Wallace R.J., Duthie C.A., McKain N., de Souza S.M., Hyslop J.J., Ross D.W., Waterhouse T., Roehe R. Hydrogen and methane emissions from beef cattle and their rumen microbial community vary with diet, time after feeding and genotype. *British Journal of Nutrition*, 2014, 112(3): 398-407 (doi: 10.1017/S0007114514000932).
 15. Cammack K.M., Austin K.J., Lamberson W.R., Conant G.C., Cunningham H.C. Tiny but mighty: the role of the rumen microbes in livestock production. *Journal of Animal Science*, 2018, 96(2): 752-770 (doi: 10.1093/jas/skx053).
 16. Stewart R.D., Auffret M.D., Warr A., Wiser A.H., Press M.O., Langford K.W., Liachko I., Snelling T.J., Dewhurst R.J., Walker A.W., Roehe R., Watson M. Assembly of 913 microbial genomes from metagenomic sequencing of the cow rumen. *Nature Communications*, 2018, 9: 870 (doi: 10.1038/s41467-018-03317-6).
 17. De la Fuente G., Yáñez-Ruiz D.R., Seradj A.R., Balcells J., Belanche A. Methanogenesis in animals with foregut and hindgut fermentation: a review. *Animal Production Science*, 2019, 59(12): 2109-2122 (doi: 10.1071/AN17701).
 18. Poulsen M., Schwab C., Borg Jensen B., Engberg R.M., Spang A., Canibe N., Huujsberg O., Milinovich G., Fragner L., Schleper C., Weckwerth W., Lund P., Schramm A., Urlich T. Methylophilic methanogenic thermoplasmata implicated in reduced methane emissions from bovine rumen. *Nature Communications*, 2013, 4(1): 1428 (doi: 10.1038/ncomms2432).
 19. Solden L.M., Naas A.E., Roux S., Daly R.A., Collins W.B., Nicora C.D., Purvine S.O., Hoyt D.W., Schückel J., Jørgensen B., Willats W., Spalinger D.E., Firkins J.L., Lipton M.S., Sullivan M.B., Pope P.B., Wrighton K.C. Interspecies cross-feeding orchestrates carbon degradation in the rumen ecosystem. *Nature Microbiology*, 2018, 3(11): 1274-1284 (doi: 10.1038/s41564-018-0225-4).
 20. Wolin M., Millert L.C., Stewart S. Microbe-microbe interactions. In: *The rumen microbial ecosystem*. P.N. Hobson, S. Stewart (eds.). Springer, Dordrecht, 1997: 467-491 (doi: 10.1007/978-94-009-1453-7_11).
 21. Patra A., Park T., Kim M., Yu Z. Rumen methanogens and mitigation of methane emission by anti-methanogenic compounds and substances. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 2017, 8(1): 13 (doi: 10.1186/s40104-017-0145-9).
 22. Van Lingen H.J., Plugge C.M., Fadel J.G., Kebreab E., Bannink A., Dijkstra J. Thermodynamic driving force of hydrogen on rumen microbial metabolism: a theoretical investigation. *PLoS ONE*, 2016, 11(10): e0161362 (doi: 10.1371/journal.pone.0161362).
 23. Huws S.A., Creevey C.J., Oyama L.B., Mizrahi I., Denman S.E., Popova M., Mucoz-Tamayo R., Forano E., Waters S.M., Hess M., Tapio I., Smidt H., Krizsan S.J., Yáñez-Ruiz D.R., Belanche A., Guan L., Gruninger R.J., McAllister T.A., Newbold C.J., Roehe R., Dewhurst R.J., Snelling T.J., Watson M., Suen G., Hart E.H., Kingston-Smith A.H., Scollan N.D., do Prado R.M., Pilau E.J., Mantovani H.C., Attwood G.T., Edwards J.E., McEwan N.R., Morrison S., Mayorga O.L., Elliott C., Morgavi D.P. Addressing global ruminant agricultural challenges through understanding the rumen microbiome: past, present, and future. *Frontiers in Microbiology*, 2018, 9: 2161 (doi: 10.3389/fmicb.2018.02161).
 24. Wang M., Wang R., Xie T.Y., Janssen P.H., Sun X.Z., Beauchemin K.A., Tan Z.L., Gao M. Shifts in rumen fermentation and microbiota are associated with dissolved ruminal hydrogen concentrations in lactating dairy cows fed different types of carbohydrates. *Journal of Nutrition*, 2016, 146(9): 1714-1721 (doi: 10.3945/jn.116.232462).
 25. Cantalapiedra-Hijar G., Abo-Ismael M., Carstens G.E., Guan L.L., Hegarty R., Kenny D.A., McGee M., Plastow G., Relling A., Ortigues-Marty I. Biological determinants of between-animal

- variation in feed efficiency of growing beef cattle: Review. *Animal*, 2018, 12(s2): s321-s335 (doi: 10.1017/S1751731118001489).
26. Ungerfeld E.M. Inhibition of rumen methanogenesis and ruminant productivity: a meta-analysis. *Frontiers in Veterinary Science*, 2018, 5: 113 (doi: 10.3389/fvets.2018.00113).
 27. Zhang Q., Difford G., Sahana G., Lovendahl P., Lassen J., Lund M.S., Gulbrandsen B., Janss L. Bayesian modeling reveals host genetics associated with rumen microbiota jointly influence methane emission in dairy cows. *The ISME Journal*, 2020, 14(8): 2019-2033 (doi: 10.1038/s41396-020-0663-x).
 28. Broucek J. Production of methane emissions from ruminant husbandry: a review. *Journal of Environmental Protection*, 2014, 5(15): 1482-1493 (doi: 10.4236/jep.2014.515141).
 29. Bernier J.N., Undi M., Plaizier J.C., Wittenberg K.M., Donohoe G.R., Ominski K.H. Impact of prolonged cold exposure on dry matter intake and enteric methane emissions of beef cows overwintered on low-quality forage diets with and without supplemented wheat and corn dried distillers' grain with solubles. *Canadian Journal of Animal Science*, 2012, 92(4): 493-500 (doi: 10.4141/cjas2012-040).
 30. Wang S., Pisarcikova J., Kreuzer M., Schwarm A. Utility of an in vitro test with rumen fluid from slaughtered cattle for capturing variation in methane emission potential between cattle types and with age. *Canadian Journal of Animal Science*, 2017, 98(1): 61-72 (doi: 10.1139/cjas-2016-0238).
 31. Dong L., Li B., Diao Q. Effects of dietary forage proportion on feed intake, growth performance, nutrient digestibility, and enteric methane emissions of Holstein heifers at various growth stages. *Animals*, 2019, 9(10): 725 (doi: 10.3390/ani9100725).
 32. Boadi D.A., Wittenberg K.M. Methane production from dairy and beef heifers fed forages differing in nutrient density using the Sulphur hexafluoride (sf6) tracer gas technique. *Canadian Journal of Animal Science*, 2002, 82(2): 201-206 (doi: 10.4141/A01-017).
 33. Shreck A.L., Zeltwanger J.M., Bailey E.A., Jennings J.S., Meyer B.E., Cole N.A. Effects of protein supplementation to steers consuming low-quality forages on greenhouse gas emissions. *Journal of Animal Science*, 2021, 99(7): skab147 (doi: 10.1093/jas/skab147).
 34. Li Z., Liao W., Yang Y., Gao Z., Ma W., Wang D., Cai Z. CH₄ and N₂O emissions from China's beef feedlots with ad libitum and restricted feeding in fall and spring seasons. *Environmental Research*, 2015, 138: 391-400 (doi: 10.1016/j.envres.2015.02.0).
 35. Warner D., Bannink A., Hatew B., Van Laar H., Dijkstra J. Effects of grass silage quality and level of feed intake on enteric methane production in lactating dairy cows. *Journal of Animal Science*, 2017, 95(8): 3687-3699 (doi: 10.2527/jas.2017.1459).
 36. Rowe S.J., Hickey S.M., Jonker A., Hess M.K., Janssen P., Johnson T., Bryson B., Knowler K., Pinares-Patino C., Bain W., Elmes S., Young E., Wing J., Waller E., Pickering N., McEwan J.C. Selection for divergent methane yield in New Zealand sheep — a ten-year perspective. *Proc. of the 23rd Conf. of the association for the advancement of animal breeding and genetics (AAABG)*. Armidale, New South Wales, Australia, 2019: 306-309.
 37. Korotkiy V.P., Zaytsev V.V., Buryakov N.P., Kuchin A.V., Ryzhov V.A., Turubanov A.I. *Sposob snizheniya metanogeneza u krupnogo rogatogo skota. CI 2777053 (RF), A 61 K 38/00. OOO Nauchno-tehnicheskij tsentr «Khiminvest» (RF), № 2021137457. Zayav. 16.12.2021. Opubl. 01.08.2022* [Method for reducing methanogenesis in cattle. CI 2777053 (RF), A 61 K 38/00. LLC Scientific and Technical Center Khiminvest (RF), № 2021137457. Appl. 12.16.2021. Publ. 08.01.2022] (in Russ.).
 38. De Mulder T., Peiren N., Vandaele L., Ruttink T., De Campeneere S., Van de Wiele T., Goossens K. Impact of breed on the rumen microbial community composition and methane emission of Holstein Friesian and Belgian Blue heifers. *Livestock Science*, 2018, 207: 38-44 (doi: 10.1016/j.livsci.2017.11.009).
 39. Hristov A.N., Kebreab E., Niu M., Oh J., Bannink A., Bayat A.R., Boland T.M., Brito A.F., Casper D.P., Crompton L.A., Dijkstra J., Eugène M., Garnsworthy P.C., Haque N., Hellwing A.L.F., Huhtanen P., Kreuzer M., Kuhla B., Lund P., Madsen J., Martin C., Moate P.J., Muetzel S., Mucoz C., Peiren N., Powell J.M., Reynolds C.K., Schwarm A., Shingfield K.J., Storlien T.M., Weisbjerg M.R., Yáñez-Ruiz D.R., Yu Z. Symposium review: uncertainties in enteric methane inventories, measurement techniques, and prediction models. *Journal of Dairy Science*, 2018, 101(7): 6655-6674 (doi: 10.3168/jds.2017-13536).
 40. Huhtanen P., Cabezas-García E.H., Utsumi S., Zimmerman S. Comparison of methods to determine methane emissions from dairy cows in farm conditions. *Journal of Dairy Science*, 2015, 98(5): 3394-3409 (doi: 10.3168/jds.2014-9118).
 41. Kumar S., Choudhury P.K., Carro M.D., Griffith G.W., Dagar S.S., Puniya M., Calabro S., Ravella S.R., Dhewa T., Upadhyay R.C., Sirohi S.K., Kundu S.S., Wanapat M., Puniya A.K. New aspects and strategies for methane mitigation from ruminants. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2014, 98(1): 31-44 (doi: 10.1007/s00253-013-5365-0).
 42. Knapp J.R., Laur G.L., Vadas P.A., Weiss W.P., Tricarico J.M. Invited review: Enteric methane in dairy cattle production: Quantifying the opportunities and impact of reducing emissions. *Journal of Dairy Science*, 2014, 97(6): 3231-3261 (doi: 10.3168/jds.2013-7234).

43. Negussie E., de Haas Y., Dehareng F., Dewhurst R.J., Dijkstra J., Gengler N., Morgavi D.P., Soyeurt H., van Gastelen S., Yan T., Biscarini F. Invited review: Large-scale indirect measurements for enteric methane emissions in dairy cattle: a review of proxies and their potential for use in management and breeding decisions. *Journal of Dairy Science*, 2017, 100(4): 2433-2453 (doi: 10.3168/jds.2016-12030).
44. Tapio I., Snelling T.J., Strozzi F., Wallace R.J. The ruminal microbiome associated with methane emissions from ruminant livestock. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 2017, 8(1): 7 (doi: 10.1186/s40104-017-0141-0).
45. Montenegro J., Barrantes E., DiLorenzo N. Methane emissions by beef cattle consuming hay of varying quality in the dry forest ecosystem of Costa Rica. *Livestock Science*, 2016, 193: 45-50 (doi:10.1016/j.livsci.2016.09.0).
46. Chiavegato M.B., Rowntree J.E., Carmichael D., Powers W.J. Enteric methane from lactating beef cows managed with high- and low-input grazing systems. *Journal of Animal Science*, 2015, 93(3): 1365-1375 (doi: 10.2527/jas.2014-8128).
47. Hatew B. *Low emission feed: opportunities to mitigate enteric methane production of dairy cows*. Wageningen University, 2015.
48. Molano G., Clark H. The effect of level of intake and forage quality on methane production by sheep. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 2008, 48(2): 219 (doi: 10.1071/ea07253).
49. Gere J.I., Bualy R.A., Perini A.L., Arias R.D., Ortega F.M., Wulff A.E., Berra G. Methane emission factors for beef cows in Argentina: effect of diet quality. *New Zealand Journal of Agricultural Research*, 2021, 64(2): 260-268 (doi: 10.1080/00288233.2019.1621).
50. Alvarado-Bolovich V., Medrano J., Haro J., Castro-Montoya J., Dickhoefer U., Gómez C. Enteric methane emissions from lactating dairy cows grazing cultivated and native pastures in the high Andes of Peru. *Livestock Science*, 2021, 243: 104385 (doi: 10.1016/j.livsci.2020.1043).
51. Benchaar C., Pomar C., Chiquette J. Evaluation of dietary strategies to reduce methane production in ruminants: a modelling approach. *Canadian Journal of Animal Science*, 2001, 81(4): 563-574 (doi: 10.4141/A00-119).
52. Gison G., Colombini S., Borreani G., Crovetto G.M., Sandrucci A., Galassi G., Rapetti L. Milk production, methane emissions, nitrogen, and energy balance of cows fed diets based on different forage systems. *Journal of Dairy Science*, 2020, 103(9): 8048-8061 (doi: 10.3168/jds.2019-18134).
53. Beauchemin K.A., Kreuzer M., O'Mara F., McAllister T.A. Nutritional management for enteric methane abatement: a review. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 2008, 48(2): 21-27 (doi: 10.1071/EA07199).
54. Wang C., Zhang C., Yan T., Chang S., Zhu W., Wanapat M., Hou F. Increasing roughage quality by using alfalfa hay as a substitute for concentrate mitigates CH₄ emissions and urinary N and ammonia excretion from dry ewes. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 2019, 104(1): 22-31 (doi: 10.1111/jpn.13223).
55. Martin C., Morgavi D.P., Doreau M. Methane mitigation in ruminants: from microbe to the farm scale. *Animal*, 2010, 4(3): 351-365 (doi: 10.1017/S1751731109990620).
56. Albores-Moreno S., Alayón-Gamboa J.A., Ayala-Burgos A.J., Solorio-Sánchez F.J., Aguilar-Pérez C.F., Olivera-Castillo L., Ku-Vera J.C. Effects of feeding ground pods of *Enterolobium cyclocarpum* Jacq. Griseb on dry matter intake, rumen fermentation, and enteric methane production by Pelibuey sheep fed tropical grass. *Tropical Animal Health and Production*, 2017, 49(4): 857-866 (doi: 10.1007/s11250-017-1275-y).
57. Lovett D., Lovell S., Stack L., Callan J., Finlay M., Conolly J., O'Mara F.P. Effect of forage/concentrate ratio and dietary coconut oil level on methane output and performance of finishing beef heifers. *Livestock Production Science*, 2003, 84(2): 135-146 (doi: 10.1016/j.livprodsci.2003.09.010).
58. Beauchemin K.A., McAllister T.A., McGinn S.M. Dietary mitigation of enteric methane from cattle. Perspectives in Agriculture. *Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources*, 2009, 4(035): 1-18 (doi: 10.1079/PAVSNNR20094035).
59. Murphy M.R., Baldwin R.L., Koong L.J. Estimation of stoichiometric parameters for rumen fermentation of roughage and concentrate diets. *Journal of Animal Science*, 1982, 55(2): 411-421 (doi: 10.2527/jas1982.552411x).
60. Orskov E.R. Starch digestion and utilization in ruminants. *Journal of Animal Science*, 1986, 63(5): 1624-1633 (doi: 10.2527/jas1986.6351624x).
61. Hindrichsen I.K., Kreuzer M. High methanogenic potential of sucrose compared with starch at high ruminal pH. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 2009, 93(1): 61-65 (doi: 10.1111/j.1439-0396.2007.00779.x).
62. Beauchemin K.A., McGinn S.M., Benchaar C., Holtshausen L. Crushed sunflower, flax, or canola seeds in lactating dairy cow diets: effects on methane production, rumen fermentation, and milk production. *Journal of Dairy Science*, 2009, 92(5): 2118-2127 (doi: 10.3168/jds.2008-1903).
63. Llonch P., Haskel M.J., Dewhurst R.J., Turner S.P. Current available strategies to mitigate greenhouse gas emissions in livestock systems: An animal welfare perspective. *Animal*, 2017, 11(2): 274-284 (doi: 10.1017/S1751731116001440).

64. Patra A.K. The effect of dietary fats on methane emissions, and its other effects on digestibility, rumen fermentation and lactation performance in cattle: a meta-analysis. *Livestock Science*, 2013, 155(2-3): 244-254 (doi: 10.1016/j.livsci.2013.05.023).
65. Sheyda E.V., Lebedev S.V., Miroshnikov S.A., Duskaev G.K., Ryazanov V.A., Grechkina V.V., Rakhmatullin Sh.G. *Zhivotnovodstvo i kormoproizvodstvo*, 2021, 104(2): 84-95 (doi: 10.33284/2658-3135-104-2-84) (in Russ.).
66. Wanapat M., Viennasay B., Matra M., Totakul P., Phesatcha B., Ampapon T., Wanapat S. Supplementation of fruit peel pellet containing phytonutrients to manipulate rumen pH, fermentation efficiency, nutrient digestibility and microbial protein synthesis. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2021, 101(11): 4543-4550 (doi: 10.1002/jsfa.11096).
67. Marques R.D., Cooke R.F. Effects of ionophores on ruminal function of beef cattle. *Animals*, 2021, 11(10): 2871 (doi: 10.3390/ani11102871).
68. Appuhamy J.R., Strathe A.B., Jayasundara S., Wagner-Riddle C., Dijkstra J., France J., Kebreab E. Anti-methanogenic effects of monensin in dairy and beef cattle: a meta-analysis. *Journal of Dairy Science*, 2013, 96(8): 5161-5173 (doi: 10.3168/jds.2012-5923).
69. Pedraza-Hernández J., Elghandour M.M.M.Y., Khuro A., Camacho-Diaz L.M., Vallejo L.H., Barbabosa-Pliego A., Salem A.Z.M. Mitigation of ruminal biogases production from goats using Moringa oleifera extract and live yeast culture for a cleaner agriculture environment. *Journal of Cleaner Production*, 2019, 234: 779-786 (doi: 10.1016/j.jclepro.2019.06).
70. Kim S.H., Mamuad L.L., Islam M., Lee S.S. Reductive acetogens isolated from ruminants and their effect on in vitro methane mitigation and milk performance in Holstein cows. *Journal of Animal Science and Technology*, 2020, 62(1): 1-13 (doi: 10.5187/jast.2020.62.1.1).
71. Abdelbagi M., Ridwan R., Fidiyanto R., Rohmatussolihat, Nahrowi, Jayanegara A. Effects of probiotics and encapsulated probiotics on enteric methane emission and nutrient digestibility in vitro. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. IOP Publishing, 2021, 788: 012050 (doi: 10.1088/1755-1315/788/1/012050).
72. Guo G., Shen C., Liu Q., Zhang S.L., Shao T., Wang C., Wang Y., Xu Q., Huo W. The effect of lactic acid bacteria inoculums on in vitro rumen fermentation, methane production, ruminal cellulolytic bacteria populations and cellulase activities of corn stover silage. *Journal of Integrative Agriculture*, 2020, 19(3): 838-847 (doi: 10.1016/S2095-3119(19)62707-3).
73. Jeyanathan J., Martin C., Eugène M., Ferlay A., Popova M., Morgavi D.P. Bacterial direct-fed microbials fail to reduce methane emissions in primiparous lactating dairy cows. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 2019, 10: 41 (doi: 10.1186/s40104-019-0342-9).
74. Latham E.A., Pinchak W.E., Trachsel J., Allen H.K., Callaway T.R., Nisbet D.J., Anderson R.C. Paenibacillus 79R4, a potential rumen probiotic to enhance nitrite detoxification and methane mitigation in nitrate-treated ruminants. *Science of The Total Environment*, 2019, 671: 324-328 (doi: 10.1016/j.scitotenv.2019).
75. Deng K.D., Xiao Y., Ma T., Tu Y., Diao Q.Y., Chen Y.H., Jiang J.J. Ruminal fermentation, nutrient metabolism, and methane emissions of sheep in response to dietary supplementation with *Bacillus licheniformis*. *Animal Feed Science and Technology*, 2018, 241: 38-44 (doi: 10.1016/j.anifeedsci.2018).
76. Partnerskiy material. Fitogeniki: nastoyashchee i budushchee. *Agroinvestor*, 30 aprelya 2019. Available: <https://www.agroinvestor.ru/business-pages/31677-fitogeniki-nastoyashchee-i-budushchee/>. No date (in Russ.).
77. Kaur N., Agarwal A., Sabharwal M., Jaiswal N. Natural food toxins as anti-nutritional factors in plants and their reduction strategies. In: *Food chemistry*. M. Sen (ed.), Scrivener Publishing LLC, 2021: 217-248 (doi: 10.1002/9781119792130.ch8).
78. Vasta V., Daghighi M., Cappucci A., Buccioni A., Serra A., Viti C., Mele M. Invited review: plant polyphenols and rumen microbiota responsible for fatty acid biohydrogenation, fiber digestion, and methane emission: experimental evidence and methodological approaches. *Journal of Dairy Science*, 2019, 102(5): 3781-3804 (doi: 10.3168/jds.2018-14985).
79. De Nardi R., Marchesini G., Li S., Khafipour E., Plaizier K.J.C., Giancesella M., Ricci R., Andrighetto I., Segato S. Metagenomic analysis of rumen microbial population in dairy heifers fed a high grain diet supplemented with dicarboxylic acids or polyphenols. *BMC Veterinary Research*, 2016, 12(1): 2074161 (doi: 10.1186/s12917-016-0653-4).
80. Aboagye I.A., Oba M., Koenig K.M., Zhao G.Y., Beauchemin K.A. Use of gallic acid and hydrolyzable tannins to reduce methane emission and nitrogen excretion in beef cattle fed a diet containing alfalfa silage. *Journal of Animal Science*, 2019, 97(5): 2230-2244 (doi: 10.1093/jas/skz101).
81. Ngámbi J.W., Selapa M.J., Brown D., Manyelo T.G. The effect of varying levels of purified condensed tannins on performance, blood profile, meat quality and methane emission in male Bapedi sheep fed grass hay and pellet-based diet. *Tropical Animal Health and Production*, 2022, 54(5): 263 (doi: 10.1007/s11250-022-03268-7).
82. Suybeng B., Charmley E., Gardiner C.P., Malau-Aduli B.S., Malau-Aduli A.E.O. Supplementing Northern Australian beef cattle with desmanthus tropical legume reduces in-vivo methane emissions. *Animals (Basel)*, 2020, 10(11): 2097 (doi: 10.3390/ani10112097).
83. Ku-Vera J.C., Jiménez-Ocampo R., Valencia-Salazar S.S., Montoya-Flores M.D., Molina-Bo-

- tero I.C., Arango J., Gómez-Bravo C.A., Aguilar-Pérez C.F., Solorio-Sánchez F.J. Role of secondary plant metabolites on enteric methane mitigation in ruminants. *Frontiers in Veterinary Science*, 2020, 7: 584 (doi: 10.3389/fvets.2020.00584).
84. Min B.R., Pinchak W.E., Hume M.E., Anderson R.C. Effects of condensed tannins supplementation on animal performance, phylogenetic microbial changes, and in vitro methane emissions in steers grazing winter wheat. *Animals (Basel)*, 2021, 11(8): 2391 (doi: 10.3390/ani11082391).
 85. Jayanegara A., Goel G., Makkar H.P.S., Becker K. Reduction in methane emissions from ruminants by plant secondary metabolites: effects of polyphenols and saponins. In: *Sustainable improvement of animal production and health*. N.E. Odongo, M. Garcia, G.J. Viljoen (eds). FAO, Rome, Italy, 2010: 151-157.
 86. Jayanegara A., Leiber F., Kreuzer M. Meta-analysis of the relationship between dietary tannin level and methane formation in ruminants from in vivo and in vitro experiments. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 2012, 96(3): 365-375 (doi: 10.1111/j.1439-0396.2011.01172.x).
 87. Min B.R., Solaiman S. Comparative aspects of plant tannins on digestive physiology, nutrition and microbial changes in sheep and goats: a review. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 2018, 102(5): 1181-1193 (doi: 10.1111/jpn.12938).
 88. Goel C., Makkar H.P.S., Becker K. Methane mitigation from ruminants using tannins and saponins. *Tropical Animal Health and Production*, 2011, 44(4): 729-739 (doi: 10.1007/s11250-011-9966-2).
 89. Naumann H.D., Tedeschi L.O., Zeller W.E., Huntley N.F. The role of condensed tannins in ruminant animal production: advances, limitations and future directions. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 2017, 46: 929-949 (doi: 10.1590/s1806-92902017001200009).
 90. Bhatta R., Uyeno Y., Tajima K., Takenaka A., Yabumoto Y., Nonaka I., Enishi O., Kurihara M. Difference in the nature of tannins on in vitro ruminal methane and volatile fatty acid production and on methanogenic archaea and protozoal populations. *Journal of Dairy Science*, 2009, 92(11): 5512-5522 (doi: 10.3168/jds.2008-1441).
 91. Jayanegara A., Goel G., Makkar H.P.S., Becker K. Divergence between purified hydrolysable and condensed tannin effects on methane emission, rumen fermentation and microbial population in vitro. *Animal Feed Science and Technology*, 2015, 209: 60-68 (doi: 10.1016/j.anifeedsci.2015.08.002).
 92. Mannelli F., Daghighi M., Alves S.P., Bessa R.J., Minieri S., Giovannetti L., Conte G., Mele M., Messini A., Rapaccini S., Viti C., Buccioni A. Effects of chestnut tannin extract, vescalagin and gallic acid on the dimethyl acetals profile and microbial community composition in rumen liquor: an in vitro study. *Microorganisms*, 2019, 7(7): 202 (doi: 10.3390/microorganisms707020).
 93. Mueller-Harvey I. Unravelling the conundrum of tannins in animal nutrition and health. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2006, 86(13): 2010-2037 (doi: 10.1002/jsfa.2577).
 94. Costa M., Alves S.P., Cabo B., Guerreiro O., Stilwell G., Dentinho M.T., Bessa R.J. Modulation of in vitro rumen biohydrogenation by *Cistus ladanifer* tannins compared with other tannin sources. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2017, 97(2): 629-635 (doi: 10.1002/jsfa.7777).
 95. Waghorn G.C., Woodward S.L. Ruminant contributions to methane and global warming — a New Zealand perspective. In: *Climate change and managed ecosystems*. J.S. Bhatti, R. Lal, M.J. Apps, M.A. Price (eds.). Taylor and Francis, Boca Raton, 2006: 233-261.
 96. Woodward S.L., Waghorn G.C., Ulyatt M.J., Lasey K.R. Early indication that feeding lotus will reduce methane emission from ruminants. *Proceedings of New Zealand Society of Animal Production*, 2001, 61: 23-26.
 97. Puchala R., Min B.R., Goetsch A.L., Sahlu T. The effect of a condensed tannin-containing forage on methane emission by goats. *Journal of Animal Science*, 2005, 83(1): 182-186 (doi: 10.2527/2005.831182x).
 98. Carulla J.E., Kreuzer M., Machmüller A., Hess H.D. Supplementation of *Acacia mearnsii* tannins decreases methanogenesis and urinary nitrogen in forage-fed sheep. *Australian Journal of Agricultural Research*, 2005, 56(9): 961-970 (doi: 10.1071/AR05022).
 99. Animut G., Puchala R., Goetsch A.L., Patra A.K., Sahlu T., Varel V.H., Wells J. Methane emission by goats consuming diets with different levels of condensed tannins from *Lespedeza*. *Animal Feed Science and Technology*, 2008, 144: 212-227 (doi: 10.1016/j.anifeedsci.2007.10.014).
 100. Tiemann T.T., Lascano C.E., Wettstein H.R., Mayer A.C., Kreuzer M., Hess H.D. Effect of the tropical tannin-rich shrub legumes *Calliandra calothyrsus* and *Flemingia macrophylla* on methane emission and nitrogen and energy balance in growing lambs. *Animal*, 2008, 2(5): 790-799 (doi: 10.1017/S1751731108001791).
 101. De Oliveira S.G., Berchielli T.T., Pedreira M.D.S., Primavesi O., Frighetto R., Lima M.A. Effect of tannin levels in sorghum silage and concentrate supplementation on apparent digestibility and methane emission in beef cattle. *Animal Feed Science and Technology*, 2007, 135(3-4): 236-248 (doi: 10.1016/j.anifeedsci.2006.07.012).
 102. Grainger C., Clarke T., Auldred M.J., Beauchemin K.A., McGinn S.M., Waghorn G.C. Potential use of *Acacia mearnsii* condensed tannins to reduce methane emissions and nitrogen excretion from grazing dairy cows. *Canadian Journal of Animal Science*, 2009, 89(2): 241-251 (doi: 10.4141/CJAS08110).

103. Patra A.K., Kamra D.N., Bhar R., Kumar R., Aggarwal N. Effect of *Terminalia chebula* and *Allium sativum* on in vivo methane emission by sheep. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 2011, 95(2): 187-191 (doi: 10.1111/j.1439-0396.2010.01039.x).
104. Santoso B., Mwenya B., Sar C., Gamo Y., Kobayashi T., Morikawa R., Kimura K., Mizukoshi H., Takahashi J. Effects of supplementing galacto-oligosaccharides, *Yucca schidigera* or nisin on rumen methanogenesis, nitrogen and energy metabolism in sheep. *Livestock Production Science*, 2004, 91(3): 209-217 (doi: 10.1016/j.livprodsci.2004.08.004).
105. Kozłowska M., Cieślak A., Jyzwick A., El-Sherbiny M., Stochmal A., Oleszek W., Kowalczyk M., Filipiak W., Szumacher-Strabel M. The effect of total and individual alfalfa saponins on rumen methane production. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2019, 100(5): 1922-1930 (doi: 10.1002/jsfa.10204).
106. Kang J., Zeng B., Tang S., Wang M., Han X., Zhou C., Yan Q., He Z., Liu J., Tan Z. Effects of *Momordica charantia* saponins on in vitro ruminal fermentation and microbial population. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 2016, 29(4): 500-508 (doi: 10.5713/ajas.15.0402).
107. Canul-Solis J.R., Piceiro-Vazquez A.T., Chay-Canul A.J., Castillo-Sánchez L.E., Alayón-Gamboa J.A., Ayala-Burgos A.J., Aguilar-Pérez A.J., Pedraza-Beltran, Castelan-Ortega O.A., Ku-Vera J.C. Effect of the source and concentration of saponins on in vitro and ruminal methane production. *Archivos de Zootecnia*, 2019, 68(263): 362-369 (doi: 10.21071/az.v68i263.4194).
108. Wang B., Ma M.P., Diao Q.Y., Tu Y. Saponin-induced shifts in the rumen microbiome and metabolome of young cattle. *Frontiers in Microbiology*, 2019, 10: 356 (doi: 10.3389/fmicb.2019.00356).
109. Wu H., Meng Q., Zhou Z., Yu Z. Ferric citrate, nitrate, saponin and their combinations affect in vitro ruminal fermentation, production of sulphide and methane and abundance of select microbial populations. *Journal of Applied Microbiology*, 2019, 127(1): 150-158 (doi: 10.1111/jam.14286).
110. Guyader J., Eugène M., Doreau M., Morgavi D.P., Gérard C., Martin C. Tea saponin reduced methanogenesis in vitro but increased methane yield in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 2017, 100(3): 1845-1855 (doi: 10.3168/jds.2016-11644).
111. Wallace R., McEwan N.R., McIntosh F.M., Teferedegne B., Newbold C.J. Natural products as manipulators of rumen fermentation. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 2002, 15(10): 1458-1468 (doi: 10.5713/ajas.2002.145).
112. Chen R.J., Chung T., Li F., Lin N., Tzen J.T. Effect of sugar positions in ginsenosides and their inhibitory potency on Na⁺/K⁺-ATPase activity. *Acta Pharmacologica Sinica*, 2009, 30(1): 61-69 (doi: 10.1038/aps.2008.6).
113. Ramos-Morales E., Arco-Pérez A., Martín-García A.I., Yáñez-Ruiz D.R., Frutos P., Hervás G. Use of stomach tubing as an alternative to rumen cannulation to study ruminal fermentation and microbiota in sheep and goats. *Animal Feed Science and Technology*, 2014, 198: 57-66 (doi: 10.1016/j.anifeedsci.2014.09.016).
114. Guo Y.Q., Liu J.X., Lu Y., Zhu W.Y., Denman S.E., McSweeney C.S. Effect of tea saponin on methanogenesis, microbial community structure and expression of mcrA gene, in cultures of rumen micro-organisms. *Letters in Applied Microbiology*, 2008, 47(5): 421-426 (doi: 10.1111/j.1472-765X.2008.02459.x).
115. Pen B., Sar C., Mwenya B., Kuwaki K., Morikawa R., Takahashi J. Effects of *Yucca schidigera* and *Quillaja saponaria* extracts on in vitro ruminal fermentation and methane emission. *Animal Feed Science and Technology*, 2006, 129: 175-186 (doi: 10.1016/j.anifeedsci.2006.11.018).
116. Holtshausen L., Chaves A.V., Beauchemin K.A., McGinn S.M., McAllister T., Odongo N.E., Cheeke P.R., Benchaar C. Feeding saponin-containing *Yucca schidigera* and *Quillaja saponaria* to decrease enteric methane production in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 2009, 92(6): 2809-2821 (doi: 10.3168/jds.2008-1843).
117. Mao H., Wang J., Zhou Y., Liu J. Effects of addition of tea saponins and soybean oil on methane production, fermentation and microbial population in the rumen of growing lambs. *Animal Feed Science and Technology*, 2010, 129(1-3): 56-62 (doi: 10.1016/j.livsci.2009.12.011).
118. Zhou Y.Y., Mao H.L., Jiang F., Wang J.K., Liu J.X., McSweeney C.S. Inhibition of rumen methanogenesis by tea saponins with reference to fermentation pattern and microbial communities in Hu sheep. *Animal Feed Science and Technology*, 2011, 166: 93-100 (doi: 10.1016/j.anifeedsci.2011.04.007).
119. Sliwinski B.J., Kreuzer M., Wettstein H.R., Machmuller A. Rumen fermentation and nitrogen balance of lambs fed diets containing plantextracts rich in tannins and saponins and associated emissions of nitrogen and methane. *Archives of Animal Nutrition*, 2002, 56(6): 379-392 (doi: 10.1080/00039420215633).
120. Molina-Botero I.C., Arroyave-Jaramillo J., Valencia-Salazar S., Barahona-Rosales R., Aguilar-Pérez C.F., Ayala Burgos A., Jacobo A., Ku-Vera J.C. Effects of tannins and saponins contained in foliage of *Glicicidia sepium* and pods of *Enterolobium cyclocarpum* on fermentation, methane emissions and rumen microbial population in crossbred heifers. *Animal Feed Science and Technology*, 2019, 251: 1-11 (doi: 10.1016/j.anifeedsci.2019.01.011).
121. Montoya-Flores M.D., Molina-Botero I.C., Arango J., Romano-Mucoz J.L., Solorio-Sánchez F.J., Aguilar-Pérez C.F., Ku-Vera J.C. Effect of dried leaves of *Leucaena leucocephala* on rumen fermentation, rumen microbial population, and enteric methane production in crossbred heifers. *Animals*, 2020, 10(2): 300 (doi: 10.3390/ani10020300).

122. Molina I.C., Angarita E.A., Mayorga O.L., Chará J., Barahona-Rosales R. Effect of *Leucaena leucocephala* on methane production of Lucerna heifers fed a diet based on *Cynodon plectostachyus*. *Livestock Science*, 2016, 185: 24-29 (doi: 10.1016/j.livsci.2016.01.009).
123. Valencia Salazar S.S., Piceiro Vázquez A.T., Molina Botero I.C., Lazos Balbuena F.J., Uuh Narváez J.J., Segura Campos M.R., Avilés L.R., Solorio Sánchez F.J., Ku Vera J.C. Potential of *Samanea saman* pod meal for enteric methane mitigation in crossbred heifers fed low-quality tropical grass. *Agricultural and Forest Meteorology*, 2018, 258: 108-116 (doi: 10.1016/j.agrformet.2017.12.262).
124. Yejun L., Su Kyoung L., Shin Ja L., Jong-Su E., Sung Sill L. Effects of *Lonicera japonica* extract supplementation on in vitro ruminal fermentation, methane emission, and microbial population. *Animal Science Journal*, 2019, 90(9): 1170-1176 (doi: 10.1111/asj.13259).
125. Moiseeva E.A., Kravchenko I.V., Shepeleva L.F., Bordey R.Kh. Accumulation of photosynthetic pigments and secondary metabolites in leaves of galega (*Galega orientalis* Lam.) cv. Gale depending on stand age and agrotechnologies during introduction in the Middle taiga of Western Siberia. *Sel'skokhozyaistvennaya biologiya [Agricultural Biology]*, 2022, 57(1): 44-65 (doi: 10.15389/agrobiolog.2022.1.44eng).
126. Olagaray K.E., Bradford B.J. Plant flavonoids to improve productivity of ruminants — a review. *Animal Feed Science and Technology*, 2019, 251: 21-36 (doi: 10.1016/j.anifeedsci.2019.02.004).
127. Oskoueian E., Abdullah N., Oskoueian A. Effects of flavonoids on rumen fermentation activity, methane production, and microbial population. *BioMed Research International*, 2013, 2013: ID 349129 (doi: 10.1155/2013/349129).
128. Seradj A.R., Abecia L., Crespo J., Villalba D., Fondevila M., Balcells J. The effect of Bioflavex® and its pure flavonoid components on in vitro fermentation parameters and methane production in rumen fluid from steers given high concentrate diets. *Animal Feed Science and Technology*, 2014, 197: 85-91 (doi: 10.1016/j.anifeedsci.2014.08.013).
129. Zhan J., Liu M., Su X., Zhan K., Zhang C., Zhao G. Effects of alfalfa flavonoids on the production performance, immune system, and ruminal fermentation of dairy cows. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 2017, 30(10): 1416-1424 (doi: 10.5713/ajas.16.0579).
130. Sinz S., Kunz C., Liesegang A., Braun U., Marquardt S., Soliva C.R., Kreuzer M. In vitro bio-activity of various pure flavonoids in ruminal fermentation, with special reference to methane formation. *Czech Journal of Animal Science*, 2018, 63: 293-304 (doi: 10.17221/118/2017-CJAS).
131. Ahmed E., Fukuma N., Hanada M., Nishida T. The efficacy of plant-based bioactives supplementation to different proportion of concentrate diets on methane production and rumen fermentation characteristics in vitro. *Animals*, 2021, 11(4): 1029 (doi: 10.3390/ani11041029).
132. Nurzhanov B.S., Ryazanov V.A., Sheyda E.V., Duskaev G.K., Rakhmatullin Sh.G. *Sposob snizheniya kontsentratsii metana v rubtse zhvachnykh zhivotnykh. C1 2780832 (RF), A23K 10/30, A23K 50/10, 04.10.2022. Federal'noe gosudarstvennoe byudzhethnoe nauchnoe uchrezhdenie «Federal'nyy nauchnyy tsentr biologicheskikh sistem i agrotekhnologiy Rossiyskoy akademii nauk» (RF). № 2022106708. Zayavl. 15.03.2022. Opubl. 04.10.2022 [Method for reducing the concentration of methane in the rumen of ruminants. C1 2780832 (RF), A23K 10/30, A23K 50/10, 10.04.2022. Federal State Budgetary Scientific Institution «Federal Scientific Center for Biological Systems and Agrotechnologies of the Russian Academy of Sciences» (RF). № 2022106708. Appl. 03.15.2022. Publ. 04.10.2022] (in Russ.)*.
133. Bal'sel's Teres Zh., Krespo Montero F.Sh. *Sposob snizheniya metanogeneza u zhvachnykh zhivotnykh. C1 2576195 (RF). № 2014146434/13. Zayavl. 18.04.2013. Opubl. 27.02.2016 [Method for reducing methanogenesis in ruminants. C1 2576195 (RF). № 2014146434/13. Appl. 04.18.2013. Publ. 27.02.2016] (in Russ.)*.
134. Hu Q., Zhou M., We, S. Progress on the antimicrobial activity research of clove oil and eugenol in the food antisepsis field. *Journal of Food Science*, 2018, 83(6): 1476-1483 (doi: 10.1111/1750-3841.14180).
135. Benchaar C., Greathead H. Essential oils and opportunities to mitigate enteric methane emissions from ruminants. *Animal Feed Science and Technology*, 2011, 166-167: 338-355 (doi: 10.1016/j.anifeedsci.2011.04.024).
136. Zhou X., Zhang N., Zhang J., Gu Q., Dong C., Lin B., Zou C. Microbiome and fermentation parameters in the rumen of dairy buffalo in response to ingestion associated with a diet supplemented with cysteamine and hemp seed oil. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 2022, 106(3): 471-484 (doi: 10.1111/jpn.13616).
137. Joch M., Mrázek J., Skřivanová E., Čermák L., Marounek M. Effects of pure plant secondary metabolites on methane production, rumen fermentation and rumen bacteria populations in vitro. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 2018, 102(4): 869-881 (doi: 10.1111/jpn.12910).
138. Zeng Z., Sheng P., Zhang H., He L., Huang J., Wang D., Gui G. The effect of *Macleaya cordata* extract on in vitro ruminal fermentation and methanogenesis. *Food Science & Nutrition*, 2021, 9(8): 4561-4567 (doi: 10.1002/fsn3.2436).
139. Petrič D., Mravčáková D., Kucková K., Čobanová K., Kišidayová S., Cieslak A., Ślusarczyk S., Váradyová Z. Effect of dry medicinal plants (wormwood, chamomile, fumitory and mallow) on in vitro ruminal antioxidant capacity and fermentation patterns of sheep. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 2020, 104(5): 1219-1232 (doi: 10.1111/jpn.13349).

140. Yu J., Cai L., Zhang J., Yang A., Wang Y., Zhang L., Guan L.L., Qi D. Effects of thymol supplementation on goat rumen fermentation and rumen microbiota in vitro. *Microorganisms*, 2020, 8(8): 1160 (doi: 10.3390/microorganisms8081160).
141. Rossi C.A.S., Grossi S., Dell'Anno M., Compiani R., Rossi L. Effect of a blend of essential oils, bioflavonoids and tannins on in vitro methane production and in vivo production efficiency in dairy cows. *Animals*, 2022, 12(6): 728 (doi: 10.3390/ani12060728).
142. Castro-Montoya J., Peiren N., Cone J.W., Zweifel B., Fievez V., De Campeneere S. In vivo and in vitro effects of a blend of essential oils on rumen methane mitigation. *Livestock Science*, 2015, 180: 134-142 (doi: 10.1016/j.livsci.2015.08.010).
143. Hart K., Jones, H., Waddams K., Worgan H., Zweifel B., Newbold C. An essential oil blend decreases methane emissions and increases milk yield in dairy cows. *Open Journal of Animal Sciences*, 2019, 9(03): 259-267 (doi: 10.4236/ojas.2019.93022).
144. Klop G., Dijkstra J., Dieho K., Hendriks W.H., Bannink A. Enteric methane production in lactating dairy cows with continuous feeding of essential oils or rotational feeding of essential oils and lauric acid. *Journal of Dairy Science*, 2017, 100(5): 3563-3575 (doi: 10.3168/jds.2016-12033).
145. Rakhmatullin Sh.G., Nurzhanov B.S., Duskaev G.K., Kvan O.V., Sheyda E.V. *Zhivotnovodstvo i kormoproizvodstvo*, 2021, 3(104): 94-103 (doi: 10.33284/2658-3135-104-3-94) (in Russ.).
146. Alves T.P., Dall-Orsoletta A.C., Ribeiro-Filho H.M.N. The effects of supplementing acacia mearnsii tannin extract on dairy cow dry matter intake, milk production, and methane emission in a tropical pasture. *Tropical Animal Health and Production*, 2017, 49(8): 1663-1668 (doi: 10.1007/s11250-017-1374-9).
147. Chen D., Chen X., Tu Y., Wang B., Lou C., Ma T., Diao Q. Effects of mulberry leaf flavonoid and resveratrol on methane emission and nutrient digestion in sheep. *Animal Nutrition*, 2015, 1(4): 362-367 (doi: 10.1016/j.aninu.2015.12.008).
148. Dey A., Attri K., Dahiya S.S., Paul S.S. Influence of dietary phytogetic feed additives on lactation performance, methane emissions and health status of Murrah buffaloes (*Bubalus bubalis*). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2021, 101(10): 4390-4397 (doi: 10.1002/jsfa.11080).
149. Van Gastelen S., Dijkstra J., Bannink A. Are dietary strategies to mitigate enteric methane emission equally effective across dairy cattle, beef cattle, and sheep? *Journal of Dairy Science*, 2019, 102(7): 6109-6130 (doi: 10.3168/jds.2018-15785).
150. Boadi D.A., Wittenberg K.M., Scott S.L., Burton D., Buckley K., Small J.A., Ominski K.H. Effect of low and high forage diet on enteric and manure pack greenhouse gas emissions from a feedlot. *Canadian Journal of Animal Science*, 2004, 84(3): 445-453 (doi: 10.4141/a03-079).