

4.2.4. Частная зоотехния, кормление, технологии приготовления кормов и производства продукции животноводства (сельскохозяйственные науки)

doi:10.18286/1816-4501-2025-3-121-129

УДК 612.336.3:636.2

Модификация метода *in vitro* для изучения газообразования в организме жвачных животных

В. А. Девяткин✉, кандидат сельскохозяйственных наук, старший научный сотрудник

Н. В. Боголюбова, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник

ФГБНУ ФИЦ ВИЖ им. Л.К. Эрнста «Федеральный исследовательский центр животноводства – ВИЖ имени академика Л.К. Эрнста»

142132, Московская область, Подольск, п. Дубровицы, д. 60

✉Vladimir.devjatkin@mail.ru

Резюме. Работа проведена с целью разработки в лабораторных условиях устройства, позволяющего в процессе ферментации изучить выделение углекислого газа и метана из рубцовой жидкости овец для сравнения влияния различных источников жира и их дозировок на протекание газообразования. Для этого создана и протестирована в лабораторных условиях установка *in vitro* с термостатическим эффектом, состоящая из шести герметичных колб, в которые вносится жидкая часть рубцового содержимого жвачных животных, соединенных с приемными емкостями для сбора выделяемых газов. В дополнение к этому подключенный газоанализатор отдельно дает возможность измерять в выделяемых газах содержание углекислого газа и метана. Модифицированный метод исследования позволил определить эффект различных источников жира – подсолнечного, пальмового и жира из личинок мух *Hermetia illucens* при дозировках 0,03, 0,04 и 0,05 г/100 мл содержимого на процессы газообразования в жидкости рубца овец. В результате ферментативных и микробиальных процессов, проходивших в колбах, было выявлено, что добавление подсолнечного масла в количестве 0,05 г/100 мл (0,5%) значительно снизило выделение метана на 0,16 ppm ($p < 0,001$). Аналогично пальмовое масло и жир личинок мух уменьшили уровень метана на 0,41 ppm и 0,44 ppm соответственно ($p < 0,001$). Также было зафиксировано снижение концентрации углекислого газа: на 0,04 %, 0,13 % и 0,25 % соответственно ($p < 0,001$). Кроме того, добавка подсолнечного жира в указанной дозе привела к значительному уменьшению общего объема выделенного газа на 45,7 мл³ ($p < 0,001$), а пальмовое масло и жир личинок — на 47,7...48 мл³ соответственно. Полученные результаты подтверждают эффективность модифицированного метода для оценки влияния жировых добавок на процессы газообразования в рубце жвачных животных.

Ключевые слова: овцы, рубцовое содержимое, парниковые газы, углекислый газ, метан, *in vitro*, жир подсолнечниковый, жир пальмовый, жир из личинок мухи *Hermetia illucens*, ингибиторы метанообразования.

Для цитирования: Девяткин В. А., Боголюбова Н. В. Модификация метода *in vitro* для изучения газообразования в организме жвачных животных // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. 2025. №3 (71). С. 121-129. doi:10.18286/1816-4501-2025-3-121-129

Modification of the *in vitro* method for studying gas formation in the body of ruminants

V.A. Devyatkin✉, N.V. Bogolyubova

Federal State Budgetary Scientific Institution "Federal Research Center of Animal Husbandry - VIZh named after Academician L.K. Ernst"

142132, Moscow Region, Podolsk, Dubrovitsy v., 60

✉Vladimir.devjatkin@mail.ru

Abstract. The work was carried out with the aim of developing a device in laboratory conditions that allows to study the release of carbon dioxide and methane from the rumen fluid of sheep during fermentation to compare the effect of various fat sources and their dosages on the course of gas formation. For this purpose, an *in vitro* device with a thermostatic effect was created and tested in laboratory conditions. It consisted of six sealed flasks into which the liquid portion of the rumen contents of ruminants was introduced, connected to receiving containers for collecting the emitted gases. In addition, a connected gas analyzer separately makes it possible to measure the content of carbon dioxide and methane in the emitted gases. A modified research method enabled to determine the effect of various fat sources - sunflower, palm and fat from the larvae of *Hermetia illucens* flies at dosages of 0.03, 0.04 and 0.05 g / 100 ml of content on the processes of gas formation in the liquid of the rumen

of sheep. As a result of enzymatic and microbial processes taking place in the flasks, it was found that sunflower oil in the amount of 0.05 g / 100 ml (0.5%) significantly reduced the release of methane by 0.16 ppm ($p < 0.001$). Similarly, palm oil and fly larvae fat reduced methane levels by 0.41 ppm and 0.44 ppm, respectively ($p < 0.001$). A decrease in carbon dioxide concentration was also recorded: by 0.04%, 0.13% and 0.25%, respectively ($p < 0.001$). The sunflower fat led to a significant decrease in the total volume of released gas by 45.7 ml³ ($p < 0.001$), and palm oil and larvae fat - by 47.7-48 ml³, respectively. The results confirm the effectiveness of the modified method for assessing the effect of fat supplements on gas formation processes in the rumen of ruminants.

Keywords: Sheep, rumen content, greenhouse gases, carbon dioxide, methane, in vitro, sunflower fat, palm fat, *Hermetia illucens* fly larvae fat, methane formation inhibitors.

For citation: Devyatkin V. A., Bogolyubova N. V. Modification of the in vitro method for studying gas formation in the body of ruminants // Vestnik of Ulyanovsk state agricultural academy. 2025;3(71): 121-129 doi:10.18286/1816-4501-2025-3-121-129

Исследования проведены при финансовой поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации по Государственному заданию 0445-2021-0002.

Введение

В многокамерном желудке жвачных животных микробный комплекс бактерий, архей, простейших и грибов способствует перевариванию пищи, а побочные продукты их жизнедеятельности – водород, углекислый газ и, главное, метан, эмиссия которого может достигать от 150 до 500 л/сутки, являются крупнейшим источником прямых выбросов в атмосферу, способствуя возникновению парникового эффекта [1, 2, 3].

Размер выбросов зависит от генотипа, климатических условий, направления продуктивности, возраста, а также качества и состава рациона, уровня кормления животных [4, 5, 6]. Так, коровы голштинской породы выделяют около 300 л/сутки метана против 265 л/сутки у поместных. На удобренных пастбищах телки продуцируют 225 л/сутки против 180 л/сутки у их аналогов на скудных [7, 8].

По наблюдениям в Новой Зеландии более высокие настриги шерсти, лучший жирнокислотный состав мяса отмечают у овец с низкими показателями эмиссии метана по сравнению с их аналогами с высокими выбросами CH₄. Газ выделяется в атмосферу через отрыжку, хотя небольшая его часть присутствует и в кишечнике [9].

При участии CO₂ и H₂ образование CH₄ в рубцовой деятельности метаногенных архей, разделяющихся на метилотрофные, гидрогенотрофные и ацетатные [10,11]. Водород при этом постоянно мигрирует от бактерий к метансинтезирующим археям, восстанавливающим углекислый газ до метана, способствуя продолжению брожения и выработке летучих жирных кислот [12].

На внутренние процессы, происходящие в организме жвачного животного, в том числе и выделения метана, расходуется от 2 до 12 % валовой потребляемой энергии, способной пойти на образование «чистой» продукции в виде молока, мяса, шерсти и т.д., поэтому крайне важно минимизировать эти выбросы [13]. Включение в рацион крупного рогатого скота высококачественных грубых и углеводистых кормов с легко ферментируемыми фракциями и низким содержанием нейтрально-детергентной

клетчатки способствует лучшей усвояемости и ускоряет прохождение через ЖКТ без образования метана [14, 15].

Многие авторы отмечают угнетение метанообразования в рубце с введением в рацион овец средне- и особенно длинноцепочечных жирных кислот, для гидрогенизации которых требуется участие водорода, приводя к минимизации субстрата для синтеза метана, сокращая его выбросы [16]. Кислоты из кокосового или пальмового масла являются наиболее эффективными, причем чем больше двойных связей в цепи высокомолекулярной кислоты, тем сильнее проявляется ее ингибирующее действие [17].

Включение жира в рационы жвачных снижает эмиссию метана, но избыточное потребление ухудшает активность рубца и использование кормов. Различные жиры по-разному влияют на метанообразование. Поиск отечественных источников жирных кислот для снижения энергетических потерь актуален. Также важно изучать влияние растительных и животных жиров на образование метана в рубце овец [18].

Исследование на овцах продемонстрировало снижение численности простейших и процесса выделения газов из рубца при вводе 6 % от СВ рациона подсолнечного масла, являющегося хорошим источником линолевой кислоты [19, 20]. На рационе, состоящем из грубых кормов, подсолнечное масло снижает выделение метана и эффективность использования валовой энергии корма до 22 % у крупного рогатого скота.

Включение лауриновой кислоты в рацион телок, состоящий из рисовой соломы и концентратов в дозировке 0,1 г на 1 кг живой массы достоверно снижало популяцию метаногенов и, соответственно, общего выделенного метана [21].

Наряду с лауриновой высокую эффективность в рационе жвачных животных в подавлении образования метана проявляет и миристиновая кислота [22]. В этом аспекте использование жира личинки мухи Черная львинка является перспективным,

поскольку в составе ее жировой фракции содержатся обе эти кислоты.

Известно, что при использовании жира в кормлении жвачных животных свыше 4 % от сухого вещества он должен быть в «защищенной» форме. Ориентируясь на это, а также руководствуясь ранее проведенными исследованиями скармливания жвачным животным липидной фракции личинок Чёрной львинки [23], мы остановились на дозировках использования жиров в количестве 0,3...0,5 % от СВ рациона.

Цель исследования – разработать и собрать в лабораторных условиях устройство, позволяющее проводить ферментацию и фиксировать выделения углекислого газа и метана из рубцовой жидкости овец для лучшего понимания процессов

метаногенеза от введения в рацион жировых добавок. Сравнить влияния различных источников жира и их дозировок на процессы газообразования в рубцовой жидкости овец методом *in vitro*.

Материалы и методы

Исследования проводили в отделе физиологии и биохимии сельскохозяйственных животных ФГБНУ ФИЦ ВИЖ им. Л.К. Эрнста в 2024 г. Фиксация выделенных газов в результате ферментативных и микробиальных процессов проводили на собранном авторами устройстве, представляющем из себя 6 герметично закрытых резиновыми пробками с газоотводными трубками стеклянных колб объемом 120 мл для ферментации, соединенные патрубками с 6 заполненными водой емкостями (рис.1, авторский).

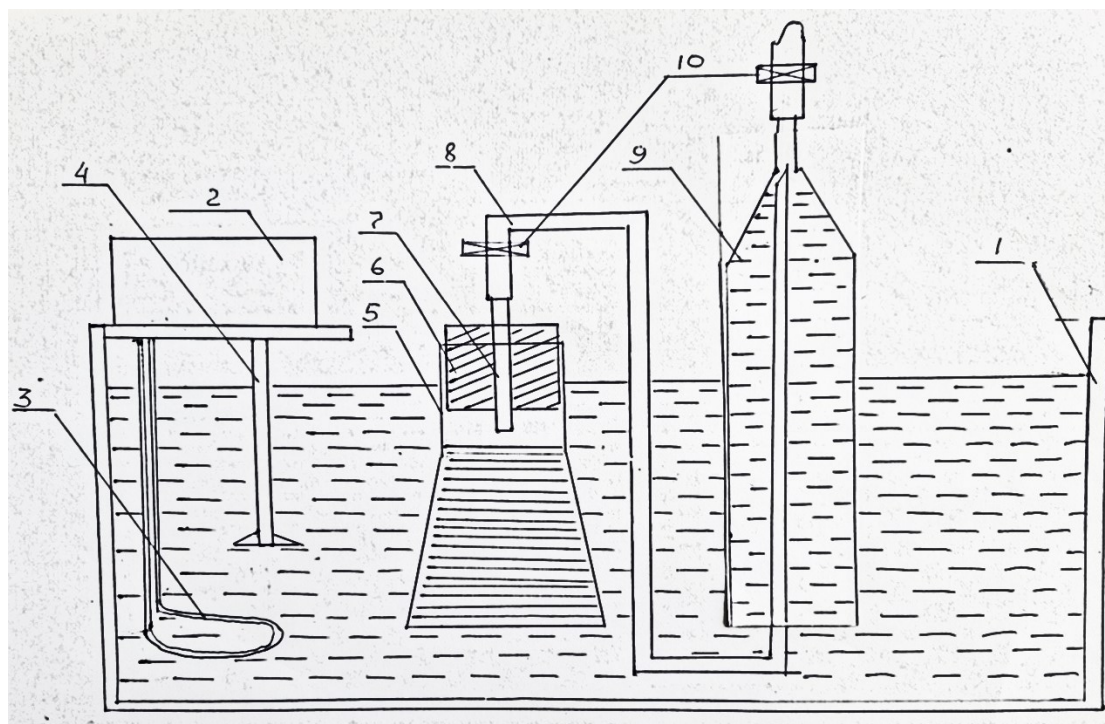


Рис. 1. Определение концентрации газов в рубцовом содержимом *in vitro*, где: 1 – водяная баня с термостатическим управлением; 2 – термостат, обеспечивающий нагрев воды, поддержание температуры и ее перемешивание; 3 – нагревательный элемент; 4 – мешалка; 5 – колба с рубцовым содержимым; 6 – резиновая пробка с отверстием для стеклянной трубки; 7 – стеклянная трубка; 8 – резиновая трубка; 9 – перевернутый шприц Жане с удаленным поршнем; 10 – зажим.

В качестве приемной емкости служил повернутый канюлей вверх пластиковый шприц Жане на 150 мл³ с предварительно удаленным поршнем. Все приспособление собрано на одном жестком основании, позволяющем поместить и колбы, и шприцы одновременно в водяную баню с термостатическим управлением (+39°C). Трубка, соединяющая колбу со шприцем, «пропущена» через весь шприц до внутренней стороны канюли, где образована небольшая камера до первого деления шприца. На патрубках, одетых на канюли шприцов, установлены зажимы поддерживающие разреженное в них давление.

После помещения системы с жидкой частью содержимого рубца в водяную баню используя

перекрывающие зажимы, создавая разрежение, проводится набор воды из бани в каждый шприц отдельно до уровня самой верхней метки (все 6 шприцов практически полностью заполнены водой).

Для лучшего хода процессов ферментации колбы периодически покачивались. Выделяющиеся газы по соединяющей газоотводной трубке попадают во внутреннее пространство принимающего шприца, и уровень воды в шприцах падает на величину объема выделившихся газов. Газообразование в кубических миллилитрах измеряется путем визуального считывания показаний с меток, нанесенных на боковую сторону шприца.

Концентрацию выделенных газов определяли переносным газоанализатором МАГ-6П, позволяющим определять сразу 4 газа.

Патрубок с зажимом, надетым на канюлю шприца, фиксирующего выделение газов, соединяется с «входным штуцером газового тракта» прибора МАГ-6П. Посредством встроенного компрессора происходит забор и прокачка газов через прибор. Уровень воды при этом вновь доходит до верхней метки в принимающем шприце. Инфракрасные оптические сенсоры анализируют наличие и концентрацию газов и индицируют значения CO_2 и CH_4 на встроенном жидкокристаллическом дисплее

(фото 1, авторское). Зная объем выделенных газов, можно перерасчетом определить концентрацию газов в рубце животного.

Полученные в опыте материалы обработаны биометрически с вычислением следующих величин: среднеарифметическая (М), среднеквадратическая ошибка ($\pm m$) и уровень значимости (р). Результаты исследований считали высокодостоверными при $p < 0,001$ и достоверными при $p < 0,01$ и $p < 0,05$. При $p < 0,1$, но $p > 0,05$ – тенденцией к достоверности полученных данных. При $p > 0,1$ разница недостоверна.



Фото 1. Монитор газоанализатора. Фото автора

Схема эксперимента *in vitro*

Вариант	Дозировка включения
I	Жидкая часть рубцового содержимого – ЖР без включения масел – контроль
II	ЖР с включением 0,03 г (30 мг) пальмового жира
III	ЖР с включением пальмового 0,042 г (40 мг) жира
IV	ЖР с включением 0,05 г (50 мг) пальмового жира
V	ЖР с включением 0,03 г (30 мг) подсолнечного масла
VI	ЖР с включением 0,04 г (40 мг) подсолнечного масла
VII	ЖР с включением 0,05 г (50 мг) подсолнечного масла
VIII	ЖР с включением 0,03 г (30 мг) жира личинки Черная Львинка <i>Hermetia illucens</i>
IX	ЖР с включением 0,04 г (40 мг) жира личинки Черная Львинка <i>Hermetia illucens</i>
X	ЖР с включением жира 0,05 г (50 мг) личинки Черная Львинка <i>Hermetia illucens</i>

Результаты

В условиях *in vitro* необходимо было установить влияние 3 источников жирных кислот, различающихся по степени насыщенности и доступности в рубце: пальмовое масло (растительного происхождения, импортный продукт), подсолнечное масло (растительное происхождение, отечественный продукт) и жир личинки Черная львинка (животного происхождения, отечественный продукт) на процесс газообразования с уточнением их дозировки в совокупности с выделенными газами.

К 100 мл рубцового содержимого, взятого у овцы через дуоденальную фистулу спустя 3 ч после утреннего кормления, помещенного в колбы для ферментации, добавляли по 0,03, 0,04 и 0,05 г подсолнечного, пальмового и жира, полученного из личинок мух Черной львинки *Hermetia illucens*. Пальмовый и жир личинки мухи предварительно приходилось немного нагревать для растворения в жидкой части содержимого рубца. Такая дозировка

соответствовала 0,3, 0,4 и 0,5 % от СВ рациона (3, 4 и 5 на 1 кг СВ рациона, при расчете получается на 100 мл рубцового содержимого при 15-литровом объеме рубца 0,03, 0,04 и 0,05 г). Постоянная температура водяной бани способствовала ферментации, определению количества выделяемых газов и их состава. Показатели фиксировали через 1 час и 3 часа.

При росте величины присутствующих в содержимом рубца жиров происходит сокращение как общего объема выделенных газов, так и концентраций метана и углекислого газа (табл. 1). Дозировка жиров на уровне 0,03 г практически не повлияла на выделение газов: за 3 ч ферментации во всех вариантах составила 0,68...0,71 мл³.

Содержание метана снизилось на 0,05 ppm при добавлении жира личинок, на 0,11- подсолнечного жира и на 0,18 ppm -пальмового масла (табл. 2).

Концентрация углекислого газа незначительно возросла на 0,02 % с подсолнечным маслом и

уменьшилась на 0,04 с пальмовым и на 0,07 % с жиром личинок *Hermetia illucens*.

Добавка 0,04 г жиров вызвала значительное снижение выделения газов во всех вариантах по

сравнению с контролем. Так, эмиссия сократилась на 21 мл³ при добавке подсолнечного масла, на 21,7 мл³ - жира из личинок и на 23,0 мл³ - пальмового масла ($p < 0,001$).

Таблица 1. Объем выделенных газов в зависимости от жира и его дозировки (мл³)

Вид жира	Дозировка жира, г					
	0,03		0,04		0,05	
	за 1 час	за 3 часа	за 1 час	за 3 час	за 1 час	за 3 час
Контроль б/ж	60,7±2,33	71,0±2,80	60,7±2,33	71,0±2,8	60,7±2,33	71,0±2,8
Жир личинок <i>Hermetia illucens</i>	58,3±1,36	68,0±1,25	38,3±4,65	49,3±1,52***	17,3±0,55***	23,0±1,49***
Жир подсолнечный	56,5±1,79	69,3±2,18	42,8±3,1***	50,0±2,16***	11,5±1,45***	25,3±2,37***
Жир пальмовый	55,0±2,05**	68,8±3,87	36,0±2,11***	45,0±1,49***	11,8±0,73***	23,3±2,02***

Различия по сравнению с контрольной группой статистически значимы при ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$.

Снижение выделения метана произошло на 0,16 ppm с подсолнечным маслом, 0,41 – с пальмовым ($p < 0,001$) и 0,44 ppm ($p < 0,001$) - с жиром

личинок. Аналогичная картина отмечается с понижением концентрации углекислого газа: на 0,04 %, 0,13 и 0,25 % ($p < 0,001$), соответственно.

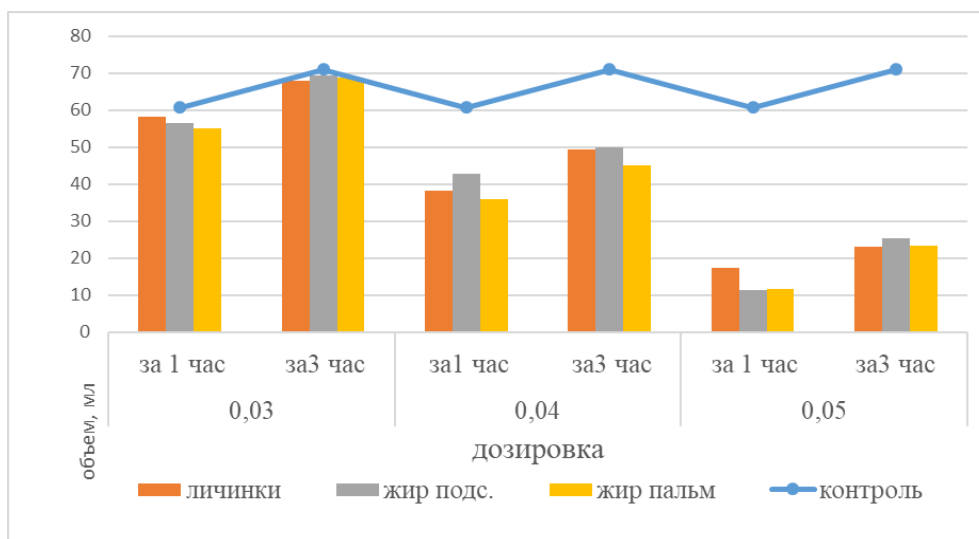


Рис. 2. Объем выделенных газов в зависимости от жира и его дозировки, мл³

Внесение в содержимое рубца жиров в количестве 0,05 г привело к еще более значительному снижению выделения газов в процессе ферментации. Добавление подсолнечного жира сократило выделение на 45,7 мл³ ($p < 0,001$), а пальмовый и жир личинок ингибировали на 47,7...48,0 мл³ ($p < 0,001$) соответственно.

Снижение количества как выделяемого метана, так и углекислого газа явилось следствием

увеличения количества жира от 0,03 г до 0,05 г/100 мл рубцового содержимого. Так, концентрация метана сократилась на 0,41 ppm с подсолнечным жиром, 0,56 ($p < 0,001$) - с пальмовым и на 0,85 ppm ($p < 0,001$) - с жиром личинок. Соответственно, падение концентрации углекислого газа произошло на: 0,01 %, 0,13 ($p < 0,001$) и 0,6 % ($p < 0,001$) (рис. 2 и 3).

Таблица 2. Количество метана и углекислого газа в зависимости от жира и его дозировки, ppm

Вид жира	Дозировка жира, г					
	0,03		0,04		0,05	
	метан	углек. газ	метан	углек. газ	метан	углек. газ
контроль, б/ж	1,29±0,08	0,86±0,06	1,29±0,08	0,86±0,06	1,29±0,08	0,86±0,06
Жир личинок	1,24±0,07	0,79±0,04	0,85±0,09***	0,61±0,05***	0,44±0,09***	0,26±0,09***
Жир подсолнечн.	1,18±0,08	0,88±0,05	1,13±0,12	0,82±0,06	0,88±0,23	0,85±0,10
Жир пальмовый	1,11±0,08	0,82±0,03	0,88±0,06***	0,73±0,06	0,73±0,17***	0,73±0,03**

** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$.

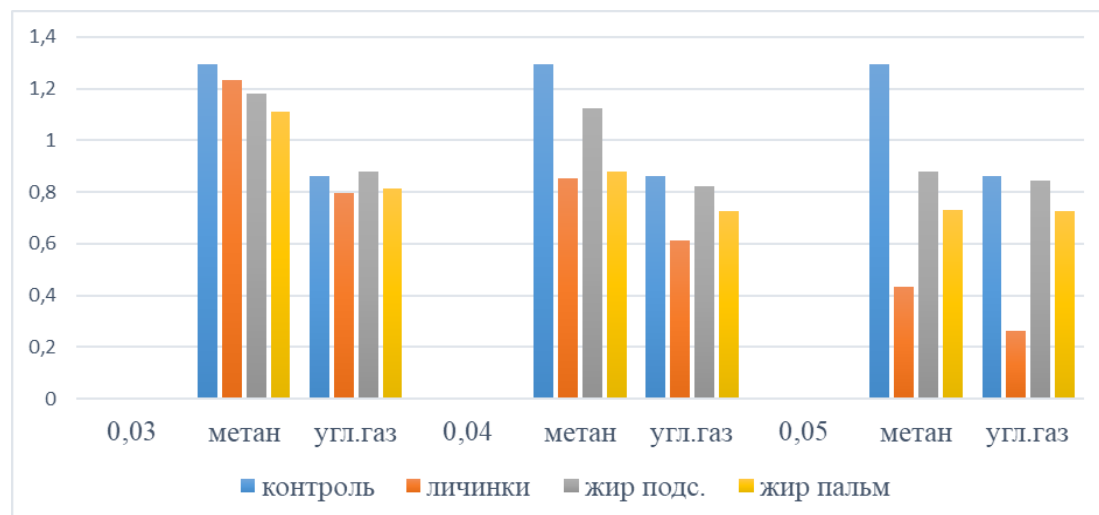


Рис. 3. Количество выделенного метана и углекислого газа в зависимости от жира и его дозировки, ppm

В ранее проведенных исследованиях отмечается положительная роль использования среднецепочечных жирных кислот в подавлении метанообразования у жвачных животных [13,14].

Обсуждение

Разработка стратегий снижения выделений углекислого газа и, особенно, метана в процессе ферментации в организме жвачных представляет научный и практический интерес. Среди способов управления протекания метаногенеза можно выделить включение в рацион жировых кормовых добавок, которые либо непосредственно ингибируют метаногены, либо изменяют метаболические пути, приводя к уменьшению субстрата для метаногенеза. Изучение газообразования в организме животных является важным разделом физиологических исследований. Наиболее популярным методом являются лабораторные эксперименты *in vitro*, что связано с их сравнительно невысокой стоимостью, доступностью и быстротой наблюдения большого количества вариантов за относительно короткие сроки.

Итоги проведенных 10 вариантов исследований на собранной экспериментальной лабораторной установке в результате ферментации методом *in vitro* продемонстрировали достоверное снижение как общего объема выделенных газов, так и концентраций метана и углекислого газа в присутствии 0,04 г жировых добавок. Эмиссия снизилась на 21 мл³ при добавке подсолнечного масла, 21,7 мл³ - жира из личинок и на 23,0 мл³ - пальмового масла ($p < 0,001$) [15, 16].

Падение выделения метана на 0,16 ppm отмечали при добавке подсолнечного масла, 0,41 - с пальмовым ($p < 0,001$) и 0,44 ppm ($p < 0,001$) - с жиром личинок. Аналогичная картина наблюдается с понижением концентрации углекислого газа: на 0,04 %, 0,13 и 0,25 % ($p < 0,001$) соответственно.

Увеличение дозировки жировых добавок до 0,05 г привело к еще более значительному общему снижению выделения газов в процессе ферментации. Видимо увеличенная дозировка жирных кислот

вызвала в их гидрогенизации большего участия водорода, приводя к минимизации субстрата для синтеза метана, сокращая его выбросы [12]. Добавка подсолнечного масла достоверно снизила выделение на 45,7 мл³ ($p < 0,001$), а пальмовый и жир личинок ингибировали на 47,7...48,0 мл³ ($p < 0,001$) соответственно. В том числе концентрация метана сократилась на 0,41 ppm при включении подсолнечного жира, 0,56 ($p < 0,001$) - пальмового и на 0,85 ppm ($p < 0,001$) - жира личинок. Деградация концентрации углекислого газа произошла соответственно на: 0,01 %, 0,13 ($p < 0,001$) и 0,6 % ($p < 0,001$).

По результатам наших лабораторных исследований *in vitro* провели и получили достоверные показатели в опыте *in vivo* с использованием респираторных камер с теми же источниками жира в питании овец на показатели рубцового пищеварения, выделение метана и углекислого газа. Отмечено, что в контрольный период из организма овец выделилось 20,66 л метана, у животных, которые получали подсолнечное масло - на 12,0 % меньше (18,18 л), пальмовый жир - на 6,20 % (19,38 л), жир личинок - на 20,33 % (16,46 л) ($p < 0,01$) [22, 23]. В жире личинок и пальмовом масле содержится высокий уровень лауриновой и миристиновой насыщенных жирных кислот, обладающих бактерицидной, вирицидной и фунгицидной активностью, способных потенцировать в кишечнике антибактериальное действие антибиотиков, повышению иммунного ответа организма на внедрение кишечного патогена, оказывать подавляющий эффект на образование метана [24, 25].

Жиры, содержащиеся в насекомых, хорошо усваиваются, безопасны и полезны для здоровья и продуктивности жвачных животных. Они не вредят ферментации и микробиоте жвачных животных и даже могут способствовать снижению выбросов [26]. Использование современных методов, в частности, жировых добавок позволяет не только проводить скрининг выделений парниковых газов в организме жвачных, но и разрабатывать способы

регуляции с целью снижения негативного влияния на окружающую среду и повышения экономической составляющей отраслей животноводства, может быть эффективным способом снижения выделения парниковых газов [27].

Заключение

Используя жировые добавки из подсолнечника, пальмового и жира, полученного из личинок мух *Hermetia illucens* в количестве 0,05 г/100 мл (0,5 % от СВ рациона) рубцового содержимого, способствует частичному ингибированию метанобразующих бактерий и архей в рубце овец, благодаря чему становится возможным снизить общую

эмиссию газов, в том числе CO₂ и CH₄, как конечных катаболитов ферментации.

Полученные результаты позволяют более точно моделировать физиологические процессы организма, которые способствуют снижению выбросов парниковых газов и повышению эффективности использования кормов у сельскохозяйственных животных. Проведенные исследования демонстрируют перспективность применения представленной методики *in vitro* для оценки влияния различных добавок на метаногенез и способствуют повышению экологической безопасности животноводства.

Литература

1. 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. Vol. 110. P. 1-4. doi: 10.1016/j.ecolind.2019.105831
2. Samal L., Dash S. K. Nutritional Interventions to Reduce Methane Emissions in Ruminants. in book: Animal Feed Science and Nutrition-Production, Health and Environment. 2022. Vol.10. P.172. doi:10.5772/intechopen.101763
3. Full adoption of the most effective strategies to mitigate methane emissions by ruminants can help meet the 1.5 C target by 2030 but not 2050 / C. Arndt, A. N. Hristov, W. Price et al. // Proceedings of the National Academy of Sciences. 2022. Vol. 119. No. 20. P. e2111294119. doi:10.1073/pnas.2111294119
4. Mitigation of greenhouse gas emissions in livestock production A review of options for non-CO₂ emissions / A.N. Hristov, J. Oh, C. Lee, et al. // Rome: fao, 2013. 231 p. ISBN 978-92-5-107658-3
5. 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. Vol. 9. (10). P. 725. doi:10.3390/ani 9100725
6. Effects of protein supplementation to steers consuming low-quality forages on greenhouse gas emissions. A.L. Shreck, J.M. Zeltwanger, E.A. Bailey, et al. // Animal Science. 2021. Vol. 99 P. 7. doi:10.1093/jas/skab147
7. Effect of tannins from tropical plants on methane production from ruminants: A systematic review E.Cardoso, E. Aranda-Aguirre, L. E. Robles Jimenez // Veterinary and Animal Science. 2021. Vol. 14. P. 100214. doi:10.1016/j.vas.2021.100214
8. Effects of grass silage quality and level of feed intake on enteric methane production in lactating dairy cows1 / D. Warner, A. Bannink, B. Hatew. et al. // Animal Science. 2017. Vol. 95. (8). P. 3687–3699. doi:10.2527/jas.2017.1459
9. Selection for divergent methane yield in New Zealand sheep – a ten-year perspective / S. J. Rowe, S. M. Hickey, A. Jonker, et al. // Proc.of the 23rd Conf.of the association for the advancement of animal breeding and genetics (AAABG), Armidale, New South Wales, Australia, 27 October – 1 November 2019. P. 306-309.
10. Archaea are interactive components of complex microbiomes / C.M. Eichinger, M. Pausan, J. Taffner, et al. // Trends in microbiol. 2018. Vol. 26 (1). P. 70-85. doi: 10.1016/j.tim.2017.07.004. Epub 2017
11. Исследование микробиома рубца у овец с использованием молекулярно-генетических методов (обзор) / Е. М. Колоскова, К.С. Остренко, В. А. Езерский и др. // Проблемы биологии продуктивных животных. 2020. №. 4. С. 5-26. doi: 10.25687/1996-6733.prodanimbio.2020.4.5-26
12. Shifts in rumen fermentation and microbiota are associated with dissolved ruminal hydrogen concentrations in lactating dairy cows fed different types of carbohydrates / M. Wang, R. Wang, T. Y. Xie et al. // Nutrition. 2016. Vol. 146. P. 1714-1721. doi:10.3945/jn.116.232462
13. Current enteric methane mitigation options / K. Beauchemin, E. Ungerfeld, A. L. Abdalla, et al. // Dairy Science. 2022. Vol. 105. Vol. 12. P. 9297-9326. doi:10.3168/jds.2022-22091
14. Dietary mitigation of enteric methane emissions from ruminants: A review of plant tannin mitigation options / B. R. Min, D. B. Parker, S.G. Solaiman, et al. // Animal Nutrition. 2020. Vol. 6 (3). P. 231-246. doi:10.1016/j.aninu.2020.05.002
15. Full-fat insect meals in ruminant nutrition: in vitro rumen fermentation characteristics and lipid biohydrogenation / M. Renna, M. Coppa, C. Lussiana, et al. // Animal Science and Biotechnology. 2022. Vol.13 (1). 138. P.1-16. doi:10.1186/s40104-022-00792-2
16. The effects of dietary medium-chain fatty acids on ruminal methanogenesis and fermentation in vitro and in vivo: A meta-analysis / Y. R. Yanza, M. Szumacher-Strabel, A. Jayanegara, et al. // Animal physiology and animal nutrition. 2021. Vol. 105(5). P. 874-889. doi:10.1111/jpn.13367

17. Effect of forage/concentrate ratio and dietary coconut oil level on methane output and performance of finishing beef heifers / D. Lovett, S. Lovell, L. Stacket, et al. // *Livestock production science*. 2003. Vol. 84. P. 135–46. doi:10.1016/j.livprodsci.2003.09.010
18. Метанообразование в рубце и методы его снижения с использованием алиментарных факторов (обзор) / Н. В. Боголюбова, А. А. Зеленченкова, Н. С. Колесник и др. // *Сельскохозяйственная биология*. 2022. Т. 57. №. 6. С. 1025–1054. doi: 10.15389/agrobiology.2022.6.1025rus
19. Effects of dietary sunflower seed oil on rumen protozoa population and tissue concentration of conjugated linoleic acid in sheep / M. Ivan, P. S. Mir, K. M. Koenig et al. // *Small Ruminant Research*. 2001. Vol. 41(3). P. 215–227. doi:10.1016/s0921-4488(01)00220-6
20. Feed intake, methane emissions, milk production and rumen methanogen populations of grazing dairy cows supplemented with various C 18 fatty acid sources / T. M. Boland, K. M. Pierce, A. K. Kelly, et al. // *Animals*. 2020. Vol.10 (12). P. 1–22. doi:10.3390/ani10122380
21. Effects of reductive acetogenic bacteria and lauric acid on in vivo ruminal fermentation, microbial populations, and methane mitigation in Hanwoo steers in South Korea / S. H. Kim, L. L. Mamuad, Y. J. Choi, et al. // *Animal science*. 2018 Vol. 96 (11). P. 4360–4367. doi:10.1093/jas/sky358
22. Effects of lauric and myristic acid on rumen methanogens and methanogenesis in vitro / C. R. Soliva, I. K. Hindrichsen, L. Meile, et al. // *Letters in Applied Microbiology*. 2003. Vol. 37 (1). P. 35–39. doi:10.1046/j.1472-765x.2003.01343.x
23. Боголюбова Н. В., Девяткин В. А. Роль факторов липидного питания в процессе метаногенеза у жвачных // *Успехи наук о животных*. 2025. №2. С.69–80. doi: 10.25687/3034-493X.2025.3.2.005
24. Боголюбова Н. В., Девяткин В. А., Некрасов Р. В. Метаболизм и газообразование в рубце овец при использовании в питании различных источников жира // *Аграрная наука Евро-Северо-Востока*. 2025. Т.26 (2). С. 379–387. doi: 10.30766/2072-9081.2025.26.2.379-387
25. Effect of Black Soldier Fly (*Hermetia illucens* L.) Fat on Health and Productivity Performance of Dairy Cows / R. V. Nekrasov, G. A. Ivanov, M. G. Chabaev, et al. // *Animals (Basel)*. 2022. Vol. 12. P. 2118–2137. doi: 10.3390/ani12162118
26. Kichamu N., Kusuma Astuti P., Kusza S. The Role of Insect-Based Feed in Mitigating Climate Change: Sustainable Solutions for Ruminant Farming // *Insects*. 2025 May 13. Vol.16 (5). P. 516. doi: 10.3390/insects16050516
27. Шейда Е. В., Рязанов В. А., Дускаев Г. К. Метаболические параметры и интенсивность метанообразования в рубцовой жидкости in vitro при тестировании рационов с добавками растительных препаратов и CoCl_2 // *Сельскохозяйственная биология*. 2023. Т. 58. №4. С. 713–725. doi:10.15389/agrobiology.2023.4.713 rus

References

1. 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. Vol. 110. R. 1–4. doi: 10.1016/j.ecolind.2019.105831
2. Samal L., Dash S. K. Nutritional Interventions to Reduce Methane Emissions in Ruminants. in book: *Animal Feed Science and Nutrition-Production, Health and Environment*. 2022. Vol. 10. P. 172. doi:10.5772/intechopen.101763
3. Full adoption of the most effective strategies to mitigate methane emissions by ruminants can help meet the 1.5 C target by 2030 but not 2050 / C. Arndt, A. N. Hristov, Price W. et al. // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2022. Vol. 119. No. 20. P. e2111294119. doi:10.1073/pnas.2111294119
4. Mitigation of greenhouse gas emissions in livestock production A review of options for non-CO2 emissions / A.N. Hristov, J. Oh, C. Lee, et al. // *Rome: fao*, 2013. 231 p. ISBN 978-92-5-107658-3
5. 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. Vol. 9. (10). R. 725. doi:10.3390/ani 9100725
6. Effects of protein supplementation to steers consuming low-quality forages on greenhouse gas emissions. A. L. Shreck, J. M. Zeltwanger, E. A. Bailey, et al. // *Animal Science*. 2021. Vol. 99 R. 7. doi: 10.1093/jas/skab147
7. Effect of tannins from tropical plants on methane production from ruminants: A systematic review E. Cardoso, E. Aranda-Aguirre, L. E. Robles Jimenez // *Veterinary and Animal Science*. 2021. Vol. 14. P. 100214. doi: 10.1016/j.vas.2021.100214
8. Effects of grass silage quality and level of feed intake on enteric methane production in lactating dairy cows1 / D. Warner, A. Bannink, B. Hatew, et al. // *Animal Science*. 2017. Vol. 95. (8). P. 3687–3699. doi:10.2527/jas.2017.1459
9. Selection for divergent methane yield in New Zealand sheep – a ten-year perspective / S. J. Rowe, S. M. Hickey, A. Jonker, et al. // *Proc. of the 23rd Conf. of the association for the advancement of animal breeding and genetics (AAABG)*, Armidale, New South Wales, Australia, 27 October – 1 November 2019. P. 306–309.
10. Archaea are interactive components of complex microbiomes / C. M. Eichinger, M. Pausan, J. Taffner, et al. // *Trends in microbiol*. 2018. Vol. 26(1). P. 70–85. doi: 10.1016/j.tim.2017.07.004. Epub 2017

11. Study of the rumen microbiome in sheep using molecular genetic methods (review) / E. M. Koloskova, K. S. Ostrenko, V. A. Yezersky, et al. // Problems of biology of productive animals. 2020. No. 4. P. 5-26. doi: 10.25687/1996-6733.prodanimbiol.2020.4.5-26
12. Shifts in rumen fermentation and microbiota are associated with dissolved ruminal hydrogen concentrations in lactating dairy cows fed different types of carbohydrates / M. Wang, R. Wang, T. Y. Xie et al. // Nutrition. 2016. Vol. 146. P. 1714-1721. doi:10.3945/jn.116.232462
13. Current enteric methane mitigation options / K. Beauchemin, E. Ungerfeld, A. L. Abdalla, et al. // Dairy Science. 2022. Vol. 105. Vol. 12. P. 9297-9326. doi:10.3168/jds.2022-22091
14. Dietary mitigation of enteric methane emissions from ruminants: A review of plant tannin mitigation options / B. R. Min, D. B. Parker, S. G. Solaiman, et al. // Animal Nutrition. 2020. Vol. 6 (3). P. 231-246. doi: 10.1016/j.aninu.2020.05.002
15. Full-fat insect meals in ruminant nutrition: in vitro rumen fermentation characteristics and lipid biohydrogenation / M. Renna, M. Coppa, C. Lussiana, et al. // Animal Science and Biotechnology. 2022. Vol. 13 (1). 138. P. 1-16. doi:10.1186/s40104-022-00792-2
16. The effects of dietary medium-chain fatty acids on ruminal methanogenesis and fermentation in vitro and in vivo: A meta-analysis / Y. R. Yanza, M. Szumacher-Strabel, A. Jayanegara, et al. // Animal physiology and animal nutrition. 2021. Vol. 105(5). P. 874-889. doi:10.1111/jpn.13367
17. Effect of forage/concentrate ratio and dietary coconut oil level on methane output and performance of finishing beef heifers / D. Lovett, S. Lovell, L. Stacket, et al. // Livestock production science, 2003, Vol. 84. P. 135–46. doi: 10.1016/j.livprodsci.2003.09.010
18. Methane formation in the rumen and methods for its reduction using alimentary factors (review) / N. V. Bogolyubova, A. A. Zelenchenkova, N. S. Kolesnik, et al. // Agricultural biology. 2022. Vol. 57. No. 6. P. 1025-1054. doi: 10.15389/agrobiol.2022.6.1025rus
19. Effects of dietary sunflower seed oil on rumen protozoa population and tissue concentration of conjugated linoleic acid in sheep / M. Ivan, P. S. Mir, K. M. Koenig et al. // Small Ruminant Research. 2001. Vol. 41(3). P. 215-227. doi:10.1016/s0921-4488(01)00220-6
20. Feed intake, methane emissions, milk production and rumen methanogen populations of grazing dairy cows supplemented with various C 18 fatty acid sources / T. M. Boland, K. M. Pierce, A. K. Kelly, et al. // Animals. 2020. Vol. 10 (12). P. 1-22. doi:10.3390/ani10122380
21. Effects of reductive acetogenic bacteria and lauric acid on in vivo ruminal fermentation, microbial populations, and methane mitigation in Hanwoo steers in South Korea / S. H. Kim, L. L. Mamuad, Y. J. Choi, et al. // Animal science. 2018 Vol. 96 (11). R. 4360-4367. doi:10.1093/jas/sky358
22. Effects of lauric and myristic acid on rumen methanogens and methanogenesis in vitro / C. R. Soliva, I. K. Hindrichsen, L. Meile, et al. // Letters in Applied Microbiology. 2003. Vol. 37 (1). P. 35-39. doi:10.1046/j.1472-765x.2003.01343.x
23. Bogolyubova N. V., Devyatkin V. A. The Role of Lipid Nutrition Factors in the Process of Methanogenesis in Ruminants // Advances in Animal Sciences. 2025. No. 2. P. 69-80. doi: 10.25687/3034-493X.2025.3.2.005
24. Bogolyubova N. V., Devyatkin V. A., and Nekrasov R. V. Metabolism and Gas Production in the Rumen of Sheep When Using Different Sources of Fat in Their Diet. Agrarian Science of the Euro-North-East. 2025. Vol. 26 (2). P. 379-387. doi: 10.30766/2072-9081.2025.26.2.379-387
25. Effect of Black Soldier Fly (*Hermetia illucens* L.) Fat on Health and Productivity Performance of Dairy Cows / R. V. Nekrasov, G. A. Ivanov, M. G. Chabaev, et al. // Animals (Basel). 2022. Vol. 12. P. 2118-2137. doi: 10.3390/ani12162118
26. Kichamu N., Kusuma Astuti P., Kusza S. The Role of Insect-Based Feed in Mitigating Climate Change: Sustainable Solutions for Ruminant Farming // Insects. 2025 May 13. Vol. 16 (5). P. 516. doi: 10.3390/insects16050516
27. Sheida E. V., Ryazanov V. A., Duskaev G. K. Metabolic parameters and intensity of methane formation in rumen fluid in vitro when testing diets with additives of herbal preparations and CoCl₂ // Agricultural Biology. 2023. Vol. 58. No. 4. P. 713-725. doi:10.15389/agrobiol.2023.4.713 rus