

ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора биологических наук, Ильиной Ларисы Александровны, профессора кафедры крупного животноводства Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный аграрный университет» на диссертационную работу Кван Ольги Вилориевны «Влияние кормовых добавок на микробиом, продуктивность и формирование элементного статуса цыплят-бройлеров», представленную в диссертационный совет 24.1.252.01 при Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий Российской академии наук», на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 4.2.4. - Частная зоотехния, кормление, технологии приготовления кормов и производства продукции животноводства.

Актуальность темы. Актуальность диссертационного исследования определяется тем, что на сегодняшний день многие аспекты влияния микро- и макроэлементов на метаболизм, здоровье и продуктивность сельскохозяйственных животных изучены недостаточно. В частности, не было получено достаточно сведений о механизмах их влияния на организм хозяина и, в частности, на микробиоту желудочно-кишечного тракта. Тип питания, качество корма и наличие в нем достаточного количества необходимых минеральных веществ могут оказывать существенное влияние на формирование структуры и функциональный профиль микробного сообщества ЖКТ сельскохозяйственных животных. Микроорганизмы кишечника птицы выполняют важнейшие функции в организме, связанные с ферментацией растительных кормов до доступных животным соединений, таких как ЛЖК (летучие жирные кислоты - ацетат, пропионат, бутират и прочие), липиды и другие.

В связи с этим перспективным направлением является поиск эффективных кормовых добавок, действие которого направлено на повышение иммунного статуса, метаболизма и продуктивности. Наибольший интерес представляет поиск натуральных и экологически безопасных препаратов. В данном аспекте изучение эффективности применения в рационах кормовых добавок, таких как пробиотические препараты, пищевые волокна, энтеросорбенты и ультрадисперсные частицы меди и железа, на микробиоту кишечника и элементный статус птицы представляет довольно актуальную задачу.

Современный молекулярно-генетический инструментарий позволяет детально отследить эффективность биологически активных добавок на организм птицы. Несомненно, симбиотические микроорганизмы, выполняют

важную функциональную роль в пищеварительных процессах сельскохозяйственной птицы. В условиях данного симбиотического взаимодействия основная функциональная роль микроорганизмов – обеспечение организм хозяина питательными соединениями. Метод NGS-секвенирования, основанный на анализе последовательностей гена 16S рРНК, представляет один из наиболее востребованных на сегодняшний день молекулярных методов для «омиксных» исследований. Он позволяет детально охарактеризовать изменения в микробных сообществах таких сложных экосистем, как микробиом кишечника птицы, что позволяет по-новому взглянуть на структуру и функции этих сложных микробных сообществ при различных воздействиях

В связи с этим, диссертационное исследование Кван О.В., целью которого изучение влияния кормовых добавок на микробиом и минеральный обмен (уровень и состав эндогенных потерь химических элементов), для формирования новых решений по оптимизации элементного статуса и повышения продуктивности цыплят-бройлеров, обладает высокой актуальностью и значимостью.

Подтверждением актуальности диссертационного исследования является то, что она реализована в соответствии с тематическим планом научно-исследовательских работ ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный университет» (2011-2024 годы №АААА-Б17-217061340056-1) и ФГБНУ ФНЦ БСТ РАН по программе ФНИ № НИОКТР 122051800020-1, № 0761-2019-005, при финансовой поддержке гранта на проведение крупных научных проектов по приоритетным направлениям научно-технического развития (№ 075-15-2024-550).

Научная новизна исследований заключается в разработке фундаментальных основ оценки действия кормовых добавок на эндогенные потери из организма сельскохозяйственной птицы эссенциальных химических элементов.

В рамках данных исследований получены новые знания о воздействии пробиотических штаммов *B. longum*, *B. subtilis* на продуктивность, прирост живой массы и минеральный обмен в организме цыплят-бройлеров. Так, в ходе исследований выявлены более значительные потери химических элементов эндогенного происхождения из организма при использовании в рационах цыплят-бройлеров препарата на основе *B. subtilis*.

Кван О.В. с применением современных молекулярно-генетических подходов получены новые данные о взаимосвязи микробиоты кишечника с элементным статусом и составом мяса цыплят-бройлеров.

Впервые были выявлены закономерности изменения и корреляционная зависимость между численностью микроорганизмов в кишечнике птицы и размеров пулов химических элементов в организме подопытных цыплят-бройлеров под влиянием различных кормовых добавок. В серии экспериментов получены новые данные и были определены закономерности профиля эндогенных потерь эссенциальных химических элементов при использовании в рационах птицы энтеросорбентов, пищевых волокон и ультрадисперсных частиц. В частности, было описано селективное действие энтеросгеля и активированного угля на обмен химических элементов в организме цыплят-бройлеров с выраженной депрессией пулов токсических элементов (ртути, свинца и алюминия) и эндогенного пула селена, с увеличением усвояемости и эффективности использования эндогенного марганца, экзогенного кобальта, цинка и меди.

Полученные автором результаты послужили основой разработки способов снижения эндогенных потерь эссенциальных химических элементов у цыплят (RU 2759845, 2720469). Предложены решения по созданию новых кормовых средств для сельскохозяйственной птицы, защищённые патентами (RU 2800836, 2778756, 2673808, 2790872)

Практическая и теоретическая значимость полученных результатов также не вызывает сомнений. Теоретические положения диссертационной работы раскрыты полно и глубоко. По теме исследования собран обширнейший теоретический и экспериментальный материал, что является несомненным достоинством работы и имеет несомненную практическую значимость. Получены новые фундаментальные знания по возможности снижения норм минеральных веществ в рационе цыплят-бройлеров, что позволит создать предпосылки к снижению экологической нагрузки промышленных птицеводческих предприятий.

В частности, полученные научные результаты изучения воздействия энтеросгеля на микробиоту кишечника, в частности в связи с минеральным обменом в организме цыплят-бройлеров. Использование энтеросгеля сопровождалось активацией представителей бактерий рода *Bacteroides* которые имели достоверную корреляционную связь с 17 химическими элементами в организме птицы. Использование активированного угля было ассоциировано с обменом 9 химических элементов.

Полученные фундаментальные знания позволили автору разработать новые подходы к нормированию минерального питания и возможности снижения эндогенных потерь эссенциальных химических элементов у цыплят-бройлеров с учетом коррекции микробиома кишечника.

Результаты исследований будут способствовать повышению биологической полноценности мяса птицы по содержанию эссенциальных химических элементов, снизить содержание токсических элементов (алюминия, свинца, ртути, кадмия и других). При этом будет достигнуто повышение продуктивности цыплят-бройлеров, с общим повышением рентабельности производства мяса на 3-7 %.

Степень достоверности и обоснованности научных положений диссертационной работы. Достоверность и обоснованность научных положений диссертационного исследования, проведенного в период 2010-2024 гг. в Институте биоэлементологии ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный университет» и в отделе кормления сельскохозяйственных животных и технологии кормов им. профессора С.Г. Леушина ФГБНУ «Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий Российской академии наук» (ФНЦ БСТ РАН) (до 2017 года Всероссийский научно-исследовательский институт мясного скотоводства), подтверждается достаточным количеством и репрезентативностью наблюдений, проб и выборок, применением современного оборудования, методик, соответствующих поставленным в работе целям и задачам. Для достижения поставленной в диссертационной работе цели и задач применяли зоотехнические, биохимические, молекулярно-генетические, экономические и биометрические методы исследований. При проведении исследований использовали материально-техническую и методическую базы ЦКП ФНЦ БСТ РАН; ЦКП Института микро- и нанотехнологий Оренбургского государственного университета; ЦКП «Персистенция микроорганизмов» ФГБУН «Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза Уральского отделения Российской академии наук», Института химии и технологии редких элементов и минерального сырья им. И.В. Тананаева Кольского научного центра Российской академии наук, птицеводческих хозяйств Оренбургской области.

Научные положения, выводы и рекомендации, сформулированные в диссертации, подкреплены убедительными фактическими данными, наглядно представленными в приведенных таблицах и рисунках. Подготовка, статистический анализ и интерпретация полученных результатов проведены с использованием современных методов обработки информации и статистического анализа (в т.ч., программных пакетов Statistica 10.0).

Сформулированные положения, выводы и рекомендации достоверны, строго обоснованы, не противоречат друг другу и логично вытекают из проведенных исследований.

В цикле исследований, составляющих диссертационную работу, Ольге Вилориевне Кван принадлежит основная роль в разработке плана и тематики экспериментов, выборе спектра методик исследований, выполнении экспериментов, осмыслении и обобщении полученных данных, в опубликовании печатных трудов.

Обоснованность и достоверность полученных результатов исследований, научных положений и рекомендаций подтверждены их апробацией на международных научно-практических конференциях, а также многочисленных публикациях. Автором по результатам исследований была опубликована 36 научных работ, в том числе 13 статей в периодических изданиях, рекомендованных ВАК при Минобрнауки Российской Федерации, 15 статей в изданиях, индексируемых в базах Web of Science и Scopus. Новизна исследований подтверждена 6 патентами РФ на изобретения, 2 свидетельствами на базы данных.

Оценка содержания, завершенности диссертации и качества ее оформления. Диссертация написана по традиционной схеме и включает следующие разделы: введение, оглавление, текст диссертации, включающий введение, основную часть, заключения, предложений производству, перспектив дальнейшей разработки темы, списка литературы и 10 приложений. Материалы диссертации изложены на 360 страницах машинописного текста. Работа проиллюстрирована 89 таблицами и 89 рисунками, указатель литературы содержит 565 источников, в том числе 73 отечественных и 492 зарубежных.

Введение построено по традиционной схеме. Во введении автором диссертации обоснована актуальность выбранной темы, поставлена цель и задачи, представлена научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы, степень достоверности и апробации исследований, а также положения, выносимые на защиту. Цель и вытекающие из нее задачи четко сформулированы и реализованы в работе, нашли свое отражение в положениях, выносимых на защиту, а также в выводах диссертации.

В разделе «Обзор литературы» представлены литературные данные, посвященные анализу исследований по изучаемому направлению. Представлен обзор современных представлений о роли нормальной микробиоты кишечника в жизнедеятельности сельскохозяйственных животных. Охарактеризованы сведения о кормовых добавках, которые используются для коррекции микробиомов пищеварительного тракта. В частности, рассмотрено влияние пробиотиков, энтеросорбентов для коррекции микробиома. Представлены современные представления о взаимодействии микробиома с организмом хозяина в аспекте связи с

обменными процессами химических элементов. Рассмотрены оптимальные пути снижения эндогенных потери веществ.

В разделе «Материалы и методы» приведены объекты исследования, материалы и методики исследований, в т.ч. производственной проверки добавки. Дано подробное описание методов анализа. При выполнении диссертационной работы применялись общие методы научного познания, физиологические, биохимические, биометрические, зоотехнические методы исследований, а также современные молекулярно-генетические методики и рассчитывалась экономическая эффективность.

В разделе «Результаты экспериментальных исследований» приведены результаты исследований.

В разделе 3.1 представлены результаты первого этапа исследований, посвященных лабораторным исследованиям по оценке используемых пробиотических препаратов *in vitro*. В ходе исследований были определены оптимальные рабочие концентрации исследуемых химических соединений микроэлементов в отношении тестируемых бактериальных штаммов.

В разделах 3.2.-3.3. представлены результаты исследований по испытанию кормовых добавок, включая пробиотические препараты (штаммы *B. sibtillis* и *B. longum*), пищевые волокна (целлюлоза, лактулоза, хитозан), энтеросорбенты (энтеросгель, активированный уголь) и ультрадисперсные частицы (УДЧ) в рационах птицы.

Кван О.В. в серии экспериментов получены результаты оценки действия кормовых добавок на обмен веществ, элементный статус и микробиоценоз кишечника цыплят-бройлеров. На основе полученных результатов была дана оценка величины эндогенных потерь химических элементов из организма птицы.

На следующем этапе выполнена серия экспериментальных исследований по оценке действия кормовых добавок, на минеральный обмен, продуктивность и микробиоценоз кишечника цыплят-бройлеров на фоне сбалансированного рациона.

На заключительном этапе проведены экспериментальные производственные проверки оценке действия: пробиотических препаратов (штаммы *B. sibtillis* и *B. longum*), пищевых волокон (целлюлоза, лактулоза, хитозан), энтеросорбентов (энтеросгель, активированный уголь) и УДЧ меди и железа, находящихся на сбалансированном рационе.

В главе «Обсуждение полученных результатов» соискателем интерпретированы собственные результаты исследований, проведено сопоставление их с имеющимися литературными данными, что в конечном

итоге позволило сформулировать 10 выводов и сделать объективные предложения производству.

Заключение диссертации вытекает из данных собственных исследований, и выводы являются логичными ответами на поставленные для решения задачи.

Предложения производству научно и практически обоснованы и являются логическими завершением работы.

В целом, диссертационная работа О.В. Кван является результатом глубокого научного исследования и вносит существенный вклад в решение научных и практических проблем в области птицеводства. Диссертация имеет вид законченного научного труда, выполненного на высоком научно-методическом уровне. Анализируемый материал иллюстрирован рисунками, работа написана доступным языком, легко читается.

Автореферат диссертационной работы в полной мере отражает весь объем выполненных научных исследований.

Положительно оценивая диссертационную работу Кван Ольги Вилориевны, следует отметить имеющиеся в ней неясные моменты и замечания.

1) В диссертационной работе приведено значительное количество табличного и графического материала, что несомненно является преимуществом работы. Тем не менее, некоторые из них довольно трудны к восприятию. Так, в разделе 3.2.1.7 не указано описание части «а» и «б» в подписи к рисунку 9 – Микробиоценоз кишечника цыплят-бройлеров при введении пробиотических препаратов. Аналогично, не расшифровано описание к рисункам 34, 55.

2) В разделе 3.3.1.6 при изучении таксономического состава микробиоты представлено три таблицы (49, 50, 51 и др.), характеризующие таксономический состав (преобладающие таксоны) микробиома кишечника птицы (Таблица 49 – Представленность бактериальных таксонов в кишечнике цыплят-бройлеров в контрольной группе, таблица 50 – в опытной группе I, таблица 51 – в опытной группе II). Стоило бы представить указанные результаты в виде одной объединённой таблицы или одного рисунка, где наглядно бы прослеживались изменения микробиома кишечника птиц при различных условиях кормления.

3) В таблице 51 представлена информация о таксономическом составе микробиоты кишечника птицы. В графе, где представлены данные по филуму *Proteobacteria* в графах опытных групп отмечено «нет данных». Что означает данное выражение?

4) При описании таксономического состава микробиоты практически нигде по тексту диссертационной работы не представлен таксономический ранг (род, семейство, филум и т.п.), что вызывает затруднения при ознакомлении с работой. Например, на странице 196 указаны названия *Proteobacterium* и *Bacteroidetes*, без указания ранга «фила».

Вопросы, возникшие в ходе ознакомления с текстом диссертации:

1) С чем может быть связано достоверное повышение содержания мочевой кислоты в опытной группе I при добавлении в рацион цыплят железа в дозировке 17 мг/кг до $215,2 \pm 10,3$ мкмоль/л, превышающее значения в контрольной группе и опытной группе II при добавлении меди (стр.188).

2) В материалах диссертации при описании результатов приводится формулировка описания исследования элементов «в теле экспериментальной птицы» (например, стр. 146 пункта 3.2.4.6 Минеральный обмен в организме цыплят-бройлеров) или «микроэлементов в организме опытной птицы». В связи с этим неясно в каких тканях организма оценивалось содержание элементов?

3) Исследования проводили в условиях ЗАО «Птицефабрика Оренбургская» на цыплятах-бройлерах кросса «Арбор Айкрес». По мнению автора, справедливы ли будут изученные закономерности по влиянию кормовых добавок на микробиоту кишечника и элементный статус организма, для других кроссов птицы?

4) По данным производственной проверки и оценки экономической эффективности (раздел 3.3.2.7, таблица 65) была ли учтена стоимость пробиотического препарата Соя бифидум? Аналогично и для других исследуемых кормовых добавок.

5) Как автор может прокомментировать существенное снижение затрат на прирост живой массы цыплят-бройлеров I опытной группы при использовании в рационах ОР совместно с микрокристаллической целлюлозой (E460), данные таблицы 66 – Поедаемость и затраты корма на прирост живой массы подопытных цыплят-бройлеров. Может ли это быть связано с содержанием микробиоты кишечника или эссенциальных и условно-эссенциальных элементов в теле цыплят-бройлеров?

Конкретные результаты по использованию результатов и выводов диссертации. Полученные О.В. Кван результаты исследований позволяют рекомендовать их для широкого применения на птицефабриках и фермерских хозяйствах для повышения продуктивности цыплят-бройлеров путем нормализации кишечного пищеварения под влиянием кормовых добавок пробиотического, пребиотического, сорбционного действия и ультрадисперсных частиц микроэлементов.

