

ОТЗЫВ

официального оппонента Вертипрахова Владимира Георгиевича, доктора биологических наук, профессора, и.о. заведующего кафедрой физиологии, этологии и биохимии животных ФГБОУ ВО «Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева» на диссертационную работу Меликиди Вероники Христофоровны на тему: «Эффективность применения пробиотических кормовых добавок на фоне содержания глифосата в кормах для сельскохозяйственной птицы», представленную к защите в диссертационный совет 35.2.033.03 при ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный аграрный университет» на соискание ученой степени кандидата сельскохозяйственных наук по специальности 4.2.4 частная зоотехния, кормление, технологии приготовления кормов и производства продукции животноводства.

Актуальность темы. Для дальнейшего развития птицеводства в РФ необходимо использовать для приготовления комбикормов сырье высокого качества. С учетом того, что пшеница занимает одно из лидирующих положений в составе рациона птицы, имеет большое значение качество данной зерновой культуры. Известно, что при выращивании зерновых культур используются для повышения их продуктивности гербициды, фунгициды и инсектициды. Пестицид глифосат используется повсеместно во всем мире как гербицид и десикант. Остаточные количества могут накапливаться в растительных тканях кормовых культур (Борисова и др., 2022; Петрова и др., 2020; Медведев, 2019 и др.) и попадать с кормом в организм птицы.

В связи с этим диссертационная работа Меликиди В.Х., направленная на разработку перспективных кормовых добавок, способных нейтрализовать остаточные их количества в корме при движении по пищеварительному каналу, является актуальной и имеет научное и практическое значение для птицеводства страны.

Научная новизна исследований. Впервые на значительном количестве проб были выполнены исследования по определению содержания в них глифосата. Экспериментально определены перспективные пробиотические бактерии, обладающие способностью разрушать молекулу глифосата. Выполнена апробация разработанной схемы в научно-производственном эксперименте на цыплятах-бройлерах и курах-несушках.

Теоретическая и практическая значимость работы. Экспериментально установлено, что глифосат оказывает негативное влияние на продуктивность цыплят-бройлеров и кур-несушек. Показано, что некоторые пробиотические виды бактерий способны разрушать глифосат,

синтезировать полезные для кишечника птицы метаболиты. Разработаны две кормовые добавки на основе пробиотических видов бактерий для улучшения состояния микробиоценоза желудочно-кишечного канала птицы и поддержания высокого уровня продуктивности при наличии глифосата в кормах.

Степень обоснованности научных положений, выводов и предложений производству, сформулированных в диссертации. В основе методологии выполненных исследований лежат научные положения, изложенные в трудах отечественных и зарубежных ученых. Исследования проводили с использованием современных методов: содержание глифосата в кормах определяли методом ИФА, бактерии определяли классическими методами микробиологии, биохимические свойства культур пробиотических штаммов определяли с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии, газо-жидкостной хроматомасс-спектрометрии, микрофлору желудочно-кишечного канала цыплят-бройлеров анализировали, используя метод полногеномного секвенирования NGS. Сформулированные выводы и практические предложения базируются на результатах исследований. Данные исследований биометрически обработаны методами вариационной статистики на персональном компьютере с использованием программы Microsoft Excel 2010.

По материалам диссертации опубликовано 16 работ, в том числе 8 работ в изданиях, включенных в перечень ВАК Министерства науки и высшего образования РФ, в том числе 1 статья, индексируемая в МБД (SCOPUS), 1 учебном пособии.

Соответствие диссертации и автореферата требованиям Положения о порядке присуждения ученых степеней. Диссертационная работа Меликиди В.Х. представляет собой завершенную научно-исследовательскую работу на актуальную тему. Новые научные результаты, полученные соискателем, имеют существенное значение для науки и практики. Выводы и предложения достаточно обоснованы. Диссертационная работа соответствует требованиям «Положения о порядке присуждения ученых степеней» и соответствует специальности 4.2.4 частная зоотехния, кормление, технологии приготовления кормов и производства продукции животноводства.

Личный вклад соискателя в разработку научной проблемы заключается в том, что автор непосредственно принимала участие в выполнении исследований с 2017 по 2023 год. Меликиди В.Х. проводила исследования по определению глифосата в кормах, участвовала при выполнении опыта с пробиотическими бактериями, при проведении научно-

хозяйственных опытов на птице, анализе полученных данных, статистической обработке, при написании и оформлении научных статей, формулировании заключения и рекомендаций производству.

Оценка содержания, завершенности работы и качества её оформления. Представленная диссертационная работа изложена на 139 страницах компьютерного текста и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, результатов исследования, заключения, списка литературы и 2 приложений. Список используемой литературы включает в себя 179 источников, из них 76 – иностранных авторов. Работа иллюстрирована 25 таблицами и 19 рисунками.

Во «Введении» достаточно аргументированно обосновывается актуальность работы, степень разработанности темы, новизна, научная и практическая значимость работы, формируются цель и задачи, а также основные положения, выносимые на защиту диссертации.

В разделе «Обзор литературы» соискателем представлены сведения о глифосате и его свойствах, рекомендации по применению. В подразделе приводятся сведения об уровнях содержания глифосата в объектах окружающей среды. Приведены данные о том, что в ряде Европейских стран и США остаточные количества глифосата обнаружены в 23% проверенных образцов мяса и рыбы. В Швейцарии 90% образцов пшеницы, 80% хлопьев для завтрака, 70% хлеба содержали остатки глифосата. Наиболее высокие дозы глифосата обнаружили в образце пшеницы из Италии, превышающий ПДК в 25 раз. Остатки глифосата обнаружены в овощах и бобовых культурах, а также в меде, причем в большей половине образцов концентрация была выше допустимой.

В следующем подразделе приводятся данные о токсическом действии глифосата для человека и животных. В соответствии с Постановлением государственного санитарного врача РФ от 28.01.2021 №2 «Об утверждении санитарных правил и норм СанПиН 1.2.3685-21» препараты на основе глифосата отнесены к 3 классу опасности для человека и 3 классу опасности для пчел. Однако вопросы токсичности глифосата остаются дискуссионными в обществе и требуют дальнейших исследований. Приводятся данные обзора литературы (Gillezeau et al., 2019), свидетельствующие об обнаружении глифосата в моче у садоводов, работающих с данным препаратом; у беременных и лактирующих женщин. Вопрос об ограничении использования глифосата в растениеводстве актуален в связи с повышением дозы внесения пестицида в почву. Соискатель приводит данные о том, что в публикациях, посвященных воздействию глифосата на организм животных и человека, особое внимание уделяется влиянию этого пестицида на микробиом

желудочно-кишечного канала. Имеются данные по птице, приводятся результаты исследований, которые показали отрицательное действие на систему крови, репродуктивные качества, функцию печени, состав микробиома кишечника.

Следующий подраздел «Обзора литературы» посвящен уровню содержания глифосата в кормах для птицы. Соискатель приходит к выводу, что информации недостаточно для полного анализа ситуации по этому вопросу и предлагает продолжить исследования по изучению пестицида в культурах, используемых для производства комбикормов в РФ.

В следующем подразделе Меликиди В.Х. приводит данные литературы по методам снижения концентрации токсичных веществ в кормах и других объектах, указывая, что для этого применяют различные способы (органические кислоты, аммиак, озон, температурную обработку, применение УФ-облучения). Также имеет место применение сорбентов. Но наиболее эффективным методом является использование микроорганизмов, которые разрушают токсичные вещества с помощью специфических ферментов. Тем более, что в практике птицеводства широко используют пробиотические микроорганизмы. Этому посвящен еще один подраздел «Обзора литературы» в диссертации. Показано, что бактерии должны обладать рядом критериев, а именно, проходить через агрессивную среду желудочно-кишечного канала животных в неизменном виде, быть толерантными к нормофлоре животных, быть безопасными для человека и животных.

В следующем подразделе соискатель раскрывает механизм действия пробиотиков в желудочно-кишечном тракте птицы. Указывает на то, что каждый микроорганизм обладает характерным для него механизмом действия. Одним из наиболее изученных является механизм антагонистического действия пробиотиков на патогенную и условно-патогенную микрофлору. Пробиотики могут действовать, как стимуляторы иммунитета, обладать адгезией пробиотических бактерий к стенкам пищеварительного канала для предотвращения колонизации патогенными бактериями. В итоге соискатель, анализируя синтез метаболитов пробиотическими бактериями, приходит к заключению о том, что основным путем биodeградации глифосата является - микробиологический, что является основной задачей данной диссертационной работы.

Раздел «Материал и методы исследований» диссертации позволяет проанализировать характер и количество исследованного научного материала, методы, использованные в данной работе.

Раздел «Результаты исследования» представлен подробным анализом и описанием экспериментального материала, документированного таблицами и

рисунками. В разделе 3.1 «Анализ содержания глифосата в образцах кормов растительного происхождения в кормах» соискатель приводит данные, что в 70% образцов кормов обнаружили глифосат в диапазоне концентраций от $0,075 \pm 0,005$ мкг/кг до $0,687 \pm 0,089$ мг/кг.

В работе показано, что способностью биологического разрушения глифосата обладают пробиотические культуры *Enterococcus faecium* 1-35, *Bacillus subtilis* 1-85 и *Bacillus megaterium* – 4801, которые снижают концентрацию глифосата в смеси бактерий с глифосатом, соответственно, на 48, 45 и 69%. В исследованиях с использованием метода ВЭЖХ показатели составили: с *Enterococcus faecium* 1-35 – 48,0%, *Bacillus subtilis* 1-85 – 32,8%.

Соискателем были выполнены исследования по определению выживаемости бактерий в условиях имитации кислой среды желудка и щелочной среды в присутствии ферментов кишечника. Обнаружена способность бактерий к устойчивости в кислой среде и способности роста и размножения в среде «кишечника» *in vitro*. Изучение соискателем метаболитного профиля бактерий показало, что в присутствии *Bacillus megaterium* – 4801 значительно повышается рН среды, общий белок и снижается сухой остаток почти в 2 раза. В среде с бактерией *Enterococcus faecium* 1-35 наблюдалось снижение всех приведенных показателей, что было связано с накоплением молочной и уксусной кислот.

Применение добавки «Пробиоцид-Ультра» на фоне глифосата в рационах цыплят-бройлеров улучшает состояние микрофлоры слепых отростков кишечника. При кормлении бройлеров глифосатсодержащими кормами увеличивается количество патогенных микроорганизмов в кишечнике цыплят-бройлеров.

На курах-несушках соискателем был выполнен научно-хозяйственный опыт по влиянию на зоотехнические показатели глифосата и глифосата в комплексе с препаратом «Целлобактерин+». Яйценоскость на среднюю несушку за период опыта (35 суток) во 2 группе (ОР+ глифосат) снизилась на 0,64%, а в 3 группе (ОР+глифосат+ «Целлобактерин+») – повысилась на 1,3%. В опытной группе с глифосатом повысился расход корма на 1,6%, а в опытной группе с глифосатом и добавкой «Целлобактерина+» снизился на 4,0% по сравнению с контрольной группой. Производственный опыт показал экономическую эффективность от использования добавки «Целлобактерин+». Рентабельность в опытной группе по сравнению с контрольной увеличилась на 2,9%.

В заключительном разделе диссертации приведено обсуждение полученных результатов, сделаны выводы и сформулированы рекомендации

производству, что придает исследованиям завершенный характер и свидетельствует об их полноте и научной обоснованности.

Полученные В.Х. Меликиди результаты исследований, выводы и предложения, приведенные в автореферате, полностью соответствуют содержанию диссертации и опубликованным работам.

Оценивая в целом диссертационную работу Меликиди Вероники Христофоровны положительно, считаю необходимым указать на имеющиеся в ней отдельные недостатки и высказать пожелания, а на некоторые вопросы получить пояснения:

1. При выполнении исследований с использованием ВЭЖХ из трех бактерий изучали взаимодействие с глифосатом двух, а бактерии *Bacillus megaterium* – 4801 в данном опыте не было. С чем это связано?
2. Как можно объяснить повышение рН в среде с *Bacillus megaterium* – 4801 (стр.77) и обнаружение при этом большого количества органических кислот?
3. При обсуждении результатов желательно приводить данные литературы, которые либо согласуются с Вашими результатами, либо противоречат им. В этом случае можно понять, что нового Вы внесли в изучение данной проблемы.
4. В тексте встречаются опечатки и некорректные высказывания.
5. К сожалению, в приложении диссертации отсутствует акт внедрения.

Указанные замечания и пожелания не снижают научной и практической значимости выполненной работы. Диссертация построена логично, её структура и содержание соответствуют цели и задачам исследования. Содержание автореферата соответствует основным положениям диссертации.

Заключение

Представленная диссертационная работа Меликиди Вероники Христофоровны на тему «Эффективность применения пробиотических кормовых добавок на фоне содержания глифосата в кормах для сельскохозяйственной птицы» является завершенной научно-исследовательской работой, выполненной на современном методическом и теоретическом уровне. Содержит перспективное решение актуальной задачи по повышению продуктивности и здоровья сельскохозяйственной птицы за счет уменьшения токсичности кормов. Считаю, что диссертация Меликиди Вероники Христофоровны по актуальности темы, новизне исследований,

научной и практической значимости, их объективности и достоверности соответствует пп. 9-11, 13, 14 «Положения о присуждении ученых степеней» ВАК Российской Федерации от 24.09.2013 года № 842, а её автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата сельскохозяйственных наук по специальности 4.2.4 частная зоотехния, кормление, технологии приготовления кормов и производства продукции животноводства.

Официальный оппонент,
доктор биологических наук (специальность
03.00.13 – физиология человека и животных),
профессор кафедры физиологии, этологии
и биохимии животных, и.о. заведующего
кафедрой ФГБОУ ВО «Российский государственный
аграрный университет-МСХА имени К.А. Тимирязева»

Вертипрахов Владимир Георгиевич

127434, РФ, г. Москва, ул. Тимирязевская, 49, ФГБОУ ВО «Российский
государственный аграрный университет-МСХА имени К.А. Тимирязева»
Телефон: +7-499-976-3919, e-mail: vertiprahov@rgau-msha.ru
09.03.2024

ПОДПИСЬ
ЗАВЕРЯЮ

М.А. Пастухова

Председателю диссертационного
совета 35.2.033.03 на базе
федерального государственного
бюджетного образовательного
учреждения высшего образования
«Санкт-Петербургский государственный
аграрный университет»
д.в.н., профессору В.Ю. Морозову

СВЕДЕНИЯ ОБ ОФИЦИАЛЬНОМ ОППОНЕНТЕ

по диссертации Меликиди Вероники Христофоровны на тему: «Эффективность применения пробиотических кормовых добавок на фоне содержания глифосата в кормах для сельскохозяйственной птицы», представленной на соискание ученой степени кандидата сельскохозяйственных наук по специальности 4.2.4. Частная зоотехния, кормление, технологии приготовления кормов и производства продукции животноводства (сельскохозяйственные науки).

Фамилия, Имя, Отчество	Вертипрахов Владимир Георгиевич
Гражданство	Россия
Ученая степень и отрасль науки	Доктор биологических наук
Шифр и наименование специальностей, по которым защищена диссертация	03.00.13 – физиология человека и животных
Ученое звание, присвоенное ВАК (при наличии)	Доцент
Должность	и.о. заведующего кафедрой, профессор
Название структурного подразделения	Кафедра физиологии, этологии и биохимии животных
Название организации полное и сокращенное (согласно Уставу)	Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А.Тимирязева» ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева
Почтовый индекс, адрес места работы	127434, г. Москва, Тимирязевская ул., 49
Телефон	(499) 976-37-38
Электронный адрес	vertiprahov@rgau-msha.ru
Официальный сайт организации	www.timacad.ru

Список основных публикаций по теме диссертации в рецензируемых научных изданиях за последние 5 лет:

1.Эффективный метод оценки действия фитазы в организме кур-несушек / Вертипрахов В.Г., Борисенко К.В., Овчинникова Н.В., Полина С.И.// Ветеринария и кормление. 2023. №3. С.20-23.

2. Влияние фитазы на белковый и липидный обмен у кур / Борисенко К.В., Вертипрахов В.Г., Кралинина А.В. // Птица и птицепродукты. 2023. №5. С. 37-40.

3. Дуоденально-илеальное соотношение пищеварительных ферментов при использовании разных белковых добавок в рационе кур-несушек / Полина С.И., Вертипрахов В.Г., Сергеенкова Н.А., Еременко В.В. // Международный вестник ветеринарии. 2023. № 3. С. 145-155.

4. Постпрандиальная динамика холестерина в панкреатическом соке и крови птицы / Вертипрахов В.Г., Кислова И.В., Овчинникова Н.В., Кощеева М.В. // Зоотехния. 2022. № 8. С. 21-24.

5. Активность ферментов в желточном мешке у цыплят-бройлеров в постэмбриогенезе / Вертипрахов В.Г., Овчинникова Н.В., Кислова И.В. // Птица и птицепродукты. 2022. № 6. С. 40-44.

6. Жировой обмен у кур-несушек на фоне разного липидного компонента в рационе / Вертипрахов В.Г., Кислова И.В., Овчинникова Н.В., Кощеева М.В. // Ветеринария и кормление. 2022. № 6. С. 16-20.

7. Возрастные изменения активности ферментов в поджелудочной железе, кишечнике и плазме крови цыплят-бройлеров кросса Смена-9 / Вертипрахов В.Г., Грозина А.А., Овчинникова Н.В., Кислова И.В. // Российская сельскохозяйственная наука. 2022. № 3. С. 62-67.

8. Эффективность комплексного препарата для коррекции пищеварения у цыплят-бройлеров (*Gallus Gallus L.*) при экспериментальном микотоксикозе / Вертипрахов В.Г., Грозина А.А., Йылдырым Е.А., Гогина Н.Н., Кислова И.В., Овчинникова Н.В., Кощеева М.В. // Сельскохозяйственная биология. 2022. №4. Т.57. С. 730-742

9. Качество пищевых яиц кур в зависимости от времени их снесения / Кавтарашвили А.Ш., Новоторов Е.Н., Вертипрахов В.Г. // Птица и птицепродукты. 2021. №5. С.18-21.

10. Содержание Т-2 и НТ-2 микотоксинов в кормах и их влияние на переваримость питательных веществ у бройлеров / Вертипрахов В.Г., Гогина Н.Н. // Кормление сельскохозяйственных животных и кормопроизводство. 2021. № 6(191). С. 39-56.

И.о. заведующего кафедрой,
профессор кафедры физиологии,
этологии и биохимии животных
ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА
имени К.А. Тимирязева,
доктор биологических наук,
доцент

 Вертипрахов В.Г.

«16» января 2024г.

ПОДПИСЬ
ЗАВЕРЯЮ

