

## ОТЗЫВ

### официального оппонента

на диссертацию Цицкиевой Карины Руслановны «Биологические и продуктивные показатели рыб при применении разных композиций пробиотических организмов», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности – 4.2.6 Рыбное хозяйство, аквакультура и промышленное рыболовство.

**Актуальность исследования.** Ключевым условием успешного разведения рыбы служит создание среды, способствующей ускоренному росту и укреплению сопротивляемости организма инфекциям. При выращивании молоди в искусственных водоёмах вероятность вспышек болезней существенно возрастает из-за накопления условно-патогенной микрофлоры и органических отходов в воде, что создаёт избыточную нагрузку на иммунитет и, как итог, ослабляет физиологическое состояние особей. Применение противомикробных препаратов в целях профилактики и терапии, в свою очередь, повышает риск появления резистентных к ним штаммов микробов.

В этой связи всё более востребованным становится поиск новых результативных методов биологической защиты рыб, которые сочетали бы стимуляцию иммунной системы, подавление условно-патогенных микроорганизмов, нормализацию кишечной микробиоты, повышение ферментативной активности и ускорение метаболизма. Особого внимания заслуживает использование целевых микроорганизмов — пробиотиков, способных вырабатывать вещества с противомикробным действием, активировать иммунную защиту, укреплять барьерную функцию кишечника, корректировать его микробиоценоз, а также продуцировать пищеварительные ферменты, аминокислоты (в том числе незаменимые) и витамины. Исследования многих авторов показали, что использование пробиотиков в рыбоводстве позволяет снизить смертность и заболеваемость рыб, повысить выживаемость и темпы роста, улучшить кормовой коэффициент и, главное, получить экологически чистую продукцию. Несмотря на многочисленные преимущества, применение пробиотиков требует тщательного подхода. Важно учитывать совместимость штаммов друг с другом и с видом рыбы. Для каждого вида рыб необходима оптимизация дозировок и схем введения. Кроме того, необходимо исследование долгосрочных эффектов на микробиом и экосистему водоёма.

Исходя из вышесказанного, исследование влияния разных композиций пробиотических организмов на формирование продуктивных качеств молоди стерляди и форели при разведении в хозяйствах промышленного типа представляется своевременным и актуальным. Решение проблемы позволит увеличить производство этого ценного вида рыбы в России.

**Научная новизна работы.** Впервые исследована эффективность воздействия двух пробиотических комплексов: первого, включающего спорообразующие бактерии *B. subtilis*, *B. licheniformis* совместно с молочнокислыми *E. faecium*, и второго — из спорных *B. subtilis*, *B. licheniformis*, *B. amyloliquefaciens*. Оценивалось их влияние на микробиоту спирального отдела кишечника у молоди стерляди, а также на активность пищеварительных гидролаз у двух видов: у молоди стерляди, выращенной в установке замкнутого водоснабжения (УЗВ), и у молоди радужной форели, содержащейся в бассейнах с проточной водой.

При культивировании молоди стерляди в условиях повышенной жёсткости воды (с компенсационной целью) с использованием комбинации *B. subtilis*, *B. licheniformis* и *E.*

*faecium* было зафиксировано возрастание активности нитрифицирующих бактерий и снижение биохимического потребления кислорода (БПК).

Впервые показано, что введение в корм указанных пробиотических композиций уменьшает вариабельность морфометрических показателей у рыб. Это, в свою очередь, может способствовать повышению их выживаемости после выпуска в естественные водоёмы.

Работа прошла достаточную апробацию. Результаты работы были представлены на шести всероссийских конференциях с 2022 по 2025 год. По результатам выполненных исследований опубликовано 8 научных работ, в том числе в соавторстве, 3 статьи в рецензируемых научных изданиях из перечня ВАК Минобрнауки России.

**Достоверность, степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации**, определяются репрезентативностью выборок и использованием адекватных поставленным задачам методов исследований. Исходный фактический материал, его обработка и интерпретация надежны, результаты и выводы аргументированы. Статистическая обработка числовых данных, полученных в качестве основных первичных результатов исследований, проведена с использованием общепринятых методов математической статистики. Для проверки статистических гипотез использованы критерии, адекватные особенностям полученных выборочных данных, с их оценкой на стандартных уровнях значимости.

Работа имеет несомненное **научное и практическое значение**. Теоретическая значимость данной исследовательской работы заключается в расширении знаний о влиянии разных композиций споровых и молочнокислых бактерий на микробиологический состав, ферментативную активность пищеварительной системы, на продуктивность рыб при их выращивании на интенсивной основе.

На основе результатов производственных экспериментов разработаны рекомендации по применению пробиотических композиций в промышленных рыбоводческих хозяйствах для обеспечения их эффективной деятельности.

Результаты диссертационного исследования внедрены и используются на производственных предприятиях при выращивании молоди стерляди и при выращивании молоди радужной форели.

Диссертационная работа изложена на 144 страницах и содержит 26 рисунков и 17 таблиц, состоит из введения, 4 глав (обзорная часть, материал и методы исследования, две главы основной части), заключения, списка литературы и 2 приложений. Список литературы включает 216 источников, 101 из которых на иностранном языке.

Во «Введении» обосновывается актуальность темы исследования, сформулированы цель и задачи работы, защищаемые положения.

В **главе 1** дается обзор литературных источников, представляющий собой изложение теоретических и практических аспектов применения пробиотиков в аквакультуре. Приводятся сведения об исследованиях, подтверждающих положительное влияние пробиотиков на рост рыб (клариевый сом, осетр, карп, шемай), гематологические показатели, состав микробиоты кишечника, выживаемость (личинок карпа в УЗВ), устойчивость к бактериальным инфекциям (*E. ictaluri* и др.). Описывается многофакторное положительное влияние на организм рыб, оказываемое пробиотическими организмами, реализуемое через несколько взаимодополняющих механизмов. Показано, что пищеварительная система рыб характеризуется значительным морфофункциональным

разнообразием, определяемым типом питания. Описаны особенности пищеварения и формирования микробиоты у разных видов рыб.

В главе 2 «Материалы и методы исследований» автор подробно обсуждает методологические аспекты проведенных исследований, показывая выверенные подходы к изучению проблемы и принципы. Дана комплексная методика исследования, включающая современные методы: оценку антагонистической и ферментативной активности пробиотических штаммов; классические методики по ГОСТ для определения гидрохимических показателей и биологической фильтрации; а также методы изучения рыбоводно-биологических показателей и пр. Статистическая обработка результатов исследования проводилась по стандартным методикам. Указан объем исследованного материала.

**Глава 3** посвящена результатам работы и их обсуждению.

В разделах 3.1 и 3.2 отражены результаты исследований антагонистической и ферментативной активности пробиотических организмов. Установлено, что пробиотические штаммы различаются по спектру и выраженности биологической активности. По ферментативной активности лидируют: амилазная – *B. subtilis*; протеазная – *E. faecium*; липазная – *B. amyloliquefaciens*.

По антагонизму наиболее широкий спектр действия (против *Salmonella*, *E. coli*, *Listeria*, *Staphylococcus*, *Clostridium*) – у *B. subtilis*. *E. faecium* специализирован против *L. monocytogenes*, *B. licheniformis* – только против *C. perfringens*.

Таким образом, использование композиций из нескольких штаммов (как в Бацифолине А и Басулифоре А) позволяет объединить разные механизмы антагонизма и ферментативной поддержки пищеварения, что подтверждается положительными интерьерными изменениями у рыб.

В разделе 3.3 «Результаты оценки гидрохимических параметров и биологической фильтрации» показано, что при использовании композиции споровых и молочнокислых бактерий отмечена активизация нитрифицирующих бактерий родов *Nitribacter*, *Nitrospira*, *Nitrococcus*, что способствует более эффективному превращению нитритов в нитраты. В воде УЗВ снижается значение БПК<sub>5</sub> (улучшается качество воды за счёт более полной деструкции органики) и общее микробное число воды. Для прочих параметров гидрохимического режима (рН, жёсткость, катионы, анионы, железо, фосфаты, сульфаты) существенных отклонений за пределы нормы не отмечено.

В разделах 3.4 и 3.5 показано, что применение композиции споровых и молочнокислых бактерий (Бацифолин А) способствует увеличению темпов роста и конечной массы тела у молоди стерляди и радужной форели, снижению отхода (повышению выживаемости) в начальные, наиболее критические периоды выращивания. Так, у стерляди в возрасте 69–102 сут при добавлении Бацифолина А конечная масса оказалась на 30% выше контроля (37,35 г против 28,65 г), у форели прибавка к массе составила 7–10%. Выживаемость во всех опытных группах была выше, чем в контроле; это особенно выражено у стерляди в группе с Бацифолином А (отход 0,5% против 1,33% в контроле). Препарат Басулифор А (только споровые бактерии) также эффективен, но по большинству показателей уступает композиции с молочнокислыми бактериями.

Таким образом, обе пробиотические композиции эффективны, однако композиция, содержащая молочнокислые бактерии, показала несколько лучшие результаты по влиянию на рост и гидрохимический режим в УЗВ.

В разделе 3.6 описываются результаты изучения морфометрических параметров молоди стерляди при включении в рацион пробиотических композиций (как содержащих молочнокислые бактерии, так и только споровых). Показано положительное влияние на морфометрические параметры и их однородность в группе. Отмечается увеличение линейных и высотных размеров тела – у опытных рыб отмечены бóльшие значения общей длины (L), длины до анального плавника (AA), длины хвостового стебля (CL), длины головы (С), высоты тела (Н, НС, ДН, НМ) по сравнению с контролем. Эффект проявляется уже в возрасте 57 суток и сохраняется до 97 суток. В опытных группах все показатели более однородны, происходит снижение величины коэффициента вариации, что свидетельствует о выравнивании темпов роста и развития особей в пределах группы. Особенно заметно снижение изменчивости по высотным параметрам (НМ, ДН) и по длине головы (НС). При сравнении действия пробиотических композиций установлено, что обе пробиотические композиции эффективны, но Бацифолин А (содержащий молочнокислые бактерии) обеспечивает преимущество по большему числу морфометрических параметров (особенно в 97-суточном возрасте) и более выраженное снижение вариабельности.

Таким образом, пробиотики способствуют не только ускорению линейного роста, но и морфологической гармонизации молоди стерляди, что является важным признаком благополучного физиологического состояния и может повышать устойчивость рыб к стрессам и заболеваниям.

В разделе 3.7 автор показывает, что применение пробиотических композиций у молоди стерляди и радужной форели вызывает видоспецифичные изменения интерьерных показателей. Так, у стерляди обе композиции увеличивают индекс сердца и снижают индекс жабр. Композиция с молочнокислыми бактериями (Бацифолин А) увеличивает индекс гонад при меньшей печени, тогда как композиция только споровых (Басулифор А) даёт обратное соотношение. Это может указывать на разное перераспределение энергетических ресурсов организма. У форели Бацифолин А повышает индексы большинства внутренних органов (селезёнка, сердце, печень, жабры, кишечник) при неизменном коэффициенте упитанности, что свидетельствует об активации метаболизма и иммунокомпетентных органов без ухудшения упитанности.

В разделе 3.8 приведены данные по изучению микробиологического состава спирального отдела кишечника стерляди в возрасте 103 суток. Выявлено, что применение комплексных пробиотиков привело к снижению или исключению группы условно-патогенных бактерий. Так, в обеих опытных группах отсутствуют *Acinetobacter calcoaceticus*, *Bacillus mycoides*; *Citrobacter freundii* – отсутствует в опыте №1, снижен в опыте №2. *Bacillus mesentericus* – отсутствует в опыте №1, резко снижен в опыте №2. *Bacillus cereus* – снижение на 2–3 порядка в опыте №1, отсутствие значимого роста в опыте №2. В группе пробиотических и полезных бактерий, напротив, наблюдается увеличение. Так, содержание *Enterococcus faecium* в опыте №1 выше ( $10^4$ – $10^5$  КОЕ/мл), чем в контроле и в опыте №2. Группа *Bacillus amyloliquefaciens* выявлена в кишечниках только у рыб в опыте №2 ( $10^3$ – $10^4$  КОЕ/мл). В то же время содержание лактобактерий наиболее высоко в опыте №2, их больше на 1 порядок по сравнению с контролем и опытом №1. Таким образом, обе композиции улучшают микробиоценоз кишечника (подавление условно-патогенных форм, увеличение пробиотических бацилл). Басулифор А (споровые) сильнее стимулирует рост лактобактерий.

По данным, приведенным в разделе 3.9 «Ферментативная активность в желудочно-кишечном тракте молоди стерляди и радужной форели при включении в рацион

пробиотиков», автором выявлена следующая общая закономерность – ферментативная активность ЖКТ тесно связана с эндомикрофлорой и составом рациона. При добавлении пробиотиков у молоди стерляди и форели произошли качественные и количественные изменения ферментативной активности кишечника, отмечается увеличение активности основных пищеварительных гидролаз (амилазы, протеазы, липазы). У стерляди обе пробиотические композиции повышают ферментативную активность, но к концу эксперимента (97 суток) композиция только споровых бактерий Басулифор А даёт более выраженный эффект по  $\alpha$ -амилазе (на 34,53% выше контроля,  $p \leq 0,05$ ) и протеазе (на 13,95%). Композиция с молочнокислыми бактериями (Бацифолин А) эффективнее повышает липазу (+9,05%). У радужной форели включение Бацифолина А приводит к значительному увеличению активности ферментов во всех изученных отделах ЖКТ. Наиболее впечатляющий эффект зафиксирован для  $\alpha$ -амилазы в среднем отделе кишечника – рост на 59,45%. Протеолитическая активность также значительно повышается (до +13,64%), липазная – умеренно (до +9,82%).

На основании полученных данных автор делает вывод о том, что пробиотические композиции оказывают положительное действие на активность пищеварительных гидролаз у молоди рыб, что способствует повышению эффективности использования питательных веществ корма, обеспечивая благоприятные условия для оптимального роста и развития рыб.

В коротком, но достаточно важном разделе 3.10 приводятся данные по бактериологическому анализу охлаждённой товарной форели, выращенной с добавлением пробиотика Бацифолин А в корм. Оценивалось содержание количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов (общая бактериальная обсеменённость), а также наличие патогенов: бактерий рода *Salmonella* (в 25 г продукта), *Staphylococcus aureus* (в 0,01 г). Проведённое в первые поле вылова и на 7-е сутки хранения исследование показало отсутствие патогенных микроорганизмов (*Salmonella*, *S. aureus*) как в опытной, так и в контрольной группе, что соответствует требованиям безопасности. Показатель общей бактериальной обсеменённости в обеих группах был значительно ниже нормативного предела ( $1 \times 10^5$  КОЕ/г) как в начале, так и через 7 дней хранения. В опытной группе на 7-е сутки отмечено даже несколько более низкое значение ( $1,9 \times 10^3$  КОЕ/г) по сравнению с контролем ( $2,0 \times 10^3$  КОЕ/г), что указывает на тенденцию к замедлению роста микрофлоры при использовании пробиотика. Можно заключить, что включение пробиотика в рацион форели способствует повышению микробиологической безопасности охлаждённой продукции в процессе хранения, что важно для потребительских качеств и сроков годности товарной рыбы.

Оценка рыбопродуктивных показателей при выращивании молоди рыб с применением пробиотических организмов (раздел 3.11) показала, что включение пробиотических композиций в рацион молоди радужной форели и стерляди увеличивает рыбопродуктивность и обеспечивает положительный экономический эффект. Для радужной форели (Бацифолин А, доза 1,0 г/кг корма): рыбопродуктивность повысилась на  $0,76 \text{ кг/м}^2$  (с 5,76 до 6,52  $\text{кг/м}^2$ ), экономический эффект составил 671,5 руб/ $\text{м}^2$ . Для стерляди (доза 0,5 г/кг корма) использование Бацифолина А (споровые + молочнокислые) повысило рыбопродуктивность на  $1,77 \text{ кг/м}^2$  (с 4,17 до 5,94  $\text{кг/м}^2$ ), экономический эффект достиг 2 848 руб/ $\text{м}^2$ . Использование в кормлении Басулифора А (только споровые) повысило рыбопродуктивность на  $1,56 \text{ кг/м}^2$  (до 5,73  $\text{кг/м}^2$ ), экономический эффект составил 2 480 руб/ $\text{м}^2$ . Таким образом, использование в кормах молоди рыб препарата Бацифолин А

эффективнее, чем Басулифора А – разница по рыбопродуктивности составляет 0,21 кг/м<sup>2</sup>, что даёт дополнительную выручку 368 руб/м<sup>2</sup>. Таким образом, применение пробиотиков в аквакультуре экономически оправдано и позволяет существенно увеличить выход продукции за счёт лучшего роста и выживаемости рыбы. Композиция, содержащая молочнокислые бактерии (*E. faecium*) в дополнение к бациллам, даёт преимущество перед композицией только из споровых бактерий.

В последней главе 4 «Обсуждение результатов» проведён анализ и интерпретация полученных экспериментальных данных с позиций современной литературы. По содержанию главы можно сделать следующее общее заключение – применение пробиотических композиций (особенно содержащих молочнокислые бактерии) в аквакультуре стерляди и форели:

- улучшает микробиоценоз кишечника;
- повышает ферментативную активность и переваривание корма;
- увеличивает темп роста, выживаемость, однородность молоди;
- улучшает гидрохимические показатели воды;
- повышает безопасность готовой продукции;
- обеспечивает экономический эффект.

Метод экологически безопасен и рекомендуется для внедрения.

Завершает работу «Заключение», содержащее выводы по работе, соответствующие целям и задачам исследования, научно-практические рекомендации и перспективы дальнейшей разработки темы.

В диссертации имеется два приложения.

Диссертационная работа Цицкиевой Карины Руслановны «Биологические и продуктивные показатели рыб при применении разных композиций пробиотических организмов» изложена логично. В ней собрано и обобщено достаточное количество сведений из литературных источников, а также результаты собственных исследований, убедительно доказывающие поставленные автором цели и задачи исследований, а также положения, выносимые на защиту.

Вместе с тем, несмотря на очень хорошее впечатление от работы, её стиля изложения и компоновки, она не лишена некоторых недостатков, таких как неудачное построение ряда фраз, синтаксические и орфографические ошибки, отсутствие согласований в ряде предложений. Возникли следующие замечания:

- Из названий рис. 22-23 и 24-25 невозможно понять, какие виды рыб имеются в виду.
- Не надо делать прямые переводы названий рыб и терминов с английского языка на русский. Так упоминаемый на стр. 107 травяной карп (*Stenopharyngodon idella*) – это белый амур. Стоит уважать родной язык.
- Отмечается несоответствие порядка целей и задач диссертации выводам, что вносит некоторое неудобство, как и разный порядок и расположение подразделов главы 3 в автореферате и диссертации.
- В главе «Обсуждение» в основном идет переписывание данных из предыдущих глав, без обобщений, а текст с 111 по 113 страницу можно было спокойно включить в обзор литературы.

Кроме того, хотелось бы задать автору некоторые вопросы, возникшие в ходе анализа диссертации:

1. Почему выбраны дозировки пробиотиков 0,5 г/кг для стерляди и 1,0 г/кг для форели? Были ли предварительные тесты по подбору оптимальной концентрации? Почему на форели не проводились исследования препарата Басулифор А?
2. На стр. 40 автор указывает, что предпосылкой для выделения *Bacillus subtilis* в кандидаты пробиотических бактерий стали его характеристики, такие как устойчивость к воздействиям повреждающих факторов внешней и внутренней среды, спорообразование и прочие, а также признание Food and Drug Administration (FDA) безопасности, непатогенности и нетоксичности данного вида. При этом ссылки идут на работы 2022 и 2024 года. Однако *Bacillus subtilis* в качестве пробиотика используется более 25 лет. Ранее были какие-то иные предпосылки использования?
3. Исходя из данных табл. 6, к 57 суткам выращивания у рыб уменьшилась средняя общая длина тела L: в начале эксперимента на 43 сутки она была 46,9 мм, на 57-е стала в контроле 44,5 и в опытной группе 45,9 мм. Объясните почему? И почему нигде не указана численность измеренных рыб? Какое было n?
4. Почему в работе нет характеристики морфометрических показателей молоди форели? Без них комплексный вывод по главе 3.4 «Полученные результаты свидетельствуют о положительном влиянии пробиотических композиций в рационе молоди стерляди и радужной форели на показатели роста и развития» делать нельзя.
5. С какой целью учитывались систематические меристические признаки? Как число жучек на теле стерляди может быть связано с кормлением, ведь это параметр, зависящий от генетики вида?
6. Почему в опыте на стерляди отмечено снижение индекса жабр, а у форели – увеличение? Не может ли быть это связано с разными условиями выращивания (УЗВ vs проточная вода)?
7. Почему в опытных группах молоди стерляди в спиральном отделе кишечника возрастает количество условно-патогенных микроорганизмов семейств *Enterobacteriaceae*, *Moraxellaceae*, *Staphylococcaceae*, а также *B. cereus*, *B. mesentericus*, *B. mycoides* (глава 3.8)?
8. Почему композиция с молочнокислыми бактериями (Бацифолин А) в большинстве случаев даёт лучшие результаты (рост, выживаемость, рыбопродуктивность), чем композиция только споровых? Каков предполагаемый механизм синергии?
9. Какова экономическая эффективность включения пробиотиков с учётом их стоимости (в работе приведён экономический эффект в руб./м<sup>2</sup>, но без учёта затрат на пробиотик)? Какова рентабельность?

Несмотря на сделанные замечания, они в целом не влияют на общую положительную оценку работы и являются скорее пожеланием по дальнейшему планированию исследований.

Автор работы, лично и в соавторстве, принимала непосредственное участие в постановке проблемы, подборе методического инструментария, проведении опытов и экспериментов. Ею проведен сбор материала, обработка данных, анализ и сравнение полученных результатов с сведениями из литературы.

Основные положения диссертации отражены в 8 научных трудах, в том числе 3 в рецензируемых научных изданиях из перечня ВАК Минобрнауки России. По материалам диссертации сделан ряд докладов на научных конференциях, в том числе и международных.

Таким образом, актуальность, научная новизна, практическая значимость, а также проведенная работа, объем первичного материала, уровень его обработки и анализа, прекрасное знакомство автора с литературой, апробация результатов на конференциях, освещение основных положений в публикациях, в том числе в статьях в журналах, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий, свидетельствуют о диссертации как о серьезном, состоявшемся и полезном исследовании с обоснованной теорией и её доказательством.

Автореферат кратко раскрывает содержание глав (разделов) диссертации.

Работа является законченным научным трудом с достаточной проработкой литературного и экспериментального материала.

Диссертационная работа «Биологические и продуктивные показатели рыб при применении разных композиций пробиотических организмов» является завершенной научно-квалификационной работой, содержит решение актуальной научной задачи, имеет теоретическое и практическое значение, выполнена самостоятельно на высоком научном уровне. Диссертация соответствует требованиям п. 9-14 ВАК РФ «Положения о порядке присуждения ученых степеней» (24.09.2013 №842, ред. от 25 января 2024 г. № 62), а её автор, Цицкиева Карина Руслановна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 4.2.6 Рыбное хозяйство, аквакультура и промышленное рыболовство.

Доктор биологических наук  
(06.02.01 генетика, селекция и  
воспроизводство сельско-  
хозяйственных животных),  
профессор, профессор кафедры  
биологии, биологических ресурсов  
и аквакультуры, федеральное  
государственное бюджетное  
образовательное учреждение  
высшего образования «Сибирский  
государственный университет  
инженерии и биотехнологий»

29.04.2026

Елена Витальевна Пищенко



Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Сибирский государственный университет инженерии и биотехнологий» (ФГБОУ ВО Университет биотехнологий), 630039, г. Новосибирск, ул. Добролюбова, 160  
Тел. 8(383)-267-38-11, e\_pishchenko@bk.ru