

Животноводство и кормопроизводство. 2025. Т. 108. № 3. С. 64-81.
Animal Husbandry and Fodder Production. 2025. Vol. 108. No. 3. P. 64-81.

Научная статья
УДК 636.5:636.087.7
doi:10.33284/2658-3135-108-3-64

Влияние хлорида кальция на таксономический профиль микробиоты слепой кишки кур-несушек и усвоение питательных веществ корма

Татьяна Николаевна Холодилина^{1,9}, Елена Владимировна Яушева^{2,10}, Елена Анатольевна Сизова^{3,11}, Даниил Евгеньевич Шошин^{4,12}, Кристина Владимировна Рязанцева^{5,13}, Ксения Сергеевна Нечитайло^{6,14}, Татьяна Андреевна Климова⁷, Александра Сергеевна Мустафина⁸
¹²³⁴⁵⁶⁷⁸Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий Российской академии наук, Оренбург, Россия
^{9,10,11,12,13,14}Оренбургский государственный университет, Оренбург, Россия

^{1,9}xolodilina@rambler.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3946-8247>

^{2,10}vasilena56@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1589-2211>

^{3,11}sizova.178@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5125-5981>

^{4,12}daniilshoshin@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3086-681X>

^{5,13}reger94@bk.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5134-0396>

^{6,14}k.nechit@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8755-414X>

⁷klimovat91@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4298-1663>

⁸vshivkovaas@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9525-2822>

Аннотация. Потребность в кальции для кур-несушек является основной темой для дискуссий в птицеводческой отрасли, наиболее распространенным источником кальция в рационе является известняк, который показывает пониженную растворимость во время нейтрализации в тонком кишечнике, где происходит большая часть абсорбции. Количество и источник биодоступного кальция для микробиологических процессов определяет степень усвоения других питательных веществ. Целью нашего исследования являлось изучение влияния различных источников кальция на таксономический профиль микробиоты слепой кишки и усвоение питательных веществ корма. Исследования проведены на курах-несушках кросса «Хайсекс Браун». Были сформированы 2 группы: I опытная группа в качестве источника кальция получала известняковую муку, II опытная группа – раствор хлорида кальция. Исследования проводились с 15 по 20 неделю. Установлено достоверное увеличение переваримости сырого протеина и сырого жира во II опытной группе на 11,4 % и 2,36 % ($P \leq 0,05$) в сравнении с контролем. Усвоение кальция шло эффективнее на 3,3 % ($P \leq 0,05$) во II опытной группе при неизменной доступности фосфора, что положительно сказалось на синтезе пропионовой (выше на 13,9 %, $P \leq 0,05$), масляной (выше на 4,98 %, $P \leq 0,05$), и уксусной (выше на 4,32 %, $P \leq 0,05$) кислот. Замена известняковой муки на хлорид кальция в рационе кур-несушек II группы приводила к увеличению доли бактерий таксонов *Limosilactobacillus* на 4,47 %, ($P \leq 0,05$), *unclassified Oscillospiraceae* – на 2,68 %, ($P \leq 0,05$), *Oscillospiraceae* – на 3,97 %, ($P \leq 0,05$), *Alistipes* – на 5,59 %, ($P \leq 0,05$). В ходе проведенных исследований выявлено положительное влияние хлорида кальция на микробиом слепой кишки, подтверждающееся значимой корреляцией между пробиотическими микроорганизмами, в частности между обилием таксона *Limosilactobacillus* и усвоением кальция, сырого жира, а также концентрацией пропионовой кислоты в слепой кишке.

Ключевые слова: куры-несушки, кормление, карбонат кальция, микробиота слепой кишки, усвоение питательных веществ

Благодарности: работа выполнена при поддержке Российского научного фонда, проект № 23-16-00165.

Для цитирования: Влияние хлорида кальция на таксономический профиль микробиоты слепой кишки кур-несушек и усвоение питательных веществ корма / Т.Н. Холодилина, Е.В. Яушева, Е.А. Сизова, Д.Е. Шошин, К.В. Рязанцева, К.С. Нечитайло, Т.А. Климова, А.С. Мустафина // Животноводство и кормопроизводство. 2025. Т. 108. № 3. С. 64-81. [Kholodilina TN, Yausheva EV, Sizova EA, Shoshin DE, Ryazantseva KV, Nechitailo KS, Klimova TA, Mustafina AS. The effect of calcium chloride on the taxonomic profile of the cecal microbiota of laying hens and the absorption of feed nutrients. Animal Husbandry and Fodder Production. 2025;108(3):64-81. (In Russ.)]. <https://doi.org/10.33284/2658-3135-108-3-64>

Original article

The effect of calcium chloride on the taxonomic profile of the cecal microbiota of laying hens and the absorption of feed nutrients

Tatyana N Kholodilina^{1,9}, Elena V Yausheva^{2,10}, Elena A. Sizova^{3,11},
Daniel E Shoshin^{4,12}, Kristina V Ryazantseva^{5,13}, Ksenia S Nechitailo^{6,14},
Tatyana A Klimova⁷, Alexandra S Mustafina⁸

^{1,2,3,4,5,6,7,8}Federal Research Centre of Biological Systems and Agrotechnologies of the Russian Academy of Sciences, Orenburg, Russia

^{9,10,11,12,13,14}Orenburg state university, Orenburg, Russia

^{1,9}xolodilina@rambler.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3946-8247>

^{2,10}vasilena56@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1589-2211>

^{3,11}sizova.178@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5125-5981>

^{4,12}daniilshoshin@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3086-681X>

^{5,13}reger94@bk.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5134-0396>

^{6,14}k.nechit@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8755-414X>

⁷klimovat91@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4298-1663>

⁸vshivkovaas@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9525-2822>

Abstract. The need for calcium for laying hens is a major topic of discussion in the poultry industry. The most common source of calcium in the diet is limestone, which shows reduced solubility during neutralization in the small intestine, where most of the absorption takes place. The amount and source of bioavailable calcium for microbiological processes determines the degree of absorption of other nutrients. The aim of our study was to study the effect of various calcium sources on the taxonomic profile of the cecum microbiota and the absorption of feed nutrients. The research was conducted on laying hens of the Hayesex Brown cross. 2 groups were formed: the I experimental group received limestone flour as a source of calcium, the II experimental group received a solution of calcium chloride, the studies were conducted from 15 to 20 weeks. There was a significant increase in the digestibility of crude protein and crude fat in the II experimental group by 11.4% and 2.36% ($P \leq 0.05$) compared with control. Calcium absorption was 3.3% more effective ($P \leq 0.05$) in the II experimental group with constant phosphorus availability, which had a positive effect on the synthesis of propionic acid (higher by 13.9 %, $P \leq 0.05$), butyric acid (higher by 4.98%, $P \leq 0.05$), and acetic acid (higher by 4.32%, $P \leq 0.05$) acids. The replacement of limestone flour with calcium chloride in the diet of laying hens of group II led to an increase in the proportion of bacteria of the taxa *Limosilactobacillus* by 4.47% ($P \leq 0.05$), *unclassified Oscillospiraceae* by 2.68% ($P \leq 0.05$), *Oscillospiraceae* by 3.97% ($P \leq 0.05$), *Alistipes* by 5.59%, ($P \leq 0.05$). The studies revealed the positive effect of calcium chloride on the cecum microbiome, which is confirmed by a significant correlation between probiotic microorganisms, in particular the taxon *Limosilactobacillus*, and the absorption of calcium, crude fat, and propionic acid concentration in the cecum.

Keywords: laying hens, feeding, calcium carbonate, caecum microbiota, nutrient absorption

Acknowledgments: the work was supported by the Russian Science Foundation, Project No. 23-16-00165.

For citation: Kholodilina TN, Yausheva EV, Sizova EA, Shoshin DE, Ryazantseva KV, Nechitailo KS, Klimova TA, Mustafina AS. The effect of calcium chloride on the taxonomic profile of the cecal microbiota of laying hens and the absorption of feed nutrients. Animal Husbandry and Fodder Production. 2025;108(3):64-81. (In Russ.]. <https://doi.org/10.33284/2658-3135-108-3-64>

Введение.

Птицеводство является важным источником белка во всем мире. Производственные затраты на 70 % связаны с рационом. Повышение эффективности использования корма путем улучшения усвоения питательных веществ является одним из ключевых направлений в развитии птице-

водства и увеличения производства продукции. Показана положительная корреляция между микробиотой, эффективностью использования корма и продуктивностью кур-несушек. Микробное сообщество кишечника кур рассматривается как отдельный метаболический орган обеспечивающий эффективность использования корма (Губайдуллина И.З. и др., 2023; Dittoe DK et al., 2022).

Особое внимание в кормлении кур-несушек уделяется минеральному питанию. Кальций является одним из ключевых макроэлементов в кормлении кур-несушек, который влияет на прочность костей и качество скорлупы, а также активно взаимодействует с микробиотой и оказывает влияние на усвоение питательных веществ. В кормлении сельскохозяйственной птицы в качестве источника кальция используют соединения различной химической природы (Иванищева А.П. и др., 2023). Наиболее распространенной формой кальция, которая широко используется в птицеводстве, является карбонат кальция, основным источником которого выступает известняк. Однако кальций из известняка характеризуется низкой биодоступностью, высокой кислотосвязывающей способностью и повышает pH в желудке, что приводит к снижению усвояемости других химических элементов (азот, фосфор) (Humer E et al., 2015; Li W et al., 2018; Lawlor PG et al., 2005).

Альтернативой известняку могут служить растворимые формы кальция, они имеют существенно большую биодоступность в сравнении с карбонатом кальция (Громова О.А. и др., 2014; Родионова Н.С. и др., 2018).

Использование раствора хлористого кальция в рационе цыплят-бройлеров увеличивает его усвояемость в подвздошной кишке ($P \leq 0,01$) с 67,1 % при использовании известняка до 73,7 % (Hamdi M et al., 2015). Добавление хлорида кальция в рацион увеличивает прирост массы тела на 8 % и повышает устойчивость бройлеров к тепловому стрессу (Teeter RG et al., 1985). Комбинация 4 % Ca и 1000 ME витамина D₃ повышает прочность скорлупы и уровень IgA в крови у старых несушек. Отмечается синергический эффект добавки CaCl₂ и витамина D₃ (Attia YA et al., 2020).

Количество биодоступного кальция для микробиологических процессов определяет степень усвоения других питательных веществ. Несмотря на хорошо изученное влияние кальция на состав кишечной микробиоты поросят, меньше известно об изменениях в микробиоте кишечника при использовании различных источников кальция. На основании исследований на крысах было показано, что добавление в рацион кальция может стать потенциальной стратегией для регулирования микробиоты желудочно-кишечного тракта и повышения эффективности использования корма. Исследования показали, что диеты, богатые кальцием, снижают количество патогенов и увеличивают количество лактобактерий в кишечнике (Kumar H et al., 2020).

Значимым отделом в ЖКТ сельскохозяйственной птицы, который показывает высокую корреляцию с эффективностью использования корма, является слепая кишка. Слепая кишка сельскохозяйственной птицы содержит наибольшее количество микроорганизмов и играет важную роль в синтезе короткоцепочечных жирных кислот (КЦЖК) (Kumar H et al., 2020). Известно, что КЦЖК оказывают существенное влияние на усвоение химических элементов в кишечнике и влияют на продуктивность сельскохозяйственных животных.

Цель исследования.

Изучить влияние различных источников кальция на таксономический профиль микробиоты слепой кишки и усвоение питательных веществ корма.

Материалы и методы исследования.

Объект исследования. Куры-несушки кросса «Хайсекс Браун» (Hisex).

Обслуживание животных и экспериментальные исследования были выполнены в соответствии с инструкциями и рекомендациями нормативных актов: Модельный закон Межпарламентской Ассамблеи государств-участников Содружества Независимых Государств «Об обращении с животными», ст. 20 (постановление МА государств-участников СНГ № 29-17 от 31.10.2007 г.), протоколы Женевской конвенции и принципы надлежащей лабораторной практики (Национальный стандарт Российской Федерации ГОСТ Р 53434-2009), Руководство по работе с лабораторными

ми животными (http://fncbst.ru/?page_id=3553). Протокол настоящего исследования одобрен комитетом по Биоэтике ФГБНУ ФНЦ БСТ РАН (протокол № 1 от 17.01.2024). При проведении исследований были предприняты все необходимые меры для обеспечения минимума страданий животных и уменьшения количества исследуемых опытных образцов.

Схема эксперимента. Для проведения исследований в виварии Федерального научного центра биологических систем и агротехнологий Российской академии наук было отобрано 40 голов ремонтного молодняка промышленного стада в возрасте 13 недель. Птица была распределена методом пар-аналогов на 2 группы (n=20): I (контроль) – основной рацион (ОР), где в качестве источника карбоната кальция использовали известняковую муку (ООО «Инеско», Россия); II Быстренько ответьте мне, пожалуйста, ОР с заменой известняковой муки на хлорид кальция. Замену известняковой муки, содержащейся в основном рационе проводили после двухнедельного подготовительного периода (акклиматизации) в возрасте 15 недель. Содержание кальция в рационе во всех группах в пересчете на ионы кальция было одинаковым и составляло 2,2 %. Длительность эксперимента составила 5 недель.

Кормление осуществлялось в соответствии с возрастными нормами, согласно рекомендациям ВНИТИП и руководству по работе с птицей кросса «Хайсекс Браун» (Егоров Е.А. и др., 2018; Хмельницкая Т.А. и др., 2007). Поение птицы осуществлялось без ограничений. Состав основного рациона представлен в таблице 1.

Таблица 1. Состав основного рациона кур-несушек
 Table 1. Composition of the basic diet of laying hens

Компонент / <i>Component</i>	Масса, г/кг / <i>Mass, g/kg</i>
Пшеница / <i>Wheat</i>	500
Ячмень / <i>Barley</i>	200
Кукуруза / <i>Corn</i>	20
Жмых подсолнечный / <i>Sunflower cake</i>	50
Шрот соевый / <i>Soy meal</i>	50
Рыбная мука / <i>Fish flour</i>	50
Подсолнечное масло / <i>Sunflower oil</i>	10
Дрожжи кормовые / <i>Fodder yeast</i>	5
Отруби / <i>Bran</i>	40
Известняковая мука / <i>Limestone flour</i>	65
Премикс / <i>Premix</i>	10

Примечание: в 100 г основного рациона содержится обменной энергии 11,3 МДж/кг; сырого протеина – 16 %; сырого жира – 4,5 %; сырой клетчатки – 4,5 %; крахмала – 2,8 %; лизина – 0,71 %; метионина – 0,37 %, метионина+цистина – 0,58 %; кальция – 2,2 %; фосфора общего – 0,6 %, фосфора усвояемого – 0,51 %

Note: 100 g of the basic diet contains 11.3 MJ/kg of metabolic energy; crude protein – 16%; crude fat – 4.5%; crude fiber – 4.5%; starch – 2.8%; lysine – 0.71%; methionine – 0.37%, methionine+cystine – 0.58%; calcium – 2.2%; total phosphorus – 0.6%, phosphorus digestible – 0.51%

Препарат хлорида кальция получали путем химического синтеза из доломитовой муки (ООО «Аккерманцемент», Россия). Отвешивали доломитовую муку с небольшим избытком (5 % по массе), заливали дистиллированной водой и взмучивали. Постепенно приливали HCl нужной концентрации, следя за пенообразованием. По завершении реакции отстаивали полученную смесь один час, декантировали надосадочную жидкость и доводили объем системы до необходимого уровня.

Определение количественных аспектов обмена веществ проводили в физиологическом опыте, который состоял из двух периодов. Первый период являлся предварительным и длился 5-7 дней. Второй период – учетным и составлял 5 дней. В учетный период количество потребляемого корма (по остаткам корма в лотках), воды и помета фиксировалось ежедневно в одно и то же время 2 раза в сутки. По окончании учетного периода были сформированы средние пробы помета для контрольной и опытной групп с целью исследования химического и элементного составов ($n=10$).

В пробах помета и корма определяли массовую долю сухого вещества, сырого протеина (ГОСТ 13496.4-2019), сырого жира (ГОСТ 13496.15-2016) сырой клетчатки (ГОСТ 31675-2012), и сырой золы (ГОСТ 26226-95). Содержание органических веществ рассчитывали как потерю массы при озолении. Безазотистые экстрактивные вещества (БЭВ) рассчитывали путем вычитания значений сырого протеина, сырого жира, сырой клетчатки и золы из сухого вещества.

Исследование элементного состава (4.1. Методы контроля. Химические факторы, 2003) корма и помета проводили на масс-спектрометре с индуктивно-связанной плазмой Agilent 7900 ICP-MS. Общее количество короткоцепочечных жирных кислот в содержимом слепой кишки определяли на хроматографе Кристалл ЛЮКС 5000.

Для исследования микробиоты желудочно-кишечного тракта производили отбор проб содержимого слепой кишки (от 3 животных из каждой группы) стерильным инструментом в пробирки с раствором консерванта (DNA/RNA Shield, США) и замораживали. Подготовку библиотек ДНК, секвенирование и биоинформационную обработку проводили в Центре коллективного пользования научным оборудованием «Персистенция микроорганизмов» Института клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН (Оренбург, Россия). Выделение тотальной ДНК из образцов проводили комбинированным методом, включавшем механическую гомогенизацию в анализаторе LT (Qiagen, Германия) с лизирующей матрицей Y («MP Biomedicals», США) с использованием набора QIAamp Fast DNA Stool Mini Kit («Qiagen», Германия). Чистоту ДНК и концентрацию контролировали с помощью фотометрии на приборе NanoDrop 8000 («Thermo Fisher Scientific Inc.», США) и с помощью флуорометра Qubit 4 («Life Technologies», США) с набором для высокочувствительного анализа dsDNA («Life Technologies», США). Библиотеки ДНК были очищены с использованием гранул Agencourt AMPure XP («Beckman Coulter», США) и проверены с помощью капиллярного электрофореза в усовершенствованной системе Qiaxcel («Qiagen», Hilden, Германия) с использованием набора для скрининга ДНК QIAxcel («Qiagen», Hilden, Германия). Секвенирование проводили на платформе MiSeq («Illumina», США) с использованием набора реактивов MiSeq Reagent Kit V3 2×300 («Illumina», США).

Оборудование и технические средства. Исследования выполнены с использованием приборной базы ЦКП БСТ РАН (г. Оренбург) (<http://цкп-бст.рф>) и Центра коллективного пользования научным оборудованием «Персистенция микроорганизмов» Института клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН (г. Оренбург) с применением следующего оборудования: электронные весы МБ 210-А (ЗАО «Сартогосм», Россия), сушильный шкаф ШС-80-01-СПУ (Смоленское СКТБ СПУ, Россия), хроматограф Кристалл ЛЮКС 5000 (Россия), масс-спектрометр Agilent 7900 («Agilent Technologies», США), анализатор LT («Qiagen», Германия), NanoDrop 8000 («Thermo Fisher Scientific Inc.», США), флуорометр Qubit 4 («Life Technologies», США), система капиллярного электрофореза Qiaxcel («Qiagen», Hilden, Германия).

Статистический анализ. Экспериментальные данные обрабатывали с помощью «Statistica 10.0» («StatSoft Inc.», США). Описательная статистика была рассчитана для каждого параметра для обобщения данных, включая среднее и стандартное отклонения. Для сравнения различий между контрольной и экспериментальной группами был использован U-тест Манна-Уитни. Достоверными считали результаты при $p \leq 0,05$. Метрики альфа-разнообразия (индексы разнообразия Чао1, Шеннона и Симпсона) были рассчитаны для оценки богатства, равномерности и общего разнообразия в микробных сообществах. Статистическая значимость была проверена с помощью ANOVA для выявления различий в индексах разнообразия между группами. Анализ бета-разнообразия был выполнен для оценки различий в составе микробного сообщества между группами с использованием неметрического многомерного шкалирования (NMDS) на основе индекса несходства Брея-Кертиса. Статистическая значимость различий бета-разнообразия была оценена с использованием PERMANOVA (пермутационный многомерный дисперсионный анализ). Коэффициент ранговой корреляции Пирсона использовался для выявления значимых ассоциаций.

Результаты исследований.

Исследование усвоения питательных веществ показало достоверное увеличение переваримости сырого протеина и сырого жира во II опытной группе на 2,36 % и 11,4 % ($P \leq 0,05$) в сравнении с контролем (табл. 2).

Таблица 2. Коэффициенты переваримости питательных веществ рациона у кур-несушек контрольной и опытной групп

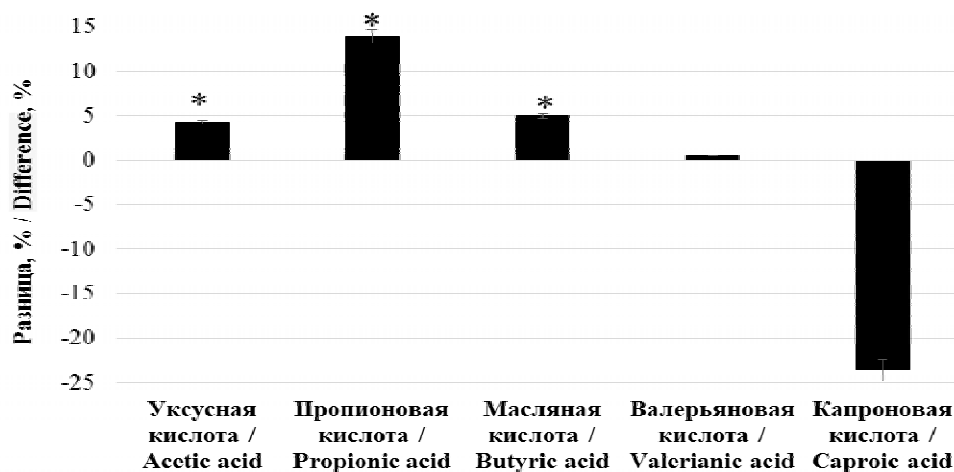
Table 2. Coefficients of digestibility of nutrients in the diet of laying hens of the control and experimental groups

Коэффициенты / <i>Coefficients</i>	Группа I / <i>Group I</i>	Группа II / <i>Group II</i>
Сухое вещество / <i>Dry matter</i>	66,59±1,39	66,94±0,86
Органическое вещество / <i>Organic matter</i>	72,30±1,15	70,51±0,77
Сырой жир / <i>Crude fat</i>	50,48±3,96	61,91±4,02*
Сырой протеин / <i>Crude protein</i>	62,43±0,91	64,80±0,7*
Сырая клетчатка / <i>Crude fiber</i>	13,85±1,05	14,17±0,61
Безазотистые экстрактивные вещества / <i>Nitrogen-free extractive substances</i>	82,55±0,73	81,17±1,54
Ca	27,2±1,23	30,5±1,08*
P	62,4±2,21	62,3±1,38

Примечание: * – $P \leq 0,05$ при сравнении с контролем

Note: * – $P \leq 0.05$ when compared with the control

Выявлено увеличение коэффициентов усвояемости кальция во II группе, в сравнении с контрольной, на 3,3 % ($P \leq 0,05$). Анализ количества короткоцепочечных жирных кислот в слепой кишке кур-несушек показал во II группе, в сравнении с контрольной, достоверно более высокое содержание пропионовой (на 13,9 %, $P \leq 0,05$), масляной (на 4,98 %, $P \leq 0,05$), и уксусной (на 4,32 %, $P \leq 0,05$) кислот (рис. 1).

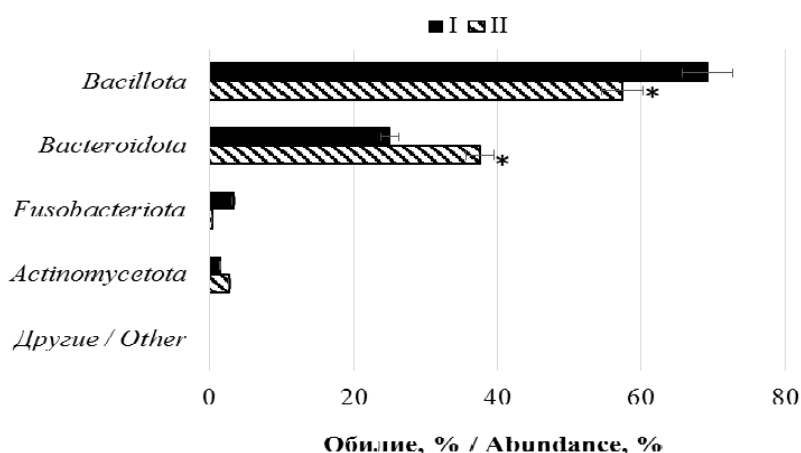


Примечание: * – $P \leq 0,05$ при сравнении с контролем

Note: * – $P \leq 0.05$ when compared with the control

Рисунок 1. Разница содержания короткоцепочечных жирных кислот в слепой кишке кур-несушек при использовании в рационе цитрата кальция в сравнении с контролем
Figure 1. The difference in the content of short-chain fatty acids in the cecum of laying hens when using calcium citrate in the diet compared with the control

Сравнение микробиоты слепой кишки кур-несушек контрольной и опытной групп показало ряд различий в соотношении доминирующих таксонов. Во II группе в сравнении с контролем отмечалось меньшее обилие бактерий филумов *Bacillota* (-11,8 %, $P \leq 0,05$), *Fusobacteriota* (-3,03 %, $P \leq 0,05$), и более высокая относительная численность микроорганизмов таксонов *Bacteroidota* (+12,5 %, $P \leq 0,05$) в микробиоте слепой кишки (рис. 2).



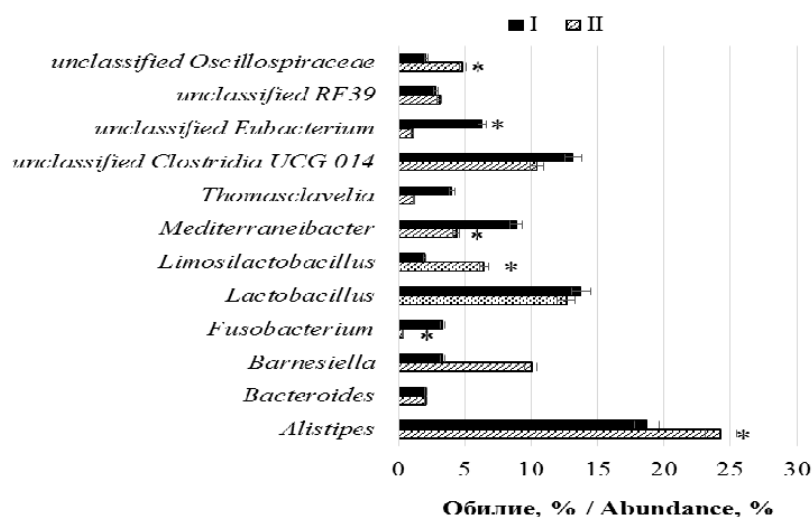
Примечание: * – $P \leq 0,05$ при сравнении с контролем

Note: * – $P \leq 0.05$ when compared with the control

Рисунок 2. Представленность бактерий, на уровне филума, в микробиоте слепой кишки кур-несушек контрольной и опытной групп

Figure 2. The representation of bacteria, at the phylum level, in the microbiota of the cecum of laying hens of the control and experimental groups

Замена известняковой муки на хлорид кальция в рационе кур-несушек II группы приводила к увеличению доли бактерий родов *Limosilactobacillus* (+4,47 %, $P \leq 0,05$), *unclassified Oscillospiraceae* (+2,68 %, $P \leq 0,05$), *Alistipes* (+5,59 %, $P \leq 0,05$) и снижению доли микроорганизмов, относящихся к *unclassified Eubacterium* (-5,29 %, $P \leq 0,05$), *Mediterraneibacter* (-4,54 %, $P \leq 0,05$), *Fusobacterium* (-3,03 %, $P \leq 0,05$) (рис. 3).



Примечание: * – $P \leq 0,05$ при сравнении с контролем

Note: * – $P \leq 0.05$ when compared with the control

Рисунок 3. Обилие основных таксономических групп бактерий (на уровне рода) в микробиоте слепой кишки кур-несушек I и II групп

Figure 3. Abundance of the main taxonomic groups of bacteria (families and genera) in the cecal microbiota of laying hens of groups I and II

Анализ микробного разнообразия показал более высокие значения индекса Chao1 в опытной группе в сравнении с контролем (табл. 3). Аналогично, значения индексов Simpson и Shannon также были выше во II группе чем в контроле.

Таблица 3. Индексы альфа-разнообразия микробиоты слепой кишки кур-несушек I и II групп
Table 3. Indices of alpha diversity of the cecum microbiota of laying hens of groups I and II

Индекс / Index	Группа I / Group I	Группа II / Group II
Chao1	282±3,21	289±3
Simpson	0,83±0,05	0,86±0,02
Shannon	3,56±0,25	3,83±0,21

Анализ бета-разнообразия микробиоты кур-несушек контрольной и опытной групп не показал различий в организации бактериальных сообществ ($P \leq 0,05$) (рис. 4).

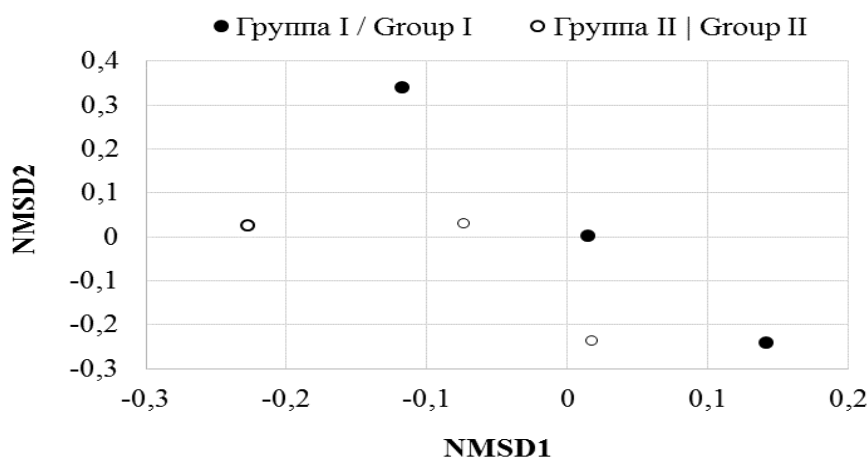


Рисунок 4. Бета-разнообразие микробиоты слепой кишки кур-несушек I и II групп
Figure 4. Beta diversity of the cecal microbiota of laying hens of groups I and II

Корреляционный анализ по Пирсону показал значимую положительную корреляцию между таксоном *Limosilactobacillus* и усвоением кальция ($r=0,772$; $P \leq 0,05$), сырого жира ($r=0,671$; $P \leq 0,05$), а также концентрацией пропионовой кислоты ($r=0,762$; $P \leq 0,05$) в слепой кишке.

Обсуждение полученных результатов.

Кишечная микробиота у кур и млекопитающих играет важную роль в переваривании питательных веществ, усвоении потребляемой энергии и регулировании функций кишечника, а ее изменения влияют на метаболизм. Тем не менее состав рациона является основным фактором, который приводит к существенным сдвигам в таксономическом профиле в микробиоте кишечника (Roth C et al., 2022).

Поиск эффективных источников кальция в птицеводстве является важным направлением в рамках повышения продуктивности и качества продукции (Казаев К.А. и др., 2024). Однако использование различных источников кальция в кормлении кур-несушек оказывает влияние не только на минеральный обмен, но и на весь пищеварительный процесс, что в итоге изменяет характер метаболических процессов и продуктивность (Roth C et al., 2022).

Проведенное нами исследование показало, что в микробиоте слепой кишки подопытной птицы преобладали бактерии филумов *Bacillota* и *Bacteroidota*, что согласуется с предыдущими результатами (Shi S et al., 2019; Dong X et al., 2019). Однако были выявлены различия между группами в соотношении долей бактерий основных таксонов.

Замена карбоната кальция на хлорид кальция в рационе кур несушек приводила к увеличению доли бактерий *Bacteroidota*, являющихся активными участниками метаболизма углеводов, липидов и желчных кислот (Yadav S et al., 2021). В ряде исследований отмечается положительное влияние обилия бактерий *Bacteroidota* в микробиоте кишечника сельскохозяйственной птицы на эффективность использования корма и показатели роста (Yang X et al., 2022; Huang Y et al., 2021). Аналогичная закономерность отмечена и для других моногастрических сельскохозяйственных животных (Gardiner GE et al., 2020). Описано, что бактерии филума *Bacteroidota* способствуют лучшему перевариванию и усвоению липидов, путем регуляции метаболизма жирных кислот (Cho SH et al., 2022; Li H et al., 2024). Это согласуется с нашими данными. В нашем исследовании большее обилие бактерий филума *Bacteroidota* в микробиоте слепой кишки было выявлено у птицы с более высоким уровнем пропионовой кислоты в кишечнике.

В то же время нами было выявлено снижение доли бактерий *Bacillota*. В литературных источниках отмечается ключевая роль отдельных представителей таксона *Bacillota* в эффективности использования корма сельскохозяйственной птицей, что ассоциируется с продукцией короткоцепочечных жирных кислот (Rassmidatta K et al., 2024; Tian Y et al., 2022). Однако нами не было выявлено снижение доли бактерий *Bacillota*, являющихся основными продуцентами короткоцепочечных жирных кислот (*Lachnospiraceae*, *Oscillospiraceae*, *Lactobacillaceae*). Напротив, нашими исследованиями выявлено, что замена карбоната кальция на хлорид кальция оказывает положительное влияние на обилие бактерий таксонов *Oscillospiraceae* и *Lactobacillaceae* (*p. Limosilactobacillus*). Бактерии семейства *Oscillospiraceae* осуществляют расщепление углеводов и играют важную роль в поддержании структуры и функционирования кишечных микробных сообществ. В исследовании на цыплятах-бройлерах высокое обилие бактерий таксона *Oscillospiraceae* в микробиоте кишечника положительно коррелировало с эффективностью использования корма (Liu J et al., 2021).

Бактерии семейства *Lactobacillaceae* обладают протеолитической активностью, расщепляют углеводы и синтезируют метаболиты, которые положительно влияют на здоровье кишечника (Griffiths MW and Tellez AM, 2013). Бактерии таксона *Lactobacillaceae* выделяют целый ряд метаболитов, которые угнетают рост условно-патогенной микрофлоры в кишечнике (Chen CC et al., 2019). Повышение доли бактерий семейства *Lactobacillaceae* в слепой кишке кур-несушек в результате замены карбоната кальция на хлоридную форму в рационе может иметь важное значение как для процессов ферментации, так и для здоровья птицы в целом (Guo M et al., 2021). В исследовании Wen C с коллегами (2021) описано, что доля бактерий семейства *Lactobacillaceae* была значительно выше у кур с более высокой эффективностью использования корма. В работе Cui Y с соавторами (2017) отмечено, что использование бактерий *p. Lactobacillus* в кормлении цыплят-бройлеров улучшает показатели роста и усвоение питательных веществ, в том числе положительно сказываясь на липидном обмене. Описано положительное влияние таксона *Lactobacillaceae* на усвоение питательных веществ сельскохозяйственной птицей (Wang H et al., 2017). В нашем исследовании в опытной группе в сравнении с контролем было отмечено увеличение переваримости сырого жира и протеина. Это может оказать положительное влияние на продуктивность кур-несушек. Известно, что создание депо питательных веществ в предкладковый период связано с будущей продуктивностью.

В результате было выявлено изменение соотношения *Bacillota/Bacteroidota* в микробиоте слепой кишки кур-несушек при замене карбоната кальция в рационе на хлорид. Описана взаимосвязь между развитием дисбактериоза и соотношением *Bacillota/Bacteroidota* в микробиоте кишечника. В исследовании Tian Y с коллегами (2022) показано, что увеличение относительной численности *Bacillota* и соотношения *Bacillota/Bacteroidota* в микробиоте кишечника кур-несушек благоприятно влияет на усвоение веществ, улучшает яйценоскость и живую массу. Однако данные ис-

следований достаточно неоднозначны и противоречивы в описании влияния соотношения *Bacillota/Bacteroidota* на продуктивность животных и здоровье кишечника (Magne F et al., 2020; Lundberg R et al., 2021). В нашем исследовании изменение соотношения *Bacillota/Bacteroidota* сопровождалось увеличением разнообразия и богатства микробиоты слепой кишки кур-несушек опытной группы в сравнении с контролем. В исследовании Wang K с соавторами (2022) на поросятах отмечается положительная взаимосвязь между биоразнообразием микробиоты кишечника и здоровьем кишечника.

Изменения в микробиоте слепой кишки кур-несушек в результате замены карбоната кальция в рационе на хлорид согласовываются с изменениями в усвоении питательных веществ и метаболизме жирных кислот. Выявлена положительная корреляция между таксоном *Limosilactobacillus*, переваримостью сырого жира и концентрацией пропионовой кислоты. Отмечается, что *p. Limosilactobacillus* являются активными продуцентами бутирата (Liu Y et al., 2022). Известно, что короткоцепочечные жирные кислоты являются субстратом для энергетического метаболизма кишечника и положительно влияют на продуктивность (LeBlanc JG et al., 2017). Также нами была выявлена положительная корреляция между *p. Limosilactobacillus* и усвоением кальция. В литературе отмечается о двунаправленном положительном взаимодействии между кальцием и пробиотическими микроорганизмами (Грабеклис В.В. и др., 2023; Wang J et al., 2022).

Таким образом применение растворимой формы кальция способствует увеличению относительной численности бактерий филума *Bacillota* и соотношения *Bacillota/Bacteroidota* в микробиоте кишечника кур-несушек, благоприятно влияющих на усвоение питательных веществ, в том числе кальция, и синтез короткоцепочечных жирных кислот, в частности уксусной, пропионовой и масляной.

Заключение.

Проведенное исследование показало положительное воздействие замены карбонатной формы кальция на хлоридную в рационе кур-несушек не только на повышение доступности кальция, усвоение жира и протеина, но и на формирование кишечного микробиома и синтез летучих жирных кислот.

Список источников

1. Аспекты получения растворимых органических форм кальция из яичной скорлупы / Н.С. Родионова, Т.В. Алексеева, В.Ю. Кустов, Е.С. Попов, Ю.О. Калгина // Гигиена и санитария. 2018. Т. 97. № 8. С. 762-766. [Rodionova NS, Alekseeva TV, Kustov VYu, Popov ES, Kalgina YuO. Aspects of obtaining forms of soluble organic calcium from the egg shell. Hygiene and Sanitation. 2018;97(8):762-766. (In Russ.)]. doi: 10.18821/0016-9900-2018-97-8-762-766
2. ГОСТ 13496.15-2016. Корма, комбикорма, комбикормовое сырье. Методы определения массовой доли сырого жира. Введ. 01.01.2018. М.: Стандартинформ, 2020. 9 с. [GOST 13496.15-2016. Feeds, mixed feeds, feed raw material. Methods for determining the raw fat content. Vved. 01.01.2018. Moscow: Standartinform; 2020:9 p. (In Russ.)].
3. ГОСТ 13496.4-2019. Корма, комбикорма, комбикормовое сырье. Методы определения содержания азота и сырого протеина. Введ. 01.08.2020. М.: Стандартинформ, 2019. 15 с. [GOST 13496.4-2019. Fodder, mixed fodder and raw mixed fodder. Methods of nitrogen and crude protein determination. Vved. 01.08.2020. Moscow: Standartinform; 2019:15 p. (In Russ.)].
4. ГОСТ 26226-95. Корма, комбикорма, комбикормовое сырье. Методы определения сырой золы. Введ. 01.01.1997. Минск: Межгосударственный совет по стандартизации, метрологии и сертификации, 2003. 5 с. [GOST 26226-95. Fodder, mixed fodder and mixed fodder raw material. Methods for determination of raw ash. Vved. 1997-01-01. Minsk: Mezhgosudarstvennyj sovet po standartizacii, metrologii i sertifikacii; 2003:5 p. (In Russ.)].
5. ГОСТ 31675-2012. Корма. Методы определения содержания сырой клетчатки с применением промежуточной фильтрации. Введ. 01.07.2013. М.: Стандартинформ, 2020. 9 с.

[GOST 31675-2012. Feeds. Methods for determination of crude fibre content with intermediate filtration. Vved. 01.07.2013. Moscow: Standartinform; 2020:9 p. (In Russ.)].

6. Грабеклис В.В., Делюкина О.В., Савко С.А. Взаимодействие эссенциальных элементов и кишечной микробиоты: обзор литературы // Микроэлементы в медицине. 2023. Т. 24, № 3. С. 12-21. [Grabeklis VV, Delyukina OV, Savko SA. Interaction of essential elements and gut microbiota: a literature review. Trace Elements in Medicine. 2023;24(3):12-21. (In Russ.)]. doi: 10.19112/2413-6174-2023-24-3-12-21

7. Губайдуллина И.З., Вершинина И.А., Иванищева А.П. Влияние различных форм хрома на биохимические показатели, антиоксидантный статус организма и микробиологический состав кишечника цыплят-бройлеров // Животноводство и кормопроизводство. 2023. Т. 106, № 1. С. 215-227. [Gubaidullina IZ, Vershinina IA, Ivanishcheva AP. Influence of various forms of chromium on biochemical parameters, antioxidant status of the body and microbiological composition of the intestines of broiler chickens. Animal Husbandry and Fodder Production. 2023;106(1):215-227. (In Russ.)]. <https://doi.org/10.33284/2658-3135-106-1-215>

8. Дифференцированный подход к выбору растворимых кальциевых препаратов второго поколения / О.А. Громова, И.Ю. Торшин, А.В. Пронин, Е.Ю. Егорова, А.Ю. Волков // Лечащий врач. 2014. № 11. С. 60. [Gromova OA, Torshin IYu, Pronin AV, Egorova EYu, Volkov AYU. Differencirovannyj podhod k vyboru rastvorimyh kal'cievyh preparatov vtorogo pokoleniya. Lechaschi vrach. 2014;11:60. (In Russ.)].

9. Кальций: физиологическая роль, источники и нормирование в промышленном птицеводстве (обзор) / К.А. Казаев, Т.Н. Холодилина, Е.А. Сизова, С.В. Лебедев, Е.В. Сальникова // Сельскохозяйственная биология. 2024. Т. 59, № 2. С. 237-257. [Kazaev KA, Kholodilina TN, Sizova EA, Lebedev SV, Salnikova EV. Calcium: physiological role, sources and doses in diets of commercial poultry (review). Sel'skokhozyaistvennaya Biologiya [Agricultural Biology]. 2024;59(2):237-257. (In Russ.)]. doi: 10.15389/agrobiology.2024.2.237rus doi: 10.15389/agrobiology.2024.2.237eng

10. Макро- и микроэлементы в питании животных: многообразие веществ и форм (обзор) / А.П. Иванищева, Е.А. Сизова, А.М. Камирова, Л.Л. Мусабеева, М.В. Соловьёв // Животноводство и кормопроизводство. 2023. Т. 106, № 2. С. 85-111. [Ivanishcheva AP, Sizova EA, Kamirova AM, Musabayeva LL, Solovyov MV. Macro- and microelements in animal nutrition: variety of substances and forms (review). Animal Husbandry and Fodder Production. 2023;106(2):85-111. (In Russ.)]. <https://doi.org/10.33284/2658-3135-106-2-85>

11. 4.1. Методы контроля. Химические факторы. Определение химических элементов в биологических средах и препаратах методами атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно связанной плазмой и масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой: метод. указания. МУК 4.1.1482-03. МУК 4.1.1483-03. М.: Федеральный центр госсанэпиднадзора Минздрава России. 2003, 56 с. [4.1. Metody kontrolya. Khimicheskie faktory. Opredelenie khimicheskikh elementov v biologicheskikh sredakh i preparatakh metodami atomno-emissionnoi spektrometrii s induktivno svyazannoi plazmoi i mass-spektrometrii s induktivno svyazannoi plazmoi: metod. ukazaniya. MUK 4.1.1482-03. MUK 4.1.1483-03. Moscow: Federal'nyi tsentr gossanepidnadzora Minzdrava Rossii; 2003: 56 p. (In Russ.)].

12. Руководство по кормлению сельскохозяйственной птицы: метод. указания / И.А. Егоров, В.А. Манукян, Т.М. Околелова, Т.Н. Ленкова, Е.Н. Андрианова, А.Н. Шевяков, Т.В. Егорова, Т.А. Егорова, Е.Ю. Байковская, Н.Н. Гогина, Л.И. Криворучко, И.Г. Сысоева, И.А. Меньшенин, Е.Н. Григорьева, И.Г. Панин, В.В. Гречишников, А.И. Панин, С.В. Кустова, В.А. Афанасьев, Ю.А. Пономаренко; ред.: Фисинин В.И., Егоров И.А.; Федеральный научный центр «Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт птицеводства» Российской академии наук. М.: Лика, 2018. 226 с. [Egorov IA, Manukyan VA, Okolelova TM, Lenkova TN, Andrianova EN, Shevyakov AN, Egorova TV, Egorova TA, Bajkovskaya EYu, Gogina NN, Krivoruchko LI, Sysoeva IG, Men'shenin IA, Grigor'eva EN, Panin IG, Grechishnikov VV, Panin AI, Kustova SV, Afanas'ev VA, Ponomarenko YuA. Rukovodstvo po kormleniyu sel'skohozyajstvennoj pticy:

metod. ukazaniya. Red.: Fisinin VI, Egorov IA. Federal'nyj nauchnyj centr «Vserossijskij nauchno-issledovatel'skij i tekhnologicheskij institut pticevodstva» Rossijskoj akademii nauk. Moscow: Lika; 2018:226 p. (In Russ.).

13. Руководство по работе с птицей кросса Хайсекс Браун / Т.А. Хмельницкая, С.В. Саппинен, О.А. Трошкова, В.Г. Певень, Л.Н. Ивашкина, В.А. Ивашкин, В.П. Урыкина, Т.М. Околелова, Л.Ф. Дядичкина, Н.С. Позднякова, А.Ш. Кавтарашвили, А.В. Борисов, В.Н. Ирза, В.В. Борисов, С.К. Старов; ред.: Грачев А.К. Кашино: Изд-во: ОАО ППЗ «Свердловский», 2007. 78 с. [Khmel'nitskaya TA, Sappinen SV, Troshkova OA, Peven' VG, Ivashkina LN, Ivashkin VA, Urykina VP, Okolelova TM, Dyadichkina LF, Pozdnyakova NS, Kavtarashvili ASH, Borisov AV, Irza VN, Borisov VV, Starov SK. Rukovodstvo po rabote s ptitsej krossa Khaiseks Braun. Red.: Grachev A.K. Kashino: Izd-vo: ОАО PPZ «Sverdlovskii»; 2007:78 p. (In Russ.)]

14. Attia YA, Al-Harathi MA, Abo El-Maaty HM. Calcium and cholecalciferol levels in late-phase laying hens: effects on productive traits, egg quality, blood biochemistry, and immune responses. *Frontiers in Veterinary Science*. 2020;7:389. doi: 10.3389/fvets.2020.00389

15. Chen CC, Lai CC, Huang HL, Huang WY, Toh HS, Weng TC, Chuang YC, Lu YC, Tang HJ. Antimicrobial activity of *Lactobacillus* species against carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*. *Frontiers in Microbiology*. 2019;10:789. doi: 10.3389/fmicb.2019.00789

16. Cho SH, Cho YJ, Park JH. The human symbiont *Bacteroides thetaiotaomicron* promotes diet-induced obesity by regulating host lipid metabolism. *Journal of Microbiology*. 2022;60(1):118-127. doi: 10.1007/s12275-022-1614-1

17. Cui Y, Wang Q, Liu S, Sun R, Zhou Y, Li Y. Age-related variations in intestinal microflora of free-range and caged hens. *Frontiers in Microbiology*. 2017;8:1310. doi: 10.3389/fmicb.2017.01310

18. Dittoe DK, Olson EG, Ricke SC. Impact of the gastrointestinal microbiome and fermentation metabolites on broiler performance. *Poultry Science*. 2022;101(5):101786. doi: 10.1016/j.psj.2022.101786

19. Dong X, Hu B, Wan W, Gong Y, Feng Y. Effects of husbandry systems and Chinese indigenous chicken strain on cecum microbial diversity. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*. 2019;33(10):1610-1616. doi: 10.5713/ajas.19.0157

20. Gardiner GE, Metzler-Zebeli BU, Lawlor PG. Impact of intestinal microbiota on growth and feed efficiency in pigs: a review. *Microorganisms*. 2020;8(12):1886. doi: 10.3390/microorganisms8121886

21. Griffiths MW, Tellez AM. *Lactobacillus helveticus*: the proteolytic system. *Frontiers in Microbiology*. 2013;4:30. doi: 10.3389/fmicb.2013.00030

22. Guo M, Zhang C, Zhang C, Zhang X, Wu Y. *Lactobacillus rhamnosus* reduces the pathogenicity of *Escherichia coli* in chickens. *Frontiers in Microbiology*. 2021;12:664604. doi: 10.3389/fmicb.2021.664604

23. Hamdi M, Solà-Oriol D, Davin R, Perez JF. Calcium sources and their interaction with the different levels of non-phytate phosphorus affect performance and bone mineralization in broiler chickens. *Poultry Science*. 2015;94(9):2136-2143. doi: 10.3382/ps/peu061

24. Huang Y, Lv H, Song Y, Sun C, Zhang Z, Chen S. Community composition of cecal microbiota in commercial yellow broilers with high and low feed efficiencies. *Poultry Science*. 2021;100(4):100996. doi: 10.1016/j.psj.2021.01.019

25. Humer E, Schwarz C, Schedle K. Phytate in pig and poultry nutrition. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*. 2015;99(4):605-625. doi: 10.1111/jpn.12258

26. Kumar H, Park W, Lim D, Srikanth K, Kim JM, Jia XZ, Han JL, Hanotte O, Park JE, Oyola SO. Whole metagenome sequencing of cecum microbiomes in Ethiopian indigenous chickens from two different altitudes reveals antibiotic resistance genes. *Genomics*. 2020;112(2):1988-1999. doi: 10.1016/j.ygeno.2019.11.011

27. Lawlor PG, Lynch PB, Caffrey PJ, O'Reilly JJ, O'Connell MK. Measurements of the acid-binding capacity of ingredients used in pig diets. *Irish Veterinary Journal*. 2005;58(8):447-452. doi: 10.1186/2046-0481-58-8-447

28. LeBlanc JG, Chain F, Martín R, Bermúdez-Humarán LG, Courau S, Langella P. Beneficial effects on host energy metabolism of short-chain fatty acids and vitamins produced by commensal and probiotic bacteria. *Microbial cell factories*. 2017;16:79. doi: 10.1186/s12934-017-0691-z
29. Li H, Wang XK, Tang M, Lei L, Li JR, Sun H, Jiang J, Dong B, Li HY, Jiang JD, Peng ZG. *Bacteroides thetaiotaomicron* ameliorates mouse hepatic steatosis through regulating gut microbial composition, gut-liver folate and unsaturated fatty acids metabolism. *Gut Microbes*. 2024;16(1):2304159. doi: 10.1080/19490976.2024.2304159
30. Li W, Angel R, Kim S-W, Jiménez-Moreno E, Proszkowiec-Weglarz M, Plumstead PW. Impacts of age and calcium on Phytase efficacy in broiler chickens. *Animal Feed Science and Technology*. 2018;238:9-17. doi: 10.1016/j.anifeedsci.2018.01.021
31. Liu J, Stewart SN, Robinson K, Yang Q, Lyu W, Whitmore MA, Zhang G. Linkage between the intestinal microbiota and residual feed intake in broiler chickens. *Journal of Animal Science and Biotechnology*. 2021;12:22. doi: 10.1186/s40104-020-00542-2
32. Liu Y, Zhong X, Lin S, Xu H, Liang X, Wang Y, Xu J, Wang K, Guo X, Wang J, Yu M, Li C, Xie C. *Limosilactobacillus reuteri* and caffeoylquinic acid synergistically promote adipose browning and ameliorate obesity-associated disorders. *Microbiome*. 2022;10:226. doi: 10.1186/s40168-022-01430-9
33. Lundberg R, Scharch C, Sandvang D. The link between broiler flock heterogeneity and cecal microbiome composition. *Animal Microbiome*. 2021;3:54. doi: 10.1186/s42523-021-00110-7
34. Magne F, Gotteland M, Gauthier L, Zazueta A, Pessoa S, Navarrete P, Balamurugan R. The firmicutes/bacteroidetes ratio: a relevant marker of gut dysbiosis in obese patients? *Nutrients*. 2020;12(5):1474. doi: 10.3390/nu12051474
35. Rassmidatta K, Theapparath Y, Chanaksorn N, Carcano P, Adeyemi KD, Ruangpanit Y. Dietary *Kluyveromyces marxianus* hydrolysate alters humoral immunity, jejunal morphology, cecal microbiota and metabolic pathways in broiler chickens raised under a high stocking density. *Poultry Science*. 2024;103(9): 103970. doi: 10.1016/j.psj.2024.103970
36. Roth C, Sims T, Rodehutsord M, Seifert J, Camarinha-Silva A. The active core microbiota of two high-yielding laying hen breeds fed with different levels of calcium and phosphorus. *Frontiers in Physiology*. 2022;13:951350. doi: 10.3389/fphys.2022.951350
37. Shi S, Qi Z, Gu B, Cheng B, Tu J, Song X, Shao Y, Liu H, Qi K, Li S. Analysis of high-throughput sequencing for cecal microbiota diversity and function in hens under different rearing systems. *3 Biotech*. 2019;9:438. doi: 10.1007/s13205-019-1970-7
38. Teeter RG, Smith MO, Owens FN, Arp SC, Sangiah S, Breazile JE. Chronic heat stress and respiratory alkalosis: occurrence and treatment in broiler chicks. *Poultry Science*. 1985;64(6):1060-1064. doi: 10.3382/ps.0641060
39. Tian Y, Li G, Zhang S, Zeng T, Chen L, Tao Z, Lu L. Dietary supplementation with fermented plant product modulates production performance, egg quality, intestinal mucosal barrier, and cecal microbiota in laying hens. *Frontiers in Microbiology*. 2022;13:955115. doi: 10.3389/fmicb.2022.955115
40. Wang H, Ni X, Qing X, Zeng D, Luo M, Liu L, Li G, Pan K, Jing B. Live probiotic *Lactobacillus johnsonii* BS15 promotes growth performance and lowers fat deposition by improving lipid metabolism, intestinal development, and gut microflora in broilers. *Frontiers in Microbiology*. 2017;8:1073. doi: 10.3389/fmicb.2017.01073
41. Wang J, Wu S, Zhang Y, Yang J, Hu Z. Gut microbiota and calcium balance. *Frontiers in Microbiology*. 2022;13:1033933. doi: 10.3389/fmicb.2022.1033933
42. Wang K, Yang A, Peng X, Lv F, Wang Y, Cui Y, Wang Y, Zhou J, Si H. Linkages of various calcium sources on immune performance, diarrhea rate, intestinal barrier, and post-gut microbial structure and function in piglets. *Frontiers in Nutrition*. 2022;9:921773. doi: 10.3389/fnut.2022.921773
43. Wen C, Yan W, Mai C, Duan Z, Zheng J, Sun C, Yang N. Joint contributions of the gut microbiota and host genetics to feed efficiency in chickens. *Microbiome*. 2021;9:126. doi: 10.1186/s40168-021-01040-x

44. Yadav S, Caliboso KD, Nanquil JE, Zhang J, Kae H, Neupane K, Mishra B, Jha R. Cecal microbiome profile of Hawaiian feral chickens and pasture-raised broiler (commercial) chickens determined using 16S rRNA amplicon sequencing. *Poultry Science*. 2021;100(7):101181. doi: 10.1016/j.psj.2021.101181
45. Yang X, Tai Y, Ma Y, Xu Z, Hao J, Han D, Li J, Deng X. Cecum microbiome and metabolism characteristics of Silky Fowl and White Leghorn chicken in late laying stages. *Frontiers in Microbiology*. 2022;13:984654. doi: 10.3389/fmicb.2022.984654

References

1. Rodionova NS, Alekseeva TV, Kustov VYu, Popov ES, Kalgina YuO. Aspects of obtaining forms of soluble organic calcium from the egg shell. *Hygiene and Sanitation*. 2018;97(8):762-766. doi: 10.18821/0016-9900-2018-97-8-762-766
2. State Standard 13496.15-2016. Feed, mixed feed, feed raw materials. Methods for determining the mass fraction of crude fat. Introduced 01.01.2018. Moscow: Standartinform; 2020:9 p.
3. State Standard 13496.4-2019. Fodder, mixed fodder and raw mixed fodder. Methods of nitrogen and crude protein determination. Introduced 01.08.2020. Moscow: Standartinform; 2019:15 p.
4. State Standard 26226-95. Feed, mixed feed, feed raw materials. Methods for the determination of crude ash. Introduced 01.01.1997. Minsk: Interstate Council on Standardization, Metrology and Certification; 2003:5 p.
5. State Standard 31675-2012. Feed. Methods for determining the crude fiber content using intermediate filtration. Introduced 01.07.2013. Moscow: Standartinform; 2020:9 p.
6. Grabeklis VV, Delyukina OV, Savko SA. Interaction of essential elements and gut microbiota: a literature review. *Trace Elements in Medicine*. 2023;24(3):12-21. doi: 10.19112/2413-6174-2023-24-3-12-21
7. Gubaidullina IZ, Vershinina IA, Ivanishcheva AP. Influence of various forms of chromium on biochemical parameters, antioxidant status of the body and microbiological composition of the intestines of broiler chickens. *Animal Husbandry and Fodder Production*. 2023;106(1):215-227. <https://doi.org/10.33284/2658-3135-106-1-215>
8. Gromova OA, Torshin IYu, Pronin AV, Egorova EYu, Volkov AYU. A differentiated approach to the selection of second-generation soluble calcium preparations. *The Attending Physician*. 2014;11:60.
9. Kazaev KA, Kholodilina TN, Sizova EA, Lebedev SV, Salnikova EV. Calcium: physiological role, sources and doses in diets of commercial poultry (review). *Sel'skokhozyaistvennaya Biologiya [Agricultural Biology]*. 2024;59(2):237-257. doi: 10.15389/agrobiology.2024.2.237eng
10. Ivanishcheva AP, Sizova EA, Kamirova AM, Musabayeva LL, Solovyov MV. Macro- and microelements in animal nutrition: variety of substances and forms (review). *Animal Husbandry and Fodder Production*. 2023;106(2):85-111. <https://doi.org/10.33284/2658-3135-106-2-85>
11. 4.1. Control methods. Chemical factors. Determination of chemical elements in biological environments and preparations by methods of atomic emission spectrometry with inductively coupled plasma and mass spectrometry with inductively coupled plasma: methodical instructions. MUK 4.1.1482-03. MUK 4.1.1483-03. Moscow: Federal Center for State Sanitary and Epidemiological Surveillance of the Ministry of Health of the Russian Federation; 2003:56 p.
12. Egorov IA, Manukyan VA, Okolelova TM, Lenkova TN, Andrianova EN, Shevyakov AN, Egorova TV, Egorova TA, Bajkovskaya EYu, Gogina NN, Krivoruchko LI, Sysoeva IG, Men'shenin IA, Grigor'eva EN, Panin IG, Grechishnikov VV, Panin AI, Kustova SV, Afanas'ev VA, Ponomarenko YuA. Guidelines for Feeding Poultry: A Method Instructions. Ed.: Fisinin VI, Egorov IA. Federal Scientific Center "All-Russian Research and Technological Poultry Institute" of Russian Academy of Science. Moscow: Lika; 2018:226 p.

13. Khmelnitskaya TA, Sappinen SV, Troshkova OA, Peven VG, Ivashkina LN, Ivashkin VA, Urykina VP, Okolelova TM, Dyadichkina LF, Pozdnyakova NS, Kavtarashvili ASH, Borisov AV, Irza VN, Borisov VV, Starov SK. Guide to Working with Agricultural Poultry of the Hisex Brown Cross. Ed.: Grachev AK. Kashino: Publisher: OJSC Breeding Poultry Plant "Sverdlovsky", 2007:82 p.
14. Attia YA, Al-Harhi MA, Abo El-Maaty HM. Calcium and cholecalciferol levels in late-phase laying hens: effects on productive traits, egg quality, blood biochemistry, and immune responses. *Frontiers in Veterinary Science*. 2020;7:389. doi: 10.3389/fvets.2020.00389
15. Chen CC, Lai CC, Huang HL, Huang WY, Toh HS, Weng TC, Chuang YC, Lu YC, Tang HJ. Antimicrobial activity of *Lactobacillus* species against carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*. *Frontiers in Microbiology*. 2019;10:789. doi: 10.3389/fmicb.2019.00789
16. Cho SH, Cho YJ, Park JH. The human symbiont *Bacteroides thetaiotaomicron* promotes diet-induced obesity by regulating host lipid metabolism. *Journal of Microbiology*. 2022;60(1):118-127. doi: 10.1007/s12275-022-1614-1
17. Cui Y, Wang Q, Liu S, Sun R, Zhou Y, Li Y. Age-related variations in intestinal microflora of free-range and caged hens. *Frontiers in Microbiology*. 2017;8:1310. doi: 10.3389/fmicb.2017.01310
18. Dittoe DK, Olson EG, Ricke SC. Impact of the gastrointestinal microbiome and fermentation metabolites on broiler performance. *Poultry Science*. 2022;101(5):101786. doi: 10.1016/j.psj.2022.101786
19. Dong X, Hu B, Wan W, Gong Y, Feng Y. Effects of husbandry systems and Chinese indigenous chicken strain on cecum microbial diversity. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*. 2019;33(10):1610-1616. doi: 10.5713/ajas.19.0157
20. Gardiner GE, Metzler-Zebeli BU, Lawlor PG. Impact of intestinal microbiota on growth and feed efficiency in pigs: a review. *Microorganisms*. 2020;8(12):1886. doi: 10.3390/microorganisms8121886
21. Griffiths MW, Tellez AM. *Lactobacillus helveticus*: the proteolytic system. *Frontiers in Microbiology*. 2013;4:30. doi: 10.3389/fmicb.2013.00030
22. Guo M, Zhang C, Zhang C, Zhang X, Wu Y. *Lactocaseibacillus rhamnosus* reduces the pathogenicity of *Escherichia coli* in chickens. *Frontiers in Microbiology*. 2021;12:664604. doi: 10.3389/fmicb.2021.664604
23. Hamdi M, Solà-Oriol D, Davin R, Perez JF. Calcium sources and their interaction with the different levels of non-phytate phosphorus affect performance and bone mineralization in broiler chickens. *Poultry Science*. 2015;94(9):2136-2143. doi: 10.3382/ps/peu061
24. Huang Y, Lv H, Song Y, Sun C, Zhang Z, Chen S. Community composition of cecal microbiota in commercial yellow broilers with high and low feed efficiencies. *Poultry Science*. 2021;100(4):100996. doi: 10.1016/j.psj.2021.01.019
25. Humer E, Schwarz C, Schedle K. Phytate in pig and poultry nutrition. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*. 2015;99(4):605-625. doi: 10.1111/jpn.12258
26. Kumar H, Park W, Lim D, Srikanth K, Kim JM, Jia XZ, Han JL, Hanotte O, Park JE, Oyola SO. Whole metagenome sequencing of cecum microbiomes in Ethiopian indigenous chickens from two different altitudes reveals antibiotic resistance genes. *Genomics*. 2020;112(2):1988-1999. doi: 10.1016/j.ygeno.2019.11.011
27. Lawlor PG, Lynch PB, Caffrey PJ, O'Reilly JJ, O'Connell MK. Measurements of the acid-binding capacity of ingredients used in pig diets. *Irish Veterinary Journal*. 2005;58(8):447-452. doi: 10.1186/2046-0481-58-8-447
28. LeBlanc JG, Chain F, Martín R, Bermúdez-Humarán LG, Courau S, Langella P. Beneficial effects on host energy metabolism of short-chain fatty acids and vitamins produced by commensal and probiotic bacteria. *Microbial cell factories*. 2017;16:79. doi: 10.1186/s12934-017-0691-z
29. Li H, Wang XK, Tang M, Lei L, Li JR, Sun H, Jiang J, Dong B, Li HY, Jiang JD, Peng ZG. *Bacteroides thetaiotaomicron* ameliorates mouse hepatic steatosis through regulating gut microbial composition, gut-liver folate and unsaturated fatty acids metabolism. *Gut Microbes*. 2024;16(1):2304159. doi: 10.1080/19490976.2024.2304159

30. Li W, Angel R, Kim S-W, Jiménez-Moreno E, Proszkowiec-Weglarz M, Plumstead PW. Impacts of age and calcium on Phytase efficacy in broiler chickens. *Animal Feed Science and Technology*. 2018;238:9-17. doi: 10.1016/j.anifeedsci.2018.01.021
31. Liu J, Stewart SN, Robinson K, Yang Q, Lyu W, Whitmore MA, Zhang G. Linkage between the intestinal microbiota and residual feed intake in broiler chickens. *Journal of Animal Science and Biotechnology*. 2021;12:22. doi: 10.1186/s40104-020-00542-2
32. Liu Y, Zhong X, Lin S, Xu H, Liang X, Wang Y, Xu J, Wang K, Guo X, Wang J, Yu M, Li C, Xie C. *Limosilactobacillus reuteri* and caffeoylquinic acid synergistically promote adipose browning and ameliorate obesity-associated disorders. *Microbiome*. 2022;10:226. doi: 10.1186/s40168-022-01430-9
33. Lundberg R, Scharch C, Sandvang D. The link between broiler flock heterogeneity and cecal microbiome composition. *Animal Microbiome*. 2021;3:54. doi: 10.1186/s42523-021-00110-7
34. Magne F, Gotteland M, Gauthier L, Zazueta A, Pesoa S, Navarrete P, Balamurugan R. The firmicutes/bacteroidetes ratio: a relevant marker of gut dysbiosis in obese patients? *Nutrients*. 2020;12(5):1474. doi: 10.3390/nu12051474
35. Rassmidatta K, Theapparatt Y, Chanaksorn N, Carcano P, Adeyemi KD, Ruangpanit Y. Dietary *Kluyveromyces marxianus* hydrolysate alters humoral immunity, jejunal morphology, cecal microbiota and metabolic pathways in broiler chickens raised under a high stocking density. *Poultry Science*. 2024;103(9): 103970. doi: 10.1016/j.psj.2024.103970
36. Roth C, Sims T, Rodehutsord M, Seifert J, Camarinha-Silva A. The active core microbiota of two high-yielding laying hen breeds fed with different levels of calcium and phosphorus. *Frontiers in Physiology*. 2022;13:951350. doi: 10.3389/fphys.2022.951350
37. Shi S, Qi Z, Gu B, Cheng B, Tu J, Song X, Shao Y, Liu H, Qi K, Li S. Analysis of high-throughput sequencing for cecal microbiota diversity and function in hens under different rearing systems. *3 Biotech*. 2019;9:438. doi: 10.1007/s13205-019-1970-7
38. Teeter RG, Smith MO, Owens FN, Arp SC, Sangiah S, Breazile JE. Chronic heat stress and respiratory alkalosis: occurrence and treatment in broiler chicks. *Poultry Science*. 1985;64(6):1060-1064. doi: 10.3382/ps.0641060
39. Tian Y, Li G, Zhang S, Zeng T, Chen L, Tao Z, Lu L. Dietary supplementation with fermented plant product modulates production performance, egg quality, intestinal mucosal barrier, and cecal microbiota in laying hens. *Frontiers in Microbiology*. 2022;13:955115. doi: 10.3389/fmicb.2022.955115
40. Wang H, Ni X, Qing X, Zeng D, Luo M, Liu L, Li G, Pan K, Jing B. Live probiotic *Lactobacillus johnsonii* BS15 promotes growth performance and lowers fat deposition by improving lipid metabolism, intestinal development, and gut microflora in broilers. *Frontiers in Microbiology*. 2017;8:1073. doi: 10.3389/fmicb.2017.01073
41. Wang J, Wu S, Zhang Y, Yang J, Hu Z. Gut microbiota and calcium balance. *Frontiers in Microbiology*. 2022;13:1033933. doi: 10.3389/fmicb.2022.1033933
42. Wang K, Yang A, Peng X, Lv F, Wang Y, Cui Y, Wang Y, Zhou J, Si H. Linkages of various calcium sources on immune performance, diarrhea rate, intestinal barrier, and post-gut microbial structure and function in piglets. *Frontiers in Nutrition*. 2022;9:921773. doi: 10.3389/fnut.2022.921773
43. Wen C, Yan W, Mai C, Duan Z, Zheng J, Sun C, Yang N. Joint contributions of the gut microbiota and host genetics to feed efficiency in chickens. *Microbiome*. 2021;9:126. doi: 10.1186/s40168-021-01040-x
44. Yadav S, Caliboso KD, Nanquil JE, Zhang J, Kae H, Neupane K, Mishra B, Jha R. Cecal microbiome profile of Hawaiian feral chickens and pasture-raised broiler (commercial) chickens determined using 16S rRNA amplicon sequencing. *Poultry Science*. 2021;100(7):101181. doi: 10.1016/j.psj.2021.101181
45. Yang X, Tai Y, Ma Y, Xu Z, Hao J, Han D, Li J, Deng X. Cecum microbiome and metabolism characteristics of Silky Fowl and White Leghorn chicken in late laying stages. *Frontiers in Microbiology*. 2022;13:984654. doi: 10.3389/fmicb.2022.984654

Информация об авторах:

Татьяна Николаевна Холодилина, кандидат сельскохозяйственных наук, заведующий центром «Испытательный центр» ЦКП, Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий Российской академии наук, 460000, г. Оренбург, ул. 9 Января, д. 29; доцент кафедры экологии и природопользования, Оренбургский государственный университет, 460018, г. Оренбург, пр. Победы, 13, тел.: 8-353-277-39-97.

Елена Владимировна Яушева, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, и.о. заведующего лабораторией молекулярно-генетических исследований и металломики в животноводстве, Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий Российской академии наук, 460000, г. Оренбург, ул. 9 Января, д. 29; старший научный сотрудник научно-образовательного центра «Биологические системы и нанотехнологии», Оренбургский государственный университет, 460018, г. Оренбург, пр. Победы, 13, тел.: 8-987-850-07-15.

Елена Анатольевна Сизова, доктор биологических наук, заведующий отделом физиологии, биохимии и морфологии животных, Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий Российской академии наук, 460000, г. Оренбург, ул. 9 Января, д. 29; профессор научно-образовательного центра «Биологические системы и нанотехнологии», Оренбургский государственный университет, 460018, г. Оренбург, пр. Победы, 13, тел.: 8-912-344-99-07.

Даниил Евгеньевич Шошин, аспирант, младший научный сотрудник отдела физиологии, биохимии и морфологии животных, Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий Российской академии наук, 460000, г. Оренбург, ул. 9 Января, д. 29; ассистент научно-образовательного центра «Биологические системы и нанотехнологии», Оренбургский государственный университет, 460018, г. Оренбург, пр. Победы, 13, тел.: 8-965-932-53-67.

Кристина Владимировна Рязанцева, кандидат биологических наук, научный сотрудник отдела физиологии, биохимии и морфологии животных, Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий Российской академии наук, 460000, г. Оренбург, ул. 9 Января, д. 29; научный сотрудник научно-образовательного центра «Биологические системы и нанотехнологии», Оренбургский государственный университет, 460018, г. Оренбург, пр. Победы, 13, тел.: 8-986-775-95-45.

Ксения Сергеевна Нечитайло, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник отдела физиологии, биохимии и морфологии животных, Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий Российской академии наук, 460000, г. Оренбург, ул. 9 Января, д. 29; старший преподаватель научно-образовательного центра «Биологические системы и нанотехнологии», Оренбургский государственный университет, 460018, г. Оренбург, пр. Победы, 13, тел.: 8-905-893-55-99.

Татьяна Андреевна Климова, кандидат биологических наук, заведующий лабораторией микробиологии «Испытательный центр» ЦКП, Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий Российской академии наук, 460000, г. Оренбург, ул. 9 Января, д. 29, тел.: 8-987-849-41-66.

Александра Сергеевна Мустафина, кандидат сельскохозяйственных наук, младший научный сотрудник «Испытательный центр» ЦКП, Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий Российской академии наук, 460000, г. Оренбург, ул. 9 Января, д. 29, тел.: 8-912-340-21-10.

Information about the authors:

Tatyana N Kholodilina, Cand. Sci. (Agriculture), Head of the Center «Testing Center» of the Central Common Use Center, Federal Research Centre of Biological Systems and Agrotechnologies of the Russian Academy of Sciences, 29 9 Yanvary St., Orenburg, 460000; Associate Professor of the Department of «Ecology and Nature Management», Orenburg State University, 460018, Orenburg, Pobedy Ave., 13, tel.: 8-353-277-39-97.

Elena V Yausheva, Cand. Sci. (Biology), Senior Researcher, Acting Head of the Laboratory of Molecular Genetic Research and Metallomics in Animal Husbandry, Federal Research Centre of Biological Systems and Agrotechnologies of the Russian Academy of Sciences, 29 9 Yanvarya St., Orenburg, 460000; Senior Researcher at the Scientific and Educational Center «Biological Systems and Nanotechnologies», Orenburg State University, Pobedy Ave., 13, Orenburg, 460018, tel.: 8-987-850-07-15.

Elena A Sizova, Dr. Sci. (Biology), Head of the Department of Physiology, Biochemistry and Morphology of Animals, Federal Research Centre of Biological Systems and Agrotechnologies of the Russian Academy of Sciences, 29 9 Yanvarya St., Orenburg, 460000; Professor of the Scientific and Educational Center «Biological Systems and Nanotechnologies», Orenburg State University, Pobedy Ave., 13, Orenburg, 460018, tel.: 8-912-344-99-07.

Daniil E Shoshin, Postgraduate student, Junior Researcher at the Department of Physiology, Biochemistry and Morphology of Animals, Federal Research Centre of Biological Systems and Agrotechnologies of the Russian Academy of Sciences, 29 9 Yanvarya St., Orenburg, 460000; Assistant at the Scientific and Educational Center «Biological Systems and Nanotechnologies», Orenburg State University, Pobedy Ave., 13, Orenburg, 460018, tel.: 8-965-932-53-67.

Kristina V Ryazantseva, Cand. Sci. (Biology), Researcher at the Department of Physiology, Biochemistry and Morphology of Animals, Federal Research Centre of Biological Systems and Agrotechnologies of the Russian Academy of Sciences, 29 9 Yanvarya St., Orenburg, 460000; Researcher at the Scientific and Educational Center «Biological Systems and Nanotechnologies», Orenburg State University, Pobedy Ave., 13, Orenburg, 460018, tel.: 8-986-775-95-45.

Ksenia S Nechitailo, Cand. Sci. (Biology), Senior Researcher at the Department of Physiology, Biochemistry and Morphology of Animals, Federal Research Centre of Biological Systems and Agrotechnologies of the Russian Academy of Sciences, 29 9 Yanvarya St., Orenburg, 460000; senior lecturer at the Scientific and Educational Center «Biological Systems and Nanotechnologies», Orenburg State University, Pobedy Ave., 13, Orenburg, 460018, tel.: 8-905-893-55-99.

Tatyana A Klimova, Cand. Sci. (Biology), Head of the Microbiology Laboratory «Testing Center» of the Central Common Use Center, Federal Research Centre of Biological Systems and Agrotechnologies of the Russian Academy of Sciences, 29 9 Yanvarya St., Orenburg, 460000, tel.: 8-987-849-41-66.

Aleksandra S Mustafina, Cand. Sci (Agriculture), Junior Researcher «Testing Center» of the Central Common Use Center, Federal Research Centre of Biological Systems and Agrotechnologies of the Russian Academy of Sciences, 29 9 Yanvarya St., Orenburg, 460000, tel.: 8-912-340-21-10.

Статья поступила в редакцию 02.07.2025; одобрена после рецензирования 25.08.2025; принята к публикации 15.09.2025.

The article was submitted 02.07.2025; approved after reviewing 25.08.2025; accepted for publication 15.09.2025.