

На правах рукописи

Бражник

Бражник Евгений Александрович

**МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ КОРМОВЫЕ ДОБАВКИ ПРИ
ВЫРАЩИВАНИИ ЦЫПЛЯТ-БРОЙЛЕРОВ**

4.2.4 – Частная зоотехния, кормление, технологии приготовления кормов и
производства продукции животноводства

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата сельскохозяйственных наук

Санкт-Петербург – 2024 г.

Работа выполнена на кафедре кормления и разведения сельскохозяйственных животных федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Волгоградский государственный аграрный университет».

Научный руководитель: **Лаптев Георгий Юрьевич**

доктор биологических наук, профессор кафедры крупного животноводства ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный аграрный университет»

**Официальные
оппоненты:**

Овчинников Александр Александрович

доктор сельскохозяйственных наук, профессор, профессор кафедры кормления, гигиены животных, технологии производства и переработки сельскохозяйственной продукции ФГБОУ ВО Южно-Уральский ГАУ (г. Троицк)

Шейда Елена Владимировна

кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории биологических испытаний и экспертиз ФГБНУ «Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий Российской академии наук» (г. Оренбург)

Ведущая организация:

ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный аграрный университет»

Защита состоится «17» мая 2024 г. в 12.30 часов на заседании диссертационного совета 35.2.033.03 на базе федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный аграрный университет», 196601, Санкт-Петербург, город Пушкин, Петербургское шоссе, д. 2, лит. А., новый лабораторный учебный корпус, ауд. 2113.

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке ФГБОУ ВО СПбГАУ и на официальном сайте по адресу: <https://spbgau.ru/science/dissertatsionnye-sovety/dissertatsionnyy-совет-35-2-003-03/protection/brazhnik-evgeniy-aleksandrovich/>

Автореферат разослан « ____ » _____ 20__ года

Ученый секретарь

диссертационного совета 35.2.033.03

доктор биологических наук

Ильина Лариса Александровна

1. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования. Птицеводство является одной из наиболее развитых и перспективных отраслей сельского хозяйства. Производство мяса птицы в России достигает высоких темпов развития. Успех данной отрасли зависит от сбалансированных по составу кормов (Фисинин В.И. и др., 2003). В настоящее время существует потребность в поиске способов приготовления кормов, позволяющих решить проблему сбережения ресурсов (Сысоев Д.П., 2019).

При выращивании сельскохозяйственных животных сохранение их здоровья является одной из главных задач. Это может быть достигнуто использованием кормовых антибиотиков. Поиск альтернативных решений является актуальной задачей для сельского хозяйства. Несистемное и постоянное применение антибиотиков в животноводстве и птицеводстве приводит к снижению их эффективности (Дубровин А.В. и др., 2023; Тюрина Д.Г. и др., 2022; Йылдырым Е.А. и др., 2020; Лаптев Г.Ю. и др., 2020). Патогенные микроорганизмы в таком случае достаточно быстро приобретают антибиотикорезистентность – устойчивость к лекарственным веществам (Сазыкин И.С. и др., 2021). Биопрепараты, выпускаемые для сельского хозяйства на основе натуральных растительных компонентов, такие как эфирные масла, по эффективности могут не уступать антибиотикам и вместе с тем не иметь негативных последствий от их применения (Маркелова Н.Н. и др., 2014). Известно, что фитобиотик, в основе которого имеются эфирные масла, может стимулировать активный иммунный ответ у бройлеров (Йылдырым Е.А. и др., 2020; Ильина Л.А. и др., 2020). Каждый класс антибиотиков имеет общую основную структуру или каркас. Широко распространены всего четыре таких каркаса – цефалоспорины, пенициллины, хинолоны и макролиды, которые составляют 73% новых антибактериальных химических соединений, зарегистрированных в период с 1981 по 2005 год (Fischbach M.A., 2009).

Таким образом, введение ограничений на использование антибиотиков заставляет по-новому взглянуть на проблему безопасного выпуска пищевой продукции отрасли птицеводства. Снижение использования антибиотиков-стимуляторов роста может быть достигнуто благодаря внедрению новых технологических решений.

Степень разработанности темы исследования. До недавнего времени с помощью кормовых антибиотиков решались многие вопросы, связанные с сохранением здоровья птицы и повышением продуктивности (Лаптев Г.Ю. и др., 2020). Исследования последних лет доказали, что использование антибиотиков должно быть лимитировано, а возможной заменой их могут стать кормовые добавки (Меднова В.В., 2021). Решения, связанные с заменой антибиотиков, могут иметь немаловажную роль в формировании новых практических методов ведения хозяйственной деятельности (Cook M.A. et al., 2022). Таким образом, использование альтернативных добавок Профорт® и Пробиоцид®-Ультра является актуальной задачей и имеет высокий приоритет практической значимости.

Цели и задачи исследований. Целью работы является научно-производственное обоснование использования добавок Профорт® и Пробиоцид®-Ультра в рационах цыплят бройлеров промышленного стада.

Для достижения поставленной цели были обозначены следующие задачи:

- изучить входящие в состав добавок Профорт® и Пробиоцид®-Ультра пробиотические микроорганизмы, их биологический потенциал и безопасность с использованием метода полногеномного секвенирования NGS (next generation sequencing – секвенирования нового поколения) и биоинформатических подходов;
- исследовать влияние добавки Профорт® и Пробиоцид®-Ультра на показатели продуктивности цыплят-бройлеров в условиях вивария;
- исследовать влияние добавки Пробиоцид®-Ультра на показатели продуктивности цыплят-бройлеров в условиях промышленного выращивания при отмене кормового антибиотика;
- исследовать влияние комбинации добавок Профорт® и Пробиоцид®-Ультра на показатели продуктивности цыплят-бройлеров в условиях промышленного выращивания при отмене кормового антибиотика;
- дать экономическую оценку эффективности, целесообразности применения комбинации кормовых добавок для цыплят-бройлеров и разработать рекомендации по их практическому использованию.

Научная новизна исследований. В результате проведенных работ были изучены пробиотические микроорганизмы, входящие в состав кормовых добавок, их потенциальная роль и безопасность в обеспечении благополучия здоровья и оптимизации процессов пищеварения при выращивании кур мясного направления продуктивности. Исследована практическая значимость добавок Профорт® и Пробиоцид®-Ультра и возможность их применения вместо кормовых антибиотиков. Автором доказана целесообразность совместного использования добавок Профорт® и Пробиоцид®-Ультра. Применение добавок позволяет отказаться от использования кормовых антибиотиков при сохранении продуктивности и показателей здоровья птицы и вместе с тем повысить эффективность использования кормовых ресурсов.

Теоретическая и практическая значимость. Введение в состав рациона при промышленном выращивании бройлерных-цыплят кросса «Кобб-500», добавок Профорт® и Пробиоцид®-Ультра в дозировке 0,5 кг и 1,0 кг на 1 т комбикорма, соответственно, позволило увеличить сохранность на 2,5% в абсолютном выражении, снизить конверсию на 1,2% (19 г), повысить индекс продуктивности на 6,6% и увеличить массу одной головы при убое на 2,6%. Таким образом, внедрение в производство данной технологии позволит получать более безопасную продукцию при сбережении ресурсов.

Методология и методы исследований. Решение поставленных задач было достигнуто путем комплексного подхода с использованием современных методов и оборудования, таких как молекулярно-генетических, биоинформатических, зоотехнических и микробиологических. Полученные в ходе исследований данные обрабатывали с помощью различных

биоинформатических программ и с использованием открытых валидированных баз данных. Статистический анализ и визуализацию выполняли с помощью специализированного программного обеспечения.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. установлен биологический потенциал и безопасность бактерий, входящих в состав добавок Профорт® и Пробиоцид®-Ультра;
2. использование добавки Профорт® или Пробиоцид®-Ультра в рационе цыплят-бройлеров способствует повышению продуктивности и снижению расхода кормов на единицу получаемой продукции;
3. применение добавки Пробиоцид®-Ультра при выращивании цыплят-бройлеров в промышленных условиях позволяет отказаться от использования кормовых антибиотиков, при этом сохранить показатели продуктивности и повысить эффективность выращивания;
4. использование комбинации кормовых добавок Профорт® и Пробиоцид®-Ультра при выращивании цыплят-бройлеров может стать альтернативой при ограниченном использовании кормовых антибиотиков, имеет экономическую целесообразность и позволяет получить более безопасную продукцию.

Степень достоверности. При выполнении поставленной задачи были собраны и проанализированы обширные научные труды отечественных и зарубежных ученых в области кормления, генетики и микробиологии сельскохозяйственной птицы. На базе этого анализа была разработана собственная научная концепция, для подтверждения которой проведен ряд научных изысканий, в том числе и апробация результатов исследований на практике.

Апробация результатов исследований. Материалы диссертации были озвучены и рассмотрены на международных и научно-практических конференциях, где получили положительную оценку: «Научное обеспечение развития АПК в условиях импортозамещения» (Санкт-Петербург – Пушкин, 2019), «Экология и общество: баланс интересов» (Вологда, 2020), «Селекционные и технологические аспекты интенсификации производства продуктов животноводства» (Москва, 2022).

Публикации. По проблемам, поднимаемым в диссертации, опубликовано 10 работ, в том числе один патент (RU2652836), 5 статей в рецензируемых журналах, из них – 3 публикации, рекомендованных ВАК и 2 работы в изданиях, индексируемых базами Web of Science и Scopus.

Личный вклад автора. Автору принадлежит основная роль разработчика методологии, обработке и осмыслении результатов диссертационной работы. В подготовке публикаций, написании диссертации и внедрении нового продукта в производство также ответственен автор.

Объем и структура диссертации. Диссертационная работа изложена на 154 страницах, иллюстрирована 18 таблицами и 18 рисунками, состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследований, результатов исследований и их обсуждения, выводов и предложений производству, библиографического списка, включающего 314 источника.

2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Научно-исследовательская работа по поиску комбинации бактерий в составе кормовой добавки была начата с изучения влияния добавки Профорт® на цыплят-бройлеров кросса «Кобб-500». В условиях вивария участвовали в сравнении контрольная группа, получавшая полнорационный комбикорм и опытная группа, дополнительно получавшая добавку Профорт® в дозировке 0,5 кг/т корма. Обе группы по рекомендованной схеме получали кормовой антибиотик нозигептид. Учтены такие показатели, как сохранность поголовья, затраты корма и среднесуточный прирост (рисунок 1).

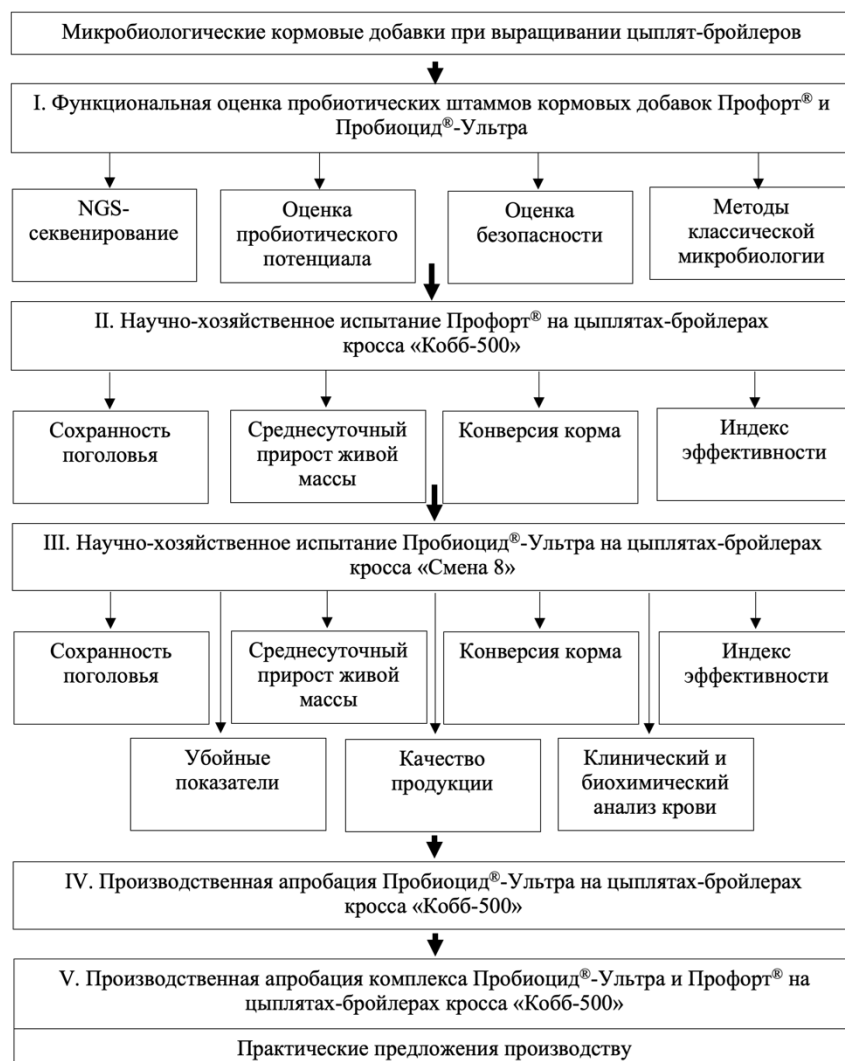


Рисунок 1 – Общая схема выполнения работы

Дальнейшие исследования были сосредоточены на испытании нового пробиотика со свойствами подкислителя – Пробиоцид®-Ультра. Опытная группа вместе с основным рационом получала экспериментальную добавку в количестве 1 кг/т корма, а контрольная – основной рацион. Согласно рекомендациям обе группы получали нозигептид. Учитывали зоотехнические показатели, состояние здоровья и показатели продуктивности.

Последующие испытания были проведены в птичниках ОАО «Птицефабрика Зеленецкая». Опытная группа вместо кормового антибиотика

получала Пробиоцид®-Ультра в дозе 1 кг/т комбикорма, а контрольная с основным рационом дополнительно получала кормовой антибиотик нозигептид, согласно рекомендациям. Последующий эксперимент проводился в рамках испытания действия комплекса добавок Профорт® и Пробиоцид®-Ультра. Птичник опытной группы вместо кормового антибиотика с комбикормом получал добавку Профорт® и Пробиоцид®-Ультра в дозировке 0,5 кг и 1 кг на 1 т комбикорма, соответственно. Птицы контрольной группы дополнительно получали нозигептид, согласно рекомендациям. Длительность откорма бройлеров составила в среднем 39,5 дней.

Антимикробную активность в отношении патогенных и условно-патогенных микроорганизмов (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Pseudomonas aeruginosa*) оценивали в соответствии с требованиями ГФ и изм. от 28.12.1998 г. *in vitro* методом отсроченного антагонизма (методом «колодцев») (Хаджиева З.Д. и др., 2010). Процент антимикробной активности (A , %) тестируемых штаммов определяли по формуле 1 (Rangasamy O. et al., 2007; Kosakowska O. et al., 2018):

$$A = \frac{N_i}{N} \times 100, \quad (1)$$

где A – процент антимикробной активности; N_i – количество штаммов, ингибируемых исследуемым препаратом (пробиотическим штаммом); N – общее количество протестированных патогенов.

В ходе исследования было выполнено полногеномное высокоэффективное секвенирование пробиотических штаммов: *Bacillus megaterium* В-4801, *B. tucilagenosus* 159 и *Enterococcus faecium* 1-35. Библиотеку ДНК подготавливали с использованием набора Nextera DNA Flex (Illumina, Inc., США). Нуклеотидные последовательности определяли с помощью прибора MiSeq (Illumina, Inc., США), с использованием комплекта реактивов MiSeq Reagent Kit v3 (300-cycle; США).

Функциональную аннотацию геномных последовательностей выполняли с помощью веб-сервера RAST 2.0. Для поиска генных кластеров, вовлеченных в синтез вторичных метаболитов, использовали веб-сервис antiSMASH 6.0. Поиск профаговых последовательностей выполняли с использованием веб-сервера PHASTER. Вирулентность геномов анализировали при помощи программы VirulenceFinder. Поиск и оценку детерминант устойчивости к антибиотикам выполняли при помощи программы ResFinder.

Бактериальное сообщество слепых отростков кишечника оценивали методом NGS-секвенирования на платформе MiSeq (Illumina, Inc., США) с применением праймеров для V3-V4 региона 16S рРНК (Illumina, Inc., США). Биоинформатический анализ данных выполнялся с помощью программного обеспечения QIIME2 ver. 2020.8.

Математико-статистическую обработку результатов проводили в программах Microsoft Excel и RStudio. Результаты представлены в виде среднего (M) и стандартной ошибки среднего ($\pm SEM$). Достоверность различий между группами устанавливали по t -критерию Стьюдента, различия считали статистически значимыми при $p \leq 0,05$.

3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1. Функциональная оценка бактерий

С целью оценки перспективы применения пробиотических бактерий были изучены особенности их геномов. Углубленное изучение генетических характеристик с использованием метода полногеномного секвенирования, в настоящее время становится востребованным инструментом анализа молекулярных механизмов для микроорганизмов. Установлено, что *B. megaterium* В-4801 имел наибольший размер генома, *B. mucilaginosus* 159 – средний, а *E. faecium* 1-35 – наименьший, составив при этом 6 113 972, 3 970 760 и 2 668 596 п. н., соответственно. Анализ геномов показал, что в составе геномов исследуемых бактерий содержалось большое количество генетических детерминант, определяющих метаболизм углеводов, белка и аминокислот.

По результату оценки программы ResFinder детерминант устойчивости к антибиотикам в геномах *B. megaterium* В-4801 и *B. mucilaginosus* 159, обнаружено не было. В геноме *E. faecium* 1-35 обнаружены два гена антимикробной устойчивости *msr(C)* и *aac(6')-Ii* с идентичностью 97,23% и 98,36%, соответственно.

Ген *msr(C)* является неотъемлемым компонентом геномов всех *E. faecium*, за исключением двух изолятов, полученных от животных. Считается, что этот ген, по-видимому, имеет эндогенное происхождение и не является геном приобретенной устойчивости, как, например, *msr(A)*. Второй детерминантой антимикробной устойчивости стал ген *aac(6')-Ii*, который также является специфичным для этого вида и может быть использован для идентификации *E. faecium*. Установленные детерминанты антимикробной устойчивости в *E. faecium* 1-35 связаны с хромосомой и не относятся к мобильным элементам, вследствие чего представляют низкий риск их передачи. Бактерии *B. megaterium* В-4801 и *B. mucilaginosus* 159 не содержат таких генов, что также исключает их перенос и формирование антибиотикоустойчивой микрофлоры.

В геноме бактерий *B. megaterium* В-4801 и *B. mucilaginosus* 159 обнаружены соответственно 1 и 4 дефектных профага с оценкой полноты представленности менее 70 (по версии программы PHASTER). В плазмидной части геномов бактерий рода *Bacillus* также представлены профаги в дефектном состоянии. В геноме бактерий *E. faecium* 1-35 также обнаружены 3 дефектных профага и 2 полноразмерных (интактных). Наличие в бактериальной клетке фагов, включенных в бактериальную хромосому, имеет важное функциональное значение, выполняя защиту от проникновения других схожих вирусов.

Поиск генов, кодирующих предполагаемые факторы вирулентности, программой VirulenceFinder показал их отсутствие у *B. megaterium* В-4801 и *B. mucilaginosus* 159. Однако у *E. faecium* 1-35 были обнаружены два фактора вирулентности – *efaAfm* и *astm* (ген адгезии и предшественника коллагенового адгезина). Ген *astm* обнаружен также в геноме пробиотика *E. faecium* SF68, обладающего крайне низкой способностью к адгезии эпителиальных клеток.

Все установленные факторы вирулентности не являются агрессивными. В плаزمидах не обнаружены гены, связанные с вирулентностью. Согласно

рекомендациям Европейского агентства по безопасности пищевых продуктов, когда штамм чувствителен к ампициллину и не имеет генов вирулентности IS16, esp и hyl (генов элемента IS, белка поверхности и гиалуронидазы), он может быть оценен как безопасный и может быть использован в качестве кормовой добавки; *E. faecium* 1-35 соответствует этим критериям.

Штаммы пробиотических бактерий, включенных в состав кормовых добавок Профорт® и Пробиоцид®-Ультра, можно считать безопасными для применения в сельском хозяйстве.

3.2. Антимикробная активность бактерий

Методом классической микробиологии установлено, что *B. megaterium* В-4801 обладает выраженным антагонистическим действием в отношении тест-культур *Staphylococcus aureus* и *Escherichia coli*. Антимикробные свойства также проявил и *B. mucilaginosus* 159 в отношении *P. aeruginosa*, *Escherichia coli* и *Salmonella typhimurium*. Штамм *E. faecium* 1-35 проявил антимикробную активность по отношению к *P. aeruginosa* и *Escherichia coli*. Таким образом, пробиотическими штаммами *B. megaterium* В-4801, *B. mucilaginosus* 159 и *E. faecium* 1-35 было ингибировано 25, 75 и 50% тест-штаммов, соответственно.

3.3. Оценка потенциала синтеза метаболитов при помощи веб-сервиса antiSMASH 6.0

В хромосоме бактерий *E. faecium* 1-35 были обнаружены гены нерибосомных пептид-синтетаз (НРПС). Размер данного локуса составил 37 368 п. н. По результатам оценки в базе нерибосомных пептидов Norgine, можно предположить, что данный продукт имеет определенную долю сходства с АДЕП-1 (Ацил-де-пси-пептид). Сравнение проводилось по 717 пептидами, и согласно оценке базы данных Norgine доля сходства составила 0,329.

С целью оценки абсорбции или проникающей способности этого соединения руководствовались эмпирическим «правилом пяти» Липински. Было установлено, что из четырех критериев есть несоответствие только по числу доноров водородной связи (таблица 1). Таким образом, вероятно данное соединение обладает определенной фармакологической и биологической активностью при пероральном применении.

Таблица 1 – Физико-химические свойства предсказанного полимера

Свойства	Значения
Биологическое описание предсказанного полимера	(X - Phe - Ser) + (Gly) + (Ala)
Формула	$C_{19}H_{26}N_5O_7^+$
Формула в формате SMILES	<chem>O=C(C(NC([CH+]N)=O)Cc1cccc1)NC(C(NCC(NC(C(O)=O)C)=O)=O)CO</chem>
Молекулярный масса	436,44 г/моль
Число доноров водородной связи	7
Число акцепторов водородной связи	8
Коэффициент распределения октанол-вода (logP)	-1,75
Растворимость	Хорошо растворимый

Для *B. megaterium* В-4801 свойственными стали кластеры, ответственные за синтез вторичных метаболитов – сидерофоров и лантипептидов (таблица 2).

Таблица 2 – Характеристика хромосомных локусов, определяющих синтез вторичных метаболитов

Штамм	Размер локуса, п. н.	Химическая природа метаболита, (метаболит)	Сходство с гомологичными локусами бактерий	
			Штамм	%
<i>B. mucilaginosus</i> 159	23189	Лантипептиды II класса (Мерсацидин)	<i>B. sp.</i> HIL-Y85/54728	100
	41419	НРП (Бацелизина дипептид)	<i>B. velezensis</i> FZB42	100
	51794	НРП, Сидерофор (Бациллибактин)	<i>B. subtilis subsp. subtilis str.</i> 168	100
	33917	Поликетид (Диффицидин)	<i>B. velezensis</i> FZB42	100
	88219	Поликетид (Макролактин)	<i>B. velezensis</i> FZB42	100
	20741	Терпен, Тетратерпеноид	<i>B. amyloliquefaciens</i>	100
	88315	Липопептиды (Бацилломицин Д)	<i>B. velezensis</i> FZB42	100
	35983	Поликетид (Бациллаен)	<i>B. velezensis</i> FZB42	71
	65408	НРП, Липопротеин (Сурфактин)	<i>B. velezensis</i> FZB42	82
	46526	НРП, Поликетид, (Диффицидин)	<i>B. velezensis</i> FZB42	53
	22702	НРП (Плипастатин)	<i>B. subtilis subsp. subtilis</i>	30
<i>B. megaterium</i> В-4801	15889	Сидерофор (Шизокинен)	<i>Leptolyngbya sp.</i> РСС 7376	62
	23141	Лантипептид (Цитолизин)	Кластер генов биосинтеза цитолизина <i>ClyI1</i> из плазмиды <i>pAD1</i>	40
<i>E. faecium</i> 1-35	37368	НРП (АДЕП-1)	<i>E. faecium</i> КАСС16100	62
	9342	НРП	<i>Lactobacillus plantarum</i> В21	18

Все они являются характерными метаболитами для бактерий рода *Bacillus spp.* и имеют сходную организацию генных кластеров. В хромосоме штамма *B. mucilaginosus* 159 идентифицировано 11 локусов, предположительно кодирующих гены синтеза веществ с антагонистической активностью различной химической природы: липопептидов (сурфактин, бацилломицин Д), поликетидов (бациллаен, макролактин и диффицидин), лантипептида (мерсацидин), бацелизина дипептид, сидерофора и др.

Для бактерий *B. mucilaginosus* 159 определено наибольшее число генетических кластеров, ответственных за синтез вторичных метаболитов как на рибосомах, так и без их участия.

3.4. Результаты научно-хозяйственного опыта по испытанию добавки Профорт®

Испытание добавки Профорт® проводили на цыплятах-бройлерах кросса «Кобб-500» с 1-го дня жизни по 37-й день. По методу групп-аналогов были подобраны 2 группы цыплят (контрольная и опытная) по 1000 голов в каждой, которых выращивали в клеточных батареях фирмы Big Dutchman в одинаковых условиях. Птица обеих групп получала полнорационный комбикорм с кормовым

антибиотиком. Кормовую добавку Профорт® вводили опытной группе в смеси с комбикормом из расчета 500 г/т. Кормление осуществлялось сухими рассыпными комбикормами, до 5-го дня Престартовой крошкой, далее с 6-го до 21-го дня по рецепту «Старт», с 22-го дня до убоя – по рецепту «Финиш». Результаты опыта представлены в таблице 3.

Таблица 3 – Основные зоотехнические показатели при испытании Профорт® (M±SEM)

Показатель	Группа		Отклонение к контролю, %
	Контрольная	Опытная	
Сохранность, %	95,1	98,9	Δ* 3,8
Живая масса на 1-й день, г, (n = 35)	42	42	100,0
Живая масса на 21-й день, г (n = 35)	830,8±13,7	845,7±12,6	101,8
Живая масса петушков на 37-й день, г (n = 35)	2242,2±48,2	2337,3±43,8	104,2
Живая масса курочек на 37-й день, г (n = 35)	2076,7±32,5	2072,4±30,3	99,8
Живая масса в среднем по всему поголовью, г	2159,5	2193,5	101,6
Живая масса при соотношении 50/50, г (n = 35)	2159,5	2204,9	102,1
Расход корма на 1 голову за 34 дня выращивания, кг	3,32	3,30	99,4
Конверсия корма, кг	1,57	1,53	97,5
Среднесуточный прирост живой массы, г	57,2	58,5	102,3
Индекс эффективности, ед.	353,5	385,2	109,0

Примечание: * Δ – абсолютное изменение, разница между опытной и контрольной группами

При вводе кормовой добавки Профорт® в состав рациона цыплят-бройлеров на протяжении всего периода выращивания был зафиксирован рост живой массы опытной группы на 45,4 г (2,1%), при соотношения курочек и петушков 50/50. Кроме того, средняя живая масса всех цыплят опытной группы на 37-й день была выше контрольной на 34 г (1,6%). Положительный результат отмечен и по показателю сохранности, который в опытной группе достиг 98,9%, что превосходит показатель контрольной группы на 3,8% в абсолютном выражении. Применение кормовой добавки Профорт® привело к снижению затрат корма на 1 кг прироста живой массы на 40 г (2,5%). Опытная группа имела лучший показатель эффективности, чем контрольная на 31,7 ед. (9,0%).

3.5. Результаты научно-хозяйственного опыта по испытанию добавки Пробиоцид®-Ультра

В условиях вивария на цыплятах-бройлерах кросса «Смена 8» был проведен опыт на двух группах, состоящих из 35 голов в каждой. Цыплята размещались в клетках фирмы Big Dutchman. Продолжительность опыта была с 1-го по 36-й день жизни. Птица обеих групп получала полнорационный комбикорм с кормовым антибиотиком. Кормление осуществлялось сухими рассыпными комбикормами, до 5-го дня Престартовой крошкой, далее с 6-го до

21-го дня по рецепту «Старт», с 22-го дня до убоя – по рецепту «Финиш». В комбикорме контрольной группы кормовая добавка не использовалась, а для второй группы была использована добавка Пробиоцид®-Ультра в дозировке 1,0 кг/т комбикорма. Результаты основных зоотехнических показателей эксперимента на цыплятах-бройлерах представлены в таблице 4.

Таблица 4 – Основные зоотехнические показатели при испытании Пробиоцид®-Ультра ($n = 35$, $M \pm SEM$)

Показатель	Группа		Отклонение к контролю, %
	Контрольная	Опытная	
Поголовье, гол	35	35	100,0
Сохранность, %	100,0	100,0	0,0
Живая масса на 7-й день, г	176,23±1,76	179,26±1,65	101,7
Живая масса на 21-й день, г	811,60±17,15	862,31±14,17	106,2
Живая масса на 36-й день, г	1957,60±34,46	2015,89±28,66	103,0
Живая масса петушков, г	2139,90±21,99	2135±18,09	99,8
Живая масса курочек, г	1804,10±15,22	1856,80±12,47	102,9
Среднесуточный прирост, г	54,79±0,98	56,45±0,82	103,0
Конверсия корма, кг	1,94	1,86	95,9
Затраты корма на 1 гол, кг	3,72	3,67	98,7
Индекс эффективности, ед.	280,30	301,06	107,4

Полученные данные свидетельствуют, что при включении добавки Пробиоцид®-Ультра в количестве 1,0 кг/т комбикорма сохранность цыплят была на одном уровне и составила 100%. По завершении опыта средняя живая масса птицы опытной группы превосходила контрольную на 3,0%, а среднесуточный прирост в опытной группе был также выше на 3,0%. Затраты корма на 1 голову в опытной группе были на 1,3% ниже, а конверсия корма в опытной группе улучшилась на 4,1%.

Полученные результаты разделки тушек свидетельствуют, что показатели структуры тушек находились на одинаковом уровне. Убойный выход, для контрольной и опытной группы значительно не отличался и составил 74,7±3,70 и 74,2±3,65%, соответственно ($p > 0,05$). Тем не менее, в опытной группе существенно (на 33,3%) сократилась доля выхода абдоминального жира – с 1,8±0,08% в контрольной, до 1,2±0,05% в опытной ($p < 0,05$). Кроме того, доля выхода голени по отношению к потрошеной тушке, значительно возросла – с 12,2±0,59% в контрольной, до 14,3±0,70% в опытной группе ($p < 0,05$).

При сравнении данных по общему и биохимическому анализу крови особые различия не установлены. Показатели уровня общего белка в крови контрольной и опытной группы соответствуют физиологическим нормам. В месте с тем в опытной группе в 1,2 раза наблюдалось существенно более высокое содержание общего белка, что может свидетельствовать о более интенсивном обмене веществ ($p < 0,05$). Для контрольной и опытной групп, индекс фагоцитарной активности составили 12,20±0,65 и 12,82±0,70 ед., соответственно ($p > 0,05$). При сравнении индекса завершенности фагоцитоза существенных

различий также не наблюдалось; при этом индекс для контрольной и опытной групп составил $93,33 \pm 2,69$ и $90,67 \pm 1,85\%$, соответственно ($p > 0,05$).

3.6. Результаты производственного опыта по скармливанию добавки Пробиоцид®-Ультра

Научно-производственный опыт по эффективности применения комплекса дополнительного питания Пробиоцид®-Ультра проводили с 14 мая 2020 года в промышленных условиях. Исследование выполняли на птице кросса «Кобб-500», выращенной в клеточных батареях фирмы Big Dutchman, в период с суточного до 40,5-дневного возраста. Условия содержания отвечали требованиям рекомендаций для кросса. Опытная группа вместо кормового антибиотика получала препарат Пробиоцид®-Ультра в дозировке 1 кг на 1 т комбикорма.

На конец опыта в экспериментальной группе, получавшей Пробиоцид®-Ультра (без кормового антибиотика), живая масса одной головы превосходила контрольную на 2,0%, что позволило получить больше на 3616 кг (1,6%) продукции в живом весе или дополнительные 6092 кг (3,9%) мяса для реализации (таблица 5).

Таблица 5 – Результаты испытаний Пробиоцид®-Ультра при промышленном выращивании цыплят-бройлеров

Показатели		Группа		Отклонение опыта к контролю, %
		Контрольная	Опытная	
Начальное поголовье	голов	111 665	110 773	99,2
	вес 1 головы, г	40,77	43,23	106,0
Пало, гол.		2416	2297	95,1
Сохранность, %		97,83	97,92	Δ 0,1
Выборка (зообрак)	голов	42 215	40 214	95,3
	% выборки	37,80	36,29	$\Delta^* - 1,5$
Убой	голов	67 034	68 262	101,8
	вес, кг	156 745	162 837,00	103,9
	вес 1 головы, г	2339,16	2385,46	102,0
Валовый прирост, кг		220 772	223 411	101,2
Среднесуточный прирост, г		56,74	57,84	101,9
Стоимость к/корма, руб.		8 886 379	9 131 862	102,8
Стоимость 1 кг к/корма, руб.		24,99	24,93	99,8
Конверсия корма, кг		1,61	1,64	101,9
Поедаемость 1 гол., г/день		89,69	93,18	103,9
Индекс эффективности, ед.		338,10	339,51	100,4
Всего получено мяса в живом весе, кг		222 731	226 347	101,6
Стоимость корма на 1 кг привеса, руб.		40,25	40,88	101,6
Выручка, руб.		16 458 225	17 097 885	Δ 407 925
Прибыль, руб.		7 571 846	7 966 023	Δ 394 177
Рентабельность, %		46,01	46,59	Δ 0,58

Примечание: * Δ – абсолютное изменение, разница между опытной и контрольной группами

Также отмечен незначительный рост индекса продуктивности на 1,41 ед. (0,4%) и рентабельности производства в абсолютном выражении на 0,58%. Исследование микрофлоры слепых отростков кишечника показало, что к концу опыта на 30-е сутки доля бактерий семейства *Ruminococcaceae* между группами выравнивается. Так, если на 7-е сутки их доля составляла $33,82 \pm 13,279$ и $20,72 \pm 3,549\%$, то на 30-е сутки их численность уже снизилась до $23,72 \pm 3,549$ и $20,42 \pm 1,001\%$, соответственно для контрольной и опытной группы. Содержание бактерий рода *Lactobacillus* семейства *Lactobacillaceae* уже на 7-е сутки было выше в опытной группе, чем в контрольной – в 3,4 раза. Их доля значительно изменилась с $2,19 \pm 0,529$ до $7,51 \pm 0,008\%$ ($p < 0,05$).

3.7. Результаты производственного опыта по скармливанию добавки Пробиоцид[®]-Ультра и Профорт[®]

Научно-производственный опыт по оценке эффективности добавок Профорт[®] и Пробиоцид[®]-Ультра в рационах бройлеров проводили в течении 39,5 дней. Исследование выполняли на цыплятах-бройлерах кросса «Кобб-500», которых содержали в условиях клеточных батарей Big Dutchman. Опытным цыплятам в рацион вместо кормового антибиотика добавляли комплекс добавок Профорт[®] и Пробиоцид[®]-Ультра в дозировке 0,5 и 1,0 кг/т, соответственно.

Пробиоцид[®]-Ультра и Профорт[®] положительно повлияли на продуктивность при выращивании цыплят-бройлеров (таблица 6). Включение добавок позволило добиться повышения сохранности цыплят на 2,5% (в абсолютном выражении), снизить расход корма на единицу полученной продукции на 19 г и получить на 6905 кг (4,0%) больше продукции в живом весе или на 3885 кг (2,6%) больше мяса для реализации, что означает экономическую целесообразность использования добавок.

Таблица 6 – Результаты испытаний Профорт[®] и Пробиоцид[®]-Ультра при промышленном выращивании цыплят-бройлеров

Показатели		Группа		Отклонение опыта к контролю, %
		Контрольная	Опытная	
Начальное поголовье	голов	87 686	87 453	99,7
	вес 1 головы, г	38,63	39,93	103,4
Пало, гол		6056	3894	64,3
Сохранность, %		93,1	95,6	Δ* 2,5
Выборка (зообрак)	голов	14 352	16 325	113,7
	% выборки	16,37	18,67	Δ 2,3
Убой	голов	67 278	67 234	99,9
	вес, кг	151 381	155 266	102,6
	вес 1 головы, г	2250,08	2309,34	102,6
Валовый прирост, кг		177 345	181 063	102,1
Среднесуточный прирост, г		55,99	57,45	102,6
Стоимость к/корма, руб.		7 694 510	7 908 384	102,8
Стоимость 1 кг к/корма, руб.		27,65	28,18	101,9
Конверсия корма, кг		1,569	1,550	98,8

Продолжение таблицы 6

Показатели	Группа		Отклонение опыта к контролю, %
	Контрольная	Опытная	
Поедаемость 1гол, г/день	88,41	89,53	101,3
Индекс эффективности, ед.	334,33	356,25	106,6
Всего получено мяса в живом весе, кг	172 510	179 415	104,0
Стоимость комбикорма на 1 кг привеса, руб.	43,39	43,68	100,7
Выручка, руб.	15 895 005	16 302 930	Δ 407 925
Прибыль, руб.	8 200 495	8 394 546	Δ 194 051
Рентабельность, %	51,59	51,49	Δ – 0,10

Примечание: * Δ – абсолютное изменение, разница между опытной и контрольной группами

4. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

4.1. Общие выводы и предложения

В результате проведения комплекса работ по изучению добавок Профорт® и Пробиоцид®-Ультра и их действия на кур мясного направления продуктивности, получены следующие основные результаты:

1. Бактерии входящие в состав Профорт® и Пробиоцид®-Ультра (*B. megaterium* В-4801, *B. tucilaginosus* 159 и *E. faecium* 1-35) обладают высоким пробиотическим потенциалом, безопасны и не несут в себе потенциальной угрозы. Кормовые добавки Профорт® и Пробиоцид®-Ультра могут быть применены в промышленном птицеводстве.

2. Кормовая добавка Профорт® оказывает положительное действие при выращивании кросса «Кобб-500» с использованием кормового антибиотика, способствует повышению продуктивности, снижению расхода кормов на единицу получаемой продукции. Использование добавки Профорт® позволяет повысить индекс эффективности производства, улучшить конверсию и увеличить живую массу цыплят на 9,0, 2,5 и 2,1%, соответственно. Использование добавки Пробиоцид®-Ультра на кроссе «Смена 8» без отмены кормового антибиотика позволяет снизить затраты корма на 1 голову на 1,3%, а конверсию улучшить на 4,1%. Проведённая анатомическая разделка тушек показала снижение доли выхода абдоминального жира в 1,5 раза и увеличение выхода голени в 1,2 раза. Использование добавки не оказало отрицательного влияния на показатели крови.

3. Результаты производственной апробации на цыплятах кросса «Кобб-500» показали, что одновременно с отменой кормового антибиотика использование добавки Пробиоцид®-Ультра привело к снижению стоимости комбикорма на 0,2%, увеличению массы тушки при убое на 2,0% и незначительному росту индекса продуктивности и сохранности поголовья на 0,4% и 0,1%, соответственно. Таким образом за один производственный цикл удалось получить больше на 3616 кг (1,6%) в живом весе продукции или дополнительные 6092 кг (3,9%) мяса для реализации. Рентабельность производства незначительно

выросла на 0,58% и составила – 46,59%. Состояние микрофлоры слепых отростков кишечника имеет лучшие качественные и количественные показатели по составу. Это свидетельствует о сохранении уровня здоровья при промышленном выращивании птицы, без использования кормовых антибиотиков.

4. Совместное использование кормовых добавок Профорт® и Пробиоцид®-Ультра при исключении кормового антибиотика из рациона цыплят кросса «Кобб-500» привело к повышению массы одной тушки при убое на 2,6% и снижению конверсии корма на 1,2%. Использование данной схемы кормления привело к повышению сохранности на 2,5% в абсолютном выражении, индекса эффективности производства на 21,92 ед. (6,6%), получению дополнительных 3885 кг (2,6%) мяса для реализации и 194051 руб. прибыли при незначительном снижении рентабельности производства до 51,49% (на 0,10%). Все это говорит об экономической целесообразности применения добавок в условиях органического производства. Комплексное применение добавок Профорт® и Пробиоцид®-Ультра может быть альтернативным решением при ограничении использовании кормовых антибиотиков.

4.2. Предложение производству

С целью повышения сохранности, среднесуточного прироста, массы птицы при убое, а также снижения расходов кормов следует вводить кормовую добавку Профорт® совместно с Пробиоцид®-Ультра, в дозировке 0,5 и 1 кг/т, соответственно, в рацион цыплят-бройлеров при ограниченном использовании кормовых антибиотиков. Снижение стоимости комбикорма при сохранении эффективности выращивания кур мясного направления продуктивности может быть достигнуто за счет применения добавок Профорт® и Пробиоцид®-Ультра.

4.3. Перспективы дальнейшей разработки темы

Дальнейшие исследования могут быть направлены на изучение влияния добавок Профорт® и Пробиоцид®-Ультра в различных условиях эпизоотологического благополучия птицеводческих предприятий, а также влияния добавок на породы других направлений и кроссов, долгосрочного применения добавок в условиях ограниченного использования антибиотиков и изучение органолептических и химических показателей продукции птицеводства под действием добавок. Методики и результаты, продемонстрированные в этой работе, могут послужить примером для изучения подобных микробиологических добавок, применяемых в других отраслях сельского хозяйства, например, заквасок на основе живых бактерий, используемых для приготовления силоса или других ферментированных продуктов.

СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Публикации в изданиях, рекомендованных ВАК РФ:

1. **Бражник, Е.А.** Управление качеством кормовых добавок с использованием метода нечеткой логики / Е.А. Бражник, С.Н. Биконя, Г.Ю. Лаптев, О.В. Кочеткова // Известия Нижневолжского агроуниверситетского комплекса: Наука и высшее профессиональное образование. – 2023. – № 2(70). – С. 407-415. – doi: 10.32786/2071-9485-2023-02-48.
2. **Йылдырым, Е.А.** Современные биотехнологии в кормлении птицы / Е.А. Йылдырым, **Е.А. Бражник**, Л.А. Ильина [и др.] // Птицеводство. – 2019. – № 5. – С. 19-24. – doi: 10.33845/0033-3239-2019-68-5-19-24.
3. Лаптев, Г.Ю. Геномный и фенотипический потенциал антимикробной активности штамма бактерии *Bacillus megaterium* В-4801 / Г.Ю. Лаптев, Е.А. Йылдырым, Т.П. Дуняшев, Л.А. Ильина, Д.Г. Тюрина, В.А. Филиппова, **Е.А. Бражник** [и др.] // Сельскохозяйственная биология. – 2020. – Т. 55, №4. – С. 816-829. – doi: 10.15389/agrobiology.2020.4.816rus.

Статьи в изданиях, индексируемых в международных базах данных:

4. Laptev, G.Y. Effects of Essential Oils-Based Supplement and Salmonella Infection on Gene Expression, Blood Parameters, Cecal Microbiome, and Egg Production in Laying Hens / G.Y. Laptev, E.A. Yildirim, L.A. Ilina, V.A. Filippova, I.I. Kochish, E.P. Gorfunkel, A.V. Dubrovin, **E.A. Brazhnik** [et al.] // *Animals*. – 2021. – Vols. 11, №2. – p. 360. – <https://doi.org/10.3390/ani11020360> (Scopus, Web of Science).
5. Laptev, G.Y. Examination of the Expression of Immunity Genes and Bacterial Profiles in the Caecum of Growing Chickens Infected with Salmonella Enteritidis and Fed a Phytobiotic / G.Y. Laptev, V.A. Filippova, I.I. Kochish, E.A. Yildirim, L.A. Ilina, A.V. Dubrovin, **E.A. Brazhnik** [et al.] // *Animals*. – 2019. – Vols. 9, №9. – p. 615. – <https://doi.org/10.3390/ani9090615> (Scopus, Web of Science).

Статьи, опубликованные в других изданиях:

6. **Бражник, Е.А.** Влияние кормовой добавки «Профорт®» на морфологию кишечника кур / Е.А. Бражник, В.С. Иванов, Г.Ю. Лаптев, Н.И. Новикова // Научное обеспечение развития АПК в условиях импортозамещения : сборник научных трудов по материалам международной научно-практической конференции, посвящается 115-летию Санкт-Петербургского государственного аграрного университета. – Санкт-Петербург, Пушкин: Санкт-Петербургский государственный аграрный университет, 2019. – Т. I. – С. 159-162.
7. **Бражник, Е.А.** Микробиологические кормовые добавки для обеспечения ресурсосберегающего производства в птицеводстве / Е.А. Бражник, В.Х. Меликиди, Н.В. Тарлавин [и др.] // Селекционные и технологические аспекты интенсификации производства продуктов животноводства : по Материалам Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, посвященной 150-летию со дня рождения академика М.Ф. Иванова. – Москва :

Российский государственный аграрный университет - МСХА им. К.А. Тимирязева, 2022. – Т. II. – С. 199-203.

8. **Бражник, Е.А.** Кормовые добавки для животных и птицы в России в связи с ограничением использованием антибиотиков / Е.А. Бражник, Д.Г. Тюрина, Г.Ю. Лаптев // Экология и общество: баланс интересов : Сборник тезисов докладов участников Российского научного форума, Вологда, 16-20 ноября 2020 года / Отв. редактор А.А. Шабунова. – Вологда: Вологодский научный центр Российской академии наук, 2020. – С. 272-275.

9. Йылдырым, Е.А. Современный пробиотик для здоровья кур / Е.А. Йылдырым, **Е.А. Бражник**, Л.А. Ильина [и др.] // Эффективное животноводство. – 2019. – Т. 152, №4. – С. 66-67.

Патенты

10. Патент РФ на изобретение RU 2 652 836 С1, «Кормовая добавка с пробиотической активностью для сельскохозяйственных животных, птиц, лошадей и рыб» / Г.Ю. Лаптев, Н.И. Новикова, В.Х. Меликиди, **Е.А. Бражник**, С.Н. Биконя, В.И. Прокопьева, С.Н. Грудинина, Л.А. Ильина, Е.А. Йылдырым – Публикация патента: 03.05.2018.