

Борисенко Константин Владимирович

**Ферментный препарат
протеолитического действия при выращивании
цыплят-бройлеров**

06.02.08 – Кормопроизводство, кормление сельскохозяйственных животных и
технология кормов

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата сельскохозяйственных наук

Работа выполнена в отделе физиологии и биохимии Федерального государственного бюджетного научного учреждения Федерального научного центра «Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт птицеводства» Российской академии наук (ФНЦ «ВНИТИП» РАН)

Научный руководитель: **Вертипрахов Владимир Георгиевич,**
доктор биологических наук

Официальные оппоненты: **Буряков Николай Петрович,** доктор биологических наук, профессор, ФГБОУ ВО «Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева», заведующий кафедрой кормления и разведения животных

Лебедев Святослав Валерьевич,
доктор биологических наук, ФГБНУ «Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий Российской академии наук», заведующий лабораторией биологических испытаний и экспертиз

Ведущая организация: ФГБОУ ВО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА имени К.И. Скрябина»

Защита диссертации состоится «___» _____ 2020 г. в ___ часов на заседании диссертационного совета Д 006.006.01 при Федеральном государственном научном учреждении Федеральном научном центре «Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт птицеводства» Российской академии наук (ФНЦ «ВНИТИП» РАН) по адресу: 141311, Московская область, г. Сергиев Посад, ул. Птицградская, д. 10. Телефон: 8(496)549-95-75, факс: 8(496)551-21-38, e-mail: dissovet@vnitip.ru

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте ФНЦ «ВНИТИП» РАН – www.vnitip.ru

Автореферат разослан «___» _____ 2020г.

Ученый секретарь диссертационного совета,
доктор сельскохозяйственных наук,
профессор

Ленкова Татьяна Николаевна

1. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. Птицеводство России является наиболее устойчивой и динамично развивающейся отраслью агропромышленного комплекса, сумевшей за короткие сроки увеличить объем птицеводческой продукции и обеспечить население высококачественными диетическими продуктами – яйцом и мясом. Высокие темпы мирового производства мяса птицы во многом связаны с последними достижениями в области генетики, селекции, кормления, технологии содержания и ветеринарной защиты. Современные кроссы обладают громадным генетическим потенциалом для роста и эффективной конверсии корма (В.И.Фисинин, 2009). Для реализации генетического потенциала продуктивности необходимы корма, соответствующие по питательности, нормам для кроссов (А.В. Архипов, 2007; И.А. Егоров, 2011).

В процессе выращивания и содержания птицы происходит смена питательности комбикорма, замена одних компонентов на другие и т.п. Наблюдается вариабельность питательного состава главных белковых и зерновых компонентов (К.М. Baker et al, 2011, М.Р. Bedford et al, 2010). Сегодня, при расчете базовых рационов, специалисты учитывают их экономическую целесообразность. Известно, что до 70% себестоимости птицеводческой продукции составляет стоимость кормов, что заставляет производителей снижать стоимость затрат на компоненты комбикорма (А.А. Кузнецова, 2003). Одним из инструментов для уменьшения стоимости кормов является использование более дешевых ингредиентов, обладающих меньшей питательностью, но высоким содержанием для моногастричных (свиней и птицы) антипитательных факторов: клетчатки, некрахмалистых полисахаридов, фитата, глюкозинолатов, эруковой кислоты, ингибиторов трипсина, трудно- гидролизующихся крахмала и протеинов, аллергических белков и т.д. К таким добавкам можно отнести: отруби, послеспиртовую барду, шрот и жмых рапса, подсолнечника, льна, хлопка, горох, люпин, сорго и др. (И.А. Егоров, 1992; С.В. Бобков и др., 2012). Для устранения действия вышеперечисленных антипитательных факторов, улучшения переваримости корма применяются кормовые экзогенные ферменты.

Степень разработанности темы исследования. В птицеводстве выполняется большое количество исследований по изучению влияния ферментных препаратов протеолитического действия на рост и развитие цыплят-бройлеров (Т.М. Околелова, 2001; И.А. Егоров и др. 2013). Результаты экспериментов по применению экзогенных протеаз в рационах бройлеров противоречивы, достоверный физиологический ответ зафиксирован только по незначительному числу показателей (Cowieson A.J. et al, 2016). Влияние кормовой протеазы на внешнесекреторную функцию поджелудочной железы, кишечное пищеварение у кур, получавших базовый пшенично-соевый рацион с заменой соевой добавки на горох, мало изучено (М.Н. Бутенко, 2011, 2012; В.Г. Вертипрахов, 2008). Определение условий, при которых ввод кормовой экзогенной протеазы физиологически и экономически целесообразен, является основанием для выполнения данной работы.

Цель и задачи исследования. Цель данного исследования состояла в изучении действия на организм цыплят-бройлеров ферментного препарата Акстра Про на фоне пшенично-соевого и пшенично-горохового рационов.

Цель исследования достигалась путем выполнения следующих задач:

1. Установить оптимальную дозу использования препарата протеолитического действия (коммерческое название «Акстра Про»), учитывая прирост массы, сохранность и конверсию корма у цыплят-бройлеров на фоне пшенично-соевого и пшенично-горохового рационов.

2. Определить влияние «Акстра Про» на активность пищеварительных ферментов в содержимом 12-перстной кишки бройлеров на фоне пшенично-соевых и пшенично-гороховых рационов.

3. Изучить переваримость корма и доступность аминокислот при использовании в рационе цыплят-бройлеров ферментного препарата протеолитического действия.

4. Исследовать биохимические показатели крови подопытных цыплят-бройлеров, характеризующих обменные процессы в организме птицы.

5. Определить экономическую эффективность выращивания цыплят-бройлеров при использовании в рационах ферментного препарата Акстра Про.

Научная новизна исследования. Научная новизна диссертационной работы определяется изучением влияния нового ферментного препарата Акстра Про при выращивании цыплят-бройлеров. Впервые при использовании фистулированной птицы получено физиологическое обоснование использования кормовых экзогенных протеаз в рационах бройлеров на фоне пшенично-соевого и пшенично-горохового рационов. Получены новые знания по изменению внешнесекреторной функции поджелудочной железы, активности дуоденальных пищеварительных ферментов, переваримости питательных веществ и доступности основных аминокислот при введении в рацион бройлеров препарата Акстра Про.

Теоретическая и практическая значимость работы заключается в том, что на цыплятах-бройлерах в хроническом эксперименте изучена дуоденальная активность пищеварительных ферментов на фоне разных по составу комбикормов, определена способность пищеварения адаптироваться к компонентам корма и экзогенным ферментам. На основании исследования механизма действия кормовых протеаз на процессы пищеварения и переваривания корма получены конкретные рекомендации, дозировки для максимально эффективного, статистически достоверного, экономически обоснованного внедрения экзогенных протеаз в кормовые программы по кормлению цыплят-бройлеров.

Работа представляет научно-практический интерес для зоотехников, технологов по кормлению птицы, биологов и физиологов. Физиологический ответ, описанный в работе более полно, открывает механизм переваривания и усвоения протеина бройлерами из различных кормовых субстратов. Полученные данные, могут быть использованы для повышения эффективности кормовых протеаз и разработки нового поколения ферментных добавок, способных лучше адаптироваться к условиям пищеварения и метаболизма птицы.

Методология и методы исследования. Для достижения поставленной цели и решения задач использовали зоотехнические, физиологические, биохимические, хирургические, экономические и статистические методы исследования.

Положения, выносимые на защиту:

1. Результаты применения экзогенной протеазы в рационах цыплят-бройлеров зависят от белковых ингредиентов корма, наиболее эффективное действие препарата Акстра Про отмечается на пшенично-гороховом рационе по сравнению с пшенично-соевым;

2. Оптимальной дозой использования Акстра Про при выращивании бройлеров является 100 мг/кг корма;

3. Увеличение активности дуоденальных протеолитических ферментов наблюдается при добавлении гороха в количестве 5% в рацион цыплят-бройлеров в сочетании с препаратом Акстра Про (50-100 мг/кг корма);

4. Введение в корм добавки Акстра Про на фоне пшенично-горохового рациона способствует повышению переваримости сырого протеина корма за счет увеличения активности пищеварительных ферментов.

Степень достоверности и апробация результатов. Научные положения, выводы и предложения производству научно обоснованы и базируются на экспериментальных данных, выполненных на достаточном поголовье птицы с несколькими повторностями, при использовании современного оборудования. Степень достоверности установлена путем статистической обработки данных с использованием компьютерной программы Excel. Дополнительную статистическую обработку проводили на компьютерной платформе JSP SAS Statistic. Материалы диссертации доложены на заседании Ученого совета ФНЦ «ВНИТИП» РАН, научно-практических конференциях: «Актуальные проблемы ветеринарной медицины, зоотехнии и биотехнологии», посвященной 100-летию со дня основания ФГБОУ ВО МГАВМиБ (Москва, 2019), 15-й Европейской Конференции по птицеводству (Дубровник, 2019), 22-ом Европейском симпозиуме по птицеводству (Гданьск, 2019).

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 8 научных работ, в том числе 7 в изданиях, рекомендованных ВАК РФ для публикации основных результатов диссертации на соискание степени кандидата сельскохозяйственных наук.

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 133 страницах компьютерного текста. Содержит введение, обзор литературы, материалы и методы, результаты исследования, обсуждение результатов, заключение, рекомендации для производства, четыре приложения. Список использованной литературы включает 205 источников, в том числе 92 - на иностранных языках. Работа иллюстрирована 23 таблицами и 3 рисунками.

2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Проведение зоотехнического опыта, определение переваримости питательных веществ, биохимических показателей крови у цыплят-бройлеров

Опыты 1 и 2 проводили в условиях вивария СГЦ «Загорское ЭПХ» в 2018, 2019 гг. на бройлерах кросса «Кобб 500» в количестве 225 голов.

Нормы посадки, световой, температурный, влажностный режимы, фронт кормления и поения соответствовали рекомендациям ВНИТИП (2018). Птица получала сухой рассыпной комбикорм с питательностью согласно нормам для данного кросса компании Cobb-Vantress.

Схема питания бройлеров: в период 1-10 суток с применением комбикорма под маркой Стартер; 11-21 суток - комбикорм Гроуер; с 22 до 35 суток – комбикорм Финишер. Также применяли сниженное содержание аминокислот в рационе в Гроуера и Финишере, рассчитанное, исходя из уровня включения гороха 5 или 10% соответственно.

В опыте были сформированы 3 контрольные группы: контрольная 1 – в рационе цыплят-бройлеров использовался стандартный пшенично-соевый рацион, контрольная 2 – рацион содержал 5% гороха, взамен соевого шрота, как источника протеина в корме, контрольная 3 - с включением 10% гороха. Во 2(к) и 3(к) группах содержание аминокислот было меньше, чем в 1 (к). Экспериментальные группы получали базовый рацион (1(к), 2(к), 3(к) с добавлением кормовой протеазы Акстра Про в дозировках 50 и 100 мг/кг комбикорма. Ферментный препарат Акстра Про 301 ТРТ (Axtra Pro 301 TPT) был получен от ЗАО «Даниско» (Москва, Россия). Схема эксперимента представлена в таблице 1.

Таблица 1 - Схема опыта 1

Группа	Кол-во голов	Описание
Контрольная 1 1 (к)	30	Пшенично-соевый рацион, согласно рекомендациям для данного кросса компании Cobb-Vantress (ОР)
Опытная 4 4 (о)	30	(ОР) + протеаза 50 мг/кг
Опытная 5 5 (о)	30	(ОР) + протеаза 100 мг/кг

Все образцы корма были исследованы на питательную ценность.

Перед взвешиванием цыплят при переходе на следующую фазу кормления, остатки корма учитывали, а после взвешивания цыплят птице задавали новый корм, соответственно следующему возрастному периоду.

Содержание обменной энергии для бройлеров было на уровне 295,5; 308 и 313 ккал в 100 г комбикорма – для Стартера, Гроуера и Финишера, при уровне протеина – 21,00; 19,00 и 18,00% соответственно.

Таблица 2 – Схема опыта 2

Группа	Кол-во голов	Описание
Контрольная 2 2 (к)	30	Пшенично-соевый рацион, содержащий 5 % гороха, со сниженным содержанием аминокислот (ОР, 5% гороха)
Опытная 6 6 (о)	30	(ОР, 5% гороха) + протеаза 50 мг/кг
Опытная 7 7(о)	30	(ОР, 5% гороха) + протеаза 100 мг/кг
Контрольная 3 3 (к)	30	Пшенично-соевый рацион, содержащий 10 % гороха, со сниженным содержанием аминокислот (ОР, 10% гороха)
Опытная 8 8 (о)	30	(ОР, 10% гороха) + протеаза 50 мг/кг
Опытная 9 9(о)	30	(ОР, 10% гороха) + протеаза 100 мг/кг

В условиях вивария ФНЦ «ВНИТИП» РАН на петушках бройлерах кросса «Кобб-500» с 21 по 40-е сутки проведены исследования по биохимическим показателям крови, переваримости питательных веществ и доступности аминокислот при добавлении протеазы на фоне комбикорма с горохом.

Корм и помет исследовали на содержание аминокислот с использованием метода ионообменной хроматографии с постколоночной дериватизацией нингидриновым реагентом и последующим детектированием при $\lambda = 570$ нм (для пролина $\lambda = 440$ нм). Анализы выполняли с использованием системы для высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) YL 9100 HPLC System («Young Lin Instrument Co., Ltd», Корея).

Опыт 3 по исследованию активности пищеварительных ферментов выполняли в условиях вивария ФНЦ «ВНИТИП» РАН, в 2018 году на бройлерах кросса «Кобб 500». Цыплятам-бройлерам в количестве 27 голов с 15- до 21-суточного возраста были выполнены хирургические операции по вживлению Т-образной фистулы в двенадцатиперстную кишку (В.И. Фисинин, В.Г. Вертипрахов и др., 2019).

Физиологические опыты. Птицу распределяли на 9 групп по принципу аналогов (3 головы в группе, содержание в индивидуальных клетках). Для проведения хронических экспериментов использовали метод групп-периодов с заменой по принципу латинского квадрата. Продолжительность периода составляла от 6 до 8 суток, с учетом повторов исследование пищеварительной функции составляло для каждого бройлера 36 раз.

После хирургической операции и восстановления здоровья птица получала рассыпной комбикорм с питательностью согласно нормам для кросса «Кобб-500» марки Финишер, согласно рекомендациям «Методическое руководство по кормлению сельскохозяйственной птицы», (2015).

Схема опыта соответствовала зоотехнической части опыта: были определены 3 контрольные группы: контрольная 1(к) – получала стандартный пшенично-соевый комбикорм, контрольная 2(к) – комбикорм с 5% гороха, взамен соевого шрота и контрольная 3(к) - с включением 10% гороха. Опытные группы имели базовый рацион контрольных групп 1(к), 2(к), 3(к) с добавлением монокомпонентной коммерческой протеазы, полученной при ферментации *Bacillus substiles*, в двух дозировках 50 и 1000 мг/кг комбикорма, что соответствовало 4000 и 8000 протеазным единицам /кг корма, где одной единицей протеазной активности являлось количество фермента, высвобождающее 2,3 μg компонентов (выраженных в тирозиновом эквиваленте) из субстрата казеина за минуту при рН 10,0 и 50°C. Ферментный препарат Акстра Про 301 ТРТ (Axtra Pro 301 TRT) был получен от ЗАО «Даниско» (Россия, Москва) (табл.3).

Таблица 3 - Схема физиологического эксперимента (Опыт 3)

Группа	Кол-во голов	Описание
Контрольная 1	3	Пшенично-соевый рацион, согласно рекомендациям (ОР)
Контрольная 2	3	Пшенично-соевый рацион, содержащий 5 % гороха, со сниженным содержанием аминокислот (ОР, 5% гороха)
Контрольная 3	3	Пшенично-соевый рацион, содержащий 10 % гороха, со сниженным содержанием аминокислот (ОР, 10% гороха)
Опытная 4	3	ОР + протеаза 50 мг/кг
Опытная 5	3	ОР + протеаза 100 мг/кг
Опытная 6	3	ОР (5% гороха) + протеаза 50 мг/кг
Опытная 7	3	ОР (5% гороха) + протеаза 100 мг/кг
Опытная 8	3	ОР (10% гороха) + протеаза 50 мг/кг
Опытная 9	3	ОР (10% гороха) + протеаза 100 мг/кг

Физиологические опыты начинали утром в состоянии птицы натошак, давали корм в количестве по 30 г на голову в соответствии с рекомендациями для данного кросса компании Cobb-Vantress, остальную часть скармливали в течение дня. Затем через 1 час после кормления выполняли сбор дуоденального химуса в количестве 5 мл, тотчас центрифугировали его при 5000 об/мин в течение 5 минут и разводили охлажденным раствором Рингера 1:10. После этого приступали к биохимическим исследованиям. Активность амилазы устанавливали по гидролизу крахмала (Ц.Ж. Батоев, 2001) с использованием КФК-3 (длина волны 670 нм) и выражали в мг расщепленного крахмала 1 мл химуса в течение одной минуты. Липолитическую активность определяли с помощью полуавтоматического биохимического анализатора с проточной кюветой Sinnowa BS3000P (Китай) с использованием набора реактивов на липазу фирмы ООО «ДИАКОН-ВЕТ» (РФ). Активность про-

теаз определяли по расщеплению казеина по Гаммерстену (США) при колориметрическом контроле на КФК-3 (длина волны 450 нм) (Ц.Ж. Батоев, 2001).

Балансовые опыты на цыплятах-бройлерах выполняли в соответствии с «Методикой проведения научных и производственных исследований по кормлению сельскохозяйственной птицы» (2013).

Для выполнения биохимических исследований кровь получали из подкрыльцовой вены в состоянии птицы натошак с добавлением цитрата натрия, центрифугировали при 5000 об/мин в течение 3 минут. Плазму крови исследовали на активность амилазы и липазы на приборе Chem well 2900 (Т) (США) с использованием соответствующих наборов реагентов Human (Германия), активность трипсина определяли на полуавтоматическом биохимическом анализаторе Sinnowa BS3000P (КНР) с использованием синтетического субстрата BAPNA (В.Г. Вертипрахов, А.А. Грозина, 2018). Показатели общего белка, холестерина, триглицеридов, щелочной фосфатазы исследовали на биохимическом анализаторе Sinnowa BS3000P (КНР) с использованием соответствующих наборов фирмы ООО «ДИАКОН-ВЕТ» (РФ).

Статистическую обработку результатов исследований выполняли, используя компьютерную программу Excel, определяя среднее значение (М) и стандартные ошибки средней (m). Достоверность различий оценивали по t-критерию Стьюдента, различия считали статистически значимыми при $p \leq 0,05$.

3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1. Опыт 1. Действие экзогенной протеазы на зоотехнические показатели цыплят-бройлеров на фоне пшенично-соевого рациона

Данные по выращиванию цыплят-бройлеров на пшенично-соевом рационе с использованием разных доз Акстра Про представлены в таблице 4.

Из таблицы 4 видно, что при введении в пшенично-соевый комбикорм бройлеров экзогенной протеазы прирост живой массы увеличивается за период выращивания в среднем на 4,6% ($p \geq 0,05$) в опытной группе 4, на 6,5% ($p \leq 0,05$) в опытной группе 5 по сравнению с контролем. При этом значительно снижаются затраты корма на 1 кг прироста: в опытной группе 4 – на 4,1%, в опытной группе 5 – на 4,4%. Положительное действие препарата отмечается в начальный период онтогенеза, когда происходит интенсивное становление пищеварительного аппарата у цыплят-бройлеров (В.Г. Вертипрахов, 2004). Достоверные различия обнаружены в 10- и 21-суточном возрасте бройлеров. Так, цыплята-бройлеры опытной группы 5 опережали по приросту цыплят контрольной группы на 5,4% ($p \leq 0,05$). В 21-суточном возрасте преимущество перед контролем имели цыплята-бройлеры опытной группы 4 на 5,7% ($p \leq 0,05$) и опытной группы 5 - на 6,8% ($p \leq 0,05$). Высокий показатель конверсии корма отмечается с 11 до 21-суточного возраста. Конверсия корма в опытной группе 4 превышает показатели контрольной группы на 6,4%, в опытной группе 5 – на 7,0%.

Таблица 4 - Результаты опыта 1

Показатели	Группы		
	Контрольная 1 (ОР)	Опытная 4 ОР+Актра Про 50 мг/кг	Опытная 5 ОР+ Актра Про 100 мг/кг
Сохранность поголовья, %	100,0	100,0	100,0
Живая масса (г) в возрастах:			
суточном	43,6±0,47	43,6±0,53	43,2±0,38
10-суточном	273,1±4,37	283,4±3,90	287,8±3,35*
21-суточном	842,4±13,88	890,2±14,83*	899,4±15,19*
35-суточном	2027,3±36,08	2120,9±36,25	2159,2±35,27*
Среднесуточный прирост живой массы, г	56,68	59,35	60,46
Затраты корма на 1 кг прироста, кг			
1-10 сутки	1,398	1,355	1,333
11-21 сутки	1,514	1,417	1,408
22-35 сутки	1,833	1,772	1,774
1-35 сутки	1,692	1,622	1,617

Таким образом, в начальный период онтогенеза экзогенная протеаза оказывала положительное влияние на прирост живой массы и конверсию корма у цыплят-бройлеров.

3.2. Опыт 2. Действие экзогенной протеазы на зоотехнические показатели цыплят-бройлеров на фоне пшенично-горохового рациона

В опыте 2 изучали действие экзогенной протеазы на фоне добавки в рацион гороха в разных количествах (5 и 10% от массы корма) (табл.5).

Применение гороха в стартовом рационе в концентрации 5 и 10% существенно не повлияло на живую массу бройлеров. Значительная разница в приросте массы отмечалась между группами 1(к) и 3(к), соответственно, 56,68 и 54,97 г/сутки. Это свидетельствует о негативном влиянии добавки гороха (10%) на прирост живой массы цыплят-бройлеров. Цыплята-бройлеры опытных групп 6 и 7 в 10-суточном возрасте опережали сверстников контрольной группы 2 по приросту живой массы на 6,2% и 8,8% ($p \leq 0,05$), в 21-суточном, соответственно, на 5,1% и 7,1% ($p \leq 0,05$), в 35-суточном – на 5,7% и 6,7% ($p \leq 0,05$). Следовательно, наибольший эффект от действия протеазы отмечался в ранний период онтогенеза (1-10 суточный возраст) при дозировке препарата 100 мг/кг корма на фоне пшенично-горохового рациона.

Таблица 5 - Результаты опыта 2 на цыплятах-бройлерах по определению эффективности протеазы на пшенично-гороховом рационе

Показатель	Группа					
	Контрольная 2 ОР+5% горох	Опытная 6 ОР+ 5%горох+ 50 мг/кг Акстра Про	Опытная 7 ОР+ 5%горох+ 100 мг/кг Акстра Про	Контрольная 3 ОР+ 10%горох	Опытная 8 ОР+ 10%горох+ 50 мг/кг Акстра Про	Опытная 9 ОР+ 10%горох+ 100 мг/кг Акстра Про
Сохранность поголовья, %	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
Живая масса (г) в возрастах:						
суточном	43,7±0,45	43,6±0,37	43,6±0,43	43,7±0,40	43,3±0,43	43,8 ±0,32
10-суточном	271,9± 4,56	288,8± 3,59 ²	295,8± 3,84 ²	265,6± 4,08	279,8± 2,31 ³	289,1± 3,10 ³
21-суточном	839,5± 13,94	882,3± 14,70	899,4± 14,64 ²	810,9± 12,17	860,9± 10,35 ³	874,2± 9,63 ³
35-суточном	2009,2± 35,18	2124,0± 34,54*	2143,2± 37,34*	1967,8± 33,06	2071,9± 36,73	2096,0± 39,52*
Среднесуточный прирост живой массы, г	56,16	59,44	59,98	54,97	57,96	58,63
Затраты корма на 1 кг прироста, кг						
1-10 сутки	1,398	1,346	1,281	1,398	1,375	1,321
11-21 сутки	1,517	1,451	1,489	1,544	1,480	1,472
22-35 сутки	1,861	1,762	1,762	1,858	1,777	1,757
1-35 сутки	1,709	1,624	1,627	1,72	1,647	1,626

Примечание - ² или ³ - различия между опытными группами и соответствующим контролем 2 или 3 достоверны, при $p \leq 0,05$

Результаты показали, что в 10-суточном возрасте прирост живой массы у цыплят-бройлеров, получавших комбикорм с добавкой гороха 10%, были выше на 5,3% и 8,8% (доза препарата 50 и 100 мг/кг, соответственно), чем в контрольной группе; в 21-суточном возрасте – на 6,2% и 7,8% (доза препарата 50 и 100 мг/кг,

соответственно); в 35-суточном возрасте – на 5,3% и 6,5% (доза препарата 50 и 100 мг/кг, соответственно). Наиболее высокие показатели отмечались в группах, получавших препарат в дозе 100 мг/кг корма.

Из таблицы 5 видно, что добавление в рацион 5% гороха в возрасте цыплят 1-10 суток и 11-21 суток не повлияло на показатели конверсии корма по сравнению с контрольной группой 1, тогда как использование в рационе 10% гороха снизило конверсию корма примерно на 1,8 % в указанные периоды выращивания.

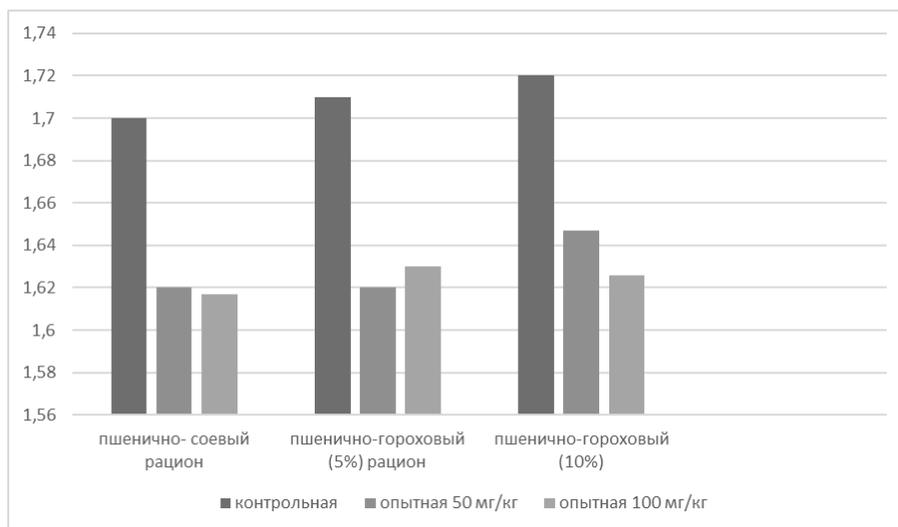


Рисунок 1. Показатели конверсии корма у цыплят-бройлеров в 35-суточном возрасте при содержании на пшенично-соевом и пшенично-гороховом рационе и введении в корм препарата Акстра Про в разных дозах

Конверсия корма за весь период выращивания в группе 2(к) с 5% гороха и в группе 3(к) с 10%-й добавкой гороха была на 1% и 1,7% выше по сравнению с контрольной группой 1 (рис. 1).

Конверсия корма за период выращивания цыплят-бройлеров на пшенично-соевом рационе в опытной группе 4 была на 4,2% лучше, а в опытной группе 5 – на 4,4% по сравнению с контрольной группой.

При содержании цыплят-бройлеров на пшенично-гороховом рационе (5% гороха) результаты по конверсии корма отличаются от контрольной группы в положительную сторону по сравнению с опытной группой 6 – на 5,0%, с опытной группой 7 – на 4,8%.

При увеличении количества гороха в рационе до 10% показатели изменились следующим образом: в опытной группе 8 конверсия корма была лучше на 4,3%, в опытной группе 9 – на 5,5% по сравнению с контрольной группой.

Таким образом, использование препарата Акстра Про на фоне пшенично-соевого рациона в 35-суточном возрасте цыплят-бройлеров повышала прирост живой массы на 6,5% ($p \leq 0,05$) по сравнению с контролем. При этом затраты корма в опытной группе за период выращивания снижались на 4,4%. Положительное действие препарата усиливалось на фоне пшенично-гороховых рационов: при вве-

дении в корм гороха в количестве 5% - прирост массы за период выращивания возрастал на 5,7% и 6,7% при дозе препарата 50 и 100 мг/кг корма, при содержании гороха в рационе 10%, соответственно, на 5,3% и 6,5%. Конверсия корма улучшалась, соответственно, на 5,0-4,8% и 4,3-5,5% по сравнению с контрольной группой.

3.3. Опыт 3. Активность пищеварительных ферментов в химусе 12-перстной кишки при введение кормовой протеазы на фоне пшенично-соевых и пшенично-гороховых рационов

Классическим примером ферментного препарата, применяемого в медицине, является панкреатин, который готовят из поджелудочных желез свиней. Мы сопоставили протеолитическую активность панкреатина с препаратом Акстра Про, результаты представлены в таблице 6.

Таблица 6 - Активность ферментов в препаратах Акстра Про и панкреатин (n=5)

Препарат	Амилаза, U/L	Липаза, U/L	Протеазы, мг/г.мин
Акстра Про	36012±1265,3	688±102,9	897±47,5
Панкреатин	35893±5070,1	139820±5450,4	505±14,8

Данные свидетельствуют о том, что активность общих протеаз в препарате Акстра Про выше на 77,6% по сравнению с панкреатином, по активности амилазы - практически эквивалентна, а по липазе значительно уступает ему.

На первом этапе выполнены исследования при использовании ферментного препарата в рационе, сбалансированном по питательным веществам в соответствии с физиологическими потребностями организма цыплят-бройлеров в финишный период выращивания (таблица 7).

Таблица 7 - Влияние ферментного препарата Акстра Про на активность пищеварительных ферментов дуоденального химуса у цыплят-бройлеров (n=3, M±m)

Показатель активности ферментов	Группа		
	контрольная 1 (ОР)	опытная 4 (ОР + Акстра Про 50 мг/кг)	опытная 5(ОР + Акстра Про 100мг/кг)
1.Амилазы, мг/(мл.мин)	445±51,1	343±36,2	312±52,1
2.Протеаз, мг(мл.мин)	33±3,6	30±3,2	18±3,0*
3. Трипсина, ед/л	714±90,3	512±81,8	720±91,8
4.Липазы, ед/л	325±58,3	457±62,5	446±70,5

Примечание - * различия между опытом и контролем достоверны, $p \leq 0,05$

Результаты экспериментов при добавлении препарата Акстра Про в количестве 50 мг/кг показали, что существенных изменений в активности пищеварительных ферментов дуоденального химуса у бройлеров не отмечалось. Увеличение дозы препарата до 100 мг/кг вызывало снижение амилалитической активности в содержимом 12-перстной кишки на 29,9%, протеаз – на 45,4% ($p \leq 0,05$).

Результаты биохимического анализа крови показали, что существенных изменений при введении в рацион экзогенной протеазы не происходило, за исключением активности щелочной фосфатазы. При использовании в рационе препарата Акстра Про (100мг/кг корма) активность фермента уменьшалась на 47,8% по сравнению с контролем, что, по-видимому, связано с функцией печени и нормализацией уровня фермента в крови.

В опыте 3, аналогично зоотехническим опытам, заменили часть соевого шрота на добавку гороха (5-10%) и изучили влияние ферментного препарата Акстра Про на фоне трудногидролизуемых компонентов, содержащихся в горохе (таблица 8).

Добавка гороха взамен соевого шрота изменяла активность липазы в дуоденальном химусе: при добавлении 5% гороха липолитическая активность возрастала на 108,0%, а при добавлении 10% - на 120,0% по сравнению с контрольной группой 1 ($p \leq 0,05$). Результаты таблицы 8 показали, что при добавлении ферментного препарата Акстра Про на фоне содержания в рационе гороха протеолитическая активность дуоденального химуса существенно увеличивалась. Так, на фоне 5%-й добавки гороха активность протеаз возрастала на 31,6% (50мг/кг) ($p \leq 0,05$), а при увеличении дозы препарата до 100 мг/кг – на 36,8% ($p \leq 0,05$). Данные показали, что активность трипсина при использовании 5% гороха в комбикорме и препарата Акстра Про в количестве 100 мг/кг корма возрастала на 69,3% по сравнению с контролем.

Таблица 8 - Активность пищеварительных ферментов дуоденального химуса цыплят-бройлеров при добавлении к комбикорму, содержащему 5-10% гороха, ферментного препарата Акстра Про ($n=3$, $M \pm m$)

Показатели активности ферментов	Группы					
	Контрольная 2 (ОР, содержащий 5% гороха)	Опытная 6 ОР (5% гороха) + Акстра Про 50 мг/кг	Опытная 7 ОР (5% гороха) + Акстра Про 100 мг/кг	Контрольная 3 (ОР, содержащий 10% гороха)	Опытная 8 ОР(10% гороха) + Акстра Про 50 мг/кг	Опытная 9 ОР(10% гороха) + Акстра Про 100 мг/кг
Амилаза, мг/(мл.мин)	555±48,8	557±65,7	528±40,0	477±41,3	454±38,1	417±40,3
Протеазы, мг/(мл.мин)	38±3,3	50±4,1*	52±3,2*	37±3,3	50±3,8*	46±2,2*
Трипсин, ед/л	837±70,2	940±146,1	1417±68,8*	626±61,6	1339±88,8*	1336±90,2*
Липаза, ед/л	676±89,7	1283±248,4	318±59,4	715±92,3	405±69,4*	927±93,5

Примечание - *достоверные различия показателей с соответствующим контролем, $p \leq 0,05$

На фоне увеличения гороха до 10% в составе комбикорма увеличение протеазы, соответственно, составило 35,1% ($p \leq 0,05$) и 24,3% ($p \leq 0,05$) при использовании казеинолитического метода, а при определении активности трипсина с субстратом BAPNA показатели повышались, соответственно, на 113,9 и 113,4%.

При добавлении ферментного препарата Акстра Про в дозе 50 мг/кг активность липазы увеличивалась на 89,8% ($p \leq 0,05$) по сравнению с контрольной группой, а при повышении дозы препарата, наоборот, наблюдалось снижение активности липазы на 53,0% ($p \leq 0,05$). Добавка протеаз в дозе 50 мг/кг на фоне 10% гороха в рационе снижала активность липазы на 43,4% ($p \leq 0,05$) по сравнению с контрольной группой.

Таким образом, введение в рацион цыплят-бройлеров на фоне пшенично-горохового рациона экзогенной протеазы оказывала стимулирующее влияние на активность протеаз дуоденального химуса, увеличение активности липазы наблюдалось в случае добавки ферментного препарата в дозе 50 мг/кг на фоне 5% гороха в корме.

3.4. переваримость питательных веществ и биохимические показатели крови при выращивании бройлеров на пшенично-соевом и пшенично-гороховом рационах с добавлением экзогенной протеазы

Известно (П.П. Бердников, 2002), что переваримость корма коррелирует с активностью пищеварительных ферментов в кишечнике у птиц. Результаты балансовых опытов на цыплятах-бройлерах представлены в таблице 9.

Таблица 9 - Основные показатели переваримости и использования питательных веществ корма цыплятами-бройлерами в возрасте 29-35 суток, %

Показатель	Группа								
	1(к)	2(к)	3(к)	4 (о)	5(о)	6(о)	7(о)	8(о)	9(о)
Переваримость протеина	90,1	87,5	85,5	90,6	90,9	90,0	89,0	89,5	88,7
Использование азота	46,1	44,0	43,0	46,6	47,0	45,0	46,0	44,9	45,5
Использование: лизина	88,2	87,1	87,0	89,3	90,1	88,7	90,4	88,0	89,5
метионина	89,5	89,0	88,0	90,4	90,6	89,9	90,8	89,0	89,9
Переваримость жира	75,0	74,2	74,1	75,8	75,9	74,6	75,0	74,6	74,9
Использование: кальция	39,8	39,2	39,9	39,7	39,9	39,3	39,9	39,0	39,6
фосфора	48,6	47,0	47,0	49,2	49,9	47,0	47,8	47,0	47,0

Ввод кормовой протеазы при дозировке 50 мг/кг и 100 мг/кг значительно увеличивает переваримость, как и при включении гороха в рацион, так и без него. Примечательно то, что добавка 100 мг/кг протеазы в опытной группе 9, получавших рацион с 10% гороха, увеличивает использование лизина на 2,5%, метионина - на 1,9%, жира - 0,8% по сравнению с контрольной группой 3, что полностью согласуется с полученными показателями повышения прироста живой массы. Важно отметить, что лучшее усвоение азота наблюдается в группах, получавших кормовую протеазу, что способствует не только повышению эффективности использо-

вании корма, но и улучшению экологических показателей при снижении выбросов аммиака с пометом.

В наших исследованиях мы не обнаружили достоверных изменений в биохимических показателях крови, которые находились в пределах физиологической нормы.

3.5. Расчет экономической эффективности при использовании Акстра Про при выращивании бройлеров

Производственная проверка с целью определения экономической эффективности действия препарата Акстра Про была проведена на площадке №3 КХК АО «Краснодонское» на цыплятах-бройлерах кросса Росс 308. Для проведения производственной проверки в суточном возрасте было сформировано 3 птичника: 1 - численностью 31700 голов, 2 – численностью 32300 голов, 3 – численностью 31900 гол. Первый птичник служил контролем (базовый вариант) и получал полнорационный комбикорм в соответствии с рекомендациями кросса Росс 308. Второй птичник получал базовый рацион вместе с добавлением фермента Акстра Про 301 ТРТ в дозировке 50 г/т комбикорма, 3 – птичник – 100 г/корма. Результаты производственной проверки представлены в табл. 10. Из данных таблицы следует, что сохранность поголовья бройлеров была около 95% в опытных группах. Падеж птицы был зафиксирован во всех птичниках в начале выращивания на 1 - 4 день посадки.

Живая масса 36-суточных цыплят в опытной группе 1 была на 2% выше, чем в контрольной группе. При этом затраты корма на 1 кг прироста живой массы были на 2,6% меньше в опытной группе 1 и на 5,75% - во втором опытном птичнике относительно контрольного. Себестоимость 1 кг живой массы оказалась также меньше в опытных птичниках соответственно на 2,6% и 4,1% относительно базового птичника.

Экономический эффект определяют, как разность между результатами деятельности хозяйствующего субъекта (доходами или экономией от внедрения мероприятия) и себестоимостью продукции, т.е. всеми затратами понесенными на изменение деятельности. Стоимость реализации 1 кг бройлера одинакова и составила 102 рубля. Несмотря на то, что в птичниках находилось различное количество голов птицы, была рассчитана стоимость выхода 1 кг мяса с каждого птичника и экономический эффект от реализации 1 кг мяса птицы (таблица 10).

Таблица 10 - Результаты производственной проверки эффективности использования добавки Акстра Про 301 ТРТ в комбикормах для цыплят-бройлеров

Показатели	Ед. изм.	Группа		
		базовый вариант (ОР)	новый вариант 1(ОР+ Акстра Про 50 мг/кг)	новый вариант 2 (ОР+ Акстра Про 100 мг/кг)
Принято на выращивание	гол.	31700	32300	31900
Живая масса суточных цыплят	г	40,1	39,2	39,6
Срок выращивания	суток	42	42	42
Валовая масса цыплят	кг	1271,17	1266,16	1263,24
Масса в 36 дней	г	1920	2040	2120
Масса при забое 42 дней	г	2497	2550	2600
Валовая живая масса на 42-й день	кг	74484,76	78164,39	78875,94
Валовой прирост живой массы	кг	73213,59	76898,23	77612,7
Среднесуточный прирост	г	58,5	59,78	60,96
Сохранность	%	94,1	94,9	95,1
Конечная численность поголовья	гол.	29830	30653	30337
Затраты на корма:				
- на 1 кг прироста живой массы	кг	1,91	1,86	1,8
- на птичник	руб.	2449726,75	2476122,85	2444800,1
- на 1 кг прироста живой массы	руб.	33,46	32,2	31,42
Себестоимость на производство 1 кг живой массы	руб.	48,46	47,2	46,45
Средний убойный выход	%	74	74	74
Средняя масса тушки	кг	1,86	1,89	1,92
Всего масса мяса с птичника	кг	55483,8	57934,17	58247,04
Производственные затраты на прирост живой массы, в т.ч.:	тыс. руб.	3 547,93	3629,60	3605,1099
- Зарплата персонала с отчислениями в фонды	тыс. руб.	319,31	319,31	319,31
- Стоимость кормов (с препаратом для опытных птичников)	тыс. руб.	2 449,73	2476,12	2438,591
- Прочие прямые затраты	тыс. руб.	300,00	355,27	368,32
- Затраты на убой	тыс. руб.	382,00	382	382
- Накладные расходы	тыс. руб.	96,89	96,89	96,89
Стоимость выхода 1 кг мяса	руб.	63,95	62,65	61,89
Стоимость реализации 1 кг тушки	руб.	102	102	102
Экономический эффект от реализации 1 кг мяса	руб.		39,35	40,11

Так, в птичнике 2 (новый вариант1) экономический эффект от реализации 1 кг мяса составил на 1 рубль 29 копеек, что на 3,4% больше, чем в контрольном птичнике. В опытном птичнике (новый вариант 2) экономический эффект от реализации 1 кг мяса составил 2 рубля 05 копеек, что на 5,4% больше, чем в контрольном.

Таким образом, использование ферментного препарата Акстра Про эффективно с экономической точки зрения. Экономический эффект при добавлении кормовой протеазы на фоне 5% гороха в рационе цыплят-бройлеров в дозе 50 мг/кг составляет на 1 кг мяса 1,29 руб., при дозе препарата 100 мг/кг – 2,05 руб.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Ферментный препарат Акстра Про в дозе 100 мг/кг на пшенично-соевом рационе повышает прирост массы в 10-суточном возрасте на 5,4% ($p \leq 0,05$), в 21-суточном возрасте – на 6,8% ($p \leq 0,05$), в 35-суточном возрасте цыплят-бройлеров - на 6,5% ($p \leq 0,05$) по сравнению с контролем. При этом затраты корма в опытной группе за период выращивания снижаются на 4,4%.
2. Ферментный препарат Акстра Про на фоне добавки гороха (5% от массы корма) повышает прирост массы цыплят-бройлеров в 10-суточном возрасте на 6,2% и 8,7% (дозировка, соответственно, 50 и 100 мг/кг); в 21-суточном возрасте – на 5,1% и 7,1% (при дозировке препарата, соответственно, 50 и 100 мг/кг); в 35-суточном возрасте – на 5,7% и 6,7%, соответственно, по сравнению с контрольной группой. Различия между опытными и контрольной группами являются достоверными ($p \leq 0,05$), наиболее существенные различия отмечаются в начальный период онтогенеза (1-10 суток). Конверсия корма улучшается в опытных группах на 5,0-4,8% за период выращивания по сравнению с контрольной группой.
3. Действие протеазы на фоне 10% гороховой добавки направлено на повышение продуктивности бройлеров: в 10-суточном возрасте прирост массы выше на 5,3% и 8,8% (доза препарата 50 и 100 мг/кг, соответственно); в 21-суточном возрасте – на 6,2% и 7,8% (доза препарата 50 и 100 мг/кг, соответственно); в 35-суточном возрасте – на 5,3% и 6,5% (доза препарата 50 и 100 мг/кг, соответственно) по сравнению с контрольной группой. Наиболее высокие показатели отмечаются в группах, получавших препарат в дозе 100 мг/кг корма. Конверсия корма в данной группе улучшается на 5,5% по сравнению с контрольной.
4. При использовании кормовой протеазы на фоне пшенично-соевого рациона цыплят-бройлеров активность дуоденальных ферментов не изменяется. Существенное увеличение активности пищеварительных ферментов происходит при добавлении ферментного препарата Акстра Про на фоне 5% добавки гороха: на 31,6% (доза препарата 50 мг/кг) ($p \leq 0,05$), на 36,8% ($p \leq 0,05$) – при увеличении дозы препарата до 100 мг/кг.
5. Установлена более низкая переваримость сырого протеина при содержании бройлеров на пшенично-гороховом рационе, которая на 2,6% (5% гороха), на

4,6% (10% гороха) ниже по сравнению с кормом, содержащем в своем составе соевый жмых. Введение кормовой протеазы повышает эффективность переваривания протеина в случаях содержания бройлеров на пшенично-гороховом рационе на 2,5%, 1,5%, 4,0% и 3,2%, при содержании 5% гороха в первых двух рационах, 10% гороха – в последующих. Препарат Акстра Про вводился, соответственно, в дозах: 50; 100; 50; 100 мг/кг.

6. При использовании кормовой протеазы биохимические показатели крови цыплят-бройлеров существенно не изменялись и находились в пределах физиологической нормы.
7. Использование ферментного препарата Акстра Про эффективно с экономической точки зрения. Экономический эффект при добавлении кормовой протеазы на фоне 5% гороха в рационе цыплят-бройлеров в дозе 50 мг/кг составляет на 1 кг мяса 1,29 руб., при дозе препарата 100 мг/кг – 2,05 руб.

ПРЕДЛОЖЕНИЯ ПРОИЗВОДСТВУ

1. Рекомендуем для использования на пшенично-соевых рационах бройлеров ферментный препарат Акстра Про в дозировке 100 мг/кг (г/т) с суточного до 21-суточного возраста выращивания, далее с 22 суток до конца выращивания - 50 мг/кг.
2. При добавлении 5 и 10 % гороха для удешевления стоимости корма на пшенично-соевых рационах рекомендуется использовать ферментный препарат Акстра Про в дозе 100 мг/кг (г/т) с суточного возраста цыплят-бройлеров до конца выращивания.

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

Результаты проведенных исследований создают предпосылки для дальнейшего изучения влияния ферментных препаратов протеолитического действия на процессы пищеварения и продуктивность других видов сельскохозяйственной птицы.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. *Борисенко К.В. Активность пищеварительных ферментов при добавке в корм бройлеров протеазы / К.В. Борисенко, В.Г. Вертипрахов // Птицеводство. - 2018. - №10. - С.20-23.
2. *Вертипрахов В.Г., Секреторная функция поджелудочной железы кур при вводе протеазы / В.Г. Вертипрахов, К.В. Борисенко, А.А. Грозина // Птицеводство. - 2018. - № 11-12. - С.23-25.
3. *Егоров И.А., Применение протеазы в комбикормах для цыплят-бройлеров отечественного кросса «Смена-8» / И.А. Егоров, В.А. Манукян, В.Г. Вертипрахов, Т.Н. Ленкова, Т.А. Егорова, И.Н. Никонов, А.А. Грозина, К.В. Борисенко //Птицеводство. № 9-10. - 2019. - С.61-65.

4. Борисенко К.В., Активность пищеварительных ферментов дуоденального содержимого при введении в рацион цыплят-бройлеров экзогенной протеазы / К.В. Борисенко, В.Г. Вертипрахов // В сборнике: Актуальные проблемы ветеринарной медицины, зоотехнии и биотехнологии Сборник научных трудов Международной учебно-методической и научно-практической конференции, посвященной 100-летию со дня основания ФГБОУ ВО МГАВМиБ - МВА имени К.И. Скрябина. Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии - МВА имени К.И. Скрябина». - 2019. - С.211-212.
5. *Вертипрахов В.Г., Пищеварение и биохимические показатели крови кур при введении в рацион экзогенной протеазы / В.Г. Вертипрахов, К.В. Борисенко // Сибирский вестник сельскохозяйственной науки. – 2019, №2. - Т.49. - С. 77-84.
6. *Вертипрахов В.Г., Влияние биологически активных веществ в пре- и постпрандиальный период на биохимические показатели крови кур-несушек / В.Г. Вертипрахов, А.А. Грозина, К.В. Борисенко // Российская сельскохозяйственная наука. - 2019. - №4. - С.48-51.
7. *Борисенко К.В., Влияние ввода кормовой протеазы на продуктивность, переваримость питательных веществ, биохимические показатели крови цыплят-бройлеров / К.В. Борисенко, В.Г. Вертипрахов // Зоотехния. - 2019. - №2. - С.20-26.
8. *Vertiprakhov, V.G., Effects of Biologically Active Substances on Blood's Biochemical Properties of Laying Hens in Pre- and Postprandial Phases / V.G.Vertiprakhov , A.A. Grozina, K.V. Borisenko // Russ. Agricult. Sci. -2019. – 45. – P.470–473.

Примечание: *- научные статьи, опубликованные в изданиях рекомендуемых ВАК РФ для публикации основных результатов диссертации на соискание ученой степени кандидата наук