

НОВИК ЯНА ВИКТОРОВНА

**ФАРМАКО-ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ ПРИМЕНЕНИЯ
ПРОБИОТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ БАКТЕРИЙ РОДА
BACILLUS ГУСЯМ**

06.02.03 – Ветеринарная фармакология с токсикологией

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание учёной степени

кандидата ветеринарных наук

Новосибирск 2022

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Новосибирский государственный аграрный университет».

Научный руководитель: **Ноздрин Григорий Антонович**
доктор ветеринарных наук, профессор,
заслуженный работник высшей школы РФ,
профессор кафедры фармакологии и общей
патологии ФГБОУ ВО «Новосибирский
государственный аграрный университет»

Официальные оппоненты: **Токарев Антон Николаевич**
доктор ветеринарных наук, доцент, заведующий
кафедрой ветеринарно-санитарной экспертизы
ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский
государственный университет ветеринарной
медицины»

Требухов Алексей Владимирович
доктор ветеринарных наук, доцент, заведующий
кафедрой терапии и фармакологии ФГБОУ ВО
«Алтайский государственный аграрный
университет»

Ведущая организация: ФГБОУ ВО «Красноярский государственный
аграрный университет»

Защита состоится «24» мая 2022 г. в 9⁰⁰ часов на заседании диссертационного совета Д 999.215.02 при ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный аграрный университет» по адресу: 630039, г. Новосибирск, ул. Добролюбова, 160, зал заседаний учёного совета. Тел./факс: 8 (383) 267-09-07, E-mail: nsau999.215.02@mail.ru

С диссертацией и авторефератом можно ознакомиться в библиотеке ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный аграрный университет» и на официальном сайте: <http://www.nsau.edu.ru>.

Автореферат разослан «___» _____ 2022 г.

Учёный секретарь
диссертационного совета

Лазарева Марина Викторовна

1 ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. Промышленное и фермерское птицеводство — ведущие отрасли сельского хозяйства. Главный показатель, определяющий современность этих направлений, — скороспелость птицы и быстрая окупаемость вложений. Среди всей одомашненной птицы скорость роста гусей самая большая. Гуси также характеризуются самым высоким уровнем выживаемости. По сравнению с другими домашними птицами смертность среди гусей значительно ниже. Однако в условиях крупных птицеводческих предприятий риски возникновения заболеваний у гусей, особенно в ранний постнатальный период, достаточно высокие.

Степень разработанности проблемы. Сегодня во всех отраслях птицеводства находит широкое применение использование функциональных кормовых добавок на основе растительного сырья, побочных продуктов перерабатывающей промышленности, продуктов микробиосинтеза. Это белково-энергетические, витаминные, пробиотические добавки. Наиболее широко используются разнообразные добавки при разведении кур. Отрасль гусеводства в этом направлении охвачена гораздо меньше. Соответственно и количество научных исследований, направленных на теоретическое обоснование и изучение возможностей использования биологически активных добавок для повышения продуктивности достаточно ограничено. Сравнительная и возрастная картина гематологического и биохимического статуса гусей, особенно в отношении породной принадлежности изучена не в полной мере. Количество описываемых биохимических показателей для оценки влияния пробиотических препаратов на современном уровне крайне недостаточно. Гематологические показатели, оцененные с помощью современных анализаторов, представлены слабо.

Существует несколько подходов для адаптации сельскохозяйственной птицы к интенсивному выращиванию. К ним относятся сбалансированное белковое и энергетическое питание, применение растительных витаминных добавок, использование пробиотиков. В отличие от антибиотиков, механизм действия пробиотиков направлен не на уничтожение части популяции кишечных микроорганизмов, а на заселение кишечника конкурентноспособными штаммами бактерий — пробионтов, которые осуществляют неспецифический контроль над численностью условно-патогенной микрофлоры путем вытеснения ее из состава кишечного микробиоценоза.

Несмотря на обширный перечень работ в области изучения механизма действия пробиотиков, доказательства полезной и несомненной роли пробиотиков в поддержании здоровья гусей по существу только начинаются. В настоящее время продолжается работа по созданию и внедрению наиболее активных пробиотиков, что требует адекватного фармако-физиологического обоснования.

Цель работы — изучить фармако-физиологическую эффективность пробиотических препаратов на основе бактерий рода *Bacillus* при выращивании гусей.

В соответствии с поставленной целью в работе определены следующие задачи:

1. Оценить влияние пробиотических препаратов ветом 1 и ветом 2 на гематологический статус гусей краснозерской породы.

2. Выяснить влияние пробиотических препаратов ветом 1 и ветом 2 на биохимические показатели крови гусей краснозерской породы.

3 Изучить действие пробиотических препаратов ветом 1 и ветом 2 на состав микрофлоры кишечника гусей.

4 Определить динамику живой массы гусей краснозерской породы при использовании пробиотиков ветом 1 и ветом 2 в рационе.

5. Дать экономическую оценку эффективности применения пробиотиков ветом 1 и ветом 2 при выращивании гусей.

Научная новизна результатов работы. Впервые на гусях краснозерской породы изучено комплексное влияние пробиотиков ветом 1 и ветом 2 в различных дозировках и схемах применения на продуктивные, гематологические, биохимические показатели крови и микробиологические показатели желудочно-кишечного тракта. Определены оптимальные дозы и схемы применения пробиотических препаратов ветом 1 и ветом 2, обеспечивающие высокую фармако-физиологическую эффективность и экономическую эффективность в различные периоды их выращивания.

Научно-производственный опыт и исследования проведены в ООО Научно-производственная фирма «Исследовательский центр» и лаборатории кафедры фармакологии и общей патологии факультета ветеринарной медицины Новосибирского ГАУ.

Производственный опыт был проведён и апробирован на гусях в количестве 2400 голов в гусеводческом хозяйстве ООО «Чановский гусевод» Чановского района Новосибирской области.

Объектом исследования являлись гуси краснозёрской породы в возрасте от 14 до 120 дней.

Предметом исследования служил микробиальный препарат ветом 1, полученный на основе бактерий *Bacillus subtilis* и микробиальный препарат ветом 2, полученный на основе бактерий *Bacillus subtilis* и *Bacillus amyloliquefaciens*.

Теоретическая значимость работы. Работа имеет фундаментальную направленность. Ее результаты имеют значение для понимания закономерностей физиологических процессов и фармакологических эффектов при применении препаратов ветом 1 и ветом 2 в гусеводстве.

Практическая значимость. Результаты изучения фармакологической эффективности применения ветома 1 и ветома 2 в гусеводстве могут быть использованы в условиях промышленных и личных специализированных хозяйств для повышения мясной продуктивности и качества получаемой продукции.

Основная практическая значимость заключается в том, что были определены оптимальные дозы и схемы применения пробиотических препаратов на основе бактерий рода *Bacillus* для получения наибольшего количества мясной продукции и повышения экономической эффективности. Результаты проведенных исследований свидетельствуют о перспективах практического применения

пробиотиков ветом 1 и ветом 2 в гусеводстве для повышения мясной продуктивности, жизнеспособности птицы и получения экологически безопасной продукции.

Результаты исследований были внедрены в гусеводческое хозяйство ООО «Чановский гусевод» Чановского района Новосибирской области.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности. Тема диссертационного исследования соответствует шифру специальности 06.02.03 – Ветеринарная фармакология с токсикологией. Область диссертационных исследований соответствует следующим пунктам паспорта научной специальности 06.02.03 – Ветеринарная фармакология с токсикологией: п. 1. Механизм действия лекарственных веществ на организм животных его отдельные системы и функции (фармакодинамика); п. 6. Зависимость фармакологического действия лекарственных средств от их дозы, формы применения, метода введения с учетом видовых особенностей животных, их возраста, пола, физиологического состояния, условий содержания и кормления.

Методология и методы исследования. Методологической основой настоящей работы являлись научные публикации отечественных и зарубежных авторов по теме диссертационной работы в области фармакологии пробиотических препаратов для птицеводства и гусеводства. При выполнении научных исследований использовались физиологические, гематологические, биохимические, фармакологические, микробиологические, экономические, параметрические и непараметрические статистические методы. Исследования биопроб проведены на современном лабораторном оборудовании.

Основные положения, выносимые на защиту:

- динамика гематологических показателей крови гусей в возрасте от 14 до 104 суток при применении препаратов ветом 1 и ветом 2;
- влияние препаратов ветом 1 и ветом 2 на биохимический статус гусей в возрасте от 14 до 104 суток;
- влияние препаратов ветом 1 и ветом 2 на микробиологические показатели желудочно-кишечного тракта гусей краснозерской породы;
- закономерности изменения живой массы тела гусей в возрасте от 14 до 104 суток при применении препаратов ветом 1 и ветом 2;
- экономическая эффективность применения пробиотических препаратов ветом 1 и ветом 2 в гусеводстве.

Степень достоверности и апробация результатов. Всего по теме диссертации опубликовано 10 научных работ, в том числе 4 статьи в журналах, рекомендованных ВАК, 2 статьи в журналах, индексируемых в базе данных Scopus.

Объём и структура работы. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследований, результатов собственных исследований и их обсуждения, выводов, списка литературы. Работа изложена на 171 страницах текста, содержит 56 таблиц, 8 рисунков. Список литературы включает 362 литературных источника, в том числе 250 англоязычных.

2 СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Материалы и методы исследований

2.1.1 Схемы исследований

Лабораторные опыты проведены в соответствии с «Методикой проведения научных и производственных исследований по кормлению сельскохозяйственной птицы ВНИИТИП» (2004). Для проведения опыта по принципу пар-аналогов были сформированы семь опытных групп и одна контрольная с гусями 14-дневного возраста, содержащимися в идентичных условиях, соответствующих зоотехническим и гигиеническим нормам. На момент проведения исследования содержание и кормление гусей контрольной и опытных групп было аналогичным. Ежедневно гуси опытных групп получали дополнительно с комбикормом препараты ветом 1 и ветом 2 в различных дозировках и по разным схемам, в то время как в рационе гусей из контрольной группы пробиотические препараты не применялись (таблица 1).

Таблица 1 – Схема назначения препаратов

Группа	Название препарата, дозировка, схема применения
Контрольная	Препарат не назначался
1-я опытная	Ветом 1 в дозе 50 мг/кг массы внутрь с кормом 1 раз в сутки в течение 15 суток
2-я опытная	Ветом 1 в дозе 50 мг/кг массы внутрь с кормом 1 раз в сутки в течение 30 суток
3-я опытная	Ветом 2 в дозе 50 мг/кг массы внутрь с кормом 1 раз в сутки в течение 15 суток
4-я опытная	Ветом 2 в дозе 50 мг/кг массы внутрь с кормом 1 раз в сутки в течение 30 суток
5-я опытная	Ветом 2 в дозе 75 мг/кг массы внутрь с кормом 1 раз в сутки в течение 15 суток
6-я опытная	Ветом 2 в дозе 75 мг/кг массы внутрь с кормом 1 раз в сутки в течение 30 суток
7-я опытная	Ветом 2 в дозе 75 мг/кг массы внутрь с кормом 1 раз в сутки, в течение 5 суток с перерывом 5 суток, 15 назначений

Динамика массы тела гусей исследована путём индивидуального взвешивания. Абсолютную массу определяли при формировании групп, до опыта, на 15, 30, 45, 60 и 90-е сутки эксперимента.

Гематологические, биохимические и микробиологические исследования проводили до опыта и на 30, 60, 90-е сутки эксперимента.

2.1.2 Исследования гематологических и биохимических показателей гусей

Количественные гематологические показатели в венозной крови птицы изучали с помощью автоматического гематологического анализатора 3 dif Vet Auto Hematology Analyzer BC-2800. Данный анализатор относится к приборам закрытого типа. Измерение числа эритроцитов (RBC), лейкоцитов (WBC) и тромбоцитов (PLT) происходит импедансным методом, в основе которого лежит измерение электрического сопротивления, возникающего при прохождении эритроцитов через апертуру определенного диаметра. Гемоглобин (HGB) определяли колориметрически при длине волны 525 нм. Также рассчитываются параметры, производные от RBC, – средний клеточный объём эритроцита (MCV), гематокрит (HCT), среднее содержание гемоглобина в эритроците (MCH), средняя концентрация гемоглобина в эритроците (MCHC), распределение эритроцитов по объёму (RDW); от PLT – средний клеточный объём тромбоцита (MPV), тромбокрит (PCT), распределение тромбоцитов по объёму (PDW).

Изучение биохимических показателей в сыворотке крови гусей проводили на биохимическом анализаторе открытого типа iMagic-V7 (версия для ветеринарии), производитель Shenzhen iCubio Biomedical Technology Co., Ltd, Китайская Народная Республика.

В сыворотке крови по унифицированным методикам были определены биохимические показатели: белкового обмена – общий белок, альбумин, креатинин; ферменты – аланинаминотрансфераза (АЛТ), аспартатаминотрансфераза (АСТ), щелочная фосфатаза (ЩФ); углеводного – глюкоза; липидного – общий холестерин; пигментного – общий билирубин, конъюгированный билирубин, минерального – сывороточное железо, кальций, хлориды.

Биохимические показатели исследовались по следующим методикам.

Концентрацию общего белка оценивали с помощью биуретового метода при длине волны 550 нм. Принцип действия: в щелочной среде белок образует с ионами меди комплексное соединение фиолетового цвета. Количество пептидных связей, взаимодействующих с Cu^{2+} , прямо пропорционально концентрации белка и соответственно интенсивности окраски.

Альбуминовую фракцию белков определяли бромкрезоловым колориметрическим методом, λ 630 нм. Данный метод основан на свойстве альбуминов взаимодействовать в слабокислой среде с бромкрезоловым зеленым и формировать окрашенные комплексы в присутствии детергента.

Концентрацию сывороточного креатинина оценивали в реакции Яффе без этапа депротеинизации. В этой реакции креатинин в щелочной среде взаимодействует с пикриновой кислотой. Величину креатинина определяли кинетическим методом по скорости окрашивания раствора в оранжево-красный цвет.

Ферментативную активность АЛТ измеряли методом Райтмана-Френкеля, λ 490 нм. Под действием трансферазы в реакции трансаминирования L-аланина и α -кетоглутарата происходит образование 2,4-динитрофенилгидразонов L-глутаминовой и пировиноградной кислот, затем при добавлении щелочи образуется раствор красно-коричневого оттенка, интенсивность которого пропорциональна уровню АЛТ.

Ферментативную активность АСТ также измеряли методом Райтмана-Френкеля, λ 490 нм. Под действием трансферазы в реакции трансаминирования аспарагиновой кислоты и α -кетоглутарата происходит образование 2,4-динитрофенилгидразонов L-глутаминовой и пировиноградной кислот, затем при добавлении щелочи образуется раствор красно-коричневого оттенка, интенсивность которого пропорциональна уровню АЛТ.

Активность щелочной фосфатазы (фосфогидролаза моноэфиров ортофосфорной кислоты) определяли колориметрически с p-нитрофенолом, λ 405 нм. ЩФ гидролизует p-нитрофенолфосфат (4-NPP) с образованием p-нитрофенола (4-NP), катализируя в щелочной среде перенос фосфатной группы к 2-амино-2-метил-1-пропанолу (AMP).

Концентрацию глюкозы и общего холестерина определяли ферментативными колориметрическими методами. Уровень глюкозы определяли глюкозооксидазным методом. В основе метода лежит базовая реакция окисления глюкозы глюкозооксидазой. В реакции выделяется перекись водорода, формируя при этом окрашенные комплексы розового цвета разной интенсивности.

Ферментативный метод определения общего холестерина базируется на ряде сопряжённых реакций с участием ферментов холестеринэстеразы, холестериноксидазы и пероксидазы. Данные ферменты последовательно гидролизуют эфиры холестерина с образованием и последующим окислением холестерина до перекиси водорода. H_2O_2 под действием пероксидазы преобразует р-аминоатипирин в окрашенное соединение розового цвета.

Общий и конъюгированный билирубин определяли модифицированным методом Йендрашика-Грофа. При этом конъюгированный билирубин образует с ДСК (диазотированной сульфаниловой кислотой) окрашенный продукт красного цвета. Содержание билирубина в сыворотке крови прямо пропорционально интенсивности окраски.

Железо (Fe) определяли методом с феррозином без депротеинизации, λ 560 нм. Принцип метода заключается в отщеплении от трансферрина Fe^{3+} в кислой среде, и дальнейшем восстановлении аскорбиновой кислотой в двухвалентное железо. Феррозин с Fe^{2+} формирует фиолетовый комплекс.

Концентрацию хлоридов определяли тиоцианатным методом на основе их взаимодействия с роданидом (тиоцианатом) двухвалентной ртути в присутствии Fe^{3+} .

Уровень кальция оценивали в методике с арсеназо III, λ 650 нм. В щелочной среде кальций образует прямое соединение с арсеназо III, что приводит к образованию цветного комплекса, измеряемого фотометрически.

2.1.3 Исследование микробного состава кишечной микрофлоры гусей

Проводили идентификацию энтеробактерий, дрожжевых грибов рода *Candida*, *Escherichia coli* с нормальной, пониженной и гемолитической активностью, бифидобактерий, лактобактерий, условно-патогенных микроорганизмов (энтерококки, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus* неферментирующие бактерии, клостридии) и *B. subtilis*.

Забор фекалий у гусей осуществляли стерильным наконечником в стерильные флаконы. Объём пробы составлял 3-5 г.

Перед посевом применяли метод последовательных десятикратных разведений фекалий гусей в стерильном растворе пептона с твином. При определении *Enterobacteriaceae* посев делали на ряд сред: Эндо, Левина, Плоскирева, а также кровяной агар (для одновременного учета гемолитических *E. coli*) и висмут-сульфитный агар. Полученные колонии засевали штрихом по косяку и уколом в столбик комбинированной среды для первичной идентификации (среды Олькеницкого). Способность ферментировать лактозу

(представители родов *Escherichia*, *Klebsiella*, *Citrobacter*, *Enterobacter*) оценивали по изменению окраски скошенной части комбинированной среды.

Количественную оценку содержания *Enterococcus* производили при посевах на полимиксиновом агаре. Идентификацию семейства *Staphylococcus* выполнялась на желточно-солевом агаре. Клостридии определяли на плотной среде Вильсон-Блера. Идентификацию грибов *Candida* выполняли на декстрозном агаре Сабуро (SDA).

Для идентификации неферментирующих бактерий использовали мясо-пептонный агар и агар Байрд-Паркера.

При идентификации бактерий *Bifidobacterium* использовали Бифидум-среду. Оценивали рост бактерий на 1-2-е сутки. Для определения лактобактерий применяли агар MRS.

Результаты оценивали подсчётом числа колоний согласно методу Баймуратовой и др. (2004):

$$M = N \times 10^a + 1,$$

где M – число микробов в 1г кала;

N – число выросших на чашке Петри колоний;

a – степень разведения исследуемого материала.

Полученные результаты преобразовывали в десятичные логарифмы.

2.1.4 Расчёт экономической эффективности применения пробиотических препаратов в гусеводстве

Для оценки экономической эффективности расчёт производили по формуле:

$$Ээ = (Дп \times Ц) - Зв,$$

где Дп – дополнительный прирост живой массы в опытной группе, кг;

Ц – цена реализации 1 кг мяса, руб;

Зв – стоимость препарата, руб.

Экономическую эффективность на 1 руб. затрат определяли делением экономической выгоды от применения кормовой добавки на ее стоимость.

Затраты на ветеринарные мероприятия определяются только стоимостью препарата, так как при его применении не требуется проводить специальных манипуляций.

2.1.5 Статистическая обработка результатов

Оценку характера распределения изучаемых показателей осуществляли с помощью классического непараметрического критерия Андерсона-Дарлинга (AD) и с помощью специального критерия нормальности Шапиро-Уилка (W) для выборок размером от 8 до 50 наблюдений. При нормальном распределении применяли стандартные биометрические показатели описательной статистики: медиана, средняя арифметическая ошибка, стандартная ошибка, стандартное отклонение, минимальное и максимальное значения, первый и третий квартили, межквартильный размах, лимиты, коэффициент вариации, отношение крайних вариантов. При распределении, отличном от нормального, рассчитывали такие показатели, как медиана, минимальное и максимальное значения, первый и третий квартили, межквартильный размах, лимиты и отношение крайних вариантов.

При определении межгрупповых различий пользовались критерием Краскела-Уоллиса в качестве альтернативного непараметрического аналога критерия Фишера в рамках однофакторного дисперсионного анализа при сравнении 3 и более независимых групп.

После применения теста Краскела-Уоллиса использовали post-hoc теста Данна с поправкой Холма для парного сравнения совокупностей.

Статистическая обработка исходных данных проводилась с помощью языка статистического программирования R.

2.2 Результаты исследований

2.2.1 Гематологические и биохимические исследования крови гусей

Согласно результатам гематологического исследования крови гусей, на протяжении экспериментального периода исследуемые морфологические показатели крови находились в диапазоне физиологических норм.

Применение пробиотических препаратов ветом 1 и ветом 2 во всех изученных схемах оказывало незначительное влияние на гематологический статус гусей краснозерской породы. Отмечена тенденция к увеличению большинства гематологических показателей гусей опытных групп в сравнении с контролем, поскольку все показатели варьировали в пределах физиологической нормы, можно сделать вывод, что препараты физиологичны для организма гусей.

Использование ветома 1 и ветома 2 способствовало также положительной динамике биохимических показателей крови гусей.

Физиологическим значением уровня общего белка у гусей считается концентрация в пределах от 43 до 59 г/л. Во всех группах, кроме периода до начала эксперимента и в контрольной группе на 90-е сутки эксперимента, содержание общего белка изменялось в указанных пределах. До начала эксперимента уровень белка был незначительно ниже нормативных значений, а в контрольной на 90-й день эксперимента – выше. Влияние дозы и режима использования пробиотических препаратов на уровень общего белка в сыворотке крови гусей установлено на 90-е сутки от начала эксперимента. В указанный период в контрольной группе гусей уровень общего белка превышал физиологическую норму. Парные апостериорные сравнения между уровнем протеинемии демонстрируют достоверные различия между 1, 2, 3, 4 и 5-й опытными и контрольной группой птиц. В этих группах уровень общего белка ниже, чем в контрольной на 14,9; 14,7; 14,1; 15,1; 21,2; 63,6% соответственно. Показатель в опытных группах варьировал в пределах физиологической нормы.

Изменения отмечали в показателях АЛТ. Парные апостериорные сравнения с помощью post-hoc теста Данна между исследуемыми группами гусей на 90-е сутки демонстрируют достоверные различия между 1, 3, 5 и 6-й опытными группами с более высокими значениями АЛТ в 6-й группе; между 6-й и 7-й с более высокими значениями энзима в последней. Преобладающая активность АЛТ в данных опытных группах отражает высокую интенсивность обмена белка. Животные из контрольной группы характеризовались более высокими значениями АЛТ, чем животные из 1, 5 и 7-й групп, что отражает

гепатопротекторное влияние ветома 1 в дозе 50 мг/кг массы при кормлении 1 раз в сутки в течение 15 суток и ветома 2 в дозе 75 мг/кг массы при кормлении 1 раз в сутки в течение 15 суток и дозе 75 мг/кг массы при кормлении 1 раз в день, циклами по 5 суток с 5-суточными интервалами. Вероятнее всего, применение препаратов ветом 1 и ветом 2 в опытных группах повышало функциональную активность метаболизма печени и гепатоцитов за счёт продуктов жизнедеятельности транзиторных бактерий в кишечнике.

До начала эксперимента у гусей уровень глюкозы находился на нижней границе нормы, а во многие последующие возрастные периоды концентрация глюкозы была ниже нормальных значений, что свидетельствует о более высокой утилизации её тканями. Установлено влияние дозы и режима использования пробиотических препаратов на уровень глюкозы в сыворотке крови гусят в период 30 суток от начала эксперимента.

Попарные апостериорные сравнения между исследуемыми группами гусей на 30 сутки демонстрируют достоверные различия между 1-й и 6-й; 1, 3-й и 7-й; 3 и 5-й опытными группами, а также между 6, 7-й опытными и контрольной группами птиц. Самые высокие значения глюкозы наблюдались в 6-й и 7-й опытных группах: 9,18 и 9,95 ммоль/л соответственно, и, в свою очередь, выше, чем в контрольной группе, на 12,6 и 20,1 % соответственно.

Влияние дозы и схемы применения использования пробиотических препаратов на концентрацию конъюгированного билирубина в сыворотке крови гусей установлено в период 90 суток от начала эксперимента. Попарные апостериорные сравнения между исследуемыми группами гусей на 90-е сутки демонстрируют достоверные различия между 1, 2, 3, 5 и 6-й опытными и контрольной группой птиц. Во всех этих группах уровень конъюгированного билирубина ниже, чем в контрольной, на 57,1; 60,7; 57,1; 64,2; 60,7% соответственно. Это может быть обусловлено эффектом от применения пробиотических препаратов. При поступлении в просвет кишечника конъюгированного билирубина он более активно связывается микрофлорой. Показатель в опытных группах варьировал в пределах физиологической нормы.

Хлориды – один из важнейших показателей минерального обмена у птицы. Измерение уровня хлоридов незаменимо при оценке водно-электролитного баланса организма гусей, а анализ в комплексе с другими аналитами минерального обмена становится ещё более информативным. Исследование концентрации хлоридов у гусей проводится достаточно редко.

Попарные апостериорные сравнения между исследуемыми группами гусей на 90-е сутки эксперимента демонстрируют достоверные различия между 2, 5, 7-й опытными группами и контрольной. В контрольной группе птиц концентрация хлоридов была выше, чем в 2, 5, 7-й опытных на 8,9; 10,2; 8,1% соответственно. Показатель в опытных группах варьировал в пределах физиологической нормы.

Уровень железа в организме птиц – важный показатель минерального обмена, играющий принципиальную роль в механизмах пролиферации и дифференцировки клеток организма. Железо участвует в огромном множестве метаболических реакций, включая участие в транспорте кислорода и электронов,

энергоснабжении, метаболизме белка, антиоксидантной активности и иммунитете.

Попарные апостериорные сравнения между исследуемыми группами гусей на 90-е сутки показывают, что уровень железа выше в контрольной группе в сравнении с 1, 5, 7-й опытными на 18,7; 5,8; 11%, что может отражать активное использование железа гусями данных опытных групп.

Таким образом, пробиотические препараты ветом 1 и ветом 2 оказывают достаточно выраженное влияние на ряд биохимических показателей, отражающих все виды обмена веществ. Отмечен моделирующий эффект при применении ветома 1 и ветома 2, который проявлялся в снижении показателей, концентрация которых была изначально повышена: общий белок, активность АЛТ, хлориды. Если биохимические показатели варьировали в пределах нормальных физиологических границ, пробиотические препараты не оказывали влияния на их концентрацию. К таким анализам относятся альбумины, АСТ, ЩФ, общий холестерин, общий билирубин, кальций. Уровень глюкозы под действием препаратов повышается до нормальных значений, а также отмечается эффект повышения утилизации глюкозы тканями. Активность АЛТ, концентрация конъюгированного билирубина и железа падает. Снижение АЛТ отражает гепатопротекторный эффект препаратов. Концентрация конъюгированного билирубина уменьшается под действием микрофлоры препаратов. Содержание сывороточного железа снижается в пределах физиологической нормы. Влияние ветома 1 и ветома 2 характеризуется накопительным и пролонгированным эффектами, поскольку наибольшее отличие между опытными и контрольными группами отмечалось на 90-е сутки от начала эксперимента.

2.2.2 Влияние ветома 1 и ветома 2 на микробный состав кишечной микрофлоры гусей

Основой микробиоты желудочно-кишечного тракта птицы являются бифидобактерии, составляющие до 90-98% от всех бактерий. Колонизация ЖКТ бифидобактериями начинается сразу с первых часов жизни гусей. Наибольшее количество бифидобактерий, как облигатных анаэробов, локализовано в толстом кишечнике. В данном отделе кишечника бифидобактерии составляют основу полостной и пристеночной микрофлоры. Количество *Bifidobacterium* в пробах помёта гусей краснозерской породы за весь период эксперимента варьировало в пределах от 1 до 10 lg КОЕ/г. Установлены достоверные различия между группами гусей с различными режимами использования препаратов ветом 1 и ветом 2 по количеству *Bifidobacterium* в пробах помёта гусей на 30-е и 60-е сутки от начала эксперимента. В указанные периоды гуси из 4-й группы характеризовались более низким количеством бифидобактерий. Данный факт может свидетельствовать о равномерной колонизации желудочно-кишечного тракта бифидобактериями у всех гусей, за исключением птицы из 4-й опытной группы.

Локализация лактобактерий в пищеварительном тракте птицы в сравнении с бифидобактериями более разнообразна. Данный вид бактерий, как наиболее

типичный представитель нормальной микрофлоры распространён во всех отделах желудочно-кишечного тракта от ротовой полости до прямой кишки. Лактобактерии обладают слабой протеолитической активностью, являются продуцентами множества биологически активных веществ. Количество лактобактерий в пробах помёта гусей краснозерской породы соответствовало количеству бифидобактерий и за весь период эксперимента колебалось в пределах от 1 до 10 lg КОЕ/г. Оптимальное содержание лактобактерий в помёте исследованных гусей подчеркивает однородность выборки по данному показателю. Нами не обнаружено различий по количеству лактобактерий между группами птицы.

С первого дня жизни гусят в желудочно-кишечном тракте можно обнаружить бактерии рода *Escherichia coli*. Это облигатный представитель микробиоты кишечника. Количественный состав *E. coli*, ферментирующих и не ферментирующих лактозу, оценивали отдельно. Анализ полученных данных свидетельствует о положительной тенденции по увеличению типичных и снижению лактозонегативных *E. coli* под влиянием ветома 1 и ветома 2. Положительным моментом является отсутствие у всех гусей гемолитических штаммов *E. coli*.

В состав нормальной микрофлоры желудочно-кишечного тракта птицы входят энтерококки, которые участвуют в переработке углеводов, в производстве витаминов, а также играют роль в создании местного иммунитета в кишечнике. Они играют важную роль в обеспечении колонизационной резистентности слизистых. В то же время они являются представителями группы условно-патогенных бактерий, способных вызывать аутоинфекцию, а при накоплении в окружающей среде – приводить к экзогенному инфицированию. Количество энтерококков *Enterococcus faecium* в фекалиях гусей колебалось в пределах нормальных значений - от 1 до 1,5 lg КОЕ/г.

Количество других условно-патогенных микроорганизмов - *Staphylococcus epidermidis*, дрожжевых грибов рода *Candida*, неферментирующих бактерий, *Clostridium* в пробах фекалий у гусей также было в пределах нормы от – 0,1 до 1,0 lg КОЕ/г. Не выявлено влияния препаратов ветом 1 и ветом 2 на количество условно-патогенной микрофлоры.

Установлено влияние доз и режимов использования пробиотических препаратов ветом 1 и ветом 2 на количество *B. subtilis* в фекалиях гусей на 30-е и 90-е сутки эксперимента. Парные апостериорные сравнения между исследуемыми группами гусей на 30 сутки демонстрируют преобладание по количеству *B. subtilis* во 2, 3, 5, 6-й опытных группах, по отношению к контролю в 4,2; 3,2; 2,8; 2,8 раза соответственно. На 90-е сутки эксперимента установлено влияние пробиотических препаратов на количество *B. subtilis*. Во 2, 3, 4, 6, 7-й опытных группах количество *B. subtilis* было выше, чем в контроле, в 1,3; 1,3; 15,5; 8; 12 раз соответственно.

Таким образом, ветом 1 и ветом 2 способствовали поддержанию баланса кишечной микрофлоры в пределах физиологической нормы, что важно для

пищеварительных процессов, усвоения питательных веществ, нормального функционирования организма и продуктивности гусей.

2.2.3 Влияние препаратов ветом 1 и ветом 2 на динамику абсолютной массы и относительных приростов массы тела гусей

При формировании групп и до начала периода использования пробиотических препаратов гуси опытных групп достоверно не отличались от птицы контрольной группы по абсолютной массе. В период эксперимента прирост живой массы гусей, получавших пробиотические препараты, и гусей из контрольной группы был достаточно синхронным. Поскольку не во всех изученных группах птицы живая масса характеризовалась нормальным распределением, для оценки достоверности межгрупповых различий использовали критерий Краскела-Уоллиса в качестве альтернативного непараметрического аналога однофакторного дисперсионного анализа при сравнении 3 и более независимых групп. В результате применения критерия Краскела-Уоллиса не было выявлено статистически значимых межгрупповых различий между опытными и контрольной группами по массе тела гусят на 15, 30, 60 и 90-й день эксперимента. Достоверные межгрупповые различия по массе тела гусей краснозерской породы были установлены на 45-е сутки применения ветома 1 и ветома 2 (таблица 2).

Таблица 2 – Влияние ветома 1 и ветома 2 на живую массу гусей краснозерской породы

Период исследования	N	df	p
Формирование групп	9,3015	7	0,231700
Перед опытом	12,144	7	0,095930
15-й день опыта	10,748	7	0,150000
30-й день опыта	10,945	7	0,141000
45-й день опыта	22,341	7	0,002218
60-й день опыта	4,8157	7	0,682400
90-й день опыта	4,366	7	0,736800

После непараметрического дисперсионного анализа был проведён апостериорный анализ для установления конкретных доз и режимов использования препаратов серии ветом, при которых они влияют на живую массу гусей. Попарные апостериорные сравнения с помощью post-hoc теста Данна между исследуемыми группами гусят на 45-е сутки демонстрируют достоверные различия между 1, 4, 7-й опытными группами и контрольной группой птиц. Достоверно установлено также превосходство по живой массе гусей из 1-й группы над 2, 3, 5-й группами; 4-й группы над 5-й и отставание птицы из 3-й и 5-й опытных групп от 6-й и 7-й.

Таким образом, на 45-е сутки эксперимента абсолютная живая масса у гусей 1, 4 и 7-й групп была достоверно выше, чем у аналогов из контроля на, 1,94; 1,30; 1,30% соответственно, а также превосходила массу птиц из других опытных групп (таблица 3).

Таблица 3 – Масса гусей краснозерской породы на 45-е сутки эксперимента, г

Группа	Me	Min	Max	Q ₁	Q ₃	IQR	Отношение крайних вариант
1-я опытная	4720	4650	4800	4673	4772	98,3	1,03
2-я опытная	4610	4520	4890	4585	4667	81,7	1,08
3-я опытная	4570	4510	4660	4533	4627	93,3	1,03
4-я опытная	4690	4580	4890	4647	4830	183,3	1,06
5-я опытная	4580	4500	4710	4522	4672	150	1,04
6-я опытная	4690	4580	4780	4657	4738	81,7	1,04
7-я опытная	4690	4640	4910	4655	4772	116,7	1,05
Контрольная	4630	4510	4710	4532	4668	136,7	1,04

Преимущество гусей опытных групп над контрольной в этот возрастной период имеет важное практическое значение, поскольку при интенсивном выращивании именно в этот период происходит убой птицы.

Для характеристики скорости роста также рассчитаны относительные приросты массы тела гусей. В период от начала эксперимента и по 15-е сутки среднесуточный прирост массы у гусей 1; 3; 4; 6 и 7-й опытных групп был выше на 8,29; 3,31; 17,68; 3,31 и 13,81 % соответственно, чем у аналогов из контроля, а у гусей 2-й и 5-й групп – ниже на 3,87 и 1,66%.

В период от 15-х по 30-е сутки эксперимента среднесуточный прирост массы у гусей 1-й и 5-й опытных групп был выше на 2,44 и 0,98 % соответственно, чем у аналогов из контроля, а у гусей 2-й группы не имел отличий от контроля. У гусей 3; 4; 6 и 7-й групп данный показатель был ниже на 0,49; 2,44; 0,49 и 3,41% соответственно, чем у аналогов из контроля.

В период от 30-х по 45-е сутки эксперимента среднесуточный прирост массы у гусей 6-й опытной группы был выше на 3,36 %, чем у аналогов из контроля, а у гусей 1-5-й и 7-й групп - ниже на 13,45; 4,2; 17,65; 10,92; 8,4 и 4,2% соответственно.

В период от 45-х по 60-е сутки эксперимента среднесуточный прирост массы у гусей 5-й опытной группы был выше на 10,87%, чем у аналогов из контроля, а у гусей 1; 2; 4; 6 и 7-й групп - ниже на 2,17; 8,7; 19,57; 19,57 и 2,17% соответственно. У гусей 3-й группы данный показатель не имел отличий от контроля.

В период от 60-х по 90-е сутки эксперимента среднесуточный прирост массы у гусей 1; 3; 5 и 6-й опытных групп был выше на 47,06; 17,65; 78,43 и 0,98 % соответственно, чем у аналогов из контроля, а у гусей 2; 4 и 7-й групп - ниже на 15,69; 33,33 и 7,84%.

В период от начала эксперимента и по 90-е сутки среднесуточный прирост массы у гусей 1; 3; 5 и 7-й опытных групп был выше на 7,15; 0,29; 11,3 и 0,43 % соответственно, чем у аналогов из контроля, а у гусей 2; 4 и 6-й групп был ниже на 5,15; 5,44 и 1,14%.

В продолжение опыта среднесуточный прирост массы тела гусей в разные временные отрезки у разных опытных групп был ниже или выше, чем в контроле, однако за весь период опыта данный показатель у гусей 1, 3, 5 и 7-й опытных групп превосходил группу контроля. При этом лучшие показатели имеют гуси 1-й

и 5-й опытных групп, которым давали ветом 1 и ветом 2 в дозе 50 мг/кг и 75 мг/кг массы при кормлении 1 раз в день в течение 15 суток соответственно.

Таким образом, на 45-е сутки от начала эксперимента установлено стимулирующее влияние на живую массу гусят пробиотического препарата ветом 1 в дозе 50 мг/кг массы при кормлении 1 раз в сутки в течение 15 суток; ветома 2 в дозе 50 мг/кг массы при кормлении 1 раз в сутки в течение 30 суток; ветома 2 в дозе 75 мг/кг массы при кормлении 1 раз в сутки, циклами по 5 суток с 5 суточными интервалами, всего 15 назначений.

С учетом условий производства наиболее удобным будет применение пробиотического препарата ветом 1 в дозе 50 мг/кг массы при кормлении 1 раз в сутки в течение 15 суток.

2.2.4 Экономическая эффективность применения пробиотических препаратов ветом 1 и ветом 2 в гусеводстве

Экономическую эффективность при применении микробиальных препаратов ветома 1 и ветома 2 при выращивании гусей определяли с учетом стоимости израсходованного препарата и дополнительно произведенной продукции. Затраты на ветеринарные мероприятия определяются только стоимостью препарата, так как при его применении не требуется проводить специальных манипуляций.

Средняя стоимость 1 кг гусятины по ценам на декабрь 2021 г. составляла 550 руб. Стоимость препаратов ветом 1 и ветом 2 составляла 631 руб. за упаковку 500 г, соответственно 1 г препарата стоит 1 руб. 26 коп.

При применении в рационе гусятам препаратов серии ветом в разных дозах и по разным схемам назначений валовый прирост живой массы птицы на 45-й день опыта в 1-й опытной группе составлял 47,54 кг; 2-й – 45,9; 3-й – 46,71; 4-й – 45,47; 5-й – 47,27; 6-й – 45,98; 7-й – 47,12; в контрольной группе – 46,07 кг. Так как дополнительный прирост живой массы отмечался только в 1, 3, 5 и 7-й опытных группах, исходя из этого экономическую эффективность будем определять при применении препаратов в этих группах.

Максимальная экономическая эффективность 16 руб. 99 коп. на 1 руб. затрат отмечалась в 1-й опытной группе при применении ветома 1 в дозе 50 мг/кг массы при кормлении 1 раз в сутки в течение 15 суток.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Выводы:

1. Пробиотические препараты ветом 1 и ветом 2 не вызывают негативных побочных явлений при применении гусям краснозерской породы.

2. Применение пробиотических препаратов ветом 1 и ветом 2 во всех изученных схемах оказывает незначительное влияние на гематологический статус гусей краснозерской породы. Отмечена тенденция к увеличению большинства гематологических показателей гусей опытных групп в сравнении с контролем в пределах физиологической нормы.

3. Пробиотические препараты ветом 1 и ветом 2 оказывают стимулирующие, модулирующие и нормализующие эффекты на биохимический статус гусей краснозерской породы в зависимости от исходного уровня показателей. Установлен стимулирующий эффект в отношении глюкозы, модулирующий в отношении конъюгированного билирубина и железа, нормализующий в отношении общего белка, АЛТ, хлоридов.

4. Влияние ветома 1 и ветома 2 характеризуется пролонгированным эффектом в отношении обменных процессов и биохимических показателей крови. Максимальный положительный эффект отмечается на 90-е сутки эксперимента.

5. Ветом1 повышает количество *B. subtilis* в пробах помёта гусей краснозерской породы на 30-е и 90-е сутки от начала эксперимента. Максимальный положительный эффект на 30-е сутки вызывает применение препарата в дозе 50 мг/кг массы при кормлении 1 раз в сутки в течение 30 суток; количество *B. subtilis* в этой группе выше, чем в контроле, в 4, 2 раза.

6. Ветом 2 вызывает увеличение количества *B. subtilis* в пробах помёта гусей краснозерской породы на 30-е и 90-е сутки от начала эксперимента. Максимальный эффект на 90-е сутки вызывает применение препарата в дозе 75 мг/кг массы при кормлении 1 раз в сутки, 15 применений, циклами по 5 суток с 5-суточными интервалами; количество *B. subtilis* в этой группе выше, чем в контроле, в 12 раз.

7. Установлено стимулирующее влияние препарата ветом 1 в дозе 50 мг/кг массы при кормлении 1 раз в день в течение 15 суток на живую массу гусей краснозерской породы на 45-е сутки от начала эксперимента; абсолютная живая масса у гусей данной группы была выше, чем у аналогов из контроля, на 1,94%.

8. Установлено стимулирующее влияние препарата ветом 2 в дозе 50 мг/кг массы при кормлении 1 раз в сутки в течение 30 суток; и в дозе 75 мг/кг массы при кормлении 1 раз в сутки, циклами по 5 суток с 5-суточными интервалами на живую массу гусей краснозерской породы на 45-е сутки от начала эксперимента; абсолютная живая масса у гусей данной группы была выше, чем у аналогов из контроля, на 1,3%.

9. Максимальную экономическую эффективность – 1 руб. 69 коп. на 1 руб. затрат отмечали при применении ветома 1 в дозе 50 мг/кг массы при кормлении 1

раз в сутки в течение 15 суток, что говорит об эффективности и целесообразности применения исследуемого препарата в гусеводстве.

Практические предложения:

1. С целью стимулирующего влияния на живую массу гусей рекомендовано применение пробиотического препарата ветом 1 в дозе 50 мг/кг массы при кормлении 1 раз в сутки в течение 15 суток.

2. С целью модулирующего эффекта на биохимический статус гусей рекомендовано применение пробиотического препарата ветом 2 в дозе 75 мг/кг массы при кормлении 1 раз в сутки, циклами по 5 суток с 5-суточными интервалами, всего 15 назначений.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

Публикации в изданиях, включённых в Перечень ВАК РФ

1. Новик Я.В. Влияние пробиотических препаратов на основе *Bacillus subtilis* на массу гусят / Новик Я.В., Ноздрин Г.А., Ноздрин А.Г. // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. 2022. Т. 208, № 2. С. 55-58.

2. Влияние микробиальных препаратов ветом 1 и ветом 20.76 на интенсивность роста гусей / Н.С. Яковлева, В. Стойковски, М.С. Яковлева, Е.Н. Барсукова, Я.В. Новик // Сибирский вестник сельскохозяйственной науки. 2021. Т. 51. № 2. С. 73-79.

3. Влияние применения гомо- и пробиотиков в сочетании с фторированными хинолонами на динамику показателей белкового обмена у гусей / А.С. Кочнева, Н.А. Готовчиков, Я.В. Новик, О.Н. Тишкова, И.К. Меньш // Вестник НГАУ (Новосибирский государственный аграрный университет). 2020. № 4 (57). С. 88-94.

4. Дозозависимый эффект воздействия пробиотического препарата Ветом 1 на кумулятивные показатели яичной продуктивности японского перепела / Г. А. Ноздрин, Л. П. Ермакова, С. Н. Тишков, А. Г. Ноздрин, Я. В. Новик // Вестник НГАУ (Новосибирский государственный аграрный университет). 2019. № 4. С. 65-72.

Публикации в изданиях, включённых в международные базы данных Scopus

5. Effects of a probiotic containing *Bacillus subtilis* on the gut microflora, yolk quality and blood lipid concentrations of laying Pharaoh quails / L. P. Ermakova, G. A. Nozdrin, S. N. Tishkov, Y. V. Novik, N. A. Gotovchikov, I. K. Mensh // Veterinarska stanica. 2021. – Vol. 52, № 3. P. 297-306.

6. Determining the acute toxicity of new preparation vetom 20.76 on geese and ducks / G.A. Nozdrin, Y.V. Novik, R.G. Utkina, A.A. Lelyak // Sarhad Journal of Agriculture. 2020. – Vol. 36. № 2. P. 470-477.

Статьи и тезисы докладов в других изданиях

7. Новик Я. В. Перспективы применения пробиотиков на основе *Bacillus subtilis* в птицеводстве // Роль аграрной науки в устойчивом развитии сельских

территорий: Сборник VI Всероссийской (национальной) научной конференции с международным участием. Новосибирск, 2021. С. 667-669.

8. Влияние пробиотического препарата ветом 1 на физиологическое состояние индеек / Г.А. Ноздрин, А.А. Леляк, Я.В. Новик, М.С. Яковлева, Ю.С. Лесничая // Теория и практика современной аграрной науки: Сборник национальной (Всероссийской) научной конференции / Новосибирский государственный аграрный университет. 2018. С. 422-424.

9. Влияние ветом 1 на интенсивность роста индеек / М.С. Яковлева, Ю.С. Лесничая, Н.С. Яковлева, Я.В. Новик // Роль аграрной науки в устойчивом развитии сельских территорий: Сборник III Всероссийской (национальной) научной конференции. 2018. С. 758-760.

10. Влияние пробиотического препарата ветом 20.76 на содержание гемоглобина в крови гусей / Г.А. Ноздрин, А.А. Леляк, М.С. Яковлева, Я.В. Новик // Роль аграрной науки в устойчивом развитии сельских территорий: Сборник III Всероссийской (национальной) научной конференции. 2018. С. 800-802.