

УДК 579.62

БИОПРЕПАРАТЫ МИКРОБНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ В ПТИЦЕВОДСТВЕ

*Н.В. Феоктистова¹, А.М. Марданова¹, М.Т. Лутфуллин¹,
Л.М. Богомольная², М.Р. Шарипова¹*

¹Казанский (Приволжский) федеральный университет, г. Казань, 420008, Россия

²Техасский университет A&M, г. Брайан, 77807, США

Аннотация

Работа посвящена описанию разработок биопрепаратов микробного происхождения – кормовых ферментов и ферментно-пробиотических комплексов для решения актуальных проблем промышленного птицеводства. Дана характеристика некрахмалистых полисахаридов (НПС) зерновых кормов, рассмотрены механизмы антипитательного действия НПС, препятствующие усвоению питательных веществ и энергии зерновых кормов, показано негативное влияние НПС на кишечную микрофлору. Рассмотрены механизмы позитивного действия экзогенных НПС-ферментов микробного происхождения на усвояемость кормов и микрофлору кишечника, показана целесообразность комплексных композиций, включающих НПС-ферменты, амилазы и протеазы. Описаны антипитательные свойства фитатов, содержащихся в кормах птицы, показана целесообразность применения фитаз микробного происхождения в качестве кормовых ферментов для птицеводства. Проанализирована перспективность ферментно-пробиотических комплексов в качестве альтернативы применения антибиотиков.

Ключевые слова: птицеводство, некрахмалистые полисахариды, фитаты, НПС-ферменты, протеазы, фитазы, пробиотики, микрофлора

Введение

Современное сельскохозяйственное производство становится высокотехнологичной и наукоемкой отраслью, основанной на инновационных разработках, базирующихся на фундаментальных исследованиях.

Особое внимание в России и за рубежом уделяют промышленному птицеводству: около 30% всего потребляемого человечеством мяса приходится на долю мяса птицы, а непрерывный рост населения планеты (к 2050 году оно возрастет в 1.3 раза и достигнет 9.8 млрд человек [1, 2]) обостряет проблему обеспечения населения высококачественными пищевыми ресурсами и стимулирует дальнейшее развитие птицеводческой отрасли.

Эффективность этой отрасли определяется многими факторами, но важнейшим является полноценное сбалансированное кормление и усвояемость кормов организмом птицы. Современные стратегии кормления птицы включают использование биологически активных соединений и препаратов, действие которых направлено на повышение доступности трудноусвояемых компонентов

кормов, коррекцию микробиоты кишечника, профилактику и лечение дисбактериозов и желудочно-кишечных заболеваний, оптимизацию функционирования пищеварительной системы птицы [3, 4]. Повышение требований к качеству и безопасности продуктов питания определяет поиск альтернативы применению антибиотиков в птицеводстве, что предполагает использование пробиотиков и пребиотиков, ферментов и органических кислот, антимикробных пептидов и бактериофагов и т. д. [5].

В настоящем обзоре в качестве путей для решения этих задач рассматриваются биологически активные препараты микробного происхождения – ферменты и ферментно-пробиотические комплексы.

Антипитательные свойства зернового сырья и кормовые ферменты

Основу комбикормов для птицы составляют семена зерновых и зернобобовых культур, являющиеся основными источниками питательных веществ и энергии. В мировой практике широкое применение нашли кукуруза и соя [6, 7], однако за рубежом и в нашей стране имеет место тенденция по замене этих культур местным кормовым сырьём: зерновыми (пшеница, рожь, тритикале, ячмень, овес, просо, сорго, пшеничные и рисовые отруби и др.), зернобобовыми (горох, люпин, вика и др.), масличными культурами (подсолнечник, рапс и др. в виде жмыхов и шротов) [6, 9]. В корма вводятся также побочные продукты переработки зерна – отходы мукомольной и спиртовой промышленности, в частности отруби и сухая послеспиртовая барда [6, 9, 10]. Зернобобовые рассматриваются в качестве альтернативного дорогостоящей рыбной и мясокостной муке источника растительного белка, при этом вместо дорогой сои используют горох, люпин, кормовые бобы и др. Ценными источниками растительного протеина являются продукты переработки (жмыхи и шроты) масличных культур [6, 8, 10, 11].

По усвояемости питательных веществ и энергии зерновые корма располагаются в последовательности: кукуруза, пшеница, ячмень, овес, сорго. Больше питательных веществ по сравнению с продуктами переработки подсолнечника и рапса усваивается из соевого шрота [8]. Оптимальным для рациона птицы считается соотношение: кукуруза – 35%, пшеница – 25%, ячмень – 15%, овес – 5%, зернобобовые – 16%, ингредиенты животного происхождения – до 2% [8, 10].

Однако зерновые корма, наряду с питательными и биологически активными соединениями, содержат антипитательные вещества: некрахмалистые полисахариды, фитаты, а для бобовых также характерны ингибиторы пищеварительных ферментов, гликозиды, алкалоиды, танины и др. Эти вещества ухудшают перевариваемость корма, снижают его конверсию, продуктивность птицы и качество продукции [6, 12–14].

Некрахмалистые полисахариды и ферменты их деградации

Некрахмалистые (или структурные, остовые) полисахариды (НПС) – целлюлоза, гемицеллюлозы (арабиноксиланы, β -глюканы, маннаны), пектиновые вещества – формируют клеточные стенки растений, в том числе и клеточные стенки семян, и представляют собой линейные (целлюлоза, β -глюканы, пектины) и разветвленные полимеры (арабиноксиланы, пектины, ксилоглюканы), образованные

Табл. 1

Состав некрахмалистых полисахаридов [6]

Полимеры	Мономеры
Целлюлоза	D-глюкоза
Арабиноксиланы	Ксилоза, арабиноза, метилглюкуроновая кислота
β -глюканы	D-глюкоза
Маннаны	D-глюкоза, D-манноза
Пектиновые вещества: гомогалактуронаны, ксилогалактуронаны, арабиногалактаны, арабинаны, рамногалактуронаны	D-галактуроносовая кислота (основной мономер), L-рамноза, D-ксилоза и др.
Ксилоглюканы	D-глюкоза, ксилоза, β -галактоза

моносахаридами (табл. 1), соединенными гликозидными связями. Строение семян зерновых и зернобобовых, химический состав и строение НПС, их содержание в семенах основных кормовых культур и различных тканях семян рассмотрены в обзорах [6, 7]. Целлюлоза является главным структурным компонентом клеточной стенки, в которой целлюлозные микрофибриллы, образующие сеть, погружены в матрикс из гемицеллюлоз, пектинов и лигнина. Целлюлоза и гетероксиланы (производные арабиноксилана) преобладают во внешних оболочках семян зерновых, в то время как клеточные стенки эндосперма зерновых, в котором сосредоточены запасные питательные вещества (большую часть составляет крахмалистый эндосперм, белки и липиды заключены в алейроновом слое эндосперма), состоят в основном из арабиноксиланов и β -глюканов. Что касается семян зернобобовых, их оболочки содержат целлюлозу, ксилоглюканы, пектиновые вещества; запасные вещества накапливаются в паренхимной ткани, и в ее клеточных стенках преобладают пектиновые вещества и ксилоглюканы. В целом в кормах для птицы на зерновые приходится большая часть НПС [6]. Существенной характеристикой полисахаридов клеточной стенки с точки зрения антипитательных свойств является их растворимость в воде, которой обладают β -глюканы и часть арабиноксиланов (табл. 2).

Содержание НПС в семенах основных кормовых культур показано в табл. 2. Высоким уровнем НПС характеризуется более дешевое кормовое сырье: пшеница, тритикале, рожь, ячмень, овес, просо, отруби, горох, люпин, рапсовый и подсолнечный шрот. Если рожь, тритикале и пшеница богаты арабиноксиланами (в том числе растворимыми), то ячмень и овес – β -глюканами. Зерно кукурузы отличается относительно низким количеством НПС и небольшой долей растворимых полисахаридов. Отруби зерновых являются концентрированными источниками целлюлозы, лигнина, нерастворимых арабиноксиланов, также возможно наличие β -глюканов [6].

Качественный и количественный состав НПС значительно варьирует у семян различных видов и сортов злаковых [16], бобовых и масличных культур [8], тканей зерна (зародыша, эндосперма, алейронового слоя, паренхимы, оболочек) [6], а также существенно отличается в зависимости от условий выращивания, климатических особенностей года, региона произрастания, времени хранения [16, 17].

Табл. 2

Содержание НПС в зерновом сырье, % от сухого вещества [6, 15]

Зерновое сырье	Всего НПС	Целлюлоза	β -глюканы	Арабиноксиланы	
				общие (АО)	растворимые, % от АО (максимальное значение)
Кукуруза	5.0–9.0	1.9–3.0	0.1–0.2	4.0–4.7	10.6
Пшеница	7.0–11.4	2.0–3.0	0.2–1.5	5.5–9.5	24.6
Рожь	11.0–14.7	1.6–2.7	0.5–3.0	7.5–9.5	33.6
Тритикале	9.0–13.1	2.3–3.0	0.2–2.0	5.4–8.5	28.2
Овес	15.0–26.0	8.0–12.3	2.8–6.6	5.5–9.7	5.1
Ячмень	13.0–18.6	4.2–9.3	1.5–10.7	5.7–8.4	14.2
Пшеничные отруби	22.0–36.4	9.0–13.6	2.4–3.2	15.0–25.0	7.3
Соевый шрот	9.0–12.0	3.4–9.9	–	3.0–4.5	21.1
Подсолнечный шрот	21.0–30.0	15.0–21.0	21.0–30.0	6.2–9.5	13.4
Рапс	15.0–22.0	7.2–11.9	0.4–1.6	5.5–8.7	22
Горох	17.4	5.3	–	–	–
Люпин	46.1	14.2	–	–	–
Кормовые бобы	19.0	8.1	–	–	–

В желудочно-кишечном тракте (ЖКТ) моногастричных животных, в том числе птицы, и особенно ее молодняка, эти полимеры плохо перевариваются в силу отсутствия в пищеварительных секретах ферментов, расщепляющих целлюлозу, арабиноксиланы, β -глюканы, пектины и др. [3, 12]. Однако частичная деградация целлюлозы и гемицеллюлоз осуществляется в слепых отростках кишечника птицы целлюлозолитическими бактериями рода *Clostridium* [18].

Обладая высокой способностью связывать воду, НПС в ЖКТ птицы образуют высоковязкие растворы, увеличивающие объем и массу химуса и замедляющие скорость его прохождения, проникновение ферментов и переваривание [6, 11, 12]. За образование вязких гелей ответственны растворимые полисахариды – арабиноксиланы и β -глюканы [6]. Неразрушенные полисахариды клеточных стенок семян, экранируя от ферментов пищеварительной системы (амилаз, протеаз, липаз) питательные вещества, снижают их усвояемость, способствуют накоплению в кишечнике непереваренных субстратов [19, 20]. В эндосперме зерновых барьером между ферментами и питательными субстратами служат преимущественно нерастворимые арабиноксиланы [6, 20].

Создаются условия для развития в кишечнике патогенной микрофлоры: «вязкие» зерновые усиливают риск возникновения некротического энтерита, поскольку увеличение вязкости и времени транзита химуса, а также наличие неусвоенных питательных веществ способствуют росту *Clostridium perfringens* в верхних отделах кишечника [21]; непереваренные белковые субстраты стимулируют рост протеолитических бактерий в слепых отростках, что отрицательно влияет на рост и здоровье птицы [3].

Вследствие сорбционных свойств НПС часть питательных веществ, не усваиваясь, проходит транзитом ЖКТ. Высокое содержание в кормах растворимых

Табл. 3

Кормовые НПС-ферменты, их субстраты и соответствующее кормовое сырье [11]

Фермент	Субстрат	Кормовое сырье
β -глюканазы	β - глюкан	Ячмень, овес, рожь
Ксиланазы	Арабиноксиланы	Пшеница, рожь, тритикале, компоненты с растительными волокнами
Целлюлазы Пектиназы β -маннаназы	Волокна клеточной стенки	Ингредиенты растительного происхождения, компоненты с растительными волокнами
α -галактозидазы	Олигосахариды	Соевая мука, зернобобовые
Протеазы	Белки	Все источники растительного белка
α -амилазы	Крахмал	Зерновые, зернобобовые

НПС отрицательно влияет на качество костной ткани цыплят, поскольку в кишечнике снижается уровень конъюгированных желчных кислот, что вызывает ухудшение усвояемости жирорастворимого витамина D и, соответственно, кальция и фосфора [22]. Деконъюгация желчных кислот является причиной увеличения содержания в тонком кишечнике вредных микроорганизмов [3].

Для противодействия негативным эффектам НПС использовали стратегию обогащения кормов экзогенными ферментами, восполняющими недостаточную или отсутствующую ферментативную активность пищеварительных секретов ЖКТ. Ксиланазы и β -глюканазы успешно применяли для повышения усвояемости «вязких» зерновых – пшеницы и ржи, характеризующихся высоким уровнем растворимых арабиноксиланов и β -глюканов [9].

Впоследствии кормовые ферменты получили широкое распространение, особенно в птицеводстве [11, 12]. В рацион птиц и других моногастричных животных включают гидролитические ферменты, расщепляющие НПС, – ксиланазы, целлюлазы, β -глюканазы, пектиназы, маннаназы и др. [11, 12], которые используются как индивидуально, так и в виде мультиэнзимных комплексов. Субстраты этих ферментов и соответствующее зерновое сырье представлены в табл. 3, некоторые коммерческие зарубежные и отечественные моно- и мультиферментные кормовые препараты для деструкции НПС приведены в табл. 4. На основе данных о свойствах (структурная организация, степень лигнификации и др.) и распределении НПС в клеточных стенках клеток различных тканей семян полагают, что наиболее доступными мишенями для экзогенных ферментов у зерновых являются арабиноксиланы и β -глюканы крахмалистого эндосперма и алевронового слоя, у зернобобовых и масличных – пектиновые вещества паренхимы [6].

Микроорганизмы-деструкторы целлюлозы, гемицеллюлоз, пектинов и других НПС широко распространены в природе и представлены микромицетами родов *Aspergillus*, *Trichoderma*, *Rhizopus*, *Fusarium* и др., бактериями – аэробными (родов *Bacillus*, *Erwinia*, *Cellulomonas* и др.) и анаэробными (*Clostridium* и др.) [23, 24]. В промышленных масштабах в качестве продуцентов кормовых НПС-ферментов нашли применение микромицеты родов *Trichoderma*, *Aspergillus*, *Penicillium*. Примеры практического применения микробных целлюлаз рассмотрены в обзоре [24].

Табл. 4

Некоторые коммерческие кормовые ферментные препараты для деструкции НПС [31]

Фермент(ы)	Продуцент(ы)	Препарат	Страна
Целлюлаза	<i>Aspergillus aculeatus</i>	Ронозим VP (СТ)	Biovet, Болгария
	<i>Trichoderma longibrachiatum</i>	Ксибетен-Целл	
	<i>T. reesei</i>	Целлюлаза	
Ксиланаза	<i>A. oryzae</i>	Ронозим WX (СТ)	Biovet, Болгария
	<i>T. longibrachiatum</i>	Ксибетен-Ксил	
	<i>T. longibrachiatum</i>	Хостазим X-50	
	<i>T. reesei</i>	Эконаза ХТ 25	
β-глюканаза	<i>T. longibrachiatum</i>	Хостазим C-100	
Целлюлаза Ксиланаза	<i>A. niger</i>	Натугрейн TS	
	<i>A. niger</i>	Эндифид	
	<i>P. funiculosum</i>	Ровабио Эксель AP	
	<i>T. longibrachiatum</i>	Агроцел	
Целлюлаза β-глюканаза Ксиланаза	<i>T. longibrachiatum</i>	Роксазим G2G	Белоруссия
	<i>T. longibrachiatum</i>	Вилзим	
	<i>T. reesei</i> и <i>A. niger</i>	Фекорд-2004-С гр2	
	<i>T. reesei</i> и <i>A. niger</i>	Санзайм	
	<i>T. viride</i>	Целлолюкс F	
Целлюлаза Протеаза	<i>T. longibrachiatum</i>	Олзайм Вегпро	
Целлюлаза β-глюканаза Ксиланаза Амилаза Протеаза		МЭК-СХ-1 (Патент Россия. 1997. № 2080386)	Россия
Ксиланаза Амилаза Протеаза	<i>T. reesei</i> <i>Bacillus licheniformis</i> <i>Bacillus subtilis</i>	Axtra XAP (Romero et al., 2014)	Великобритания

Гидролиз НПС, осуществляемый в ЖКТ птицы под действием экзогенных ферментов, ведет к снижению вязкости химуса, разрушению клеточных стенок, что улучшает доступность питательных субстратов для ферментов пищеварительных секретов ЖКТ [3, 19, 20, 25]. На фоне приема НПС-фермента у бройлеров наблюдается существенное возрастание каталитической активности и уровня экспрессии мРНК эндогенных ферментов – панкреатических липазы, амилазы и протеазы, что положительно влияет на процесс пищеварения [26]. Повышение уровня усвоенных питательных веществ в кишечнике отражается на его морфологии (существенно возрастает высота ворсинок эпителиальных клеток), что сопровождается усилением адсорбции питательных веществ и ростом концентрации глюкозы, триглицеридов и свободных аминокислот в плазме крови [20].

Экзогенные НПС-ферменты играют важную роль в модулировании кишечной микрофлоры. Снижение вязкости химуса, обусловленное ферментативным гидролизом НПС, приводит к сокращению численности *Clostridium perfringens*, вызывающей у бройлеров некротический энтерит [3, 21, 27].

Кроме того, НПС-ферменты оказывают пребиотический эффект, гидролизуя высокомолекулярные полимеры клеточных стенок до олигосахаридов, которые способствуют росту нормальной микрофлоры в кишечнике [3, 20, 28]. В частности, арабиноксилоолигосахариды (АКОС), образуемые под действием ксиланаз, стимулируют рост бифидобактерий. В свою очередь, нормальная микрофлора кишечника осуществляет ряд важных функций, в том числе пищеварительную и иммунную [4]. Вместе с тем на фоне приема ксиланаз снижается количество патогенных бактерий рода *Salmonella* [29].

Данные о модулировании микробиоты кишечника посредством экзогенных НПС-ферментов позволяют рассматривать эти биопрепараты в качестве перспективной альтернативы таким стимуляторам роста, как кормовые антибиотики [3].

Олигосахариды метаболизируются бактериями в слепых отростках с образованием коротко-цепочечных жирных кислот, которые служат дополнительным источником энергии для организма птицы, что повышает энергетическую ценность зерновых кормов [3, 9]. Для более полного представления об эффективности НПС-ферментов требуются дальнейшие исследования их взаимодействия с ингредиентами кормов и микробной популяцией кишечника, а также вклада в энергетический обмен [9].

При использовании в промышленном птицеводстве ферментов, атакующих НПС, достигается ряд положительных эффектов: улучшается перевариваемость рациона и обмен веществ в организме птицы, возрастает конверсия корма, повышается скорость роста бройлеров, поголовье выравнивается по живой массе и продуктивности, снижаются затраты кормов на единицу продукции [3, 11, 12, 26,]. Результативность применения кормовых НПС-ферментов определяется их свойствами: высокой термостабильностью, позволяющей выдерживать нагревание до 80–85 °С при грануляции кормов; устойчивостью к действию протеаз ЖКТ птицы; сохранением активности в диапазоне значений pH, встречающихся в различных отделах ЖКТ, и при температуре тела птицы; субстратной специфичностью и соответствием профилю НПС зерновых кормов [11, 30]. Для оценки и сравнения эффективности различных ферментных препаратов необходима их проверка на каждом виде птицы [30]. Следует учитывать, что ферментные препараты для кормопроизводства производят многие зарубежные и российские компании, однако единых методов анализа активности этих препаратов нет, что создает трудности в их оценке. В этой связи актуальны исследования по разработке унифицированных методов измерения активности ферментов.

Вариабельность ответа на кормовые НПС-ферменты может быть обусловлена возрастом птицы, качеством кормов, условиями содержания и другими факторами [3, 11, 12].

В мультиэнзимные комплексы на основе НПС-ферментов вводят микробные амилазы и протеазы (табл. 4), которые дополняют действие аналогичных эндогенных ферментов ЖКТ птицы и усиливают пищеварительную функцию. Источниками этих ферментов, как правило, служат *B. amyloliquefaciens*, *B. licheniformis*, *B. subtilis* [32].

Способствуя усвоению крахмала, экзогенные амилазы высвобождают дополнительную энергию для роста птицы, экзогенные протеазы улучшают перевариваемость белка и аминокислот, увеличивают скорость роста бройлеров, а также

положительно влияют на усвояемость крахмала, повышая его ферментативную доступность [26, 33, 34, 35]. Обеспечивая более полную усвояемость белковой фракции зерен, экзогенные протеазы служат профилактическим средством, так как возрастание количества неусвоенных белковых субстратов в ЖКТ является предрасполагающим фактором для развития патогенной и условно-патогенной микрофлоры, возникновения дисбактериоза и некротического энтерита [34]. Деструкция экзогенными протеазами ингибиторов пищеварительных ферментов также вносит позитивный вклад в пищеварение. Однако высокие дозы протеазы, применяемой самостоятельно или в сочетании с НПС-ферментом, приводят к снижению активности панкреатического трипсина и уровня экспрессии мРНК этого фермента [26, 34]. Тем не менее скорость роста бройлеров возрастает на фоне высоких дозировок протеазы [34].

Сочетание карбогидраз и протеаз является биологически эффективным: показана аддитивность действия ксиланаз, амилаз и протеаз в кормлении бройлеров [36, 37]. Эта композиция ферментов позволяет значительно повысить усвояемость крахмала, жиров, белков и доступность энергии кормов с высоким содержанием НПС [9, 36]. Комплексный препарат из нескольких НПС-ферментов (ксиланазы, глюканазы, пектиназы, галактозидазы) и протеазы позволяет вводить высокие дозы люпина в корма бройлеров [38]. Введение в рацион кур-несушек мультиферментного комплекса (бетаклюканаза/пектиназа/протеаза) приводило к увеличению веса тела птиц, повышению массы яиц и образованию более темного желтка, а также положительно влияло в целом на органы пищеварения [39].

Таким образом, при использовании мультиэнзимных комплексов возможен синергический эффект: каждый из ферментов, гидролизуя свой специфический субстрат, повышает доступность питательных веществ для других экзогенных и эндогенных ферментов [11, 37, 40].

Фитаты и ферменты их гидролиза – фитазы

Еще одной группой соединений, обуславливающих значительное снижение питательной ценности кормов, являются фитаты.

Фитаты служат запасным соединением фосфора в семенах высших растений и представляют собой соли фитиновой, или *мио*-инозитгексакисфосфорной, кислоты IP₆, являющейся производным шестиатомного спирта *мио*-инозитола, по гидроксильным радикалам которого связаны остатки шести молекул фосфорной кислоты (рис. 1) [13]. Благодаря наличию этих остатков фитаты приобретают свойства сильно хелатирующего полианионного агента, который в семенах растений связывается с катионами металлов (Ca^{2+} , Na^{+} , Mg^{2+} , Fe^{2+} , Fe^{3+} , Zn^{2+} , Mn^{2+} , Cu^{2+} и др.), а также с белками, аминокислотами, углеводами, липидами, образуя нерастворимые комплексы, не метаболизируемые в организме моногастричных животных [41, 42].

Отметим, что в семенах кормовых культур значительная доля общего фосфора (44–73%) содержится в виде фитатов (табл. 5), а их распределение варьирует в зависимости от вида растений: у зерновых большая часть этих соединений содержится в алейроновом слое и оболочках, у масличных и зернобобовых фитаты распространены по всему зерну [43].

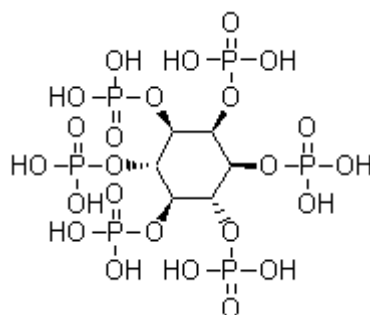


Рис. 1. Структура фитиновой кислоты **IP6** [13]

Табл. 5

Содержание фитатов, общего и фитинового фосфора в зерновом сырье, % от сухого вещества [15, 52]

Зерновое сырье	Фитаты	Общий фосфор (ОФ)	Фитиновый фосфор (ФФ)	ФФ/ОФ, %
Кукуруза	68–83	2.8	1.9	68
Пшеница	67–73	3.3	2.2	67
Рожь	60–70	3.0	1.9	63
Овес	59–62	3.6	2.1	59
Ячмень	53–60	3.2	2.0	62
Сорго	–	3.0	2.2	73
Соя	54–60	6.5	3.8	58
Горох	–	3.8	1.7	45
Люпин	–	2.5	0.5	20
Рапс	36–82	9.6	6.3	65
Подсолнечный шрот	44–56	10	4.4	44
Пшеничные отруби	60–75	11	8.4	76

В прорастающих семенах эндогенные фитазы (ферменты фосфогидролитического типа действия) осуществляют ступенчатый гидролиз фитатов с последовательным отщеплением фосфат-ионов, при этом образуются фосфорилированные производные *мио*-инозитола от IP5 до IP2, высвобождаются неорганический фосфат, катионы металлов и питательные вещества, вовлекаемые в обмен веществ [44].

Структуры фитиновой кислоты и фитатов, а также каталитические, физико-химические свойства, третичная структура, классификация фитаз и их распространение в растениях и среди микроорганизмов различных таксонов рассмотрены в обзорах [42, 44]. В природных условиях фитазы, продуцируемые почвенными микроорганизмами, катализируют расщепление фитатов, являющихся основной формой органического фосфора почвы [44].

Вследствие низкой фитазной активности в секретах пищеварительного тракта птицы и другие моногастричные животные (свиньи, рыбы) практически лишены механизмов усвоения фитатного фосфора и связанных с фитатами веществ, которые транзитом проходят ЖКТ, что и обуславливает антипитательные свойства обогащенных фосфором фитатов [13, 45, 46]. Легко усвояемые органические (рыбная и мясная мука) и неорганические (моно-, ди-, трикальций фосфаты)

Табл. 6

Некоторые коммерческие кормовые ферментные препараты с фитазной активностью [13]

Фермент(ы)	Источник фермента	Экспрессия	Препарат(ы)
Фитаза	<i>Aspergillus niger</i>	<i>A. niger</i> <i>A. niger</i> <i>T. reesei</i>	Натуфос Оллзайм SSF Финаза P/L
Фитаза	<i>Escherichia coli</i>	<i>Schizosaccharomyces pombe</i> <i>Pichia pastoris</i>	Файзим XP Оптифос
Фитаза	<i>Peniophora lucii</i>	<i>Aspergillus oryzae</i>	Ронозим
Фитаза	<i>Citrobacter braakii</i>	<i>Aspergillus oryzae</i>	Ронозим Гифос
Фитаза	<i>Buttiauxella spp.</i>	<i>Trichoderma reesei</i>	Акстра РНУ
Целлюлаза β-глюканаза Ксиланаза Амилаза Фитаза	<i>T. reesei</i> и <i>A. niger</i>	–	Фекорд-2012-Ф гр1 (Крюков, 2016)

источники фосфора, добавляемые в комбикорма, имеют и нежелательные характеристики: существенно повышают стоимость кормов, усиливают выделение фосфора в окружающую среду, и, кроме того, потребление фосфатсодержащих минералов приводит к истощению их ограниченных природных запасов [3, 47].

Практические аспекты катализируемой фитазами реакции с высвобождением фитинового фосфора были оценены еще в 60-е годы XX в., когда фитазы рассматривались как средство повышения доступности для сельскохозяйственных животных органического фосфора зерновых кормов, что могло бы составить альтернативу минеральным источникам фосфора, вносимым в корма. Однако первый коммерчески доступный препарат «Натуфос» на основе фитазы *Aspergillus niger* появился только в 1991 г. [47].

В настоящее время микробные фитазы занимают 60% рынка кормовых ферментов и находят широкое применение в птицеводстве [3, 11]. Источником коммерческих препаратов являются кислые гистидиновые фитазы микромицетов (первое поколение фитаз) и бактерий (новое поколение фитаз), а экспрессию ферментов осуществляют в микромицетах и дрожжах (табл. 6). Некоторые аспекты технологии получения микробных фитаз рассмотрены в работе [47]. В отечественных разработках кормовых препаратов используются фитазы *Penicillium canescens* [48], *Obesumbacterium proteus* [49], *Citrobacter freundii* [50].

Как кормовые добавки перспективны щелочные β-пропеллерные фитазы бактерий рода *Bacillus* [51]. Эти ферменты отличаются повышенной термостабильностью, стабильностью в широком диапазоне pH (от 3.0 до 9.0), устойчивостью к действию протеолитических ферментов ЖКТ, высоким сродством к ионам кальция, которые участвуют в стабилизации молекулы фермента и формировании ее активного центра [42]. Такая комбинация свойств делает бациллярные фитазы пригодными к функционированию в пищеварительном тракте птицы, а также обуславливает целесообразность применения этих ферментов в богатых кальцием рационах кур-несушек [47]. Нами выделена и охарактеризована β-пропеллерная фитаза *Bacillus ginsengihumi*: фермент имеет оптимум

pH 6.0, стабилен в интервале pH от 5.0 до 9.0, температурный оптимум соответствует 37 °C, белок стабилен при температуре 4–60 °C и сохраняет 50% активности после 40 мин прогрева при 70 °C [52]. По отношению к кислотности среды фитаза *B. ginsengihumi* соответствует условиям, характерным для зоба и тонкого кишечника кур [13], а по термостабильности – условиям производства гранулированных кормов (65–80 °C) [47].

В целом фитазы бактериального происхождения более эффективны вследствие специфичного сродства к IP6 и IP5 и более высокой устойчивости, по сравнению с грибными фитазами, к протеазам ЖКТ [13]. В пищеварительном тракте птицы под действием микробных фитаз от фитиновой кислоты отщепляется 2 или 3 фосфат-иона с образованием IP4 и IP3 [11]. В зависимости от состава кормов и дозы экзогенных фитаз усвояемость фосфора бройлерами возрастает в пределах 7–21% [53].

Трофическая функция экзогенных фитаз не ограничивается фосфорным питанием. Эти ферменты улучшают усвоение бройлерами аминокислот и энергии, что сопровождается возрастанием конверсии корма и прироста живой массы бройлеров [54]. Повышается усвояемость кальция, железа, цинка, марганца [55]. Увеличение доступности фосфора и кальция зерновых кормов позволяет снизить нормы ввода этих элементов в корма, что способствует удешевлению рациона, а также сохранению ограниченных природных запасов фосфатсодержащих минералов [45]. Комбинация фитаз с другими экзогенными ферментами в рационе бройлеров обеспечивает улучшение перевариваемости питательных субстратов и повышение продуктивности [56]. Так, комбинация фитазы с разными карбогидразами повышает усвояемость аминокислот, а также минерализацию костей у бройлеров [57]. Кроме того, экзогенные фитазы способствуют нормализации кишечной микрофлоры [58, 59].

Различные факторы могут влиять на эффективность фитазы при добавлении в корма в желудочно-кишечном тракте, и их можно разделить на три основные группы: (1) связанные с фитазой; (2) связанные с питанием и (3) связанные с животными. Факторы, связанные с фитазой, включают тип фитазы (например, 3- или 6-фитаза, происхождение фермента – бактериальная или грибная фитазы), оптимальный pH и устойчивость фитазы к эндогенной протеазе. Факторы, связанные с питанием, в основном связаны с содержанием фитата, составом кормовых компонентов и обработкой корма, общим содержанием P, Ca и Na. К факторам, связанным с животными, относят возраст птицы. Чтобы устранить антипитательные эффекты фитата (IP6), его необходимо как можно быстрее гидролизовать фитазой в верхней части пищеварительного тракта [15]. Идеально фитаза работает в широком диапазоне значений pH и активна в желудке и верхнем отделе кишечника (наряду с несколькими другими характеристиками и в дополнение к эндогенным ферментам) [15]. По-видимому, одним из вариантов реализации концепции идеальной фитазы является композиция двух и более ферментов с разными свойствами, в частности, рациональным представляется сочетание кислых гистидиновых и щелочных β -пропеллерных фитаз. В связи с вопросом о функциональности различных фитаз разного происхождения указывается на необходимость изменения подходов к тестированию активности

коммерческих препаратов фитаз с учетом условий, с которыми ферменты встречаются *in vivo* [11, 13].

Оценивали эффекты кормления кур-несушек трансгенной кукурузой с геном микробной фитазы (*Aspergillus niger*) на массу тела, биохимические параметры сыворотки и усвояемость питательных веществ. В эксперименте наблюдали 144 пятидесятидневных кур-несушек. Кормление кур-несушек трансгенной кукурузой не оказывало отрицательного влияния на биохимические показатели организма или сывороточные биохимические параметры. Трансгенный ген *phyA2* не был обнаружен в грудной мышце, мышцах ног, яичнике, яйцеводстве и яйцах. Переваримость фосфора у кур, получавших диету на основе трансгенной кукурузы, была больше, чем у кур, которых кормили на основе стандартной диеты. Исходя из этих результатов был сделан вывод о том, что трансгенная фитаза не оказывала вредного воздействия на вес тела или биохимические показатели сыворотки кур-несушек. Рекомбинантный ген *phyA2* не был обнаружен в мышечных тканях и репродуктивных органах кур-несушек. Новая растительная фитаза была эффективной в улучшении усвояемости фосфора кур-несушек [60].

Кормовые фитазы можно рассматривать как необходимый компонент природоохранных биотехнологий. Птицеводческая отрасль, как и животноводство в целом является источником глобальных экологических проблем: эмиссия парниковых газов из навоза в атмосферу вносит вклад в глобальное потепление; загрязнение неусвоенными соединениями азота и фосфора водных и почвенных экосистем приводит к их эвтрофикации и закислению [7, 61, 62].

Крупномасштабные комплексные исследования промышленного птицеводства в различных регионах планеты – в Европе, Северной и Южной Америке – показали, что введение в рацион бройлеров фитазы и лимитирующих аминокислот (метионина, лизина, треонина) приводит к уменьшению экскреции неусвоенных соединений азота и фосфора за счет повышения как усвояемости фитатного фосфора, так и перевариваемости белка зерновых кормов. Как следствие, значительно снижается экологический ущерб: сокращается эмиссия парниковых газов, ограничиваются процессы эвтрофикации и закисления [7].

Таким образом, стратегия обогащения кормов экзогенными микробными ферментами, которые осуществляют деструкцию антипитательных факторов и повышают усвояемость питательных веществ и энергию зерновых кормов, дает ожидаемый результат. Однако возможна альтернатива для доставки в организм животного необходимых ферментов: в качестве кормовой добавки используют бактерии, способные синтезировать внеклеточные ферменты непосредственно в пищеварительном тракте организма-хозяина. Эта стратегия легла в основу создания ферментно-пробиотических комплексов.

Ферментно-пробиотические комплексы

Как было показано выше, кормовые ферменты принимают непосредственное участие в процессе пищеварения птицы: их основной мишенью являются трудно перевариваемые и неусвояемые субстраты зерновых кормов. Позитивное действие экзогенных ферментов на кишечную микробиоту можно рассматривать как вторичный эффект, обусловленный деструкцией антипитательных

соединений, более полным расщеплением питательных веществ и образованием олигосахаридов с пребиотическим действием.

Пробиотики, представляющие живые культуры микроорганизмов, посредством коррекции микробного кишечного баланса оптимизируют функционирование пищеварительного тракта и других систем (иммунной, гормональной) и обеспечивают поддержание здоровья организма-хозяина [4]. В настоящее время пробиотики позиционируются как неотъемлемый компонент фармакологического обеспечения промышленного птицеводства и стимулятор роста, альтернативный кормовым антибиотикам и предназначенный для профилактики и лечения широко распространенных дисбактериозов и желудочно-кишечных заболеваний птицы [63]. В этой связи особый интерес представляют споровые пробиотики на основе бактерий рода *Bacillus*. Характеристика и преимущества этих биопрепаратов, механизмы пробиотического действия, данные о применении в промышленном птицеводстве рассмотрены в обзорах [64, 65] и монографиях [17, 66]. Введение в рацион цыплят-бройлеров кормовой добавки, содержащей споры трех штаммов *Bacillus amyloliquefaciens* и ферментную смесь из эндосиланазы, альфа-амилазы и сериновой протеазы, оказывало положительное влияние на микробиоту желудочно-кишечного тракта. В частности, отмечалось повышение количества молочно-кислых бактерий и снижение концентрации *Clostridium perfringens* до уровней, сходных с использованием антибиотиков [67]. Полученные данные демонстрируют, что совместное введение пробиотиков и ферментов может быть важным шагом для производства мяса птицы без использования антибиотиков.

Однако бактерии рода *Bacillus*, являющиеся продуцентами широкого спектра внеклеточных гидролитических ферментов (протеаз, амилаз, пектиназ, целлюлаз, липаз, фитаз), могут явиться основой для создания препаратов, объединяющих функции пробиотика и кормового фермента [64, 68]. Так, препарат Бацелл сочетает в себе свойства пробиотика и мощного кормового фермента с высокой целлюлазной активностью, способствующей усвоению зерновых, отрубей и подсолнечного шрота [69]. Высокой целлюлазной активностью, наряду с повышенной термостабильностью, характеризуется выделенный из рубца лося штамм *B. pantothenicus* 1-85, составивший основу Целлобактерина Т [70]. Доставку фитазы в организм птицы обеспечивает пробиотик из композиции штаммов *B. subtilis*, синтезирующих этот фермент [51]. Штаммы *B. subtilis* и *B. amyloliquefaciens*, образующие фитазу, целлюлазу, ксиланзу, β -глюканызы и амилазы, исследуются в качестве основы препаратов, нацеленных на снижение вязкости химуса в ЖКТ птиц и подавление роста *Clostridium perfringens* [26, 71].

Для получения оптимальных эффектов необходим правильный выбор пробиотических штаммов, а также различных комбинаций ферментов, которые важны для улучшения питания и охраны здоровья домашней птицы. Необходимы дальнейшие исследования в этом направлении для расширения арсенала биологически активных препаратов на основе бактерий и их ферментов.

Заключение

Промышленное птицеводство является самым крупным потребителем кормовых ферментов, которые за последнюю четверть века зарекомендовали себя

в качестве инструмента, повышающего эффективность усвоения питательных веществ и энергии [11, 47].

Стимулами к дальнейшему развитию индустрии кормовых ферментов являются: 1) запрет в странах ЕС кормовых антибиотиков, что обостряет проблемы обеспечения здоровья кишечника и организма животного в целом. Экзогенные ферменты, позитивно влияющие на микробиоту кишечника, входят наряду с пробиотиками в арсенал биопрепаратов – стимуляторов роста; 2) актуальность экологических проблем, в частности, необходимость сокращения выбросов в окружающую среду неусвоенных соединений углерода, азота и фосфора; 3) расширение кормовой базы за счет нетрадиционных трудноусвояемых компонентов; 4) расширение спектра применения, например включение в корма для рыб и жвачных животных [11].

Микробные биотехнологии в сочетании с достижениями генетической и белковой инженерии открывают широкие возможности для создания целевых биологически активных препаратов, обеспечивающих решение насущных практических задач. Микроорганизмы различных таксонов – микромицеты, дрожжи, бактерии – задействованы в качестве источников эффективных кормовых добавок для промышленного птицеводства: ферментов, пробиотиков, ферментно-пробиотических комплексов. Эти препараты нацелены на достижение оптимальной структуры и функции микробиоты пищеварительного тракта посредством правильного кормления, что способствует полной реализации потенциала роста высокопродуктивными породами при сохранении здоровья птицы, получению высококачественной продукции, а также повышению экономической эффективности производства при одновременном снижении экологических рисков.

Благодарности. Работа выполнена за счет средств субсидии, выделенной в рамках государственной поддержки Казанского (Приволжского) федерального университета в целях повышения его конкурентоспособности среди ведущих мировых научно-образовательных центров, а также при поддержке Российского научного фонда (проект № 16-16-04062).

Литература

1. FAO (Food and Agriculture Organization). 2014. FAOSTAT online database. – URL: <http://faostat.fao.org/>.
2. Godfray H.C.J., Beddington J.R., Crute I.R., Haddad L., Lawrence D., Muir J.F., Pretty J., Robinson S., Thomas S.M., Toulmin C. Food security: The challenge of feeding 9 billion people // *Science*. – 2010. – V. 327. – P. 812–818. – doi: 10.1126/science.1185383.
3. Kiarie E., Romero L.F., Nyachoti C.M. The role of added feed enzymes in promoting gut health in swine and poultry // *Nutr. Res. Rev.* – 2013. – V. 26, No 1. – P. 71–88. – doi: 10.1017/S0954422413000048.
4. Park Y.H., Hamidon F., Rajangan Ch., Soh K.P., Gan Ch.Yu., Lim Th.S., Abdullah W.N.W., Liong M.T. Application of probiotics for the production of safe and high-quality poultry meat // *Korean J. Food Sci. Anim. Resour.* – 2016. – V. 36, No 5. – P. 567–576. – doi: 10.5851/kosfa.2016.36.5.567.
5. Gadde U., Kim W.H., Oh S.T., Lillehoj H.S. Alternatives to antibiotics for maximizing growth performance and feed efficiency in poultry: A review // *Anim. Health Res. Rev.* – 2017. – V. 18, No 1. – P. 26–45. – doi: 10.1017/S1466252316000207.

6. *Knudsen K.E.* Fiber and nonstarch polysaccharide content and variation in common crops used in broiler diets // *Poult. Sci.* – 2014. – V. 93, No 9. – P. 2380–2393. – doi: 10.3382/ps.2014-03902.
7. *Kebreab E., Liedke A., Caro D., Deimling S., Binder M., Finkbeiner M.* Environmental impact of using specialty feed ingredients in swine and poultry production: A life cycle assessment // *J. Anim. Sci.* – 2016. – V. 94, No 6. – P. 2664–2681. – doi: 10.2527/jas.2015-9036.
8. *Фисинин В.И., Егоров И.А.* Современные подходы к кормлению высокопродуктивной птицы // *Птица и птицепродукты.* – 2015. – № 3. – С. 27–29.
9. *Romero L.F., Sands J.S., Indrakumar S.E., Plumstead P.W., Dalsgaard S., Ravindran V.* Contribution of protein, starch, and fat to the apparent ileal digestible energy of corn- and wheat-based broiler diets in response to exogenous xylanase and amylase without or with protease // *Poult. Sci.* – 2014. – V. 93, No 10. – P. 2501–2513. – doi: 10.3382/ps.2013-03789.
10. *Фисинин В.И., Егоров И.А., Ленкова Т.Н.* Использование нетрадиционных кормов в рационе птицы // *Птица и птицепродукты.* – 2016. – № 4. – С. 14–17.
11. *Ravindran V., Son J.-H.* Feed enzyme technology: Present status and future developments // *Recent Pat. Food Nutr. Agric.* – 2011. – V. 3, No 2. – P. 102–109.
12. *Adeola O., Cowieson A.J.* Board-invited review: Opportunities and challenges in using exogenous enzymes to improve non-ruminant animal production // *J. Anim. Sci.* – 2011. – V. 89, No 10. – P. 3189–3218. – doi: 10.2527/jas.2010-3715.
13. *Dersjant-Li Y., Awati A., Schulze H., Partridge G.* Phytase in non-ruminant animal nutrition: A critical review on phytase activities in the gastrointestinal tract and influencing factors // *J. Sci. Food Agric.* – 2015. – V. 95, No 5. – P. 878–896. – doi: 10.1002/jsfa.6998.
14. *Diaz D. M., Morlacchini F., Masoero M., Moschini G., Fusconi G.* Pea seeds (*Pisum sativum*), faba beans (*Vicia faba* var. *minor*) and lupin seeds (*Lupinus albus* var. *multitalia*) as protein sources in broiler diets: effect of extrusion on growth performance // *Ital. J. Anim. Sci.* – 2006. – V. 5. – P. 43–53.
15. *Кундышев П., Ландшафт М., Кузнецов А.* Способы повышения эффективности птицеводства // *Птицеводство.* – 2013. – Т. 6. – С. 19–22.
16. *Shewry P.R., Hawkesford M.J., Piironen V., Lampi A.M., Gebruers K., Boros D., Andersson A.A., Aman P., Rakszegi M., Bedo Z., Ward J.L.* Natural variation in grain composition of wheat and related cereals // *J. Agric. Food Chem.* – 2013. – V. 61, No 35. – P. 8295–8303. – doi: 10.1021/jf3054092.
17. *Dornez E., Gebruers K.I., Joye J.B., Ketelaere De.J., Lenartz C., Massau B., Bodson J., Delcour A.C., Courtin M.* Effects of genotype, harvest year and genotype-by-harvest year interactions on arabinoxylan, endoxylanase activity and endoxylanase inhibitor levels in wheat kernels // *J. Cereal Sci.* – 2008. – V. 47, No 2. – P. 180–189. – doi: 10.1016/j.jcs.2007.03.008.
18. *Каблучеева-Пашиник Т.И., Коцаев А.Г.* Фармакологическое обоснование применения пробиотиков в птицеводстве. – Краснодар: Изд-во КубГАУ, 2016. – 270 с.
19. *O'Neill H.V.M., Smith J.A., Bedford M.R.* Multicarbohydrase enzymes for non-ruminants // *Asian-Australas. J. Anim. Sci.* – 2014. – V. 27, No 2. – P. 290–301. – doi: 10.5713/ajas.2013.13261.
20. *Khadem A., Lourenzo M., Delezie E., Maertens L., Goderis A., Mombaerts R., Höfte M., Eeckhaut V., Van Immerseel F., Janssens G.P.* Does release of encapsulated nutrients have an important role in the efficacy of xylanase in broilers? // *Poult. Sci.* – 2016. – V. 95, No 5. – P. 1066–1076. – doi: 10.3382/ps/pew002.

21. *Timbermont L., Haesebrouck F., Ducatelle R., Van Immerseel F.* Necrotic enteritis in broilers: An updated review on the pathogenesis // *Avian Pathol.* – 2011. – V. 40, No 4. – P. 341–347. – doi: 10.1080/03079457.2011.590967.
22. *Bielke L.R., Hargis B.M., Latorre J.D.* Impact of enteric health and mucosal permeability on skeletal health and lameness in poultry // *Adv. Exp. Med. Biol.* – 2017. – V. 1033. – P. 185–197. – doi: 10.1007/978-3-319-66653-2_9.
23. *Lynd L.R., Weimer P.J., van Zyl W.H., Pretorius I.S.* Microbial cellulose utilization: Fundamentals and biotechnology // *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* – 2002. – V. 66, No 3. – P. 506–577.
24. *Sharma A., Tewari R., Rana S.S., Soni R., Soni S.K.* Cellulases: Classification, methods of determination and industrial applications // *Appl. Biochem. Biotechnol.* – 2016. – V. 179, No 8. – P. 1346–1380. – doi: 10.1007/s12010-016-2070-3.
25. *Kölln M., Weiß H., Hankel J., Kamphues J.* Effects of a carbohydrase complex added in different inclusion rates in feeds for broilers on growth performance, digesta viscosity and foot pad health // *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr. (Berlin)*. – 2017. – V. 101, Suppl. 1. – P. 105–109. – doi: 10.1111/jpn.12701.
26. *Yuan L., Wang M., Zhang X., Wang Z.* Effects of protease and non-starch polysaccharide enzyme on performance, digestive function, activity and gene expression of endogenous enzyme of broilers // *PloS One*. – 2017. – V. 12, No 3. – Art. e0173941, P. 1–13. – doi: 10.1371/journal.pone.0173941.
27. *Latorre J.D., Hernandez-Velasco X., Kutappan V.A., Wolfenden R.E., Vicente J.L., Wolfenden A.D., Bielke L.R., Prado-Rebolledo O.F., Morales E., Hargis B.M., Tellez G.* Selection of *Bacillus spp.* for cellulase and xylanase production as direct-fed microbials to reduce digesta viscosity and *Clostridium perfringens* proliferation using an in vitro digestive model in different poultry diets // *Front Vet. Sci.* – 2015. – V. 2. – Art. 25, P. 1–8. – doi: 10.3389/fvets.2015.00025.
28. *Bedford M.R., Cowieson A.J.* Exogenous enzymes and their effects on intestinal microbiology // *Anim. Feed Sci. Technol.* – 2012. – V. 173, No 1–2. – P. 76–85. – doi: 10.1016/j.anifeeds.2011.12.018.
29. *Amerah A.M., Mathis G., Hofacre C.L.* Effect of xylanase and a blend of essential oils on performance and *Salmonella* colonization of broiler chickens challenged with *Salmonella* Heidelberg // *Poult. Sci.* – 2012. – V. 91, No 4. – P. 943–947. – doi: 10.3382/ps.2011-01922.
30. *Шастак Е.В.* Активность НПС-ферментов in vitro не гарантирует их эффективность in vivo // *Птицеводство*. – 2016. – № 10. – С. 10–14.
31. *Крюков В.С.* Оценка качества кормовых ферментных препаратов // *Птицеводство*. – 2016. – № 10. – С. 2–7.
32. *Contesini F.J., Melo R.R., Sato H.H.* An overview of *Bacillus* proteases: From production to application // *Crit. Rev. Biotechnol.* – 2018. – V. 38, No 3. – P. 321–334. – doi: 10.1080/07388551.2017.1354354.
33. *Kaczmarek S.A., Rogiewicz A., Mogielnicka M., Rutkowski A., Jones R.O., Slominski B.A.* The effect of protease, amylase, and nonstarch polysaccharide-degrading enzyme supplementation on nutrient utilization and growth performance of broiler chickens fed corn-soybean meal-based diets // *Poult. Sci.* – 2014. – V. 93, No 7. – P. 1745–1753. – doi: 10.3382/ps.2013-03739.
34. *Yuan L., Wang S.Q., Wang Z.X., Zhu H., Huang K.* Effects of exogenous protease supplementation on endogenous trypsin activity and gene expression in broilers // *Genet. Mol. Res.* – 2015. – V. 14, No 4. – P. 13633–13641. – doi: 10.4238/2015.October.28.25.

35. *Svihus B., Uhlen A.K., Harstad O.M.* Effect of starch granule structure, associated components and processing on nutritive value of cereal starch: A review // *Anim. Feed Sci. Technol.* – 2005. – V. 122, No 3–4. – P. 303–320. – doi: 10.1016/j.anifeedsci.2005.02.025.
36. *Olukosi O.A., Beeson L.A., Englist K., Romero L.F.* Effects of exogenous proteases without or with carbohydrases on nutrient digestibility and disappearance of non-starch polysaccharides in broiler chickens // *Poult. Sci.* – 2015. – V. 94, No 11. – P. 2662–2699. – doi: 10.3382/ps/pev260.
37. *Amerah A.M., Romero L.F., Awati A., Ravindran V.* Effect of exogenous xylanase, amylase, and protease as single or combined activities on nutrient digestibility and growth performance of broilers fed corn/soy diets // *Poult. Sci.* – 2017. – V. 96, No 4. – P. 807–816. – doi: 10.3382/ps/pew297.
38. *Ленкова Т.Н., Егорова Т.А., Яцышина М.М., Сысоева И.Г., Зевакова В.К.* Зернобобовые культуры в комбикормах для бройлеров // *Птица и птицепродукты.* – 2016. № 4. – С.17–19.
39. *Iqbal Z., Roberts J., Perez-Maldonado R.A., Goodarzi Borojoni F., Swick R.A., Ruhnke I.* Pasture, multi-enzymes, benzoic acid and essential oils positively influence performance, intestinal organ weight and egg quality in free-range laying hens // *Br. Poult. Sci.* – 2018. – V. 59, No 2. – P. 180–189. – doi: 10.1080/00071668.2017.1403566.
40. *Romero L.F., Parsons C.M., Utterback P.L., Plumstead P.W., Ravindran V.* Comparative effects of dietary carbohydrases without or with protease on the ileal digestibility of energy and amino acids and AMEn in young broilers // *Anim. Feed Sci. Technol.* – 2013. – V. 181, No 1–4. – P. 35–44. – doi: 10.1016/j.anifeedsci.2013.02.001.
41. *Woyengo T.A., Nyachoti C.M.* Review: Anti-nutritional effects of phytic acid in diets for pigs and poultry – current knowledge and directions for future research // *Can. J. Anim. Sci.* – 2013. – V. 93, No 1. – P. 9–21. – doi: 10.4141/cjas2012-017.
42. *Балабан Н.П., Сулейманова А.Д., Валеева Л.Р., Шакиров Е.В., Шарипова М.Р.* Структурные особенности и механизм катализа β -пропеллерных фитаз бацилл (обзор) // *Биохимия.* – 2016. – Т. 81, Вып. 8. – С. 1013–1022.
43. *Bohn L., Meyer A.S., Rasmussen S.K.* Phytate: Impact on environment and human nutrition. A challenge for molecular breeding // *J. Zhejiang Univ. Sci. B.* – 2008. – V. 9, No 3. – P. 165–191. – doi: 10.1631/jzus.B0710640.
44. *Мухаметзянова А.Д., Ахметова А.И., Шарипова М.Р.* Микроорганизмы как продуценты фитаз // *Микробиология.* – 2012. – Т. 81, Вып. 3. – С. 291–300.
45. *Marounek M., Skřivan M., Rosero O., Rop O.* Intestinal and total tract phytate digestibility and phytase activity in the digestive tract of hens fed a wheat-maize-soyabean diet // *J. Anim. Feed Sci.* – 2010. – V. 19, No 3. – P. 430–439. – doi: 10.22358/jafs/66305/2010.
46. *Kebreab E., Hansen V., Strathe A.B.* Animal production for efficient phosphate utilization: From optimized feed to high efficiency livestock // *Curr. Opin. Biotechnol.* – 2012. – V. 23, No 6. – P. 872–877. – doi: 10.1016/j.copbio.2012.06.001.
47. *Lei X.G., Weaver J.D., Mullaney E., Ullah A.H., Azain M.J.* Phytase, a new life for an “old” enzyme // *Annu. Rev. Anim. Biosci.* – 2013. – V. 1. – P. 283–309. – doi: 10.1146/annurev-animal-031412-103717.
48. *Синицына О.Л., Федорова Е.А., Гусаков А.В., Упоров И.В., Соколова Л.М., Бубнова Т.М., Окунев О.Н., Чулкин А.М., Винецкий Ю.П., Синицын А.П.* Выделение и свойства внеклеточной фитазы *A Penicillium canescens* // *Биохимия.* – 2006. – Т. 71, Вып. 9. – С. 1260–1269.
49. Пат. 2504579 С2 РФ. Рекомбинантный штамм дрожжей *Yarrowia lipolytica* – продуцент фитазы / Выборная Т.В., Юзбашев Т.В., Федоров А.С., Юзбашева Е.Ю., Ла-

- рина А.С., Синеокий С.П. – № 2012114468/10; заявл. 12.04.2012; опубл. 20.01.2014, Бюл. № 2. – 7 с.
50. Пат. 2472855 С2 РФ. Мутантная рекомбинантная термостабильная фитаза (варианты), фрагмент днк, кодирующий указанную фитазу (варианты), штамм *Pichia pastoris* – продуцент указанной фитазы (варианты) / Гордеева Т.Л., Борщевская Л.Н., Синеокий С.П. – № 2009146172/10; заявл. 15.12.2009; опубл. 20.01.2013, Бюл. № 2. – 37 с.
51. Пат. 2506307 С2 РФ. Штамм бактерий *Bacillus subtilis* с высоким уровнем продуцирования фитазы (варианты), композиция для кормления животных и способ кормления животных / Кнап И., Кнарреборг А., Лесер Т.Д., Лунн Б. – № 2010104004/10; заявл. 11.06.2008; опубл. 10.02.2014, Бюл. № 4. – 22 с.
52. Ахметова А.И., Нямсүрэн Ч., Балабан Н.П., Шарипова М.Р. Выделение и характеристика новой фитазы бацилл // Биооргани. химия. – 2013. – Т. 39, Вып. 4. – С. 430–436.
53. Woyengo T.A., Nyachoti C.M. Review: Supplementation of phytase and carbohydrases to diets for poultry // Can. J. Anim. Sci. – 2011. – V. 91, No 2. – P. 177–192. – doi: 10.4141/cjas10081.
54. Amerah A.M., Plumstead P.W., Barnard L.P., Kumar A. Effect of calcium level and phytase addition on ileal phytate degradation and amino acid digestibility of broilers fed corn-based diets // Poult. Sci. – 2014. – V. 93, No 4. – P. 906–915. – doi: 10.3382/ps.2013-03465.
55. Yu S., Cowieson A., Gilbert C., Plumstead P., Dalgaard S. Interactions of phytate and myo-inositol phosphate esters (IP₁₋₅) including IP₅ isomers with dietary protein and iron and inhibition of pepsin // J. Anim. Sci. – 2012. – V. 90, No 6. – P. 1824–1832. – doi: 10.2527/jas.2011-3866.
56. Cowieson A.J., Ravindran V. Sensitivity of broiler starters to three doses of an enzyme cocktail in maize-based diets // Br. Poult. Sci. – 2008. – V. 49, No 3. – P. 340–346. – doi: 10.1080/00071660802126669.
57. Wu D., Wu S.B., Choct M., Swick R.A. Performance, intestinal microflora, and amino acid digestibility altered by exogenous enzymes in broilers fed wheat- or sorghum-based diets // J. Anim. Sci. – 2017. – V. 95, No 2. – P. 740–751. – doi: 10.2527/jas.2016.0411.
58. Ptak A., Bedford M.R., Świątkiewicz S., Żyła K., Józefiak D. Phytase modulates ileal microbiota and enhances growth performance of the broiler chickens // PLoS One. – 2015. – V. 10, No 3. – Art. e0119770, P. 1–15. – doi: 10.1371/journal.pone.0119770.
59. Borda-Molina D., Vital M., Sommerfeld V., Rodehutschord M., Camarinha-Silva A. Insights into broilers' gut microbiota fed with phosphorus, calcium, and phytase supplemented diets // Front. Microbiol. – 2016. – V. 7. – Art. 2033, P. 1–13. – doi: 10.3389/fmicb.2016.02033.
60. Gao C., Ma Q., Zhao L., Zhang J., Ji C. Effect of dietary phytase transgenic corn on physiological characteristics and the fate of recombinant plant DNA in laying hens // Asian-Australas. J. Anim. Sci. – 2014. – V. 27, No 1. – P. 77–82. – doi: 10.5713/ajas.2013.13265.
61. Conley D.J., Paerl H.W., Howarth R.W. Controlling eutrophication: Nitrogen and phosphorus // Science. – 2009. – V. 323. – P. 1014–1015. – doi: 10.1126/science.1167755.
62. Tubiello F.N., Salvatore M., Rossi S., Ferrara A., Fitton N., Smith P. The FAOSTAT database of greenhouse gas emissions from agriculture // Environ. Res. Lett. – 2013. – V. 8, No 1. – Art. 015009, P. 1–10. – doi: 10.1088/1748-9326/8/1/015009.
63. Синицына О.А., Федорова Е.А., Гусаков А.В., Упоров И.В., Соколова Л.М., Бубнова Т.М., Ушакова Н.А., Некрасов Р.В., Правдин В.Г., Кравцова Л.З., Бобровская О.И., Павлов Д.С. Новое поколение пробиотических препаратов кормового назначения // Фундаментальные исследования. – 2012. – № 1. – С. 184–192.

64. Похиленко В.Д., Перелыгин В.В. Пробиотики на основе спорообразующих бактерий и их безопасность // Химическая и биологическая безопасность. – 2007. – №. 2–3. – С. 20–41.
65. Феоктистова Н.В., Марданова А.М., Хадиева Г.Ф., Шарипова М.Р. Пробиотики на основе бактерий рода *Bacillus* в птицеводстве // Учен. зап. Казан. ун-та. Сер. Естеств. науки. – 2017. – Т. 159, кн. 1. – С. 85–107.
66. Топурия Л.Ю., Топурия Г.М., Григорьева Г.В. Фармакологические аспекты применения пробиотиков в бройлерном птицеводстве. – Оренбург: Изд. центр ВНИИМС, 2012. – 95 с.
67. Askelson T.E., Flores C.A., Dunn-Horrocks S.L., Dersjant-Li Y., Gibbs K., Awati A., Lee J.T., Duong T. Effects of direct-fed microorganisms and enzyme blend co-administration on intestinal bacteria in broilers fed diets with or without antibiotics // Poult. Sci. – 2018. – V. 97, No 1. – P. 54–63. – doi: 10.3382/ps/pex270.
68. Latorre J.D., Hernandez-Velasco X., Wolfenden R.E., Vicente J.L., Wolfenden A.D., Menconi A., Bielke L.R., Hargis B.M., Tellez G. Evaluation and selection of *Bacillus* species based on enzyme production, antimicrobial activity, and biofilm synthesis as direct-fed microbial candidates for poultry // Front. Vet. Sci. – 2016. – V. 3. – Art. 95, P. 1–9. – doi: 10.3389/fvets.2016.00095.
69. Коцаев А.Г. Эффективность кормовых добавок Бацелл и Моноспорин при выращивании цыплят-бройлеров // Ветеринария. – 2007. – № 1. – С. 16–17.
70. Пат.2235772 С1 РФ. Штамм бактерий *Bacillus pantothenicus* 1-85 для использования в гранулированных кормах / Грудина Т.Н., Лаптев Г.Ю., Прокопьева В.И., Солдатова В.В., Проворов Е.Л. – № 2003103720/13; заявл. 29.01.2003; опубл. 10.09.2004, Бюл. № 25. – 3 с.
71. Farhat-Khemakhem A., Blibech M., Boukhris I., Makni M., Chouayekh H. Assessment of the potential of the multi-enzyme producer *Bacillus amyloliquefaciens* US573 as alternative feed additive // J. Sci. Food. Agric. – 2018. – V. 98, No 3. – P. 1208–1215. – doi: 10.1002/jsfa.8574.

Поступила в редакцию
04.06.18

Феоктистова Наталия Владимировна, научный сотрудник лаборатории «Микробные биотехнологии»

Казанский (Приволжский) федеральный университет
ул. Кремлевская, д. 18, г. Казань, 420008, Россия
E-mail: nfeoktis@mail.ru

Марданова Айслу Миркасымовна, кандидат биологических наук, доцент кафедры микробиологии

Казанский (Приволжский) федеральный университет
ул. Кремлевская, д. 18, г. Казань, 420008, Россия
E-mail: mardanovaayslu@mail.ru

Лутфуллин Марат Тафкиевич, инженер кафедры микробиологии

Казанский (Приволжский) федеральный университет
ул. Кремлевская, д. 18, г. Казань, 420008, Россия
E-mail: lutfullin.marat2012@yandex.ru

Богомольная Лидия Михайловна, кандидат биологических наук, профессор Центра здоровья

Техасский университет A&M
Риверсайд Парквей 8447, г. Брайан, 420008, США
E-mail: Bogomolnaya@medicine.tamhsc.edu

Шарипова Маргарита Рашидовна, доктор биологических наук, профессор кафедры микробиологии

Казанский (Приволжский) федеральный университет
ул. Кремлевская, д. 18, г. Казань, 420008, Россия
E-mail: *marsharipova@gmail.com*

ISSN 2542-064X (Print)
ISSN 2500-218X (Online)

UCHENYE ZAPISKI KAZANSKOGO UNIVERSITETA. SERIYA ESTESTVENNYE NAUKI
(Proceedings of Kazan University. Natural Sciences Series)

2018, vol. 160, no. 3, pp. 395–418

Microbial Preparations in Poultry Farming

N.V. Feoktistova^{a}, A.M. Mardanova^{a**}, M.T. Lutfullin^{a***},
L.M. Bogomolnaya^{b****}, M.R. Sharipova^{a*****}*

^aKazan Federal University, Kazan, 420008 Russia

^bTexas A&M University, Bryan, 8447 USA

E-mail: ^{*}*nfeoktis@mail.ru*, ^{**}*mardanovaayslu@mail.ru*, ^{***}*lutfullin.marat2012@yandex.ru*,
^{****}*Bogomolnaya@medicine.tamhsc.edu*, ^{*****}*marsharipova@gmail.com*

Received June 4, 2018

Abstract

This work describes the development of microbial biopreparations – fodder enzymes and enzyme-probiotic complexes – for solving the relevant problems of industrial poultry farming. The characteristics of non-starch polysaccharides (NSP) of grain feeds have been discussed. The mechanisms of NSP antinutritive action, which interfere with the assimilation of nutrients and energy of grain feeds have been analyzed. The negative effect of NSP on intestinal microbiota has been shown. The mechanisms of positive effects of exogenous microbial NSP enzymes on both intestinal microbiota and assimilation of feeds have been investigated. The expediency of complex compositions containing NSP enzymes, amylases, and proteases has been proved. The anti-nutritive properties of phytates contained in poultry feeds and the expediency of using microbial phytases as fodder enzymes for poultry farming have been shown. The prospects of enzyme-probiotic complexes as an alternative to the use of antibiotics has been analyzed.

Keywords: poultry farming, non-starch polysaccharides, phytates, NSP enzymes, proteases, phytases, probiotics, microbiota

Acknowledgments. The work is performed according to the Russian Government Program of Competitive Growth of Kazan Federal University and supported by the Russian Science Foundation (project no. 16-16-04062).

Figure Captions

Fig. 1. Phytic acid IP6 structure [13].

References

1. FAO (Food and Agriculture Organization). 2014. FAOSTAT online database. Available at: <http://faostat.fao.org/>.
2. Godfray H.C.J., Beddington J.R., Crute I.R., Haddad L., Lawrence D., Muir J.F., Pretty J., Robinson S., Thomas S.M., Toulmin C. Food security: The challenge of feeding 9 billion people. *Science*, 2010, vol. 327, pp. 812–818. doi: 10.1126/science.1185383.

3. Kiarie E., Romero L.F., Nyachoti C.M. The role of added feed enzymes in promoting gut health in swine and poultry. *Nutr. Res. Rev.*, 2013, vol. 26, no. 1, pp. 71–88. doi: 10.1017/S0954422413000048.
4. Park Y.H., Hamidon F., Rajangan Ch., Soh K.P., Gan Ch.Yu., Lim Th.S., Abdullah W.N.W., Li-on M.T. Application of probiotics for the production of safe and high-quality poultry meat. *Korean J. Food Sci. Anim. Resour.*, 2016, vol. 36, no. 5, pp. 567–576. doi: 10.5851/kosfa.2016.36.5.567.
5. Gadde U., Kim W.H., Oh S.T., Lillehoj H.S. Alternatives to antibiotics for maximizing growth performance and feed efficiency in poultry: A review. *Anim. Health Res. Rev.*, 2017, vol. 18, no. 1, pp. 26–45. doi: 10.1017/S1466252316000207.
6. Knudsen K.E. Fiber and nonstarch polysaccharide content and variation in common crops used in broiler diets. *Poult. Sci.*, 2014, vol. 93, no. 9, pp. 2380–2393. doi: 10.3382/ps.2014-03902.
7. Kebreab E., Liedke A., Caro D., Deimling S., Binder M., Finkbeiner M. Environmental impact of using specialty feed ingredients in swine and poultry production: A life cycle assessment. *J. Anim. Sci.*, 2016, vol. 94, no. 6, pp. 2664–2681. doi: 10.2527/jas.2015-9036.
8. Fisinin V.I., Egorov I.A. Current approaches to commercial poultry feeding. *Ptitsa Ptitseprod.*, 2015, no. 3, pp. 27–29. (In Russian)
9. Romero L.F., Sands J.S., Indrakumar S.E., Plumstead P.W., Dalsgaard S., Ravindran V. Contribution of protein, starch, and fat to the apparent ileal digestible energy of corn- and wheat-based broiler diets in response to exogenous xylanase and amylase without or with protease. *Poult. Sci.*, 2014, vol. 93, no. 10, pp. 2501–2513. doi: 10.3382/ps.2013-03789.
10. Fisinin V.I., Egorov I.A., Lenkova T.Kh. Using non-traditional feeds in poultry diet. *Ptitsa Ptitseprod.*, 2016, no. 4, pp. 14–17. (In Russian)
11. Ravindran V., Son J.-H. Feed enzyme technology: Present status and future developments. *Recent Pat. Food Nutr. Agric.*, 2011, vol. 3, no. 2, pp. 102–109.
12. Adeola O., Cowieson A.J. Board-invited review: Opportunities and challenges in using exogenous enzymes to improve non-ruminant animal production. *J. Anim. Sci.*, 2011, vol. 89, no. 10, pp. 3189–3218. doi: 10.2527/jas.2010-3715.
13. Dersjant-Li Y., Awati A., Schulze H., Partridge G. Phytase in non-ruminant animal nutrition: A critical review on phytase activities in the gastrointestinal tract and influencing factors. *J. Sci. Food Agric.*, 2015, vol. 95, no. 5, pp. 878–896. doi: 10.1002/jsfa.6998.
14. Diaz D. M., Morlacchini F., Masoero M., Moschini G., Fusconi G. Pea seeds (*Pisum sativum*), faba beans (*Vicia faba* var. *minor*) and lupin seeds (*Lupinus albus* var. *multitalia*) as protein sources in broiler diets: effect of extrusion on growth performance. *Ital. J. Anim. Sci.*, 2006, vol. 5, pp. 43–53.
15. Kundyshev P., Landshaft M., Kuznetsov A. Ways to improve the efficiency of poultry farming. *Ptitsevodstvo*, 2013, vol. 6, pp. 19–22. (In Russian)
16. Shewry P.R., Hawkesford M.J., Piironen V., Lampi A.M., Gebruers K., Boros D., Andersson A.A., Aman P., Rakszegi M., Bedo Z., Ward J.L. Natural variation in grain composition of wheat and related cereals. *J. Agric. Food Chem.*, 2013, vol. 61, no. 35, pp. 8295–8303. doi: 10.1021/jf3054092.
17. Dornez E., Gebruers K.I., Joye J.B., Ketelaere De.J., Lenartz C., Massau B., Bodson J., Delcour A.C., Courtin M. Effects of genotype, harvest year and genotype-by-harvest year interactions on arabinoxylan, endoxylanase activity and endoxylanase inhibitor levels in wheat kernels. *J. Cereal Sci.*, 2008, vol. 47, no. 2, pp. 180–189. doi: 10.1016/j.jcs.2007.03.008.
18. Kablucheeva-Pashnik T.I., Koshchaev A.G. *Farmakologicheskoe obosnovanie primeneniya probiotikov v ptitsevodstve* [Pharmacological Justification of Using Probiotics in Poultry Farming]. Krasnodar, Izd. KubGAU, 2016. 270 p. (In Russian)
19. O'Neill H.V.M., Smith J.A., Bedford M.R. Multicarbhydrase enzymes for non-ruminants. *Asian-Australas. J. Anim. Sci.*, 2014, vol. 27, no. 2, pp. 290–301. doi: 10.5713/ajas.2013.13261.
20. Khadem A., Lourenzo M., Delezie E., Maertens L., Goderis A., Mombaerts R., Höfte M., Eeckhaut V., Van Immerseel F., Janssens G.P. Does release of encapsulated nutrients have an important role in the efficacy of xylanase in broilers? *Poult. Sci.*, 2016, vol. 95, no. 5, pp. 1066–1076. doi: 10.3382/ps/pew002.
21. Timbermont L., Haesebrouck F., Ducatelle R., Van Immerseel F. Necrotic enteritis in broilers: An updated review on the pathogenesis. *Avian Pathol.*, 2011, vol. 40, no. 4, pp. 341–347. doi: 10.1080/03079457.2011.590967.

22. Bielke L.R., Hargis B.M., Latorre J.D. Impact of enteric health and mucosal permeability on skeletal health and lameness in poultry. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 2017, vol. 1033, pp. 185–197. doi: 10.1007/978-3-319-66653-2_9.
23. Lynd L.R., Weimer P.J., van Zyl W.H., Pretorius I.S. Microbial cellulose utilization: Fundamentals and biotechnology. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, 2002, vol. 66, no. 3, pp. 506–577.
24. Sharma A., Tewari R., Rana S.S., Soni R., Soni S.K. Cellulases: Classification, methods of determination and industrial applications. *Appl. Biochem. Biotechnol.*, 2016, vol. 179, no. 8, pp. 1346–1380. doi: 10.1007/s12010-016-2070-3.
25. Kölln M., Weiß H., Hankel J., Kamphues J. Effects of a carbohydrase complex added in different inclusion rates in feeds for broilers on growth performance, digesta viscosity and foot pad health. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr. (Berlin)*, 2017, vol. 101, suppl. 1. 105–109. doi: 10.1111/jpn.12701.
26. Yuan L., Wang M., Zhang X., Wang Z. Effects of protease and non-starch polysaccharide enzyme on performance, digestive function, activity and gene expression of endogenous enzyme of broilers. *PLoS One*, 2017, vol. 12, no. 3, art. e0173941, pp. 1–13. doi: 10.1371/journal.pone.0173941.
27. Latorre J.D., Hernandez-Velasco X., Kutappan V.A., Wolfenden R.E., Vicente J.L., Wolfenden A.D., Bielke L.R., Prado-Rebolledo O.F., Morales E., Hargis B.M., Tellez G. Selection of *Bacillus spp.* for cellulase and xylanase production as direct-fed microbials to reduce digesta viscosity and *Clostridium perfringens* proliferation using an in vitro digestive model in different poultry diets. *Front Vet. Sci.*, 2015, vol. 2, art. 25, pp. 1–8. doi: 10.3389/fvets.2015.00025.
28. Bedford M.R., Cowieson A.J. Exogenous enzymes and their effects on intestinal microbiology. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 2012, vol. 173, nos. 1–2, pp. 76–85. doi: 10.1016/j.anifeedsci.2011.12.018.
29. Amerah A.M., Mathis G., Hofacre C.L. Effect of xylanase and a blend of essential oils on performance and *Salmonella* colonization of broiler chickens challenged with *Salmonella* Heidelberg. *Poult. Sci.*, 2012, vol. 91, no. 4, pp. 943–947. doi: 10.3382/ps.2011-01922.
30. Shastak E.V. In vitro activity of NSP enzymes does not ensure their efficiency. *Ptitsevodstvo*, 2016, no. 10, pp. 10–14. (In Russian)
31. Kryukov V.S. Estimating the quality of feed enzymatic additives. *Ptitsevodstvo*, 2016, no. 10, pp. 2–7. (In Russian)
32. Contesini F.J., Melo R.R., Sato H.H. An overview of *Bacillus* proteases: From production to application. *Crit. Rev. Biotechnol.*, 2018, vol. 38, no. 3, pp. 321–334. doi: 10.1080/07388551.2017.1354354.
33. Kaczmarek S.A., Rogiewicz A., Mogielnicka M., Rutkowski A., Jones R.O., Slominski B.A. The effect of protease, amylase, and nonstarch polysaccharide-degrading enzyme supplementation on nutrient utilization and growth performance of broiler chickens fed corn-soybean meal-based diets. *Poult. Sci.*, 2014, vol. 93, no. 7, pp. 1745–1753. doi: 10.3382/ps.2013-03739.
34. Yuan L., Wang S.Q., Wang Z.X., Zhu H., Huang K. Effects of exogenous protease supplementation on endogenous trypsin activity and gene expression in broilers. *Genet. Mol. Res.*, 2015, vol. 14, no. 4, pp. 13633–13641. doi: 10.4238/2015.October.28.25.
35. Svihus B., Uhlen A.K., Harstad O.M. Effect of starch granule structure, associated components and processing on nutritive value of cereal starch: A review. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 2005, vol. 122, nos. 3–4, pp. 303–320. doi: 10.1016/j.anifeedsci.2005.02.025.
36. Olukosi O.A., Beeson L.A., Englist K., Romero L.F. Effects of exogenous proteases without or with carbohydrases on nutrient digestibility and disappearance of non-starch polysaccharides in broiler chickens. *Poult. Sci.*, 2015, vol. 94, no. 11, pp. 2662–2699. doi: 10.3382/ps/pev260.
37. Amerah A.M., Romero L.F., Awati A., Ravindran V. Effect of exogenous xylanase, amylase, and protease as single or combined activities on nutrient digestibility and growth performance of broilers fed corn/soy diets. *Poult. Sci.*, 2017, vol. 96, no. 4, pp. 807–816. doi: 10.3382/ps/pew297.
38. Lenkova T.N., Egorova T.A., Yatsyshina M.M., Sysoeva I.G., Zevakova V.K. Leguminous crops in compound feed for broilers. *Ptitsa Ptitseprod.*, 2016, no. 4, pp. 17–19. (In Russian)
39. Iqbal Z., Roberts J., Perez-Maldonado R.A., Goodarzi Boroojeni F., Swick R.A., Ruhnke I. Pasture, multi-enzymes, benzoic acid and essential oils positively influence performance, intestinal organ weight and egg quality in free-range laying hens. *Br. Poult. Sci.*, 2018, vol. 59, no. 2, pp. 180–189. doi: 10.1080/00071668.2017.1403566.
40. Romero L.F., Parsons C.M., Utterback P.L., Plumstead P.W., Ravindran V. Comparative effects of dietary carbohydrases without or with protease on the ileal digestibility of energy and amino acids

- and AMEn in young broilers. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 2013, vol. 181, nos. 1–4, pp. 35–44. doi: 10.1016/j.anifeedsci.2013.02.001.
41. Woyengo T.A., Nyachoti C.M. Review: Anti-nutritional effects of phytic acid in diets for pigs and poultry – current knowledge and directions for future research. *Can. J. Anim. Sci.*, 2013, vol. 93, no. 1, pp. 9–21. doi: 10.4141/cjas2012-017.
42. Balaban N.P., Suleimanova A.D., Valeeva L.R., Shakirov E.V., Sharipova M.R. Structural characteristics and catalytic mechanism of *Bacillus* β -propeller phytases. *Biochemistry*, 2016, vol. 81, no. 8, pp. 785–793. doi: 10.1134/S0006297916080010.
43. Bohn L., Meyer A.S., Rasmussen S.K. Phytate: Impact on environment and human nutrition. A challenge for molecular breeding. *J. Zhejiang Univ. Sci. B*, 2008, vol. 9, no. 3, pp. 165–191. doi: 10.1631/jzus.B0710640.
44. Mukhametzyanova A.D., Akhmetova A.I., Sharipova M.R. Microorganisms as phytase producers. *Microbiology*, 2012, vol. 81, no. 3, pp. 267–275. doi: 10.1134/S0026261712030095.
45. Marounek M., Skřivan M., Rosero O., Rop O. Intestinal and total tract phytate digestibility and phytase activity in the digestive tract of hens fed a wheat-maize-soyabean diet. *J. Anim. Feed Sci.*, 2010, vol. 19, no. 3, pp. 430–439. doi: 10.22358/jafs/66305/2010.
46. Kebreab E., Hansen V., Strathe A.B. Animal production for efficient phosphate utilization: From optimized feed to high efficiency livestock. *Curr. Opin. Biotechnol.*, 2012, vol. 23, no. 6, pp. 872–877. doi: 10.1016/j.copbio.2012.06.001.
47. Lei X.G., Weaver J.D., Mullaney E., Ullah A.H., Azain M.J. Phytase, a new life for an “old” enzyme. *Annu. Rev. Anim. Biosci.*, 2013, vol. 1, pp. 283–309. doi: 10.1146/annurev-animal-031412-103717.
48. Sinitsyna O.L., Fedorova E.A., Gusakov A.V., Uporov I.V., Sokolova A.P., Bubnova T.M., Okunev O.N., Chulkin A.M., Vinetskii Yu.P., Sinitsyn A.P. Isolation and properties of extracellular phytase from *Penicillium canescens*. *Biokhimiya*, 2006, vol. 71, no. 9, pp. 1260–1269. (In Russian)
49. Vybornaya T.V., Yuzbashev T.V., Fedorov A.S., Yuzbasheva E.Yu., Larina A.S., Sineokii S.P. *Yarrowia lipolytica* recombinant yeast strain producing phytase. Patent RF no. 2504579 S2, 2014. (In Russian)
50. Gordeeva T.L., Borshchevskaya L.N., Sineokii S.P. Mutant recombinant thermostable phytase (variants), DNA fragment encoding the indicated phytase (variants), *Pichia pastoris* strain producing this phytase (variants). Patent RF no. 2472855 S2, 2013. (In Russian)
51. Knap I., Knarreborg A., Leser T.D., Lunn B. *Bacillus subtilis* bacterial strain with high level of phytase (variants) production, the composition for feeding animals and the method of feeding animals. Patent RF no. 2506307 S2, 2014. (In Russian)
52. Ahmetova A.I., Nyamsuren Ch., Balaban N.P., Sharipova M.R. Isolation and characterization of a new bacillary phytase. *Russ. J. Bioorg. Chem.*, 2013, vol. 39, no. 4, pp. 384–389. doi: 10.1134/S1068162013040031.
53. Woyengo T.A., Nyachoti C.M. Review: Supplementation of phytase and carbohydrases to diets for poultry. *Can. J. Anim. Sci.*, 2011, vol. 91, no. 2, pp. 177–192. doi: 10.4141/cjas10081.
54. Amerah A.M., Plumstead P.W., Barnard L.P., Kumar A. Effect of calcium level and phytase addition on ileal phytate degradation and amino acid digestibility of broilers fed corn-based diets. *Poult. Sci.*, 2014, vol. 93, no. 4, pp. 906–915. doi: 10.3382/ps.2013-03465.
55. Yu S., Cowieson A., Gilbert C., Plumstead P., Dalgaard S. Interactions of phytate and myo-inositol phosphate esters (IP₁₋₅) including IP₅ isomers with dietary protein and iron and inhibition of pepsin. *J. Anim. Sci.*, 2012, vol. 90, no. 6, pp. 1824–1832. doi: 10.2527/jas.2011-3866.
56. Cowieson A.J., Ravindran V. Sensitivity of broiler starters to three doses of an enzyme cocktail in maize-based diets. *Br. Poult. Sci.*, 2008, vol. 49, no. 3, pp. 340–346. doi: 10.1080/00071660802126669.
57. Wu D., Wu S.B., Choct M., Swick R.A. Performance, intestinal microflora, and amino acid digestibility altered by exogenous enzymes in broilers fed wheat- or sorghum-based diets. *J. Anim. Sci.*, 2017, vol. 95, no. 2, pp. 740–751. doi: 10.2527/jas.2016.0411.
58. Ptak A., Bedford M.R., Świątkiewicz S., Żyła K., Józefiak D. Phytase modulates ileal microbiota and enhances growth performance of the broiler chickens. *PLoS One*, 2015, vol. 10, no. 3, art. e0119770, pp. 1–15. doi: 10.1371/journal.pone.0119770.

59. Borda-Molina D., Vital M., Sommerfeld V., Rodehutsord M., Camarinha-Silva A. Insights into broilers' gut microbiota fed with phosphorus, calcium, and phytase supplemented diets. *Front. Microbiol.*, 2016, vol. 7, art. 2033, pp. 1–13. doi: 10.3389/fmicb.2016.02033.
60. Gao C., Ma Q., Zhao L., Zhang J., Ji C. Effect of dietary phytase transgenic corn on physiological characteristics and the fate of recombinant plant DNA in laying hens. *Asian-Australas. J. Anim. Sci.*, 2014, vol. 27, no. 1, pp. 77–82. doi: 10.5713/ajas.2013.13265.
61. Conley D.J., Paerl H.W., Howarth R.W. Controlling eutrophication: Nitrogen and phosphorus. *Science*, 2009, vol. 323, pp. 1014–1015. doi: 10.1126/science.1167755.
62. Tubiello F.N., Salvatore M., Rossi S., Ferrara A., Fitton N., Smith P. The FAOSTAT database of greenhouse gas emissions from agriculture. *Environ. Res. Lett.*, 2013, vol. 8, no. 1, art. 015009, pp. 1–10. doi: 10.1088/1748-9326/8/1/015009.
63. Sinitsyna O.A., Fedorova E.A., Gusakov A.V., Uporov I.V., Sokolova L.M., Bubnova T.M., Ushakova N.A., Nekrasov R.V., Pravdin V.G., Kravtsova L.Z., Bobrovskaya O.I., Pavlov D.S. A new generation of probiotic fodder additives. *Fundam. Issled.*, 2012, no. 1, pp. 184–192. (In Russian)
64. Pokhilenko V.D., Pereygin V.V. Probiotics based on spore-forming bacteria and their safety. *Khim. Biol. Bezop.*, 2007, no. 2–3, pp. 20–41. (In Russian)
65. Feoktistova N.V., Mardanova A.M., Hadieva G.F., Sharipova M.R. Probiotics based on bacteria from the genus *Bacillus* in poultry breeding. *Uchenye Zapiski Kazanskogo Universiteta. Seriya Estestvennye Nauki*, 2017, vol. 159, no. 1, pp. 85–107. (In Russian)
66. Topuriya L.Yu., Topuriya G.M., Grigor'eva G.V. *Farmakologicheskie aspekty primeneniya probiotikov v broilernom ptitsevodstve* [Pharmacological Specifics of Using Probiotics in Broiler Farming]. Orenburg, Izd. Tsentr VNIIMS, 2012. 95 p. (In Russian)
67. Askelson T.E., Flores C.A., Dunn-Horrocks S.L., Dersjant-Li Y., Gibbs K., Awati A., Lee J.T., Duong T. Effects of direct-fed microorganisms and enzyme blend co-administration on intestinal bacteria in broilers fed diets with or without antibiotics. *Poult. Sci.*, 2018, vol. 97, no. 1, pp. 54–63. doi: 10.3382/ps/pex270.
68. Latorre J.D., Hernandez-Velasco X., Wolfenden R.E., Vicente J.L., Wolfenden A.D., Menconi A., Bielke L.R., Hargis B.M., Tellez G. Evaluation and selection of *Bacillus* species based on enzyme production, antimicrobial activity, and biofilm synthesis as direct-fed microbial candidates for poultry. *Front. Vet. Sci.*, 2016, vol. 3, art. 95, pp. 1–9. doi: 10.3389/fvets.2016.00095.
69. Koshchaev A.G. The efficiency of the Batsell and Monosporin additives in broiler breeding. *Veterinariya*, 2007, no. 1, pp. 16–17. (In Russian)
70. Grudinina T.N., Laptev G.Yu., Prokop'eva V.I., Soldatova V.V., Provorov E.L. *Bacillus pantothenicus* 1-85 strain for granulated fodders. Patent RF no. 2235772 S1, 2004. (In Russian)
71. Farhat-Khemakhem A., Blibech M., Boukhris I., Makni M., Chouayekh H. Assessment of the potential of the multi-enzyme producer *Bacillus amyloliquefaciens* US573 as alternative feed additive. *J. Sci. Food. Agric.*, 2018, vol. 98, no. 3, pp. 1208–1215. doi: 10.1002/jsfa.8574.

⟨ **Для цитирования:** Феоктистова Н.В., Марданова А.М., Лутфуллин М.Т., Богомольная Л.М., Шарипова М.Р. Биопрепараты микробного происхождения в птицеводстве // Учен. зап. Казан. ун-та. Сер. Естеств. науки. – 2018. – Т. 160, кн. 3. – С. 395–418. ⟩

⟨ **For citation:** Feoktistova N.V., Mardanova A.M., Lutfullin M.T., Bogomolnaya L.M., Sharipova M.R. Microbial preparations in poultry farming. *Uchenye Zapiski Kazanskogo Universiteta. Seriya Estestvennye Nauki*, 2018, vol. 160, no. 3, pp. 395–418. (In Russian) ⟩