

## ВЛИЯНИЕ ФИТАЗЫ НА МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ КИШЕЧНИКА ЦЫПЛЯТ-БРОЙЛЕРОВ ПРИ РАЗЛИЧНОМ УРОВНЕ ФОСФОРА В РАЦИОНЕ

В статье представлены результаты экспериментальных исследований морфофункционального состояния кишечника подопытной птицы при использовании ферментного препарата Ронозим NT (СТ) при различном уровне фосфора в рационе. Гистологический анализ кишечника (тонкий отдел) подтверждает положительное влияние препарата Ронозим NT (СТ) на морфологические характеристики рельефа слизистой тонкого отдела кишечника цыплят-бройлеров.

Ключевые слова: тонкий отдел кишечника, мукополисахариды, ШИК-реакция, фитаза, цыплята-бройлеры, фосфор, Ронозим NT (СТ).

Важнейшей проблемой продовольственной безопасности страны является обеспечение населения мясом и мясопродуктами. Важная роль в решении этой задачи отводится птицеводству, поскольку в животноводстве это самая динамичная и наукоемкая отрасль, способная преодолевать все трудности за более короткое время и устойчиво развиваться. Реализация всех возможностей промышленного птицеводства находится в большой зависимости от кормовых условий, поэтому важнейшей составной частью промышленной технологии производства продукции птицеводства было и остается полноценное кормление птицы [1].

Особенностью организма птиц в отличие от других животных является высокая зависимость от минеральной обеспеченности. Дефицит этих веществ вызывает заболевания опорно-двигательного аппарата, снижение количества и биологической ценности получаемой продукции. Поэтому птицеводческие хозяйства стремятся к использованию биорегуляторов (ферментные препараты, пробиотики), которые способствуют лучшему перевариванию и усвоению основных питательных веществ в желудочно-кишечном тракте птиц [2].

В связи с этим особый интерес приобрело детальное изучение морфологии, физиологии и биохимии пищеварительного аппарата птиц, так как знание закономерностей развития органов пищеварения как органов, непосредственно обеспечивающих обмен веществ в организме, является биологической основой для разработки полноценного кормления и повышения продуктивных качеств выращиваемой птицы. Однако до сих пор морфология органов пищеваре-

ния домашних птиц при воздействии биологически активных веществ в общем и ферментных препаратов в частности остается слабо изученной. Поэтому изучение использования ферментных препаратов как кормовой добавки при выращивании птиц является актуальным и представляет определенный интерес для науки и производства [3].

К числу таких кормовых добавок относится ферментный препарат Ронозим NT (СТ), активное вещество которого представлено фитазой. Действие препарата направлено на повышение усвояемости фитатного фосфора, а также уменьшения выделения фосфора с экскрементами, что, во-первых, сопровождается повышением продуктивных качеств птиц, во-вторых, снижает загрязнение окружающей среды экскрементами с неусвоенными птицей питательными веществами [4].

На основании вышеизложенного целью нашего исследования является оценка влияния ферментного препарата Ронозим NT (СТ) на морфофункциональное состояние тонкого отдела кишечника подопытной птицы на фоне различного уровня фосфора в рационе.

### Материалы и методы исследования

Исследования проведены в условиях экспериментально-биологической клиники (виварий) Оренбургского государственного университета на модели цыплят-бройлеров кросса «Смена-7».

Для проведения эксперимента было отобрано 180 семидневных цыплят-бройлеров, из числа которых методом пар-аналогов были сформированы шесть групп (n=30), конт-

рольная и пять опытных. В первую неделю эксперимента подопытная птица находилась в условиях подготовительного периода. Птица контрольной группы в основной учетный период получала основной рацион, сформированный согласно рекомендациям ВНИТИП (2010), с содержанием фосфора 0,7%. I опытная группа получала основной рацион с добавлением ферментного препарата Ронозим NP (СТ) в дозировке 150 мг/кг. В рационе птиц II и IV опытных групп уровень фосфора был 0,6% и 0,58% соответственно. Птица III и V опытных групп получала рацион с уровнем фосфора 0,6% и 0,58% с включением ферментного препарата Ронозим NP (СТ) в дозировке 150 мг/кг.

Ронозим NP (СТ) – ферментный препарат (Компания DSM Nutritional Products), представляет собой фитазу (активность – 1000 ед/г), полученную из *Peniophora lycii* путем глубинной ферментации генетически модифицированных микроорганизмов *Aspergillus oryzae*.

Для проведения исследований в 42-дневном возрасте у цыплят-бройлеров были отобраны образцы тонкого отдела кишечника с целью оценки его морфофункционального состояния, методом гистологического анализа.

Для проведения гистологических исследований образцы тонкого отдела кишечника фиксировали в 10% нейтральном формалине. На ротаторном микротоме HM340E изготавливали серийные парафиновые срезы кишечника толщиной 5–6 мкм в количестве 10 срезов с каждого образца. После депарафинации гистологические срезы окрашивали гематоксилином и эозином; для определения кислых и нейтральных мукополисахаридов – альциановым синим

по Сиддмену и Шифф-реактивом по Хочкис-Мак-Манусу (ШИК-реакция) соответственно. В приготовленных гистологических препаратах кишечника с помощью окуляр-микрометра МОВ-1x15 на единицу условной площади (200 мкм) в 10 полях зрения при увеличении 100 (об. 10, ок. 10) проводили подсчет количества элементов рельефа (ворсинок и крипт) и их качественные характеристики (высота, ширина и глубина у крипт) [5, 6].

Полученные данные были обработаны современными методами многомерного статистического анализа с использованием стандартных программ.

### Результаты и их обсуждение

При гистологической оценке установлено, что слизистая оболочка кишечника имела сходную гистологическую архитектуру как в контрольной, так и опытных группах. В целом наблюдалось преобладание тонких, высоких ворсинок с широкими полнокровными капиллярами, высокой клеточной инфильтрацией собственной пластинки слизистой, крипты широкие и глубокие.

В кишечнике бройлеров опытных групп произошли количественные и качественные сдвиги содержания мукополисахаридов в эпителии ворсин и крипт, изменения клеточного состава собственной пластинки слизистой. Отмечены значительные колебания морфометрических параметров слизистой оболочки кишки, которые наиболее ярко проявились при добавлении в рацион ферментного препарата (I, III, V опытные группы) и в меньшей степени – при снижении в рационе содержания уровня фосфора (II, IV опытные группы) (таблица 1).

Таблица 1. Морфологические характеристики рельефа слизистой тонкой кишки

Показатели	Группа					
	Контроль	I опытная	II опытная	III опытная	IV опытная	V опытная
Высота ворсинок, мкм	1100±74,37	1200±80,32	1100±73,31	1400±69,11	1100±72,12	1700±80,41 <sup>c</sup>
Ширина ворсинок, мкм	50,0±2,81	70,0±2,88 <sup>a</sup>	60,0±3,73	105±4,35 <sup>b</sup>	75,0±3,87	115±4,11 <sup>c</sup>
Ширина крипт, мкм	45,0±2,31	55,0±2,76	60,0±2,85	70,0±2,98	35,0±3,11	70,0±3,71 <sup>c</sup>
Глубина крипт, мкм	40,0±2,00	60,0±2,15 <sup>a</sup>	95,0±1,1	90,0±1,2	55,0±4,00	100±4,21 <sup>c</sup>
Количество ворсинок	11,0±0,88	14,0±0,97	17,0±1,11	18,0±1,35	17,0±1,51	23,0±1,87
Высота эпителия ворсин, мкм	25,0±1,41	45,0±1,60 <sup>a</sup>	25,0±1,53	35,0±1,67 <sup>b</sup>	25,0±1,72	45,0±1,80 <sup>c</sup>
Высота эпителия крипт, мкм	13,0±0,98	25,0±1,15 <sup>a</sup>	35,0±1,62	45,0±1,91 <sup>b</sup>	23,0±1,79	35,0±1,98 <sup>c</sup>

Примечание: а – P≤0,05 при сравнении I опытной с контрольной;  
 б – P≤0,05 при сравнении III опытной с II опытной группой;  
 с – P≤0,05 при сравнении V опытной с IV опытной группой.

В частности, в контрольной, II и IV опытных группах высота эпителия ворсинок была на одном уровне, тогда как при введении в рацион фитазы высота ворсинок в I опытной группе увеличилась на 45% ( $P \leq 0,05$ ), в III опытной группе на 29% ( $P \leq 0,05$ ), в V опытной на 45% ( $P \leq 0,05$ ).

По мере уменьшения фосфора в рационе увеличивалась ширина ворсинок, так при сравнении с контрольной группой во II опытной группе ширина увеличилась на 16,7%, в IV – на 33,4%. При введении ферментного препарата в I, III и IV опытные группы их ширина достоверно увеличилась на 28,6%, 57,1% и 34,8% относительно контрольной, II и IV опытных групп соответственно.

При количественной оценке крипт отмечается аналогичная тенденция, так при достоверных отличиях их ширина в V опытной группе была на 50,0% больше, чем в IV опытной группе. Глубина крипт при добавлении фитазы в рацион увеличилась, в частности, в I опытной группе данный показатель был на 33,4% ( $P \leq 0,05$ ) больше, чем в контрольной группе, в V опытной группе на 45% больше, чем в IV опытной группе.

При оценке высоты эпителия ворсин и крипт установлено, что снижение фосфора в рационе не оказало влияния на высоту эпителия ворсинок, тогда как введение в рацион ферментного препарата сопровождалось достоверным увеличением данного показателя. Аналогичная картина наблюдалась по остальным показателям рельефа слизистой тонкой кишки цыплят-бройлеров.

Кроме того, во всех группах в межучеточной ткани собственной пластинки отмечено содержание полиморфного клеточного инфильтрата (КИ) с большим содержанием иммуннокомпетентных клеток (лимфоцитов, лимфобластов, макрофагов, в меньшей степени плазматических клеток и небольшого числа лейкоцитов). Более обильный КИ наблюдался в базальной и средней частях ворсинок, а также в межкрипталльной зоне, преобладая при этом в ворсинках.

Плотность КИ значительно уменьшалась в опытных группах при снижении уровня фосфора в рационе (II, IV опытные группы).

Отмечено неравнозначное состояние эпителиоцитов ворсин и крипт слизистой, кото-

рое предположительно связано со структурой рациона. Объединяющими признаками явились высокая пролиферативная активность и усиленная функция эпителия. Данные показатели были наиболее выражены в ворсинках и крипах слизистой цыплят, получающих дополнительно к рациону ферментный препарат Ронозим NP (СТ).

Наблюдалось своеобразное содержание мукополисахаридов (МПС) в эпителии ворсин и крипт: преобладание Шифф+ МПС, которые в виде капель располагаются в большем количестве в апикальной части клеток. Кислые МПС (гликозаминогликаны) в небольшом количестве преимущественно содержатся в эпителии крипт. У птиц II и IV опытных групп отмечено уменьшение содержания МПС, особенно Шифф+ веществ, сконцентрированных в основном в апикальной части эпителиоцитов.

Добавление в рацион ферментного препарата способствовало повышению активности слизистой оболочки тонкой кишки подопытных цыплят.

Микрорельеф при этом сопровождался увеличением размеров ворсин и крипт, особенно в V опытной группе. Наблюдалось повышение пролиферативной активности эпителия. Следует подчеркнуть, что одновременно с пролиферацией возросло содержание межэпителиальных клеток (ЛФ), которые несут значительную регулируемую функцию для поддержания не только защитной функции, но и обменных процессов кишечника.

При визуальном исследовании содержания МПС в слизистой оболочке кишечника цыплят, в рацион которых добавляли ферментный препарат, не было выявлено существенных различий их накопления и распределения в цитоплазме эпителиоцитов. Преобладающими МПС явились Шифф+ вещества, которые в виде крупных капель накапливались в базальной и апикальной частях эпителиальных клеток ворсинок и крипт. КМПС, чаще диффузно, располагались в апикальной области эпителия.

Подводя итог данным гистологического исследования слизистой оболочки тонкой кишки цыплят-бройлеров, можно констатировать, что морфофункциональное состояние исследуемого органа в значительной степени определялось изменением структуры рациона,

а именно добавлением в его состав ферментного препарата Ронозим NT (СТ) и снижением содержания фосфора.

Снижение в рационе уровня фосфора существенно не повлияло на морфофункциональное состояние слизистой тонкой кишки. Тем не менее ряд морфометрических показателей (ширина и глубина крипт) указывают на умеренное усиление обменных процессов в опытных группах. При добавлении в основной рацион цыплят-бройлеров ферментного препарата показатели морфометрии резко возрастают, причем как на фоне ОР (I опытная группа), так и при снижении уровня фосфора (III и V опытные группы), что свидетельствует

о повышении функциональной активности слизистой кишечника при дополнительном введении в рацион изучаемого ферментного препарата Ронозим NT (СТ).

Таким образом, применение ферментного препарата Ронозим NT (СТ) оказывает влияние на микрорельеф слизистой тонкого отдела кишечника, что сопровождается вариабельностью морфометрических показателей в пределах физиологической нормы. Гистологический анализ тонкого отдела кишечника подопытной птицы подтверждает положительное влияние препарата Ронозим NT (СТ) на морфофункциональное состояние слизистой тонкой кишки цыплят-бройлеров.

14.05.2012

**Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ в рамках ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009–2013 годы по гранту № 16.740.11.0676 от 07.06.2011 г.**

**Список литературы:**

1. Фисинин, В.И. Кормление сельскохозяйственной птицы / В.И. Фисинин, И.А. Егоров, Т.М. Околелова [и др.]. – Сергиев Посад: ВНИТИП, 2004. – 375 с.
2. Егоров, И. Фитаза в растительных комбикормах для бройлеров / И. Егоров, Э. Анчиков // Птицеводство. – 2007. – №4. – С. 40–45.
3. Лебедев, С.В. Влияние ферментных препаратов на пищевую ценность продуктов птицеводства / С.В. Лебедев, Е.П. Мирошников, О.В. Кван, О.Н. Канавина // Микроэлементы в медицине. – 2004. – Вып. 4. – Т. 5. – С. 88–89.
4. Русакова, Е.А. Влияние фитазы на некоторые биохимические показатели крови цыплят-бройлеров / Е.А. Русакова, С.В. Лебедев, Н.Ю. Копанева // Вестник Оренбургского государственного университета. – 2011. – №12 (131). – С. 421–423.
5. Пирс, Э. Гистохимия теоретическая и прикладная / Э. Пирс. – М.: Изд-во иностр. лит-ры, 1962. – 962 с.
6. Меркулов, Г.В. Курс патогистологической техники / Г.В. Меркулов. – М.: Медицина, 1969. – 424 с.

Сведения об авторах:

**Русакова Елена Анатольевна**, аспирант кафедры общей биологии

Оренбургского государственного университета, e-mail: inst\_bioelement@mail.ru

**Лебедев Святослав Валерьевич**, заведующий лабораторией Института биоэлементологии

Оренбургского государственного университета, доктор биологических наук, e-mail: LSV74@list.ru

**Сипайлова Ольга Юрьевна**, научный сотрудник Института биоэлементологии

Оренбургского государственного университета, кандидат биологических наук

e-mail: inst.bioelement@mail.ru

**Кван Ольга Вилориевна**, научный сотрудник Института биоэлементологии

Оренбургского государственного университета, кандидат биологических наук

e-mail: kwan111@yandex.ru

**Косян Дианна Багдасаровна**, магистр кафедры общей биологии

Оренбургского государственного университета

460018, г. Оренбург, пр-т Победы 13, тел. (3532) 372482, e-mail: kosyan.diana@mail.ru

**UDC 636.084.42**

**Rusakova, E.A., Lebedev S.V., Sipaylova O.Y., Kvan O.V., Kosyan D.B.**

E-mail: inst\_bioelement@mail.ru

**EFFECT OF PHYTASE ON MORPHOFUNCTIONAL STATE OF INTESTINAL OF BROILER CHICKENS AT DIFFERENT LEVELS OF PHOSPHORUS IN THE DIET**

The paper presents results of experimental studies on the morphofunctional state of the intestine of the experimental birds by using an enzyme preparation Ronozim NT (CT) at different levels of phosphorus in the diet. Histological analysis of intestine (thin section) confirms the positive effect of the drug Ronozim NT (CT) on the morphological characteristics of the mucosal relief of the small intestine of broiler chickens.

Key words: small intestine, mucopolysaccharides, PAS-reaction, phytase, chickens, broilers, phosphorus, Ronozim NT (CT).