

Особенности микробиоценоза толстой кишки цыплят-бройлеров при введении в рацион *Chlorella vulgaris* Beijer. IPPASC-2014/1

М.В. Сычёва, д.б.н., профессор, ФГБОУ ВО Оренбургский ГАУ; **Н.В. Немцева**, д.м.н., профессор, ФГБУН ИКВС УрО РАН

В условиях развёртывания программы по импортозамещению в сельском хозяйстве Российской Федерации запланировано значительное увеличение поголовья продуктивных животных и птиц, что влечёт за собой необходимость наращивания собственного высокотехнологичного и высокоэффективного кормопроизводства. Известно, что доля кормов в себестоимости производства мяса скота, птиц и рыбы достигает 70%. Снижение затрат на корма позволит удешевить себестоимость животноводческой продукции на 30% [1].

В условиях промышленных комплексов для повышения эффективности использования кормов применяют различные кормовые добавки, биостимуляторы отечественного и зарубежного производства. Однако многие из них являются дорогими, небезопасными, а иногда и малоэффективными. В поисках решения задачи по изысканию альтернативных активаторов роста для кормления животных и птицы в последние годы возрос интерес к натуральным добавкам растительного происхождения [2]. Таким компонентом могут явиться зелёные водоросли, в том числе рода *Chlorella*, хороший рост и высокая урожайность которых являются предпосылкой для их успешного промышленного использования.

Несмотря на несомненные успехи, достигнутые при изучении биологических эффектов хлореллы *in vivo* [3, 4], недостаточно исследован микробиологический статус желудочно-кишечного тракта птицы при назначении *Chlorella vulgaris*. Между тем известно, что обеспечение высокой продуктивности сельскохозяйственной птицы напрямую связано с её здоровьем, а именно с формированием устойчивого микробиоценоза кишечника [5].

Всё вышеизложенное и предопределило цель настоящего исследования – изучить особенности микробиоценоза толстой кишки цыплят-бройлеров при введении в рацион *Chlorella vulgaris* Beijer. IPPASC-2014/1.

Материал и методы исследования. Исследование проводили на цыплятах-бройлерах кросса ROSS 308. По принципу аналогов были сформированы две группы по 15 гол. в каждой. При формировании групп подопытных птиц и проведении научных изысканий руководствовались «Методикой проведения научных и производственных исследований по кормлению сельскохозяйственной птицы» [6].

Кормление птиц осуществляли сухими сбалансированными комбикормами с параметрами питательности, соответствующими рекомендуемым нормам кормления ВНИТИП. Цыплята имели свободный доступ к корму и воде. Птицы опытной группы к основному рациону добавляли суспензию *C. vulgaris* Beijer. IPPASC-2014/1 с концентрацией $2,8 \cdot 10^{10}$ клеток/мл.

Экспериментальный период у цыплят-бройлеров продолжался с суточного до 40-дневного возраста, в течение которого отбирали содержимое толстого отдела кишечника в 10-, 20-, 30- и 40-суточном возрасте.

Бактериологическое исследование содержимого толстого отдела кишечника проводили с помощью метода серийных разведений [7]. Анаэробных представителей облигатной микрофлоры толстой кишки (*Bifidobacterium* spp.) выделяли в полужидком бульоне Шедлера (HiMedia Laboratories Pvt. Ltd., India). Для выделения микроаэрофильных представителей облигатной микрофлоры (*Lactobacillus* spp.) использовали плотную питательную среду MRS (HiMedia Laboratories Pvt. Ltd., India). Качественный и количественный учёт факультативной микробиоты осуществляли на средах Эндо и висмут-сульфитный агар (ФБУН ГНЦ ПМБ, Россия) (выделение бактерий семейства *Enterobacteriaceae*); Enterococcosel-Agar (CONDA, Испания) (выделение бактерий рода *Enterococcus*). Выделенные микроорганизмы идентифицировали по культуральным, тинкториальным, морфологическим и биохимическим признакам.

Полученные в ходе исследования численные материалы были обработаны статистически с определением средних значений, среднего квадратичного отклонения и средней ошибки. Достоверность различий сравниваемых показателей оценивалась по t-критерию Стьюдента [8]. Статистическая обработка данных проводилась с помощью автоматизированной программы «Биостатистика».

Результаты исследования. Анализ кишечного микробиоценоза птицы свидетельствует о значительных различиях в исследуемых группах. У цыплят, в рацион которых была введена микроводоросль хлорелла, количество лактобактерий к 10-м суткам эксперимента было на 17% меньше, чем в контроле. Максимальных значений рассматриваемый показатель у птиц контрольной группы достигал к 20-м суткам эксперимента, составив $1,7 \cdot 10^9$ КОЕ/г против $1,1 \cdot 10^9$ КОЕ/г у цыплят опытной группы. Но если у цыплят-бройлеров, получавших суспензию хлореллы, количество *Lactobacillus* spp. постепенно росло и к 30-м сут. составило $2,0 \cdot 10^9$ КОЕ/г, то у птиц контрольной

группы к концу первого месяца жизни содержание этого микроорганизма значительно снизилось до $5,1 \cdot 10^8$ КОЕ/г ($p < 0,01$). К концу наблюдений данный показатель оставался на 45% больше у птиц опытной группы, составляя $7,1 \cdot 10^9$ КОЕ/г против $3,9 \cdot 10^9$ КОЕ/г в контроле. По-видимому, суспензия хлореллы, попадая в желудочно-кишечный тракт цыплят, прежде всего становится оптимальной питательной средой, на которой бурно развиваются молочнокислые бактерии, в том числе лактобациллы [9]. Аналогичные результаты, свидетельствующие об увеличении численности лактобацилл в кишечном микробиоценозе кур-несушек, получавших хлореллу, были получены P. Janczyk et al. (2009) [10].

Динамика количественного содержания бифидобактерий в кишечнике птицы изучаемых групп на протяжении всего эксперимента была сходной. Анализ частоты обнаружения *Bifidobacterium* spp. выявил их появление в кишечнике птицы всех групп к 20-м сут. эксперимента. Начиная с 20-х суток наблюдения у цыплят-бройлеров опытной группы количество бифидобактерий постепенно росло и к 40-м сут. эксперимента достигло максимума – $6,7 \cdot 10^{10}$ КОЕ/г, в то время как у птиц, не получавших суспензию хлореллы, к концу наблюдения содержание этого микроорганизма было значительно ниже – на 49% ($P < 0,01$).

Эшерихии были обнаружены в составе микробиоценоза кишечника 10-дневных цыплят как контрольной, так и опытной групп. Однако у птиц, получавших суспензию хлореллы, их концентрация была в 4,9 раза меньше. В содержимом кишечника цыплят опытной группы на 20-е сутки эксперимента количество *E. coli* составило $5,8 \cdot 10^7$ КОЕ/г против $1,2 \cdot 10^8$ КОЕ/г в контроле. Значительно сниженным по сравнению с контролем (в 29 раз) оказалось содержание *E. coli* в кишечнике бройлеров опытной группы на 30-е сут. эксперимента. К концу наблюдения плотность популяции кишечных палочек в кишечном биотопе бройлеров опытной группы не изменялась и составила $5,0 \cdot 10^6$ КОЕ/г, что может свидетельствовать о стабилизации кишечного микробиоценоза у птицы, получавшей суспензию *C. vulgaris* Beijer. IPPASC-2014/1. У бройлеров контрольной группы к 40-м сут. эксперимента концентрация эшерихий существенно снижалась – до $2,1 \cdot 10^7$ КОЕ/г, незначительно превышая аналогичный показатель у птицы опытной группы.

В структуре патологии сельскохозяйственных птиц существенное место занимают инфекционные заболевания, в этиологии которых значительную долю составляют патогенные микроорганизмы рода *Salmonella* [11]. Численность микроорганизмов этого рода в содержимом толстого отдела кишечника птицы контрольной и опытной групп на 10-е сут. эксперимента практически не отличалась, составив $2,2 \cdot 10^2$ и $2,3 \cdot 10^2$ КОЕ/г соответственно. Однако уже

к 20-м суткам наблюдения уровень колонизации кишечного биотопа сальмонеллами был в 2,8 раза выше у птицы контрольной группы. Сопоставлением количественных показателей микрофлоры кишечника у 30-суточных цыплят-бройлеров отмечалась статистически значимое ($P < 0,05$) уменьшение плотности популяции сальмонелл в кишечном содержимом птицы, получавшей суспензию хлореллы, до $1 \cdot 10^3$ КОЕ/г против $1,3 \cdot 10^3$ КОЕ/г в контроле. Максимальных значений рассматриваемый показатель у бройлеров контрольной и опытной групп достигал к концу эксперимента, составляя $17,0 \cdot 10^4$ и $15,5 \cdot 10^4$ КОЕ/г соответственно.

Полученные нами данные согласуются с результатами исследований иностранных авторов. Так, на увеличение концентрации лактобацилл и снижение показателя обсеменённости содержимого кишечника сальмонеллами и *E. coli* на фоне введения в рацион птиц хлореллы указывают Н.К. Kang et al. (2017) [12].

Изучение динамики *Proteus* spp. выявило раннее заселение ими пищеварительного тракта цыплят-бройлеров контрольной группы (с 10-суточного возраста) и максимальное количественное содержание в толстом отделе кишечника на 20-е сутки жизни, не превышающее 10^5 КОЕ/г. У птиц опытной группы бактерии рода *Proteus* были обнаружены только на 30-е сутки эксперимента.

Выявленное нами снижение численности условно-патогенных микроорганизмов в толстой кишке цыплят-бройлеров может быть связано не только с усилением колонизационной резистентности кишечного биотопа за счёт увеличения представителей мутуалистической микрофлоры, но и с наличием антагонистической активности у штамма *C. vulgaris* Beijer. IPPASC-2014/1 в отношении бактерий родов *Salmonella* и *Proteus*.

Бактерии рода *Enterococcus* в кишечном биотопе обследуемых цыплят разных возрастов обеих групп не обнаружены.

Выводы.

1. Выпаивание цыплятам-бройлерам суспензии хлореллы существенно регулирует микробиологический статус желудочно-кишечного тракта птицы, создавая благоприятные условия для развития представителей мутуалистической микрофлоры родов *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* и сдерживая колонизацию кишечника *Escherichia* spp., *Salmonella* spp. и *Proteus* spp.

2. Полученные результаты открывают перспективы использования *C. vulgaris* Beijer. IPPASC-2014/1 не только в качестве кормовой биодобавки, но и в качестве средства коррекции микробиоценоза кишечника птиц.

Литература

1. Растрьгин В.С. Кормопроизводство в условиях импортозамещения // Новая наука: Опыт, традиции, инновации. 2016. № 5-3 (83). С. 7–9.
2. Langhout P. New additives for broiler chickens // World Poultry. 2000. No. 16(3). P. 22–27.

3. Queiroz J. de S., Barbosa C.M., Rocha M.C. et al. *Chlorella vulgaris* treatment ameliorates the suppressive effects of single and repeated stressors on hematopoiesis // Brain Behav. Immun. 2013. No. 29. P. 39–50.
4. An B.K., Kim K.E., Jeon J.Y. et al. Effect of dried *Chlorella vulgaris* and *Chlorella* growth factor on growth performance, meat qualities and humoral immune responses in broiler chickens // Springerplus. 2016. Vol. 5 (1). P. 718.
5. Каминская М.В., Стефанышин О.М., Нечай Г.И. и др. Сравнительная возрастная динамика становления микро-биоценоза слепой кишки кур и перепелов // Биология тварин. 2014. Т. 16. № 4. С. 50–58.
6. Егоров И.А., Околелова Т.М., Тищенко А.Н. и др. Методика проведения научных и производственных исследований по кормлению сельскохозяйственной птицы: рекомендации. Сергиев Посад: ВНИ ТИП. 2004. С. 17–25.
7. Минушкин О.Н. Методика определения микробиоценоза кишечника // Академия. 1999. № 2. С. 17.
8. Ашмарин И.П., Воробьев А.А. Статистические методы в микробиологических исследованиях. Л.: Гос. изд-во мед. лит., 1962. 180 с.
9. Зинченко Е.В., Панин А.Н. Иммунобиотики в ветеринарной практике. Пушино: ОНТИ ПНЦ РАН, 2000. 164 с.
10. Janczyk P., Halle B., Souffrant W.B. Microbial community composition of the crop and ceca contents of laying hens fed diets supplemented with *Chlorella vulgaris* // Poult. Sci. 2009. Vol. 88(11). P. 2324–2332.
11. Ленченко Е.М., Мансурова Е.А., Моторыгин А.В. Характеристика токсигенности энтеробактерий, выделенных при желудочно-кишечных болезнях сельскохозяйственных животных // Сельскохозяйственная биология. 2014. № 2. С. 94–104.
12. Kang H.K., Park S.B., Kim C.H. Effects of dietary supplementation with a chlorella by-product on the growth performance, immune response, intestinal microflora and intestinal mucosal morphology in broiler chickens // J. Anim. Physiol. Anim. Nutr. 2017. No. 101. Vol. 2. P. 208–214.