

УДК: 636.5: 611.73.013

DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.3.271

## ОСОБЕННОСТИ МИКРОСТРУКТУРЫ ЧЕТЫРЕХГЛАВОЙ МЫШЦЫ БЕДРА ЦЫПЛЯТ-БРОЙЛЕРОВ КРОССА «СМЕНА-9» ПРИ РАЗЛИЧНЫХ РАЦИОНАХ КОРМЛЕНИЯ

**Степанишин В.В.**<sup>1\*</sup> – канд. биол. наук, доц., доц. каф. анатомии и гистологии животных имени профессора А.Ф. Климова; **Позябин С.В.**<sup>1</sup> – д-р ветеринар. наук, проф., зав. каф. ветеринарной хирургии; **Борхунова Е.Н.**<sup>1</sup> – д-р биол. наук, доц., зав. каф. анатомии и гистологии животных имени профессора А.Ф. Климова; **Козлова М.А.**<sup>2</sup> – канд. биол. наук, ст. науч. сотр. лаборатории патологии клетки, заведующая группой электронной микроскопии Референс-центра инфекционной и вирусной онкопатологии; **Кузнецова М.А.**<sup>1</sup> – асс. каф. анатомии и гистологии животных имени профессора А.Ф. Климова; **Пашина Н.Р.**<sup>1</sup> – канд. биол. наук, доц., асс. кафедры анатомии и гистологии животных имени профессора А.Ф. Климова.

<sup>1</sup> ФГБОУ ВО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА имени К. И. Скрябина»;

<sup>2</sup> НИИ морфологии человека им. акад. А.П. Авцына ФГБНУ «РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского».

\*stepanishin.victor@yandex.ru

**Ключевые слова:** четырехглавая мышца бедра, бройлер, гистология, трансмиссионная электронная микроскопия, микроморфометрия, пробиотик, пребиотик, сорбент.

**Keywords:** quadriceps femoris, broiler, histology, transmission electron microscopy, micromorphometry, probiotic, prebiotic, sorbent.

Поступила: 10.09.2024

Принята к публикации: 20.09.2024

Опубликована онлайн: 01.10.2024



### РЕФЕРАТ

В статье представлены результаты исследований гистологических и ультраструктурных характеристик четырехглавой мышцы бедра цыплят-бройлеров кросса Смена-9 на 35-е сутки постэмбрионального онтогенеза при использовании кормовых добавок (пробиотик, пребиотик, сорбент) отечественного производства в дополнение к основному рациону кормления. Работа реализована в рамках тематического плана-задания на выполнение научно-исследовательских работ по государственному заказу Минсельхоза России (Соглашение от 30.01.2023 № 082-03-2023-238) по теме: «Разработка теоретических основ и методологии практического использования морфологических критериев в оценке качества и безопасности продукции птицеводства». Показано, что на фоне применения кормовых добавок происходит увеличением веса цыплят. При этом микроструктура прямой головки четырехглавой мышцы бедра птиц контрольной и опытных групп, сохраняя общий план строения (наличие мышечного и соединительнотканного компонентов, пуч-

ковая организация), неодинакова. На основании исследований методом световой и трансмиссионной электронной микроскопии показано, что признаки морфологической зрелости скелетной мышечной ткани наиболее выражены при использовании пробиотика, в случае применения пребиотика и сорбента мышечные волокна растут менее синхронно, что проявляется вариабельностью их толщины. Толщина мышечных волокон, их пучков, состояние митохондриального аппарата, плотность упаковки миофибрилл и их толщина, степень развития эндомизия и перимизия и наличия белой жировой ткани могут явиться объективными морфологическими и морфометрическими критериями для оценки состояния мышечной ткани, которое коррелирует со вкусовыми качествами мяса птицы. Данные о структурной организации четырехглавой мышцы нового отечественного кросса расширяют теоретическую базу в области миологии сельскохозяйственных птиц, в том числе в плане выявления морфологических признаков реализации генетического потенциала на фоне применения разных рационов кормления в технологии выращивания кур, что позволяет оперативно оценить эффективность технологии выращивания кур и прогнозировать повышение продуктивности.

#### ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Согласно отчету Rabobank Global Poultry Quarterly Q3, ситуация на продовольственных рынках начинает стабилизироваться после четырехлетнего кризиса, что в значительной степени связано с увеличением потребления мяса птицы и ростом предложения. Одной из ключевых причин восстановления является рост потребления мяса птицы, который, по прогнозам, составит от 1,5% до 2%. Это связано с улучшением покупательской способности потребителей, особенно в развивающихся странах. В Юго-Восточной и Южной Азии наблюдается активный рост спроса на продукцию птицеводства с добавленной стоимостью. Потребители становятся более избирательными и готовы платить больше за качественные продукты, что открывает новые возможности для производителей [2, 10, 18, 20].

По данным информационных систем Россельхознадзора "ВетИС" и "Аргус-Фито", по итогам шести месяцев 2024 года по сравнению с аналогичным периодом прошлого года российские производители увеличили объем поставок за границу животноводческой продукции, в частности, по итогам первого полугодия экспорт мяса и пищевых субпродуктов птицы составил 172,4 тыс. тонн. Для наращивания темпов экспорта продукции птицеводства за рубеж и обеспечения населения России качественными продуктами питания, необходимо полностью реализовать стратегию технологического

суверенитета на каждом из этапов производства продукции в отраслях сельского хозяйства и перерабатывающей промышленности [1, 2, 3, 19].

Одним из приоритетных направлений развития сельского хозяйства на сегодняшний день признано создание отечественных конкурентоспособных мясных кроссов кур бройлерного типа. Во исполнение Указа № 350 и Постановления Правительства № 996 была разработана и утверждена от 28 мая 2020 г. № 782 подпрограмма «Создание отечественного конкурентоспособного кросса мясных кур бройлерного типа», целью которой является разработка и коммерциализация отечественного конкурентоспособного кросса мясных кур бройлерного типа, которая включает в себя как меры поддержки научных и образовательных организаций в части проведения научных исследований, так и сельхозтоваропроизводителей, которые будут продвигать отечественный кросс на рынке птицы. Одно из существенных отличий нового отечественного кросса «Смена-9» от конкурентов – его адаптированность к российским условиям и устойчивость к различным стрессам. Высокий генетический потенциал и преимущества позволяют широко использовать его на птицеводческих предприятиях в различных регионах России [11, 14, 15].

Морфологическая и структурная оценка органов и систем, используемых в качестве продуктов и субпродуктов потребителями, представляет собой серьезную

научную перспективу для оценки нового отечественного кросса цыплят-бройлеров [6, 7, 8, 9]. Так в структуре скелетной мышечной ткани размер и количество мышечных волокон, композиция и распределение соединительной ткани, а также содержание внутримышечного жира играют роль в определении внешнего вида мяса, консистенции, цвета, нежности, сочности, вкуса и пищевой ценности продукта [12]. Особенную важность вопросы структурного и ультраструктурного контроля скелетной мускулатуры приобретают в связи с использованием в технологии выращивания цыплят-бройлеров различных кормовых добавок, выступающих как стимуляторы роста и продуктивности животных, а также как альтернатива антибактериальным препаратам, использование которых ставит преграду при осуществлении экспорта продукции на международные рынки [13, 23-27]. Несмотря на то, что в доступной научной литературе представлено достаточное количество работ, посвященных изучению кормовых добавок на цыплятах-бройлерах, а также данных о гистологическом строении органов и систем при использовании разных рационов кормления, на сегодняшний день отсутствуют сведения о комплексной оценке структуры мышечной ткани новых отечественных кроссов в связке с алиментарным фактором [16, 17, 21]. Учитывая вышеизложенное, изучение особенностей структурной организации скелетной мускулатуры отечественного кросса цыплят-бройлеров при использовании в рационе различных кормовых добавок представляет актуальную научную проблему, решение которой имеет важное социально-экономическое значение для страны. Цель исследования – выявить особенности микроструктуры и микроморфометрических показателей четырехглавой мышцы цыплят-бройлеров кросса «Смена-9», выращенных на основном рационе и при использовании разных кормовых добавок.

#### **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS**

Работа выполнена в рамках тематиче-

ского плана-задания на выполнение научно-исследовательских работ по государственному заказу Минсельхоза России (Соглашение от 30.01.2023 №082-03-2023-238) по теме: «Разработка теоретических основ и методологии практического использования морфологических критериев в оценке качества и безопасности продукции птицеводства». Научные исследования были проведены на базе кафедры анатомии и гистологии животных имени профессора А.Ф. Климова ФГБОУ ВО МГАВМиБ – МВА имени К.И. Скрябина, исследования методом трансмиссионной электронной микроскопии реализованы в лаборатории патологии клетки НИИ морфологии человека им. акад. А.П. Авцына ФГБНУ "РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского". Все манипуляции с лабораторными животными проводили согласно Директиве 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского Союза от 22 сентября 2010 г. по охране животных, используемых в научных целях. Объектом исследования были выбраны цыплята-бройлеры кросса «Смена-9», выращенные в условиях клеточного содержания в виварии. Возраст исследуемой птицы – 35 суток. Во всех группах параметры микроклимата, условия содержания, плотность посадки, фронт кормления и поения были одинаковыми, соответствующими нормам ФНЦ «ВНИТИП» РАН (2013) и руководству по выращиванию кросса мясного кросса «Смена 9» под общей редакцией академика РАН В.И. Фисинина (2021).

Цыплят подразделяли на 4 группы (по 25 птиц в каждой): «Контроль», «Пробиотик», «Пребиотик», «Сорбент». В группе «Контроль» цыплята-бройлеры получали полнорационный комбикорм согласно периоду выращивания. На протяжении всего периода выращивания к полнорационному комбикорму птице группы «Пребиотик» добавляли пребиотик «Ньюмит» в дозировке 0,5 г/кг корма, птице группы «Пробиотик» - пробиотик «Бифидонол» в дозировке 0,5 г/кг, птице группы «Сорбент» - добавку «Сорбент Эко» в дозировке 2 г/кг.

Перед выводением из эксперимента

птицу взвешивали, определяя живую массу на торсионных весах с точностью до 1 г. После выведения из опыта (путем декапитации) взвешивали изолированное бедро с расположенными на нем мышцами на лабораторных электронных весах ВЛТЭ-510 (ГОСТ OIMLR 76-1-2011).

Материал для гистологических исследований отбирали сразу после убоя и фиксировали в 10%-м растворе нейтрального формалина в течение 24-х часов. После промывки в проточной образцы мышц обезжизняли в дегидратирующем растворе «Изопреп» и заливали в парафин по общепринятой методике. Изготовление гистологических срезов осуществляли с помощью микротомы LEICA RM 2235. Срезы толщиной 4-5 мкм окрашивали гематоксилином и эозином. Микропрепараты изучали с помощью микроскопов Microscreen и Jenamed-2, совмещенных с цифровой системой визуализации объектов для реализации микрофотосъемки объектов и программой анализа цифрового изображения ImageScore 4.0. Цифровой материал подвергали статистической обработке с помощью программы Statistica 8.1 (Statsoft). Для выявления отличительных количественных характеристик мышц использовали критерий Краскела-Уоллеса, различия считали значимыми при значениях  $p \leq 0,05$ .

Для исследования методом трансмиссионной электронной микроскопии образцы поверхностной грудной мышцы размером 2 мм<sup>3</sup> фиксировали 2,5%- раствором глутарового альдегида на фосфатном буфере (pH 7,4), дофиксировали в 1%- растворе тетраоксида осмия (OsO<sub>4</sub>), обезжизняли в этаноле по общепринятой схеме, в процессе обезжизнения контрастировали 1%- уранилацетатом на 70%- этаноле и проводили заливку в смесь эпон-аралдит по стандартной методике (Deu, P. (2022)). Ультратонкие срезы получали на ультратоме LKB-III (LKB Produkter, Швеция), дополнительно контрастировали цитратом свинца по Рейнольдсу и просматривали в просвечивающем электронном микроскопе JEM-100CX (JEOL, Япония). Фотофиксация препаратов на увели-

чении  $\times 14000$  (площадь поля зрения 100 мкм<sup>2</sup>) осуществлялась с помощью камеры Gatan ES500W Erlangshen (Model 782), (Gatan Inc., США). Полученные снимки с увеличением использовались для проведения морфометрического исследования толщины и плотности расположения миофибрилл, определения плотности расположения, размера и количества митохондрий. Эти показатели отражают интенсивности метаболических и биосинтетических процессов в мышечных волокнах. При морфометрических исследованиях изображений, полученных методом трансмиссионной электронной микроскопии, использовали программный комплекс Fiji, построенный на базе программы ImageJ v2 с соответствующими плагинами. Измерения проводили в микрометрах после предварительной геометрической калибровки по оцифрованной при том же увеличении шкале. Статистическую обработку результатов выполняли в программе GraphPad Prism v8.41 (США). Для выявления нормальности распределения использовали тест Д'Агостино-Пирсона. При нормальном распределении использовали t-тест Стьюдента для парного сравнения и тест Тьюки для сравнения трёх и более групп. Различия групп исследования с контрольной оценивали с помощью теста Даннета. При ненормальном распределении использовали тест Манна-Уитни для парного сравнения и тест Данна для сравнения трёх и более групп. Статистически значимыми считали различия при уровне статистической значимости ( $\alpha$ ) или вероятности ошибки отклонения от нулевой гипотезы или ниже 5% ( $p < 0,05$ ). При построении графиков изображали арифметическое среднее и стандартное отклонение. Силу различий обозначали следующим образом: «\*» соответствует  $p < 0,05$ ; «\*\*» –  $p < 0,005$ ; «\*\*\*» –  $p < 0,0005$ .

#### РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Исследования живой массы цыплят позволяет определить один из основных показателей, который учитывается при селекции и технологии выращивания продуктивных сельскохозяйственных живот-

ных. В возрасте 35-ти суток максимальное значение показателя живой массы выявлено в группе «Пробиотик»: оно составило 2370,14±19,16 г, что превышает контрольные значения на 185 г. В группах «Пребиотик» и «Сорбент» отмечено

увеличение показателя массы в сравнении с контрольной группой на 119 г и 86 г, соответственно (таблица 1). Это свидетельствует о превышении целевых значений данного показателя при использовании изучаемых кормовых добавок.

**Таблица 1 – Живая масса цыплят-бройлеров кросса Смена-9 на 35-е сутки, г. Ме (Q<sub>1</sub>–Q<sub>3</sub>)**

| Показатель     | Группы              |                      |                      |                      |
|----------------|---------------------|----------------------|----------------------|----------------------|
|                | «Контроль»<br>n=25  | «Пребиотик»<br>n=25  | «Пробиотик»<br>n=25  | «Сорбент»<br>n=25    |
| Живая масса, г | 2183<br>(2110÷2207) | 2302*<br>(2281÷2330) | 2370*<br>(2350÷2397) | 2269*<br>(2245÷2293) |

\* Статистически значимые отличия групп «Пребиотик», «Пробиотик», «Сорбент» от контрольной группы ( $p \leq 0,05$ ).

**Таблица 2 – Характеристика мышц бедра на кости бройлеров Смена-9 по весовым показателям, г. Ме (Q<sub>1</sub>–Q<sub>3</sub>)**

| Показатель            | Группы           |                 |               |               |
|-----------------------|------------------|-----------------|---------------|---------------|
|                       | Контроль<br>n=25 | Д1<br>n=25      | Д2<br>n=25    | Д3<br>n=25    |
| Вес бедра на кости, г | 108 (96÷115)     | 164 (158÷178) * | 105 (103÷111) | 121 (110÷135) |

\*\* Статистически значимые отличия групп «Пребиотик», «Пробиотик», «Сорбент» от контрольной группы ( $p \leq 0,05$ ).

**Таблица 3 – Микроморфометрические характеристики четырехглавой мышцы бедра цыплят-бройлеров кросса Смена-9 при разных рационах кормления, Ме (Q<sub>1</sub>–Q<sub>3</sub>)**

| Группа птиц              | Толщина мышечных волокон, мкм                                                         | Толщина пучков мышечных волокон, мкм |                    | Толщина соединительнотканых структур, мкм |                                                                                                   | Кол-во гемокapилляров в перимизии |
|--------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------|--------------------|-------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------|
|                          |                                                                                       | 1 порядка                            | 2 порядка          | эндоимизий                                | перимизий                                                                                         |                                   |
| «Контроль»<br>n=25       | крупные 23,7<br>(20,4÷26,7)<br>средние 13,5<br>(11,2÷15,2)                            | 89,7<br>(87,2÷100)                   | 223<br>(187÷267)   | 4,9<br>(3,4÷6,1)                          | 22,4<br>(17,6÷25,4)                                                                               | 17<br>(15÷19)                     |
| «Пребиотик»<br>»<br>n=25 | крупные 26,2<br>(21,5÷32,7)<br>средние 18,6<br>(13,7÷23,2)<br>малые 8,5<br>(6,5÷10,3) | 193,6*<br>(159÷238)                  | 386*<br>(338÷414)  | 6,4<br>(4,4÷7,8)<br>и 11,1*<br>(8,1÷14,5) | 24,8<br>(19,8÷29,4)                                                                               | 20<br>(18÷21)                     |
| «Пробиотик»<br>»<br>n=25 | 30,7<br>(25,2÷33,5)                                                                   | 96<br>(84÷126)                       | 256<br>(186,2÷348) | 6,2<br>(4,1÷7,9)                          | 35,5<br>(25,2÷43,1)                                                                               | 16<br>(13÷18)                     |
| «Сорбент»<br>n=25        | крупные 50,4<br>(40,3÷61,2)<br>средние 26,9<br>(21,1÷32,4)                            | 87,5<br>(78,4÷96,3)                  | 257<br>(222÷275)   | 3,1<br>(2,4÷3,6)<br>и 5,8<br>(4,8÷7,3)    | 45,4*<br>(40,3÷51,2)<br>встречаются прослойки до 150 мкм толщиной, содержащие белую жировую ткань | 22<br>(18÷25)                     |

*\* Статистически значимые отличия в значениях групп «Пребиотик», «Пробиотик», «Сорбент» от контрольной группы ( $p \leq 0,05$ ).*

Вес мышц бедра (с бедренной костью) был максимален в группе «Пребиотик», минимален в контрольных образцах и группе «Пробиотик», группа «Сорбент» занимала промежуточное положение по данному показателю (таблица 2).

Светомикроскопические исследования прямой головки четырехглавой мышцы бедра показали сходство ее микроструктуры во всех исследуемых группах: так, мышечные волокна были тонкими (тоньше, чем в поверхностной грудной мышце той же птицы [11], при этом эндомизий и перимизий хорошо выражены, в результате чего пучки мышечных волокон отличаются рыхлой упаковкой (рисунки 2-9).

При сравнительной оценке гистологических и микроморфометрических характеристик изучаемой мышцы показано, что толщина мышечных волокон в исследованных группах была вариабельной. Так, в группах «Контроль» и «Пребиотик» хорошо различимы толстые волокна и волокна средней толщины, их морфометрические показатели не имеют отличий. В то же время в группе «Пробиотик» волокна были мономорфны (рисунки 4-7, таблица 3), а их толщина соответствовала таковой толстым волокнам в группах «Контроль» и «Пребиотик». В группе «Сорбент» отчетливо различимы три категории волокон: толстые (их толщина вдвое превышает таковую волокон групп «Пробиотик» и толстых волокон групп «Контроль» и «Пребиотик»), средние (по толщине соответствуют толстым волокнам групп «Контроль» и «Пребиотик») и тонкие (таблица 3).

Выявленные различия могут быть связаны, на наш взгляд, с неодинаковой реализацией ростовых процессов в изучаемой мышце на фоне применения кормовых добавок. По-видимому, более активно ростовые процессы происходят в группе «Пробиотик», в результате чего к сроку убоя (35 суток) в структуре мышцы обнаруживаются преимущественно сфор-

мировавшиеся, закончившие рост мышечные волокна значительной толщины. Вариабельность толщины волокон в группах «Контроль», «Пребиотик» и особенно – в группе «Сорбент» могут указывать на продолжающийся рост мышечных волокон: так, толстые мышечные волокна соответствуют сформированным, а тонкие и средние – формирующимся. Можно полагать, что более зрелым, качественным будет являться мясо со сформированными мышечными волокнами.

Толщина пучков мышечных волокон 1 порядка в группе «Пребиотик» больше, чем в группах «Контроль», «Пробиотик» и «Сорбент» (таблица 3). При этом в группе «Пребиотик» выявлена наиболее рыхлая упаковка мышечных волокон за счет значительной толщины эндомизия (рисунки 4, 5, таблица 3). В группах «Контроль», «Пробиотик» и «Сорбент» мышечные волокна в пучках 1 порядка расположены более плотно из-за умеренной толщины эндомизия (рисунки 6-9, таблица 3).

В группе «Пребиотик» пучки мышечных волокон 2 порядка обладают большей толщиной, чем в группах «Контроль», «Пробиотик» и «Сорбент», которые по этому показателю сходны между собой. При этом в группах «Пробиотик» и «Сорбент» перимизий развит более значительно и содержит больше долек белой жировой ткани, чем в группах «Контроль» и «Пребиотик» (рисунки 6-9, таблица 3), что соответствует большей нежности мяса и его сочности.

По количеству гемокапилляров все опытные и контрольные образцы не имеют существенных отличий (таблица 3).

Исследования четырехглавой мышцы бедра цыплят-бройлеров кросса Смена-9 методом трансмиссионной электронной микроскопии показало, что ультраструктурные изменения возникали в митохондриальной сети мышечных волокон в группах «Пробиотик» и «Сорбент»: здесь

установлено достоверное уменьшение средней площади митохондрий (рисунок 9, таблица 4), что может отражать снижение метаболических процессов в мышечном волокне. В мышечной ткани птиц группы «Пробиотик» этот показатель

сочетается с признаками завершения ростовых процессов. По количеству митохондрий, а также по показателям толщины миофибрилл и плотности их расположения достоверных отличий в контрольной и опытных группах не обнаружено.

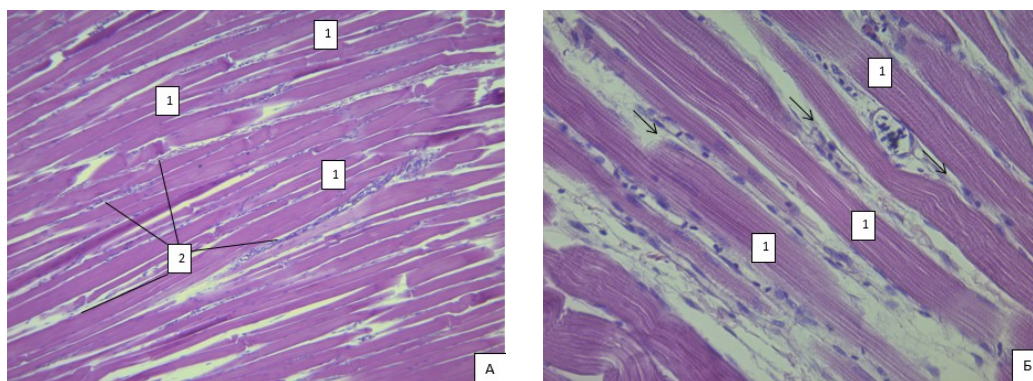


Рисунок 1 – Микроструктура четырехглавой мышцы бедра цыпленка-бройлера Смена 9. Группа «Контроль». Продольный срез.

А – общий вид: пучки мышечных волокон 2 порядка (1), перимизий (2).

Б – наблюдается рыхлое расположение миофибрилл в мышечных волокнах; поперечная исчерченность хорошо выражена. 1 – мышечное волокно, стрелками показан эндомизий. Гематоксилин и эозин, А – х40, Б – х400

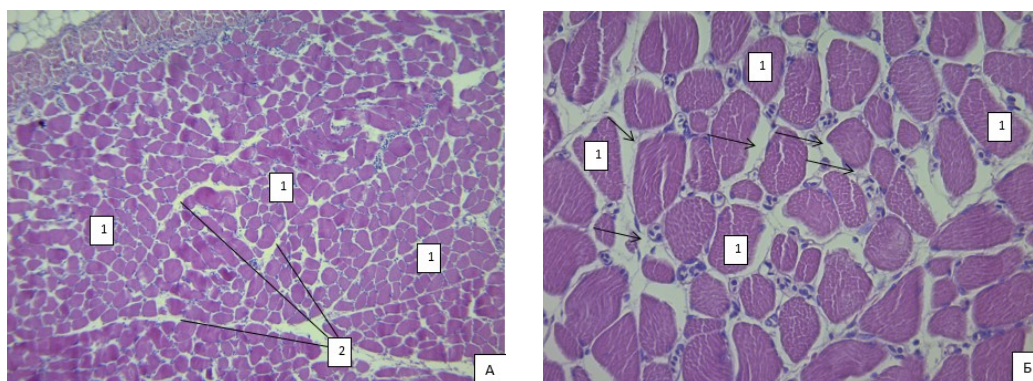


Рисунок 2 – Микроструктура четырехглавой мышцы бедра цыпленка-бройлера Смена 9. Группа «Контроль». Поперечный срез.

А – общий вид: пучки мышечных волокон 2 порядка (1), перимизий (2), в котором видны дольки белой жировой ткани (стрелка). Б – в мышечных волокнах (1) определяется рыхлое расположение миофибрилл, эндомизий (стрелки) хорошо выражен, богат гемокapиллярами. Миофибриллы в мышечных волокнах располагаются рыхло. Гематоксилин и эозин, А – х40, Б – х400.

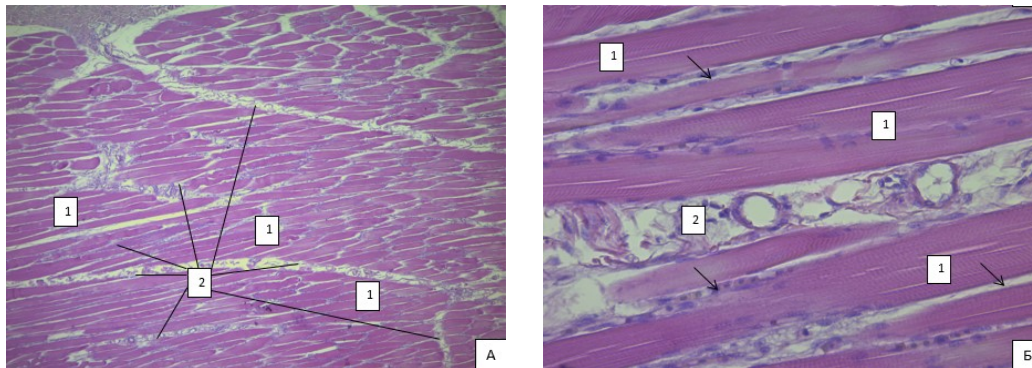


Рисунок 3 – Микроструктура четырехглавой мышцы бедра цыпленка-бройлера Смена 9. Группа «Пребиотик». Продольный срез.

А – общий вид: пучки мышечных волокон 2 порядка (1), перимизий (2).

Б – мышечные волокна (1) разной толщины, с хорошо заметной поперечной исчерченностью, эндомизий (стрелки) и перимизий (2) хорошо выражены. Миофибриллы расположены плотно. Гематоксилин и эозин, А –  $\times 40$ , Б –  $\times 400$ .

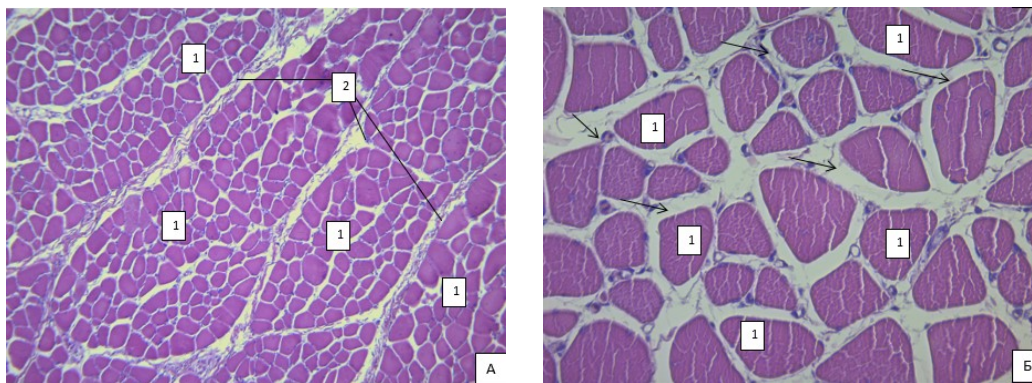


Рисунок 4 – Микроструктура четырехглавой мышцы бедра цыпленка-бройлера Смена 9. Группа «Пребиотик». Поперечный срез.

А – общий вид: мышечные пучки в структуре волокна, а также пучки мышечных волокон 2 порядка (1) расположены рыхло. 2 – перимизий, стрелками показан эндомизий.

Б – мышечные волокна (1) разного диаметра расположены рыхло, стрелками показан эндомизий. Эндомизий выражен в большей степени, чем в контроле.

Миофибриллы в мышечных волокнах располагаются плотно.

Гематоксилин и эозин, А –  $\times 40$ , Б –  $\times 400$ .

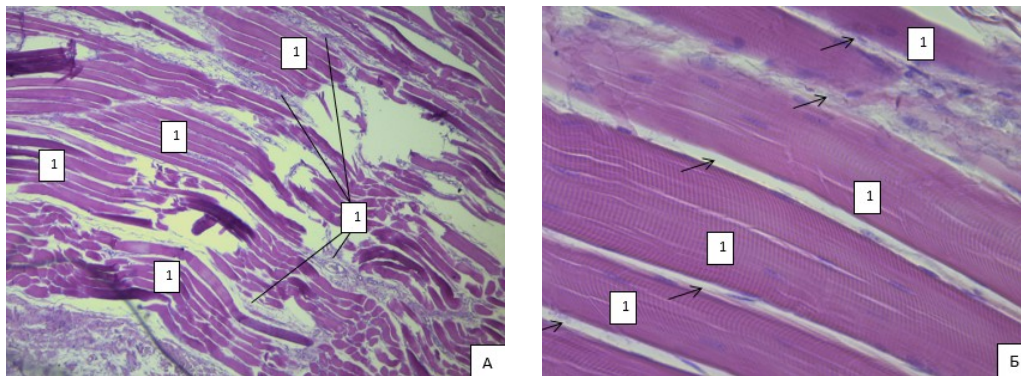


Рисунок 5 – Микроструктура четырехглавой мышцы бедра цыпленка-бройлера Смена 9. Группа «Пробиотик». Продольный срез.

А – общий вид: мышечные волокна расположены плотно в структуре пучков 2 порядка (1), перимизий (2) хорошо выражен. Б – мышечные волокна (1) с хорошо заметной поперечной исчерченностью, эндомизий (стрелки) тонкий.

Миофибриллы расположены плотно. Гематоксилин и эозин, А –  $\times 40$ , Б –  $\times 400$ .

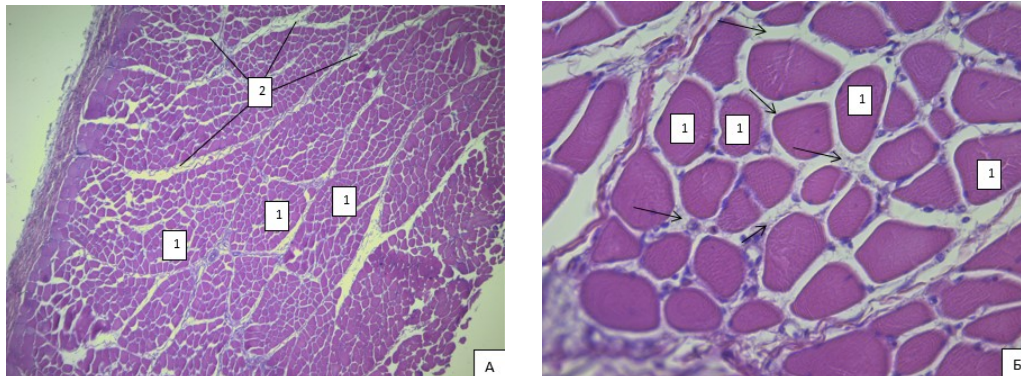


Рисунок 6 – Микроструктура четырехглавой мышцы бедра цыпленка-бройлера Смена 9. Группа «Пробиотик». Поперечный срез.

А – общий вид: мышечные пучки в структуре волокна расположены плотнее, чем в группах контроль и Д1; пучки мышечных волокон 2 порядка (1) расположены рыхло, так как перимизий (2) хорошо развит. Б – мышечные волокна (1) имеют разный диаметр, стрелками показан эндомизий. Миофибриллы в мышечных волокнах располагаются плотно. Гематоксилин и эозин, А –  $\times 40$ , Б –  $\times 400$ .

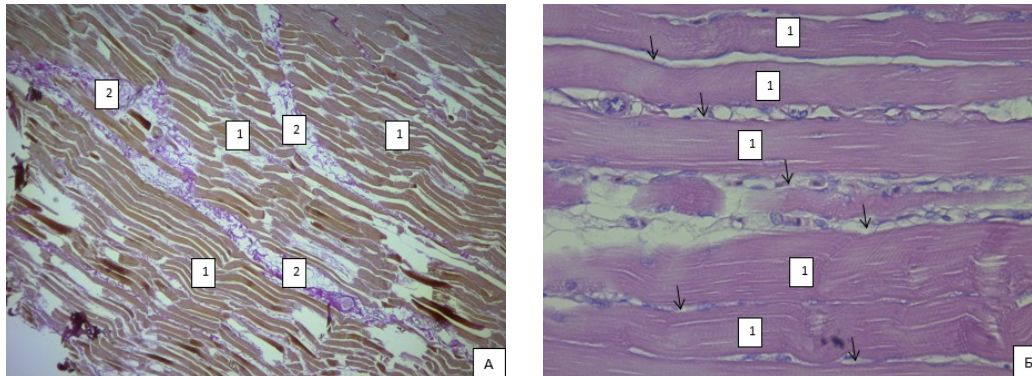


Рисунок 7 – Микроструктура четырехглавой мышцы бедра цыпленка-бройлера Смена 9. Группа «Сорбент». Продольный срез.

А – общий вид: мышечные волокна расположены плотно в структуре пучков 2 порядка (1), перимизий (2) хорошо выражен, содержит белую жировую ткань. Ван-Гизон,  $\times 40$ .

Б – мышечные волокна (1) разной толщины, с хорошо заметной поперечной исчерченностью, плотно упакованными миофибриллами. Стрелками показан эндомизий. Гематоксилин и эозин,  $\times 400$ .

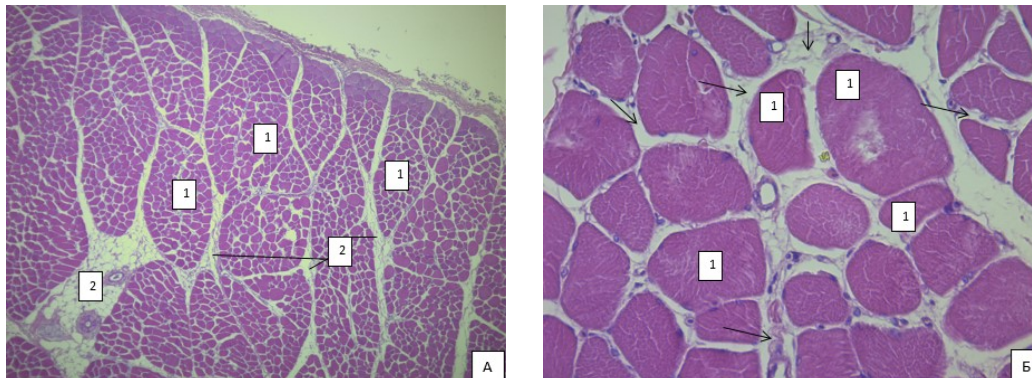


Рисунок 8 – Микроструктура четырехглавой мышцы бедра цыпленка-бройлера Смена 9. Группа «Сорбент». Поперечный срез.

А – общий вид: мышечные пучки в структуре волокна расположены плотнее, чем в группе контроль; пучки мышечных волокон 2 порядка (1) расположены рыхло, так как перимизий (2) хорошо развит.

Б – мышечные волокна (1) имеют разный диаметр, разделены тонким эндомизием (стрелками). Миофибриллы в мышечных волокнах располагаются плотно. Гематоксилин и эозин, А –  $\times 40$ , Б –  $\times 400$ .

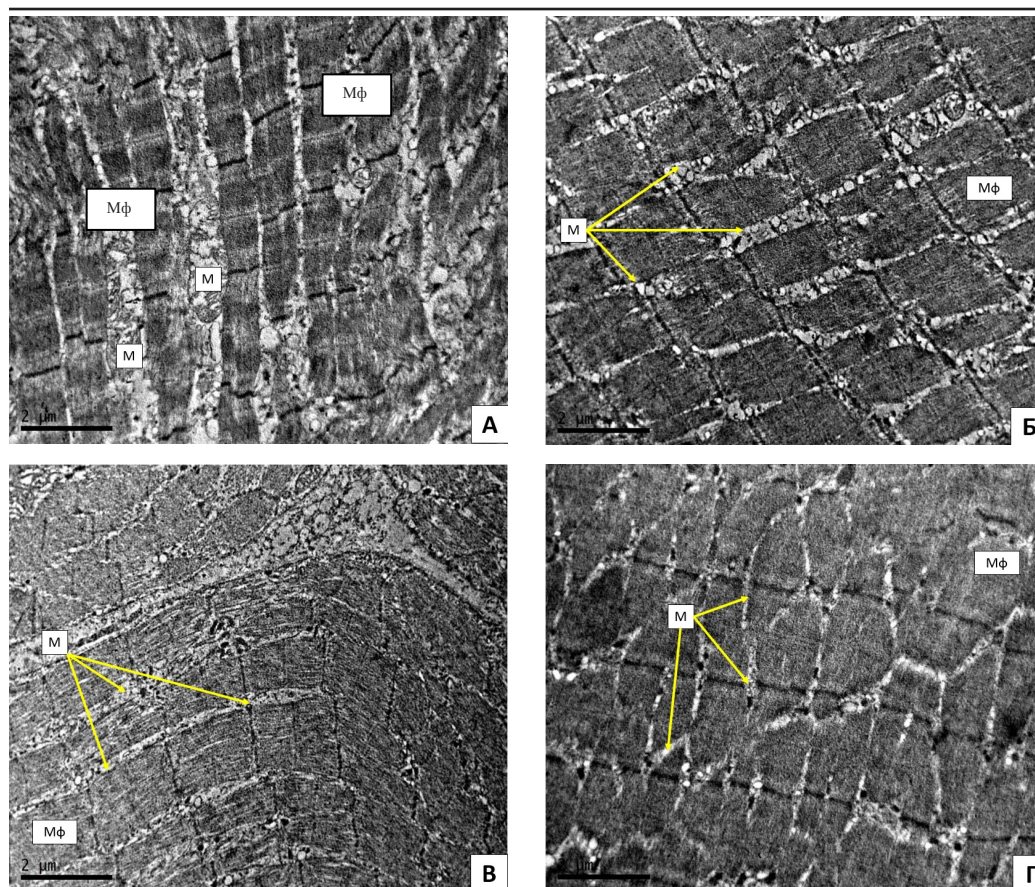


Рисунок 8 – Ультраструктура четырехглавой мышцы бедра кур кросса Смена 9. А – группа «Контроль»; Б – группа «Пробиотик»; В – группа «Пребиотик»; Г – группа «Сорбент». М – межфибрилярные митохондрии, Мф – миофибриллы. ТЭМ,  $\times 14000$ .

Таблица 4 – Результаты ультраструктурных микроморфометрических исследований четырехглавой мышцы бедра цыплят-бройлеров кросса «Смена 9» при разных рационах кормления

| Группа      | Площадь митохондрий в поле зрения, $\text{мкм}^2$ | Кол-во митохондрий в поле зрения, шт | Средняя площадь митохондрии, $\text{мкм}^2$ | Плотность миофибрилл на $100 \text{ мкм}^2$ , шт | Средняя толщина миофибрилл, $\text{мкм}$ |
|-------------|---------------------------------------------------|--------------------------------------|---------------------------------------------|--------------------------------------------------|------------------------------------------|
| «Контроль»  | $3,337 \pm 2,825$                                 | $2,71 \pm 1,25$                      | $1,230 \pm 0,727$                           | $12,38 \pm 2,13$                                 | $0,821 \pm 0,130$                        |
| «Пребиотик» | $2,021 \pm 2,382$                                 | $3,33 \pm 3,20$                      | $0,606 \pm 0,370$                           | $10,25 \pm 1,17$                                 | $1,062 \pm 0,105$                        |
| «Пробиотик» | $1,622 \pm 0,545$                                 | $4,57 \pm 1,13$                      | $0,355 \pm 0,202$ ***                       | $10,63 \pm 1,30$                                 | $0,932 \pm 0,081$                        |
| «Сорбент»   | $0,539 \pm 0,326$ *                               | $3,29 \pm 2,43$                      | $0,164 \pm 0,075$ ***                       | $11,38 \pm 0,92$                                 | $0,933 \pm 0,038$                        |

Примечание: здесь и далее – \*( $P \leq 0,05$ ); \*\*( $P \leq 0,005$ ); \*\*\*( $P \leq 0,0005$ ) – в сравнении с показателями животных контрольной группы каждого кросса.

## ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Результаты проведенных исследований позволяют утверждать, что применение кормовых добавок (пребиотика, пробиотика и сорбента отечественного производства) как дополнения к основному рациону оказывает положительное влияние на рост и развитие мышц у цыплят-бройлеров.

Доказано, что применение кормовых добавок позволяет получить увеличение прироста живой массы птицы в среднем на 130 г, а весовых характеристик мышц бедра - в среднем на 22 г. Кроме того, изменяется микроструктура мышцы. При анализе светооптической и ультраструктурной картины выявлены особенности структурной организации мышечных волокон и определены их размерные характеристики, различия в плотности их расположения в составе мышечных волокон, развитии эндомизия и перимизия.

На наш взгляд, признаки морфологической зрелости к 35-м суткам постэмбрионального развития наиболее выражены в четырехглавой мышце бедра птиц из группы «Пробиотик»: так, мышечные волокна монотонны, имеют значительную толщину, их митохондриальная сеть хорошо развита, но отличается уменьшением площади при плотном расположении миофибрилл, что может соответствовать завершению роста волокон. Эндомизий тонкий, что способствует плотному расположению мышечных волокон в пучках 1 порядка, но в то же время в мышце хорошо развит перимизий, содержащий белую жировую ткань. Все это может быть морфологическим коррелятом высоких питательности и вкусовых качеств мяса.

В группах «Пребиотик» и «Контроль» выявлены признаки незавершенности ростовых процессов в мышце: мышечные волокна имели неравномерный диаметр. Можно полагать, что мышечные волокна меньшего диаметра являются растущими, на что указывает и сильное развитие митохондриальной сети со значительной площадью митохондрий, соответствующее высокой интенсивности биосинтезов. При этом на фоне применения пребиоти-

ка в структуре мышцы формируется сильно развитый соединительнотканый компонент: значительным развитием отличается и эндомизий, и перимизий, при этом белой жировой ткани в них немного. В сочетании с морфологической незрелостью мышечных волокон это может снижать качество мясной продукции.

В группе «Сорбент» признаки морфологической незрелости мышцы были наиболее выражены: наряду с толстыми мышечными волокнами наблюдались многочисленные волокна малого и среднего диаметра, что в сочетании со снижением площади митохондрий может указывать на замедление развития мышцы. Не исключено, что сорбент может приводить к ухудшению усвоения организмом растущей птицы необходимых питательных веществ. Соединительнотканый компонент мышцы характеризуется тонким эндомизием и хорошо развитым перимизием, содержащим белую жировую ткань.

Представленные в работе данные позволяют научно обосновать использование кормовых добавок при выращивании цыплят-бройлеров отечественных кроссов. Выявленные морфологические и микроморфометрические показатели скелетной мускулатуры могут служить критериями оценки продуктивного потенциала сельскохозяйственной птицы и выступать в качестве эталонных при проведении исследований, направленных на получение экологически чистой и безопасной продукции птицеводства.

## FEATURES OF THE MICROSTRUCTURE OF THE QUADRICEPS FEMORAL MUSCLE OF BROILER CHICKENS OF THE SMENA-9 CROSS WITH VARIOUS FEEDING DIETS

Stepanishin V.V.<sup>1\*</sup> – cand. Biol. sciences, assoc., assoc. kaf. anatomy and Histology of animals named after Professor A.F. Klimov; Pozyabin S.V.<sup>1</sup> – Doctor of Veterinary Sciences, Professor, Head of the Department of Veterinary Surgery; Borkhunova E.N.<sup>1</sup> – Doctor of Biological Sciences, Associate Professor, Head of the Depart-

ment. anatomy and histology of animals named after Professor A.F. Klimov; **Kozlova M.A.**<sup>2</sup> – Cand. Biol. sciences, art. scientific. sotr. Laboratory of Cell Pathology, Head of the Electron Microscopy Group of the Reference Center for Infectious and Viral Oncopathology; **Kuznetsova M.A.**<sup>1</sup> – ass. kaf. anatomy and histology of animals named after Professor A.F. Klimov; **Pashina N.R.**<sup>1</sup> – Cand. Biol. sciences, associate professor, ass. of the Department of Anatomy and Histology of Animals named after Professor A.F. Klimov.

<sup>1</sup> Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology – MBA named after K. I. Scriabin;

<sup>2</sup> Research Institute of Human Morphology named after Akad. A.P. Avtsyn Federal State Budgetary Educational Institution "RNTSKH named after Academician B.V. Petrovsky".

\*stepanishin.victor@yandex.ru

#### ABSTRACT

The article presents the results of studies of the histological and ultrastructural characteristics of the quadriceps femoral muscle of broiler chickens of the Smena-9 cross on the 35th day of postembryonic ontogenesis using feed additives (probiotic, prebiotic, sorbent) of domestic production in addition to the basic feeding diet. The work was implemented within the framework of the thematic task plan for the implementation of research works under the state order of the Ministry of Agriculture of the Russian Federation (Agreement No. 082-03-2023-238 dated 30.01.2023) on the topic: "Development of theoretical foundations and methodology for the practical use of morphological criteria in assessing the quality and safety of poultry products." It has been shown that against the background of the use of feed additives, an increase in the weight of chickens occurs. At the same time, the microstructure of the rectus head of the quadriceps femoris of birds of the control and experimental groups, while maintaining the general plan of structure (the presence of muscular and connective tissue components,

bundle organization), is not the same. Based on studies using light and transmission electron microscopy, it was shown that the signs of morphological maturity of skeletal muscle tissue are most pronounced when using a probiotic, in the case of using a prebiotic and a sorbent, muscle fibers grow less synchronously, which is manifested by the variability of their thickness. The thickness of muscle fibers, their bundles, the state of the mitochondrial apparatus, the packing density of myofibrils and their thickness, the degree of development of endomysium and perimysium and the presence of white adipose tissue can be objective morphological and morphometric criteria for assessing the condition of muscle tissue, which correlates with the taste qualities of poultry meat. Data on the structural organization of the quadriceps muscle of the new domestic cross expand the theoretical base in the field of the myology of farm birds, including in terms of identifying morphological signs of the realization of genetic potential against the background of the use of different feeding diets in chicken rearing technology, which allows us to quickly assess the effectiveness of chicken rearing technology and predict an increase in productivity.

#### СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Авельцов, Д. Ю. Рынок мяса и мясной продукции: состояние и перспективы в России и мире / Д. Ю. Авельцов // Птица и птицепродукты. – 2022. – № 1. – С. 19-20.
2. Буяров, А. В. Производство и переработка продукции птицеводства в современных экономических условиях: тренды и инновации / А. В. Буяров, В. С. Буяров, И. В. Комоликова // Вестник аграрной науки. – 2023. – № 3(102). – С. 133-143. – DOI 10.17238/issn2587-666X.2023.3.133.
3. Белугин А. Ю., Белугина Т. А. Оценка национальной продовольственной безопасности при экспортной ориентации сельского хозяйства России // АПК: Экономика, управление. – 2021. – №. 3. – С. 13-19.
4. Гончаров, В. Д. Современное состояние животноводства России / В. Д. Гончаров,

- С. Г. Сальников // Инвестиции в России. – 2023. – № 5(340). – С. 18-30.
5. Закономерности роста мясных кур / В. Е. Никитченко, Д. В. Никитченко, Ж. В. Емануйлова [и др.] // Птицеводство. – 2023. – № 5. – С. 53-59. – DOI 10.33845/0033-3239-2023-72-5-53-59.
6. Борхунова Е. Н. Особенности микроорганизации поверхностной грудной мышцы у кур мясного и яичного направлений продуктивности / Е. Н. Борхунова, Г. В. Кондратов, В. В. Степанишин // Ветеринария, зоотехния и биотехнология, 2020. – № 12. – С. 29-35. – DOI: 10.26155/vet.zoo.bio.202012004.
7. Кондратов, Г. В. Особенности микроопического строения поверхностной грудной мышцы на 29-е сутки онтогенеза у кур яичного направления продуктивности / Г. В. Кондратов, В. В. Степанишин, С. Г. Кумиров // Ветеринарная морфология и патология, 2023. – № 2. – С. 26-32.
8. Кондратов, Г. В. Особенности строения скелетных мышц у кур Смена-8 и Андалузская голубая в отдельные сроки постэмбрионального онтогенеза / Г. В. Кондратов, В. В. Степанишин, С. Г. Кумиров // Ветеринария, зоотехния и биотехнология, 2021. – № 4. – С. 6-15. – DOI: 10.36871/vet.zoo.bio.202212106.
9. Кондратов, Г. В. Особенности структурного оформления поверхностной грудной мышцы у кур породы орловская ситцевая в эмбриогенезе / Г. В. Кондратов, В. В. Степанишин, С. Г. Кумиров // Ветеринарная морфология и патология, 2023. – № 1. – С. 24-30.
10. Мкртчян, М. В. Об импортозамещении на рынке мяса птица в России / М. В. Мкртчян, О. В. Титова // Здоровье - основа человеческого потенциала: проблемы и пути их решения. – 2022. – Т. 17, № 4. – С. 1827-1832.
11. Морфологическая характеристика поверхностной грудной мышцы цыплят-бройлеров кросса «Смена-9» при различных рационах кормления / В. В. Степанишин, Е. Н. Борхунова, Г. В. Кондратов [и др.] // Ветеринария, зоотехния и биотехнология. – 2023. – № 12. – С. 81-90. – DOI 10.36871/vet.zoo.bio.202312110.
12. Никитченко, В. Е. Закономерности постэмбрионального развития мясных кур (обзор) / В. Е. Никитченко, Д. В. Никитченко, Ж. В. Емануйлова [и др.] // Птицеводство. – 2023. – № 5. – С. 53-59. – DOI 10.33845/0033-3239-2023-72-5-53-59.
13. Основы кормления сельскохозяйственной птицы с применением кормовых добавок, альтернативных антибиотикам / Л. И. Подобед, И. И. Кочиш, И. Н. Никоненков, Ю. Е. Кузнецов. – Санкт-Петербург: ФГБОУ ВО СПбГАВМ, 2019. – 302 с. – ISBN 978-5-6041818-2-9.
14. Особенности строения четырехглавой мышцы бедра цыплят-бройлеров кросса «Смена-9» при различных рационах кормления / В. В. Степанишин, Е. Н. Борхунова, С. В. Позыбин [и др.] // Ветеринария, зоотехния и биотехнология. – 2023. – № 12-2(121). – С. 18-30. – DOI 10.36871/vet.zoo.bio.202312202.
15. Руководство по работе с птицей мясного кросса «Смена 9» с аутосексной материнской родительской формой (племенная работа; инкубация яиц; технология выращивания, содержания; кормление; здоровье и биобезопасность) / Д. Н. Ефимов, А. В. Егорова, Ж. В. Емануйлова, А. В. Иванов, А. П. Коноплева, А. А. Зотов, В. С. Лукашенко, А. А. Комаров, И. А. Егоров, Т. А. Егорова, Е. Ю. Байковская, В. А. Манукян, И. П. Салеева, А. Ш. Кавтарашвили, С. В. Смолов, под общей редакцией академика РАН В. И. Фисина // ФНЦ «ВНИТИП» РАН, 2021. – 95 с. – ISBN 978-5-6043379-7-4.
16. Степанишин, В. В. Применение фитобиотиков при выращивании сельскохозяйственной птицы / В. В. Степанишин, Г. В. Кондратов, А. А. Усачева // Наука и современное образование: актуальные вопросы, достижения и инновации: сборник статей V Международной научно-практической конференции, Пенза, 17 мая 2022 года. – Пенза: Наука и Просвещение (ИП Гуляев Г.Ю.), 2022. – С. 33-35.
17. Стрельникова, И. И. Эффективность применения фитобиотиков в птицеводстве / И. И. Стрельникова, Н. А. Кислицына // Вестник Марийского государственного университета. Серия: Сельско-

хозяйственные науки. Экономические науки. – 2020. – Т. 6. – №4(24). – С. 433-445.

18. Фисинин, В.И. Наращиваем производство мяса и яйца / В. И. Фисинин // Животноводство России. – 2022. – № S3. – С. 2-4.

19. Экспертно-аналитического центра агробизнеса «АБ-Центр»: «Российский рынок мяса и мясопродуктов. Выпуск №13 (№9/2023)»

20. Якунина, А. А. Управление качеством производства продукции птицеводства / А. А. Якунина, Л. Д. Котлярова // Актуальные вопросы развития науки и технологий: Сборник статей молодых учёных 73-й студенческой научной конференции, Караваево, 07 апреля 2022 года. – Караваево: Костромская государственная сельскохозяйственная академия, 2022. – С. 527-532.

21. Aristov, A.V. A way to increase the implementation of the bioresource potential of animals and birds / A.V. Aristov, L.A. Esaulova // VI International Conference on Agriproducts processing and farming. – 2020. – P. 422.

22. Dey, P. Electron Microscopy: Principle, Components, Optics and Specimen Processing. In: Basic and Advanced Laboratory Techniques in Histopathology and Cytology / Dey, P. // Springer, Singapore. – 2022. – pp 303–313. [https://doi.org/10.1007/978-981-19-6616-3\\_28](https://doi.org/10.1007/978-981-19-6616-3_28)

23. Gauthier, G.F. Cytological studies of fiber types in skeletal muscle / G.F. Gauthier, H.A. Padycyla // Ibid. – 1966. – Vol. 28. – N. 2. – P. 333-354.

24. Luxey, M., Development of the chick wing and leg neuromuscular systems and their plasticity in response to changes in digit numbers / M. Luxey, B. Berki, W. Heusermann, S. Fischer, P. Tschopp // (2020) Developmental Biology, 458 (2), pp. 133-140.

## REFERENCES

1. Aveltssov, D. Yu. The market of meat and meat products: the state and prospects in Russia and the world / D. Yu. Aveltssov // Poultry and poultry products. – 2022. – No. 1. – pp. 19-20.

2. Buyarov, A.V. Production and processing of poultry products in modern economic conditions: trends and innovations / A.V. Buyarov, V. S. Buyarov, I. V. Komolikhova // Bulletin of Agrarian Science. – 2023. – № 3(102). – Pp. 133-143. – DOI 10.17238/issn2587-666X.2023.3.133.

3. Belugin A. Yu., Belugina T. A. Assessment of national food security in the export orientation of agriculture in Russia // Agro-industrial complex: Economics, management. – 2021. – No. 3. – pp. 13-19.

4. Goncharov, V. D. The current state of animal husbandry in Russia / V. D. Goncharov, S. G. Salnikov // Investments in Russia. – 2023. – № 5(340). – Pp. 18-30.

5. Regularities of the growth of meat chickens / V. E. Nikitchenko, D. V. Nikitchenko, J. V. Yemanuilova [et al.] // Poultry farming. – 2022. – № 7-8. – pp. 53-58.

6. Borkhunova E. N. Features of microorganisms of the superficial pectoral muscle in chickens of meat and egg production directions / E. N. Borkhunova, G. V. Kondratov, V. V. Stepanishin // Veterinariya, Zootekhnika i Biotekhnologiya, 2020. – No. 12. – pp. 29-35. – DOI: 10.26155/vet.zoo.bio.202012004.

7. Kondratov, G. V. Features of the microscopic structure of the superficial pectoral muscle on the 29th day of ontogenesis in chickens of egg productivity / G. V. Kondratov, V. V. Stepanishin, S. G. Idols // Veterinary Morphology and Pathology, 2023. – No. 2. – pp. 26-32.

8. Kondratov, G. V. Features of the structure of skeletal muscles in chickens Smena-8 and Andalusian blue in certain periods of postembryonic ontogenesis / G. V. Kondratov, V. V. Stepanishin, S. G. Kumirov // Veterinariya, Zootekhnika i Biotekhnologiya, 2021. – No. 4. – pp. 6-15. – DOI: 10.36871/vet.zoo.bio.202212106.

9. Kondratov, G. V. Features of the structural design of the superficial pectoral muscle in Oryol calico chickens in embryogenesis / G. V. Kondratov, V. V. Stepanishin, S. G. Kumirov // Veterinary Morphology and Pathology, 2023. – No. 1. – pp. 24-30.

10. Mkrtchyan, M. V. On import substitution in the poultry meat market in Russia /

- M. V. Mkrtchyan, O. V. Titova // Health is the basis of human potential: problems and ways to solve them. - 2022. - Vol. 17, No. 4. - pp. 1827-1832.
11. Morphological characteristics of the superficial pectoral muscle of broiler chickens of the cross "Smena-9" at different feed rations / V. V. Stepanishin, E. N. Borhunova, G. V. Kondratov [and others] // Veterinariya, Zootekhnika i Biotekhnologiya, 2023. - No 12. - pp. 81-90. - DOI 10.36871/vet.zoo.bio.202312110.
12. Nikitchenko, V. E. Patterns of postembryonic development of meat chickens (review) / V. E. Nikitchenko, D. V. Nikitchenko, J. V. Yemanuilova [et al.] // Poultry farming. - 2023. - No. 5. - pp. 53-59. - DOI 10.33845/0033-3239-2023-72-5-53-59.
13. Fundamentals of feeding poultry with the use of feed additives alternative to antibiotics / L. I. Podobed, I. I. Kochish, I. N. Nikonov, Yu. E. Kuznetsov. - St. Petersburg: SPbGAVM, 2019. - 302 p. - ISBN 978-5-6041818-2-9.
14. Features of the structure of the quadriceps femoris muscle of broiler chickens cross "Smena-9" at different feeding rations / V. V. Stepanishin, E. N. Borhunova, S. V. Pozybabin [and others] // Veterinariya, Zootekhnika i Biotekhnologiya, 2023. - No. 12-2(121). - pp. 18-30. - DOI 10.36871/vet.zoo.bio.202312202.
15. Guidelines for working with poultry meat cross "Shift 9" with an autosex maternal parental form (breeding; egg incubation; technology of cultivation, maintenance; feeding; health and biosafety) / D. N. Efimov, A.V. Egorova, Zh. V. Emanuilova, A.V. Ivanov, A. P. Konopleva, A. A. Zotov, V. S. Lukashenko, A. A. Komarov, I. A. Egorov, T. A. Egorova, E. Y. Baykovskaya, V. A. Manukyan, I. P. Saleeva, A. Sh. Kavatashvili, S. V. Smolov, under the general editorship of Academician of the Russian Academy of Sciences V. I. Fisinin // FNC VNITIP RAS, 2021. - 95 p. - ISBN 978-5-6043379-7-4.
16. Stepanishin, V. V. The use of phytobiotics in the cultivation of poultry / V. V. Stepanishin, G. V. Kondratov, A. A. Usacheva // SCIENCE and MODERN EDUCATION: TOPICAL ISSUES, ACHIEVEMENTS and INNOVATIONS: collection of articles of the V International Scientific and Practical Conference, Penza, May 17, 2022. - Penza: Science and Education (IP Gulyaev G.Yu.), 2022. - pp. 33-35.
17. Strelnikova, I. I. The effectiveness of phytobiotics in poultry farming / I. I. Strelnikova, N. A. Kislitsyna // Bulletin of the Mari State University. Series: Agricultural Sciences. Economic sciences. - 2020. - T. 6. - №4 (24). - Pp. 433-445.
18. Fisinin, V.I. We are increasing the production of meat and eggs / V. I. Fisinin // Animal husbandry of Russia. - 2022. - No. S3. - pp. 2-4.
19. Of the Expert and analytical center of agribusiness "AB-Center": "The Russian market of meat and meat products. Issue No. 13 (No. 9/2023)"
20. Yakunina, A. A. Quality management of poultry production / A. A. Yakunina, L. D. Kotlyarova // Topical issues of science and technology development: A collection of articles by young scientists of the 73rd Student Scientific Conference, Karavaevo, April 07, 2022. - Karavaevo: Kostroma State Agricultural Academy, 2022. - pp. 527-532.
21. Aristov, A.V. A way to increase the implementation of the bioresource potential of animals and birds / A.V. Aristov, L.A. Esaulova // VI International Conference on Agriproducts processing and farming. - 2020. - P. 422.
22. Dey, P. Electron Microscopy: Principle, Components, Optics and Specimen Processing. In: Basic and Advanced Laboratory Techniques in Histopathology and Cytology / Dey, P. // Springer, Singapore. - 2022. - pp 303-313. [https://doi.org/10.1007/978-981-19-6616-3\\_28](https://doi.org/10.1007/978-981-19-6616-3_28)
23. Gauthier, G.F. Cytological studies of fiber types in skeletal muscle / G.F. Gauthier, H.A. Padycula // Ibid. - 1966. - Vol. 28. - N. 2. - P. 333-354.
24. Luxey, M., Development of the chick wing and leg neuromuscular systems and their plasticity in response to changes in digit numbers / M. Luxey, B. Berki, W. Heusermann, S. Fischer, P. Tschopp // (2020) Developmental Biology, 458 (2), pp. 133-140.