

УДК 636.5.082.474:591.3

## ПРИМЕНЕНИЕ БИОСТИМУЛЯТОРОВ ДЛЯ «РЕАНИМАЦИИ» ЭМБРИОНОВ ПЕРЕПЕЛОВ

И.С. Луговая - соиск. , к. б. н. (ФГБОУ ВО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии имени К.И. Скрябина»)

**Ключевые слова:** перепела, эмбриогенез, биостимуляторы, жизнеспособность, выводимость яиц. **Key words:** quail, embryogenesis, biostimulants, viability, hatchability of eggs.



### РЕФЕРАТ

На сегодняшний день перепеловодство является одной из интенсивно развивающихся отраслей сельского хозяйства, что связано с возможностью производства данной подотраслью диетических продуктов: мяса и яйца. В этой связи наращивание темпов роста перепеловодства за счет использования новых наукоемких и экологически безопасных способов становится актуальной задачей. Вместе с тем, как известно, успешность производства в значительной степени зависит от работы инкубатория. Разработанный способ стимуляции эмбрионального развития перепелов является эффективным и интересным направлением в данном вопросе. Использование биостимуляторов на раннем этапе онтогенеза, в эмбриогенезе способствовало снижению количества отходов инкубации и улучшению метаболизма. Так, прединкубационная обработка яиц перепелов японской породы композицией, состоящей из коламина, янтарной кислоты, серина и витамина В6 позволила увеличить жизнеспособность эмбрионов, а также оптимизировать обменные процессы в организме и повысить уровень неспецифической резистентности. В частности, вывод перепелят в опытной партии превысил контроль на 15,19% ( $p < 0,001$ ), а выводимость яиц - на 10,48% ( $p < 0,001$ ), масса желточного мешка с остаточным желтком в опыте была достоверно ниже в 2 раза. Также содержание общего белка в сыворотке крови перепелов опытной группы возросло на 18 % ( $p < 0,05$ ), альбумина - на 5,5 % активности-  $\alpha$ -амилазы на 6,9% ( $p < 0,05$ ), содержания глюкозы - на 3,4%, отмечено снижение активности ЛДГ в 1,3 раза и уменьшение содержания лактата - на 5,1% относительно контроля, при этом БАСК возросла на 3,8% ( $p < 0,05$ ), лизоцим - на 6,4 % ( $p < 0,05$ ).

### ВВЕДЕНИЕ

Промышленное птицеводство сопровождается значительными потерями будущего молодняка в период инкубации (Агеечкин А.П., 2010), что обусловлено отсутствием индивидуального подхода к высоко уязвимому факторам внешней среды активно развивающемуся организму, что также усугубляется критическими периодами его развития. Указанное обуславливает гибель особей на разных этапах эмбриогенеза и актуализирует необходимость их «реанимации» с использованием биостимуляторов. Ранее были

доказаны положительные эффекты применения композиции, состоящий из коламина, янтарной кислоты, серина и витамина В6 при обработке инкубационных яиц на цыплят мясного направления продуктивности (Азарнова Т.О., 2020). В связи с этим интересной является апробация указанной композиции биостимуляторов на инкубационных яйцах другого вида птицы, в частности - перепелов с целью увеличения жизнеспособности особей в эмбриональном периоде.

Известно, что янтарная кислота и её соли обладают адаптогенной способно-

стью и оказывают антигипоксическое, антиоксидантное и нейротропное действие, нормализуют энергетический, пластический обмен и общее физиологическое состояние организма (Евглевский А.А., 2013). Коламин через холин поддерживает интенсивность реакций митохондриальной дыхательной цепи, ингибирует окисление жиров, витамина А и других соединений, имеющих ненасыщенные углеродные связи, принимает активное участие в окислительно-восстановительных процессах в организме животных, оптимизирует фосфорный и белковый обмен и, следовательно, является стимулятором роста (Шипунова Н.Н., 2014). В свою очередь, серин - гликогенная аминокислота, входящая в состав фосфолипидов мембран клеток и активные центры многих ферментов (Гараева С.Н., 2009). В6 (пиридоксина гидрохлорид) – водорастворимый витамин, активной формой которого являются фосфорилированные производные – пиридоксальфосфат и пиридоксаминфосфат. Пиридоксальфосфат входит в состав многих ферментов, которые принимают различное участие в процессах метаболизма. Так, например, он является коферментом декарбоксилаз, трансаминаз, кенурениназы, триптофансинтазы, цистеиноназы. При участии витамина В6 протекает реакция образования δ-аминолевулиновой кислоты (синтеза гема), также он повышает эффективность использования глюкозы организмом. В медицине и ветеринарии используют витамин В6 в виде пиридоксина гидрохлорида. В процессе метаболизма он всасывается в тонком отделе кишечника и превращается в активные формы. Продукты его метаболизма выделяются почками и не являются токсичными (Логинова Н.Ю., 2017). Необходимо отметить, что пиридоксин способен оказывать влияние на обмен аминокислот, принимая участие в их трансаминировании, декарбоксилировании и пересульфировании. Вместе с серином он участвует в синтезе сфинголипидов. Также принимает участие в образовании и

дальнейшей трансформации биогенных аминов, таких, например, как коламин. Пиридоксин способен взаимодействовать с янтарной кислотой, с образованием оксипиридинов, спектр антиоксидантного и антигипоксического действия которых достаточно широк (Логинова Н.Ю., 2017).

Известно, что процесс тканевого дыхания обеспечивается двумя системами. Первая - система аэробного окисления субстрата - митохондриальная дыхательная цепь (МДЦ) (является основной системой энергообеспечения в организме животных и птицы), и вторая - система анаэробного окисления субстрата, локализованная в цитоплазме и состоящая из набора ферментов гликолиза (Слепнева Л.В., 2013). В своей жизнедеятельности эмбрион использует обе системы дыхания, однако возможные нарушения или полное прекращение работы МДЦ способствует развитию гипоксии, приводящее к гибели, в первую очередь, клеток нервной системы (Медведев Ю.В., 2000).

В то же время по данным Слепневой Л.В. (2013) в условиях гипоксии снижается энергопродукция клетки (количество АТФ) при возрастающей доле анаэробного гликолиза из-за субстратного фосфорилирования. Так, конечный продукт гликолиза – пируват – не подвергается декарбоксилированию и не вовлекается в цикл Кребса, а, принимая восстановительные эквиваленты от цитоплазматического НАДН+Н<sup>+</sup>, превращается в лактат с освобождением новых порций окисленной формы НАД<sup>+</sup>. Активация лактатдегидрогеназного механизма поставки восстановленного никотинамидадениндинуклеотида для гликолиза в конечном итоге приводит к истощению запасов гликогена и тканевому ацидозу вследствие накопления кислых продуктов метаболизма, прежде всего, в виде лактата. Избыточные концентрации которого тормозят последнюю реакцию гликолитического цикла. В итоге, регенерация никотинамидаденина прекращается, и, именно, дефицит пиридиннуклеотида останавливает гликолиз и анаэробную продукцию АТФ. Клеточный ацидоз способствует наруше-

нию проницаемости мембран, вплоть до разрушения лизосом. В цитоплазму поступают аутолитические ферменты. Развивается процесс аутолиза клеток, сопровождающийся повреждением тканей и органов. В организме формируются необратимые изменения. По данным Moran Jr E.T. (2007) недостаточное обеспечение энергосинтеза, нарушения обменных процессов не позволяют сформировать, прежде всего, неспецифическую резистентность в полной мере, что негативно сказывается на дальнейшей жизнеспособности особи.

Таким образом, учитывая возможность изучаемых биостимуляторов, многопланово реализовывать, прежде всего, антигипоксические, антиоксидантные и обменостимулирующие свойства, можно прогнозировать улучшение энергообеспечения организма даже в условиях гипоксии, что позволит «реанимировать» зародышей на всех этапах эмбриогенеза и оптимизировать условия для становления механизмов неспецифической резистентности.

Цель исследования - повышение жизнеспособности эмбрионов перепелов, путем прединкубационной обработки яиц композицией биостимуляторов.

#### **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

Исследования проведены в условиях ООО «Шепиловская птицефабрика» на яйцах перепелов японской породы. Были сформированы контрольная и опытная партии яиц по принципу аналогов. Контрольную партию обработке биостимуляторами не подвергали. Опытную партию обрабатывали водными растворами композиции - коламина, янтарной кислоты, серина и пиридоксина гидрохлорида в концентрациях: 0,1%, 0,1%, 0,2%, 0,001%. Все исследования осуществляли по общепринятым методикам. Для биохимических исследований брали кровь у перепелов суточного возраста путем декапитации для тотального обескровливания (n=5). Экспериментальные данные статистически обрабатывали с использованием Microsoft Office Excel. Подсчет среднего

количества  $M \pm m$  производили по методу Стьюдента. Данные считали достоверными при  $p < 0,05$ . Достоверность показателей оценивалась по t-критерию Стьюдента.

#### **РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ**

Сочетание представленных биостимуляторов оказало выраженное позитивное влияние на эмбриональную жизнеспособность на всех этапах эмбриогенеза (от сомитогенеза и формирования провизорных органов до периода вылупления), что подтверждается снижением категорий отходов инкубации, которые возникают на разных этапах эмбриогенеза и учет которых проводят после вывода цыплят (таблица 1).

Из таблицы 1 следует, что вывод перепелят в опытной партии достоверно превышает контроль на 15,19% ( $p < 0,001$ ), а выводимость яиц на 10,48% ( $p < 0,001$ ). Указанное обусловлено снижением всех категорий отходов инкубации, в частности таких как: «неоплод» и «кровяные кольца» равнозначно в 2,1 раза, «замершие» в 2,5 раза «задохлики» в 1,2 раза, «слабые» в 2,2 раза.

По данным Moran Jr E.T. (2007) на начальных стадиях развития эмбрионов птиц переносчиком кислорода является примитивный гемоглобин. Кислород лимитирован и поступает только путем диффузии через поры в скорлупе. Необходимо отметить, что до закладки в инкубатор на птицефабриках проводят технологически необходимые обработки для дезинфекции яиц различными веществами, которые имеют возможность частичного или полного проникновения внутрь яйца и способствуют деструкции и инактивации многих белков, в том числе гемоглобина и лизоцима (Зотов А.А., 2015). В этой связи становятся понятной необходимость «реанимации» (т.е. восстановления резко нарушенных или утраченных жизненно важных функций) зародышей уже на ранних этапах эмбриогенеза путем восстановления гомеостаза и оптимизации становления, реализации механизмов неспецифической резистентности организма. Именно благодаря компонен-

Таблица 1

Показатели биоконтроля инкубации, %, n=270

Партия	Неоплод.	Кровяные кольца	Замершие	Задохлики	Слабые	Выводимость яиц	±Δ	Вывод перепелят	±Δ
Контрольная	12,96± 2,04	7,04± 1,56	3,70± 1,15	2,22± 0,90	4,07± 1,20	80,43± 2,41	–	70,00± 2,79	–
Опытная	6,30± 1,48**	3,33± 1,09	1,48± 0,74	1,85± 0,82	1,85± 0,82	90,91± 1,75***	+10,48	85,19± 2,16***	+15,19

Примечание. Здесь: \*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ ; \*\*\*  $p < 0,001$ .

там композиции биостимуляторов, являющимися антигипоксантами и антиоксидантами удалось снизить количество «неоплода», очевидно, за счет снижения «ложного неоплода», а также уменьшить количество всех остальных категорий отходов инкубации. Вышеуказанное подтверждается данными литературы, свидетельствующей о ведущей роли гипоксии в увеличении гибели эмбрионов птиц. Исследованиями Scott et al. (1981), De Oliveira et al. (2008) установлено, что гипоксия различной степени развития неминуемо предшествует вылуплению. По данным Тагирова М.Т. (2009) наиболее высокий риск гипоксии у зародышей наблюдается не только перед выводом, но и в первую треть инкубации в связи с отсутствием сформированного хориоаллантоиса в начале и его атрофии в конце инкубации. Аналогичного мнения придерживается и Nelson (2004), который указывает, что до формирования кровеносной системы аллантоиса, и в конце пренатального периода развития у эмбриона птиц метаболические пути проходят в анаэробных условиях. Однако для профилактики ацидоза, обусловленного развитием гипоксии и исключения быстрого истощения запасов глюкозы, повышения эффективности энергосинтеза, очень важно сохранять то немногочисленное количество функционирующих МДЦ, в которые в условиях дефицита кислорода, растворенный в яйце, всё-таки поступил.

Витамин В6 по данным Логиновой Н.Ю. (2017) способен препятствовать развитию гипоксии и ацидоза, в частно-

сти - мышечных клеток (за счет участия в реакции синтеза гема, а также взаимодействия с янтарной кислотой с образованием оксипиридинов, обладающих выраженным антигипоксантами действием). В свою очередь, коламин и серин являются не только структурными компонентами фосфолипидов, непременно повреждающимися в условиях гипоксии, но и метаболитами, оптимизирующими энергобаланс клетки (Азарнова Т.О., 2020). Таким образом, представленные вещества, обладая целым комплексом уникальных свойств, в частности обуславливающими сохранение энергосинтетических процессов, способствуют «реанимации», а вместе с тем увеличению жизнеспособности эмбриона (таблица 1), в том числе за счёт повышения его неспецифической резистентности.

Необходимо отметить, что для породы японских перепелов норматив вывода цыплят составляет 65-70%, а выводимости яиц - более 70%. Как видно из полученных данных, данное птицеводческое предприятие получает в инкубаторе поголовье перепелов, соответствующее этим критериям. Однако при проведении трансвариальной обработки яиц композицией биостимуляторов этот результат удалось значительно улучшить.

Следует отметить, снижение количества отходов инкубации не единственный положительный эффект указанной композиции. У полученных перепелов суточного возраста была определена живая масса, а также масса желточного мешка с остаточным желтком. Живая масса перепелов

в контроле составила  $8,575 \pm 0,389$  г, в опыте-  $8,537 \pm 0,674$ - т.е. она была равнозначной в обеих группах и соответствовала нормативам, однако масса желточного мешка с остаточным желтком в контроле была  $0,722 \pm 0,08$  г, а в опыте-  $0,362 \pm 0,09$  г. ( $p < 0,05$ ), т.е. достоверно ниже в 2 раза, что по данным Дядичкиной Л.Ф. (2011) свидетельствует о лучшем развитии особей и, вероятно, более ранних сроках вылупления цыплят опытной группы.

Необходимо отметить, что доказательством обменностимулирующих свойств является увеличение общего белка в сыворотке крови на 18 % ( $p < 0,05$ ), а также альбумина на 5,5 % и показателей углеводно-энергетического обмена, что подтверждается увеличением активности  $\alpha$ -амилазы на 6,9% ( $p < 0,05$ ), содержания глюкозы- на 3,4%. Антигипоксический эффект композиции также обусловлен зафиксированными снижением активности ЛДГ в 1,3 раза и уменьшением содержания лактата - на 5,1% относительно контроля, что свидетельствует о главенствующей роли аэробного гликолиза. Активация неспецифической резистентности у опытных перепелов подтверждается достоверно возросшей БАСК - на 3,8% ( $p < 0,05$ ), а также увеличением содержания лизоцима в сыворотке крови на 6,4 % ( $p < 0,05$ ) относительно контроля.

#### **ВЫВОДЫ**

Таким образом, композиция БАВ способствовала «реанимации» зародышей за счёт целого комплекса антиоксидантных, обменностимулирующих и антигипоксических свойств. Указанное определило более высокую жизнеспособность эмбрионов перепелят, что по данным Агеечкина (2010) обуславливает благоприятный прогноз на дальнейший онтогенез, определяя, прежде всего, условия для более низких показателей падежа на более поздних этапах онтогенеза.

**The use of biostimulants for "resuscitation" of quail embryos. I.S. Lugovaya , candidate of biological sciences, applicant FSBEI of HE "Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology named after K.I. Scriabin "**

#### **ABSTRACT**

Today, quail farming is one of the most intensively developing branches of agriculture, which is associated with the possibility of producing this subsector of dietary products: meat and eggs. In this regard, increasing the growth rate of quail breeding through the use of new science-intensive and environmentally friendly methods becomes an urgent task. At the same time, as you know, the success of production largely depends on the work of the hatchery. The developed method of stimulating the embryonic development of quails is an effective and interesting direction in this matter. The use of biostimulants at the early stage of ontogenesis, in embryogenesis, contributed to a decrease in the amount of incubation waste and an improvement in metabolism. Thus, the pre-incubation treatment of Japanese quail eggs with a composition consisting of colamine, succinic acid, serine and vitamin B6 made it possible to increase the viability of embryos, as well as optimize metabolic processes in the body and increase the level of nonspecific resistance. In particular, the hatching of quails in the experimental batch exceeded the control by 15.19% ( $p < 0.001$ ), and the hatchability of eggs - by 10.48% ( $p < 0.001$ ), the mass of the yolk sac with residual yolk in the experiment was significantly lower by 2 times. Also, the content of total protein in the blood serum of quails of the experimental group increased by 18% ( $p < 0.05$ ), albumin - by 5.5% of the activity of  $\alpha$ -amylase by 6.9% ( $p < 0.05$ ), glucose - by 3.4%, there was a decrease in LDH activity by 1.3 times and a decrease in lactate content - by 5.1% relative to the control, while BASK increased by 3.8% ( $p < 0.05$ ), lysozyme - by 6, 4% ( $p < 0.05$ ).

#### **ЛИТЕРАТУРА**

1. Азарнова Т.О., Луговая И.С., Кочиш И.И., Найденский М.С., Луговой М.М., Антипов А.А. / Способ оптимизации гистогенеза органов желудочно-кишечного тракта у эмбрионов кур мясного направления продуктивности при использовании биологически активных веществ перед инкубацией повышения и синхронизации вывода

- цыплят посредством профилактики оксидативного стресса у эмбрионов кур // патент № 2711748 от 21.01.2020 г.
2. Евглевский, А.А. Биологическая роль и метаболическая активность янтарной кислоты / А.А. Евглевский, Г.Ф. Рыжкова, Е.П. Евглевская, Н.В. Ванина, И.И. Михайлова, А.В. Денисова, Н.Ф. Ерыженская // Вестник Курской государственной сельскохозяйственной академии.- 2013.- № 9.- С. 67-69.
  3. Шипунова, Н.Н. Влияние моноэтаноламина на основные субстраты гликолиза животных / Н.Н. Шипунова, Н.А. Лушников // Главный зоотехник.- 2014.- № 5.- С. 56-59.
  4. Гараева, С.Н. Аминокислоты в живом организме / С.Н. Гараева, Г.В. Редкозубова, Г.В. Постолати.- Издательство Академии Наук Молдовы, 2009.- 552 с.
  5. Логинова, Н.Ю. Витамин В6: Общие аспекты метаболизма / Н.Ю. Логинова // В сборнике: Фундаментальные и прикладные научные исследования: актуальные вопросы, достижения и инновации сборник статей победителей V Международной научно-практической конференции: в 4 частях.- г. Пенза.-2017.- С. 226-229.
  6. Тагиров, М.Т. Питание и основные метаболические пути в развивающемся зародыше птицы / М.Т. Тагиров, О.В. Терещенко // Вестник Харьковского национального университета имени В.Н. Каразина. Серия: биология. Выпуск 10.- № 878.- 2009.- С. 48-59.
  7. Агеечкин, А.П. Промышленное птицеводство / А.П. Агеечкин, Ф.Ф. Алексеев, А.В. Аралов и др. Под ред. В.И. Фисинина.- Сергиев Посад: ГНУ ВНИТИП Россельхозакадемии, 2010.- 599 с.
  8. Дядичкина, Л.Ф. Качество мясных цыплят разного возраста после вылупления /Л.Ф. Дядичкина, Т.В. Цилинская // Птицеводство.- 2011.- № 11.- С. 15-17.
  9. Nelson D.L., Cox M.M. Lehninger Principles of Biochemistry. — 4th edition. — 2004. — 1119p.
  10. De Oliveira J.I., Uni Z., Ferket P.R. Important metabolic pathways in poultry embryos prior to hatch // World's Poultry Science Journal. — 2008. — V.64. — P. 488–499.
  11. Moran Jr E.T. Nutrition of the developing embryo and hatchling // Poultry Science. — 2007. — №86. — P. 1043—1049.
  12. Scott T.R., Jonson W.A., Satterlee D.G., Gildersleeve R.P. Circulating levels of corticosterone in the serum of developing chick embryos and newly hatched chicks // Poultry Science. — 1981. -№ 60. — P. 1314—1320.
  13. Зотов, А.А. Продуктивность цыплят-бройлеров в зависимости от режимов предынкубационной обработки яиц / А.А. Зотов // дис. ...канд. с-х. наук.- Сергиев Посад.- 2015.- 138 с.
  14. Слепнева, Л.В. Механизм повреждения энергетического обмена при гипоксии и возможные пути его коррекции фумаратсодержащими растворами / Л.В. Слепнева, Г.А. Хмылова // Трансфузиология.- №2.-Т. 14.- 2013.- С. 49-65.
  15. Медведев Ю.В., Толстой А.Д. Гипоксия и свободные радикалы в развитии патологических состояний организма - М.: ООО «Терра-Календер и Промоушн», 2000.- 232 с.