DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.4

МЕЖДУНАРОДНЫЙ ВЕСТНИК ВЕТЕРИНАРИИ

№4

International bulletin of Veterinary Medicine

САНКТ-ПЕТЕРБУРГ- 2024

www.spbguvm.ru

№4/2024

МЕЖДУНАРОДНЫЙ ВЕСТНИК ВЕТЕРИНАРИИ

Международный ВЕСТНИК ВЕТЕРИНАРИИ 4.2024

Редакционный совет
К.В. Племяшов - гл. ред., чл.-корр. РАН, д-р ветеринар. наук, проф., СПб.
Л.Ю. Карпенко - зам. гл. ред., д-р биол. наук, проф., СПб.
А.И. Ятусевич - зам. гл. ред., д-р ветеринар. наук, проф., академик РАН, Витебск.
Редакционная коллегия
Н.Л. Андреева - д-р биол. наук, проф., СПб.
Л.М. Белова - д-р биол. наук, проф., СПб.
М.И. Гулюкин - акад. РАН, д-р ветеринар. наук, проф., Москва.
Н.В. Зеленевский - д-р ветеринар. наук, проф., СПб.
С.П. Ковалев - д-р ветеринар. наук, проф., СПб.
А.А. Кудряшов - д-р ветеринар. наук, проф., СПб.
В.А. Кузьмин - д-р ветеринар. наук, проф., СПб.
М.Н. Макарова - д-р мед. наук, проф., СПб.
Б.С. Семенов - д-р ветеринар. наук, проф., СПб.
А.М. Смирнов - акад. РАН, д-р ветеринар. наук, проф., Москва.
В.В. Сочнев - член.-корр. РАН, д-р ветеринар. наук, проф., Н. Новгород.
А.А. Стекольников - акад. РАН, д-р ветеринар. наук, проф., СПб.
А.А. Сухинин - д-р биол. наук, проф., СПб.
А.Н. Шиков - д-р фарм. наук, проф., СПб.
Mustafa Atasever- Prof., Dr. Erzurum, Turkiye.
Ю.К. Ковалёнок - д-р ветеринар. наук, проф., Витебск, Республика Беларусь.
Kushvar Galib Mammadova - Dr., Azerbaijan.
Н.Б. Сарсембаева - д-р ветеринар. наук, проф., Алматы, Республика Казахстан.
Ilia Tsachev - DVM, MSc, PhD, DSc Prof., Stara Zagora, Bulgaria.
О.Ю. Беспятых - д-р биол. наук, доц., Киров.
В.А. Илюха - д-р биол. наук, доц., Петрозаводск.
И.А. Плотников - д-р биол. наук, проф., Киров.
С.В. Бекетов - д-р биол. наук, вед. науч. сотр., Самара.
В.Н. Воронин - д-р биол. наук, проф., СПб.
А.Н. Квочко - д-р биол. наук, проф., Ставрополь.
А.О. Фролов - д-р биол. наук, гл. науч. сотр., СПб.
О.И. Станишевская - д-р биол. наук, проф., СПб.
А.Е. Болгов - д-р с.-х. наук, проф., Петрозаводск.
И.Ш. Шапиев - д-р с.-х. наук, проф., СПб.
Н.В. Пристач - д-р с.-х. наук, проф., СПб.
В.Б. Галецкий - д-р с.-х. наук, СПб.
Л.В. Романенко - д-р с.-х. наук, член РАЕ, СПб
В.И. Максимов - д-р биол. наук, проф., Москва
Редакционно-технический отдел
С. И. Мельников - канд. ветеринар. наук, СПб.
О.С. Попова - канд. ветеринар. наук, СПб.
В.В. Крюкова - канд. ветеринар. наук, СПб (англ. яз)

Сдано в набор 06.12.2024
Подписано к печати 16.12.2024
Формат 70×100 1/16.
Бумага глянцевая № 1. Печать офсетная.
Усл. печ. л. 36,0+0,25 цв. вкл.
Усл. Кр.-отт. 18,2.
Тираж 1001 экз.

Editorial council
K.V. Plemyashov - member.-corr. RAS, Doctor of Science, prof., St. Petersburg
L.Y. Karpenko - deputy editor, doctor of biology sciences, professor, St. Petersburg.
A.I. Yatusevich - deputy chief editor, doctor of veterinary sciences , professor, academic of RAS, Vitebsk.
Editorial council
N.L. Andreeva - doctor of veterinary sciences, professor, St. Petersburg
L. M. Belova - doctor of biology sciences, professor, St. Petersburg
M.I. Gulyukin - academic of RAS, doctor of veterinary sciences, prof., Moscow
N.V. Zelenevskiy - doctor of veterinary medicine, doctor of economics, prof, St. Petersburg.
S. P. Kovalev - doctor of veterinary sciences, prof., St. Petersburg.
A.A. Kudryashov - doctor of veterinary sciences, professor, St. Petersburg.
V. A. Kuzmin - doctor of veterinary sciences, professor, St. Petersburg.
M.N. Makarova - doctor of medicine, professor, St. Petersburg.
B.S. Semenov - doctor of veterinary sciences, professor, St. Petersburg
A.M. Smirnov - academic of RAS, doctor of veterinary sciences, prof., Moscow
V.V. Sochnev - corr. member of RAS, doctor of vet. sciences, prof., N. Novgorod.
A.A. Stekolnikov - editor in chief, academic of RAS, doctor of veterinary sciences, professor, St. Petersburg
A.A. Sukhinin - doctor of biology sciences., prof, St. Petersburg
A.N. Shikov - doctor of pharmacology sciences, prof., St. Petersburg
Mustafa Atasever - professor., Dr. Erzurum, Turkey
Y.K. Kovalenok - doctor of veterinary sciences, prof., Vitebsk
Kushva Galiba Mammadova - doctor, Azerbaijan
N.B. Sarsembayeva - doctor of vet. sciences, prof., Almaty, Republic of Kazakhstan
Ilia Tsachev - DVM, MSc, PhD, DSc, Prof., Stara Zagora, Bulgaria
O.Yu. Bespyatykh - doctor of biology sciences, associate professor, Kirov
V.A. Ilyuha - doctor of biology sciences, associate professor, Petrozavodsk
I.A. Plotnikov - doctor of biology sciences, professor, Kirov
S.V. Beketov - doctor of biology sciences, Samara
V.N. Voronin - doctor of biology sciences, professor, St. Petersburg
A.N. Kvochko - doctor of biology sciences, professor, Stavropol
A.O. Frolov - doctor of biology sciences, senior science member, St. Petersburg
O.I. Stanishevskaya - doctor of biology sciences, professor, St. Petersburg
A.E. Bolgov - doctor of agricultural sciences, professor, Petrozavodsk
I.S. Shapiev - doctor of agricultural sciences, professor, St. Petersburg
N.V. Pristach - doctor of agricultural sciences, professor, St. Petersburg
V.B. Galetsky - doctor of agricultural sciences, St. Petersburg.
L.V. Romanenko - doctor of agricultural sciences, member of RAE, St. Petersburg
V.I. Maximov - doctor of biology sciences, professor, Moscow
Editorial and technical Department
S.I. Melnikov - PhD of Vet. Med., St. Petersburg
O.S. Popova - PhD of Vet Med., St. Petersburg
V.V. Kriukova - PhD of Vet Med., St. Petersburg (English)

Sent to 06.12.2024
Signed for printing 16.12.2024
The format of 100 × 70 1/16 .
Glossy paper number 1. Offset printing.
Conv. Pec. liter. 36,0+0,25 fl. incl.
Conv. Cr. - ott . 18.2 .
Circulation 1001 copies.

На 1 странице обложки: Большой конференц-зал ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины».

НАУЧНО-ПРОИЗВОДСТВЕННЫЙ ЖУРНАЛ

Номер госрегистрации СМИ ПИ № ФС77-83832 от 02 сентября 2022 г. Подписной индекс в агентстве Роспечать 82393.

Учредитель — Федеральное государственное образовательное учреждение высшего образования «Санкт -Петербургский государственный университет ветеринарной медицины» (ФГБОУ ВО СПбГУВМ)

Журнал основан в январе 2004 года в Санкт-Петербурге и входит в список ведущих рецензируемых научных журналов, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени доктора и кандидата наук.

МВВ входит в базу данных Russian Science Citation Index.

Журнал распространяется по всем регионам России и Республике Беларусь (ВУЗЫ, НИИ, ВЕТЕРИНАРНЫЕ ОТДЕЛЫ).

Журнал выходит не менее 4 раз в год. В нем публикуются работы по всем основным вопросам ветеринарии и смежным дисциплинам.

В этот журнал Вы можете поместить рекламу Вашей фирмы. Объявления и коммерческая реклама публикуются после оплаты. Срок исполнения – в течение 3 месяцев.

Редакция не несет ответственности за содержание рекламных объявлений.

При перепечатке ссылка на журнал обязательна.

Мнение авторов и редакции по отдельным вопросам может не совпадать.

Плата с аспирантов за публикацию рукописи не взимается.

Справки и технические возможности типографии, в которой печатается журнал, оговариваются по телефону (812) 387-11-58.

Адрес редакции: 196084, СПб, ул. Черниговская дом 5, СПбГУВМ, редакция журнала «Международный вестник ветеринарии» (МВВ). тел 8-812 -387-11-58

RESEARCH AND PRODUCTION JOURNAL

The state registration number of the media PI No. FS77-83832 dated September 02, 2022. The subscription index in the Rospechat agency is 82393.

Founder — Federal state educational institution of higher professional education "Saint-Petersburg state University of veterinary medicine" (FSEI of HPE SpbGUVM).

The journal was founded in January 2004 in St. Petersburg and is included in the list of leading peer-reviewed scientific journals in which the main scientific results of dissertations for the degree of doctor and candidate of Sciences should be published.

International Bulletin of Veterinary Medi -cine is included in the Russian Science Citation Index database.

The journal is distributed in all regions of Russia and the Republic of Belarus (universities, research institutions , veterinary departments).

The magazine is published at least 4 times a year. It publishes papers on all major issues of veterinary medicine and related disci-plines.

In this magazine, you can place an advertisement for your company. Ads and commer-cial information are published after payment. The execution period is within 3 months.

The editorial board is not responsible for the content of advertisement.

When reprinting, a link to the journal is required.

The opinion of the authors and the editori -al board on certain issues may not coincide.

Postgraduates are not charged for the pub -lication of the manuscript.

Information and technical capabilities of the printing house where the magazine is printed are discussed by phone number (812) 387-11-58.

Editorial office address: 196084, St. Petersburg, Chernigovskaya str. 5, “SPbGUVM”, editorial office of the journal "International Bulletin of Veterinary Medicine" (MVV).

СОДЕРЖАНИЕ

Инфекционные болезни

• *Поствакцинальная дифференциация иммунного ответа, индуцированного цельновирионными, рекомбинантными и субъединичными вакцинами против высокопатогенного гриппа птиц. Тарлавин Н.В., Веретенников В.В., Джавадов Э.Д., Кудря К.С., Красков Д.А., Дегтярева А.В.* **14**

• *Оценка литической активности коммерческих препаратов бактериофагов в отношении Klebsiella pneumoniae, ассоциированной с бронхопневмонией крупного рогатого скота. Киянчук М.В., Сухинин А.А.* **20**

• *Разработка унифицированной кишечной среды для микробиологических исследований в ветеринарной медицине. Шебеко С.К., Тихменева Ю.А., Сандулян К.В., Ермаков А.М.* **26**

• *Контроль жизнеспособности и стабильности биологических свойств референтного штамма Brucella canis RM 6/66 при длительном хранении. Панкова Е.В., Артемьева Е.А., Мельникова Л.А., Мустафина Э.Н., Громова Е.А.* **35**

• *Изучение влияния пробиотических штаммов рода Bacillus на состояние внутренних органов и гуморальный иммунитет Coturnix coturnix и Mus musculus. Ан К.В., Миронова Т.Е., Кильп А.С., Афонюшкин В.Н., Афонюшкин А.В.* **43**

• *Изучение биологических свойств возбудителя геморрагического энтерита индеек. Красков Д.А., Джавадов Э.Д., Веретенников В.В., Тарлавин Н.В., Сидоренко К.В.* **52**

• *Молекулярно-биологическая характеристика микробиоценоза кишечника собак, находящихся на смешанном питании. Логинов С.Н., Батомункуев А.С., Сухинин А.А., Краснопеев А.Ю., Горшкова А.С., Белых О.И., Липко И.А., Потапов С.А., Тихонова И.В.* **59**

Инвазионные болезни

• *Ихтиопатологические исследования рыб открытых водоёмов крайнего Северо-Востока. Витомскова Е.А., Гинтер Е.В.* **72**

Фармакология, токсикология, фармация

• *Влияние Биферона-Б и Энрофлоксаветферона-Б на микробиоту маточно-вагинальных выделений коров, больных эндометритом. Сыромятников М.Ю., Гладких М.И., Морозова П.Д., Буракова И.Ю., Михалев В.И.* **82**

• *Влияние препарата «Простимул» на костномозговое кроветворение поросят с перинатальной гипотрофией. Михайлов Е.В.* **92**

• *Оценка эмбриотоксического и тератогенного действия нового комплексного антимикотического препарата. Мусин Р.Р., Ганиев И.М., Тремасова А.М., Бирюля В.В., Идиятов И.И., Ерошин А.И., Сафарова Э. Р.* **100**

• *Влияние бетаина у петухов линии СМ 7 кросса «Смена 9» в условиях ограниченного кормления. Ильин Г.М., Лунегов А.М., Слободянюк А.А.* **107**

• *Использование лекарственных растений в рационе сельскохозяйственных животных (обзор). Ларюшина И.Э., Букарева Е.А.* **113**

	• *Потенциальные источники биологически активных веществ Омской области для создания фитобиотиков и фитогеников. Бойко Т.В., Огурной И.В., Огурная Ю.Е.*	**127**
	• *Фагоцитарные индексы псевдо-эозинофилов крови цыплят при применении Ципрофлоксацина и Энрофлоксацина. Присный А.А., Скворцов В.Н., Горбанёва А.С., Мазур А.Д., Степанова Т.В.*	**138**
	• *Влияние пробиотика «Бацелл-М» на морфофункциональное состояние печени карпа обыкновенного (Cyprinus carpio). Семенова Е.В., Стрельников Н.А., Мармурова О.М., Михайлов Е.В.*	**144**
	• *Влияние Энрофлоксаветферона и Гентабиферона-Б на показатели крови коров при терапии эндометрита. Сыромятников М.Ю., Шабунин С.В., Михалев В.И., Чиркин Е.А., Михайлов Е.В.*	**152**
	• *Чувствительность бактерий к антибиотикам Мастиблок® DC 49, Мастикан-П, Мастигард при маститах сухостойных коров. Енгашев С.В., Новак М.Д., Новак А.И., Евдокимова О.В., Енгашева Е.С.*	**161**
	• *Влияние препаратов Биоферрон и Биоцинк на состав незаменимых аминокислот в мясном сырье перепелов. Лазарева М.В., Шкиль Н.А.*	**172**
	• *Корреляционные показатели между фармакокинетическими параметрами кофеина у клинически здоровых лабораторных и сельскохозяйственных животных. Понамарев В.С., Кострова А.В.*	**185**
	• *Оценка релевантности показателей почечного клиренса кофеина на модели крупного рогатого скота. Понамарев В.С., Кострова А.В.*	**194**
	• *Диагностика заболеваний печени у крупного рогатого скота с помощью клиренса кофеина, на примере жирового гепатоза. Попова О. С.*	**200**
Зоогигиена, санитария, кормление	• *Влияние меламина и мочевины на показатели качества молока. Калюжная Т.В., Дрозд А.В., Алмакаева Д.С., Жмуркина П.С.*	**205**
	• *Использование экстракта Quercus cortex и Лактобифадола в рационе: расход и переваримость корма, показатели роста бройлеров. Букарева Е.А., Лазебник К.С., Дускаев Г.К., Рахматуллин Ш.Г.*	**211**
	•*Моделирование градуировочной зависимости для оценки содержания меламина в молоке с помощью ИК-фурье-спектрометра. Калюжная Т.В.*	**219**
	• *Влияние кормовой добавки монокальцийфосфат на коров джерсейской породы с признаками остеодистрофии. Бирюков К.Н., Рязанов И.Г., Капитонова Е.А.*	**225**
	• *Влияние нанокомпозита FE-C на рост и морфологические показатели крови цыплят-бройлеров. Килякова Ю.В., Мирошникова Е.П., Аринжанов А.Е., Мингазова М.С.*	**231**
	• *Нейросетевой анализ качества силосованных кормов по индексу биоконсолидации биосистемы молочнокислых бактерий. Воробьев Н.И., Ильина Л.А., Лаптев Г.Ю., Селина М.В., Гусельникова А.А.*	**239**
	• *Сравнительный анализ антагонистической активности лактобактерий пробиотического биокомплекса «Авибиолакт». Овчарова Е.С., Маслов Д.В., Новикова А.Ф.*	**251**

	• *Тонкослойная хроматография как способ выявления пестицидов в курином яйце. Соколов И.В., Терехов А.А., Токарев А.Н., Смирнов А.В., Юнггрен В.А.*	**257**
	• *Выявление фосфорорганических соединений методом тонкослойной хроматографии. Терехов А.А., Смирнов А.В., Токарев А.Н., Соколов И.В., Юнггрен В.А.*	**263**
	• *Анализ кормовых добавок с компонентами растительного происхождения используемых в отечественном птицеводстве. Казачкова Н.М.*	**269**
	•*Эффективность применения полимерного покрытия кормового стола для молочных коров. Дурсенев М.С., Падерина Р.В., Виноградова Н.Д.*	**276**
	•*Результаты инкубации и откорма цыплят-бройлеров кросса Росс 308, полученных от кур разного возраста. Васильева Л.Т., Бычаев А.Г., Виноградова Н.Д.*	**283**
	• *Влияние различных доз «Бутофан OR» на динамику эмбриогенеза инкубационных яиц. Коновалова Е.М., Кочиш И.И., Капитонова Е.А., Нестеров В.Н.*	**292**
	• *Оценка действия крупки из ламинарии на показатели продуктивности кур-несушек. Кочиш И.И., Зимин Е.Е., Никонов И.Н.*	**303**
	• *Изучение действия крупки из ламинарии на экспрессию генов продуктивности в организме кур-несушек. Кочиш И.И., Зимин Е.Е., Никонов И.Н.*	**312**
	•*Состав экофауны инфузорий диких копытных животных Якутии. Слепцов Е.С., Алферов И.В., Гаврильева Л.Ю., Винокуров И.Е., Григорьева Н.Н.*	**319**
Биохимия, морфология, физиология	• *Флексоры локтевого сустава у некоторых представителей отряда хищные (Carnivora). Кухарева Т.П., Былинская Д.С.*	**328**
	•*Ультраструктура капилляров сосудистых тел головного мозга в контексте развития внутричерепной гипертензии. Прусаков А.В.*	**337**
	• *Венозное русло желудка свиней породы йоркшир в постнатальном онтогенезе. Полянская А.И., Васильев Д.В.*	**343**
	• *Гомеостаз организма подсвинков при добавлении в корма полисахарида хитозан. Зирук И.В., Копчекчи М.Е., Фролов В.В., Копчекчи К.А.*	**350**
	• *Профилактика метаболических расстройств у крыс при моделировании стресса. Крячко О.В., Лукоянова Л.А.*	**359**
	• *Моделирование хронической болезни почек у крыс модифицированным методом 5/6 нефрэктомии. Матичина А.А., Каранина В.Д., Устенко Ж.Ю., Мирошников М.В., Матичин А.А.*	**364**
	• *Патогенетические аспекты применения кондиционированной среды из мезенхимальных стромальных клеток при синдроме астмы лошадей. Романова О.В., Крячко О.В., Довгий А.И.*	**374**

	• *Анатомо-топографическое обоснование доступа к костям таза путем проведения остеотомии большого вертела бедренной кости у собак. Стратонов А.С., Щипакин М.В.*	**380**
	• *Патологические изменения альвеолярного отростка челюстных костей у собак при олигодентии. Фролов В.В., Егунова А.В., Новиков Я.И., Иванцов В.А.*	**388**
	• *Вариабельность микроструктуры четырехглавой мышцы бедра цыплят-бройлеров кросса «Кобб-500» на фоне применения кормовых добавок. Степанишин В.В., Позябин С.В., Борхунова Е.Н.*	**394**
	• *Динамика антиоксидантной активности козьего молока во взаимосвязи с молочной продуктивностью. Зайцев С.Ю., Савина А.А., Воронина О.А., Девяткин В.А.*	**409**
	• *Корреляции между параметрами структурной организации соматосенсорной коры и пространственного обучения у крыс с различиями в функционировании дофаминергической системы. Ахмадиев П.А., Ласточкин А.А., Тазетдинов А.М., Тахирова З.Р., Хисматуллина З.Р., Хуснутдинова Э.К.*	**418**
Акушерство и гинекология	• *Гормональный профиль жидкости фолликулов разного диаметра в связи с показателями жизнеспособности и содержанием липидов в клетках гранулезы Sus scrofa domesticus. Кузьмина Т.И., Притужалова А.О., Курочкин А.А., Баранова Е.И.*	**424**
	• *Использование таргетного секвенирования для генотипирования овец породы манычский меринос. Криворучко А.Ю., Каниболоцкая А.А., Скорых Л.Н., Сафарян Е.Ю., Криворучко О.Н.*	**438**
	• *Полиморфизмы гена FSHR у самок северного оленя (Rangifer tarandus). Крутикова А.А., Беликова А.О., Пегливанян Г.К., Никиткина Е.В., Мусидрай А.А.*	**453**
	• *Концентрация стероидных и гонадотропных гормонов в сыворотке крови самок северных оленей в позднестельный и ранний послеродовой периоды. Крутикова А.А., Ширяев Г.В., Никиткина Е.В., Пегливанян Г.К., Мусидрай А.А., Никитин Г.С.*	**459**
	• *Особенности гормонального фона самок северного оленя (Rangifer tarandus) на разных стадиях полового цикла. Крутикова А.А., Беликова А.О., Пегливанян Г.К., Ширяев Г.В., Никиткина Е.В., Мусидрай А.А., Богданова С.С.*	**467**
	• *Сравнение уровней половых гормонов у самок северного оленя при анэструсе и в период гона. Крутикова А.А., Ширяев Г.В., Никиткина Е.В., Пегливанян Г.К., Беликова А.О., Мусидрай А.А., Никитин Г.С.*	**474**
	• *Кандидатные гены связанные с качеством спермы жеребцов. Щербаков Ю.С., Никиткина Е.В., Дементьева Н.В.*	**480**
	• *Перспективы применения производного мезенхимальных стволовых клеток как способа повышения качества спермы быков-производителей. Корочкина Е.А., Трифонова А.В., Никитин В.В., Главацкая Д.Е., Пушкина В.С.*	**486**
	• *Эффективность использования мезенхимальных стволовых клеток после криоконсервации спермы козлов-производителей. Корочкина Е.А., Трифонова А.В., Финагеев Е.Ю., Главацкая Д.Е., Пушкина В.С.*	**493**

	• *Практическое использование модели хориоаллантоисной мембраны (ХАМ) при создании криобанка генеративных клеток самок Gallus gallus domecticus. Станишевская О.И., Силюкова Ю.Л., Мирзакаева И.И.*	**501**
	• *Изучение негативного влияния теплового стресса на показатели молочной продуктивности коров при различных способах содержания. Муханина Е.Н., Шакиров Ш.К., Сафина Н.Ю., Гайнутдинова Э.Р.*	**509**
	• *Популяционно-генетическая характеристика крупного рогатого скота по гену MC4R (рецептор Меланокортина 4). Сафина Н.Ю., Крупин Е.О.*	**518**
	• *Концентрации эстрадиола, эстрона, эстриола в сыворотке крови кур с различной массой желтка яиц. Перинек О.Ю., Ширяев Г.В.*	**528**
	• *Переживаемость спермы жеребцов в разных разбавителях при охлаждении до 4-50 С. Никиткина Е.В.*	**539**
Хирургия	• *Динамические характеристики коагуляции и контракции тромбоцитарно-фибриновых сгустков, приготовленных в присутствии нестеройдных и стеройдных противовоспалительных препаратов. Бокарев А.В., Минина А.О., Пилипец Е.Я., Назаров А.Ю.*	**547**
	• *Послеоперационные осложнения при абомазопексии у высокопродуктивных коров. Племяшов К.В., Семенов Б.С., Кузнецова Т.Ш., Хусаинова Г.С., Крутикова А.А., Беликова А.О., Никонова Т.О.*	**558**
Незаразные болезни	• *Влияние природного адаптогена Бетулина на клинико-гематологические показатели телят племенного стада. Гнездилова Л.А., Круглова Ю.С., Мурадян Ж.Ю., Розинский С.М.*	**566**

CONTENTS

Infectious diseases	• *Post-vaccination differentiation of the immune response induced by whole-virion, recombinant and subunit vaccines against highly pathogenic avian influenza. Tarlavin N.V., Veretennikov V.V., Javadov E.D., Kudrya K.S., Krasnov D.A., Degtyareva A.V.*	**14**
	• *Evaluation of the lytic activityof commercial bacteriophage preparations against Klebsiella pneumoniae associated with bovine bronchopneumonia. Kiyanchuk M.V., Sukhinin A.A.*	**20**
	• *Development of a unified intestinal environment for microbiological research in veterinary medicine. Shebeko S.K., Tikhmeneva Yu.A., Sandulyan K.V., Ermakov A.M.*	**26**
	• *Control of viability and stability of biological properties of the refeence Brucella canis RM 6/66 strain during long-term storage. Pankova E.V., Artemyeva E.A., Melnikova L.A., Mustafina E.N., Gromova E.A.*	**35**
	• *To study the effect of probiotic strains of the genus Bacillus on the state of internal organs and humoral immunity of Coturnix coturnix and Mus musculus. An K.V., Mironova T.E., Kilp A.S., Afonyushkin V.N., Afonyushkin A.V.*	**43**
	• *The study of the biological properties of the causative agent of hemorhagic enteritis of turkeys. Kraskov D.A., Javadov E.D., Veretennikov V.V., Tarlavin N.V., Sidorenko K.V.*	**52**
	• *Molecular biological characteristics of the intestinal microbiocenosis of dogs on a mixed diet. Loginov S.N., Batomunkuyev A.S., Sukhinin A.A., Krasnopeev A.Yu., Gorshkova A.S., Belykh O.I., Lipko I.A., Potapov S.A., Tikhonova I.V.*	**59**
Invasive diseases	• *Ichthyopathological studies of fish in open reservoirs of the far North-east. Vitomskova E.A., Ginter E.V.*	**72**
Pharmacology, toxicology, pharmacy	• *The effect of Viferon-B and Enrofloxavetferon-B on the microbiota of utero-vaginal secretions of cows with endometritis. Syromyatnikov M.Yu., Gladkikh M.I., Morozova P.D., Burakova I.Yu., Mikhalev V.I.*	**82**
	• *The effect of the drug "Stimul" on the bone marrow hematopoiesis of piglets with prenatal hypotrophy. Mikhailov E.V.*	**92**
	• *Evaluation of the embryotoxic and teratogenic effects of a new complex antimycotic drug. Musin R.R., Ganiev I.M., Tremasova A.M., Biryulya V.V., Idiyatov I.I.,Eroshin A.I., Safarova E. R.*	**100**
	• *The effect of betaine in roosters of the CM 7 line of the "Shift 9" cross in conditions of limited feeding. Ilyin G.M., Lunegov A.M., Slobodyanyuk A.A.*	**107**
	• *The use of medicinal plants in the diet of farm animals (review). Laryushina I.E., Bukareva E.A.*	**113**
	• *Potential sources of biologically active substances of the Omsk regio for the creation of phytobiotics and phytogenics. Boyko T.V., Ogurnoy I.V., Ogurnaya Yu.E.*	**127**
	• *Phagocytic indices of pseudoeosinophils in chicken blood when using Ciprofloxacin and Enrofloxacin. Prisny A.A., Skvortsov V.N., Gorbaneva A.S., Mazur A.D., Stepanova T.V.*	**138**

	• *The effect of the probiotic Bacell-M on the morphofunctional state of the liver of the common carp (Cyprinus carpio). Semenova E.V., Strelnikov N.A., Marmurova O.M., Mikhailov E.V.*	**144**
	• *The effect of Enrofloxavetferon and Gentabiferon-B on blood paramters of cows in the treatment of endometritis. Syromyatnikov M.Yu., Shabunin S.V., Mikhalev V.I., Chirkin E.A., Mikhailov E.V.*	**152**
	• *The sensitivity of bacteria to antibiotics of the block® DC 49 suit, Mastic-P, Card suits for mastitis of dry cows. Engashev S.V., Novak M.D., Novak A.I., Evdokimova O.V., Engasheva E.S.*	**161**
	• *The effect of Bioferrone and Biocinc preparations on the composition of essential amino acids in quail meat raw materials. Lazareva M.V., Shkil N.A.*	**172**
	• *Correlation indicators between pharmacokinetic parameters of caffeine in clinically healthy laboratory and farm animals. Ponomarev V.S., Kostrova A.V.*	**185**
	• *Assessment of the relevance of indicators of renal clearance of caffeine in a cattle model. Ponomarev V.S., Kostrova A.V.*	**194**
	• *Diagnosis of liver diseases in cattle with with the help of caffeine clearance, using the example of fatty hepatosis. Popova O. S.*	**200**
Zoohygiene, sanitation, feeding	• *The effect of melamine and urea on milk quality indicators. Kalyuzhnaya T.V., Drozd A.V., Almakaeva D.S., Zhmurkina P.S.*	**205**
	• *The use of Quercus cortex extract and Lactobifadol in the diet: feed consumption and digestibility, broiler growth rates. Bukareva E.A., Lazebnik K.S., Duskaev G.K., Rakhmatullin Sh.G.*	**211**
	• *Modeling of the calibration dependence for estimating the melamin content in milk using an IR Fourier spectrometer. Kalyuzhnaya T.V.*	**219**
	• *The effect of the feed additive monocalcium phosphate on Jersey cows with signs of osteodystrophy. Biryukov K.N., Ryazanov I.G., Kapitonova E.A.*	**225**
	• *The effect of FE-C nanocomposite on the growth and morphological parameters of the blood of broiler chickens. Kilyakova Yu.V., Miroshnikova E.P., Arinzhanov A.E., Mingazova M.S.*	**231**
	• *Neural network analysis of the quality of siloed feed according to the bio-consolidation index of the lactic acid bacteria biosystem. Vorobyov N.I., Ilyina L.A., Laptev G.Yu., Selina M.V., Guselnikova A.A.*	**239**
	• *Comparative analysis of the antagonistic activity of lactobacilli of the probiotic biocomplex "Avibiolact". Ovcharova E.S., Maslov D.V., Novikova A.F.*	**251**
	•*Thin-layer chromatography as a method of detecting pesticides in a chicken egg. Sokolov I.V., Terekhov A.A., Tokarev A.N., Smirnov A.V., Junggren V.A.*	**257**
	•*Detection of organophosphorus compounds by thin-layer chromatography. Terekhov A.A., Smirnov A.V., Tokarev A.N., Sokolov I.V., Junggren V.A.*	**263**
	•*Analysis of feed additives with components of plant origin used in domestic poultry farming. Kazachkova N.M.*	**269**
	•*The effectiveness of the polymer coating of the feed table for dairy cows. Dursenev M.S., Paderina R.V., Vinogradova N.D.*	**276**

	The results of incubation and fattening of broiler chickens of the Ross 308 cross, obtained from chickens of different ages. Vasilyeva L.T., Bychaev A.G., Vinogradova N.D.	**283**
	•*The effect of different doses of "Butofan OR" on the dynamics of embryogenesis of incubation eggs. Konovalova E.M., Kochish I.I., Kapitonova E.A., Nesterov V.N.*	**292**
	•*Evaluation of the effect of kelp grits on the productivity of laying hens. Kochish I.I., Zimin E.E., Nikonov I.N.*	**303**
	•*Study of the effect of kelp grains on the expression of productivity genes in the body of laying hens. Kochish I.I., Zimin E.E., Nikonov I.N.*	**312**
	•*The composition of the ecofauna of infusoria of wild ungulates of Yakutia. Sleptsov E.S., Alferov I.V., Gavrilyeva L.Yu., Vinokurov I.E., Grigorieva N.N.*	**319**
Biochemistry, morphology, physiology	•*Flexors of the elbow joint in some representatives of the order predatory (Carnivora). Kukhareva T.P., Bylinskaya D.S.*	**328**
	•*Ultrastructure of capillaries of vascular bodies of the brain in the context of the development of intracranial hypertension. Prusakov A.V.*	**337**
	•*Venous bed of the stomach of Yorkshire pigs in postnatal ontogenesis. Polyanskaya A.I., Vasiliev D.V.*	**343**
	•*Homeostasis of the organism of piglets when adding the polysaccharide chitosan to feed. Ziruk I.V., Kopchekchi M.E., Frolov V.V., Kopchekchi K.A.*	**350**
	•*Prevention of metabolic disorders in rats during stress modeling. Kryachko O.V., Lukoyanova L.A. .*	**359**
	•*Modeling of chronic kidney disease in rats by a modified 5/6 nephrectomy method. Matchina A.A., Garanina V.D., Usenko Zh.Yu., Miroshnikov M.V., Matchin A.A*	**364**
	•*Pathogenetic aspects of the use of conditioned medium from stromal stem cells in equine asthma syndrome. Romanova O.V., Kryachko O.V., Dovgiy A.I.*	**374**
	•*Anatomical and topographic justification of access to pelvic bones by osteotomy of the large trochanter of the femur in dogs. Stratonov A.S., Shchipakin M.V.*	**380**
	•*Pathological changes in the alveolar process of the jaw bones in dogs with oligodontia. Frolov V.V., Egunova A.V., Novikov Ya.I., Ivantsov V.A.*	**388**
	•*Variability of the microstructure of the quadriceps femoral muscle of broiler chickens of the Cobb-500 cross against the background of the use of feed additives. Stepanishin V.V., Pozyabin S.V., Borkhunova E.N.*	**394**
	•*Dynamics of antioxidant activity of goat's milk in relation to milk productivity. Zaitsev S.Yu., Savina A.A., Voronina O.A., Devyatkin V.A.*	**409**
	•*Correlations between the parameters of the structural organization of the somatosensory cortex and spatial learning in rats with differences in the functioning of the dopaminergic system. Akhmadeev P.A., Lastochkin A.A., Tazetdinov A.M., Tagirova Z.R., Khismatullina Z.R., Khusnutdinova E.K.*	**418**

Obstetrics, gynecology	•*Hormonal profile of follicle fluid of different diameters in connection with viability and lipid content in granulosa cells of Sus scrofa domesticus. Kuzmina T.I., Prituzhalova A.O., Kurochkin A.A., Baranova E.I.*	**424**
	•*The use of targeted sequencing for genotyping sheep of the Manych merino breed. Krivoruchko A.Yu., Kanibolotskaya A.A., Skorykh L.N., Safaryan E.Yu., Krivoruchko O.N.*	**438**
	•*Polymorphisms of the FSHR gene in female reindeer (Rangifer tarandus). Krutikova A.A., Belikova A.O., Peglivanyan G.K., Nikitkina E.V., Musidray A.A.*	**453**
	•*The concentration of steroid and gonadotropin hormones in the blood serum of female reindeer in the late pregnancy and early postpartum periods. Krutikova A.A., Shiryaev G.V., Nikitkina E.V., Peglivanyan G.K., Musidray A.A., Nikitin G.S.*	**459**
	•*Features of the hormonal background of female reindeer (Rangifer tarandus) at different stages of the sexual cycle. Krutikova A.A., Belikova A.O., Peglivanyan G.K., Shiryaev G.V., Nikitkina E.V., Musidray A.A., Bogdanova S.S.*	**467**
	•*Comparison of sex hormone levels in female reindeer during anestrus and during rutting. Krutikova A.A., Shiryaev G.V., Nikitkina E.V., Peglivanyan G.K., Belikova A.O., Musidray A.A., Nikitin G.S.*	**474**
	•*Candidate genes related to the quality of sperm of stallions. Shcherbakov Y.S., Nikitkina E.V., Dementieva N.V.*	**480**
	•*Prospects for the use of a derivative of mesenchymal stem cells as a way to improve the quality of sperm from breeding bulls. Korochkina E.A., Trifonova A.V., Nikitin V.V., Glavatskaya D.E., Pushkina V.S.*	**486**
	•*The effectiveness of the use of mesenchymal stem cells after cryopreservation of sperm from producing goats. Korochkina E.A., Trifonova A.V., Finageev E.Yu., Glavatskaya D.E., Pushkina V.S.*	**493**
	•*Practical use of the chorioallantois membrane (HAM) model in the creation of a cryobank of generative cells of Gallus gallus domesticus females. Stanishevskaya O.I., Silyukova Y.L., Murzakaeva I.I.*	**501**
	•*Study of the negative effect of heat stress on the indicators of dairy productivity of cows with various methods of maintenance. Mukhanina E.N., Shakirov S.K., Safina N.Yu., Gainutdinova E.R.*	**509**
	•*Population-genetic characteristics of cattle by the MC4R gene (Melanocortin receptor 4). Safina N.Yu., Krupin E.O.*	**518**
	•*Concentrations of estradiol, estrone, and estriol in the blood serum of chickens with different egg yolk weights. Perinek O.Yu., Shiryaev G.V.*	**528**
	•*Survivability of stallion sperm in various diluents when cooled to 4-50 C. Nikitkina E.V.*	**539**
Surgery	•*Dynamic characteristics of coagulation and contraction of platelet-fibrin clots prepared in the presence of nonsteroidal and steroid antiinflammatory drugs. Bokarev A.V., Minina A.O., Pilipets E.Ya., Nazarov A.Yu .*	**547**
	•*Postoperative complications in abomasopexy in highly productive cows. Plemyashov K.V., Semenov B.S., Kuznetsova T.S., Khusainova G.S., Krutikova A.A., Belikova A.O., Nikonova T.O.*	**558**
Non-communicable diseases	•*The effect of the natural adaptogen Betulin on the clinical and hematological parameters of breeding calves. Gnezdilova L.A., Kruglova Y.S., Muradyan J.Y., Rozinsky S.M.*	**566**

ИНФЕКЦИОННЫЕ БОЛЕЗНИ

УДК: 636.5.034:615.371
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.4.14

ПОСТВАКЦИНАЛЬНАЯ ДИФФЕРЕНЦИАЦИЯ ИММУННОГО ОТВЕТА, ИНДУЦИРОВАННОГО ЦЕЛЬНОВИРИОННЫМИ, РЕКОМБИНАНТНЫМИ И СУБЪЕДИНИЧНЫМИ ВАКЦИНАМИ ПРОТИВ ВЫСОКОПАТОГЕННОГО ГРИППА ПТИЦ

Тарлавин Н.В. [1*] – канд. ветеринар. наук, асс. каф. эпизоотологии им. В.П. Урбана (ORCID 0000-0002-6474-9171); **Веретенников В.В.**[1] – канд. ветеринар. наук, асс. каф. эпизоотологии им. В.П. Урбана (ORCID 0000-0001-9648-2259); **Джавадов Э.Д.**[1] – д-р ветеринар. наук, проф. каф. эпизоотологии им. В.П. Урбана (ORCID 0000-0002-1589-6300); **Кудря К.С.**[2] – лаборант-исследователь (ORCID 0000-0003-4774-4294); **Красков Д.А.**[1] – асп. каф. эпизоотологии им. В.П. Урбана (ORCID 0000-0002-2362-2641); **Дегтярева А.В.**[1] – студ. (ORCID 0009-0002-1553-4737)

[1] ФГБОУ ВО СПбГУВМ
[2] ФГБУ НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева

[*]tarlav1995@bk.ru

Ключевые слова: *высокопатогенный грипп птиц, H5N1, инактивированные вакцины, субъединичные вакцины, рекомбинантные вакцины.*
Keywords: *highly pathogenic avian influenza, H5N1, inactivated vaccines, subunit vaccines, recombinant vaccines.*
Финансирование. *Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 24-76-10044, https://rscf.ru/project/24-76-10044»*

Поступила: 15.10.2024 **Принята к публикации: 02.12.2024**
Опубликована онлайн:16.12.2024

РЕФЕРАТ

В статье представлены результаты исследования иммунного ответа цыплят кросса Доминант на вакцинацию отечественными и зарубежными вакцинами против высокопатогенного птичьего гриппа подтипа H5N1. В качестве вакцин использовались препараты: «Флу Протект H5», «Reassortant Trivalent Vaccine (H5N6(H5Re13)+H5N8(H5Re14)+H7N9(H7Re4)» и «Volvac® B.E.S.T. AI+ND». Для количественного анализа антигенной активности вакцин в сыворотках крови были использованы наборы ID Screen® Influenza H5 Indirect, предназначенные для определения титра антител к гемагглютинину H5, и ID Screen® Influenza A Antibody Competition Multi-species, позволяющие измерить титр антител к NP-белку (нуклеопротеину вируса гриппа А). По итогам исследования вакцина

«Reassortant Trivalent Vaccine» продемонстрировала наибольший средний титр антител среди протестированных образцов (10709,5), что указывает на её высокую иммуногенность. Наименьшие показатели эффективности показала вакцина «Volvac® B.E.S.T. AI+ND» с средним титром антител 2627,5. Все три вакцины продемонстрировали высокую защитную активность в отношении вируса гриппа А подтипа H5N1, однако эффективность и устойчивость иммунного ответа варьировались. Проведённое параллельное исследование сывороток крови с использованием тест-наборов, ориентированных на различные антигены вируса гриппа (гемагглютинин и нуклеопротеин), показало возможность дифференциации инфицированной птицы от вакцинированной. Данный подход оказался особенно результативным при применении субъединичных вакцин, позволяя достоверно отличать естественное инфицирование от вакцинного иммунного ответа.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Высокопатогенный птичий грипп (ВГП) представляет значительную угрозу для домашней и дикой птицы, а также несет риски для здоровья человека [2]. Вспышки ВГП наносят значительный экономический ущерб птицеводству из-за высокой смертности птицы, вынужденного убоя, различных ограничений и затрат на профилактические и лечебные меры [6]. Вирус характеризуется высокой патогенностью и способностью к межвидовой передаче, что делает необходимым постоянный мониторинг эпизоотологической ситуации и совершенствование мер биозащиты и профилактики в промышленном и фермерском птицеводстве [9]. Эффективность предотвращения эпизоотий напрямую зависит от грамотного использование вакцин, способных формировать устойчивый иммунитет против вируса и ограничивать его распространение.

Для борьбы с ВГП применяются различные вакцины, которые можно условно разделить на моновалентные и поливалентные, направленные против нескольких подтипов вируса [3]. Среди актуальных на сегодняшний день вакцин выделяются как отечественные, так и зарубежные разработки, в которых используются различные подходы к созданию антигенной защиты против вирусов, циркулирующих в дикой природе и на птицефермах [7]. Особое внимание уделяется вакцинам на основе антигенов гемагглютинина H5, поскольку данный белок является основным компонентом иммунного ответа организма и важен для предотвращения патогенеза заболевания. Кроме того, изучение антител к нуклеопротеину (NP-белку) позволяет оценить общий уровень инфицирования вирусом гриппа А и различить вакцинный иммунный ответ от реакции на полевые штаммы вируса [8].

В настоящее время промышленное птицеводство России работает в условиях запрета на вакцинацию против ВГП крупных птицехозяйств закрытого типа (птицефабрик). Основанием для запрета служит “невозможность” достоверно отличить иммунный ответ, возникающий вследствие вакцинации и вследствие переболевания полевым штаммом вируса грипп подтипа H5 [1]. Применение рекомбинантных субъединичных вакцин может решить данную проблему, что демонстрируется в нашем исследовании.

Цель настоящего исследования — оценить и дифференцировать между собой иммунный ответ у цыплят кросса Доминант на вакцинацию отечественными и зарубежными вакцинами, такими как «Флу Протект H5», «Reassortant Trivalent Vaccine (H5N6(H5Re13)+H5N8(H5Re14) +H7N9(H7Re4)» [5] и «Volvac® B.E.S.T. AI+ND». Для объективной оценки иммунного ответа использовались наборы для анализа сывороток крови: ID Screen® Influenza H5 Indirect, позволяющий измерить титры антител против гемагглютинина H5, и ID Screen® Influenza A Antibody Competition Multi-species, используемый для определения уровня антител к NP-белку, что позволяет дифференцировать ответ на вакцинацию от ответа на естественное инфицирование вирусом гриппа А.

Исследование направлено на уточне-

ние эффективности данных вакцинных препаратов в условиях промышленного птицеводства. Проведённый анализ титров антител к H5 и NP-белку [4] позволяет оценить стойкость и качество иммунного ответа у вакцинированных птиц, что важно для дальнейшего планирования программ профилактики и контроля ВГП на уровне хозяйств.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Эксперимент проводили в 2024 году на базе вивариев кафедры эпизоотологии им. В.П. Урбана федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт -Петербургский государственный университет ветеринарной медицины» (ФГБОУ ВО СПбГУВМ). Материалом для исследования служили 80-дневные цыплята кросса Доминант, содержащиеся в соответствии с требованиями к кроссу. Содержание клеточное. Было сформировано 4 группы клинически здоровых птиц, по 10 цыплят в каждой группе, по следующей схеме:

- группа №1 – вакцинированная вакциной Флу Протект H5 (вакцина против гриппа птиц инактивированная эмульгированная, производства ФКП "Ставропольская биофабрика", Россия);
- группа №2 – вакцинированная вакциной Reassortant Trivalent Vaccine (H5N6 (H5Re13)+H5N8(H5Re14)+H7N9(H7Re4) трехвалентная вакцина, рекомбинантная инактивированная, производства «Chongqing River Biotechnology Co.», Китай);
- группа №3 – вакцинированная вакциной Volvac® B.E.S.T. AI+ND (масляная субъединичная инактивированная вакцина, содержащая рекомбинантный гемагглютинин rH5, производства «BOEHRINGER INGELHEIM VETMEDICA», Германия);
- группа №4 – интактный контроль.

Спустя 30 дней после введения вакцины у всех птиц каждой группы были отобраны пробы сыворотки крови и проведен иммуноферментный анализ (ИФА) сыворотки крови цыплят двумя коммерческими наборами производства ID Vet (ID Screen® Influenza A Antibody Competition Multi-species и ID Screen® Influenza H5 Indirect). Первый набор обнаруживает антитела к NP-белку вируса гриппа А и используется для диагностики всех подтипов вируса гриппа А. Второй набор используется для выявления антител исключительно к гемагглютинину H5 вируса гриппа А.

РЕЗУЛЬТАТЫ/ RESULTS

Результаты, полученные в ходе изучения сывороток крови, полученных от опытных групп, позволили сделать ряд выводов касательно иммунного ответа птиц на вакцины, содержащие различный антиген.

При исследовании сывороток крови при помощи набора ID Screen® Influenza H5 Indirect мы получили результаты титра антител, выработанного в отношении гемагглютинина (наиболее иммуногенного белка вируса гриппа А) (Рис. 1). Таким образом, китайская вакцина «Reassortant Trivalent Vaccine» показала наивысший средний титр среди исследованных (10709,5). Следующей по эффективности сработала вакцина «Флу Протект H5» отечественного производства (7959). Наименьшую защитную эффективность показала вакцина «Volvac B.E.S.T. AI+ND» (2627,5). Отсутствие антител в группе контроля говорит об отсутствии контакта птицы как с вакцинным, так и с полевым патогенным вирусом и свидетельствует о чистоте эксперимента. Высокий уровень антител в отношении гемагглютинина в группе, вакцинированной вакциной «Reassortant Trivalent Vaccine» мы связываем с наличием в вакцине не одного, а двух рекомбинантных вирусов гриппа подтипа H5 (H5N6 и H5N8).

Несмотря на то, что уровень иммунного ответа на различные вакцины получился разный, можно с уверенностью говорить, что все три испытанные вакцины показали защитную эффективность в отношении вируса гриппа подтипа H5N1 и птица, вакцинированная любой из представленных вакцин, будет надежно защищена от заболевания.

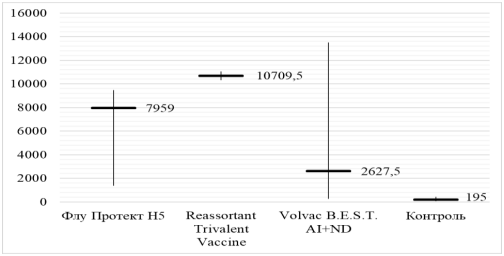


Рисунок 1 – Титр антител в ответ на вакцинацию тремя различными коммерческими вакцинами, набор ID Screen® Influenza A Antibody Competition Multi-species.

Однако, различная конфигурация вакцин и различные антигены, входящие в их состав, позволяют нам сделать дифференциацию природы антител, возникших в ответ на вакцинацию.

Для этого мы воспользовались набором ID Screen® Influenza A Antibody Competition Multi-species, который обнаруживает антитела в отношении NP-белка (нуклеопротеина вируса гриппа А), который обладает низкой изменчивостью и нуклеотидный состав которого меняется в зависимости от подтипа вируса гриппа А лишь на 5-15%.

Таблица 1 демонстрирует, что после вакцинации цельновирионными вакцинами «Флу Протект H5» и «Reassortant Trivalent Vaccine» у птицы образуются специфические антитела в отношении NP-белка, а после вакцинации «Volvac B.E.S.T. AI+ND» и у контрольной группы – отсутствие данных антител.

Результаты данного исследования обусловлены тем, что вакцины «Флу Протект H5» и «Reassortant Trivalent Vaccine» являются цельновирионными, то есть содержат все 8 белков вируса гриппа А, среди которых есть и гемагглютинин и нуклеопротеин. Субъединичная вакцина «Volvac B.E.S.T. AI+ND», напротив, содержит лишь рекомбинантный гемагглютинин, полученный в бакуловирусной системе экспрессии (B.E.S.T.).

Данный результат подтверждает возможность дифференциации природы антител, возникших в ответ на контакт организма птицы с антигеном вируса гриппа подтипа H5N1. Логично предположить, что в случае контакта с цельным полевым вирулентным штаммом вируса результат будет схож с тем, что мы видим в случае вакцинации птицы вакцинами «Флу Протект H5» и «Reassortant Trivalent Vaccine», то есть положительный результат в случае исследования обоими наборами.

Данное явление имеет огромную значимость для специфики российского птицеводства в условиях запрета на вакцинацию крупных птицефабрик. Таким образом, в случае вакцинации птиц вакциной «Volvac B.E.S.T. AI+ND», при помощи параллельного исследования сывороток крови птиц вышеобозначенными наборами можно будет достоверно говорить, что птица не имела контакта с полевым штаммом вируса H5N1, а наличие антител вызвано вакцинацией.

Таблица 1 – Титр антител в ответ на вакцинацию тремя различными коммерческими вакцинами, набор ID Screen® Influenza A Antibody Competition Multi-species

Исследуемая группа	Флу Протект H5	Reassortant Trivalent Vaccine	Volvac B.E.S.T. AI+ND	Контроль
Средний результат	Обнаружено	Обнаружено	Не обнаружено	Не обнаружено

ВЫВОДЫ/ CONCLUSION

Из проведенных исследований можно сделать следующие выводы. Все три испытанные вакцины («Флу Протект H5», «Флу Протект H5», «Volvac B.E.S.T. AI+ND») показали высокую защитную эффективность в отношении вируса гриппа А подтипа H5N1. Используя параллельное исследование сывороток крови иммунных птиц при помощи наборов, нацеленных на различные белки вируса гриппа (гемагглютинин и нуклеопроте-

ин), можно достоверно отличать инфицированную птицу от вакцинированной, в случае если вакцинация была осуществлена субъединичной вакциной. Проводить данное различие возможно при помощи регистрации отрицательного результата при исследовании антител к NP-белку и положительного результата при исследовании антител к гемагглютинину H5.

POST-VACCINAL DIAGNOSTICS OF THE IMMUNE RESPONSE INDUCED BY WHOLE-VIRION, RECOMBINANT AND SUBUNIT VACCINES AGAINST HIGHLY PATHOGENIC AVIAN INFLUENZA

Tarlavin N.V. [1]* – Ph.D., Assistant of the Department of Epizootology named after V.P. Urban (ORCID 0000-0002-6474-9171); **Veretennikov V.V.**[1] – Assistant of the Department of Epizootology named after V.P. Urban (ORCID 0000-0001-9648-2259); **Javadov E.J.** [1] – Doctor of Medical Sciences, Professor of the Department of Epizootology named after V.P. Urban (ORCID 0000-0002-1589-6300); **Kudrya K.S.** [2] – laboratory assistant researcher at the (ORCID 0000-0003-4774-4294); **Kraskov D.A.** [1] – postgraduate student of the Department of Epizootology named after V.P. Urban (ORCID 0000-0002-2362-2641); **Degtyareva A.V.** [1] – 5th year student of the Faculty of Veterinary Medicine of the (ORCID 0009-0002-1553-4737).

[1] FGBOU VO SPbGUVM

[2] Smorodintsev Federal State Budgetary Research Institute of Influenza

*tarlav1995@bk.ru

ABSTRACT

The article presents the results of a study of the immune response of chickens of the Dominant cross to vaccination with domestic and foreign vaccines against highly pathogenic avian influenza subtype H5N1. The following drugs were used as vaccines: Flu Protect H5, Reassortant Trivalent Vaccine (H5N6(H5Re13)+H5N8(H5Re14)+H7N9 (H7Re4)" and "Volvac® B.E.S.T. AI+ND". For quantitative analysis of the antigenic activity of vaccines in blood sera, ID Screen® Influenza H5 Indirect kits were used, designed to determine the titer of antibodies to hemagglutinin H5, and ID Screen® Influenza A Antibody Competition Multi-species, allowing to measure the titer of antibodies to NP protein (nucleoprotein of the influenza A virus). According to the results of the study, the Reassortant Trivalent Vaccine demonstrated the highest average antibody titer among the tested samples (10709.5), which indicates its high immunogenicity. The lowest efficiency indicators were shown by the vaccine "Volvac® B.E.S.T. AI+ND" with an average antibody titer of 2627.5. All three vaccines demonstrated high protective activity against influenza A virus of the H5N1 subtype, but the effectiveness and resistance of the immune response varied. A parallel study of blood sera using test kits focused on various influenza virus antigens (hemagglutinin and nucleoprotein) showed the possibility of differentiating an infected bird from a vaccinated one. This approach proved to be particularly effective in the use of subunit vaccines, allowing us to reliably distinguish natural infection from the vaccine immune response.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Актуальные вирусные инфекции в птицеводстве: анализ результатов молекулярной диагностики / Д.Б. Андрейчук, Л. О. Щербакова, Н. А. Гусева [и др.] // Труды Всероссийского НИИ экспериментальной ветеринарии им. Я. Р. Коваленко. 2021. Т. 82. С. 51-57.

2. Джавадов, Э. Д. Грипп птиц / Э. Д. Джавадов, М. Е. Дмитриева // ГНУ Внивип Россельхозакадемии. 2011. 188 с.

3. Ларионова, Н. В. Возбудитель гриппа: изменчивость в природе и эксперименте: автореферат диссертации на соискание ученой степени доктора биологических наук / Ларионова Наталья Валентиновна // Санкт-Петербург, 2017. 22 с.

4. Сравнительный анализ кодирующих последовательностей пятого и седьмого сегмента генома вируса гриппа, а подтипов H5N1, H7N9, H9N2 / Н. В. Тарлавин, В. В. Веретенников, Э. Д. Джавадов [и др.] // Ветеринария Кубани. – 2023. – № 4. – С. 3-5.

5. Genetic and biological properties of H7N9 avian influenza viruses detected after

application of the H7N9 poultry vaccine in China / Yin X., Deng G., Zeng X. Et al. // PLoS Pathog. 2021. No. 17 (4): e1009561.

6. Identification of a Novel Viral Protein Expressed from the PB2 Segment of Influenza A Virus / Yamayoshi S., Watanabe M., Goto H., Kawaoka Y. // J. Virol. 2015. 90 (1): 444-456.

7. Jiang L., Chen H., Li C. Advances in deciphering the interactions between viral proteins of influenza A virus and host cellular proteins. Cell Insight. 2023. 31. No. 2 (2): 100079.

8. Strategies for enhancing immunity against avian influenza virus in chickens: a review / Alqazlan N., Astill J., Raj S., Sharif S. // Avian Pathol. 2022. No. 51 (3): 211-235.

9. Success factors for avian influenza vaccine use in poultry and potential impact at the wild bird-agricultural interface / Swayne D.E., Spackman E., Pantin-Jackwood M. // Ecohealth. 2014. No. 11 (1): 94-108.

REFERENCES

1. Current viral infections in poultry farming: analysis of the results of molecular diagnostics / D.B. Andreychuk, L.O. Shcherbakova, N.A. Guseva [et al.] // Proceedings of the All-Russian Research Institute of Experimental Veterinary Medicine named after Ya.R. Kovalenko. 2021. Vol. 82. Pp. 51-57.

2. Dzhavadov, E.D. Avian influenza / E.D. Dzhavadov, M.E. Dmitrieva // State Scientific Institution VNIVIP of the Russian Agricultural Academy. 2011. 188 p.

3. Larionova, N.V. Influenza pathogen: variability in nature and experiment: abstract of a dissertation for the degree of Doctor of Biological Sciences / Natalya Valentinovna Larionova // St. Petersburg, 2017. 22 p.

4. Comparative analysis of the coding sequences of the fifth and seventh segments of the influenza A virus genome of the H5N1, H7N9, H9N2 subtypes / N. V. Tarlavin, V. V. Veretennikov, E. D. Dzhavadov [et al.] // Veterinary Science of Kuban. - 2023. - No. 4. - P. 3-5.

5. Genetic and biological properties of H7N9 avian influenza viruses detected after application of the H7N9 poultry vaccine in China / Yin X., Deng G., Zeng X. Et al. // PLoS Pathog. 2021. No. 17 (4): e1009561.

6. Identification of a Novel Viral Protein Expressed from the PB2 Segment of Influenza A Virus / Yamayoshi S., Watanabe M., Goto H., Kawaoka Y. // J. Virol. 2015. 90 (1): 444-456.

7. Jiang L., Chen H., Li C. Advances in deciphering the interactions between viral proteins of influenza A virus and host cellular proteins. Cell Insight. 2023. 31. No. 2 (2): 100079.

8. Strategies for enhancing immunity against avian influenza virus in chickens: a review / Alqazlan N., Astill J., Raj S., Sharif S. // Avian Pathol. 2022. No. 51 (3): 211-235.

9. Success factors for avian influenza vaccine use in poultry and potential impact at the wild bird-agricultural interface / Swayne D.E., Spackman E., Pantin-Jackwood M. // Ecohealth. 2014. No. 11 (1): 94-108.

УДК: 615.281.9:578.81:616.24-002.153-084:636.2
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.4.20

ОЦЕНКА ЛИТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ КОММЕРЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ БАКТЕРИОФАГОВ В ОТНОШЕНИИ *KLEBSIELLA PNEUMONIAE*, АССОЦИИРОВАННОЙ С БРОНХОПНЕВМОНИЕЙ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

Киянчук М.В.* – асп. (ORCID 0009-0006-2884-9630); **Сухинин А.А.** – д-р биол. наук, проф. (ORCID 0000-0002-1245-3440)

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины»

* kiyanchuk.margosha@yandex.ru

Ключевые слова: *Klebsiella pneumoniae, телята, фаготерапия, ESKAPE, носоглоточная слизь*

Key words: *Klebsiella pneumoniae, calves, bacteriophage therapy, ESKAPE, nasopharyngeal mucus*

Поступила: 10.09.2024 **Принята к публикации: 02.12.2024**
Опубликована онлайн:16.12.2024

РЕФЕРАТ

В связи с тем, что возрастает количество сообщений о резистентности к противомикробным препаратам среди различных возбудителей бактериальных болезней, наблюдается ревитализация исследований, направленных на совершенствование лечебных мероприятий, ассоциированных с фаготерапией. Однако вызывает существенное беспокойство тот факт, что данные о эффективном применении фагосодержащих препаратов ограничены, что, в свою очередь, значительно затрудняет активное внедрение данной альтернативы антибиотикам в комплекс противоэпизоотических мероприятий. В связи с этим целью исследования является анализ эффективности жидких коммерческих препаратов бактериофагов при оценке литической активности в отношении *Klebsiella pneumoniae*, выделенных от телят с признаками бронхопневмонии, *in vitro*. Определение фаговых частиц проводили общепринятым методом Грациа. Литическую активность бактериофагов в ходе работы оценивали методом «spot-test». Анализ полученных нами результатов демонстрирует возможность потенциального применения коммерческих фагосодержащих препаратов в составе схемы терапевтических мероприятий при инфекционной бронхопневмонии сельскохозяйственных животных. Выделенные из носоглоточной слизи телят изоляты *Klebsiella pneumoniae* проявили чувствительность к бактериофагам, входящим в состав коммерческих биопрепаратов, применённых в исследовании. Поскольку возрастает проблема нарастающей антибиотикорезистентности среди микроорганизмов, фаготерапия становится привлекательной альтернативой.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Значительную озабоченность вызывает широкое применение антибиотиков в животноводстве, поскольку данная проблема приводит к глобальному распространению различных бактериальных патогенов с множественной лекарственной устойчивостью, включая *ESKAPE* (*Enterococcus faecium, Staphylococcus aureus, Klebsiella pneumoniae, Acinetobacter baumannii, Pseudomonas aeruginosa*, и *Enterobacter species*. [1]

Бактериофаги, в силу своих особенностей, являются привлекательной альтернативой антибиотикам. Род *Klebsiella* принадлежит к семейству *Enterobacteriaceae*. *Klebsiella pneumoniae* – это грамотрицательный, неподвижный, инкапсулированный палочко-видный микроорганизм, который является одним из основных патогенов, вызывающих инфекции дыхательных путей как у человека, так и у животных. *Klebsiella pneumoniae* также продуцирует различные внеклеточные полисахариды, такие как липополисахариды, капсульные полисахариды и экзополисахариды, которые играют важную роль в защите бактериальных колоний от воздействия антибиотиков. [2]

Фаготерапия – это комплекс лечебных мероприятий с применением фагов в основном в качестве лекарственных средств для лечения животных от болезней инфекционной этиологии. [3, 4] На данный момент на территории Российской Федерации изготавливаются разнообразные фагосодержащие препараты, эффективные против различных возбудителей, в том числе – *Klebsiella pneumoniae.* Однако фаготерапия сталкивается с биологическими, нормативными и экономическими препятствиями на пути её дальнейшего внедрения в область сельского хозяйства. Целью исследования является анализ эффективности жидких коммерческих препаратов бактериофагов при оценке литической активности в отношении *Klebsiella pneumoniae*, выделенных от телят с признаками бронхопневмонии, *in vitro.*

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Гипермукоидные изоляты *Klebsiella pneumoniae* выделили из носоглоточной слизи телят животноводческих комплексов Ленинградской области. Работу с препаратами бактериофагов осуществляли согласно Государственной фармакопейной статье ОФС.1.7.1.0002.15. Фаговые частицы в 1 мл определяли с применением метода Грациа (агаровых слоёв).

Мясопептонный 1,5% агар (ГРМ-агар) разливали в чашки Петри (диаметром 90 мм) по 20 ± 2 мл и подсушивали в стерильных условиях. Готовили десятикратные последовательные разведения фагосодержащего препарата в физиологическом растворе по методу Аппельмана от 10^{-1} до 10^{-5}. В стерильную пробирку вносили 2,5 мл, расплавленного и остуженного до 45℃ 0,7% мясопептонного агара, затем добавляли 0,1 мл лизата фага и 0,5 мл суточной бульонной культуры микроорганизма. Содержимое пробирок быстро перемешивали вращением и выливали вторым слоем на поверхность 1,5% агара в чашки Петри. После застывания верхнего слоя агара чашки инкубировали в течение 18 ч при температуре 37℃±1. Литическую активность бактериофагов оценивали методом «spot-test». На поверхность 1,5% мясопептонного агара наносили суточную культуру микроорганизма плотностью 5 ЕД по ОСО 42-28-86. Изучение чувствительности бактериальных штаммов проводилось к коммерческим лекарственным препаратам, представленным в таблице 1. Данные препараты потенциально могут выступать в качестве эффективного терапевтического средства при бронхопневмонии животных. Количество фаговых частиц в 1 мл определяли методом Грация (агаровых слоёв). Бактериофаг клебсиелл поливалентный очищенный (*Klebsiella polyvalent bacteriophage purified*) и Бактериофаг клебсиелл пневмонии очищенный (*Bacteriophage klebsiella pneumoniae purified*) оценивали с *Klebsiella pneumoniae*, выделенных из носоглоточной слизи телят животноводческих комплексов Ленинградской области. Проводили три параллельных опыта с каждым изолятом.

Таблица 1 – Коммерческие лекарственные препараты, используемые в исследовании

Наименование препарата	Производитель
Бактериофаг клебсиелл поливалентный очищенный (*Klebsiella polyvalent bacteriophage purified*)	НПО «Микроген», Российская Федерация
Пиобактериофаг комплексный (*Pyobacteriophage complex*)	НПО «Микроген», Российская Федерация

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Для определения концентрации фаговых частиц в маточном фаге подсчитывали количество негативных колоний (прозрачные пятна на матовом фоне глубинного роста бактерий) в каждой чашке, умножали на коэффициент разведения фага в пробирке с соответствующим разведением. Затем вычисляли среднее значение 3 определений. Результаты приведены в таблице 2.

Изучение литической активности коммерческих бактериофагов с микроорганизмами, выделенными из носоглоточной слизи телят, проводили «spot-test» и представили в таблице 3. Реакцию оценивали в соответствии с ОФС.1.7.1.0002.15.

В условиях нарастающей антибиотикорезистентности среди возбудителей респираторных болезней крупного рогатого скота фаготерапия позволяет усовершенствовать существующие и разработать новые схемы лечебно-профилактических мероприятий при болезнях дыхательной системы животных. При подборе препарата на основе бактериофагов следует избегать лизогенных фагов с потенциалом горизонтального переноса генов устойчивости к токсинам или антибиотикам между бактериями в пользу вирулентного фага, неспособного к лизогенному циклу. *In vitro* анализ литической активности позволяет оперативно и эффективно оценить потенциальную эффективность фагосодержащего препарата по отношению к конкретному возбудителю.

Таблица 2 – Концентрация фаговых частиц в коммерческих препаратах

Наименование препарата	Тест-штамм	Концентрация бактериофага, БОЕ/мл
Бактериофаг клебсиелл поливалентный очищенный (*Klebsiella polyvalent bacteriophage purified*)	*Klebsiella pneumoniae* (животноводческий комплекс №1)	$9{,}0 \times 10^5 \pm 0{,}368 \times 10^5$
Бактериофаг клебсиелл поливалентный очищенный (*Klebsiella polyvalent bacteriophage purified*)	*Klebsiella pneumoniae* (животноводческий комплекс №2)	$4{,}8 \times 10^5 \pm 0{,}124 \times 10^5$
Бактериофаг клебсиелл поливалентный очищенный (*Klebsiella polyvalent bacteriophage purified*)	*Klebsiella pneumoniae* (животноводческий комплекс №3)	$4{,}7 \times 10^5 \pm 0{,}216 \times 10^5$
Бактериофаг клебсиелл пневмонии очищенный (*Bacteriophage klebsiella pneumoniae purified*)	*Klebsiella pneumoniae* (животноводческий комплекс №1)	$9{,}4 \times 10^5 \pm 0{,}125 \times 10^5$
Бактериофаг клебсиелл пневмонии очищенный (*Bacteriophage klebsiella pneumoniae purified*)	*Klebsiella pneumoniae* (животноводческий комплекс №2)	$5{,}0 \times 10^5 \pm 0{,}163 \times 10^5$
Бактериофаг клебсиелл пневмонии очищенный (*Bacteriophage klebsiella pneumoniae purified*)	*Klebsiella pneumoniae* (животноводческий комплекс №3)	$4{,}8 \times 10^5 \pm 0{,}125 \times 10^5$

Таблица 3 – Спектр литической активности коммерческих бактериофагов в отношении бактериальных культур, выделенных из носоглоточной слизи телят

Наименование препарата	Тест-штамм	Активность
Бактериофаг клебсиелл поливалентный очищенный (*Klebsiella*	*Klebsiella pneumoniae* (животноводческий комплекс №1)	«++++»
Бактериофаг клебсиелл поливалентный очищенный (*Klebsiella polyvalent bacteriophage purified*)	*Klebsiella pneumoniae* (животноводческий комплекс №2)	«++++»
Бактериофаг клебсиелл поливалентный очищенный (*Klebsiella polyvalent bacteriophage purified*)	*Klebsiella pneumoniae* (животноводческий комплекс №3)	«+++»
Бактериофаг клебсиелл пневмонии очищенный (*Bacteriophage klebsiella pneumoniae purified*)	*Klebsiella pneumoniae* (животноводческий комплекс №1)	«++++»
Бактериофаг клебсиелл пневмонии очищенный (*Bacteriophage klebsiella pneumoniae purified*)	*Klebsiella pneumoniae* (животноводческий комплекс №2)	«+++»
Бактериофаг клебсиелл пневмонии очищенный (*Bacteriophage klebsiella pneumoniae purified*)	*Klebsiella pneumoniae* (животноводческий комплекс №3)	«+++»

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

В ходе работы проанализировали *in vitro* эффективность коммерческих препаратов бактериофагов (Бактериофаг клебсиелл поливалентный очищенный, Пиобактериофаг комплексный). Анализ полученных результатов демонстрирует возможность их потенциального применения в составе схемы терапевтических мероприятий при инфекционной бронхопневмонии сельскохозяйственных животных. Выделенные из носоглоточной слизи телят изоляты *Klebsiella pneumoniae* оказались чувствительными к бактериофагам, входящих в состав коммерческих биопрепаратов. Поскольку возрастает проблема нарастающей антибиотикорезистентности среди микроорганизмов, фаготерапия становится привлекательной альтернативой.

EVALUATION OF LYTIC ACTIVITY OF COMMERCIAL BACTERIOPHAGE PREPARATIONS AGAINST *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* ASSOCIATED BRONCHOPNEUMONIA OF CATTLE

Kiyanchuk M.V.* – Postgraduate student; **Sukhinin A.A.** – Grand PhD in Biology, Professor

St. Petersburg State University of Veterinary Medicine

* kiyanchuk.margosha@yandex.ru

ABSTRACT

As the number of reports of antimicrobial resistance among various bacterial pathogens is increasing, there has been a revitalisation of research aimed at improving therapeutic measures associated with phage therapy. However, the fact that data on the effective use of phage-containing preparations are limited is of considerable concern, which, in turn, significantly hampers the active introduction of this alternative to antibiotics in the complex of anti-epizootic measures. In this regard, the aim of the study is to analyses the effectiveness of liquid commercial preparations of bacteriophages in assessing the lytic activity against *Klebsiella pneumoniae* isolated from calves with signs of bronchopneumonia, in vitro. Determination of phage particles was carried out by the conventional Gratia method (agar layers). The lytic activity of bacteriophages was evaluated by «spot-test» method. The analysis of our results demonstrates the possibility of potential application of commercial phage -containing preparations as part of the scheme of therapeutic measures in infectious bronchopneumonia of farm animals.

Klebsiella pneumoniae strains isolated from nasopharyngeal mucus of calves showed sensitivity to bacteriophages included in commercial biopreparations used in the study. As the problem of growing antibiotic resistance among microorganisms is increasing, phage therapy becomes an attractive alternative.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Abedon ST. Phage therapy of pulmonary infections. Bacteriophage. 2015 Apr 18;5 (1):e1020260. doi: 10.1080/21597081.2015.1020260. PMID: 26442188; PMCID: PMC4422798.
2. Carmody, Lisa A «Efficacy of bacteriophage therapy in a model of Burkholderia cenocepacia pulmonary infection» The Journal of infectious diseases vol. 201,2 (2010): 264-71. doi:10.1086/649227
3. Dzuliashvili, M et al. «Study of therapeutic potential of the experimental pseudomonas bacteriophage preparation» Georgian medical news ,147 (2007): 81-8. Finlay WH: Mechanics of Inhaled Pharmaceutical Aerosols: An Introduction. Academic Press, San Diego, CA; 2001.
4. Schooley, Robert T «Development and Use of Personalized Bacteriophage-Based Therapeutic Cocktails to Treat a Patient with a Disseminated Resistant Acinetobacter baumannii Infection» Antimicrobial agents and chemotherapy vol. 61,10 e00954-17. 22 Sep. 2017, doi:10.1128/AAC.00954-17
5. Takemura-Uchiyama, Iyo et al. "Experimental phage therapy against lethal lung-derived septicemia caused by Staphylococcus aureus in mice." Microbes and infection vol. 16,6 (2014): 512-7. doi: 10.1016/j.micinf.2014.02.011
6. Talavera-Gonzalez, Juan & Talavera-Rojas, Martín. (2021). Bacteriófagos, los virus comebacterias: historia de dos mentes científicas. Revista Digital Universitaria. 22. 10.22201/cuaieed.16076079e.2021.22.5.9.
7. Wright, A et al. «A controlled clinical trial of a therapeutic bacteriophage preparation in chronic otitis due to antibiotic-resistant Pseudomonas aeruginosa; a preliminary report of efficacy» Clinical otolaryngology: official journal of ENT-UK ; official journal of Netherlands Society for Oto-Rhino-Laryngology & Cervico-Facial Surgery vol. 34,4 (2009): 349-57. doi:10.1111/j.1749-4486.2009.01973.x
8. Zurabov F, Zhilenkov E. Characterization of four virulent Klebsiella pneumoniae bacteriophages, and evaluation of their potential use in complex phage preparation. Virol J. 2021 Jan 6;18(1):9. doi: 10.1186/s12985-020-01485-w. PMID: 33407669; PMCID: PMC7789013.
9. Амирбеков, М. Респираторные болезни рогатого скота в условиях промышленного и отгонного животноводства Таджикистана (этиология, профилактика и лечение): специальность 16.00.03: автореферат диссертации на соискание ученой степени доктора ветеринарных наук / Амирбеков Муложон. – Москва, 1993. – 39 с.
10. Кольберг, Н. А. Анализ эпизоотической ситуации при респираторных заболеваниях крупного рогатого скота инфекционной этиологии в предприятиях Уральского региона / Н. А. Кольберг, О. Г. Петрова, С. А. Марковская // Аграрная наука Евро-Северо-Востока. – 2013. – № 6(37). – С. 46-51.

REFERENCES

1. Abedon ST. Phage therapy of pulmonary infections. Bacteriophage. 2015 Apr 18;5 (1):e1020260. doi: 10.1080/21597081.2015.1020260. PMID: 26442188; PMCID: PMC4422798.
2. Carmody, Lisa A et al. «Efficacy of bacteriophage therapy in a model of Burkholderia cenocepacia pulmonary infection» The Journal of infectious diseases vol. 201,2 (2010): 264-71. doi:10.1086/649227
3. Dzuliashvili, M et al. «Study of therapeutic potential of the experimental pseudomonas bacteriophage preparation» Georgian medical news ,147 (2007): 81-8. Finlay WH: Mechanics of Inhaled Pharmaceutical Aerosols: An Introduction. Academic Press, San Diego, CA; 2001.
4. Schooley, Robert T et al. "Development and Use of Personalized Bacteriophage-Based Therapeutic Cocktails to Treat a Patient with a Disseminated Resistant Acineto-

bacter baumannii Infection." Antimicrobial agents and chemotherapy vol. 61,10 e00954-17. 22 Sep. 2017, doi:10.1128/AAC.00954-17

5. Takemura-Uchiyama, Iyo et al. «Experimental phage therapy against lethal lung-derived septicemia caused by Staphylococcus aureus in mice» Microbes and infection vol. 16,6 (2014): 512-7. doi:10.1016/j.micinf.2014.02.011

6. Talavera-Gonzalez, Juan & Talavera-Rojas, Martín. (2021). Bacteriófagos, los virus comebacterias: historia de dos mentes científicas. Revista Digital Universitaria. 22. 10.22201/cuaieed.16076079e.2021.22.5.9.

7. Wright, A et al. "A controlled clinical trial of a therapeutic bacteriophage preparation in chronic otitis due to antibiotic-resistant Pseudomonas aeruginosa; a preliminary report of efficacy." Clinical otolaryngology: official journal of ENT-UK ; official journal of Netherlands Society for Oto-Rhino-Laryngology & Cervico-Facial Surgery vol. 34,4 (2009): 349-57. doi:10.1111/j.1749-4486.2009.01973.x

8. Zurabov F, Zhilenkov E. Characterization of four virulent Klebsiella pneumoniae bacteriophages, and evaluation of their potential use in complex phage preparation. Virol J. 2021 Jan 6;18(1):9. doi: 10.1186/s12985-020-01485-w. PMID: 33407669; PMCID: PMC7789013.

9. Amirbekov, M. Respiratory diseases of horned cattle in conditions of industrial and distant cattle breeding in Tajikistan (etiology, prevention and treatment) : speciality 16.00.03 : thesis abstract for the degree of Doctor of Veterinary Sciences / Amirbekov Mulozhon. - Moscow, 1993. - 39 c. (in Russ.)

10. Kolberg, N. A. Analysis of the epizootic situation in respiratory diseases of cattle of infectious etiology in the enterprises of the Ural region / N. A. Kolberg, O. G. Petrova, S. A. Markovskaya // Agrarnaya nauka Euro-North-East. - 2013. - № 6(37). - C. 46-51. (in Russ.)

УДК: 579.62
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.4.26

РАЗРАБОТКА УНИФИЦИРОВАННОЙ КИШЕЧНОЙ СРЕДЫ ДЛЯ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ В ВЕТЕРИНАРНОЙ МЕДИЦИНЕ

Шебеко С.К.[1*] – д-р. фарм. наук, проф., зав. каф. биотехнические и медицинские системы и технологии (ORCID 0000-0001-9350-7588); **Тихменева Ю.А.**[1] – асп. (ORCID 0000-0002-0339-8187); **Сандулян К.В.**[2] – студ. (ORCID 0000-0002-8832-5875); **Ермаков А.М.**[1] – д-р. биол. наук, проф., декан факультета биоинженерия и ветеринарная медицина (ORCID 0000-0002-9834-3989).

[1] ФГБОУ ВО «Донской государственный технический университет»
[2] ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет»

* shebeko_sk@mail.ru

***Ключевые слова*:** питательные среды, универсальная искусственная кишечная среда, разработка состава, кишечная микробиота, микробиологическое исследование.

Key words: *nutrient media, universal artificial intestinal medium, composition development, intestinal microbiota, microbiological research.*

Финансирование: *Материалы подготовлены в рамках реализации государственного задания "Молекулярные механизмы взаимодействия сообществ кишечных микроорганизмов in vivo и in vitro на базе автоматизированной системы имитации ЖКТ свиньи" (номер ЕГИСУ НИОКР FZNE-2024-0013).*

Поступила: 08.11.2024 **Принята к публикации: 02.12.2024**
Опубликована онлайн:16.12.2024

РЕФЕРАТ

Искусственные кишечные среды высоко востребованы в микробиологических исследованиях в сфере ветеринарии, поскольку позволяют получить качественный и количественный состав микробиоты, соответствующий естественным условиям. Единственная искусственная кишечная среда, имеющаяся на сегодняшний день в отечественной микробиологической практике, не валидирована и её применение ограничивается культивированием лактобактерий. В связи с этим, научный интерес представляет разработка унифицированной искусственной кишечной среды (УИКС), максимально соответствующей естественным условиям кишечника, на примере кур породы Браун Ник, для эффективного культивирования микроорганизмов при проведении микробиологических исследований в ветеринарии. В ходе проведенных исследований были проанализированы существующие искусственные кишечные среды и выбраны ключевые компоненты для УИКС, включающие пектин, ксилан, арабиногалактан, амилопектин, казеин, крахмал, бактопептон, соли и витамины, что обеспечивает воспроизведение естественных условий кишечника. Для проверки эффективности среды отобрали десять образцов фекалий кур, пять из которых инкубировали в условиях УИКС, а другие пять культивировали без применения среды. Полученные бактериальные культуры были идентифицированы и количественно проанализированы с помощью масс-спектрометрии MALDI-TOF и метода посева на селективные среды. Статистический анализ показал отсутствие значимых различий в составе микробиоты меж-

ду экспериментальными группами (p>0,05), что указывает на успешное воспроизведение условий кишечника с использованием УИКС. Настоящее исследование демонстрирует потенциал УИКС для культивирования кишечной микробиоты и может стать основой для дальнейших исследований, направленных на моделирование условий кишечника при разработке лекарственных препаратов и кормов в ветеринарии.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Искусственные кишечные среды (ИКС) – это особые питательные среды, которые имитируют внутреннее кишечное содержимое, что позволяет получить качественный и количественный состав микробиоты в таких соотношениях, в которых они присутствуют в настоящем кишечнике. Применение ИКС позволяет изучать влияние микробиоты, в том числе патогенных и условно-патогенных микроорганизмов, друг на друга, а также лекарственных веществ на них. Поэтому актуальной является разработка валидированных кишечных сред для микробиологических исследований.

По состоянию на 2023 год в России существовала только одна ИКС, имитирующая условия кишечника курицы [1]. Однако её валидация была проведена с использованием lux-биосенсоров, которые не считаются признанным методом для изучения микробиоты. Поэтому нельзя утверждать, что данная ИКС прошла полноценную валидацию. Более того, в рамках исходного исследования на этой среде культивировались исключительно лактобациллы, тогда как микробиота кишечника курицы включает в себя и другие бактериальные роды. Это затрудняет оценку того, насколько условия в ИКС отвечают потребностям остальных представителей микробиоты.

Стандартные питательные среды (Блаурокка, агар для анаэробов с антибиотиками, Вильсона-Блэра, MRS, Эндо, Плоскирева, энтерококковый агар, кровяной агар, желточно-солевой агар, скошенный МПА, Сабуро) широко применяются для диагностики инфекционных заболеваний, включая поражения пищеварительного тракта. Однако каждая из них поддерживает рост лишь одного или нескольких родов микроорганизмов. Так, например, на среде Эндо можно выращивать только представителей семейства энтеробактерий [2].

Таким образом, единственная ИКС, разработанная в России, не является валидированной, и её применение ограничивается лактобациллами. Стандартные же питательные среды не позволяют культивировать всю кишечную микробиоту в одной пробирке. В связи с этим научный интерес представляет разработка кишечной среды для широкого применения в микробиологических исследованиях в сфере ветеринарии.

Целью научно-исследовательской работы стала разработка унифицированной искусственной кишечной среды (УИКС) на основе изученного биохимического состава естественного кишечного содержимого кур породы Браун Ник.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Для приготовления 1 л УИКС к 1 л дистиллированной воды добавляли (в граммах) 9,0 пектина, 9,0 ксилана, 9,0 арабиногалактана, 9,0 амилопектина, 43,7 казеина, 74,6 крахмала, 31,5 твина 80, 43,7 бактопептона, 0,7 бычьей желчи стерильной, 4,7 $K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$, 8,4 NaCl, 0,009 $FeSO_4 \cdot 7H_2O$, 0,7 $MgSO_4 \cdot 7\ H_2O$, 0,8 $CaCl \cdot 2H_2O$, 0,02 гемина, 0,2 п-аминобензойной кислоты. Затем полученную смесь автоклавировали при температуре 134 °C и давлении 2 атмосферы в течение 30 минут. После автоклавирования добавляли 4,0 г стерильного коммерческого муцина желудка свиньи, 2,5 г никотинамида, 4 мг тиамина и 3 мг цистеин-HCl для избегания их разрушения. В случае использования УИКС свыше 72 часов в нее дополнительно вводили 1,5 мл витаминной смеси, содержащей (на 1 л): 1 мг менадиона, 2 мг D-биотина, 0,5 мг витамина B12, 10 мг пантотеновой кислоты, 4 мг тиамина и 5 мг никотинамидной кислоты.

Образцы хранили при двух температурных режимах: часть в холодильнике

при 4 °С в течение 72 часов, другую часть — в термостате при 35 °С в течение того же времени. Для подтверждения эффективности автоклавирования был проведён бактериологический контроль стерильности в соответствии с ГОСТ 28085-2013 «Средства лекарственные биологические для ветеринарного применения. Метод бактериологического контроля стерильности», в результате которого роста бактериальных культур в образцах выявлено не было.

Десять образцов фекалий кур породы Браун Ник были отобраны из коллекции лаборатории «Центр Агробиотехнологии» ДГТУ. Пять из них культивировали непосредственно в разработанной УИКС, остальные — без предварительного культивирования. Для селективного выращивания различных бактериальных групп использовались следующие питательные среды:

- бифидобактерии — молочно-растительная среда;
- энтерококки — энтерококковый агар;
- кишечные палочки и лактозопозитивные бактерии — среда Эндо.

Посев проводился согласно методическим указаниям МУК 4.2.2316-08 «Методы контроля бактериологических питательных сред». Методика посева включала предварительное обозначение типа питательной среды и номера образца на дне чашки Петри. Затем бактериологическую петлю стерилизовали над спиртовкой, открывали пробирку с образцом фекалий, прокаливали ее края, охлаждали петлю о стенки пробирки и переносили исследуемый материал на питательную среду, распределяя его по секторам. После закрытия чашки Петри посевы помещали в анаэростат, поддерживая температуру 37°С в течение 72 часов, с созданием анаэробных условий с помощью газовой смеси (80% азота, 10% водорода и 10% углекислого газа).

Для определения видового состава бактерий применяли MALDI-TOF масс-спектрометрию. Размножение бацилл проводили на агаре Лурия, а количество колониеобразующих единиц (КОЕ) на грамм рассчитывали на фунт-агаре. В ходе культивирования морфологически наблюдали колонии бацилл среди других видов. Колонии бацилл исследовали под микроскопом. Для определения количества спор в образце бацилл выделяли две аликвоты: одну пастеризовали при 90°С в течение 5 минут, чтобы убить вегетативные клетки и оставить только споры, которые затем высевали на агар Лурия для подсчета КОЕ/г. Вторую аликвоту инкубировали при +4°С в течение 24 часов для стимуляции споруляции, затем снова пастеризовали и считали споры, проросшие из спорообразующих бацилл. Разность между результатами первой и второй аликвот позволила оценить количество спорообразующих бацилл, а общий посев непастеризованного образца давал общий показатель КОЕ/г.

Результаты обрабатывали методами описательной статистики и проверяли на нормальность по критерию Шапиро-Уилка. Статистический анализ межгрупповых различий проводили методом ANOVA с апостериорным тестом Тьюки для нормально распределенных данных или с использованием критерия Манна-Уитни в противоположном случае. Вычисления производили с помощью программ IBM SPSS Statistics v. 22 ("IBM Corp.", США) и MS Excel 2016 ("Microsoft Corp.", США). Различия показателей считали статистически значимыми при уровне вероятности $p<0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

На основании данных научной литературы был подобран следующий состав УИКС (г/л): пектин – 9,0, ксилан – 9,0, арабиногалактан – 9,0, амилопектин – 9,0, казеин – 43,7, крахмал – 74,6, твин-80 – 31,5, бактопептон – 43,7, бычья жёлчь стерильная – 0,7, $K_2HPO_4•3H_2O$ – 4,7, NaCl – 8,4, $FeSO_4•7H_2O$ – 0,009, $MgSO_4•7H_2O$ – 0,7, $CaCl•2H_2O$ – 0,8, гемин – 0,02, п-аминобензойная кислота – 0,2. После автоклавирования полученной смеси в нее добавляли 4,0 г стерильного коммерческого муцина желудка свиньи, 2,5 г никотинамида, 4 мг тиамина и 3 мг цистеин-HCl для избегания их разрушения. В

случае использования УИКС свыше 72 часов было определено, что в нее целесообразно добавлять 1,5 мл витаминной смеси, содержащей (на 1 л): 1 мг менадиона, 2 мг D-биотина, 0,5 мг витамина B12, 10 мг пантотеновой кислоты, 4 мг тиамина и 5 мг никотинамидной кислоты.

При подборе состава УИКС исходили из того, что характер питания кур и вещества, которые поступают в их кишечник, регулируют рост и метаболическую активность микробиоты, обуславливают определенные физиологические характеристики внутренней среды, которые должны быть сымитированы в представленной разработке.

За основу разработки была взята зарубежная валидированная кишечная среда SIEM, которая хорошо себя зарекомендовала при проведении различных исследований в искусственной динамической модели толстой кишки TIM-2 [3]. SIEM состоит из 2,5 г/л $K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$, 4,5 г/л NaCl, 0,005 г/л $FeSO_4 \cdot 7H_2O$, 0,5 г/л $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 0,45 г/л $CaCl_2 \cdot 2H_2O$, 0,05 г/л желчи и 0,4 г/л цистеин-HCl. Также в нее добавляется 1 мл витаминной смеси, содержащей 1 мг/л менадиона, 2 мг/л D-биотина, 0,5 мг/л витамина B12, 10 мг/л пантотената, 5 мг/л никотинамида, 5 мг/л п-аминобензойной кислоты и 4 мг/л тиамина. Данная среда позитивно влияет на естественный баланс микробного сообщества, позволяя максимально близко воспроизвести нормальные условия толстого кишечника. Однако же состав SIEM не учитывает в полной мере особенности питания кур. В связи с этим в нее целесообразно было включить нижеописанные компоненты для достижения определенных свойств УИКС.

В качестве углевода был выбран ксилан, поскольку он входит в состав злаковых и является субстратом для жизнедеятельности бифидобактерий, например, *Bifidobacterium longum* и продуцентов бутирата, например, *Faecalibacterium prausnitzii* [4]. Пектин является субстратом для семейства *Firmicutes* [5], а арабиногалактан, содержащийся в твердых частях растений и входящий в рацион животных и человека, стимулирует рост пробиотической микробиоты [6]. Амилопектин обусловливает рост облигатной микробиоты [7]. Казеин является источником аминокислот для микробиоты, которые входят в состав бактериальных белков, ферментов и биологически активных веществ [8]. Крахмал является предшественником амилопектина, модулирует рост резидентной микробиоты [9]. Твин-80 необходим для профилактики вспенивания УИКС, является субстратом для микробиоты, выполняет дезинтоксикационную функцию [10]. Бактопептон в процессе метаболизма обогащает микробиоту азотом, который необходим для синтеза пуринов и пиримидинов [11]. Стерильная бычья желчь – субстрат для синтеза бактериальных стероидов, препятствует избыточному росту микробиоты [12]. Менадион участвует в культивировании патогенной микробиоты, которая также присутствует в кишечнике в определенном количестве. Гемин участвует в образовании бактериальных уролитинов, имеет антиоксидантные свойства [13]. Парааминобензойная кислота необходима для реакций матричного синтеза в бактериальной клетке и образования биопленок [14]. Тиамин – экзогенный кофермент, необходимый для синтеза декарбоксилаз [15]. Никотинамидная кислота необходима для репарации ДНК, является кофактором ферментных комплексов [16]. Коммерческий муцин желудка свиньи необходим для имитации нормальной слизи. Цистеин – донор сульфгидрильных групп, восстановитель, образует регуляторные комплексы [17]. D-биотин участвует в синтезе карбоксилаз, образовании зародышевых трубок и грибков [18]. Витамин B12 участвует в реакциях трансметилирования и синтезе нуклеотидов [19]. Пантотенат входит в состав трансфераз и ацетил-КоА [20].

С целью тестирования разработанной УИКС из коллекции научно-исследовательской лаборатории «Центр Агробиотехнологии» ДГТУ были отобраны десять образцов фекалий кур породы Браун Ник. Пять образцов использовали

для бактериологического посева без предварительного культивирования в разрабатываемой УИКС, а остальные пять — для культивирования кишечных бактерий с использованием УИКС.

Для культивирования молочнокислых бактерий применяли селективные питательные среды: бифидобактерии выращивали на молочно-растительной среде, энтерококки — на энтерококковом агаре, а кишечные палочки и лактозопозитивные бактерии — на среде Эндо.

По итогам исследования были определены родовой состав и численность бактерий в образцах фекалий кур, которые представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Родовой состав и численность микробиоты, выращенной на селективных питательных средах

Род	КОЕ/г	Стандартная ошибка
Lactobacillus	$3,5 \cdot 10^8$	0,4
Bifidobacterium	$1,0 \cdot 10^7$	0,0
Enterococcus	$1,4 \cdot 10^7$	0,3
Escherichia coli	$4,8 \cdot 10^6$	1,1
Лактозо-позитивные бактерии	$4,4 \cdot 10^5$	1,1
Bacillus	0	0

Таблица 2 – Родовой состав и численность микробиоты, выращенной на УИКС

Род	КОЕ/г	Стандартная ошибка
Lactobacillus	$3,8 \cdot 10^8$	0,5
Bifidobacterium	$1,0 \cdot 10^7$	0,0
Enterococcus	$1,4 \cdot 10^7$	0,1
Escherichia coli	$4,8 \cdot 10^6$	1,3
Лактозо-позитивные бактерии	$4,3 \cdot 10^5$	1,2
Bacillus	0	0

Для культивирования кишечных бактерий при помощи разрабатываемой среды пять образцов фекалий кур были помещены в стеклянную колбу с автоклавированной УИКС и икубировались 24 часа в анаэробных условиях в термостате при температуре 41 °С с контролем pH в диапазоне от 6,8 до 7,6, что соответствует нормальной температуре и pH слепой кишки курицы. Далее полученное содержимое было разаликвотировано в асептических условиях для бактериальных посевов, родовой идентификации и количественного анализа в соответствии с вышеописанными методами.

В результате у образцов, культивированных с применением разрабатываемой УИКС также был определен родовой состав кишечных бактерий (таблица 2).

Полученные данные были использованы для проверки различий в составе кишечной микробиоты в образцах с предварительным культивированием с применением УИКС и без. Согласно критерию Шапиро-Уилка, полученные данные не подчинялись нормальному распределению, в связи с чем для проверки разницы в количественном составе родов кишечных бактерий был использован критерий Манна-Уитни. По результатам проверки статистических гипотез значимой разницы между составом микробиоты обнаружено не было ($p>0,05$), что свидетельствует об успешности воспроизведения кишечных условий с применением разрабатываемой УИКС.

Таким образом, разработанная УИКС состоит из широкого спектра белков, жиров, углеводов, солей и витаминов, за счет чего происходит удовлетворение внешних и внутренних потребностей широкого спектра бактерий, культивируемых в кишечнике, следовательно, это обусловливает рост большего количества

фил бактерий. Все вышеизложенное делает разработанную УИКС более точной моделью приближения к среде кишечника.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

В результате проведенных исследований был подобран состав и создан экспериментальный образец УИКС с учетом особенностей питания и физиологических параметров кишечника кур породы Браун Ник. Была апробирована возможность автоклавирования экспериментального образца УИКС. Было обнаружено, что соли, белки и углеводы выдерживают автоклавирование, а свиной желудочный муцин и витаминный комплекс должны вводиться в стерильном виде после этого. Разработанная УИКС была протестирована путем культивирования в ней микробиоты из образцов фекалий кур в сравнении с культивированием на селективных питательных средах. Статистически значимых различий между численностью бактерий, выращенных на селективных питательных средах и УИКС выявлено не было, что говорит о качественном воспроизведении условий кишечника кур с применением разработанной УИКС.

DEVELOPMENT OF THE UNIFIED INTESTINAL MEDIUM FOR MICROBIOLOGICAL RESEARCH IN VETERINARY MEDICINE

Shebeko S.K.[1*] **–** Doctor of Pharmacy, Prof., Head of the Department of Bioengineering and Medical Systems and Technologies (ORCID 0000-0001-9350-7588); **Tikhmeneva Iu.A.**[1] **–** postgraduate student (ORCID 0000-0002-0339-8187); **Sandulian K.V.**[2] **–** student (ORCID 0000-0002-8832-5875); **Ermakov A.M.**[1] – Doctor of Biology, Prof., Dean of the Faculty of Bioengineering and Veterinary Medicine (ORCID 0000-0002-9834-3989).

[1]Don State Technical University
[2]Rostov State Medical University

* shebeko_sk@mail.ru

Financing: *The materials were prepared as part of the implementation of the state task "Molecular mechanisms of interaction of communities of intestinal microorganisms in vivo and in vitro based on an automated system for simulating the pig gastrointestinal tract" (number EGISU R&D FZNE-2024-0013)..*

ABSTRACT

Artificial intestinal media are in high demand in microbiological research in the field of veterinary medicine, since they allow obtaining a qualitative and quantitative composition of microbiota corresponding to the natural conditions. The only artificial intestinal medium currently available in domestic microbiological practice has not been validated and its use is limited to the cultivation of lactobacilli. In this regard, the development of a unified artificial intestinal medium (UAIM) that best matches the natural conditions of the intestine, using the example of Brown Nick chickens, is of scientific interest for the effective cultivation of microorganisms during microbiological research in veterinary medicine. In the course of the studies, existing artificial intestinal media were analyzed and key components were selected, including pectin, xylan, arabinogalactan, amylopectin, casein, starch, bactopeptone, salts and vitamins, which ensures the reproduction of natural intestinal conditions. To test the effectiveness of the medium, ten samples of chicken feces were selected, five of which were incubated under UAIM conditions, and the other five were cultured without the use of the medium. The resulting bacterial cultures were identified and quantitatively analyzed using MALDI-TOF mass spectrometry and the method of seeding on selective media. Statistical analysis showed no significant differences in the microbiota composition between the experimental groups ($p>0.05$), indicating that the intestinal conditions were successfully reproduced using UAIM. This study demonstrates the potential of UAIM for culturing intestinal microbiota and can serve as a basis for further studies aimed at modeling intestinal conditions in the development of veterinary drugs and feeds.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1.Mazanko, M.S. Antioxidant and antimutagenic properties of probiotic Lactobacilli determined using LUX-biosensors / M.S. Mazanko, E.V. Prazdnova, M.P. Kulikov [et al.] // Enzyme Microb. Technol. 2022:155:109980. – DOI: https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2021.109980.

2.Kaminsky, D.L. Evaluation of nutrient media to grow some infection diseases causative agents / D.L. Kaminsky, V.V. Lobanov, K.K. Rozhkov, A.B. Mazrukho // Zhurnal Mikrobiol. Epidemiol. i Immunobiol. 2017. Vol. 94 (2), P. 104-110.

3.Maas, E. Investigating the survival and activity of a bacteriophage in the complex colon environment with the use of a dynamic model of the colon (TIM-2) / E. Maas, J. Penders, K. Venema // Microbial Pathogenesis. 2023:178(3):106061.

4.Butardo, V.M. Chapter Two - Tailoring Grain Storage Reserves for a Healthier Rice Diet and its Comparative Status with Other Cereals / V.M. Butardo, N. Sreenivasulu // International Review of Cell and Molecular Biology. 2016:323:31-70.

5.Blanco-Pérez, F. The Dietary Fiber Pectin: Health Benefits and Potential for the Treatment of Allergies by Modulation of Gut Microbiota / F. Blanco-Pérez, H. Steigerwald, S. Schülke [et al.] // Curr. Allergy Asthma Rep. 2021:21(10):43. – DOI: 10.1007/s11882-021-01020-z.

6.Kiyoto, S. Distribution of Lignin, Hemicellulose, and Arabinogalactan Protein in Hemp Phloem Fibers / S. Kiyoto, A. Yoshinaga, E. Fernandez-Tendero [et al.] // Microsc. Microanal. 2018:24(4):442-452. – DOI: 10.1017/S1431927618012448.

7.Yang, Z. Dietary amylose and amylopectin ratio changes starch digestion and intestinal microbiota diversity in goslings / Z. Yang, C. Xu, W.Wang [et al.] // Br. Poult. Sci. 2022:63(5):691-700. – DOI: 10.1080/00071668.2022.2079398.

8.Solihin, J. Induction of amylase and protease as antibiofilm agents by starch, casein, and yeast extract in Arthrobacter sp. CW01 / J. Solihin, D.E. Waturangi, T. Purwadaria // BMC Microbiol. 2021:21(1):232. – DOI: 10.1186/s12866-021-02294-z.

9.Seung, D. Amylose in starch: towards an understanding of biosynthesis, structure and function / D. Seung // New Phytol. 2020:228 (5):1490-1504. – DOI: 10.1111/nph.16858.

10.Favero, M.S. Microbiological sampling of surfaces / M.S. Favero, J.J. McDade, J.A. Robertsen [et al.] // J. Appl. Bacteriol. 1968:31(3):336-343. – DOI: 10.1111/j.1365-2672. 1968.tb00375.x.

11.Abou Dobara, M.I. Production and partial characterization of high molecular weight extracellular alpha-amylase from Thermoactinomyces vulgaris isolated from Egyptian soil / M.I. Abou Dobara, A.K. El-Sayed, A.A. El-Fallal, N.F. Omar // Polish J. Microbiol. 2011:60(1):65-71.

12.Campbell, C. Bacterial metabolism of bile acids promotes generation of peripheral regulatory T cells / C. Campbell, P. T. McKenney, D. Konstantinovsky [et al.] // Nature. 2020:581(7809):475-479. – DOI: 10.1038/s41586-020-2193-0.

13.Piwowarski, J.P. Differences in Metabolism of Ellagitannins by Human Gut Microbiota Ex Vivo Cultures / J.P. Piwowarski, S. Granica, J. Stefańska, A.K. Kiss // J. Nat. Prod. 2016:79(12):3022-3030. – DOI: 10.1021/acs.jnatprod.6b00602.

14.Dial, C.N. Para-Aminobenzoic Acid, Calcium, and c-di-GMP Induce Formation of Cohesive, Syp-Polysaccharide-Dependent Biofilms in Vibrio fischeri / C.N. Dial, L. Speare, G.C. Sharpe [et al.] // MBio. 2021:12(5): e0203421. – DOI: 10.1128/mBio.02034-21.

15.Nosaka, K. Recent progress in understanding thiamin biosynthesis and its genetic regulation in Saccharomyces cerevisiae / K. Nosaka // Appl. Microbiol. Biotechnol. 2006:72(1):30-40. – DOI: 10.1007/s00253-006-0464-9.

16.Shats, I. Bacteria Boost Mammalian Host NAD Metabolism by Engaging the Deamidated Biosynthesis Pathway / I. Shats, J. G. Williams, J. Liu [et al.] // Cell Metab. 2020:31(3):564-579.e7. – DOI: 10.1016/j.cmet.2020.02.001.

17.Takagi, H. L-Cysteine Metabolism and Fermentation in Microorganisms / Takagi H., Ohtsu I. // Adv. Biochem. Eng. Biotechnol. 2017:159:129-151. – DOI:

10.1007/10_2016_29.
18. Satiaputra, J. Biotin-mediated growth and gene expression in Staphylococcus aureus is highly responsive to environmental biotin / J. Satiaputra, B.A. Eijkelkamp, C.A. McDevitt [et al.] // Appl. Microbiol. Biotechnol. 2018:102(8):3793-3803. – DOI: 10.1007/s00253-018-8866-z.
19. Hou, H. Epigenetic factors in atherosclerosis: DNA methylation, folic acid metabolism, and intestinal microbiota / Hou H., Zhao H. // Clin. Chim. Acta. 2021:512:7-11. – DOI: https://doi.org/10.1016/j.cca.2020.11.013.
20. Tahiliani, A.G. Pantothenic acid in health and disease / Tahiliani A.G., Beinlich C.J. // Vitam. Horm., 1991:46:165-228. – DOI: 10.1016/s0083-6729(08)60684-6.

REFERENCES

1. Mazanko, M.S. Antioxidant and antimutagenic properties of probiotic Lactobacilli determined using LUX-biosensors / M.S. Mazanko, E.V. Prazdnova, M.P. Kulikov [et al.] // Enzyme Microb. Technol. 2022:155:109980. – DOI: https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2021.109980.
2. Kaminsky, D.L. Evaluation of nutrient media to grow some infection diseases causative agents / D.L. Kaminsky, V.V. Lobanov, K.K. Rozhkov, A.B. Mazrukho // Zhurnal Mikrobiol. Epidemiol. i Immunobiol. 2017. Vol. 94 (2), P. 104-110.
3. Maas, E. Investigating the survival and activity of a bacteriophage in the complex colon environment with the use of a dynamic model of the colon (TIM-2) / E. Maas, J. Penders, K. Venema // Microbial Pathogenesis. 2023:178(3):106061.
4. Butardo, V.M. Chapter Two - Tailoring Grain Storage Reserves for a Healthier Rice Diet and its Comparative Status with Other Cereals / V.M. Butardo, N. Sreenivasulu // International Review of Cell and Molecular Biology. 2016:323:31-70.
5. Blanco-Pérez, F. The Dietary Fiber Pectin: Health Benefits and Potential for the Treatment of Allergies by Modulation of Gut Microbiota / F. Blanco-Pérez, H. Steigerwald, S. Schülke [et al.] // Curr. Allergy Asthma Rep. 2021:21(10):43. – DOI: 10.1007/s11882-021-01020-z.
6. Kiyoto, S. Distribution of Lignin, Hemicellulose, and Arabinogalactan Protein in Hemp Phloem Fibers / S. Kiyoto, A. Yoshinaga, E. Fernandez-Tendero [et al.] // Microsc. Microanal. 2018:24(4):442-452. – DOI: 10.1017/S1431927618012448.
7. Yang, Z. Dietary amylose and amylopectin ratio changes starch digestion and intestinal microbiota diversity in goslings / Z. Yang, C. Xu, W.Wang [et al.] // Br. Poult. Sci. 2022:63(5):691-700. – DOI: 10.1080/00071668.2022.2079398.
8. Solihin, J. Induction of amylase and protease as antibiofilm agents by starch, casein, and yeast extract in Arthrobacter sp. CW01 / J. Solihin, D.E. Waturangi, T. Purwadaria // BMC Microbiol. 2021:21(1):232. – DOI: 10.1186/s12866-021-02294-z.
9. Seung, D. Amylose in starch: towards an understanding of biosynthesis, structure and function / D. Seung // New Phytol. 2020:228(5):1490-1504. – DOI: 10.1111/nph.16858.
10. Favero, M.S. Microbiological sampling of surfaces / M.S. Favero, J.J. McDade, J.A. Robertsen [et al.] // J. Appl. Bacteriol. 1968:31(3):336-343. – DOI: 10.1111/j.1365-2672.1968.tb00375.x.
11. Abou Dobara, M.I. Production and partial characterization of high molecular weight extracellular alpha-amylase from Thermoactinomyces vulgaris isolated from Egyptian soil / M.I. Abou Dobara, A.K. El-Sayed, A.A. El-Fallal, N.F. Omar // Polish J. Microbiol. 2011:60(1):65-71.
12. Campbell, C. Bacterial metabolism of bile acids promotes generation of peripheral regulatory T cells / C. Campbell, P. T. McKenney, D. Konstantinovsky [et al.] // Nature. 2020:581(7809):475-479. – DOI: 10.1038/s41586-020-2193-0.
13. Piwowarski, J.P. Differences in Metabolism of Ellagitannins by Human Gut Microbiota ex Vivo Cultures / J.P. Piwowarski, S. Granica, J. Stefańska, A.K. Kiss // J. Nat. Prod. 2016:79(12):3022-3030. – DOI: 10.1021/acs.jnatprod.6b00602.
14. Dial, C.N. Para-Aminobenzoic Acid, Calcium, and c-di-GMP Induce Formation of Cohesive, Syp-Polysaccharide-Dependent

Biofilms in Vibrio fischeri / C.N. Dial, L. Speare, G.C. Sharpe [et al.] // MBio. 2021:12(5): e0203421. – DOI: 10.1128/ mBio.02034-21.
15. Nosaka, K. Recent progress in understanding thiamin biosynthesis and its genetic regulation in Saccharomyces cerevisiae / K. Nosaka // Appl. Microbiol. Biotechnol. 2006:72(1):30-40. – DOI: 10.1007/s00253-006-0464-9.
16. Shats, I. Bacteria Boost Mammalian Host NAD Metabolism by Engaging the Deamidated Biosynthesis Pathway / I. Shats, J. G. Williams, J. Liu [et al.] // Cell Metab. 2020:31(3):564-579.e7. – DOI: 10.1016/ j.cmet.2020.02.001.
17. Takagi, H. L-Cysteine Metabolism and Fermentation in Microorganisms / Takagi H., Ohtsu I. // Adv. Biochem. Eng. Biotechnol. 2017:159:129-151. – DOI: 10.1007/10_2016_29.
18. Satiaputra, J. Biotin-mediated growth and gene expression in Staphylococcus aureus is highly responsive to environmental biotin / J. Satiaputra, B.A. Eijkelkamp, C.A. McDevitt [et al.] // Appl. Microbiol. Biotechnol. 2018:102(8):3793-3803. – DOI: 10.1007/s00253-018-8866-z.
19. Hou, H. Epigenetic factors in atherosclerosis: DNA methylation, folic acid metabolism, and intestinal microbiota / Hou H., Zhao H. // Clin. Chim. Acta. 2021:512:7-11. – DOI: https://doi.org/10.1016/ j.cca.2020.11.013.
20. Tahiliani, A.G. Pantothenic acid in health and disease / Tahiliani A.G., Beinlich C.J. // Vitam. Horm., 1991:46:165-228. – DOI: 10.1016/s0083-6729(08)60684-6.

УДК: 579.62:636.22/.28
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.4.35

КОНТРОЛЬ ЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ И СТАБИЛЬНОСТИ БИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ РЕФЕРЕНТНОГО ШТАММА BRUCELLA CANIS RM 6/66 ПРИ ДЛИТЕЛЬНОМ ХРАНЕНИИ

Панкова Е.В. – канд. биол. наук, вед. науч. сотр. (ORCID 0000-0003-4446-4619); **Артемьева Е.А.** – канд. ветеринар. наук, ст. науч. сотр., нач. отдела - Государственная коллекция микроорганизмов (ORCID 0000-0002-6204-6077); **Мельникова Л.А.** – канд. ветеринар. наук, вед. науч. сотр. (ORCID 0000-0002-0159-3843); **Мустафина Э.Н. –** канд. ветеринар. наук, вед. науч. сотр. (ORCID 0000-0002-1997-5575)**; Громова Е.А. –** канд. биол. наук, ст. науч. сотр. (ORCID 0000-0002-0416-6193)

ФГБНУ «Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности»

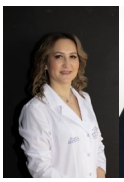
**katerinka_ja@bk.ru*

Ключевые слова: *штаммы, патогены, сохранное депонирование, коллекции микроорганизмов, биопрепараты.*

Key words: *strains, pathogens, safe deposit, collection of microorganisms, bio drugs.*

Финансирование: *Материалы подготовлены за счет средств ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ» в рамках научно-исследовательской работы по теме «Изучение биологических характеристик штаммов заразных и особо опасных болезней животных и их стабильности в процессе длительного хранения».*

Поступила: 18.09.2024 **Принята к публикации: 02.12.2024**
Опубликована онлайн:16.12.2024



РЕФЕРАТ

Бруцеллез собак, вызываемый бруцеллой вида canis, все больше приобретает важное эпизоотологическое и эпидемиологическое значение во всем мире и наносит большой экономический ущерб собаководству. Сохранение патогенов в жизнеспособном состоянии с их первоначальными свойствами в течение длительного времени имеет первостепенное значение при разработке и производстве биопрепаратов профилактического, диагностического и лечебного назначения. Данную функцию выполняют Государственные коллекции микроорганизмов. Целью данной работы было изучить референтный штамм *Brucella canis* RM 6/66, хранившийся более 20 лет в лиофилизированном виде, определив его жизнеспособность и изучив биологические свойства, и таксономическую принадлежность. Полученные нами результаты показали, что исследуемый штамм при посеве на питательные среды, соответствующие данному виду возбудителя. Исследование его биологических свойств, с помощью тестов для определения диссоциации, показало, что штамм диссоциирован, в виду чего проведен отбор и отсев колоний, окрашенных по Уайт-Вилсону. Получена чистая культура штамма *Brucella*

canis RM 6/66 в R-форме (колонии темно-фиолетовые, с ровными краями и неровной поверхностью). Использование ПЦР-РВ метода идентификации с применением видоспецифичных праймеров и TagMan-зонда, показало, что штамм *B. canis* RM 6/66 по всем десяти локусам соответствует представленному в международных базах, данных референтному штамму.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Бруцеллез собак, вызываемый бруцеллой вида canis, все больше приобретает важное эпизоотологическое и эпидемиологическое значение во всем мире и наносит большой экономический ущерб собаководству. Данное заболевание широко распространено на всех континентах земного шара, за исключением Новой Зеландии и Австралии [1].

Случаи заболевания бруцеллезом собак в нашей стране выявлены начиная с 50-х гг. прошлого столетия, первые сообщения приводят П.А. Вершилова (1972), И.А. Измайлов (1950), Р.З. Исламов с соавт. (1970) и др. [2, 3, 4].

В РФ, в 1994 году впервые была выделена и идентифицирована культура *Brucella canis* из абортированного плода стаффордширского терьера. Затем в 1998 был зарегистрирован случай заболевания в Москве, а в 1999 году выделена культура этого заболевания в Санкт-Петербурге [3].

Бруцеллез собак считается зооантропонозным заболеванием и является социально значимой инфекцией, передающейся от больных животных к человеку [3,6].

Для контроля эпизоотического благополучия РФ по данному заболеванию, необходимы надежные диагностические и профилактические ветеринарные препараты [7]. На данный момент для диагностики бруцеллеза собак в реакции агглютинации (РА) и реакции связывания комплимента (РСК) разработаны антигены из референтного штамма RM 6/66, также проводятся исследования, посвященные созданию антигена для диагностики бруцеллеза собак в реакция иммунодиффузии (РИД) [8].

В Государственной коллекции штаммов - возбудителей особо опасных болезней, используемых в ветеринарии и животноводстве хранятся и поддерживаются более 300 штаммов возбудителя бруцеллеза 6 видов, куда в том числе, входит и *Brucella canis* [9].

Основной задачей Коллекции патогенов является поддержание штаммов в жизнеспособном состоянии с сохранением их первоначальных биологических свойств в течение максимально возможного времени. Известно, что при правильном отборе и поддержании штамма культуры должны сохранять однородность по морфологическим и культуральным свойствам и не проявлять признаков диссоциации клеток и колоний [10]. От сохранности штаммов в неизменном виде зависит разработка и изготовление различных ветеринарных профилактических, лечебных и диагностических препаратов [11]. Для решения вышеперечисленных задач в Государственной коллекции патогенов применяется один из широко используемых методов длительной консервации штаммов – лиофилизация. Считается, что лиофилизированные штаммы могут длительное время сохраняться в жизнеспособном состоянии, не теряя своих изначальных свойств. Это отмечают другие авторы в своих работах, указывая, что лиофилизированные штаммы микроорганизмов сохраняют свои культурально-морфологические, физиологические, биохимические свойства [12, 13]. Однако необходимо отметить, что при процедуре лиофилизации и дальнейшего хранения штамма, его выживаемость зависит от таких факторов, как особенности вида и штамма, стадия роста патогена, концентрация клеток, условия культивирования, выбор режима лиофилизации, условия хранения и другие.

Принимая во внимание вышесказанное, целью работы было изучить референтный штамм *Brucella canis* RM 6/66, хранившийся более 20 лет в лиофилизированном виде, определив его жизнеспо-

собность и изучив биологические свойства, и таксономическую принадлежность.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Работа с референтным штаммом *Brucella canis* RM6/66 и ведение записей в формах учета проводилась в соответствии с СанПиН 3.3686-21 и ГОСТ 33675-2015 [5, 14]. Для определения жизнеспособности и сохранности биологических свойств проводили посев культуры на печеночно-пептонный глюкозо-глицериновый агар (ППГГА) и печеночно-пептонный глюкозо-глицериновый бульон (ППГГБ). С выросших культур делали посевы, получали 2 генерацию, ее проверяли на характерность роста на данных питательных средах. Диссоциацию изучали в реакции термоагглютинации, пробой на предметном стекле с раствором акрифлавина и окраской колоний по Уайт-Уилсона [14]. Агглютиногенность и агглютинабельность проверяли в реакции агглютинации на предметном стекле с S-, и R- бруцеллезными агглютинирующими сыворотками. Учет результатов проводили в течение 1-3 мин и оценивали в крестах. Тинкториально-морфологические свойства изучали методом микроскопии мазков, приготовленных из 2-х суточной агаровой культуры на предметном стекле, фиксированную смесью Никифорова и окрашенную по Граму и Козловскому. Подвижность определяли методом висячей капли под микроскопом. Редуцирующую активность в отношении красок проводили в чашках Петри. Образование сероводорода изучали путем приготовления двухсуточной взвеси культуры в физиологическом растворе. Результаты учитывали в течение 6 суток, с интервалом в 2 дня.

Для выделения ДНК использовали набор «ДНК-сорб-В» (ФБУН ЦНИИ эпидемиологии, Россия) согласно инструкции производителя. ПЦР в реальном времени (ПЦР-РВ) проводили на ДНК-амплификаторе С1000 с оптическим блоком CFX96 («Bio-Rad», Сингапур) с использованием видоспецифичных праймеров, реакционной смеси и программы амплификации, разработанных нами в предыдущих исследованиях [15, 16].

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

В соответствии с поставленной целью, проведена работа по определению жизнеспособности референтного штамма *Brucella canis* RM 6/66 и изучены его биологические свойства. Результаты, полученные при этом, показали, что штамм жизнеспособен, дает рост на 4-6 сут на ППГГА в виде мелких, выпуклых, негладких колоний, белого цвета. На ППГГБ наблюдалось - равномерное помутнение и пристеночное кольцо.

Исследования его на диссоциацию показали следующее - в поставленной реакции термоагглютинации взвесь остается гомогенной, на дне пробирки незначительный осадок; в пробе с раствором акрифлавина на предметном стекле - агглютинация с образованием хлопьев и незначительной гомогенностью; при окраске колоний по Уайт-Вилсону наблюдали в поле зрения колонии светло - желтого цвета, темно-фиолетовые и радиально исчерченные (Рис. 1 а, б). Данная картина дает возможность судить об изменении состава популяции изучаемого штамма. Это подтверждают и данные РА на стекле с R- сывороткой, штамм дал положительную реакцию на три креста («+++») – образование агглютината и не полное просветление жидкости, с S- сывороткой отрицательную реакцию («+»), без просветления жидкости, смесь осталась гомогенная. В контроле с физиологическим раствором самоагглютинация отсутствовала.

Анализ результатов, полученных при постановке вышеуказанных тестов показал, что штамм диссоциирован. Ранее в работах других авторов описывалось явление изменчивости бруцелл с образованием R- и S-формы [3, 17]. Проделанная нами работа по отбору и отсеву колоний, не имеющих каких-либо дефектов, отличающих их от колоний характерных для R-форм (темно-фиолетовые, с ровными краями неровной поверхностью) на скошенный агар в пробирки, а затем на чаш-

ки Петри, позволила получить чистую культуру референтного штамма *Brucella canis* RM 6/66 в R-форме (Рис.1 а).

При исследовании ее на соответствие характеристик, предусмотренных в паспорте на штамм, получены следующие данные: культура дает рост на ППГГА в виде мелких, выпуклых, негладких колоний, белого цвета; на ППГГБ равномерное помутнение и пристеночное кольцо; в окрашенных мазках мелкие, похожие на кокки бактерии, расположенные отдельно, попарно и кучно, окрашены в розовый цвет (по Граму) и в красный цвет (по Козловскому); в поставленной реакции термоагглютинации на дне пробирки клетки бруцелл, надосадочная жидкость просветленная; в пробе с раствором акрифлавина на предметном стекле – хорошо выраженные хлопья, жидкость просветленная; при окраске колоний по Уайт-Вилсону в поле зрения колонии темно-фиолетового цвета; РА на стекле с R- сывороткой, штамм дает положительную реакцию на четыре креста («++++») – образование агглютината и полное просветление жидкости, с S -сывороткой отрицательную реакцию («-») при этом жидкость гомогенная, осадок отсутствует. В контроле с физиологическим раствором самоагглютинация отсутствует; культура штамма в препарате висячей капли, просмотренная под микроскопом – неподвижная; штамм активен в отношении тионина, в разведении 1:25 тыс. слабый сплошной рост в первых двух штрихах, в разведении 1:50 тыс. и 1:100 тыс. выраженный рост культуры во всех штрихах, в отношении фуксина не активен, в разведении 1:50 тыс. и 1:100 тыс. рост культуры отсутствует; образует сероводород, так как свободный край индикаторной бумажки пропитанной ацетатом свинца приобретает черную окраску.

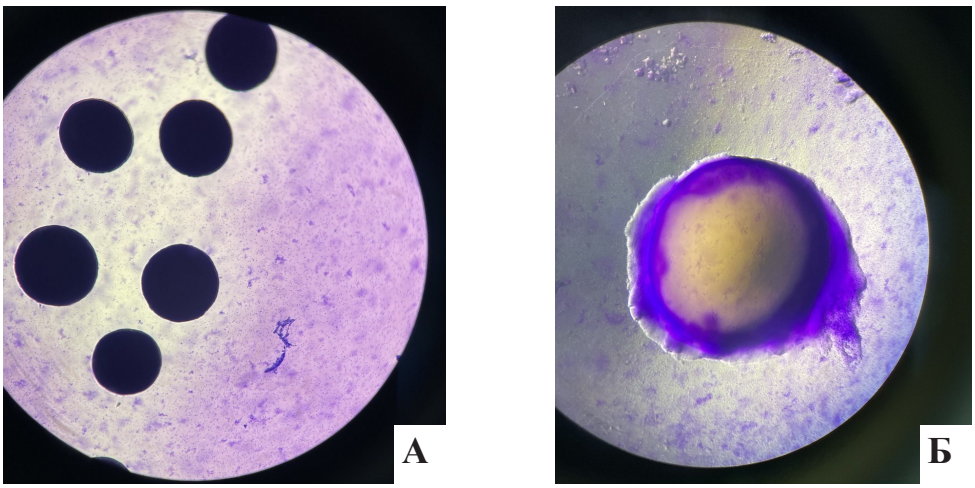


Рисунок 1 – Морфологические особенности R- и S - форм колоний Brucella canis RM 6/66, окрашенных по методу Уайт-Уилсона. Микрофотосъемка в падающем свете. х 13. А – полное прокрашивание; Б – частичное.

Для подтверждения таксономической принадлежности исследуемого штамма был использован ПЦР-РВ метод идентификации с применением видоспецифичных праймеров и TagMan-зонда, разработанный нами ранее на основе специфических для представителей вида *B. canis* ДНК-маркеров [15, 16]. Учет флуоресцентного сигнала проводили по каналу Cy5. ПЦР-РВ с использованием ДНК штамма *B. canis* RM 6/66 показала рост сигнала флюоресценции по каналу Cy5, что соответствует положительному результату проведенной ПЦР-амплификации. Следует отметить, что штамм *B. canis* RM 6/66 является рефе-

рентным, а его геном полностью секвенирован и аннотирован в базе данных GenBank: CP007758.1 (I хромосома), CP007759.1 (II хромосома). В предыдущем исследовании по результатам MLVA -10 анализа было установлено, что используемый в рамках данного исследования референтный штамм *B. canis* RM 6/66 по всем десяти локусам соответствует представленному в международных базах, данных ранее изученному референтному штамму [18]. Также на основании кластерного анализа десяти VNTR-локусов было показано, что штамм *B. canis* RM 6/66 расположен на дендрограмме в соответствии с его таксономическим положением [18].

ВЫВОДЫ /CONCLUSION

Данные исследования показали, что референтный штамм *Brucella canis* RM 6/66 хранившийся в течение 20 лет в лиофилизированном виде при температуре плюс 4^0C – жизнеспособен, но при исследовании тестами, предусмотренными для определения диссоциации, установили, что он диссоциирован. В результате отбора и отсева колоний, не имеющих каких-либо дефектов, отличающих их от колоний характерных для R-форм (темно-фиолетовые, с ровными краями неровной поверхностью) на скошенный агар в пробирки, а затем на чашки Петри получили чистую культуру референтного штамма Brucella canis RM 6/66 в R-форме. Молекулярно-генетические исследования данного штамма, показали, что он по всем десяти локусам соответствует представленному в международных базах, данных референсному штамму. Полученная культура штамма *Brucella canis* RM 6/66 будет использована для дальнейших сравнительных исследований выживаемости культур возбудителей особо опасных болезней в процессе длительного хранения, с учётом сроков хранения бактерии, условий и защитных сред.

CONTROL OF VIABILITY AND STABILITY OF BIOLOGICAL PROPERTIES OF THE REFERENCE BRUCELLA CANIS RM6/66 STRAIN DURING LONG-TERM STORAGE

Pankova E.V. – Candidate of Biological Sciences, Leading Researcher (ORCID 0000-0003-4446-4619), **Artemeva E.A.** – Candidate of Veterinary Sciences., Senior Researcher, Head of Department – State Collection of Microorganisms (ORCID 0000-0002-6204-6077), **Melnikova L.A.** - Candidate of Veterinary Sciences., Leading Researcher (ORCID 0000-0002-0159-3843), **Mustafina E.N.** - Candidate of Veterinary Sciences., Leading Researcher (ORCID 0000-0002-1997-5575), **Gromova E.A.** - Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher (ORCID 0000-0002-0416-6193).

Federal State Budgetary Scientific Institution «Federal Center for Toxicological, Radiation and Biological safety»

**katerinka_ja@bk.ru*

***Financing**: The materials were prepared using the funds of the Federal Center for Toxicological, Radiation and Biological Safety within the research "Study of the biological characteristics of strains of infectious and especially dangerous animal diseases and their stability during long-term storage".*

ABSTRACT

Brucellosis is a particularly dangerous infectious disease that causes enormous economic damage to livestock farms specializing in the breeding of cattle, sheep and pigs. Preservation of pathogens in a viable state with their original properties over a long period is one of the main tasks of the State collections of microorganisms. The aim of this paper was to study the reference strain Brucella canis RM 6/66, stored for more than 20 years in lyophilized form, determining its viability and investigating its biological properties and taxonomic affiliation. The obtained results are showed that the studied strain, when seeded on nutrient media corresponding to this species of pathogen, is viable. The study of its biological properties, using tests to determine dissociation, showed that the strain was dissociated, due to which a selection and cultivation of colonies ac-

cording to White-Wilson. The pure culture of the strain of Brucella canis RM 6/66 in the R-form was obtained, (colonies are dark purple, with smooth edges and an uneven surface). The use of the RT-PCR identification method using species-specific primers and a TagMan probe showed that the strain B. canis RM 6/66 corresponds to the reference strain presented in international databases at all ten loci.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Carmichael L. E., Kenney R. M. Canine abortion caused by Brucella canis // Journal of the American Veterinary Medical Association. 1968. № 6 (152). P. 605-616.
2. Вершилова П.А. Бруцеллез. М.: Медицина, 1972. 439 с.
3. Косилов И.А. Изменчивость бруцелл и ее значение в проблеме бруцеллеза сельскохозяйственных животных: автореф. на соиск. ученой степ. д-ра вет. наук: 16.00.03 -ветеринарная эпизоотология, микология с микотоксикологией и иммунология. Фрунзе, 1975. 39 с.
4. Генджиева О.Б., Руденко А.В. Эпизоотология и эпидемиология бруцеллеза в республике Калмыкии // Вестник Калмыкского универститета. 2013. № 1(17). С.10-15. DOI: 10.21055/0370-1069-2017-2-23-27.
5. СанПиН 3.3686-21. Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней: санитарно-эпидемиологические правила и нормативы: издание официальное: утверждены постановлением Главного государственного санитарного врача РФ А. Ю. Поповой 28 января 2021 г. № 4: введены впервые: дата введения 2021-01-09 // Официальный электронный фонд правовых и нормативно-технических документов. – URL: https://docs.cntd.ru/document/573660140 (дата обращения: 24.08.2024).
6. Cordon J.C., Pue H.L., Rutgers H.C. Canine brucellosis in Nouschold // J.A.V.M.A. 1985. № 7(186). P. 695-698. DOI: 10.3389/fvets.2021.594291.
7. Р. Юсупова. Обеспечение благополучия свиноводческих хозяйств от особо опасных инфекций // Доклад заместителя директора ФГБУ «ФЦТРБ-ВНИВИ» (Казань) на Международном ветеринарном конгрессе в Казани. URL: https://soyanews.info/news/obespechenie_blagopoluchiya_svinovodcheskikh_khozyaystv_ot_osobo_opasnykh_infekts.html (дата обращения: 24.08.2024).
8. Зинова А.А. Разработка РИД-тест-системы для диагностики бруцеллеза собак, вызываемого B. canis: автореф. на соиск. ученой степ. канд. биол. наук: 16.00.03 - ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология, микология с микотоксикологиеи и иммунология. М., 2009. 22 с.
9. Артемьева Е. А., Мельникова Л. А., Родионов А. П. К 45-летию деятельности Государственной коллекции штаммов – возбудителей особо опасных болезней, используемых в ветеринарии и животноводстве // Инновационные решения актуальных вопросов биобезопасности: материалы Международной научно-практической конференции. Казань. 2022. С. 145-148.
10. Общие фармакопейные статьи на препараты пробиотики для государственной фармакопеи РФ XIII издания - первый опыт в мировой фармакопейной практике / И.Г. Осипова [и др.] // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. 2016. № 6(2): С. 272–277.
11. Осидзе Д.Ф. Ветеринарные препараты. М.: Колос, 1981. 448 с.
12. Гришкина Т.А., Тимофеева Е.В., Спиридонов В.А. Оценка результатов хранения музейных штаммов возбудителя сапа в течение длительного периода // Проблемы особо опасных инфекций. 2004. № 87. С. 40-42.
13. Цуцаева А.А., Ананьина А.Е. Изучение влияния некоторых параметров процесса лиофилизации на жизнеспособность споровой культуры Strepfomyces fradiae ВНИИГ – 25А // Проблемы криобиологии. 2002. № 2. С. 26–915. DOI: 10.21055/0370-1069-2016-3-66-70.
14. ГОСТ 33675-2015. Животные. Лабора-

торная диагностика бруцеллеза. Бактериологические методы: межгосударственный стандарт Российской Федерации: издание официальное: утвержден и введен в действие приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 24 ноября 2015 г. № 1949-ст: введен впервые: дата введения 2017-01-01 / разработан Федеральным государственным бюджетным учреждением «Всероссийский государственный Центр качества и стандартизации лекарственных средств для животных и кормов» (ФГБУ «ВГНКИ»). М.: Стандартинформ, 2016. 20 с.

15. Подбор оптимальных условий постановки ПЦР для идентификации возбудителя бруцеллеза собак / Е. А. Анисимова [и др.] // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. 2023. № 12(230). С. 55-59. DOI: 10.53083/1996-4277-2023-230-12-55-59.

16. Разработка мультиплексной ПЦР-РВ тест-системы для выявления возбудителя бруцеллеза / Е. А. Громова [и др.] // Ветеринарный врач. 2024. № 3. С. 34 – 4018. DOI: 10.33632/1998-698X_2024_3_34.

17. Изучение морфологических свойств изолятов бруцелл в S- и R-формах электронно-микроскопическим методом / А. Р. Сансызбай [и др.] // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. 2013. № 12 (110). С. 074-079.

18. Применение HRM-анализа кривых плавления, полученных после амплификации VNTR-локусов, для идентификации и дифференциации штаммов бруцелл / Е.А. Анисимова [и др.] // Проблемы особо опасных инфекций. 2023. № 4. С. 42–49. DOI: 10.21055/0370-1069-2023-4-42-49.

REFERENCES

1. Carmichael L. E., Kenney R. M. Canine abortion caused by Brucella canis // Journal of the American Veterinary Medical Association. 1968. № 6 (152). P. 605-616.

2. Vershilova P.A. Brucellosis. Moscow: Medicine, 1972. 439 p. (In Russ.)

3. Kosilov I.A. Brucella variability and its importance in the problem of brucellosis of farm animals: author's abstract for a dissertation for a doctor of veterinary sciences: 16.00.03 - veterinary epizootology, mycology with mycotoxicology and immunology. Frunze, 1975. 39 p. (In Russ.)

4. Gendzhieva O.B., Rudenko A.V. Epizootology and epidemiology of brucellosis in the Republic of Kalmykia // Bulletin of the Kalmyk University. 2013. № 1 (17). P.10-15. DOI: 10.21055/0370-1069-2017-2-23-27. (In Russ.)

5. SanPiN 3.3686-21. Sanitary and epidemiological requirements for the prevention of infectious diseases: sanitary and epidemiological rules and regulations: official publication: approved by the resolution of the Chief State Sanitary Doctor of the Russian Federation A. Yu. Popova on January 28, 2021, No. 4: introduced for the first time: date of introduction 2021-01-09 // Official electronic fund of legal and regulatory and technical documents. - URL: https://docs.cntd.ru/document/573660140 (date of access: 08/24/2024). (In Russ.)

6. Cordon J.C., Pue H.L., Rutgers H.C. Canine brucellosis in Nouschold // J.A.V.M.A. 1985. № 7(186). P. 695-698. DOI: 10.3389/fvets.2021.594291.

7. R. Yusupova. Ensuring the welfare of pig farms from especially dangerous infections // Report of the Deputy Director of the Federal State Budgetary Institution "FCTRB-VNIVI" (Kazan) at the International Veterinary Congress in Kazan. URL: https://soyanews.info/news/obespechenie_blagopoluchiya_svinovodcheskikh_khozyaystv_ot_osobo_opasnykh_infekts.html (date of access: 08/24/2024). (In Russ.)

8. Zinova A.A. Development of a RID test system for the diagnosis of canine brucellosis caused by B. canis: author's abstract for a dissertation on the scientific degree of Cand. Sci. (Biol.): 16.00.03 - veterinary microbiology, virology, epizootology, mycology with mycotoxicology and immunology. Moscow, 2009. 22 p. (In Russ.)

9. Artemyeva E. A., Melnikova L. A., Rodionov A. P. On the 45th anniversary of the State Collection of Strains - Pathogens of Particularly Dangerous Diseases Used in

Veterinary Medicine and Animal Husbandry // Innovative Solutions to Current Biosafety Issues: Proceedings of the International Scientific and Practical Conference. Kazan. 2022. P. 145-148. (In Russ.)
10. General Pharmacopoeia Articles on Probiotic Preparations for the State Pharmacopoeia of the Russian Federation, XIII Edition - the First Experience in World Pharmacopoeial Practice / I. G. Osipova [et al.] // International Journal of Applied and Fundamental Research. 2016. № 6 (2): P. 272–277. (In Russ.)
11. Osidze D. F. Veterinary Preparations. Moscow: Kolos, 1981. 448 p. (In Russ.)
12. Grishkina T.A., Timofeeva E.V., Spiridonov V.A. Evaluation of the results of storage of museum strains of the glanders pathogen over a long period // Problems of especially dangerous infections. 2004. № 87. P. 40-42. (In Russ.)
13. Tsutsaeva A.A., Ananyina A.E. Study of the influence of some parameters of the lyophilization process on the viability of the spore culture of Strepfomyces fradiae VNIIG - 25A // Problems of cryobiology. 2002. № 2. P. 26-915. DOI: 10.21055/0370-1069-2016-3-66-70. (In Russ.)
14. GOST 33675-2015. Animals. Laboratory diagnostics of brucellosis. Bacteriological methods: interstate standard of the Russian Federation: official publication: approved and put into effect by order of the Federal Agency for Technical Regulation and Metrology dated November 24, 2015 No. 1949-st: introduced for the first time: date of introduction 2017-01-01 / developed by the Federal State Budgetary Institution "All-Russian State Center for Quality and Standardization of Animal Medicines and Feed" (FGBU "VGNKI"). Moscow: Standartinform, 2016. 20 p. (In Russ.)
15. Selection of optimal conditions for setting up PCR to identify the causative agent of canine brucellosis / E. A. Anisimov [et al.] // Bulletin of the Altai State Agrarian University. 2023. № 12 (230). P. 55-59. DOI: 10.53083/1996-4277-2023-230-12-55-59. (In Russ.)
16. Development of a multiplex PCR-RV test system for detecting the causative agent of brucellosis / E. A. Gromova [et al.] // Veterinary doctor. 2024. № 3. P. 34 – 4018. DOI: 10.33632/1998-698X_2024_3_34. (In Russ.)
17. Study of morphological properties of Brucella isolates in S- and R-forms by electron microscopy / A. R. Sansyzbay [et al.] // Bulletin of the Altai State Agrarian University. 2013. № 12 (110). P. 074-079. (In Russ.)
18. Application of HRM analysis of melting curves obtained after amplification of VNTR loci for identification and differentiation of Brucella strains / E. A. Anisimov [et al.] // Problems of especially dangerous infections. 2023. № 4. P. 42–49. DOI: 10.21055/0370-1069-2023-4-42-49. (In Russ.)

УДК: 619:579.852.11:615.076
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.4.43

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ПРОБИОТИЧЕСКИХ ШТАММОВ РОДА *BACILLUS* НА СОСТОЯНИЕ ВНУТРЕННИХ ОРГАНОВ И ГУМОРАЛЬНЫЙ ИММУНИТЕТ *COTURNIX COTURNIX* и *MUS MUSCULUS*

Ан К.В.[1] – мл. науч. сотр. сектора молекулярной биологии (ORCID 0009-0003-0354-1697); **Миронова Т.Е.**[1, 2] – мл. науч. сотр. сектора молекулярной биологии, научный сотрудник Центра ветеринарной иммубиологии и биотехнологии (ORCID 0000-0003-0860-1778); **Кильп А.С.**[1, 2] – науч. сотр. сектора молекулярной биологии, руководитель Центра ветеринарной иммунобиологии и биотехнологии (ORCID 0000-0002-9501-4485); **Афонюшкин В.Н.**[1,2] – канд. биол. наук, зав. сектором молекулярной биологии, доц. кафедры микробиологии и гигиены животных (ORCID 0000-0001-5177-4733); **Афонюшкин А.В.**[2] – студ.

[1]ФГБУН «Сибирский федеральный центр агробиотехнологий СФНЦА РАН»
[2] ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный аграрный университет»

*bobikova.anna97@gmail.com

Ключевые слова: *бактерии, Bacillus, споровые пробиотические препараты, энтероинвазивность, иммуногенность, иммунофлуоресцентная реакция агглютинации.*

Keywords: *bacteria, Bacillus, spore probiotic preparations, enteroinvasiveness, immunogenicity, immunofluorescence agglutination reaction.*

Поступила: 03.09.2024 **Принята к публикации: 02.12.2024**
Опубликована онлайн:16.12.2024

РЕФЕРАТ

Исследования микроорганизмов рода *Bacillus* открывают широкие возможности для применения пробиотических штаммов в различных областях биотехнологии. Микроорганизмы рода *Bacillus* проявляют противоаллергическое и антиоксидантное действие, а также производят антибактериальные вещества, бактериоцины и ферменты, что делает их перспективными для применения в качестве биодобавок в сельском хозяйстве и пищевой промышленности. Пробиотики на основе *Bacillus*, особенно в споровой форме, обладают устойчивостью к агрессивным условиям и способны активировать неспецифический клеточный иммунный ответ. В нашем исследовании мы оценивали 5 культур микроорганизмов рода *Bacillus* для разработки пробиотических препаратов, с фокусом на стимуляцию гуморального антигенного ответа. Исследования проводили на перепелах *Coturnix coturnix* породы Техас (в возрасте 14 суток), птиц разделили на 5 опытных групп и 1 контрольную(n=7), а также на мышах ICR (CD-1), которых делили на одну опытную группу и одну контрольную (n=8). Изучали антагонистическую, гемолитическую, галактозидазную и ДНКазную активности, а также чувствительность к канамицину. Проводили скрининг иммуногенности и инвазивности культур методом оценки сывороток в иммунофлуоресцентной реакции агглютинации. Определяли длину кишечных ворсинок у опытных животных, а также взвешивали органы для определения массовых коэффициентов. Выявлено, что

штамм *B. halotolerans* №5.6 способствует увеличению длины кишечных ворсинок у перепелов, но не влияет на слизистую оболочку у мышей. Наши исследования подтвердили, что многие штаммы *B. subtilis* обладают инвазивностью, что считается основным фактором, определяющим их иммуностимулирующие эффекты. Это свойство также полезно для доставки вакцинных антигенов через слизистые оболочки, однако результаты показали, что иммуногенность и способность преодолевать пищевую толерантность у *B. subtilis* не зависят исключительно от инвазивности. Другие виды *Bacillus*, такие как B. *halotolerans*, могут быть перспективными для разработки пробиотиков.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Для современной биотехнологии аэробные микроорганизмы рода *Bacillus*, способные продуцировать споры и биологически активные вещества, являются перспективными объектами исследований. Важный фактор их практического применения - устойчивость образующихся спор при хранении, что определяет во многом эффективность основанных на них препаратов. Разные штаммы *Bacillus* оказывают противоаллергическое и антиоксидантное действие, а также продуцируют антибиотики четырех классов [1, 2]. Кроме того, их представители не образуют биопленки на слизистых оболочках и поэтому не могут бесконтрольно персистировать в организме. К полезным свойствам организмов также относят способность вырабатывать бактериоцины – пептиды, подавляющие рост патогенов [3, 4]. Таким образом, при пероральном введении бактерии активируют неспецифическую резистентность организма-носителя и имеют большой потенциал для использования их в качестве биодобавок в сельском хозяйстве и пищевой промышленности [5].

Пробиотики – это биомасса бактерий в вегетативной или споровой форме с четко выраженной антагонистической активностью к патогенной и условно-патогенной микрофлоре, которая оказывает положительный эффект на организм хозяина при введении в адекватных количествах. К особенностям споровых пробиотиков относят: сохранение их жизнеспособности при воздействии самых разнообразных агрессивных факторов (антибиотики, повышенная кислотность, высокие температуры); способность проходит через кислую среду желудка в тонкий кишечник, не разрушаясь; устойчивость к антибиотикам [6]. Грамположительная сенная палочка *Bacillus subtilis* - один из перспективных микроорганизмов для разработки пробиотиков. В экспериментальных исследованиях было показано ее положительное влияние на показатели роста и иммунную систему. Пробиотики могут усиливать неспецифический клеточный иммунный ответ, характеризующийся активацией макрофагов, естественных киллеров (NK), антигенспецифических цитотоксических Т-лимфоцитов и высвобождением различных цитокинов штамм-специфичным и дозозависимым образом [7, 8]. Иммунные или эпителиальные клетки могут экспрессировать ряд рецепторов распознавания образов (PRR). Типичные PRR состоят из Toll-подобных рецепторов (TLR), рецепторов, подобных гену I, индуцируемому ретиноевой кислотой (RLR), рецепторов, подобных домену олигомеризации нуклеотидов (NOD) (NLR), и рецепторов лектинов С-типа. Молекулярные паттерны пробиотиков, ассоциированные с патогенами (PAMPs), взаимодействуют с PRR, инициируя соответствующие сигнальные пути для экспрессии различных генов и последующей выработки иммунных медиаторов, которые помогают хозяевам противодействовать патогенным инфекциям. Помимо этих иммунореабилитирующих эффектов, пробиотики также оказывают другие укрепляющие здоровье эффекты на хозяев. Местная микробиота обладает различной биологической активностью, простирающейся от анаболизма до катаболизма крупных молекул, что приводит к благотворному воздействию на здоровье хозяина, а также на саму микробиоту. Микрофлора кишечника может ферментировать

эндогенную слизь и неперевариваемые остатки пищи, а также вырабатывать витамины, такие как витамин К и В [9]. В своих исследованиях британские ученые доказали, что вегетативные клетки *B. subtilis* могут стимулировать экспрессию генов toll-подобного рецептора (TLR) для TLR2 и TLR4. Однако доказано, что споры не могут стимулировать ни то, ни другое и должны взаимодействовать с другим TLR и с помощью этого механизма способствовать активации врожденного иммунитета [10].

В настоящем исследовании было показано, что наличие инвазивности микроорганизмов рода *Bacillus* является важным, но не основным фактором, определяющим их иммуногенную активность, а также установлено, что помимо *B.subtilis* для разработки пробиотических препаратов могут быть рассмотрены виды B. *halotolerans.*

Цель исследования - осуществить поиск энтероинвазивных штаммов микроорганизмов рода *Bacillus* обеспечивающих наибольшую стимуляцию гуморального антигена в отношении аутоантигенов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Используемые штаммы и среды

Используемые штаммы микроорганизмов рода *Bacillus* были представлены коллекцией культур лаборатории фармакогеномики ИХБФМ СО РАН и ООО «СибАФ». Идентификацию культур проводили методом секвенирования 16S рибосомальной РНК по Сенгеру.

Эксперименты на животных

Штаммы тестировали на иммуногенность *in vivo* на перепелах *Coturnix coturnix* породы Техас в возрасте 14 суток. Птиц разделили на 5 опытных групп и 1 контрольную, по 7 особей в каждой. Экспериментальным группам перорально вводили по 200 мкл исследуемых культур трехкратно с интервалом в неделю, контрольной группе по 200 мкл воды, затем проводили взятие крови для серологических исследований. Еженедельно проводили взвешивание птицы.

Изучение влияния энтероинвазивных штаммов на индукцию провоспалительных сдвигов в стенке кишечника (укорочение кишечных ворсинок *Intestinum jejunum*) у лабораторных животных проводили на мышах ICR (CD-1), которых делили на одну опытную группу и одну контрольную, по 8 особей в каждой. Опытной группе первые двое суток выпаивали 100 мкл суспензии бактерий, относящихся к штамму №5.6 *B.halotolerans*. На 6-ой и 7-ой дни эксперимента повторяли выпаивание, на 8-ой день выводили животных из эксперимента.

По окончании экспериментов животных подвергали эвтаназии и с соблюдением правил асептики производили отбор проб внутренних органов и тканей для дальнейших исследований. Работа с лабораторными животными была осуществлена согласно руководству по содержанию и уходу за лабораторными животными Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов и в других научных целях.

Скрининг иммуногенности и инвазивности культур

Напряженность гуморального иммунитета определяли с помощью иммунофлуоресцентной реакции агглютинации (ИРА) исследуемых энтероинвазивных бактерий. В растительные в лунках микропланшета с V – образным дном сыворотки крови шагом 1:2 вносили инактивированные нагреванием при 65 °С и окрашенные акридиновым оранжевым бактерии, инкубировали 16 часов при 37 °С, после чего оценивали светимость аутологичных О антигенов (образование т.н. зонтиков) на трансиллюминаторе GelDoc BioRad. Последний зонтик является титром антител, связавшихся с О антигеном вводимых бактерий.

Для морфометрического анализа высоты кишечных ворсинок и глубины крипт кусочки тощей кишки фиксировали в 10% забуференном формалине. Проводили диффузионный люминесцентно микроскопический анализ DLMA. Кусочки кишечника разрезали на ровные пластины и в течение 10 минут окрашивали Hoechst 33258 и 0,001% раствором эозина К, про-

мывали в 20 кратном объеме дистиллированной воды и проводили люминесцентную микроскопию тонкого окрашенного слоя клеток на поверхности слизистой с использованием люминесцентного микроскопа Imager D1 («Zeiss», Германия) и ПО AxioVision («Zeiss», Германия).

Антагонистическую активность оценивали в тестах по сокультивированию бактерий с культурами *E.coli*. Подавление *E.coli* действием штаммов *Bacillus spp*. выявляли на селективной среде SDS бульон (если лунка принимала желтый цвет – отмечалось отсутствие антагонистической активности, зеленый – активность есть). ДНКазную активность оценивали с использованием шоколадного агара с ДНК и акридиновым оранжевым, визуализируя ДНКазную активность по снижению флуоресценции ДНК вокруг культур. Устойчивость к канамицину оценивали посевом на LB агар с канамицином (50 мкг/мл). Глюкуронидазную и галактозидазную активность выявляли на среде Uriselect4 («BioRad», США), утилизацию сахаров изучали с использованием тест-стрипов для идентификации API®. Согласно ОФС.1.7.2.0012.15. наличие α и β гемолиза определяли посевом на кровяной агар. Патогенность оценивали посредством внутрибрюшинного и перорального введения суспензий бактерий в дозе 10^7 КОЕ и в дальнейшем работали с непатогенными штаммами.

Статистическая обработка данных

Данные обрабатывали методами вариационной и непараметрической статистики при использовании ПО GraphPad Prism 10. Нормальность распределения оценивали по методу Шапиро-Уилка, статистическую значимость различий оценивали с использованием t-критерия Стьюдента или по методу Манна-Уитни при заданных уровнях значимости $p<0.05$ и $p<0.01$.

Таблица 1 – Штаммы микроорганизмов, используемые в экспериментах

Наименование вида	№ Штамма	Sequence ID (фрагмент гена 16S рибосомальной РНК)	Источник и дата изоляции
B.subtilis	2.1	OR668699	19.05.2022 печень мыши
B.halotolerans	5.6	OR668701	27.10.21 сухая почва Алтая
B.subtilis	3.1П	OR668695	19.05.2022 печень мыши
B.atrophaeus	В.а.	OR668700	26.05.2015 кишечник курицы
B.subtilis	19	OR668697	20.10.2011 штамм продуцент протеаз (растительная биомасса)

РЕЗУЛЬТАТЫ/ RESULTS

Исследуемые в опытном эксперименте культуры были описаны по нескольким критериям. Анализ антагонистической, гемолитической и ДНКазной активностей позволил определить штаммы, способные противодействовать патогенным и условно-патогенным микроорганизмам. К ним относились *B.subtilis* №2.1, *B.subtilis* №3.1П, *B.subtilis* №19, *B.halotolerans* №5.6. Также, были дополнительно изучены иммунобиологические особенности применения штаммов, не относящихся к виду *B.subtilis*. В частности *B.halotolerans* обладал потенциалом для возможного применения в качестве пробиотического препарата (Таблица 2) и характеризовался отсутствием факторов патогенности (таких как гемолитическая активность). В научной литературе отсутствуют данные об использовании микроорганизмов этого вида в составе пробиотиков и необходимы дополнительные исследования по его изучению для создания коммерческого продукта с его использованием.

Таблица 2 – Характеристики исследуемых штаммов микроорганизмов рода *Bacillus*

№ Штамма	Вид микроорганизма	Гемолитическая активность	ДНКазная активнос-ть	Чувствительность к канамицину	Галактозидазная активность	Антагонистическая активность
2.1	*B.subtilis*	-	-	+	+	-
5.6	*B.halotolerans*	-	-	+	+	+
3.1П	*B.subtilis*	-	-	+	+	+
В.а.	*B.atrophaeus*	+	+	+	+	+
19	*B.subtilis*	-	-	+	+	-

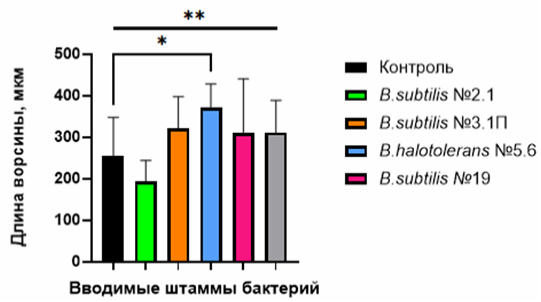


*Рисунок 1 – Длина кишечных ворсинок Intestinum jejunum, мкм (**-p<0.01, *-p<0.05, mean±SD).*

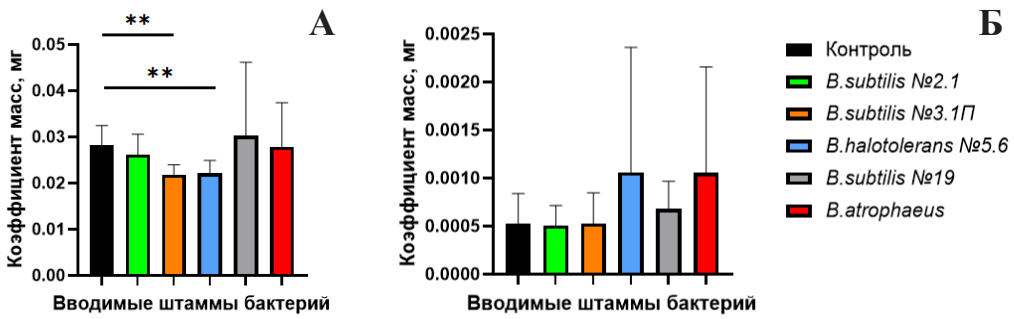


*Рисунок 2 – Коэффициент массы печени (А) и селезенки (Б) к массе тела животных, мг (**-p<0.01, mean±SD).*

Представители нормофлоры кишечника обладают высокой способностью к иммуногенности. В частности, под действием пробиотиков происходит регуляция созревания лимфоидного аппарата кишечника и генерализация иммунного ответа. В эксперименте было отмечено изменение длины ворсинок *Intestinum jejunum* в ответ на введение штаммов исследуемых культур. По результатам однофакторного непараметрического дисперсионного анализа Крускала-Уоллиса следует, что штаммы *Bacillus spp.* поразному влияют на длину ворсинок *Intestinum jejunum* перепелов *Coturnix coturnix* ($p<0.01$). Сравнение по критерию Манна-Уитни показало статистически значимое увеличение длины ворсинок ($p<0.05$) при

пероральном введение штамма *B.halotolerans* №5.6 (Рисунок 1). Рост кишечных ворсинок и усиленная пролиферация энтероцитов оказывают влияние на кровоток в слизистой, а также обеспечивают регуляцию многих метаболических и сигнальных процессов ЖКТ. Увеличение длины ворсинок у *Coturnix coturnix* на фоне приема *B.halotolerans* №5.6 может свидетельствовать о большей поверхности всасывания засчет увеличения общей площади ворсинки, что делает его перспективным в качестве пробиотического штамма.

Для групп 5.6 и 3.1П значения коэффициента массы печени к массе тела животных являются значимыми относительно контрольной группы по критерию Манна-Уитни. Остальные группы находятся в зоне незначимости. Коэффициент массы селезенки к массе тела животных у всех опытных групп находится в зоне незначимости относительно контрольных групп (Рисунок 2).

Также, анализ Крускала-Уоллиса выявил неодинаковое влияние штаммов *Bacillus spp.* на образование антител у *Coturnix coturnix* ($p<0.0001$). Сравнение по Т-критерию Уилкоксона показало, что пероральное введение штаммов *B.subtilis* №3.1П и *B.atrophaeus* приводит к статистически значимому увеличению титра антител. При этом *B.subtilis* №3.1П и *B.halotolerans* №5.6 характеризовались большей дисперсией титров антител и вызывали образование антител к собственным О-антигенам (у интактных особей антитела к этим бактериям отсутствовали). Интерес представляет то, что наличие установленного результата инвазивности у микроорганизмов рода *Bacillus*, не отнесенных к видам *B.subtilis* и *B.atrophaeus,* могло не сопровождаться образованием антител. Т.е. появление бацилл в паренхиматозных органах не обязательно стимулировало гуморальный иммунный ответ. *B. subtilis* характеризуется наличием инвазивности у многих штаммов этого вида, что также подтверждается нашими исследованиями. По нашему мнению, именно это свойство вида - основной фактор, определяющий большинство иммуностимулирующих эффектов пробиотиков, содержащих микроорганизмы данного вида. Кроме того, эта же особенность полезна и для транспортировки вакцинных антигенов через слизистые оболочки. Однако наши исследования показали, что иммуногенность и способность преодолевать пищевую толерантность именно у *B. subtilis* обусловлена не только инвазивностью. Следовательно, существуют дополнительные механизмы, которые предстоит изучить в будущем.

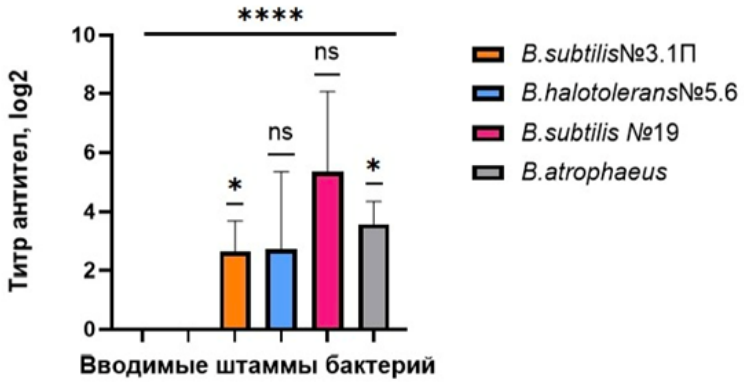


*Рисунок 3 – Средний титр ИРА к О-антигенам микроорганизмов рода Bacillus, соответствующих экспериментальным группам (Mean±SD, ****- $p<0.0001$).*

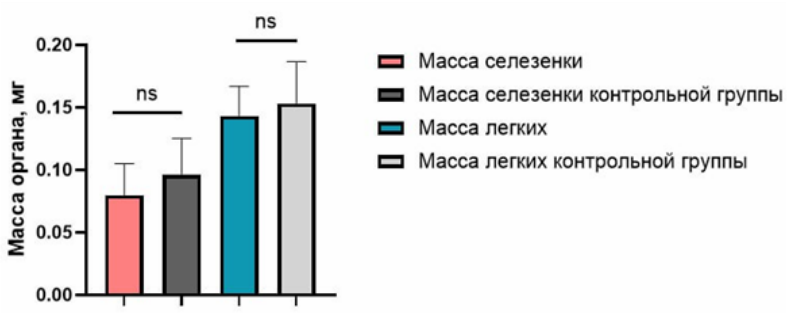


Рисунок 4 – Масса органов Mus musculus, мг (Mean±SD).

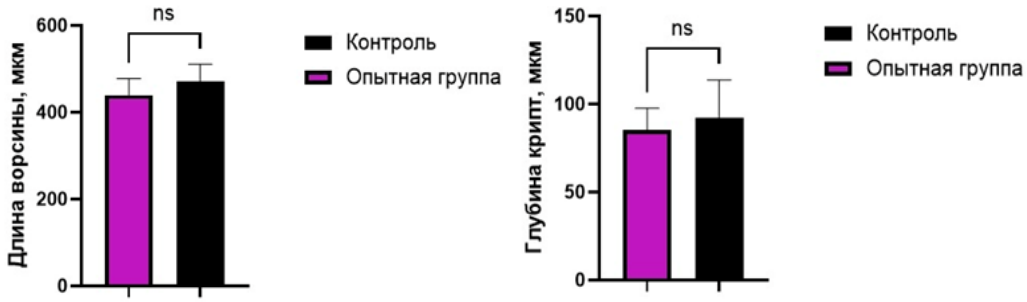


Рисунок 5 – Средняя длина кишечных ворсинок и глубина крипт Mus musculus, мкм (Mean±SD).

По результатам непараметрического анализа по Манну-Уитни, применение пробиотического штамма *B. halotolerans* №5.6 не приводит к существенным изменениям массы легких и селезенки мышей ICR ($p>0.05$) относительно контрольной группы (Рисунок 4). Также, пероральное введение *B. halotolerans* №5.6 не влияло на длину кишечных ворсинок и глубину крипт *Intestinum jejunum* ($p>0.05$) у мышей линии ICR (Рисунок 5), что может говорить о менее активном иммуностимулирующем эффекте данного микроорганизма в отношении слизистой кишечника (в отличие от *B. subtilis*).

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Среди изученных штаммов рода *Bacillus* отвечающими требованиям, предъявляемым к пробиотическим микроорганизмам, являлись *B.subtilis* №2.1, *B.subtilis* №3.1П, *B.subtilis* №19, *B.halotolerans* №5.6. Штамм №5.6 *B.halotolerans* при пероральном введении приводил к удлинению кишечных ворсинок в 1,5 раза у перепелов *Coturnix coturnix* ($p<0.05$), но при этом не оказывал влияния на слизистую оболочку тощей кишки у мышей ICR ($p>0.05$). Не все изученные нами штаммы *B. subtilis, обладающие* способностью к диссеминации во внутренние органы при пероральном введении, обладали способностью к индукции гуморального иммунного ответа на аутологичные О-антигены, что позволяет отвергнуть гипотезу о том, что основным и единственным фактором, определяющим иммуномодулирующую активность *B. subtilis,* является инвазивность.

THE STUDY OF THE INFLUENCE OF PROBIOTIC STRAINS OF THE GENUS BACILLUS ON THE STATE OF INTERNAL ORGANS AND HUMORAL IMMUNITY OF COTURNIX COTURNIX AND MUS MUSCULUS

An K.V.[1] – Junior Researcher, Molecular Biology Sector (ORCID 0009-0003-0354-1697); **Mironova T.E.**[1, 2] – Junior Re-

searcher, Molecular Biology Sector, Researcher, Center for Veterinary Immunology and Biotechnology (ORCID 0000-0003-0860-1778); **Kilp A.S.**[1, 2]* – Researcher, Molecular Biology Sector, Head of Center for Veterinary Immunology and Biotechnology (ORCID 0000-0002-9501-4485); **Afonyushkin V.N.**[1,2] – PhD in Biology, Head of Molecular Biology Sector, Assoc. Prof., Department of Animal Microbiology and Hygiene (ORCID 0000-0001-5177-4733); **Afonyushkin A.V.**[2] – student.

[1]FGBUN "Siberian Federal Center for Agrobiotechnology SFNCA RAS"

[2]FGBOU VO "Novosibirsk State Agrarian University"

*bobikova.anna97@gmail.com

ABSTRACT

Studies of *Bacillus* microorganisms open up broad opportunities for the use of probiotic strains in various fields of biotechnology. *Bacillus* microorganisms exhibit antiallergic and antioxidant effects, and produce antibacterial substances, bacteriocins and enzymes, which makes them promising for use as dietary supplements in agriculture and the food industry. *Bacillus*-based probiotics, especially in spore form, are resistant to aggressive conditions and are able to activate a nonspecific cellular immune response. In our study, we evaluated 5 cultures of *Bacillus* microorganisms for the development of probiotic drugs, with a focus on stimulating the humoral antigen response. The studies were conducted on *Coturnix coturnix* quails of the Texas breed (aged 14 days), the birds were divided into 5 experimental groups and 1 control (n = 7), as well as on *ICR* mice (CD-1), which were divided into one experimental group and one control (n = 8). Antagonistic, hemolytic, galactosidase and DNase activities, as well as sensitivity to kanamycin, were studied. Immunogenicity and invasiveness of cultures were screened by evaluating sera in the immunofluorescence agglutination reaction. The length of intestinal villi in experimental animals was determined, and organs were weighed to determine mass coefficients. It was found that *B. halotolerans* strain No. 5.6 effectively lengthens intestinal villi in quails, but does not affect the mucous membrane in mice. Our studies confirmed that many *B. subtilis* strains are invasive, which is considered to be the main factor determining their immunostimulatory effects. This property is also useful for delivering vaccine antigens through mucous membranes, but the results showed that immunogenicity and the ability to overcome food tolerance in *B. subtilis* do not depend solely on invasiveness. Other *Bacillus* species, such as *B. halotolerans*, may hold promise for probiotic development.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Федорова О. В. и др. Пробиотические препараты на основе микроорганизмов рода Bacillus //Вестник Казанского технологического университета. – 2016. – Т. 19. – №. 15. – С. 170-174.

2. Батаева Ю. и др. Оценка некоторых фенологических показателей рода Gossypium hirsutum (malvaceae) при воздействии биостимуляторов разной природы // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. – 2015. – №. 1 (123). – С. 70-76.

3. Mercado V., Olmos J. Bacteriocin production by Bacillus species: Isolation, characterization, and application //Probiotics and Antimicrobial Proteins. – 2022. – Т. 14. – №. 6. – С. 1151-1169.

4. Dehghanifar S., Keyhanfar M., Emtiazi G. Production and partial purification of thermostable bacteriocins from Bacillus pumilus ZED17 and DFAR8 strains with antifungal activity //Molecular biology research communications. – 2019. – Т. 8. – №. 1. – С. 41.

5. Афонюшкин В.Н. и др. "Малая" биотехнология или хозяйство-ориентированная биотехнология в ветеринарии - аналог персонализированной медицины. //ВЕТЕРИНАРИЯ. – №. 11. – С. 28-34.

6. Amuguni H., Tzipori S. Bacillus subtilis: a temperature resistant and needle free delivery system of immunogens //Human vaccines & immunotherapeutics. – 2012. – Т. 8. – №. 7. – С. 979-986.

7. Barnes A. G. C. et al. Bacillus subtilis spores: a novel microparticle adjuvant which can instruct a balanced Th1 and Th2 immune response to specific antigen //European journal of immunology. – 2007. – Т. 37. – №. 6. – С. 1538-1547.
8. Ashraf R., Shah N. P. Immune system stimulation by probiotic microorganisms // Critical reviews in food science and nutrition. – 2014. – Т. 54. – №. 7. – С. 938-956.
9. Raheem A. et al. Modulatory effects of probiotics during pathogenic infections with emphasis on immune regulation //Frontiers in immunology. – 2021. – Т. 12. – С. 616713.
10. Huang J. M. et al. Immunostimulatory activity of Bacillus spores //FEMS Immunology & Medical Microbiology. – 2008. – Т. 53. – №. 2. – С. 195-203.

REFERENCES

1. Fedorova O. V. et al. Probiotic preparations based on microorganisms of the genus Bacillus // Bulletin of the Kazan Technological University. - 2016. - Vol. 19. - No. 15. - P. 170-174 (In Russ.).
2. Bataeva Yu. et al. Evaluation of some phenological indicators of the genus Gossypium hirsutum (malvaceae) under the influence of biostimulants of different nature // Bulletin of the Altai State Agrarian University. - 2015. - No. 1 (123). - P. 70-76 (In Russ.).
3. Mercado V., Olmos J. Bacteriocin production by Bacillus species: Isolation, characterization, and application // Probiotics and Antimicrobial Proteins. - 2022. - Vol. 14. - No. 6. – P. 1151-1169.
4. Dehghanifar S., Keyhanfar M., Emtiazi G. Production and partial purification of thermostable bacteriocins from Bacillus pumilus ZED17 and DFAR8 strains with antifungal activity // Molecular biology research communications. – 2019. – Vol. 8. – No. 1. – P. 41.
5. Afonyushkin V.N. et al. "Small" biotechnology or farm-oriented biotechnology in veterinary medicine - an analogue of personalized medicine. // VETERINARY SCIENCE. – No. 11. – P. 28-34 (In Russ.).
6. Amuguni H., Tzipori S. Bacillus subtilis: a temperature resistant and needle free delivery system of immunogens // Human vaccines & immunotherapeutics. – 2012. – Vol. 8. – No. 7. – pp. 979-986.
7.Barnes A. G. C. et al. Bacillus subtilis spores: a novel microparticle adjuvant which can instruct a balanced Th1 and Th2 immune response to specific antigen //European journal of immunology. – 2007. – T. 37. – No. 6. – pp. 1538-1547.
8.Ashraf R., Shah N.P. Immune system stimulation by probiotic microorganisms // Critical reviews in food science and nutrition. – 2014. – T. 54. – No. 7. – pp. 938-956.
9. Raheem A. et al. Modulatory effects of probiotics during pathogenic infections with emphasis on immune regulation //Frontiers in immunology. – 2021. – T. 12. – P. 616713. 10.Huang J. M. et al. Immunostimulatory activity of Bacillus spores //FEMS Immunology & Medical Microbiology. – 2008. – T. 53. – No. 2. – pp. 195-203.
10. Huang J. M. et al. Immunostimulatory activity of Bacillus spores //FEMS Immunology & Medical Microbiology. – 2008. – T. 53. – No. 2. – pp. 195-203.

УДК: 578.826.1
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.4.52

ИЗУЧЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ВОЗБУДИТЕЛЯ ГЕМОРРАГИЧЕСКОГО ЭНТЕРИТА ИНДЕЕК

Красков Д.А.* – асп. каф. эпизоотологии им. В.П. Урбана; **Джавадов Э.Д.** – академик РАН, д-р ветеринар. наук, проф. каф. эпизоотологии им. В.П. Урбана; **Веретенников В.В.** – канд. ветеринар. наук, асс. каф.эпизоотологии им. В.П. Урбана; **Тарлавин Н.В.** – канд. ветеринар. наук, асс. каф. эпизоотологии им. В.П. Урбана; **Сидоренко К.В.** – канд. ветеринар. наук, асс. каф. биологии, экологии и гистологии

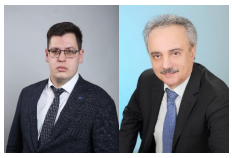
ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины»

*kraskov-00@bk.ru

Ключевые слова: *геморрагический энтерит индеек, индейководство, биологические свойства вируса, макроскопические изменения.*

Key words: *hemorrhagic enteritis of turkeys, turkey breeding, biological properties of the virus, macroscopic changes.*

Поступила: 16.09.2024 **Принята к публикации: 02.12.2024**
Опубликована онлайн:16.12.2024



РЕФЕРАТ

Индейководство в Российской Федерации имеет позитивную тенденцию развития, что связано со многими полезными качествами мяса. Кроме положительных аспектов развития индейководческой промышленности, есть и отрицательные. Например, по мере развития и увеличения птицефабрик индейководческого направления повышаются риски возникновения инфекционных болезней. Наиболее актуальным для промышленного индейководства является профилактика опасных болезней (список МЭБ) - ньюкаслской болезни (НБ), гриппа птиц (ГП) и экономически значимых болезней индеек - геморрагического энтерита индеек (ГЭИ), инфекционного энцефаломиелита птиц (ИЭП), респираторного микоплазмоза и микоплазменного синовита, вызываемых *Mycoplasma gallisepticum* (MG) и *Mycoplasma meleagridis* (MM). Наиболее часто встречающейся и экономически опасной болезнью является геморрагический энтерит индеек, к сожалению, в Российской Федерации данная болезнь является малоизученной. Поэтому необходимо направить исследования на изучение биологических свойств вируса, что поможет созданию диагностических наборов и средств специфической профилактики. Именно поэтому целью нашей работы является изучение биологических свойств вируса ГЭИ. В данный комплекс исследований входит: изучение концентрации вируса в органах-мишенях, макроскопических изменений в органах, материнского иммунитета на примере периода полураспада антител к геморрагическому энтериту. В результате проведенных исследований были получены данные по макроскопическим изменениям, была определена концентрация вируса в различные дни после заражения при помощи реакции диффузионной преципитации (РДП), а также определен период полураспада материнских антител. Все эти результаты в дальнейшем лягут в основу разработок средств диагностики и специфической профилактики.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

На 2023 год развитие индейководческой промышленности в Российской Федерации имеет позитивную тенденцию. Так, на 2023 год было произведено 422 тыс. тонн продукции, что на 8 тыс. тонн больше, чем в 2022 году и на 22 тыс. тонн больше, чем в 2021 году. По мнению экспертов объём индейководческой продукции к 2025 году составит 500-550 тыс. тонн, а к 2030 году 600-650 тыс.тонн [1]. Данные показатели на 2023 год обеспечивают такие организации как:

1) ГК ДАМАТЕ – 238 тыс. тонн;

2) ГК ЧЕРКИЗОВО – 57 тыс.тонн;

3) Союзпромптица + ПК Урал – 26,2 тыс.тонн;

4) ГК Руском – 20,6 тыс.тонн;

5) Агроплюс – 10,7 тыс.тонн;

6) Другие организации, доля на рынке которых по отдельности составляет менее 1,1% - 69,5 тыс. тонн[2];

Развитие этой отрасли связанно со многими полезными свойствами мяса индеек (диетическое, нежирное, гипоаллергенное, с низким уровнем холестерина, содержит полезные микро и макроэлементы и т. д.)

Также в РФ появились свои племенные индейководческие птицефабрики с нарастающим темпом производства инкубационного яйца, что значительно повышает независимость России от других стран. На сегодняшний день обеспечением инкубационным яйцом индейки в нашей стране занимаются следующие племенные птицефабрики (показатели на 2023 год):

1) Морозовская – 2305251 штук яиц;

2) Индюшкин двор (ГК ДАМАТЕ) – 10562479 штук яиц;

3) Племенная индейка (ГК ДАМАТЕ) – 4305541 штук яиц [2].

Как уже было сказано, индейководческая промышленность в Российской Федерации имеет стремительные темпы роста. Всё это происходит благодаря расширению уже существующих птицефабрик и увеличению у них поголовья индеек, а также открытие новых птицефабрик, специализирующихся на производстве индейководческой продукции [3].

К сожалению, расширение этой отрасли приводит к повышению рисков возникновения инфекционных болезней [4,5].

Наиболее актуальным для промышленного индейководства является профилактика опасных болезней (список МЭБ) - ньюкаслской болезни (НБ), гриппа птиц (ГП) и экономически значимых болезней индеек - геморрагического энтерита индеек (ГЭИ), инфекционного энцефаломиелита птиц (ИЭМ), респираторного микоплазмоза и микоплазменного синовита, вызываемых Mycoplasma gallisepticum (MG) и Mycoplasma meleagridis (MM) [6].

Для более глубокого понимания болезней, ветеринарным специалистам необходимо сделать упор на изучение иммунобиологических свойств как патогенных, так и вакцинных штаммов основных болезней индеек. Изучение данных свойств поможет специалистам агропромышленного комплекса своевременно и правильно диагностировать инфекционные болезни, а также расширит их понимание в области вирусологии (основные клетки-мишени вируса и его репликация в них). На данный момент в Российской Федерации всё чаще регистрируется новая болезнь индеек - геморрагический энтерит.

Геморрагический энтерит индеек (ГЭИ) — это высококонтагиозная, иммунодепрессивная, инфекционная болезнь индеек и фазанов, вызванная ДНК-содержащим вирусом из второй группы птичьих аденовирусов (семейство *Adenoviridae*, род *Siadenovirus*). Клетками-мишенями этой болезни являются В-лимфоциты. Болезнь характеризуется депрессией, диареей с примесью крови в помёте, обезвоживанием, снижением температуры, и различными осложнениями из-за развития вторичной бактериальной флоры [7,8,9,10]. Основными методами диагностики данной болезни являются серологические и молекулярно-биологические методы [11]. К сожалению, в Российской Федерации нет достаточных научных знаний об этой болезни

и её возбудители. Данная проблема может привести к обострению ситуации по геморрагическому энтериту индеек в хозяйствах страны. Именно поэтому целью исследования является изучение биологических свойств вируса геморрагического энтерита индеек.

Исходя из поставленной цели, были выделены следующие задачи: 1 Изучения концентрации вируса в органах-мишенях (селезенка, сумка Фабрициуса, 12-ти перстная кишка) в различные дни после заражения при помощи реакции диффузионной преципитации (РДП); 2) Изучения макроскопических изменений в органах (селезенка, сумка Фабрициуса, 12-перстная кишка, печень, тимус) которые наиболее подвержены изменениям вызванным репликацией вируса; 3) Изучения уровня материнского иммунитета и периода полураспада материнских антител к геморрагическому энтериту индеек;

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Исследования были выполнены на базе Научно-консультационного диагностического центра по птицеводству кафедры эпизоотологии им. В.П. Урбана и кафедры биологии, экологии и гистологии ФГБОУ ВО СПБГУВМ.

Концентрация вируса

Для изучения концентрации вируса в органах-мишенях (селезенка, сумка Фабрициуса, 12-перстная кишка) в различные дни после заражения при помощи реакции диффузионной преципитации были составлены 2 группы индеек кросса «БИГ-6» 28 дневного возраста в количестве 80 особей 1 группа- 70 индеек заражены патогенным штаммом выделенным из индейки с яркими клиническими признаками ГЭИ, находящейся в фермерском хозяйстве Ленинградской области; 2 группа – 10 незараженных индеек. Титры антигена ГЭИ в органах-мишенях изучали при помощи РДП, забивая по 10 индеек на 2,3,4,5,6,7,8 сутки после заражения, контрольную группы забили в последний день (все 10 птиц на 8-е сутки после заражения первой группы, для получения отрицательных результатов, что свидетельствует о том, что контрольная птиц не была контаминирована вирусом). Из полученных органов делали гомогенат, который трижды замораживали и оттаивали. В последующем гомогенат центрифугировали и проводили РДП с надосадочной жидкостью.

Макроскопические изменения

Для изучения макроскопических изменений в органах (селезенка, сумка Фабрициуса, 12-перстная кишка, печень, тимус) которые наиболее подвержены изменениям вызванным репликацией вируса были взяты 40 индеек кросса «БИГ-6» 28 дневного возраста и разбиты на 2 группы: 1 группа- 40 индеек зараженных патогенным штаммом выделенным из индейки с яркими клиническими признаками ГЭИ, находящейся в фермерском хозяйстве Ленинградской области; 2 группа – чистая контрольная группа – 10 индеек. Все птицы были забиты на 5,5 сутки (через 132 часа) после заражения (максимальный титр вируса в организме приходится на этот день) и было проведено вскрытие трупов для изучения макроскопических изменений.

Изучение материнского иммунитета

Для изучения уровня материнского иммунитета и периода полураспада материнских антител к геморрагическому энтериту индеек было сформирована 1 группа индеек кросса «БИГ-6» 2 дневного возраста 20 голов и разделили на подгруппы по 10 штук: у 1 подгруппы- отбирали цельную кровь для получения сыворотки на 2,4,6,8,10,12,14,16 дни жизни; у 2 подгруппы – отбирали цельную кровь для получения сыворотки на 3,5,7,9,11,13,15,17 дни жизни, после чего проводили анализ титров материнских антител на ГЭИ данных сывороток с помощью ИФА Бест-Вет АТ-HEV (геморрагический энтерит индеек).

Вся птица была забита с соблюдением требований международных соглашений «Директивы 2010/63/EU Европейского Парламента и Совета Европейского Союза» о защите животных, используемых в научных целях.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Исходя из полученных результатов по изучение концентрации вируса в органах-мишенях с помощью РДП (Таблица 1) мы видим, что титр обнаруживался в основных органах-мишенях уже на 2 день после заражения. Своего пика во всех органах он достигал на 5-6 день после заражения. Больше всего количество вируса обнаруживалось в селезёнке (титр 1:32), вторым органом была 12-перстная кишка (титр 1:16) и меньше всего вируса было в сумке Фабрициуса (титр 1:4). На 7 день после заражения и далее титр вируса резко снижался и продолжал падать. В контрольной незараженной группе был получен отрицательный результат, вирус ГЭИ в органах-мишенях не выявлен (Таблица 2).

По результатам изучения макроскопическим изменений, у всех индеек (40 голов) в селезёнке была выявлена либо атрофия, либо гипертрофия с характерным мраморным рисунком - патогномоничный признак при данной болезни. У 11 индеек выявлена гипертрофия сумки Фабрициуса с точечными кровоизлияниями. У 22 индеек обнаружен дуоденит с характерной гиперемией слизистой оболочки. У 30 индеек была выявлена гипотрофия и атрофия тимуса. У 4 индеек выявлен гепатит (Рисунок 1).

У контрольной группы на вскрытии никаких патологоанатомических изменений не обнаружено (Рисунок 2).

При изучении уровня материнского иммунитета и периода полураспада материнских антител к геморрагическому энтериту индеек были получены следующие данные (Таблица 3).

У 1-ой подгруппы снижение титров материнских антител каждый день составляла в среднем 35,4% ± 15,2%, у 2-ой подгруппы 30,6% ± 16,4%. Плато материнских антител сохраняется до 3-х дней. Период полураспада материнских антител у кросса Биг-6 составляет в среднем 2,5 дня. Материнские антитела сохраняются в достаточном высоком титре ≥ 500 не менее двух недель.

Таблица 1 – Концентрация вируса ГЭИ в органах-мишенях зараженной группы

Дни п.з.* / Органы	2	3	4	5	6	7	8
Селезёнка	1:4	1:8	1:16	1:32	1:32	1:8	1:4
Сумка Фабрициуса	цельное	1:4	1:4	1:4	1:2	цельное	-
12-ти п.к.	1:2	1:4	1:8	1:8	1:16	1:8	1:4

* – *Дни после заражения*

Таблица 2 – Концентрация вируса ГЭИ в органах-мишенях контрольной группы

День п.з* / Органы	8
Селезёнка	отрицательно
Сумка Фабрициуса	отрицательно
12-ти п.к.	отрицательно

* – *День после заражения*

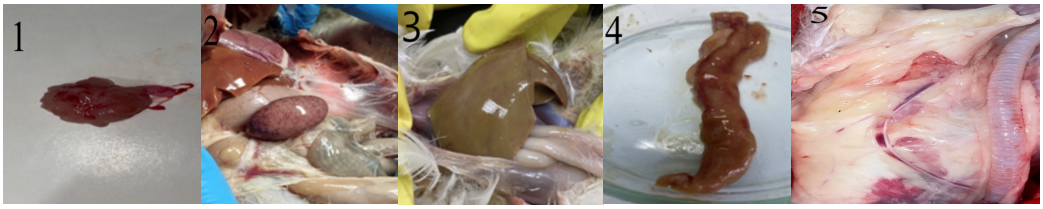


Рисунок 1 – Макроскопические изменения при ГЭИ.
1 – сумка Фабрициуса с разлитым кровоизлиянием, 2 – гиперплазия белой пульпы селезёнки, 3 – гепатит, 4 – дуоденит с характерной гиперемией слизистой оболочки, 5 – гипотрофия тимуса.

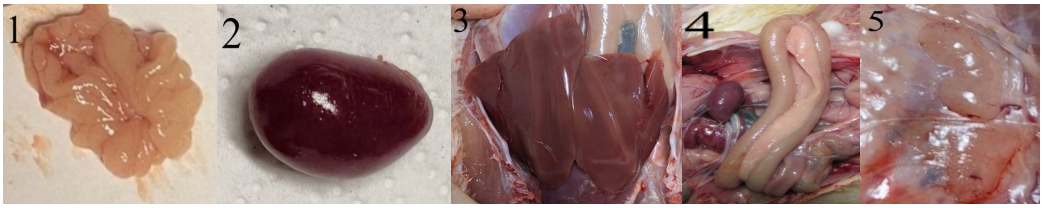


Рисунок 2 – Органы в контрольной группы.
1 – сумка Фабрициуса, 2 – селезёнка, 3 – печень, 4 – 12-ти перстная кишка, 5 – тимус.

Таблица 3- Результаты изучение периода полураспада материнских антител в сутках, усредненные значения

Дни жизни	Титр в ИФА	Дни жизни	Титр в ИФА
2	14826±1273	3	3669±214
4	9070±735	5	2541±149
6	7392±515	7	1239±87
8	3858±316	9	681±54
10	1935±137	11	670±43
12	1672±148	13	512±37
14	1253±113	15	416±25
16	565±48	17	235±21
1 подгруппа		2 подгруппа	

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

При вскрытии было определено, что чаще всего изменением подвергается селезенка, 12-ти перстная кишка, тимус, печень и сумка Фабрициуса. Также было отмечено, что в основных органах-мишенях (селезёнке, 12-ти перстная кишка, сумка Фабрициуса) определяемый титр антигена в серологической реакции проявляется на 2 день после заражения, и достигает своего пика на 5-6 день, после чего резко снижается. Плато материнских антител сохраняется до 3-х дней. Период полураспада материнских антител у кросса Биг- 6 составляет в среднем 2,5 дня.

THE STUDY OF THE BIOLOGICAL PROPERTIES OF THE CAUSATIVE AGENT OF HEMORRHAGIC ENTERITIS OF TURKEYS

Kraskov D.A.* – 2nd year postgraduate student of the Department of Epizootology named after V.P. Urban; **Javadov E. D**. – Doctor of Veterinary Sciences, Professor of the Department of Epizootology named after V.P. Urban; **Veretennikov V.V**. – Cand. Veterinarian. sciences, ass. of the Department of Epizootology named after V.P. Urban; **Tarlavin N. V**. – Cand. Veterinary Sciences, ass. of the Department of Epizootology named after V.P. Urban; **Sidorenko K.**

V. – Cand. Veterinary Sciences, ass. of the Department of Biology, Ecology and Histology

St. Petersburg State University of Veterinary Medicine

* kraskov-00@bk.ru

ABSTRACT

Turkey breeding in the Russian Federation has a positive development trend, this is due to many useful qualities of meat. In addition to the positive aspects of the development of the turkey breeding industry, there are also negative ones, for example, as poultry farms in the turkey breeding sector develop and increase, the risks of infectious diseases increase, the most relevant for industrial turkey breeding is the prevention of dangerous diseases (OIE list) - Newcastle disease (NB), avian influenza (AI) and economically significant diseases of turkeys - hemorrhagic enteritis of turkeys (HE), infectious avian encephalomyelitis (AE), respiratory mycoplasmosis and mycoplasmic synovitis caused by Mycoplasma gallisepticum (MG) and Mycoplasma meleagridis (MM). The most common and economically dangerous disease is hemorrhagic enteritis of turkeys, unfortunately in the Russian Federation this disease is poorly studied. Therefore, it is necessary to direct research to the study of the biological properties of the virus, which will help to create diagnostic kits and means of specific prevention. That is why the purpose of our work is to study the biological properties of the HE virus. This set of studies includes: studying the concentration of the virus in target organs, macroscopic changes in organs, maternal immunity using the example of the half-life of antibodies to hemorrhagic enteritis. As a result of the conducted studies, data on macro and microscopic changes were obtained, the concentration of the virus was determined on various days after infection with RDP, and the half-life of maternal antibodies was determined. All these results will form the basis for the development of diagnostic tools and specific prevention in the future.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Московский хладокомбинат №14: сайт. Москва. URL: https://www.moshol14.ru/press-centr/novosti-rynka/indeyka-2021/ (дата обращение: 20.09.2024).
2. ВНИИПП: офиц. сайт. Московская область. URL: https://vniipp.ru/izdaniya/publikatsii-na-sajte/materialy-partnerov/rejting-vedushhih-proizvoditelej-indejki-v-rossii-v-2023-godu// (дата обращения: 20.09.2024
3. Определение реактивности иммунитета индейки с помощью нитросинего тетразолия / Э. Д. Джавадов, Н. В. Тарлавин, В. В. Веретенников, Д. А. Красков // Актуальные проблемы ветеринарной медицины: сборник научных трудов. Том № 153. – Санкт-Петербург: Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины, 2022. – С. 19-23.
4. Джавадов, Э. Д. Геморрагический энтерит индеек / Э. Д. Джавадов, Д. А. Красков // БИО. – 2021. – № 7(250). – С. 16-19.
5. Красков, Д. А. Изучение иммунобиологических свойств вакцинного штамма вируса геморрагического энтерита индеек / Д. А. Красков, В. В. Веретенников, Н. В. Тарлавин // Материалы 77-й международной научной конференции молодых ученых и студентов СПбГУВМ, посвященной 80-летию прорыва блокады Ленинграда, Санкт-Петербург, 03–10 апреля 2023 года. – Санкт-Петербург: Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины, 2023. – С. 132-134.
6. Список МЭБ и трансграничные инфекции животных: монография / В. В. Макаров [и др.]. – Владимир: ВИТ-принт, 2012. – 89 с.
7. Красков, Д. А. Разработка серологического метода диагностики геморрагического энтерита индеек / Д. А. Красков, В. В. Веретенников, Н. В. Тарлавин // Материалы 77-й международной научной конференции молодых ученых и студентов СПбГУВМ, посвященной 80-летию прорыва блокады Ленинграда, Санкт-Петербург, 03–10 апреля 2023 года. – Санкт-Петербург: Санкт-Петербургский государственный университет ветеринар-

ной медицины, 2023. – С. 130-132.
8. Мраморная селезенка фазанов: патогенез, диагностика, лечение и профилактика / Э. Д. Джавадов, Д. А. Красков, В. В. Веретенников, Н. В. Тарлавин // БИО. – 2021. – № 9(252). – С. 4-6.
9. Хлып, Д. Н. Аденовирусные инфекции: геморрагический энтерит индеек / Д. Н. Хлып // БИО. – 2019. – № 3(222). – С. 16-18.
10. Dhama, K., Gowthaman, V., Karthik, K., Tiwari, R., Sachan, S., Kumar, M. A., Munir, M. (2017). Haemorrhagic enteritis of turkeys – current knowledge. Veterinary Quarterly, 37(1), 31–42.
11. Lobová, D., & Celer, V. (2015). Expression and serological reactivity of hemorrhagic enteritis virus hexon protein. Folia Microbiologica, 61(3), 227–232.

REFERENCES

1. Moscow refrigerating plant No. 14: website. Moscow. URL: https://www.moshol14.ru/press-centr/novosti-rynka/indeyka-2021 / (date of appeal: 09/20/2024). (In Russ.)
2. VNIIPP: ofic. website. Moscow oblast. URL: https://vniipp.ru/izdaniya/publikatsii-na-sajte/materialy-partnerov/rejting-vedushhih-proizvoditelej-indejki-v-rossii-v-2023-godu/ / (date of request: 09/20/2024). (In Russ.)
3. Determination of turkey immunity reactivity using nitrosine tetrazolium / E. D. Javadov, N. V. Tarlavin, V. V. Veretennikov, D. A. Kraskov // Actual problems of veterinary medicine: collection of scientific papers. Volume No. 153. – St. Petersburg: St. Petersburg State University of Veterinary Medicine, 2022. – pp. 19-23. (In Russ.)
4. Javadov, E. D. Hemorrhagic enteritis of turkeys / E. D. Javadov, D. A. Kraskov // BIO. – 2021. – № 7(250). – Pp. 16-19. (In Russ.)
5. Kraskov, D. A. The study of immunobiological properties of the vaccine strain of the hemorrhagic enteritis virus of turkeys / D. A. Kraskov, V. V. Veretennikov, N. V. Tarlavin // Materials of the 77th international scientific conference of young scientists and students of St. Petersburg State University of Economics, dedicated to the 80th anniversary of the breakthrough of the siege of Leningrad, St. Petersburg, April 03-10, 2023. – St. Petersburg: St. Petersburg State University of Veterinary Medicine, 2023. – pp. 132-134. (In Russ.)
6. OIE list and transboundary animal infections: monograph / V. V. Makarov [et al.]. – Vladimir: VIT-print, 2012. – 89 p. (In Russ.)
7. Kraskov, D. A. Development of a serological method for diagnosing hemorrhagic enteritis of turkeys / D. A. Kraskov, V. V. Veretennikov, N. V. Tarlavin // Materials of the 77th International scientific conference of young scientists and students of St. Petersburg State University of Economics, dedicated to the 80th anniversary of the breakthrough of the siege of Leningrad, St. Petersburg, April 03-10, 2023. – St. Petersburg: St. Petersburg State University of Veterinary Medicine, 2023. – pp. 130-132. (In Russ.)
8. Marble spleen of pheasants: pathogenesis, diagnosis, treatment and prevention / E. D. Javadov, D. A. Kraskov, V. V. Veretennikov, N. V. Tarlavin // BIO. – 2021. – № 9 (252). – Pp. 4-6. (In Russ.)
9. Khlyp, D. N. Adenovirus infections: hemorrhagic enteritis turkeys / D. N. Khlyp // BIO. – 2019. – № 3(222). – Pp. 16-18. (In Russ.)
10. Dhama, K., Gowthaman, V., Karthik, K., Tiwari, R., Sachan, S., Kumar, M. A., Munir, M. (2017). Haemorrhagic enteritis of turkeys – current knowledge. Veterinary Quarterly, 37(1), 31–42. (In Eng.)
11. Lobová, D., & Celer, V. (2015). Expression and serological reactivity of hemorrhagic enteritis virus hexon protein. Folia Microbiologica, 61(3), 227-232. (In Eng.)

УДК: 612.332.12:636.32/38.087.61:636.09
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.4.59

МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МИКРОБИОЦЕНОЗА КИШЕЧНИКА СОБАК, НАХОДЯЩИХСЯ НА СМЕШАННОМ ПИТАНИИ

Логинов С.Н.*[1] – асп. каф. специальных ветеринарных дисциплин (ORCID 0000-0002-4220-1009); **Батомункуев А.С.**[1] – д-р ветеринар. наук, доц., доц. кафедры специальных ветеринарных дисциплин (ORCID 0000-0002-2263-6355); **Сухинин А.А.**[2] – д-р биол. наук, проф., зав. каф. микробиологии, вирусологии и иммунологии (ORCID 0000-0002-1245-3440); **Краснопеев А.Ю.**[3] – науч. сотр. (ORCID 0000-0002-3368-4678); **Горшкова А.С.**[3] – канд. биол. наук, науч. сотр. (ORCID 0000-0003-2408-0837); **Белых О.И.**[3] – канд. биол. наук, доц., вед. науч. сотр. (ORCID 0000-0002-1188-7351); **Липко И.А.**[3] – канд. биол. наук, науч. сотр. (ORCID 0000-0002-6214-2974); **Потапов С.А.**[3] – науч. сотр. (ORCID 0000-0003-1391-6731); **Тихонова И.В.**[3] – канд. биол. наук, ст. науч. сотр. (ORCID 0000-0002-4323-6799)

[1]ФГБОУ ВО «Иркутский государственный аграрный университет имени А.А. Ежевского»
[2]ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины»
[3]ФГБУН «Лимнологический институт Сибирского отделения Российской академии наук»

*sergyn21@yandex.ru

Ключевые слова: *собака; углеводная диета; микробиом кишечника; бактерии; метабаркоднинг 16S рРНК*
Key words: *dog; hydrocarbon diet; intestine microbiome; bacteria; 16S rRNA metabarcoding*
Финансирование: *исследование не имело спонсорской поддержки.*

Поступила: 14.10.2024 **Принята к публикации: 02.12.2024**
Опубликована онлайн:16.12.2024

РЕФЕРАТ
Метабаркодинговые исследования кишечника домашних животных являются актуальными для ветеринарии. Влияние кормов и пищевых добавок на его микробиом кишечника имеет как прикладную, так и фундаментальную значимость и демонстрирует стимулирование роста различных групп бактерий. Целью нашей работы является изучение влияния отечественного полнорационного корма Дилли на микробное сообщество кишечника собак питомника г. Иркутска. Состав микробиома определяли у 12 животных разного возраста с помощью секвенирования ампликонов V3-V4 региона 16S рРНК на Illumina MiSeq. Коэффициенты разнообразия применяли для оценки богатства и представленности бактериальных ОТЕ, а непараметрический критерий Манна-Уитни (парный тест, $p \leq 0,05$) использовали для оценки достоверности разницы процентного содержания ОТЕ у различных физиологи-

ческих групп. Всего получено 147150 последовательностей фрагмента гена 16S рРНК. Доминирующими являлись бактерии филумов Firmicutes, Actinobacteriota, Bacteroidota, Proteobacteria. У исследуемых животных почти отсутствовали бактерии Fusobacteriota – маркеры диеты с преобладанием сырого мяса (хищничества). Филум Firmicutes включал бактерий пяти семейств. Самым многочисленным семейством среди фирмикут были бактерии Lactobacillaceae. Среди бактерий Actinobacteriota наблюдали представителей семи семейств, из которых доминировали Bifidobacteriaceae. Протеобактерии порядка Enterobacterales и Burkholderiales составляли малую долю от всего сообщества, и зависели от возраста животного. Результаты исследований в перспективе могут быть использованы для расширения знаний о процессе пищеварения у всеядного животного рода волков. У этих животных достаточно пластичный микробиом, который имеет несколько вариантов нормального состава. В микробных сообществах кишечника собак, потребляющих в пищу корма, содержащие грубые пищевые волокна, преобладали молочнокислые бактерии. В свою очередь, молочнокислые бактерии редуцировали численность Fusobacteriota.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Собака является первым одомашненным животным и до сих пор является важным спутником человека. Поведение, пищевые стратегии и рацион диких плотоядных животных, ставших домашними, претерпели значительные изменения. Известно, что состав микробиома кишечника в значительной мере определяется пищевыми предпочтениями и поступающей пищей. Животные семейства псовые имеют много особенностей пищеварения, так, у них очень простая и короткая пищеварительная система, которая должна эффективно разлагать пищу и быстро выводить ее из организма. Несмотря на поступление мясной пищи, они являются всеядными (омниворы), что обеспечивает разнообразие бактерий, участвующих в расщеплении пищи. Состав микробиома кишечника псовых зависит от генетических особенностей животного, условий содержания и кормления и является одним из самых разнообразных экотопов собаки [1, 2]. Одними из первых изучены культуры бактерий семейств *Enterobacteriaceae, Bifidobacteriaceae, Lactobacillaceae, Clostridiaceae, Pseudomonadaceae*, выделенные из кишечника собак [3]. Однако классические микробиологические методы недостаточны для оценки сложного бактериального разнообразия, обнаруженного в желудочно-кишечном тракте млекопитающих [4]. Первые данные о генетическом разнообразии кишечника собак получены с помощью молекулярного клонирования фрагмента гена 16S РНК [5]. Однако появление технологии массового параллельного секвенирования полностью охарактеризовало это сообщество [6, 7, 8]. По данным зарубежных исследований породных животных и волков, основой микробного сообщества кишечника псовых являются Actinobacteria, Firmicutes, Fusobacteria, Bacteroidetes, Proteobacteria [2]. Вариации состава микробиома зависят от возраста и сопутствующих болезней, приводящих к дисбиозу [9, 10, 11]. При дисбиозе увеличивается представленность условно-патогенных бактерий *Escherichia coli* и *Streptococcus*, и одновременно уменьшается доля представителей родов *Faecalibacterium, Turicibacter, Fusobacterium, Bifidobacterium, Clostridium, Blautia, Bacteroides*. Такие исследования способствовали разработке индекса дисбиоза на основе ПЦР в реальном времени. Он используется для ветеринарного контроля дисбаланса кишечника в зарубежной ветеринарной практике [12].

В России исследования кишечника собак проводятся в основном с помощью классических микробиологических методов [13, 14]. В отечественной литературе пока не практикуются молекулярно-биологические исследования бактериального состава кишечника собак, за исключением опубликованного эксперимента по влиянию кормовой добавки [15]. Цель нашей работы – исследовать состав микробиома кишечника собак иркутского

питомника с помощью высокопроизводительного секвенирования и выявить особенности микробиома с нарушением пищеварения, а также предоставить данные для последующего использования отечественными ветеринарными учреждениями.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Для сравнения использовали генетический материал содержимого кишечников 12 беспородных животных из частного питомника-приюта. Животные не проявляли признаков истощения и заболеваний и не получали медикаментозные препараты. Предварительно они были отнесены к трем физиологическим группам – щенки, взрослые здоровые и взрослые с расстройством стула. Рацион животных включал отечественные промышленные полнорационные корма «Дилли» для взрослых собак и щенков «Говяжий гуляш с овсянкой», «Рагу из курицы с рисом» (ЗАО «Алейскзернопродукт» им. С.Н. Старовойтова, Алейск, Россия) – 5 раз в неделю. Теплая пища в виде зерновых каш с мясными субпродуктами готовилась 2 раза в неделю. Мясная продукция поступала в основном в вареном виде, раз в неделю давали лакомство – кости с остатками мяса. Описание исследованных животных приведено в таблице 1. Отбор материала проводили в индивидуальные стерильные пробирки объёмом 2 мл, содержащие 300 мкл буфера для выделения ДНК, pH 8.0 (50 мМ Трис-HCl, 5 мМ ЭДТА, 50 мМ NaCl).

Таблица 1 – Описание исследуемой группы собак

№	Порода	Пол	Возраст	Фекалии
D1	б/п	Сука	10 лет	Норма
D2	б/п	Кобель	7 месяцев	Норма
D3	б/п	Сука	3 месяца	Норма
D4	б/п	Сука	6 месяцев	Норма
D5	б/п	Кобель	15 лет	Норма
D6	б/п	Кобель	5 лет	Норма
D7	метис	Кобель	3 года	Норма
D8	б/п	Сука	3 года	Норма
D9	б/п	Сука	7 лет	Норма
D10	б/п	Кобель	6 лет	Жидкий стул
D11	б/п	Кобель	5 лет	Жидкий стул
D12	б/п	Сука	2 года	Жидкий стул

Биоматериал из кишечника массой 250 мкг суспендировали в буфере и добавляли раствор лизоцима до 1% концентрации фермента. Для лизиса полисахаридной оболочки бактерий, пробирки инкубировали 30-60 минут при температуре 37ºС, после чего добавляли протеиназу К (рабочая концентрация 20 мкг/мл) и 10 % раствор додецил сульфата натрия до 1% концентрации с последующим выдерживанием при температуре 55ºС в течении полутора часов. После проведения ферментативного лизиса биоматериала, проводили удаление клеточного содержимого фенолом и хлороформом, очищенную водную фракцию подвергали осаждению 3М ацетатом натрия в объемном соотношении 1:10 в 70% этаноле. Смесь выдерживали в холодильнике в течение 12 часов при -4ºС, после чего промывали осадок холодным 80% спиртом, высушивали и использовали в качестве матрицы для ПЦР.

Для метагеномного анализа фрагмента гена 16S рРНК использовали праймеры, комплементарные следующим позициям ДНК: 343F (CTCCTACGGRRSGCAG)и 806RB (GGACTACNVGGGTWTCTAAT). Секвенирование выполняли в компании Geneoffice (Санкт-Петербург) с помощью MiSeq (Illumina, USA). Оценку качества библиотек ампликонов проводили с по-

мощью программы FastQC v. 0.11.9 (http://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc, дата последнего доступа: 8 января 2024 г.), адаптеры и праймеры удалены с помощью программы cutadapt v1.14. Метагеномные данные обработаны с использованием пакета DADA2 для языка программирования R с параметрами: maxN (максимальное количество допустимых неопределенных оснований) = 0, maxEE (максимальное количество ожидаемых ошибок прочтения в последовательности) = c (2,4), включая выравнивание, фильтрацию химер и коротких последовательностей и кластеризацию точных вариантов последовательностей (ASV – Amplicon Sequencing Variant) [16] Фрагменты гена 16S рРНК выровнены и таксономически отнесены с использованием базы данных SILVA v.138.1 с доверительным порогом 80% [17] и кластеризованы в операционные таксономические операционные единицы OTE на расстоянии 0,03 с помощью mothur v.1.45.0 [18]. Для уточнения вида микроорганизма осуществляли дополнительный поиск данных с помощью BLAST-анализа на основе базы RefSeq nr (http://blast.ncbi.nlm.nih.gov). Данные депонированы в базу данных GenBank, номер PRJNA1087158.

Показатели альфа - разнообразия рассчитаны с использованием средств языка программирования R v.4.1.2 и пакета “vegan”. Для дальнейшего статистического анализа полученные библиотеки были нормализованы путём случайной фиксированной выборки по наименьшему образцу (8201 последовательность в образце).

Различия в процентном содержании OTE у групп собак, объединённых по признаку стула и возраста, оценивали непараметрическим критерием Манна-Уитни (парный тест, P≤0,05).

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Всего получено 147150 последовательностей фрагмента гена 16S рРНК из 12 образцов содержимого кишечника собак. На каждый образец приходилось от 8201 до 18734 последовательностей. Индексы разнообразия бактерий из кишечника собак показали неоднородные данные (Рисунок 1).

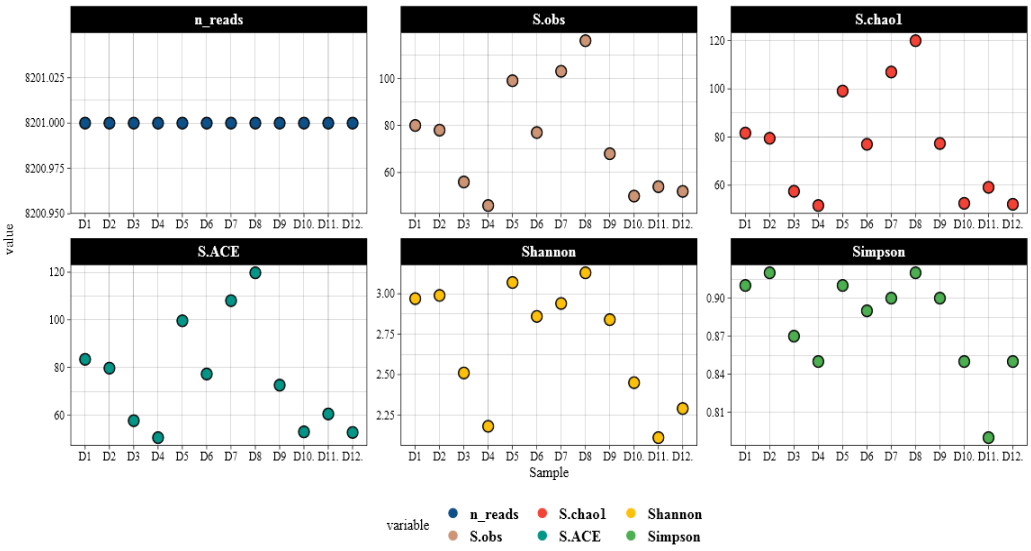


Рисунок 1 – Анализ разнообразия микробиома, выполненный на основе нормализованных данных. D10, D11, D12 – помечены как животные с расстройством стула, D3, D4 – щенки 3, 4 месяцев.

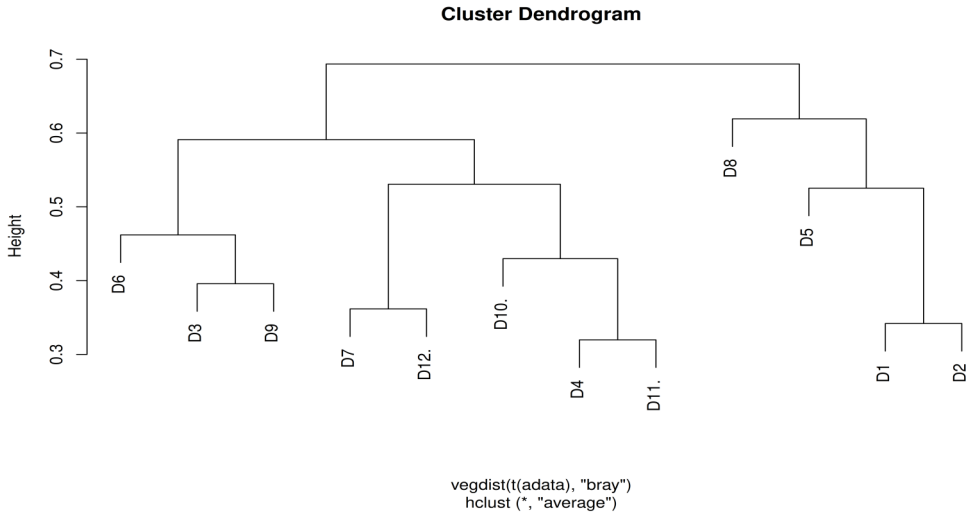


Рисунок 2 – Дендрограмма сообществ кишечника собак, построенная методом иерархической кластеризации UPGMA. D10, D11, D12 – животные с расстройством стула.

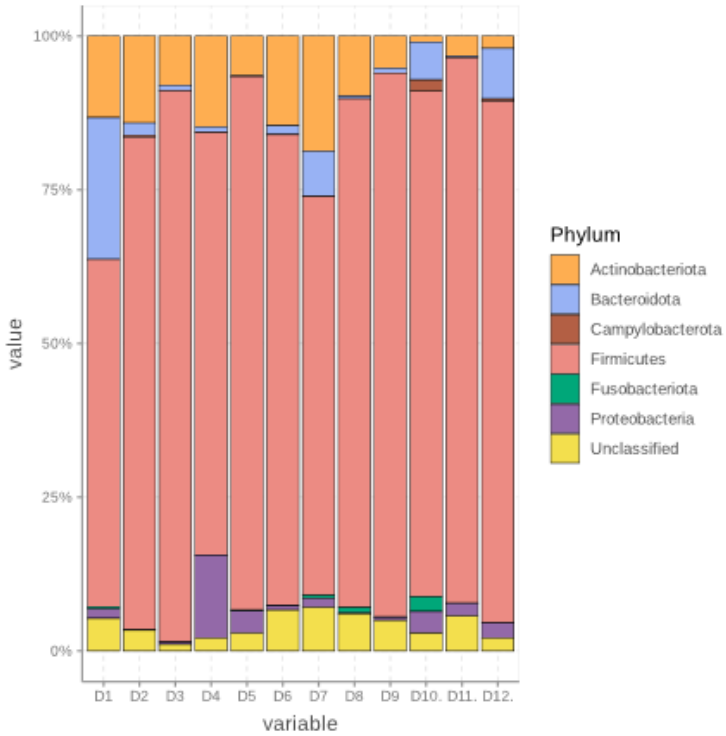


Рисунок 3 – Состав микробиоты кишечника собак на уровне филумов. Точками помечены животные с расстройством стула. D10, D11, D12 – животные с расстройством стула.

После нормализации коэффициенты разнообразия отличались даже внутри физиологических групп. Индексы выявили сообщества бактерий с низким видовым богатством – это щенки D3, D4, и животные с расстройством стула D10, D11, D12. Наибольшим видовым богатством характеризовались микробиомы животных D5, D7, D8, средним – D1, D2. Согласно индексам Шеннона и Симпсона, устойчивыми и разнообразными сообществами бактерий являлись микробиомы животных D1, D2, D5, D6, D7, D8, D9 (особи старше 7 месяцев с нормальным стулом), в них различные группы бактерий представлены достаточно равномерно.

Кластеризация наших данных методом UPMGA показала, что микробный состав сообществ кишечника собак не зависит от качества стула, пола, возраста (Рисунок 2).

В кишечном микробиоме собак доминировали бактерии филума Firmicutes (около 80%), в общей сложности представленные 274 OTE. Далее следовали Actinobacteriota – 42 OTE, Bacteroidota – 21 OTE, Proteobacteria – 15 OTE (Рисунок 3).

Маркерной филой для хищников является Fusobacteriota. В нашем исследовании бактерии филы Fusobacteriota отсутствовали у щенков (особи D2, D3, D4) и у некоторых собак с жидким стулом (D9 и D11). Известно, что доля Fusobacteriota снижается при диетах со значительным количеством пищевых волокон [6]. Также представленность их невысока при кормлении сухими кормами независимо от сбалансированности и дороговизны корма. Однако при включении сырого мяса в рацион собак и волков, Fusobacteriota составляют очень заметную долю в микробиоме [19]. Несмотря на то, что Fusobacteriota могут обитать в растительных волокнах (свекла), эта группа положительно коррелирует с питанием сырыми мясопродуктами, исчезая при кормлении термически обработанными продуктами [11]. В отличие от людей, для которых *Fusobacterium spp*. является неблагоприятным микроорганизмом, ассоциированным с колоректальным раком, заболеваниеми десен [20], для собак эти группы не коррелируют с заболеваниями [9].

Филум Firmicutes представлен семействами Lactobacillaceae, Veillonellaceae, Clostridiaceae, Peptostreptococcaceae и Lachnospiraceae. Среди филума доминировали представители семейства *Lactobacillaceae*. Наиболее представленные рода *Lactobacillus*, *Limosilactobacillus*, *Ligalactobacillus*, *Weissella* и *Streptococcus* известны своим пробиотическим потенциалом (Рисунок 4). Отдельное внимание мы уделили доминированию в микробиоме OTE *Streptococcus*. При уточнении их видовой принадлежности в базе данных через RefSeq, оказалось, что они принадлежат непатогенным видам *Streptococcus bovis/Streptococcus equinus*, которые относятся к молочнокислым бактериям.

Семейство клостридий *Veillonellaceae*, а именно Megasphaera и Megamonas, как резидентная микрофлора кишечника, продуцирует важные для пищеварения короткоцепочечные жирные кислоты. Другими семействами этого класса являлись свободноживущие клостридии семейств *Clostridiaceae (Clostridium), Peptostreptococcaceae (Peptoclostridium, Romboutsia, Terrisporobacter*) и *Lachnospiraceae (Blautia).* Основной их функцией является продукция важных для кишечника органических кислот – ацетата, бутирата, лактата, пирувата. *Blautia* – анаэробы с пробиотическими характеристиками, широко встречающиеся в фекалиях и кишечнике млекопитающих [21]. Семейство *Erysipelotrichaceae* представлено доминирующими родами *Turicibacter, Allobaculum, Holdemanella, Dubosiella, Faecalibaculum, Catenibacterium* и *Erysipelatoclostridium*, важными для метаболизма и гомеостаза кишечника хозяина. Так, например, штаммы бактерии *Turicibacter* способны к разным типам трансформации желчных кислот, влияя на обмен холестерина [22].

Actinobacteriota принадлежали двум классам и семействам *Eggerthellaceae, Atopobiaceae, Bifidobacteriaceae, Dermabacteraceae, Coriobacteriaceae, Intrasporan-*

giaceae, Micrococcaceae. Представители доминирующего семейства *Bifidobacteriaceae* представлены родом *Bifidobacterium*, а *Coriobacteriaceae* – типичными обитателями кишечника, родами *Collinsella, Muricaecibacterium* и *Slackia*.

Протеобактерии составляли 2,7% от общего количества выявленных ОТЕ. У исследуемых животных обнаружены представители порядка *Enterobacterales* (*Escherichia-Shigella*), их присутствие в основном коррелировало с диареей и щенячьим возрастом. Классические обитатели кишечника - *Parasutterella, Sutterella (Burkholderiales*) и другие бактерии встречались спорадически. По данным наших исследований выявлено, что бактерии видов *Sutterella* чаще встречались в микробиоме собак от 2 лет и более, *Parasutterella* - у щенят до года.

Представленность Bacteroides в кишечнике собак иркутского приюта была невысока, нами отмечены представители семейств *Prevotellaceae, Sphingobacteriaceae, Bacteroidaceae, Muribaculaceae, Weeksellaceae, Tannerellaceae* и нового семейства *Bacteroidales_unclassified*, по молекулярно-биологическим данным характерного также для кишечника человека.

Бактерии филы Campylobacterota присутствовали только у щенков и у двух собак с расстройством кишечника (*Campylobacter upsaliensis*). Предположительно, расстройство пищеварения двух взрослых животных связано с нарушениями иммунной системы и оппортунистической инфекцией – кампилобактериозом. В кишечниках щенков найдено небольшое количество последовательностей бактерий *Helicobacter canicola*, которые являются «энтерогепатическими», то есть участвующими в циркуляции желчных кислот.

Использование статистических методов подтвердило значимое изменение микрофлоры кишечника при диарее. Микробиом животных с признаками диареи содержал меньшую долю представителей родов *Faecalibacterium* и *Blautia,* а также бактерий *Peptacetobacter hiranonis* (Таблица 2). Интерпретацию результата индекса дисбиоза следует проводить наряду с уровнями отдельных бактериальных таксонов, особенно *C. hiranonis* (=*Peptacetobacter hiranonis*), поскольку снижение последнего является основным фактором, способствующим аномальному микробиому [12].

Широко распространенная в микро-

Таблица 2 – Различия в представленности бактерий микробиома в группах животных с признаками нормального пищеварения и его отклонениями. Анализ выполнен с помощью парного теста Манна-Уитни, p≤0,05

ОТЕ	Царство;Филум;Класс;Порядок;Род; вид	Норма (n=6), %	Диарея (n=3), %
002	Bacteria; Firmicutes;Bacilli; Lactobacillales; Lactobacillaceae; Lactobacillus; *Lactobacillus johnsonii*	5,0	22,0
008*	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Lachnospirales; Lachnospiraceae;Blautia; *Blautia luti*	7	0,1
015*	Bacteria; Bacillota; Clostridia; Eubacteriales; Peptostreptococcaceae; Peptacetobacter ;*Peptacetobacter hiranonis*	1	0,2
054*	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Oscillospirales;Ruminococcaceae;Faecalibacterium; *Faecalibacterium prausnitzii*	0,18	0,0
024	Bacteria; Firmicutes; Bacilli; Erysipelotrichales; Erysipelotrichaceae; Holdemanella; *Holdemanella hominis*	0,3	0,0
047	Bacteria; Firmicutes; Clostridia; Lachnospirales; Lachnospiraceae; Unclassified	0,2	0,0

**используются для определения дисбиоза кишечника*

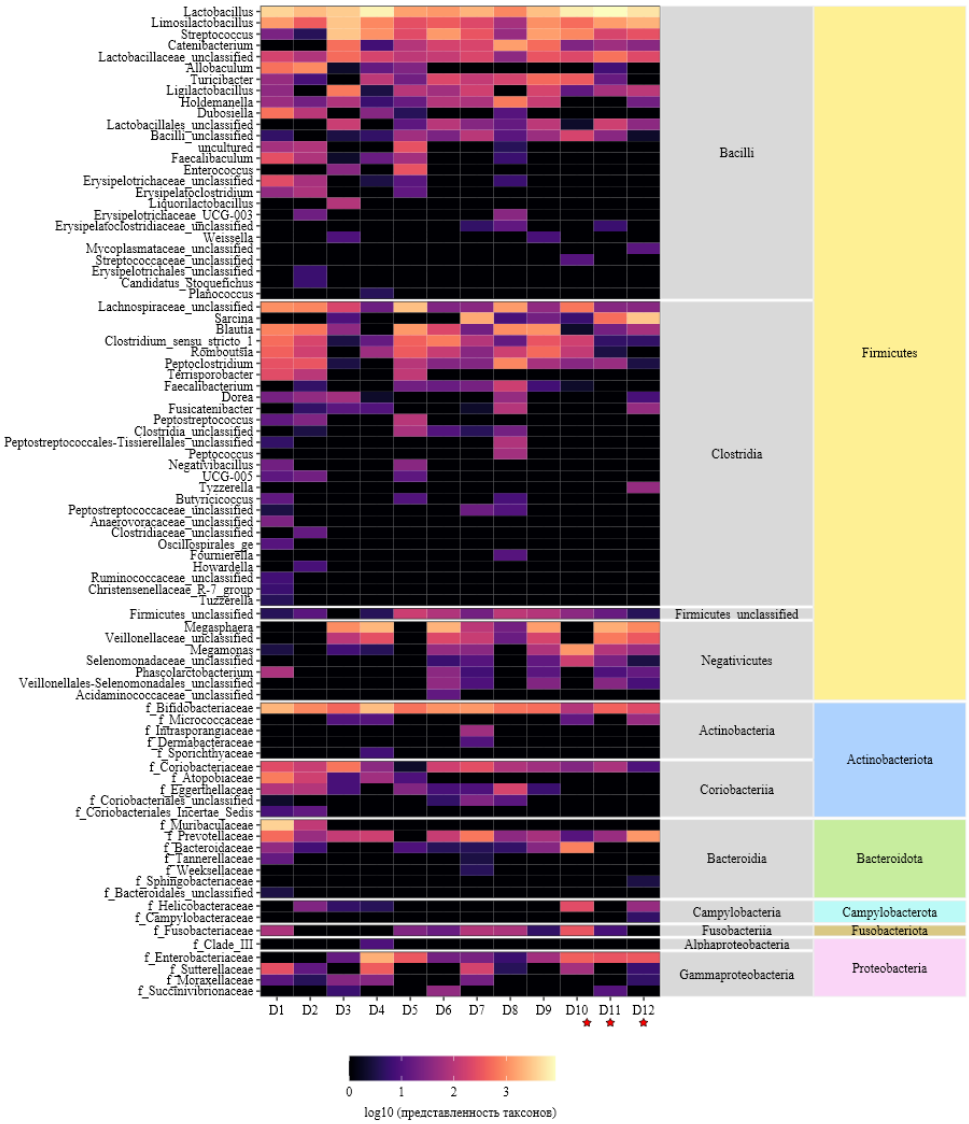


Рисунок 4 – Состав микробиоты кишечника собак на уровне родов и семейств. Звездочками помечены особи с расстройством стула.

биоме кишечника исследуемых собак бактерия *Lactobacillus johnsonii* значительно больше выявлялась у собак с признаками диареи. По-видимому, этот вид самый устойчив к расстройству кишечника, он компенсирует или возникает как ответ на нарушения при дисбиозе. Большое количество исследований показывает, что *L. johnsonii* проявляет следующие полезные способности: противовоспалительные, иммуномодулирующие, баланс кишечной микрофлоры и защита кишечного барьера [23].

Обобщая данные, следует отметить, что в нашем исследовании выявлено значительное количество молочнокислых

бактерий в кишечнике собак, по сравнению с литературными данными [1, 2]. Мы предполагаем, что состав корма Дилли способствует стимуляции роста этой группы бактерий. Известно, что пребиотиком для молочнокислых бактерий является клетчатка, которая присутствует в рационе собак приюта в достаточном количестве. Здесь мы в очередной раз видим подтверждение правил Бейеринка, касающихся экологии микроорганизмов: «Все повсюду, но среда определяет». Исходя из доминирования *Lactobacillales*, возникает и уменьшение характерной, маркерной для кишечника хищников Fusobacteriota. Ранее показано, что добавление кефира в рацион собак значительно редуцировало присутствие Fusobacteriota в микробиоме кишечника [24]. Отечественные исследования подтвердили этот факт, и численность фузобактерий уменьшилась в результате добавления в рацион соответствующей биодобавки, вероятно, содержащей молочнокислые бактерии [15].

Наши результаты, как и анализ литературы, показывают, что состав и функции бактерий кишечной микробиоты исследованных собак может очень варьировать в зависимости от состава корма. По-видимому, кишечная микрофлора этой группы млекопитающих очень пластична и к определению дисбиоза у собак надо подходить очень аккуратно. В нашем исследовании, дисбиоз отличалось более низкими индексами видового разнообразия. Преобладание сложноуглеводоводной диеты сопровождалось доминированием бактерий семейства *Lactobacillaceae* в микробиоме всех особей и нетипично малой представленностью *Fusobacteriaceae*. Таксономическое разнообразие микробиома щенков и собак с диареей было несколько ниже здоровых взрослых животных. Бактерии родов *Blautia*, *Faecalibacterium* и вида *Peptacetobacter hiranonis* у собак с диарей были менее представлены, что согласуется с общепринятым представлением о дисбиозе кишечной микробиоты собак.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Изучение состава кишечника животных в зависимости от физиологических особенностей и питания всегда интересно для клинической практики. Бактерии осуществляют ферментативные процессы, ведущие к производству ценных питательных или сигнальных молекул. Понимая, что текущая политическая ситуация не позволяет отечественной ветеринарии использовать секвенирование нового поколения для животных в должном объеме, мы предлагаем использовать наши данные для последующей разработки и внедрения методик количественной полимеразной цепной реакции на отдельные группы микроорганизмов.

BIOLOGICAL MOLECULAR CHARACTERISTICS OF INTESTINAL MICROBIOCINOSIS OF DOGS ON A MIXED DIET

Loginov S.N.*[1] – postgraduate student, Department of Special Veterinary Disciplines (ORCID: 0000-0002-4220-1009); **Batomunkuev A.S.**[1] – D.Sc. (Veterinary Science), Assoc. Prof., Assoc. Prof., Department of Special Veterinary Disciplines (ORCID: 0000-0002-2263-6355); **Sukhinin A.A.**[2] – D.Sc. (Biol. Science), Prof., Head of the Department of Microbiology, Virology and Immunology (ORCID: 0000-0002-1245-3440); **Krasnopeev A.Yu.**[3] – research associate (ORCID: 0000-0002-3368-4678); **Gorshkova A.S.**[3] – Ph.D. (Biol. Science), research associate. (ORCID: 0000-0003-2408-0837); **Belykh O.I.**[3] – Ph.D. in Biology, Assoc. Prof., Leading Researcher (ORCID: 0000-0002-1188-7351); **Lipko I.A.**[3] – Ph.D. in Biology, Researcher (ORCID: 0000-0002-6214-2974); **Potapov S.A.**[3] –Researcher (ORCID: 0000-0003-1391-6731); **Tikhonova I.V.**[3] – Ph.D. in Biology, Senior Researcher (ORCID: 0000-0002-4323-6799).

[1]Irkutsk State Agrarian University named after A.A. Yezhevsky;

[2]St. Petersburg State University of Veterinary Medicine.

[3]Limnological Institute of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences"

*sergyn21@yandex.ru

ABSTRACT

Metabarcoding research of the domestic animal intestines is relevant for veterinary medicine. The effect of feeding and food additives on its gut microbiome is of both applied and fundamental significance and demonstrates the stimulation of the various groups of bacteria development. The objective of our work is to study the effect of the domestic complete pet feed Dilly on the microbial community of the dogs' intestines in breeding kennel of Irkutsk. The microbiome composition was determined in 12 animals of different ages having used Illumina MiSeq amplicon sequencing of the V3-V4 region of 16S rRNA. Rates diversity had been adapted to evaluate the affluence and prominence of Bacterial operational and taxonomic units and nonparametric Mann-Whitney criteria (correlative test, $p \leq 0,05$) used to evaluate the certainty value of the difference of operational and taxonomic unit percentage in different physiological groups. All in all, 147150 the 16S rRNA gene fragment sequences were obtained. The dominant bacteria turned out to be the phyla Firmicutes, Actinobacteriota, Bacteroidota, and Proteobacteria. The animals that had been under research had almost no Fusobacteriota bacteria - markers of a diet with a predominance of raw meat (predation). The Firmicutes phylum included bacteria from five families. The most numerous families among the Firmicutes were the Lactobacillaceae bacteria. Representatives of seven families were observed among Actinobacteriota bacteria, of which Bifidobacteriaceae predominated. Proteobacteria of the Enterobacterales order and Burkholderiales made up a small proportion of the entire community and depended on the animal age. The research result could be used in perspective to enlarge knowledge about the digestive process in an omnivorous animal of the wolf pack. These animals have a more or less flexible microbiome, which has several variants of normal composition. There predominated lactic acid bacteria in the microbial communities of the dogs' intestines, which consumed feed that contained coarse dietary fibers. In its turn, lactic acid bacteria reduced the number of Fusobacteriota.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1.Pereira A.M. et al. Dogs' microbiome from tip to toe / A.M. Pereira, A. Clemente // Top Companion Anim Med. 2021. 45. P. 100584.

2.Garrigues Q. et al. Gut microbiota development in the growing dog: A dynamic process influenced by maternal, environmental and host factors / Q. Garrigues, E. Apper, S. Chastant, H. Mila // Front. Vet. Sci. 2020. 9. P. 964649. doi: 10.3389/fvets.2022.964649

3.Benno Y. et al. Impact of the advances in age on the gastrointestinal microflora of beagle dogs / Y. Benno, H. Nakao, K. Uchida, T. Mitsuoka // J Vet Med Sci. 1992. 54(4). P. 703. doi: 10.1292/jvms.54.703.

4.Сухинин А.А. Генетическое разнообразие бактерий кишечника крупного рогатого скота, выявленное с помощью высокопроизводитель-ного секвенирования / А.А. Сухинин, А.Ю. Краснопеев, А.С. Горшкова [и др.] // Международный вестник ветеринарии. 2022. № 3. С. 27-36. DOI 10.52419/issn2072-2419.2022.3.27.

5.Suchodolski J. et al. Analysis of bacterial diversity in the canine duo-denum, jejunum, ileum, and colon by comparative 16S rRNA gene analysis / J. Suchodolski, J. Camacho, J.M. Steiner // FEMS Microbiol Ecol. 2008. 66. P. 567. doi: 10.1111/j.1574–6941.2008.00521.x.

6.Middelbos I.S. et al. Phylogenetic Characterization of Fecal Microbi-al Communities of Dogs Fed Diets with or without Supplemental Dietary Fiber Using 454 Pyrosequencing / I.S. Middelbos, B.M. Vester Boler, A. Qu, B.A. White, K.S. Swanson, G.C. Jr Fahey / PLoS ONE. 2010. 5(3). P. 9768. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0009768

7.Lin Ch.-Y. et al. Longitudinal fecal microbiome and metabolite date demonstrate rapid shifts and subsequent stabilization after an abrupt dietary change in healthy adult dogs / Ch.-Y. Lin, J. Aashish, P. Oba // J. Animal Mi-crobiome. 2020. 46(4) DOI: 10.1186/s42523-022-00194-9

8.Suchodolski J. Analysis of the gut microbiome in dogs and cats. Vet Clin Pathol. 2022. 50. P. 6. https://doi.org/10.1111/vcp.13031
9.Vazquez-Baeza E.R. et al. Dog and human inflammatory bowel dis-ease rely on overlapping yet distinct dysbiosis networks / E.R. Vazquez-Baeza, J.S Hyde, Knight R. Suchodolski // Nat Microbiol. 2016. 1. P. 16177
10.Pilla R. et al. The Role of the Canine Gut Microbiome and Metabo-lome in Health and Gastrointestinal Disease / R. Pilla, J.S. Suchodolski // Front. Vet. Sci. 2020. 6. P. 498.
11.Pilla R. et al. The Gut Microbiome of Dogs and Cats, and the Influ-ence of Diet / R. Pilla, J.S. Suchodolski // Veter Clin. N. Am. Small Anim. Pract. 2021. 51. P. 605.
12.Alshawaqfeh M.K. et al. A dysbiosis index to assess microbial changes in fecal samples of dogs with chronic inflammatory enteropathy / M.K. Alshawaqfeh, B. Wajid, Y. Minamoto // FEMS Microbiol Ecol. 2017. 93 (11).
13.Крылова И.О. и др. Индикаторные микроорганизмы-контаминанты кишечного микробиома щенков бельгийской овчарки (ма-линуа) / И.О. Крылова, Ю.Р. Садыкова // Вестник Пермского университе-та. Сер. Биология. 2020. Вып. 4. С. 303-311. DOI: 10.17072/1994-9952-2020-4-303-311.
14.Крылова И.О. и др. Оценка состояния кишечного микробиома служебных собак по индексу колонизационной резистентности / И.О. Кры-лова, Ю.Р. Садыкова // Проблемы медицинской микологии. 2021. Т.23 (2). С. 97.
15.Дуняшев Т.П. и др. Влияние пробиотика профорт® на микро-биом кишечника собак / Т.П. Дуняшев, Т.Н. Ромадина, Д.Г. Тюрина, Л.А. Ильина, Ю.Е. Кузнецов // Ветеринария. 2022. №7. С. 51-54.
16.Callahan B. et al. High-resolution sample inference from Illumina amplicon data / B. Callahan, P. McMurdie, M. Rosen, A.W. Han, A.J.A. John-son, S.P. Holmes // Nat. Methods 2016. 13. P. 581.
17.Quast C. et al. The SILVA ribosomal RNA gene database project: Improved data processing and web-based tools / C. Quast, E. Pruesse, P. Yil-maz, J. Gerken, T. Schweer, P. Yarza, J. Peplies, F.O. Glöckner // Nucleic Ac-ids Res. 2013. 41. P. 590.
18.Schloss, P.D. et al. Introducing mothur: Open-source, platform-independent, community-supported software for describing and comparing mi-crobial communities / P.D. Schloss, S.L. Westcott, T. Ryabin, J.R. Hall, M. Hartmann, E.B. Hollister, R.A. Lesniewski, B.B. Oakley, D.H. Parks, C.J. Robinson // Appl. Environ. Microbiol. 2009. 75. P. 7537.
19.Lyu T. et al. Changes in feeding habits promoted the differentiation of the composition and function of gut microbiotas between domestic dogs (Canis lupus familiaris) and gray wolves (Canis lupus) / T. Lyu, G. Liu, H. Zhang, L. Wang, S. Zhou, H. Dou // AMB Exp. 2018. 8. P. 123. doi: 10.1186/s13568-018-0652-x.
20.Amitay E.L. et al. Fusobacterium and colorectal cancer: causal factor or passenger? Results from a large colorectal cancer screening study / E.L. Amitay, S. Werner, M. Vital // Carcinogenesis. 2017. 38(8). P. 781.
21.Liu X. et al. Blautia – a new functional genus with potential probiotic properties? / X. Liu, B. Mao, J. Gu, J. Wu, S. Cui, G. Wang, J. Zhao, H. Zhang, W. Chen // Gut Microbes. 2021. 13. P. 1. DOI: 10.1080/19490976.2021.1875796
22.Lynch J.B. et al. Gut microbiota Turicibacter strains differentially modify bile acids and host lipids / J.B. Lynch, E.L. Gonzalez, K. Choy // Nat Commun. 2023. 14. P. 3669 https://doi.org/10.1038/s41467-023-39403-7
23.Zhang Z. et al. The effects of Lactobacillus johnsonii on diseases and its potential applications / Z. Zhang, L. Zhao, J. Wu, Y. Pan, G. Zhao, Z. Li, L. Zhang // Microorganisms. 2023. 11. P.2580. https://doi.org/10.3390/microorganisms11102580
24.Kim D.-H. et al. Modulation of the intestinal microbiota of dogs by kefir as a functional dairy product / D.-H. Kim, D. Jeong, I.-B. Kang, H.-W. Lim, Y. Cho, K.-H. Seo // Journal of Dairy Science. 2019. V. 102 (5). P. 3903.

REFERENCES

1.Pereira A.M. et al. Dogs' microbiome from tip to toe / A.M. Pereira, A. Clemente // Top Companion Anim Med. 2021. 45. P. 100584.

2.Garrigues Q. et al. Gut microbiota development in the growing dog: A dynamic process influenced by maternal, environmental and host factors / Q. Garrigues, E. Apper, S. Chastant, H. Mila // Front. Vet. Sci. 2020. 9. P. 964649. doi: 10.3389/fvets.2022.964649

3.Benno Y. et al. Impact of the advances in age on the gastrointestinal microflora of beagle dogs / Y. Benno, H. Nakao, K. Uchida, T. Mitsuoka // J Vet Med Sci. 1992. 54(4). P. 703. doi: 10.1292/jvms.54.703.

4.Sukhinin A.A. Geneticheskoe raznoobrazie bakterij kishechnika krupnogo rogatogo skota, vy`yavlennoe s pomoshh`yu vy`sokoproizvoditel`nogo sekvenirovaniya [Genetic diversity of cattle intesti-nal bacteria revealed using high-throughput sequencing] / A.A. Sukhinin, A.Yu. Krasnopeev, A.S. Gorshkova [et al.] // International Bulletin of Veteri-nary Medicine. 2022. No. 3. P. 27-36. DOI 10.52419/issn2072-2419.2022.3.27.

5.Suchodolski J. et al. Analysis of bacterial diversity in the canine duo-denum, jejunum, ileum, and colon by comparative 16S rRNA gene analysis / J. Suchodolski, J. Camacho, J.M. Steiner // FEMS Microbiol Ecol. 2008. 66. P. 567. doi: 10.1111/j.1574–6941.2008.00521.x.

6.Middelbos I.S. et al. Phylogenetic Characterization of Fecal Microbi-al Communities of Dogs Fed Diets with or without Supplemental Dietary Fiber Using 454 Pyrosequencing / I.S. Middelbos, B.M. Vester Boler, A. Qu, B.A. White, K.S. Swanson, G.C. Jr Fahey / PLoS ONE. 2010. 5(3). P. 9768. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0009768

7.Lin Ch.-Y. et al. Longitudinal fecal microbiome and metabolite date demonstrate rapid shifts and subsequent stabilization after an abrupt dietary change in healthy adult dogs / Ch.-Y. Lin, J. Aashish, P. Oba // J. Animal Mi-crobiome. 2020. 46(4) DOI: 10.1186/s42523-022-00194-9

8.Suchodolski J. Analysis of the gut microbiome in dogs and cats. Vet Clin Pathol. 2022. 50. P. 6. https://doi.org/10.1111/vcp.13031

9.Vazquez-Baeza E.R. et al. Dog and human inflammatory bowel dis-ease rely on overlapping yet distinct dysbiosis networks / E.R. Vazquez-Baeza, J.S Hyde, Knight R. Suchodolski // Nat Microbiol. 2016. 1. P. 16177

10.Pilla R. et al. The Role of the Canine Gut Microbiome and Metabo-lome in Health and Gastrointestinal Disease / R. Pilla, J.S. Suchodolski // Front. Vet. Sci. 2020. 6. P. 498.

11.Pilla R. et al. The Gut Microbiome of Dogs and Cats, and the Influ-ence of Diet / R. Pilla, J.S. Suchodolski // Veter Clin. N. Am. Small Anim. Pract. 2021. 51. P. 605.

12.Alshawaqfeh M.K. et al. A dysbiosis index to assess microbial changes in fecal samples of dogs with chronic inflammatory enteropathy / M.K. Alshawaqfeh, B. Wajid, Y. Minamoto // FEMS Microbiol Ecol. 2017. 93 (11).

13.Krylova I.O. et al. Indikatorny`e mikroorganizmy`-kontaminanty` kishechnogo mikrobioma shhenkov bel`gijskoj ovcharki (malinua) [Indicator microorganisms-contaminants of the intestinal microbiome of Belgian Shep-herd (Malinois) puppies] / I.O. Krylova, Yu.R. Sadykova // Bulletin of Perm University. Series: Biology. 2020. Issue. 4. P. 303-311. DOI: 10.17072/1994-9952-2020-4-303-311.

14.Krylova I.O. et al. Ocenka sostoyaniya kishechnogo mikrobioma slu-zhebny`x sobak po indeksu ko-lonizacionnoj rezistentnosti [Assessment of the state of the intestinal microbiome of service dogs using the colonization re-sistance index] / I.O. Krylova, Yu.R. Sadykova // Problems of Medical Mycol-ogy. 2021. Vol. 23 (2). P. 97.

15.Dunyashev T.P. et al. Vliyanie probiotika profort® na mikrobiom kishechnika sobak [The effect of the probiotic Profort® on the intestinal mi-crobiome of dogs] / T.P. Dunyashev, T.N. Romadina, D.G. Tyurina, L.A. Ilyina, Yu.E. Kuznetsov // Veterinary Science. 2022. No. 7. P. 51-54.

16.Callahan B. et al. High-resolution sample inference from Illumina amplicon data / B. Callahan, P. McMurdie, M. Rosen, A.W.

Han, A.J.A. John-son, S.P. Holmes // Nat. Methods 2016. 13. P. 581.
17.Quast C. et al. The SILVA ribosomal RNA gene database project: Improved data processing and web-based tools / C. Quast, E. Pruesse, P. Yil-maz, J. Gerken, T. Schweer, P. Yarza, J. Peplies, F.O. Glöckner // Nucleic Ac-ids Res. 2013. 41. P. 590.
18.Schloss, P.D. et al. Introducing mothur: Open-source, platform-independent, community-supported software for describing and comparing mi-crobial communities / P.D. Schloss, S.L. Westcott, T. Ryabin, J.R. Hall, M. Hartmann, E.B. Hollister, R.A. Lesniewski, B.B. Oakley, D.H. Parks, C.J. Robinson // Appl. Environ. Microbiol. 2009. 75. P. 7537.
19.Lyu T. et al. Changes in feeding habits promoted the differentiation of the composition and function of gut microbiotas between domestic dogs (Canis lupus familiaris) and gray wolves (Canis lupus) / T. Lyu, G. Liu, H. Zhang, L. Wang, S. Zhou, H. Dou // AMB Exp. 2018. 8. P. 123. doi: 10.1186/s13568-018-0652-x.
20.Amitay E.L. et al. Fusobacterium and colorectal cancer: causal factor or passenger? Results from a large colorectal cancer screening study / E.L. Amitay, S. Werner, M. Vital // Carcinogenesis. 2017. 38(8). P. 781.
21.Liu X. et al. Blautia – a new functional genus with potential probiotic properties? / X. Liu, B. Mao, J. Gu, J. Wu, S. Cui, G. Wang, J. Zhao, H. Zhang, W. Chen // Gut Microbes. 2021. 13. P. 1. DOI: 10.1080/19490976.2021.1875796
22.Lynch J.B. et al. Gut microbiota Turicibacter strains differentially modify bile acids and host lipids / J.B. Lynch, E.L. Gonzalez, K. Choy // Nat Commun. 2023. 14. P. 3669 https://doi.org/10.1038/s41467-023-39403-7
23.Zhang Z. et al. The effects of Lactobacillus johnsonii on diseases and its potential applications / Z. Zhang, L. Zhao, J. Wu, Y. Pan, G. Zhao, Z. Li, L. Zhang // Microorganisms. 2023. 11. P.2580. https://doi.org/10.3390/microorganisms11102580
24.Kim D.-H. et al. Modulation of the intestinal microbiota of dogs by kefir as a functional dairy product / D.-H. Kim, D. Jeong, I.-B. Kang, H.-W. Lim, Y. Cho, K.-H. Seo // Journal of Dairy Science. 2019. V. 102 (5). P. 3903.

ИНВАЗИОННЫЕ БОЛЕЗНИ

УДК: 619:576.895.1(571.65)
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.4.72

ИХТИОПАТОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ РЫБ ОТКРЫТЫХ ВОДОЁМОВ КРАЙНЕГО СЕВЕРО-ВОСТОКА

Витомскова Е.А.[1] – канд. ветеринар. наук, ст. науч. сотр. (ORCID 0000-0003-3161-2475); **Гинтер Е.В.** [*2] – ст. науч. сотр. (ORCID 0000-0002-7716-6370)

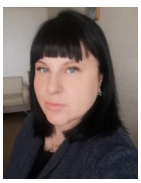
Магаданский научно-исследовательский институт сельского хозяйства
филиал ФГБНУ ФИЦ Всероссийский институт генетических ресурсов растений
имени Н.И. Вавилова

[*]litvinuga@mail.ru

Ключевые слова: *Северное Охотоморье, аэромоноз, плероцеркоиды дифиллоботриид, личинки анизакид, экстенсивность инвазии, интенсивность инвазии.*

Keywords: *Northern Sea of Okhotsk, aeromonosis, diphyllobothriidplerocercoids, anisakid larvae, extent of invasion, intensity of invasion.*

Поступила: 11.11.2024 **Принята к публикации: 02.12.2024**
Опубликована онлайн:16.12.2024



РЕФЕРАТ

В период с 1989 по 2022 годы на базе Магаданского научно-исследовательского института сельского хозяйства выполнялись бактериологические и гельминтологические исследования промысловых морских и проходных лососевых рыб северного Охотоморья с целью определения их заражённости возбудителями болезней, имеющих важное эпизоотологическое и эпидемиологическое значение. Бактериологическими методами исследования установлено, что из крови и паренхиматозных органов горбуши, кеты и кижуча выделена монокультура вирулентных бактерий *Aeromonas hydrophila*. Выделено и идентифицировано 1772 культур микроорганизмов с определением вирулентности аэромонад по степени ДНК-азной активности. При изучении гельминтофауны объектами исследования были 4 вида морских рыб в количестве 3621 экземпляров: сельдь, навага, камбала колючая и корюшка зубатая, у которых зарегистрировано пять возбудителей инвазий *Anisakis simplex*, *Pseudoterranova decipiens*, *Pyramicocephalus phocarum*, *Diphyllobothrium sobolevi*, *Corynosoma strumosum*. Наиболее высокие показатели отмечались у сельди тихоокеанской - 97,4 %, у наваги - 45,3%, корюшки - 40,8%. Установлены особи с сочетанной инвазией: навага *A. simplex*, *P. phocarum*, *C. strumosum*; камбала *A. simplex* (*P. decipiens*), *C. strumosum*; корюшка А. *simplex* (*P. decipiens*), *D. sobolevi*, *C. strumosum*. У 59,8 % наваги обнаружены плероцеркоиды дифиллоботриид *P. phocarum*. Заражённость корюшки плероцеркоидами дифиллоботрии *D. Sobolevi* составила 64,8%. При исследовании камбалы колючей, корюшки зубатой и наваги обнаружены акантеллы скребней *Corynosoma stru-*

mosum, которые располагались на внутренних органах ив полости тела рыб. Общая заражённость этим гельминтом за все годы исследований составила 98,9%, при интенсивности инвазии – 74,0.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Моря Дальневосточного региона России богаты рыбными запасами, рыба самых разнообразных пород вылавливается круглогодично. Рыбная отрасль народного хозяйства играет важную роль в обеспечении продовольственной безопасности в период санкций и импортозамещения. Это в полной мере относится к субъектам Российской Федерации в административных границах Крайнего Северо-Востока.

Наиболее опасными среди инфекционных болезней рыб считается аэромоноз лососёвых, который причиняет большой ущерб при искусственном рыборазведении [1, 3, 4, 5, 8, 15].

Практически все виды морских и проходных рыб подвержены воздействию гельминтов, среди которых особое значение занимают те, которые опасны для здоровья человека и животных [1,2,12,13,14]. Своевременный паразитологический контроль, правильное определение выявленных у рыб патогенов и вызванных ими поражений позволяют не только избежать необоснованных опасений по поводу качества рыбы, но и обратить внимание на такую заражённость, которая может стать причиной браковки рыбного сырья или приготовленной из него продукции [6].

Из вышеизложенного следует, что вопрос недопущения возбудителей заболеваний различной этиологии на рыбоводные предприятия, а также обеспечение качества и безопасности рыбной продукции для здоровья человека по показателям паразитарной чистоты имеет определенную новизну и несомненную актуальность. Цель работы заключалась в проведении ихтиопаразитологических исследований, включая анализ заражённости рыб северного Охотоморья возбудителями болезней, имеющих важное эпизоотологическое и эпидемиологическое значение.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Материал собран за период с 1989 по 2022 гг. во время экспедиций на водоёмы Ольского (рис. 1), Северо-Эвенского районов Магаданской области и на четыре рыбоводные предприятия.

Структура ихтиопатологических исследований, выполнявшихся по двум направлениям, представлена на рисунке 2.

В результате бактериологических исследований выделено и идентифицировано 1772 культур микроорганизмов, вирулентность аэромонад определялась по степени ДНКазной активности [7,16].

Рисунок 1 – Река Ола – нерестилище для проходных тихоокеанских лососёвых рыб Магаданской области.

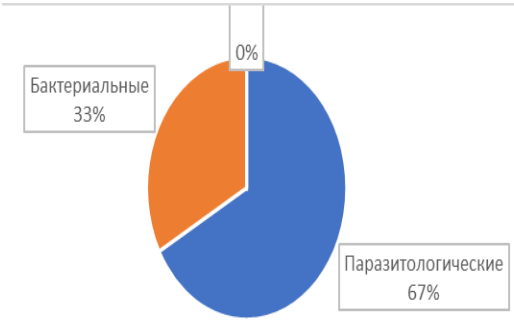


Рисунок 2 – Структура ихтиопатологических исследований в эксперименте.

При изучении гельминтофауны объектами исследования были 4 вида морских рыб в количестве 4431 экземпляров: сельдь, навага, камбала колючая и корюшка зубатая. При определении видовой принадлежности личинок гельминтов за основы взяты морфометрические характеристики паразитов [10].

При анализе и оценке заражённости рыб использовали показатели: экстенсивности инвазии (ЭИ) и интенсивности инвазии (ИИ). Методом неполного гельминтологического вскрытия [6,9] исследовано 3621 экземпляров рыб. Исходные данные обработаны методами математической статистики [11].

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Рыба для исследования вылавливалась в период ее нерестовой (анадромной) миграции с июля по октябрь включительно. Температура воды в бассейнах водоемов составила в среднем 10°С. Перед бактериологическим посевом рыбу осматривали на наличие клинических признаков. Результаты клинического осмотра производителей лососевых в разные промысловые сезоны представлены в таблице 1.

В результате клинического осмотра половозрелых особей кеты, горбуши и кижуча выявлены малоподвижные особи с покрасневшими участками на теле, кровоизлияниями в области брюшка и у основания брюшных плавников, эрозиями и воспалением вокруг рта, вздутием живота, геморрагиями и некрозом плавников, пучеглазием, ерошением чешуи и множественными гнойниками на поверхности кожи (преимущественно ниже средней линии тела рыбы).

При патологоанатомическом вскрытии обнаружили размягчение почки, увеличение селезенки, некроз и кровоизлияния в мышцах, кишечнике, асцит брюшной полости. Бактериологическому исследованию было подвергнуто 274 экземпляров с явными клиническими признаками болезни.

Бактериологические посевы выполняли из крови, внутренних органов и не вскрывшихся абсцессов на чашки Петри со средой МПА. Посевы выдерживали при температуре 18-25°С в течение 24-48 часов. Бактериологическими методами исследования установлено, что из крови и паренхиматозных органов горбуши, кеты и кижуча выделена монокультура вирулентных бактерий *Aeromonas hydrophila*.

Вирулентность выделенных аэромонад определяли по степени ДНК-азной активности. Метод определения патогенности аэромонад путем исследования активности бактериальных ферментов позволяет судить о потенциальной способности бактерий вызывать патологический процесс. ДНК-азная активность наиболее часто коррелируется со способностью вызывать патологический процесс в биопробе [7]. У всех исследованных особей горбуши, кеты и кижуча культура бактерий *A.hydrophila*, выделенная из крови и внутренних органов, оказалась вирулентной и высоковирулентной.

Установлено, что в северном Охотоморье за время проведения ихтиопатологических исследований у 4-х видов морских рыб (сельдь, навага, камбала колючая и корюшка зубатая) зарегистрировано пять возбудителей инвазий *Anisakis simplex*, *Pseudoterranova decipiens*, *Pyramicocephalus phocarum*, *Diphyllobothrium sobolevi*, *Corynosoma strumosum*.

Заражённость исследуемых видов рыб личинками *A. simplex* и *P.decipiens* за все годы промысла достигает высоких значений (таблица 2).

Таблица 1 – Результаты клинического осмотра производителей проходных тихоокеанских лососёвых рыб в период анадромной миграции в 1994-2022 гг.

Кета			Кижуч			Горбуша		
Осмотрено, экз.	Обнаружено с признаками болезни		Осмотрено, экз.	Обнаружено с признаками болезни		Осмотрено, экз.	Обнаружено с признаками болезни	
	особей, экз	%, M±m		особей, экз	%, M±m		особей, экз	%, M±m
1994 год								
100	15	15,0	-	-	-	-	-	-
1995 год								
100	15	15,0	-	-	-	-	-	-
74	23	31,0	-	-	-	-	-	-
340	230	67,6	-	-	-	-	-	-
1996 год								
158	97	61,4	100	38	38,0	-	-	-
115	23	20,0	-	-	-	-	-	-
25	18	72,0	-	-	-	-	-	-
50	10	20,0	-	-	-	-	-	-
100	15	15,0	-	-	-	-	-	-
1997 год								
250	174	69,6	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	124	45	36,3
25	22	88,0	-	-	-	-	-	-
50	10	20,0	-	-	-	-	-	-
1998 год								
15	15	100,0	-	-	-	-	-	-
2001 год								
-	-	-	-	-	-	128	32	25,02
126	85	67,5	115	31	26,9	-	-	-
105	87	82,9	-	-	-	-	-	-
2002 год								
100	15	15,0	-	-	-	95	25	27,2
125	18	14,4	-	-	-	-	-	-
121	25	20,6	-	-	-	-	-	-
124	10	12,4	-	-	-	-	-	-
2021 год								
25	8	32,0	-	-	-	55	13	23,6
2022 год								
25	5	32,0	-	-	-	34	6	17,6
22	7	31,8	-	-	-	78	18	23,0
Итого:								
2175	927	44,0	215	69	32,0	514	139	27,0

Таблица 2 – Заражённость промысловых видов рыб личинками рода Anisakis

Наименование рыбы	Исследовано экз.	Заражено		ИИ*	Всего личинок	В том числе		
		экз.	%	лимиты (среднее) M±m		в полости тела, %	на внутренних органах, %	мышцы, %
Сельдь (*Clupeapallasii* Valenciennes)	2045	1992	97,4	1-49(5,0)±1,84	9978	36,0	64,0	-
Навага (*Eleginus gracilis*)	497	225	45,3	1-34(7,0)±2,77	1748	24,0	76,0	-
Камбала колючая (*Acanthopsetta nadeshnyi*)	678	450	66,4	1-24(4,0)±1,14	1868	55,0	34,0	11,0
Корюшка зубатая (*Osmerusmordaxdentex*)	355	145	40,8	1-5(1,7)±0,24	249	19,2	26,1	54,7
Итого:	3585							

*Примечание: *ИИ (интенсивность инвазии) – количество личинок, зарегистрированных в одной заражённой рыбе.*

Наиболее высокие показатели отмечаются у сельди тихоокеанской: 97,4 %, при интенсивности инвазии – 1-49(5,0); у наваги и корюшки: на одном уровне 45,3 (1-34 (7,0) и 40,8 (1-5(1,7) соответственно. У камбалы эти же показатели в среднем оказались незначительно выше - 66,4 (1-24(4,0).

Показатели интенсивности инвазии (ИИ) личинками анизакид разнятся у рыб внутри вида. Так, разница между средними показателями ИИ сельди в 2021 году (5,0±1,41) достоверно ниже (P<0,001) среднего значения показателя (12,5±2,96) в 1990 году; ИИ наваги в 2021 году (7,0±1,17) была достоверно выше (P<0,001) среднего значения (1,7±0,15) 1995 года; ИИ корюшки зубатой в 2021 году (2,0±0,54) достоверно ниже (P<0,001) среднего значения (7,2±1,30) 1990 года.

У камбалы заражённость сочетанной инвазией *A. simplex*(*P.decipiens*), варьировала от 52,9% до 86,7%; и лишь в 1997 году показатель опустился до минимального значения – 9,6%. У корюшки аналогичная микстинвазия составила – 24,0% - 51,4% (1990,1996 гг.); и лишь в 2021 году её максимальное значение обозначилось 72,0 %.

Установлены особи с сочетанной инвазией: навага *A. simplex*, *P.phocarum*, *C.strumosum*; камбала *A.simplex* (*P.decipiens*), *C.strumosum*; корюшка *A.simplex*(*P.decipiens*), *D.sobolevi*, *C.strumosum*. И только у сельди тихоокеанской обнаружен один вид гельминтов – *Anisakis simplex*.

У сельди тихоокеанской личинки анизакид располагаются исключительно в полости тела и на внутренних органах в тонкостенных капсулах (рисунок 3). У камбалы и корюшки личинки проникают в брюшные мышцы и мышцы спины и заражённость ими колеблется от 11,0% до 54,7% соответственно. У камбалы личинки *A. simplex*, обнаруженные на внутренних органах (печени, молоках, икре, пилорических придатках, селезёнке, брыжейке кишечника), были в тонкостенных капсулах, а в полости тела и в брюшных мышцах – в свободном состоянии без капсул. Личинки *P.decipiens* располагались в мышцах спины в хорошо выраженных капсулах, но наибольшее их количество (примерно 1/3) зарегистрировано в полости тела в бескапсульном состоянии.

Анализ динамики заражённости вышеуказанных видов рыб личинками анизакид не выявил существенных особенностей и закономерностей. Однако, экстенсивность инвазии сельди на протяжении

длительного временного периода (1992 – 2022 гг.) определилась и составила 100,0% (рисунок 4). Значения показателей заражённости наваги и камбалы варьировали по годам исследований от 33,3% до 68,0%, и только в 1999 году составили 80,0%. Вызывает интерес тот факт, что экстенсивность инвазии корюшки зубатой во все годы исследований была примерно на одном уровне: 1990 год – 24,0%, 1992 год – 40,0%, 1995 год – 40,0%, 1996 год – 51,4%, 1997 год – 31,2%, 1998 год – 36,0%, 1999 год – 33,3% и только в 2021 году значительно превысила аналогичные показатели и составила 72,0%.

За анализируемый период у 59,8 % исследованных особей наваги обнаружены плероцеркоиды дифиллоботриид *P. phocarum*. Интенсивность инвазии варьировала от 1 до 25 (в среднем 7,1). Гельминты локализовались в полости тела рыбы и на внутренних органах без капсул. Мышцы наваги остались свободными от плероцеркоидов.

Показатели заражённости корюшки плероцеркоидами дифиллоботрии *D. sobolevi*, по сравнению с навагой, оказались незначительно выше - 64,8% (таблица 3).

Рисунок 3 – Личинки Anisakissimplexв полости тела сельди тихоокеанской Clupeapallasii.

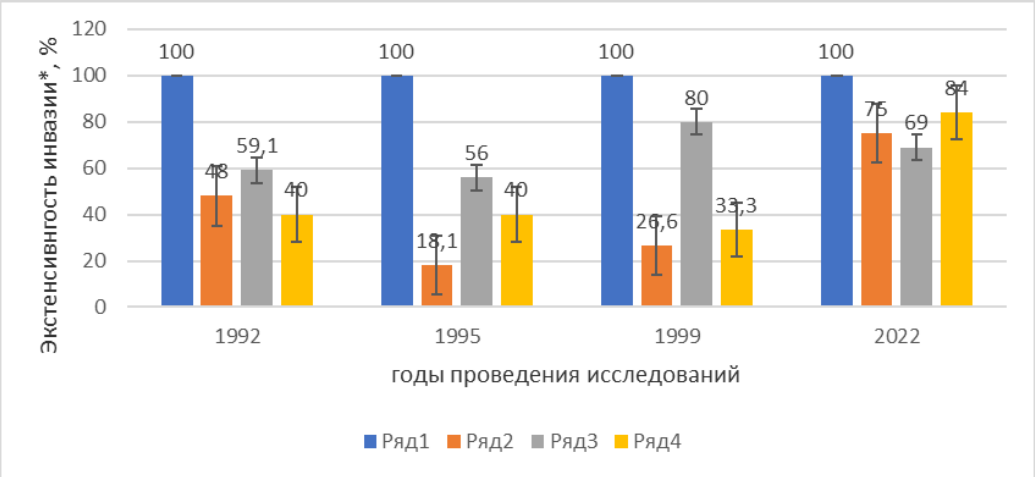


Рисунок 4 – Динамика зараженности рыб личинками анизакид.
*Примечание: *ЭИ (экстенсивность инвазии) – степень заражённости рыб в процентах.*

Таблица 3 – Заражённость корюшки и наваги плероцеркоидами родов Diphyllobothrium и Pyramicocephalus

Наименование рыбы	Исследовано экз.	Заражено		ИИ*	Всего личинок	В том числе		
		экз.	%	лимиты (среднее) M±m		в полости тела, %	на внутренних органах, %	мышцы, %
Pyramicocephalusphocarum								
Навага (*Eleginus gracilis*)	533	317	59,8	1-25(7,1)±2,7	2269	36,2	63,8	-
Diphyllobothriumsobolevi								
Корюшка зубатая (*Osmerusmordaxdentex*)	313	203	64,8	1-12(4,9)±1,36	990	15,1	84,9	-
Итого:	846							

*Примечание: *ИИ (интенсивность инвазии) – количество личинок, зарегистрированных в одной заражённой рыбе.*

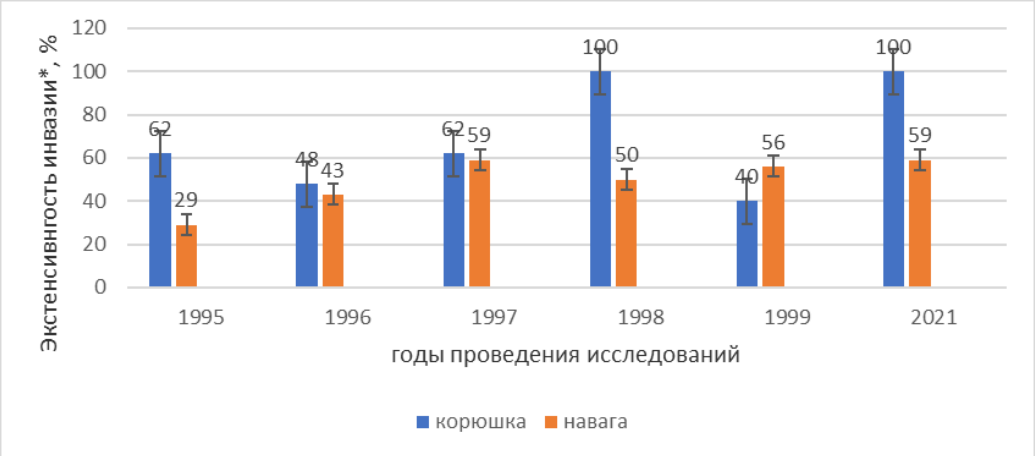


Рисунок 5 – Динамика зараженности рыб плероцеркоидами дифиллоботриид.

Плероцеркоиды располагались в полости тела и на внутренних органах корюшки зубатой исключительно в инкапсулированном состоянии. Ни у одной из вскрытых корюшек мы не обнаружили плероцеркоидов лентеца *D. sobolevi* в мышцах тела. Необходимо отметить, что нами впервые обнаружены плероцеркоиды *D. sobolevi*у зубастой корюшки североохотских популяций.

Разница между средними показателями ИИ корюшки зубатой *D. sobolevi*, в 2021 году (5,3±1,38) была достоверно выше ($P<0,05$) среднего значения (1,5±0,17) в 1998 году; ИИ наваги *P. phocarum* в 1990 году (1,4±0,16) достоверно ниже ($P < 0,001$) среднего значения (10,1±2,02) 2021 года.

Динамика экстенсивности инвазии плероцеркоидами дифиллоботриид корюшки и наваги за анализируемый период времени оказалась без существенных колебаний, за исключением 2021 года, когда отметилось одновременное повышение показателей у обоих видов рыб (100,0 % и 59,0%) (рисунок 5).

При исследовании камбалы колючей, корюшки зубатой и наваги обнаружены акантеллы скребней *Corynosoma strumosum,* которые располагались на внутренних органах и в полости тела рыб. Общая заражённость этим гельминтом за все годы исследований составила 98,9%, при ИИ=74,0.

Проходные лососёвые рыбы инвазированы личинками цестоды *Nybelinia surminicola,* располагающимися в мускулатуре глотки, стенках пищеварительного тракта исключительно в инкапсулированном состоянии. При паразитологическом исследовании горбуши и кеты в период с 1990 по 2002 годы общая заражённость составила 16,0%, при ИИ=1-4(1,6) на одну инвазированную особь. Наибольшие показатели были отмечены в 1990 году у кеты р. Ланковая (ЭИ=40,0%, при ИИ=2-4 (3,0) и в 1996 году у кеты р. Тахтояма (ЭИ=31,8%, при ИИ=1-2(1,1).

Горбуша и кета проходные поражаются личиночной стадией цестоды *Triaenophorus crassus*. При вскрытии мускулатуры вышеуказанных рыб обнаружены инцистированные плероцеркоиды, располагающиеся в мышцах спины. За весь период проведения исследований общая заражённость составила 7,5%, при ИИ=1-3(1,5) на одну инвазированную особь. Самые высокие показатели отмечались у горбуши в 1995 году (ЭИ=10,0, при ИИ=1,0) и у кеты в 2002 году (ЭИ=10,0, при ИИ=3,0).

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

При проведении бактериологических исследований у кеты, горбуши, кижуча в период анадромной миграции из внутренних органов, асцитической жидкости, язв выделена культура вирулентных бактерий *Aeromonas hydrophila*.

У сельди, наваги, камбалы колючей и корюшки зубатой обнаружено пять видов гельминтов потенциально опасных для человека: *Anisakis simplex*, *P.decipiens*, *P.phocarum*, *D.sobolevi*, *C.strumosum*. У всех видов рыб отмечается высокая степень инвазии: сельдь - 91,2%, навага – 55,2 %, камбала – 60 %, корюшка – 58,4%. Наиболее опасными для здоровья человека оказались камбала колючая и корюшка зубатая, так как гельминты локализуются в толще мышц.

Все водоёмы, где проводился отбор образцов для ихтиопатологического исследования, признаны неблагополучными по аэромонозу и гельминтозным инвазиям. Для снижения риска передачи инфекций и инвазий через морских и проходных лососёвых рыб необходимо соблюдать ветеринарно-санитарные правила и ветеринарно-санитарную экспертизу рыбы и рыбных продуктов при её вылове, переработке и реализации.

ICHTHYOPATHOLOGICAL STUDIES OF FISH IN OPEN RESERVOIRS OF THE FAR NORTHEAST

Vitomskova E.A.[1] – scientific researcher, candidate of veterinary sciences, (ORCID 0000-0003-3161-2475); **Ginter E.V.** [2*] – scientific researcher (ORCID 0000-0002-7716-6370)

[1]Magadan Scientific Research Institute of Agriculture - a branch of the Federal State

[2]Budgetary Scientific Institution FITZ All-Russian Institute of Plant Genetic Resources named after N.I. Vavilov

[*]litvinuga@mail.ru

ABSTRACT

In the period from 1989 to 2022, bacteriological and helminthological studies of commercial marine and passing salmon fish of the northern Okhotsk Sea were carried out on the basis of the Magadan Scientific Research Institute of Agriculture in order to determine their infection with pathogens of important epizootological and epidemiological significance. Bacteriological research methods have established that a monoculture of virulent bacteria Aeromonas hydrophila has been isolated from the blood and parenchymal organs of pink salmon, chum salmon and coho salmon. 1772 cultures of microorganisms were isolated and identified with the determination of the virulence of aeromonads by the degree of DNA activity.When studying the helminthofauna, the objects of research were 4 species of marine fish in the amount of 3,621 specimens: herring, navaga,

spiny flounder and toothed smelt, in which five pathogens of invasions Anisakis simplex, Pseudoterranova decipiens, Pyramicocephalus phocarum, Diphyllobothrium sobolevi, Corynosoma strumosum were registered.The highest rates were observed in Pacific herring - 97.4%, in navaga - 45.3%, smelt - 40.8%. Individuals with combined invasion have been identified: navaga A. simplex, P. phocarum, C. strumosum; flounder A. simplex (P. decipiens), C. strumosum; smelt A.simplex (P. decipiens), D. sobolevi, C. strumosum. In 59.8% of the navaga, plerocercoids of the diphyllobothriid P. phocarum were found. The infection of smelt with diphyllobothria D. sobolevi plerocercoids was 64.8%.During the study of spiny flounder, toothed smelt and navaga, acanthellae of the scraper Corynosoma strumosum were found, which were located on the internal organs and in the body cavity of fish. The total infection rate with this helminth over all the years of research was 98.9%, with an invasion intensity of 74.0.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1.Васильев Г.В., Грищенко Л.И.., Енгашев В.Г. и др. Болезни рыб: Справочник под ред. В.С. Осетрова. – 2-е изд., перераб. и доп. – М.: Агропромиздат, 1989. – 288 с.

2.Витомскова А.Е. Гельминты промысловых рыб северного Приохотья, опасные для человека и животных. Автореф. канд. дис. М., 2000: С.7-11.

3.Грищенко Л.И., Акбаев М.Ш., Васильков Г.В. Болезни рыб и основ рыбоводства. – М.: Колос.1999. – 456 с.

4.Грищенко Л.И., Рудиков Н.И. Проблемы патологии и иммунитета при инфекционных болезнях рыб. – Итоги науки и техники, ВИНИТИ. Ихтиология, 1985,1,С.191.

5.Лабораторные исследования в ветеринарии: Вирусные, грибковые, бактериальные и паразитарные болезни рыб: Справочник/ Под ред. В.А. Седова. – М., 1997. С. 63-84.

6.Методика паразитологического инспектирования морской рыбы и рыбной продукции: (Мор. рыба-сырец, рыба охлажд. и мороженая). Москва: ВНИРО, 1989. 39 с.

7.Методические указания по определению патогенности аэромонад по степени ДНК-азной активности. – Сб. инструкций по борьбе с болезнями рыб, 1998. Ч.1, с.150-151.

8.Методические указания по санитарно-бактериологической оценкерыбохозяйственных водоёмов. – Сб. инструкций по борьбе с болезнями рыб, 1999. Ч.2, с. 161-177.

9.МУК 3.2.3804-22. Методы санитарно-паразитологической экспертизы рыбы, моллюсков, ракообразных, земноводных, пресмыкающихся и продуктов их переработки: Методические указания. Москва. Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. 2023. 83 с.

10.Мусселиус В.А., Ванятинский В.Ф., Вихман А.А. Лабораторный практикум по болезням рыб.-М.:Лёгкая и пищевая промышленность, 1983. – 296 с.

11.ПесенкоЮ.А. Принципы и методы количественного анализа в фаунистических исследованиях. Москва: Наука, 1982. 287 с.

12.Поспехов В.В. Гельминтофауна нерестовой тихоокеанской сельди Clupeapallasiiтауйской популяции (Тауйская губа, Охотское море) // Известия ТИНРО. 2021. Т. 201, № 3. С. 662–668. DOI: 10.26428/1606-9919-2021-201-662-668.

13.Сердюков А.М. Дифиллоботриидыы Западной Сибири. – Новосибирск: Наука, 1979. 120 с.

14.Сердюков А.М. Проблема анизакидоза//Мед. паразитол. – 1993. -№2. – С.50-54.

15.Сердюков А.М. Эпизоотологическое состояние болезней лососёвых рыб рода Oncorhynchus северной части Охотского моря/ А.М. Сердюков, Е.А. Витомскова, Е.А. Зайкова, Г.Р. Исламгалеева// Сельское хозяйство Севера на рубеже тысячелетий/под ред. Н.Г. Михайлова [и др.]. – Магадан, 2004 – С. 242-247.

16.Сидоров М.А. Определитель зоопатогенных микроорганизмов. – М.: Колос, 1995. – 319 с.

REFERENCES

1. Vasiliev G.V., Grishchenko L.I., Engashev V.G. et al. Diseases of fish: A handbook edited by V.S. Sturgeon. – 2nd ed., reprint. and additional – M.: Agropromizdat, 1989. – 288 p.
2. Vitomskova A.E. Helminths of commercial fish of the northern Hunting region, dangerous to humans and animals. Abstract. cand. dis. M., 2000: pp.7-11.
3. Grishchenko L.I., AkbaevM.Sh., Vasilkov G.V. Diseases of fish and the basics of fish farming. – M.: Kolos.1999. – 456 p.
4. Grishchenko L.I., Rudikov N.I. Problems of pathology and immunity in infectious diseases of fish. – Results of science and technology, VINITI. Ichthyology, 1985.1,p. 191.5.
5. Laboratory studies in veterinary medicine: Viral, fungal, bacterial and parasitic diseases of fish: Handbook/ Edited by V.A. Sedov. – M., 1997. pp. 63-84.
6. Methods of parasitological inspection of marine fish and fish products: (Marine raw fish, chilled fish. and ice cream). Moscow: VNIRO, 1989. 39 p .
7. Methodological guidelines for determining the pathogenicity of aeromonads by the degree of DNA activity. – Collection of instructions on combating fish diseases, 1998. Part 1, pp.150-151.
8. Methodological guidelines for sanitary and bacteriological assessment of fishery reservoirs. - Collection of instructions on combating fish diseases, 1999. Part 2, pp. 161-177.
9. MUK 3.2.3804-22. Methods of sanitary and parasitological examination of fish, shellfish, crustaceans, amphibians, reptiles and products of their processing: Methodological guidelines. Moscow. Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Welfare. 2023. 83 p.
10. Musselius V.A., Vanyatinsky V.F., Vikhman A.A. Laboratory workshop on fish diseases.-M.: Light and food industry, 1983. – 296 p.
11. PesenkoYu.A. Principles and methods of quantitative analysis in faunal studies. Moscow: Nauka, 1982. 287 p.
12. Pospekhov V.V. Helminthofauna of the spawning Pacific herring Clupeapallasii of the Taui population (Taui Bay, Sea of Okhotsk) // Izvestiya TINRO. 2021. Vol. 201, No. 3. pp. 662-668. DOI: 10.26428/1606-9919-2021-201-662-668.
13. Serdyukov A.M. Diphyllobothriids of Western Siberia. Novosibirsk: Nauka, 1979. 120 p.
14. Serdyukov A.M. The problem of anisakidosis//Med. parasitol. – 1993. -No.2. – pp.50-54.
15. Serdyukov A.M. Epizootological state of diseases of salmon fish of the genus Oncorhynchus in the northern part of the Sea of Okhotsk/ A.M. Serdyukov, E.A. Vitomskova, E.A. Zaikova, G.R. Islamgaleeva// Agriculture of the North at the turn of the millennium/edited by N.G. Mikhailov [et al.]. – Magadan, 2004 – pp. 242-247.
16. Sidorov M.A. Determinant of zoopathogenic microorganisms. – M.: Kolos, 1995. – 319 p.

ФАРМАКОЛОГИЯ, ТОКСИКОЛОГИЯ, ФАРМАЦИЯ

УДК: 619: 615.37
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.4.82

ВЛИЯНИЕ БИФЕРОНА-Б И ЭНРОФЛОКСА-ВЕТФЕРОНА-Б НА МИКРОБИОТУ МАТОЧНО-ВАГИНАЛЬНЫХ ВЫДЕЛЕНИЙ КОРОВ, БОЛЬНЫХ ЭНДОМЕТРИТОМ

Сыромятников М.Ю. [1,2*] – канд. биол. наук, доц., вед. науч. сотр. (ORCID ID 0000-0001-9028-0613); **Гладких М.И.** [1] – мл. науч. сотр. (ORCID ID 0000-0003-1173-1565); **Морозова П.Д.** [1] – мл. науч. сотр. (ORCID ID 0009-0000-0075-9170); **Буракова И.Ю.** [1] – мл. науч. сотр. (ORCID ID 0000-0002-5881-0845); **Михалев В.И.** [2] – д-р ветеринар. наук, гл. науч. сотр. (ORCID ID 0000-0001-9684-4045).

[1]ФГБОУВО «Воронежский государственный университет инженерных технологий»
[2]ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии»

[*] mihan.vrn@mail.ru

Ключеые слова: *эндометрит, «Биферон-Б», «Энрофлоксаветферон-Б», коровы, маточно-вагинальные выделения, микробиота, терапия*

Key words: *endometrit, «Biferon-B», «Enrofloxavalentferon-B», cows, utero-vaginal discharge, microbiota, therapy*

Финансирование: *Исследование выполнено в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (проект FZGW-2024-0003).*

Поступила:11.11.2024 **Принята к публикации: 02.12.2024**
Опубликована онлайн:16.12.2024

РЕФЕРАТ

Эндометрит является одним из самых часто выявляемых заболеваний крупного рогатого скота, который связан с нарушениями микробного баланса полости матки. Данный патологический процесс приводит к нарушениям фертильности животных, а, следовательно, к экономическому ущербу молочной промышленности. В связи с этим важно своевременно проводить профилактические мероприятия и иметь эффективные лекарственные средства для терапии послеродового эндометрита. Целью данного исследования явилась оценка влияния препаратов на основе бычьего рекомбинантного интерферона «Биферон-Б» и «Энрофлоксаветферон-Б» на таксономический состав бактерий маточно-вагинальных выделений больных острым послеродовым гнойно-катаральным эндометритом коров методом высокопроизводительного секвенирования. В ходе работы установлено, что доминирующими видами в полости матки больных эндометритом коров были *Porphy-*

romonas levii, *Bacteroides heparinolyticus* и *Fusobacterium necrophorum*. В маточно-вагинальных выделениях выявлены бактериальные таксоны, способные вызывать различные заболевания крупного рогатого скота. Выявлено, что терапия коров с применением препарата «Биферон-Б» через сутки привела к тенденции роста численности *Caviibacter abscessus, Mycoplasmopsis californica* и *Histophilus somni*. Выявлены статистически достоверные различия численности *Porphyromonas* SGB1983 до терапии (0,9%) и после терапии «Энрофлоксаветферона-Б» в течение первых суток (9,6%) ($p<0,05$). Исследование микробного разнообразия маточно-вагинальных выделений коров при терапии «Энрофлоксаветфероном-Б» на седьмой день установило тенденцию снижения относительной обильности бактерий *Bacteroides heparinolyticus, Trueperella pyogenes* и *Mycoplasmopsis californica*. Полученные данные расширяют представления об этиологии острого послеродового гнойно-катарального эндометрита коров и влиянии препаратов на основе видоспецифичных интерферонов на течение данного заболевания.

ВВЕДЕНИЕ/ INTRODUCTION

Одним из самых распространенных заболеваний крупного рогатого скота, которое негативно влияет на репродуктивный потенциал поголовья, является эндометрит. Данная патология проявляется снижением фертильности животных, ростом количества абортов, приводит к сокращению надоев, а, следовательно, и к экономическому упадку сельскохозяйственных предприятий [1,2]. Физиологический аспект развития эндометрита может быть объяснен открытой шейкой матки у коров в первые дни после отёла, в которую попадают микроорганизмы из мочеполовой системы и окружающей среды [3,4]. Такая инородная микрофлора индуцирует развитие воспалительных процессов в матке, которые со временем могут перерастать в хронические, и становится причиной развития длительного бесплодия [5].

Нарушения микробного баланса в сторону доминирования представителей Bacteroides, Fusobacterium, Trueperella и Porphyromonas приводит к развитию инфекций матки [6]. Установлено, что в микрофлоре здоровых коров в послеродовой период доминирующими бактериями являются *Lactobacillus sakei* и *Weissella koreensis*, в то время как у больных эндометритом коров эти бактерии не выявляются [7]. При этом было отмечено, что активный рост *Corynebacterium pyogenes* часто ассоциирован с развитием патологических процессов в матке, которые проявляются разрастанием клеток эндометрия [8].

Главным инструментом терапии и профилактики послеродового эндометрита служат противомикробные препараты, спектр действия которых нацелен на подавление роста патогенной микрофлоры в полости матки [9,10]. Так, тетрациклин активно используется для подавления смешанных бактериальных сообществ в первые дни после отела, когда отсутствуют симптомы заболевания. Антибиотики пенициллиновой группы применяют в случае системных проявлениях эндометрита [8]. Однако активное внедрение противомикробных препаратов может стать причиной появления антибиотикорезистентности, что оказывает отрицательное воздействие на ведение молочного хозяйства [11].

Безопасной альтернативой для лечения эндометрита коров является использование лекарственных средств на основе бычьего рекомбинантного интерферона. Такие препараты представляют собой совокупность гамма- и альфа- интерферонов, оказывающую стимулирующий эффект на иммунную систему коровы [12].

Целью работы явилась оценка влияния препаратов на основе бычьего рекомбинантного интерферона «Биферон-Б» и «Энрофлоксаветферон-Б» на таксономический состав бактерий маточно-вагинальных выделений больных острым послеродовым гнойно-катаральным эндометритом коров методом высокопроизводительного секвенирования.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Объектом для исследования служили

коровы, больные острым послеродовым гнойно-катаральным эндометритом. Диагноз на острый послеродовый эндометрит ставили по результатам клинических, трансректальных и ультразвуковых исследований коров через 8-12 дней после отёла. Терапию осуществляли двумя препаратами на основе бычьего рекомбинантного интерферона – «Биферон-Б» и «Энрофлоксаветферон-Б». Животных разделили на две группы (n=10), которым внутримышечно инъецировали препарат «Энрофлоксаветферон-Б» либо «Биферон -Б» в дозе 20 мл с интервалом 24 часа в течение 5 дней. На первые и седьмые сутки отбирали маточно-вагинальные выделения для дальнейших молекулярно-генетических исследований.

Выделение ДНК проводили с помощью набора HiPure DNA Micro Kit (Magen, Гуанчжоу, Китай). Секвенирование проводилось на платформе MGI DNBSEQ-G50 с моделью проточной ячейки для секвенирования DNBSEQ-G50RS: FCL (MGI, Шэньчжэнь, Китай). Подготовка библиотек секвенирования осуществлялась коммерчески доступных набором производителя MGIEasy Fast FS Library Prep Module (MGI, Шэньчжэнь, Китай). Очистка библиотек на магнитных частицах в соответствии с инструкцией производителя проводилась с помощью MGIEasy DNA Clean Beads (MGI, Шэньчжэнь, Китай). Набором MGIEasy UDB (MGI, Шэньчжэнь, Китай) осуществляли лигирование адаптеров. Измерение концентраций получившихся библиотек секвенирования проводилась с помощью коммерчески доступного набора Qubit dsDNA HS Assay Kit (Invitrogen, Уолтем, Массачусетс, США) на приборе Qubit (США). Циркуляризация осуществлялась с помощью MGIEasy Dual Barcode Circularization Module (MGI, Шэньчжэнь, Китай). Таксономическое профилирование бактерий, формирующих микробиом исследуемых образцов, проводилось с использованием MetaPhlAn4.

РЕЗУЛЬТАТЫ/ RESULTS

Биоинформатический анализ последовательностей ДНК, полученных в результате высокопроизводительного секвенирования, позволил идентифицировать 20 бактериальных таксонов в полости матки больных эндометритом коров. Содержание *Porphyromonas SGB1983, Campylobacter sp. LMG 7974, Porphyromonas SGB1982, Caviibacter abscessus, Tissierella praeacuta, Campylobacter sputorum, Clostridium cadaveris, Bacteroidota* (GGB76988_SGB104625), *Streptococcus dysgalactiae, Mycoplasmopsis bovigenitalium* не превышало 1%, в связи с чем они были объединены в группу «Другие» (рисунок 1).

Доминирующими таксонами бактерий в микробиоме матки животных после отёла оказались *Porphyromonas levii* (26,17%), *Bacteroides heparinolyticus* (19,58%) и *Fusobacterium necrophorum* (17,25%). Эти результаты коррелируют с данными, полученными в исследовании по изучению патогенной флоры шейки матки молочных коров с метритом и лихорадкой [13].

В процессе лечения коров с применением препаратов на основе бычьего рекомбинантного интерферона – «Биферон-Б» и «Энрофлоксаветферон-Б» регистрировалось изменение соотношения бактериальных видов в микробиоме. На рисунке 2 представлены результаты высокопроизводительного секвенирования образцов, полученных от коров с диагностированным эндометритом в первый день терапии препаратом «Биферон-Б».

Установлено, что доминирующими представителями в микробиоме полости матки коров в первый день терапии препаратом «Биферон-Б» оказались *Caviibacter abscessus* (33,44%) и *Mycoplasmopsis californica* (26,41%). При этом также были идентифицированы *Histophilus somni* (15,34%), *Fusobacterium necrophorum* (11,38%), *Bacteroides heparinolyticus* (6,74%) и *Helcococcus ovis* (6,29%). *Caviibacter abscessus* впервые идентифицирован в организме морских свинок при абсцессе шейки матки [14], о связи данного вида с эндометритом коров ранее не сообщалось. Известно влияние *Mycoplasmopsis californica* на патогенез мастита коров

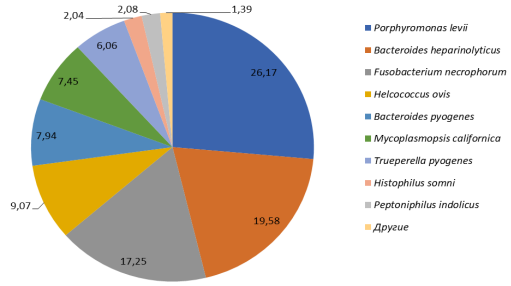


Рисунок 1 – Относительное содержание бактерий (%) в маточно-вагинальных выделениях больных эндометритом коров.

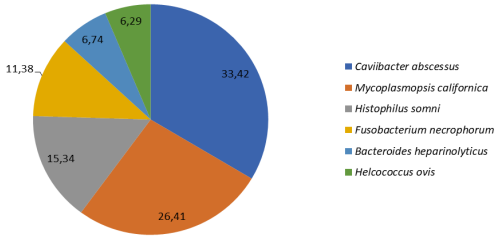


Рисунок 2 – Содержание бактерий (%) в маточно-вагинальных выделениях коров в первый день терапии с применением препарата «Биферон-Б».

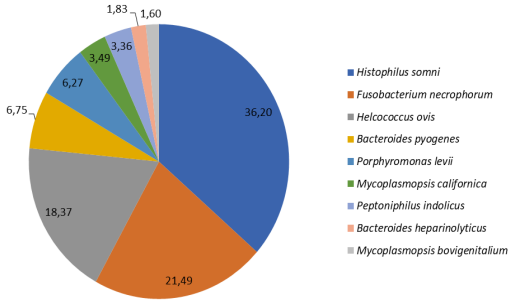


Рисунок 3 – Содержание бактерий (%) в маточно-вагинальных выделениях коров на седьмой день терапии с применением препарата «Биферон-Б».

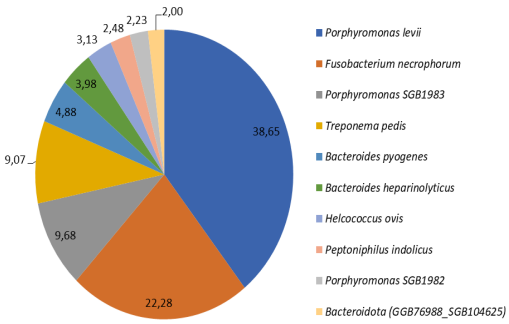


Рисунок 4 – Содержание бактерий (%) в маточно-вагинальных выделениях коров в первый день терапии с применением препарата «Энрофлоксаветферон-Б».

[15]. Присутствие *Fusobacterium necrophorum* и *Histophilus somni* свидетельствует о наличие воспалительного процесса в матке. Так, например, известно, что *Fusobacterium necrophorum* ассоциирована с развитием эндометрита коров [18], а *Histophilus somni* участвует в воспалительных процессах в организме крупнорогатого скота [17]. Примечательно, что бактерия *Helcococcus ovis* представляет собой бактериальный патоген, который способен вызывать маточные

инфекции у крупнорогатого скота [18].

После семи дней терапии «Биферoном -Б» в микробиоме маточно-вагинальных выделений доминирующими бактериями были *Histophilus somni* (36,20%), *Fusobacterium necrophorum* (21,49) и *Helcococcus ovis* (18,37%) (рисунок 3).

Аналогичные исследования были проведены и с препаратом «Энрофлоксаветферон-Б». На рисунке 4 представлены результаты биоинформатического анализа высокопроизводительного секвенирования образцов маточно-вагинальных выделений в первый день после терапии препаратом «Энрофлоксаветферон-Б».

Доминирующим таксоном в группе больных эндометритом коров после первого дня терапии с применением препарата «Энрофлоксаветферон-Б» оказались *Porphyromonas levii* (38,65%) и *Fusobacterium necrophorum* (22,28%). По 9% пришлось на *Porphyromonas* SGB1983 и *Treponema pedis*. Известны случаи вспышек некротического вульвовагинита у коров, вызванных *Porphyromonas levii* [19].

На рисунке 5 представлено бактериальное разнообразие маточно-вагинальных выделений коров на седьмой день после терапии «Энрофлоксаветфероном-Б».

Выявлено, что 44% идентифицированных бактерий приходились на вид *Porphyromonas levii*, 22% на *Fusobacterium necrophorum*, а 17% на *Helcococcus ovis*.

Сравнительный анализ содержания бактериальных таксонов при использовании «Биферона-Б» в первый день терапии представлен на рисунке 6.

По сравнению с контрольной группой в первый день терапии коров с применением препарата «Биферон-Б» наблюдалась тенденция роста численности *Caviibacter abscessus, Mycoplasmopsis californica* и *Histophilus somni*. При этом не были идентифицированы виды *Porphyromonas levii* и *Bacteroides pyogenes*, которые в группе коров до терапии составляли 26% и 7% соответственно. Также обнаружена тенденция снижения значений относительной обильности видов *Fusobacterium necrophorum, Bacteroides heparinolyticus, Helcococcus ovis, Peptoniphilus indolicus* и *Trueperella pyogenes* в образцах после терапии препаратом «Биферон-Б».

На рисунке 7 представлено микробное разнообразие маточно-вагинальных выделений коров на седьмой день терапии эндометрита препаратом «Биферон-Б».

Зарегистрирована тенденция роста численности *Histophilus somni, Fusobacterium necrophorum* и *Helcococcus ovis* на седьмой день терапии препаратом «Биферон-Б». Также после терапии выявлена тенденция снижения численности *Porphyromonas levii, Mycoplasmopsis californica, Bacteroides heparinolyticus* и *Trueperella pyogenes*.

Результаты исследования влияния препарата «Энрофлоксаветферон-Б» на микробиом маточно-вагинальных выделений коров с диагностированным эндометритом по сравнению с группой коров до терапии препаратом представлены на рисунке 8.

Установлена тенденция роста *Porphyromonas levii, Fusobacterium necrophorum, Porphyromonas* SGB1983, *Treponema pedis, Porphyromonas* SGB1982 и *Bacteroidota* (GGB76988_SGB104625) в первый день после начала терапии «Энрофлоксаветфероном-Б». Выявлены статистически достоверные различия численности *Porphyromonas* SGB1983 до терапии (0,9%) и через сутки после терапии препаратом (9,6%) ($p<0,05$). Зарегистрирована тенденция снижения численности *Bacteroides pyogenes, Bacteroides heparinolyticus, Helcococcus ovis, Trueperella pyogenes* и *Mycoplasmopsis californica* через сутки после начала терапии «Энрофлоксаветфероном-Б».

На рисунке 9 представлено изменение таксономического состава микробиома маточно-вагинальных выделений коров с диагностированным маститов после семидневной терапией препаратом «Энрофлоксаветферон-Б».

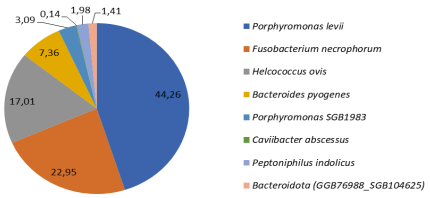


Рисунок 5 – Содержание бактерий (%) в маточно-вагинальных выделениях коров на седьмой день терапии с применением препарата «Энрофлоксаветферон-Б».

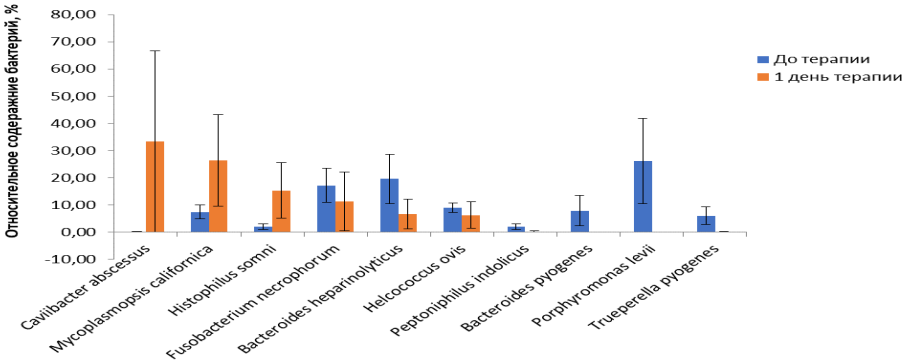


Рисунок 6 – Распределение таксонов бактерий в микробиоме маточно-вагинальных выделений коров вначале терапии острого послеродового эндометрита препаратом «Биферон-Б».

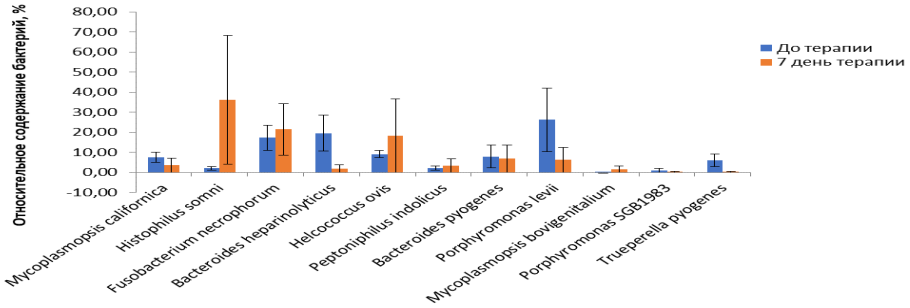


Рисунок 7 – Распределение таксонов бактерий в микробиоме маточно-вагинальных выделений коров на 7 день терапии острого послеродового эндометрита препаратом «Биферон-Б».

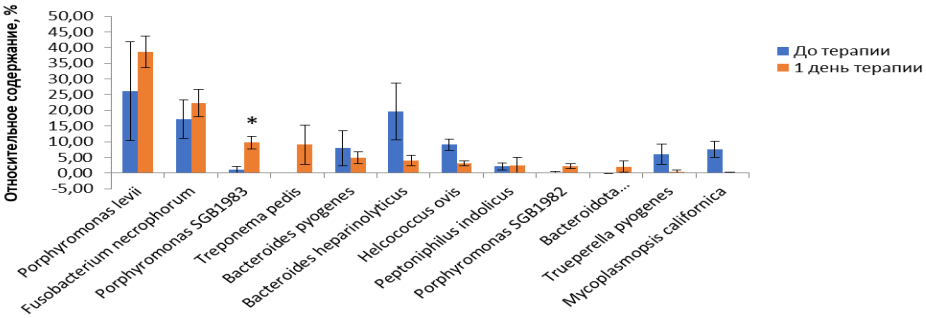


*Рисунок 8 – Распределение таксонов бактерий в микробиоме маточно-вагинальных выделений коров вначале терапии острого послеродового эндометрита препаратом «Энрофлоксаветферон-Б». * - различия в относительном содержании бактерии до и после терапии статистически достоверны ($p<0,05$)*

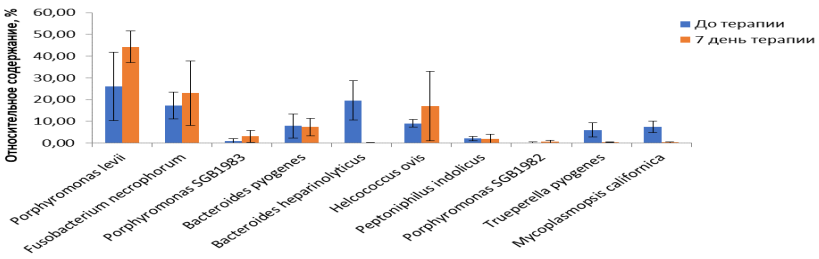


Рисунок 9 – Распределение таксонов бактерий в микробиоме маточно-вагинальных выделений коров на 7 день терапии острого послеродового эндометрита препаратом «Энрофлоксаветферон-Б».

Установлено, что на седьмой день терапии в микробиоме маточно-вагинальных выделений имеется тенденция снижения относительной численности бактерий *Bacteroides heparinolyticus*. Также зарегистрирована тенденция снижения численности *Trueperella pyogenes* и *Mycoplasmopsis californica*. Одновременно с этим после семидневного курса терапии препаратом «Энрофлоксаветферон-Б» зарегистрирована тенденция роста численности *Porphyromonas levii, Fusobacterium necrophorum* и *Helcococcus ovis*.

ВЫВОДЫ/ CONCLUSION

В ходе работы с помощью высокопроизводительного секвенирования было установлено, что доминирующими таксонами в маточно-вагинальных выделениях коров, больных острым послеродовым гнойно-катаральным эндометритом, оказались *Porphyromonas levii, Bacteroides heparinolyticus* и *Fusobacterium necrophorum*. Выявлено, что терапия коров с применением препарата «Биферон-Б» привела к тенденции роста численности *Caviibacter abscessus, Mycoplasmopsis californica* и *Histophilus somni* в течение первых суток. Терапия «Энрофлоксаветферон-Б» привела к доминированию видов Porphyromonas levii, Fusobacterium necrophorum, Porphyromonas SGB1983, Treponema pedis, Porphyromonas SGB1982 и Bacteroidota (GGB76988_SGB104625). Выявлены статистически достоверные различия численности Porphyromonas SGB1983 до терапии (0,9%) и после терапии препаратом «Энрофлоксаветферон-Б» в течение первых суток (9,6%) ($p<0,05$). При терапии «Биферон-Б» на седьмой день выявлена тенденция снижения численности *Porphyromonas levii, Mycoplasmopsis californica, Bacteroides heparinolyticus* и *Trueperella pyogenes* по сравнению с больными эндометритом коровами. Исследование микробного разнообразия маточно-вагинальных выделений коров при терапии «Энрофлоксаветфероном-Б» на седьмой день установило тенденцию снижения относительной обильности бактерий *Bacteroides heparinolyticus*, а также *Trueperella pyogenes* и *Mycoplasmopsis californica*. В целом, наблюдалась высокая изменчивость в микробиологическом состава маточно-вагинальных выделений коров.

THE EFFECT OF BIFERON-B AND ENROFLOXAVETFERON-B ON THE MICROBIOTA OF UTERO-VAGINAL SECRETIONS OF COWS WITH ENDOMETRITIS

Syromyatnikov M.Yu. [1,2*] – PhD in Biological Sciences, Associate Professor,Leading Researcher (ORCID ID 0000-0001-9028-0613); **Gladkikh M.I.** [1] – Junior Researcher (ORCID ID 0000-0003-1173-1565); **Morozova P.D.** [1] –Junior Researcher (ORCID ID 0009-0000-0075-9170); **Burakova I.Yu.** [1] – Junior Researcher (ORCID ID 0000-0002-5881-0845); **Mikhalev V.I.**[2] – PhD in Veterinary Sciences, Chief Researcher (ORCID ID 0000-0001-9684-4045).

[1]Voronezh State University of Engineering Technology

[2]All-Russian Veterinary Research Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy

* mihan.vrn@mail.ru

Funding: *The research was carried out within the state assignment of Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (project FZGW-2024-0003).*

ABSTRACT

Endometritis is one of the most frequently detected diseases of cattle, which is associated with disturbances in the microbial balance of the uterine cavity. This pathological process leads to disturbances in animal fertility, and, consequently, to economic losses in the dairy industry. In this regard, it is important to carry out timely preventive measures and have effective drugs for the treatment of postpartum endometritis. The aim of this study was to evaluate the effect of drugs based on bovine recombinant interferon "Biferon-B" and "Enrofloxacinferon-B" on the taxonomic composition of bacteria in the uterine-vaginal discharge of patients with acute postpartum catarrhal endometritis of cows using high-throughput sequencing. It was found that the dominant species in the uterine cavity of cows with endometritis were *Porphyromonas levii*, *Bacteroides heparinolyticus* and *Fusobacterium necrophorum*. Bacterial taxa capable of causing various cattle diseases were detected in utero-vaginal secretions. It was found that therapy of cows with the drug "Biferon-B" after 24 hours led to a tendency to increase the number of *Caviibacter abscessus*, *Mycoplasmopsis californica* and *Histophilus somni*. Statistically significant differences were found in the number of *Porphyromonas SGB1983* before therapy (0.9%) and after therapy with "Enrofloxacinferon-B" during the first 24 hours (9.6%) ($p<0.05$). The study of the microbial diversity of utero-vaginal secretions of cows during therapy with "Enrofloxacinferon-B" on the seventh day established a tendency to decrease the relative abundance of bacteria *Bacteroides heparinolyticus*, *Trueperella pyogenes* and *Mycoplasmopsis californica*. The obtained data expand our understanding of the etiology of acute postpartum catarrhal endometritis in cows and the effect of drugs based on species-specific interferons on the course of this disease.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1.Cai X.S. Changes in bacterial community composition in the uterus of Holstein cow with endometritis before and after treatment with oxytetracycline / X.S. Cai, H. Jiang, J. Xiao [et al.] // Scientific Reports. – 2024. – Vol. 14, – №1. – 9511 p. – DOI 10.1038/s41598-024-59674-4.

2.Шабунин С.В. Проблемы профилактики бесплодия у высокопродуктивного молочного скота / С.В. Шабунин, А.Г. Нежданов, Ю.Н. Алехин // Ветеринария. – 2011. – Т. 2. – С. 3-8.

3.Garoussi M.T. Mycoflora of cervicovaginal fluids in dairy cows with or without reproductive disorders / M.T. Garoussi, A.R. Khosrave, P. Havareshti Mycopathologia // – 2007. – Vol. 164, – № 2. – P. 97-100. – DOI 10.1007/s11046-007-9031-x.

4.Frazier K. Endometritis in postparturient cattle associated with bovine herpesvirus-4 infection: 15 cases / K. Frazier, M. Pence, M.J. Mauel [et al.] // Journal of Veterinary Diagnostic. – 2001. – Vol. 13, № 6. –P. 502-8. – DOI 10.1177/104063870101300608.

5.Gilbert R.O. Management of reproductive disease in dairy cows / R.O. Gilbert // Veterinary Clinics of North America. – 2016. – Vol. 32, – № 2. – P. 387-410. – DOI 10.1016/j.cvfa.2016.01.009.

6.Çömlekcioğlu U. Uterine microbial ecology and disease in cattle: a review / U. Çömlekcioğlu, S. Jezierska, G. Opsomer // Theriogenology. – 2024. – Vol. 213. – P. 66-78. – DOI 10.1016/j.theriogenology.2023.09.016.

7.Wang J. Comparison of vaginal microbial community structure in healthy and endometritis dairy cows by PCR-DGGE and real-time PCR / J. Wang, C. Sun, C. Liu [et al.] // Anaerobe. – 2016. – Vol. 38. – P. 1-6. – DOI 10.1016/j.anaerobe.2015.11.004.

8.Bretzlaff K. Rationale for treatment of endometritis in the dairy cow / K. Bretzlaff // Veterinary Clinics of North America. – 1987. – Vol. 3, – №3. – P. 593-607. – DOI 10.1016/s0749-0720(15)31132-4.

9.Болотова В. С. Комплексный способ лечения коров при хроническом эндомет-

рите. / В. С. Болотова, В. И. Михалев, О. А. Манжурина // Ветеринарный фармакологический вестник. – 2023. – Т. 21, – № 4 – С. 143 – 149. – DOI 10.17238/issn2541-8203.2023.3.143.
10.Brick T.A. Effect of intrauterine dextrose or antibiotic therapy on reproductive performance of lactating dairy cows diagnosed with clinical endometritis / T.A. Brick, G.M. Schuenemann, S.J. Bas [et al.] // Journal of Dairy Science. – 2012. – Vol. 95, – № 4. – P. 1894-905. – DOI 10.3168/jds.2011-4892.
11.Zhang D. *Trueperella pyogenes* isolated from dairy cows with endometritis in Inner Mongolia, China: Tetracycline susceptibility and tetracycline-resistance gene distribution / D. Zhang, J. Zhao, Q. Wang [et al.] // Microbial Pathogenesis. – 2017. – Vol. 105. – P. 51-56. – DOI 10.1016/j.micpath.2017.02.010.
12.Jacca S. Interferon gamma-mediated BoHV-4 replication restriction in bovine endometrial stromal cells is host IDO1 gene expression independent and BoHV-4 IE2 gene expression dependent / S. Jacca, V. Franceschi, M. Agosti [et al.] // Biology of Reproduction. – 2014. – Vol. 91, – № 5. – P. 112. – DOI 10.1095/biolreprod.114.123000.
13.Cunha F. Quantifying known and emerging uterine pathogens, and evaluating their association with metritis and fever in dairy cows / F. Cunha, S.J. Jeon, R. Daetz [et al.] // Theriogenology. – 2018. – Vol. 114. – P. 25-33. – DOI 10.1016/j.theriogenology.2018.03.016.
14.Bemis D.A. Isolation and identification of *Caviibacter abscessus* from cervical abscesses in a series of pet guinea pigs (*Cavia porcellus*) / D.A. Bemis, B.H. Johnson, M.J. Bryant [et al.] // Journal of Veterinary Diagnostic Investigation. – 2016. – Vol. 28, – №6. – P. 763-769. – DOI 10.1177/1040638716665660.
15.Gelgie A.E. *Mycoplasma bovis* mastitis / A.E. Gelgie, M.G. Korsa, O. Kerro Dego // Current Research in Microbial Sciences. – 2022. –Vol. 3: – 100123 p. – DOI 10.1016/j.crmicr.2022.100123.
16.Machado V.S. Subcutaneous immunization with inactivated bacterial components and purified protein of *Escherichia coli, Fusobacterium necrophorum* and *Trueperella pyogenes* prevents puerperal metritis in Holstein dairy cows / V.S. Machado, M.L. Bicalho, E.B. Meira Junior [et al.] // PLoS One. – 2014. – Vol. 9, – № 3. – e91734 p. – DOI 10.1371/journal.pone.0091734.
17.Szenci O. Co-infection with bovine herpesvirus 4 and *Histophilus somni* significantly extends the service period in dairy cattle with purulent vaginal discharge / O. Szenci, G. Sassi, L. Fodor [et al.] // Reproduction in Domestic Animals. – 2016. – Vol. 51, – № 1. – P. 143-9. – DOI 10.1111/rda.12658.
18.Cunha F. Sequencing and characterization of *Helcococcus ovis*: a comprehensive comparative genomic analysis of virulence / F. Cunha, S. Casaro, K.L. Jones [et al.] // BMC Genomics. – 2023. – Vol. 24, – №1. – 501 p. – DOI 10.1186/s12864-023-09581-1.
19.Elad D. Bovine necrotic vulvovaginitis associated with *Porphyromonas levii* / D. Elad, O. Friedgut, N. Alpert [et al.] // Emerging Infectious Diseases. – 2004. – Vol. 10, – №3. – P. 505-7. – DOI: 10.3201/eid1003.020592.

REFERENCES

1.Cai X.S. Changes in bacterial community composition in the uterus of Holstein cow with endometritis before and after treatment with oxytetracycline / X.S. Cai, H. Jiang, J. Xiao [et al.] // Scientific Reports. 2024:14 (1):9511. – DOI 10.1038/s41598-024-59674-4.
2.Shabunin S.V. Problems of infertility prevention in highly productive dairy cattle / S.V. Shabunin, A.G. Nejdanov, Yu.N. Alekhine // Veterinary medicine. 2011:2:3-8.
3.Garoussi M.T. Mycoflora of cervicovaginal fluids in dairy cows with or without reproductive disorders / M.T. Garoussi, A.R. Khosrave, P. Havareshti Mycopathologia // 2007:164(2):97-100. – DOI 10.1007/s11046-007-9031-x.
4.Frazier K. Endometritis in postparturient cattle associated with bovine herpesvirus-4 infection: 15 cases / K. Frazier, M. Pence, M.J. Mauel [et al.] // Journal of Veterinary Diagnostic. 2001:13(6)502-8. – DOI 10.1177/104063870101300608.
5.Gilbert R.O. Management of reproductive

disease in dairy cows / R.O. Gilbert // Veterinary Clinics of North America. 2016:32 (2):387-410. – DOI 10.1016/ j.cvfa.2016.01.009.
6.Çömlekcioğlu U. Uterine microbial ecology and disease in cattle: a review / U. Çömlekcioğlu, S. Jezierska, G. Opsomer // Theriogenology. 2024:213:66-78. – DOI 10.1016/ j.theriogenology.2023.09.016.
7.Wang J. Comparison of vaginal microbial community structure in healthy and endometritis dairy cows by PCR-DGGE and real-time PCR / J. Wang, C. Sun, C. Liu [et al.] // Anaerobe. 2016:38:1-6. – DOI 10.1016/ j.anaerobe.2015.11.004.
8.Bretzlaff K. Rationale for treatment of endometritis in the dairy cow / K. Bretzlaff // Veterinary Clinics of North America. 1987:3 (3):593-607. – DOI 10.1016/s0749-0720(15) 31132-4.
9.Bolotova V. S. Complex method of treatment of cows with chronic endometritis. / V. S. Bolotova, V. I. Mikhalev, O. A. Manzhurina // Veterinary Pharmacological Bulletin. 2023:21(4):143-149. – DOI 10.17238/ issn2541-8203.2023.3.143.
10.Brick T.A. Effect of intrauterine dextrose or antibiotic therapy on reproductive performance of lactating dairy cows diagnosed with clinical endometritis / T.A. Brick, G.M. Schuenemann, S.J. Bas [et al.] // Journal of Dairy Science. 2012:95(4):1894-905. – DOI 10.3168/jds.2011-4892.
11.Zhang D. *Trueperella pyogenes* isolated from dairy cows with endometritis in Inner Mongolia, China: Tetracycline susceptibility and tetracycline-resistance gene distribution / D. Zhang, J. Zhao, Q. Wang [et al.] // Microbial Pathogenesis. 2017:105:51-56. – DOI 10.1016/j.micpath.2017.02.010.
12.Jacca S. Interferon gamma-mediated BoHV-4 replication restriction in bovine endometrial stromal cells is host IDO1 gene expression independent and BoHV-4 IE2 gene expression dependent / S. Jacca, V. Franceschi, M. Agosti [et al.] // Biology of Reproduction. 2014:91:5:112. – DOI 10.1095/biolreprod.114.123000.
13.Cunha F. Quantifying known and emerging uterine pathogens, and evaluating their association with metritis and fever in dairy cows / F. Cunha, S.J. Jeon, R. Daetz [et al.] // Theriogenology. 2018:114.25-33. – DOI 10.1016/j.theriogenology.2018.03.016.
14.Bemis D.A. Isolation and identification of *Caviibacter abscessus* from cervical abscesses in a series of pet guinea pigs (*Cavia porcellus*) / D.A. Bemis, B.H. Johnson, M.J. Bryant [et al.] // Journal of Veterinary Diagnostic Investigation. 2016:28(6):763-769. – DOI 10.1177/1040638716665660.
15.Gelgie A.E. *Mycoplasma bovis* mastitis / A.E. Gelgie, M.G. Korsa, O. Kerro Dego // Current Research in Microbial Sciences. 2022:3:100123. – DOI 10.1016/ j.crmicr.2022.100123.
16.Machado V.S. Subcutaneous immunization with inactivated bacterial components and purified protein of *Escherichia coli, Fusobacterium necrophorum* and *Trueperella pyogenes* prevents puerperal metritis in Holstein dairy cows / V.S. Machado, M.L. Bicalho, E.B. Meira Junior [et al.] // PLoS One. 2014:9(3):e91734. – DOI 10.1371/ journal.pone.0091734.
17.Szenci O. Co-infection with bovine herpesvirus 4 and *Histophilus somni* significantly extends the service period in dairy cattle with purulent vaginal discharge / O. Szenci, G. Sassi, L. Fodor [et al.] // Reproduction in Domestic Animals. 2016:51(1):143-9. – DOI 10.1111/rda.12658.
18.Cunha F. Sequencing and characterization of *Helcococcus ovis*: a comprehensive comparative genomic analysis of virulence / F. Cunha, S. Casaro, K.L. Jones [et al.] // BMC Genomics. 2023:24(1):501. – DOI 10.1186/s12864-023-09581-1.
19.Elad D. Bovine necrotic vulvovaginitis associated with *Porphyromonas levii* / D. Elad, O. Friedgut, N. Alpert [et al.] // Emerging Infectious Diseases. 2004:10 (3):505-7. – DOI: 10.3201/eid1003.020592.

УДК: [619:612.419:612.119]:636.4
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.4.92

ВЛИЯНИЕ ПРЕПАРАТА «ПРОСТИМУЛ» НА КОСТНОМОЗГОВОЕ КРОВЕТВОРЕНИЕ ПОРОСЯТ С ПЕРИНАТАЛЬНОЙ ГИПОТРОФИЕЙ

Михайлов Е.В. * – канд. ветеринар. наук, вед. науч. сотр., зав. отделом экспериментальной фармакологии и функционирования живых систем (ORCID 0000-0001-5457-1325)

ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии» (ФГБНУ «ВНИВИПФиТ»)

* voronezh81@rambler.ru

Ключевые слова: *поросята, гипотрофия, костный мозг, цитология, препарат «Простимул»*

Keywords: *piglets, hypotrophy, bone marrow, cytology, drug "Prostimul"*

Благодарность: *«Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 23-26-00020, https://rscf.ru/project/23-26-00020/»*

Поступила: 07.11.2024 **Принята к публикации: 02.12.2024**
Опубликована онлайн:16.12.2024

РЕФЕРАТ

В статье представлены результаты исследований по оценке влияния препарата «Простимул» на костномозговое кроветворение поросят с перинатальной гипотрофией. Эксперимент проводился в крупном свиноводческом хозяйстве, где новорожденным поросятам - гипотрофикам двукратно на 1 и 3 сутки жизни применяли препарат «Простимул» в дозе 0,1 мл/кг массы тела и оценивали изменения в костном мозге. При фоновом исследовании костного мозга у поросят-гипотрофиков отмечалось наличие эритробластов и проэритроцитов и увеличение незрелых клеток миелоидного ряда, которые являются индикатором начальной стадии воспалительного процесса. При анализе миелограммы соотношение лейкоцитов к эритроцитам у поросят-нормотрофиков оказалось на 1,4 раза ($p < 0,05$) выше, чем у гипотрофиков, а индекс созревания эритрокариоцитов у поросят гипотрофиков был выше на 21,3% ($p < 0,05$), чем у поросят нормотрофиков. После применения препарата «Простимул» у поросят-гипотрофиков на 7 сутки отмечался рост количества полихроматофильных эритроцитов, значительное увеличение количества палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилов. Костномозговой индекс нейтрофилов, характеризующий активность миелопоэза, у поросят-гипотрофиков после применения препарата «Простимул» был выше на 8,8%, в сравнении с поросятами-нормотрофиками. Двукратное применение препарата «Простимул» поросятам с перинатальной гипотрофией дозе 0,1 мл/кг массы тела оказало положительное воздействие на эритроидный и миелоидный ростки, стимулируя эритропоэз и миелопоэз. Эти изменения свидетельствуют о положительном влиянии препарата на компенсаторные механизмы гемопоэза, что приводит к улучшению общего состояния здоровья поросят и снижению риска инфекций.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Препарат «Простимул» представляет собой инновационное средство, сочетающее видоспецифичные рекомбинантные альфа- и бета-интерфероны с витаминами А, Е и С. Это уникальное сочетание компонентов позволяет активизировать защитные механизмы организма и поддерживать функциональную активность иммунной системы. Применение «Простимула» особенно актуально в ветеринарной практике для лечения и профилактики заболеваний у поросят с гипотрофией, которые страдают от врожденной анемии, ослабленной иммунной системы и замедленных обменных процессов, такие поросята подвержены высокому риску инфекционных заболеваний и стрессов из-за их сниженной резистентности к патогенам и неблагоприятным условиям внешней среды [1].

Гемопоэтическая система у таких животных функционирует в условиях повышенной нагрузки, стремясь компенсировать дефицит клеток крови и поддерживать гомеостаз в условиях патологических изменений. Недостаточность кроветворных процессов приводит к гипоксии тканей, снижению общей резистентности организма и замедлению роста и развития поросят [2].

Настоящее исследование предоставляет ценные данные о механизмах действия препарата «Простимула» имеющего в своем составе рекомбинантный цитокин I типа и витамины А, Е и С, направленных на активацию и поддержку кроветворных процессов, что способствует улучшению здоровья поросят и их адаптивным возможностям в условиях интенсивного технологического цикла.

Целью работы явилась оценка влияние препарата «Простимул» на костномозговое кроветворение поросят с перинатальной гипотрофией

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

В 2023-2024 годах году в одном из крупных промышленных свиноводческих хозяйств Воронежской области был проведен эксперимент на поросятах раннего неонатального периода, полученных от клинически здоровых свиноматок 3-4 опороса. Все свиноматки находились при одинаковых условиях содержания. На начальном этапе эксперимента, полученные во время опороса поросята проходили клинический осмотр и взвешивание. Основным критерием для установления диагноза «гипотрофия» являлась низкая масса тела при рождении. Средний вес в группе поросят-гипотрофиков (n=5) составлял 0,724±0,07 кг, в то время как в группе поросят-нормотрофиков (n=5) — 0,927±0,04 кг. После формирования групп был произведен вынужденный убой животных (n=5) и от каждой группы проведено взятие биологического материала (костный мозг).

Для изучения влияния препарата «Простимул» были сформированы 2 группы поросят-сосунов. Первая группа - поросята нормотрофики (n=5) - служила контролем. Вторая группа – поросята-гипотрофики (n=5) - внутримышечно вводили рекомбинантный видоспецифичный цитокин «Простимул» двукратно в первый и третий дни жизни в дозе 0,1 мл/кг массы тела. До введения препарата и в возрасте 7 суток животные подвергались вынужденному убою, и отбирался костный мозг из бедренной кости.

Приготовленные мазки отпечатки костного мозга окрашивали по Романовскому-Гимзе. Просматривали мазки сначала с использование малого увеличения (объектив ×10, окуляр ×10) с целью ориентировочной оценки клеточности костного мозга. Для оценки морфологии клеточных элементов, определения функциональной активности мегакариоцитов и подсчета миелограммы используют иммерсионный объектив светового микроскопа (увеличение ×100). Для подсчета миелограммы анализировали 500 клеток. Подсчитывали все клеточные элементы, встречающиеся в поле зрения.

Фиксацию костного мозга проводили в 2,5 % - ном глютаровом альдегиде на 0,114 М коллидновом буфере на холоде с постфиксацией в 1 % - ном растворе тетраокси осмия на том же буфере. Матери-

ал заключали в эпон-812. Полутонкие срезы готовили на ультрамикротоме Ultracut (Leica). которые окрашивались азур -2 в сочетании фуксином основным и просматривались в световом микроскопе «Leica». Статистический анализ полученных данных проводился с использованием программ Statistica v6.1 и MS Office «Excel 2013» с пакетом для анализа данных, оценка достоверности проводилась по критерию.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

При фоновом исследовании костного мозга (рисунок 1, А) у поросят-гипотрофиков отмечалось наличие эритробластов и проэритроцитов, характеризующихся крупным ядром и интенсивной базофилией цитоплазмы. В норме они составляют относительно небольшую часть клеточного состава костного мозга, однако при гипотрофии костный мозг поросят работает в условиях недостаточного поступления энергии и микроэлементов, что замедляет дифференцировку и созревание эритроидных клеток. По мнению Izak G. на данном этапе незначительный рост эритробластов и проэритроцитов, можно отнести к действию компенсаторного механизма, направленного на восстановление нормального уровня кислорода в тканях [3].

Одним из наиболее заметных изменений являлось увеличение количества миелобластов и промиелоцитов (рисунок 1, А, Б) — незрелых клеток миелоидного ряда, которые являются индикатором начальной стадии воспалительного процесса. Отмечался умеренный рост числа макрофагов, активно фагоцитирующих, разрушая клетки инфекционных агентов из тканей. Количество мегакариоцитов было относительно стабильным, что указывает на нормальный уровень тромбоцитопоэза. Жировая ткань представлена в умеренных количествах. На данном этапе исследования происходило значительное увеличение макрофагов, что связано с необходимостью утилизации большого количества поврежденных клеток крови, особенно эритроцитов, а также с борьбой с патогенами. При гипотрофии поросят макрофаги и ретикулоэндотелиальные клетки активно депонируют железо, делая его недоступным для процессов эритропоэза, что часто наблюдается при врожденной иммунодефицитной анемии, когда воспалительные цитокины, например, интерлейкин-6, подавляют мобилизацию железа и его использование в гемопоэтических процессах, что согласуется с результатами работы Kagu M B et al. [4].

У поросят-гипотрофиков, получавших препарат «Простимул» на 7 сутки, отмечался рост количества полихроматофильных эритроцитов, являющихся промежуточной стадией созревания эритроцитов (рисунок 3, А). Результаты указывают на попытку организма ускорить цикл созревания эритроидных клеток в ответ на дефицит зрелых эритроцитов, что согласуются с результатами, полученными Paulson R.F., Lei Shi, Dai-chen Wu. [5].

Необходимо отметить значительное увеличение количества палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилов (рисунок 2, Б) при переходе организма к более зрелой фазе иммунного ответа. Присутствие большого количества этих клеток в костном мозге поросят-гипотрофиков, принимавших препарат, свидетельствует о высоком уровне миелопоэза, что говорит о положительном влиянии препарата «Простимул», который активирует клетки -предшественники миелоидного ряда в костном мозге, способствуя их пролиферации и дифференцировке [6].

Помимо вышеописанных изменений на данном этапе наблюдался прирост числа мегакариоцитов в процессе активного тромбоцитопоэза для поддержки гемостаза костным мозгом. Снижение уровня депонирования железа в макрофагах у особей, принимавших препарат, свидетельствует о нормализации синтеза гемоглобина, что подтверждается вышеописанными результатами о стимуляции эритропоэза [7].

При анализе миелограммы (таблица 1) соотношение лейкоцитов к эритроцитам у поросят-нормотрофиков оказалось на 1,4 раза ($p < 0,05$) выше, чем у гипотро-

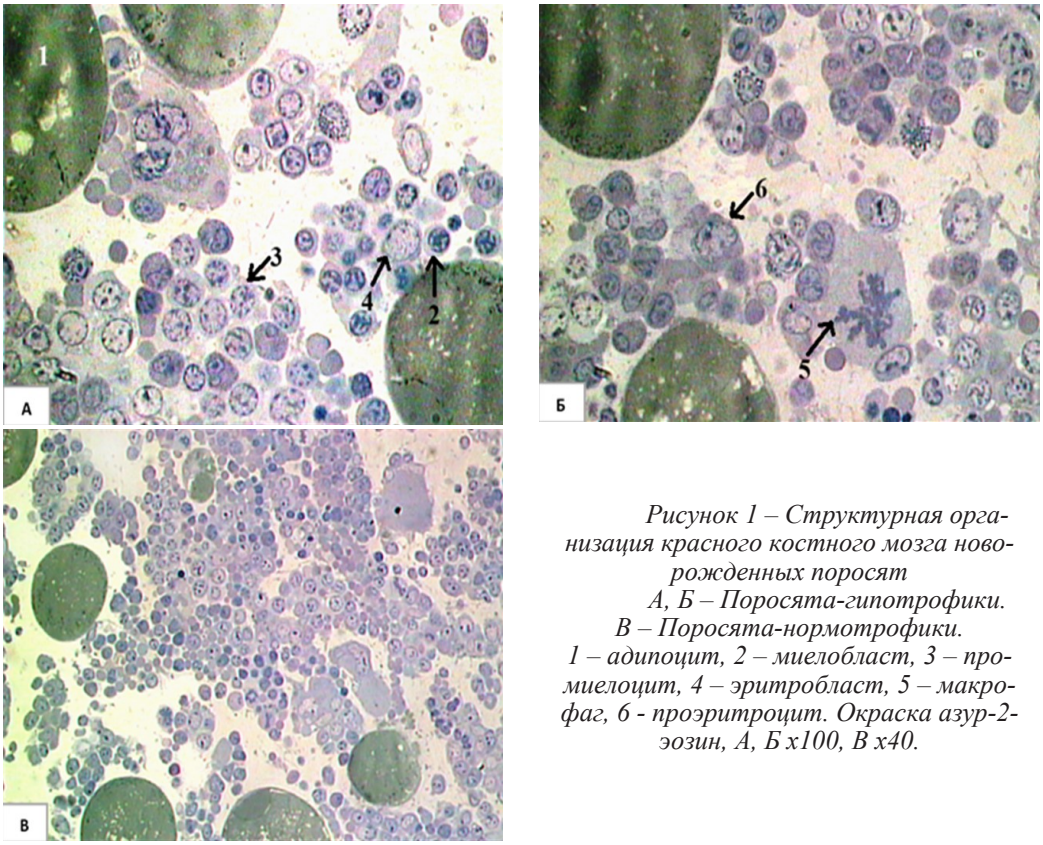


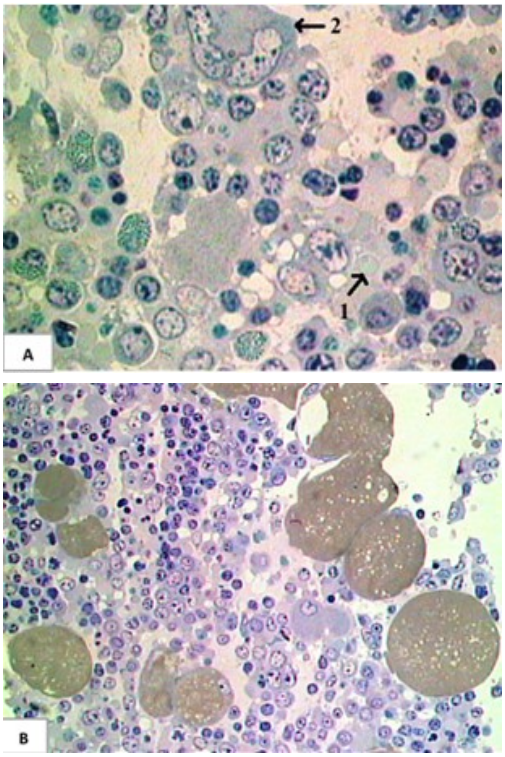
Рисунок 1 – Структурная организация красного костного мозга новорожденных поросят
А, Б – Поросята-гипотрофики.
В – Поросята-нормотрофики.
1 – адипоцит, 2 – миелобласт, 3 – промиелоцит, 4 – эритробласт, 5 – макрофаг, 6 - проэритроцит. Окраска азур-2-эозин, А, Б х100, В х40.

фиков. Получение таких результатов можно связать с хроническим дефицитом питательных веществ при гипотрофии, вследствие которого происходит снижение лейкопоэза и уменьшению количества лейкоцитов, что подтверждается цитологическими исследованиями, описанными выше. Более высокий показатель индекс созревания эритрокариоцитов отмечался у поросят-гипотрофиков, так анализируя полученные данные соотношение гемоглобинизированных эритрокариоцитов ко всем клеткам эритроидного ряда у поросят гипотрофиков был выше на 21,3% ($p < 0,05$), чем у поросят нормотрофиков. Опираясь на результаты работ Попова В.С. и Самбурова Н.В. можно предположить, что получение таких значений связано с адаптивной гипоксемией, при которой организм животного стремится компенсировать сниженный уровень кислорода за счет увеличения количества эритроцитов [6].

Различия между нормотрофиками и гипотрофиками по костномозговому индексу нейтрофилов незначительны, что может быть связано с компенсаторной реакцией на стресс или воспалительные процессы. Анализ миелограммы (таблица 2) показал, что после применения поросятам – гипотрофикам комплексного препарата «Простимул» на 7 сутки лейкоэритробластическое отношение у животных оказалось ниже нормы в 1,4 раза ($p < 0,05$), однако следует отметить, что наблюдалась тенденция к увеличению данного показателя в сравнении с первым днем исследования. Это может, указывает на приоритетное производство эритроцитов в ответ на применение препарата «Простимул», так как происходит вынужденное снижение относительного количе-

ства лейкоцитов в ответ на дефицит кислорода в организме [8-10]. По данным Рукавишниковой С.А. и др., ИСЭ для свиней варьирует от 0,8 до 0,9. У поросят-гипотрофиков данный показатель оказался выше указанных границ, что может быть связано с потерей способности клеток эритроидного ряда к нормальному созреванию при состоянии врожденной анемии [11].

Костномозговой индекс нейтрофилов, характеризующий активность миелопоэза, у поросят-гипотрофиков после применения препарата «Простимул» был выше на 8,8%, в сравнении с поросятами-нормотрофиками. На фоне применения препарата «Простимул», имеющего в своем составе рекомбинантный цитокин I типа и витамины А, Е и С, способствует усиленную продукцию молодых форм гранулоцитов в ответ на применение препарата, что согласуется с данными исследования Казючина М.В. и Булгакова О.С. [12, 13]. Рост количества иммунокомпетентных клеток может свидетельствовать о значительной активации иммунной системы. Стоить отметить, что в ходе анализа цитологических образцов костного мозга отмечалось наличие значительного количества железа в образцах. У новорожденных поросят-гипотрофиков железо может накапливаться в макрофагах и ретикулоэндотелиальных клетках, оставаясь недоступным для процессов эритропоэза, что часто наблюдается при врожденной иммунодефицитной анемии, когда воспалительные цитокины, например, интерлейкин-6, подавляют мобилизацию железа и его использование в гемопоэтических процессах [14–16].



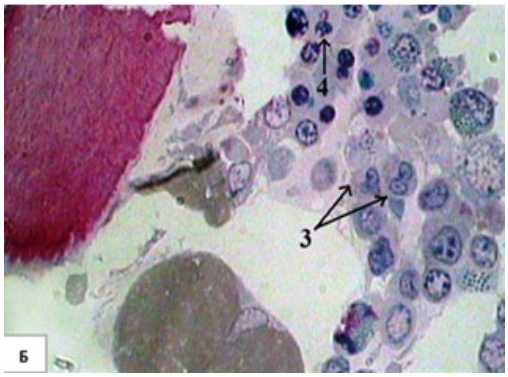


Рисунок 2 – Структурная организация красного костного мозга поросят на 7 сутки.
А, Б – Поросята-гипотрофики. В – Поросята-нормотрофики. 1 – полихроматофильныйц эритроцит, 2 – мегакариоцит, 3 – сегментоядерный нейтрофил, 4 – палочкоядерный нейтрофил. Окраска азур-2-эозин, А, Б – х100, В - х40.

У особей, принимавших «Простимул» отсутствует визуализация железа. Поскольку оно является необходимым компонентом для синтеза гемоглобина, можно говорить о нормализации данного процесса, что подтверждается вышеописанными результатами о стимуляции препаратом эритропоэза [17].

Таблица 1 – Показатели миелограммы у новорожденных поросят перинатальной гипотрофией

Показатели	Нормотрофики	Гипотрофики
Л/Э	0,85 ± 0,04	0,35 ± 0,02*
КИН	1,15 ± 0,07	1,28 ± 0,09
ИСЭ	0,75 ± 0,05	0,91 ± 0,02*

*Примечания: *p <0,05по отношению к группе нормотрофиков.*

Таблица 2 – Показатели миелограммы на фоне применения препарата «Простимул» поросятам гипотрофикам

Показатели	1 группа	2 группа
Л/Э	0,97±0,05	0,40±0,02*
КИН	1,24±0,06	1,35±0,08
ИСЭ	0,83±0,04	0,99±0,01*

*Примечания: *p <0,05 по отношению к 1 группе.*

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Исследование костного мозга поросят с гипотрофией показали наличие сложных компенсаторных механизмов, направленных на поддержание нормального уровня клеток крови в условиях перинатальной гипотрофии. Двукратное применение препарата «Простимул» поросятам с перинатальной гипотрофией дозе 0,1 мл/кг массы тела оказало положительное воздействие на эритроидный и миелоидный ростки, обеспечивая улучшение кроветворных процессов. Препарат эффективен как средство для компенсации нарушений кроветворения у гипотрофических животных, что делает его незаменимым инструментом в ветеринарной практике.

THE EFFECT OF THE DRUG "STIMUL" ON BONE MARROW HEMATOPOIESIS OF PIGLETS WITH PRENATAL HYPOTROPHY

Mikhailov E. V. – Candidate of Veterinary Sciences, Senior researcher, Head of the Department of Experimental Pharmacology and Living Systems Functioning (ORCID ID 000-0001-54-57-1325).

All-Russian Veterinary Research Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy (ARVRIPP&T)

Acknowledgements *"The research was carried out at the expense of a grant from the Russian Science Foundation No. 23-26-00020, https://rscf.ru/project/23-26-00020 /".*

ABSTRACT

The article presents the results of studies evaluating the effect of the drug "Prostimul" on bone marrow hematopoiesis of piglets with perinatal hypotrophy. The experiment was conducted in a large pig farm, where newborn hypotrophic piglets were twice administered the drug "Prostimul" at a dose of 0.1 ml / kg of body weight on the 1st and 3rd days of life and changes in the bone marrow were evaluated. Background examination of the bone marrow in hypotrophic piglets showed the presence of erythroblasts and proerythrocytes and an increase in immature myeloid cells, which are an indicator of the initial stage of the inflammatory process. When analyzing the myelogram, the ratio of leukocytes to erythrocytes in normotrophic piglets turned out to be 1.4 times (p <0.05) higher than in hypotrophics, and the index of erythrocaryocyte maturation in hypotrophic piglets was 21.3% higher (p <0.05) than in normotrophic piglets. After using the drug "Prostimul", hypotrophic piglets on day 7 showed an increase in the

number of polychromatophilic erythrocytes, a significant increase in the number of rod-shaped and segmented neutrophils. The bone marrow index of neutrophils characterizing the activity of myelopoiesis in hypotrophic piglets after the use of the drug "Prostimul"was 8.8% higher than in normotrophic piglets. Two-time administration of the drug "Prostimul"to piglets with perinatal hypotrophy at a dose of 0.1 ml / kg of body weight had a positive effect on erythroid and myeloid sprouts, stimulating erythropoiesis and myelopoiesis. These changes indicate a positive effect of the drug on the compensatory mechanisms of hematopoiesis, which leads to an improvement in the overall health of piglets and a reduction in the risk of infections.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1.Мандро Н.М. Костный мозг, его состав и структура в сравнении у диких жвачных и сельскохозяйственных животных / Н.М. Мандро, Т.В. Федоренко // Вестник Красноярского государственного аграрного университета. – 2013. – №. 5. – С. 181-184.

2.Шабунин Б.В. Морфофункциональное состояние органов иммунной системы у поросят-гипотрофиков в ранний неонатальный период / Б.В. Шабунин, А.В. Некрасов, Е.М. Степанов, [и др.] // Аграрный вестник Урала. – 2024. – С. 932.

3.Izak G. “Erythroid cell differentiation and maturation / G. Izak // Progress in hematology. – 1977. - № 10. - P. 1-41.

4.Kagu M. B. et al. Bone marrow macrophage iron stores in patients with HIV infection and AIDS-associated Kaposi's sarcoma / M. B. Kagu et al. // African journal of medicine and medical sciences. -2007. - № 36. – P. 125-128.

5.Paulson R.F., Lei Shi, Dai-chen Wu. Stress erythropoiesis: new signals and new stress progenitor cells / R. F. Paulson., Shi Lei, Wu. Dai-chen // NIH Public Access Author Manuscript Curr Opin Hematol. – 2011. – №18. – P.139–145.

6.Попов В.С. Вторичные иммунодефициты свиней: клинико-иммунологическая характеристика и принципы иммунокоррекции / В.С. Попов, Н.В. Самбуров, Н.В. Воробьева, [и др.] // Вестник Курской государственной сельскохозяйственной академии – 2016. – №3. – С. 57-61.

7.Ксензова Т.И. и др. Роль иммунофенотипирования клеток костного мозга и ликвора в диагностике множественной миеломы и плазмоклеточного лейкоза / Т. И. Ксензова, Е.В. Аникина, О.В. Ананьева, [и др.] // Фундаментальные исследования. – 2012. – №. 8-1. – С. 101-106.

8.Tatoyan M. Ontogenesis of the pig erythroid cells / M. Tatoyan, E. Karalova, L. Hakobyan [et al.] // Porcine Research. – 2015. – Т. 5. – №. 1. – С. 12-22.

9.Хасанов Б.Б. Гематологические особенности при токсических гепатитах / Б.Б. Хасанов // Достижения науки и образования. – 2022. – №. 5 (85). – С. 53-59.

10.Абрашова Т.В. Справочник. Физиологические, биохимические и биометрические показатели нормы экспериментальных животных. СПБ. / Т.В. Абрашова, Я.А. Гущин., М.А. Ковалева, [и др.] // Изд -во «ЛЕМА», 2013. – 116 с.

11.Рукавишникова С.А. Основы клинической иммунологии / С. А. Рукавишникова., А.С. Пушкин, Т.А. Ахмедов // – 2015.

12.Казючиц М.В. Влияние натрия тиосульфата и витамина С на биохимические показатели крови и миелограмму у поросят при иммунизации вакциной СПС / М.В. Казючиц // – 2011.

13.Булгакова О.С. Изменение морфологического состава крови при стрессе и в результате коррекционных сеансов по методу биологической обратной связи / О.С. Булгакова // Психология образования в поликультурном пространстве. – 2010. – Т. 1. – №1. – С. 102-115.

14.Detivaud L. Hepcidin levels in humans are correlated with hepatic iron stores, hemoglobin levels, and hepatic function / L. Detivaud, E. Nemeth, K. Boudjema [et al.] // Blood. – 2005. – Т. 106. – №. 2. – С. 746-748.

15.Сароян Д.А. Нарушение миелопоэза при острой форме африканской чумы свиней: дис. – НАН РА институт молекулярной биологии, 2016.

16.Сиразиев Р.З. Гипотрофия поросят в промышленном свиноводстве / Р.З. Сиразиев // Вестник Бурятской государственной сельскохозяйственной академии имени В.Р. Филиппова. 2021. № 4 (65). С. 84–94.
17.Mikhaylov E. PSVIII-6 Cytomorphological features of the bone marrow of hypotrophic piglets / E. Mikhaylov, Y. Shaposhnikova, B. Shabunin [et al.] // Journal of Animal Science. – 2020. – Т. 98. – №. Supplement_4. – С. 256-256.

REFERENCES

1. Mandro N.M. Bone marrow, its composition and structure in comparison in wild ruminants and farm animals / N.M. Mandro, T.V. Fedorenko // Bulletin of the Krasnoyarsk State Agrarian University. - 2013. – No. 5. – pp. 181-184.
2. Shabunin B.V. Morphofunctional state of the immune system organs in hypotrophic piglets in the early neonatal period / B.V. Shabunin, A.V. Nekrasov, E.M. Stepanov, [et al.] // Agrarian Bulletin of the Urals. – 2024. – p. 932.
3. Izak G. "Erythroid cell differentiation and maturation / G. Izak // Progress in hematology. – 1977. - No. 10. - p. 1-41.
4.Kagu M. B. et al. Bone marrow macrophage iron stores in patients with HIV infection and AIDS-associated Kaposi's sarcoma / M. B. Kagu et al. // African journal of medicine and medical sciences. -2007. - No. 36. – pp. 125-128.
5. Paulson R.F., Lei Shi, Dai-chen Wu. Stress erythropoiesis: new signals and new stress progenitor cells / R. F. Paulson., Shi Lei, Wu. Dai-chen // NIH Public Access Author Manuscript Curr Opin Hematol. – 2011. – No.18. – pp.139–145.
6. Popov V.S. Secondary immunodeficiency in pigs: clinical and immunological characteristics and principles of immunocorrection / V.S. Popov, N.V. Samburov, N.V. Vorobyova, [et al.] // Bulletin of the Kursk State Agricultural Academy – 2016. – No. 3. – pp. 57-61.
7. Ksenzova T.I. and others. The role of immunophenotyping of bone marrow and cerebrospinal fluid cells in the diagnosis of multiple myeloma and plasma cell leukemia / T. I. Ksenzova, E.V. Anikina, O.V. Ananyeva, [et al.] // Fundamental Research. – 2012. – No. 8-1. – pp. 101-106.
8. Tatoyan M. Ontogenesis of the pig erythroid cells / M. Tatoyan, E. Karalova, L. Hakobyan [et al.] // Porcine Research. – 2015. – Vol. 5. – No. 1. – pp. 12-22.
9. Khasanov B.B. Hematological features in toxic hepatitis / B.B. Khasanov // Achievements of science and education. – 2022. – №. 5 (85). – Pp. 53-59.
10. Abrashova T.V. Handbook. Physiological, biochemical and biometric indicators of the norm of experimental animals. St. Petersburg. / T.V. Abrashova, Ya.A. Gushchin., M.A. Kovaleva, [et al.] // Publishing house "LEMA", 2013. – 116 p.
11. Rukavishnikova S.A. Fundamentals of clinical immunology / S. A. Rukavishnikova., A.S. Pushkin, T.A. Akhmedov // – 2015.
12. Kazyuchits M.V. Influence of sodium thiosulfate and vitamin C on biochemical blood parameters and myelogram in piglets during immunization with the ATP vaccine / M.V. Kazyuchits // – 2011.
13. Bulgakova O.S. Changes in the morphological composition of blood under stress and as a result of corrective sessions using the biofeedback method / O.S. Bulgakova // Psychology of education in a multicultural space. - 2010. – Vol. 1. – No. 1. – pp. 102-115.
14. Detivaud L. Hepcidin levels in humans are correlated with hepatic iron stores, hemoglobin levels, and hepatic function / L. Detivaud, E. Nemeth, K. Boudjema [et al.] // Blood. – 2005. – Vol. 106. – No. 2. – pp. 746-748.
15. Saroyan D.A. Violation of myelopoiesis in the acute form of African swine fever: dissertation of the National Academy of Sciences of the Republic of Armenia Institute of Molecular Biology, 2016.
16. Siraziev R.Z. Hypotrophy of piglets in industrial pig farming / R.Z. Siraziev // Bulletin of the Buryat State Agricultural Academy named after V.R. Filippov. 2021. No. 4 (65). pp. 84-94.
17. Mikhailov E. PSVIII-6 Cytomorphological features of the bone marrow of hypotrophic piglets / E. Mikhailov, Y. Shaposhnikova, B. Shabunin [et al.] // Journal of Animal Science. – 2020. – Vol. 98. – no. Supplement_4. – pp. 256-256.

УДК: 619:616.513:582.28
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.4.100

ОЦЕНКА ЭМБРИОТОКСИЧЕСКОГО И ТЕРАТОГЕННОГО ДЕЙСТВИЯ НОВОГО КОМПЛЕКСНОГО АНТИМИКОТИЧЕСКОГО ПРЕПАРАТА

Мусин Р.Р.* – канд. ветеринар. наук, ст. науч. сотр. лаборатории ветеринарной биотехнологии (ORCID 0009-0009-4538-2667); **Ганиев И.М.** – канд. биол. наук, ст. науч. сотр. лаборатории ветеринарной биотехнологии (ORCID 0000-0002-6171-5347); **Тремасова А.М.** – д-р биол. наук, зав. отделением биотехнологии (ORCID 0000-0002-1706-134X); **Бирюля В.В.** – канд. биол. наук, вед. науч. сотр. лаборатории ветеринарной биотехнологии (ORCID 0000-0003-0428-0997); **Идиятов И.И.** – канд. биол. наук, вед. науч. сотр. лаборатории ветеринарной биотехнологии (ORCID 0000-0001-9279-4001); **Ерошин А.И.** – науч. сотр. лаборатории ветеринарной биотехнологии (ORCID 0000-0002-3108-410X); **Сафарова Э. Р.** – мл. науч. сотр. лаборатории ветеринарной биотехнологии (ORCID 0009-0005-8877-4741).

ФГБНУ «Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности»

* musinrifkat@mail.ru

***Ключевые слова**: дерматофитозы, эмбриотоксическое действие, тератогенное действие, животные, антимикотическое средство, белые крысы*

***Keywords**: dermatophytosis, embryotoxic effect, teratogenic effect, animals, antimycotic agent, white rats*

Поступила:11.11.2024 **Принята к публикации: 02.12.2024**
Опубликована онлайн:16.12.2024

РЕФЕРАТ

Грибковые патогены – дерматофиты часто являются основной причиной возникновения заболеваний кожных покровов у сельскохозяйственных и домашних животных. Данные возбудители способны вызывать поверхностные грибковые инфекции – дерматофитозы. Рынок ветеринарных препаратов для лечения животных при дерматофитозах представлен широким спектром антимикотических средств, однако схемы лечения с применением имеющихся препаратов часто становятся недостаточно эффективными, поскольку у дерматофитов, инфицирующих кожные покровы, возникает к ним резистентность. Вместе с тем, отдельные фармакологические препараты при поступлении в организм с кормом или в результате наружных обработок могут отрицательно воздействовать на физиологическое состояние животных, в частности на их репродуктивную функцию. В работе приведена оценка эмбриотоксического и тератогенного действия, регистрируемого в антенатальном и постнатальном периодах развития потомства белых крыс при наружном применении нового комплексного антимикотического средства против дерматофитозов животных под названием «Фунгикор». Установлено, что препарат в минимальной (1500 мг/кг массы тела) и в максимальной (15000 мг/кг массы тела) дозах при накожном

нанесении самкам белых крыс с 1-го по 19-е сутки беременности не оказывал неблагоприятного действия на развитие эмбрионов и плодов. Достоверных изменений по параметрам постнатального развития потомства опытных групп в сравнении с контролем обнаружено не было. Таким образом, препарат «Фунгикор» эмбриотоксическим и тератогенным действием не обладает.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

В связи со значительным экономическим ущербом животноводческому сектору проблема поверхностных грибковых инфекций (дерматофитозов), вызываемых микроскопическими грибами родов *Microsporum spp.* и *Trichophyton spp.* приобретает большое значение. Заболеванию подвержены практически все виды животных. Болеет и человек. Широко распространены дерматофитозы и среди мелких домашних животных. Чаще всего заражение происходит при непосредственном контакте больных животных со здоровыми, реже – через предметы ухода. Возбудители устойчивы к воздействию факторов окружающей среды. Споры дерматофитов отличаются высокой выживаемостью, что способствует распространению заболевания среди животных [1, 2]. Экономические потери в животноводстве при дерматофитозах складываются от потери товарной ценности кожевенного сырья, снижения прироста молодняка и удоев у коров, затрат на лечебные и профилактические мероприятия. Между тем определенное беспокойство вызывает и бессимптомное миконосительство, которое по некоторым данным может составлять от 34,8 % до 80,4 % [3]. В последнее время возрастает проблема резистентности микроскопических грибов к противогрибковым средствам, поэтому внедрение в ветеринарную практику новых и эффективных антимикотических препаратов приобретает особую значимость.

Разработан новый комплексный антимикотический препарат на основе эфирных масел под рабочим названием «Фунгикор», предназначенный для терапии дерматофитозов у сельскохозяйственных и домашних животных. В качестве вспомогательных веществ использованы органические соединения, способствующие трансдермальному переносу действующих веществ и оказывающие смягчающее и дерматопротекторное действие.

Известно, что новые терапевтические средства должны быть безопасными не только для самих животных, но и в отношении их потомства [4, 5]. В связи с возможным развитием поражения плода при введении лекарственных средств животным во время беременности оценка безопасности ветеринарных препаратов является актуальной. Так как некоторые лекарственные препараты могут оказывать неблагоприятное воздействие на развивающийся плод и потомство, то с целью исключения риска развития врожденных пороков необходимо определить их возможное эмбриотоксическое действие, что является важным элементом их доклинической оценки [6-9].

Целью данной работы являлось изучение эмбриотоксического и тератогенного действия нового антимикотического препарата «Фунгикор».

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Исследования проводили на клинически здоровых аутбредных белых крысах в соответствии с «Руководством по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая» и «Руководством по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ» [10, 11]. Стадию полового цикла у самок устанавливали по состоянию эпителия в вагинальных мазках. Затем к самцам подсаживали самок в состоянии половой охоты (две самки на одного самца). День обнаружения сперматозоидов в вагинальном мазке считали первым днем беременности. Таким образом, сформировали 3 группы оплодотворенных самок белых крыс по 20 голов в каждой.

С 1 по 19 сутки беременности животным опытных групп на предварительно выстриженный участок кожи размером

3х3 см наносили препарат в минимальной (1500 мг/кг массы тела – группа опыт 1) и максимальной (15000 мг/кг массы тела – группа опыт 2) дозах. Крысам контрольной группы на кожу наносили дистиллированную воду. Клинический осмотр животных проводили ежедневно в течение всего периода беременности, массу тела регистрировали на 1, 5, 10, 15 и 20 сутки.

По 10 самок из каждой группы на 20-е сутки беременности подвергали эвтаназии, оценивали количество, массу и краниокаудальный размер плодов. Плоды осматривали на наличие внешних аномалий развития, подсчитывали количество мест имплантации и желтых тел, вычисляли предимплантационную, постимплантационную гибель эмбрионов и общую эмбриональную смертность. По методу Dawson A. B. исследовали состояние скелета [12]. По методу Wilson J. G. определяли наличие внутренних аномалий развития [13]. Вторую половину самок для того, чтобы проследить развитие потомства, оставляли до родов. Оценку сенсорно-двигательных рефлексов новорожденных крысят проводили с помощью тестов: «отрицательный геотаксис», «переворачивание на плоскости», «мышечная сила», «избегание обрыва».

Статистическую обработку данных проводили с помощью программного обеспечения Microsoft Office Excel. Статистическую достоверность разницы определяли по t-критерию Стьюдента с поправкой Бонферрони. Достоверными считали различия сравниваемых показателей при 95 % доверительной вероятности ($p \leq 0,05$).

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Гибели и симптомов интоксикации у крыс опытных и контрольной групп не отмечали. Достоверных различий в динамике прироста массы тела установлено не было. Так, прирост массы тела у животных контрольной группы к 20 суткам беременности составил 85,3 г, а в опытных группах 82,8 г и 80,9 г соответственно. Данные показатели указывают на то, что испытуемый препарат не оказывает токсического воздействия во время беременности (таблица 1).

Количество, масса и краниокаудальный размер плодов в исследуемых группах не имели значимых отличий от животных контрольной группы. Все крысята в физиологическом развитии не имели отклонений от нормы, что свидетельствует об отсутствии тератогенного действия у препарата. Предимплантационная гибель эмбрионов в группах опыт 1 и опыт 2 составила 3,57 % и 3,77 %, тогда как в контрольной группе данный показатель имел значение 3,60 %. Показатели постимплантационной гибели плодов в группах опыт 1 (5,55 %) и опыт 2 (5,88 %) не имели достоверных отличий от группы контроля (4,67 %). Морфологические изменения при осмотре извлечённых плодов всех групп подопытных животных не обнаруживались. Аномалий развития внутренних органов, нарушение их топографии и дефектов развития скелета не выявлено (таблица 2). Данный факт свидетельствует о том, что данный препарат не вызывает нарушение процессов оссификации.

Так же исследования показали, что количество позвонков у плодов во всех группах соответствует норме, топография хрящевых и костных закладок не нарушена.

Показатели развития потомства подопытных животных отражены в таблице 3.

Количество плодов в пересчете на одну самку в опытных и контрольных группах достоверно не отличалось. Уродств и мертворожденных крысят отмечено не было. В опытных группах масса тела новорожденных крысят составила 4,04 г и 3,63 г, в контрольной – 4,21 г. Отличий в динамике массы тела крысят в течение первого месяца жизни не выявлено. Не отмечалось аномалий и в физиологическом развитии крысят в постнатальный период. Отлипание ушной раковины у крысят всех групп наблюдалось в среднем на 3-и сутки. На 5-е сутки появлялся волосяной покров, прорезывание зубов происходило на 8-9-е сутки,

открытие глаз – на 14-15-е сутки. За время наблюдений за крысятами отклонений в физиологическом развитии установлено не было. Таким образом, у препарата «Фунгикор» отсутствует тератогенный эффект.

Результаты исследования эмоционально-двигательного поведения потомства подопытных крыс приведены в таблице 4.

Рефлексы «отрицательный геотаксис» и «переворачивание на плоскости» у крысят всех групп полностью были сформированы на 7 и 4 сут, а рефлексы «мышечная сила» и «избегание обрыва» – к 15 и 8 сут. соответственно. Таким образом, сенсорно-двигательные рефлексы у потомства животных опытных групп имели нормальное развитие.

Таблица 1 – Показатели массы тела крыс при накожном нанесении препарата с 1-го по 20-й дни беременности (M±m, n=20)

Экспериментальная группа	Дни беременности					Прирост массы, г
	1	5	10	15	20	
Контроль	198,7±2,4	220,6±2,7	240,6±2,3	261,1±3,1	283,4±2,9	85,3±3,1
Опыт 1	201,8±2,7	221,2±3,9	242,2±1,8	259,8±2,5	284,6±3,3	82,8±2,5
Опыт 2	198,6±1,6	215,3±3,4	239,9±2,8	257,9±3,4	279,5±3,8	80,9±2,7

Примечание - Достоверных отличий между опытом и контролем нет при 95% уровне вероятности

Таблица 2 – Изучение эмбриотоксического действия препарата «Фунгикор» при накожном применении крысам (M±m, n=10)

Показатель	Группа животных		
	контроль	опыт 1	опыт 2
Количество живых плодов, всего/среднее	102/10,2±0,3	102/10,2±0,3	96/9,6±0,5
Количество мест имплантации, всего/среднее	107/10,7±0,3	108/10,8±0,1	102/10,2±0,9
Количество желтых тел, всего/среднее	111/11,1±0,5	112/11,2±0,3	106/10,6±0,4
Количество мест резорбции, всего/среднее	5/0,5±0,01	6/0,6±0,02	6/0,6±0,01
Гибель предимплантационная, %	3,60±0,33	3,57±0,56	3,77±0,25
Гибель постимплантационная, %	4,67±0,54	5,55±0,42	5,88±0,65
Смертность общая эмбриональная, %	8,10±0,45	8,92±0,58	9,43±0,63
Краниокаудальный размер плода, мм	30,7±0,95	30,6±1,14	30,2±0,81
Масса плода, г	2,46±0,06	2,43±0,04	2,38±0,04
Аномалии развития, %	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
Аномалии внутренних органов, %	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00

Примечание - Достоверных отличий между опытом и контролем нет при 95% уровне вероятности

Таблица 3 – Показатели физиологического развития потомства крыс при накожном нанесении препарата «Фунгикор» (M±m)

Показатель	Группа животных		
	контроль	опыт 1	опыт 2
Кол-во пометов	10	10	10
Кол-во крысят, всего/среднее	121/12,1±0,41	116/11,6±0,36	114/11,4±0,62
Мертворождения, %	2,5±0,08	2,4±0,06	2,5±0,05
Масса тела новорожденных крысят, г	4,21±0,19	4,04±0,09	3,63±0,06
Масса тела крысят на 3 сут, г	7,61±0,22	7,3±0,17	7,3±0,21
Масса тела крысят на 5 сут, г	10,1±0,43	9,7±0,52	9,5±0,33
Масса тела крысят на 13 сут, г	18,7±0,58	18,5±0,51	18,6±0,49
Масса тела крысят на 21 сут, г	24,3±1,51	24,0±1,32	23,8±1,14
Масса тела крысят на 28 сут, г	33,1±1,44	32,8±1,71	32,5±0,86
Срок отлипания ушей, сут	3,4±0,12	3,4±0,15	3,5±0,20
Срок опушения, сут	5,5±0,24	5,5±0,18	5,6±0,21
Срок открытия глаз, сут	14,5±1,10	15,2±0,74	15,7±0,62
Срок прорезывания резцов, сут	8,3±0,23	8,6±0,19	8,6±0,22
Примечание – Достоверных отличий между опытом и контролем нет при 95% уровне вероятности			

Таблица 4 – Оценка сенсорно-двигательных рефлексов потомства крыс при накожном нанесении препарата «Фунгикор» с 1-го по 19-е сут. беременности

Тест	День окончательного формирования рефлекса		
	Контроль	Опыт 1	Опыт 2
Отрицательный геотаксис	6,84±0,17	6,92±0,20	6,96±0,16
Переворачивание на плоскости	4,17±0,08	4,24±0,06	4,27±0,08
Мышечная сила	15,35±0,95	15,35±0,87	15,42±0,89
Избегание обрыва	8,45±0,24	8,52±0,17	8,51±0,14
Примечание - Достоверных отличий между опытом и контролем нет при 95% уровне вероятности			

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

В этиологии возникновения кожных заболеваний у животных значительная роль принадлежит микроскопическим грибам – дерматофитам. Современная ветеринарная медицина нуждается в эффективных и безопасных препаратах для лечения животных при дерматофитозах. Одним из критериев подтверждающих безопасность новых препаратов является изучение их эмбриотоксических свойств. Исследованиями установлено, что новый комплексный антимикотический препарат «Фунгикор» не оказывал негативного влияния на общее состояние самок белых крыс при ежедневном накожном нанесении в течение первых 19 сут беременности в дозах 1500 и 15000 мг/кг массы тела и не способствовал развитию аномалий у плодов. В постнатальном периоде развитие, динамика массы тела и скорость созревания сенсорно-двигательных рефлексов у потомства опытных крыс соответствовали физиологическим нормам для данного вида животных. В связи с вышеуказанным можно заключить, что препарат «Фунгикор» в изученных дозировках не обладает эмбриотоксическим и тератогенным действием.

EVALUATION OF THE EMBRYOTOXIC AND TERATOGENIC EFFECTS OF A NEW COMPLEX ANTIMYCOTIC DRUG

Musin R.R. * – Candidate of Veterinary Sciences, Senior Researcher at the Laboratory of Veterinary Biotechnology (ORCID

0009-0009-4538-2667); **Ganiev I.M.** – Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher at the Laboratory of Veterinary Biotechnology (ORCID 0000-0002-6171-5347); **Tremasova A.M.** – Doctor of Biological Sciences, Head of the Biotechnology Department (ORCID 0000-0002-1706-134X); **Biryulya V.V.** – Candidate of Biological Sciences, Leading Researcher at the Laboratory of Veterinary Biotechnology (ORCID 0000-0003-0428-0997); **Idiyatov I.I.** – Candidate of Biological Sciences, Leading Researcher at the Laboratory of Veterinary Biotechnology (ORCID 0000-0001-9279-4001); **Eroshin A.I.** – Researcher at the Laboratory of Veterinary Biotechnology (ORCID 0000-0002-3108-410X); **Safarova E.R.** – Junior Researcher at the Laboratory of Veterinary Biotechnology (ORCID 0009-0005-8877-4741).

Federal Center for Toxicological, Radiation and Biological Safety

* musinrifkat@mail.ru

ABSTRACT

Fungal pathogens – dermatophytes are often the main cause of skin diseases in agricultural and domestic animals. These pathogens can cause superficial fungal infections – dermatophytosis. The market of veterinary drugs for the treatment of animals with dermatophytosis is represented by a wide range of antimycotic agents, however, treatment regimens using available drugs often become insufficiently effective, since dermatophytes infecting the skin become resistant to them. At the same time, certain pharmacological preparations, when ingested with food or as a result of external treatments, can negatively affect the physiological state of animals, in particular their reproductive function. The paper presents an assessment of the embryotoxic and teratogenic effects recorded in the antenatal and postnatal periods of development of the offspring of white rats with the external use of a new complex antimycotic agent against dermatophytosis of animals "Fungicor". It was found that the drug in the minimum (1500 mg / kg body weight) and maximum (15,000 mg / kg body weight) doses when applied to female white rats from the 1st to the 19th day of pregnancy did not have an adverse effect on the development of embryos and fetuses. There were no significant changes in the parameters of postnatal development of the offspring of the experimental groups in comparison with the control. Thus, the drug "Fungicor" does not have an embryotoxic and teratogenic effect.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Королева, В. П., Иванова Л. Г. Возбудители дерматомикозов животных и их лабораторная диагностика // Ветеринарная микология и микробиология: Труды ВИЭВ. Москва, 1987. – С. 32–41.
2. Оценка острой накожной токсичности антимикотического средства / Р. Р. Мусин, Рин. С. Мухаммадиев, И. М. Ганиев, Э. Р. Сафарова // Сборник материалов Всероссийской научно-практической конференции с международным участием. Казань, 2023. – С. 286–290.
3. Овчинников, Р. С., Маноян М. Г., Гайнуллина А. Г. Бессимптомное миконосительство и его значение в распространении дерматофитозов животных и человека // VetPharma. – 2012. – № 3. – С. 40–44.
4. Изучение антимикотической активности веществ в отношении дерматофитов рода *Microsporum* / Рин. С. Мухаммадиев, Р. Р. Мусин, Титова В. Ю. [и др.] // Ветеринарный врач. – 2023. – № 2. – С. 23–27. DOI: 10.33632/1998-698X_2023_2_23.
5. Оценка противогрибковой активности веществ в отношении дерматофитов рода *Trichophyton* / Рин. С. Мухаммадиев, Р. Р. Мусин, Титова В. Ю. [и др.] // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. – 2022. – № 12 (218). – С. 98–104.
6. Изучение токсикодинамики «Стартин-Фито» после введения крысам в различные сроки беременности / Э. К. Рахматуллин [и др.] // Ветеринарный врач. – 2022. – № 6. – С. 50–55.
7. Изучение эмбриотоксического свойства нового противопаразитарного препарата "Стоппар" / А. В. Зайцева, М. Х. Лутфуллин, Р. Р. Гиззатуллин, Р. Р. Тимербаева // Ветеринарный врач. – 2023. –

№ 5. – С. 68-72.
8. Изучение эмбриотоксического действия антибактериального препарата «Доксициклин-Комплекс» / К. И. Сазыкина [и др.] // Современные проблемы науки и образования. – 2014. – № 3. – С. 822.
9. Изучение эмбриотоксического действия препарата «Эндосептам» /
А. И. Ерошин, А. М. Тремасова, В. В. Бирюля [и др.] // Международный вестник ветеринарии. – 2024. – № 2. – С. 88-94.
10. Миронов, А. Н. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. / А. Н. Миронов – М.: Гриф и К, 2012. – 944 с.
11. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / Под общ. ред. чл.-корр. РАМН, проф. Р. У. Хабриева. – М.: ОАО «Изд-во «Медицина», 2005. – 832 с.
12. Dawson, A. B. Note on the staining of the sceletion cleared specimens with alizarin reds / A. B. Dawson // Stain Tecnol. – 1926. – №. 1. – P. 123–128.
13. Wilson, J. G. Embriological consideration in teratology methods administering agents and detecting malformations in experimental animals / J. Wilson // Technigues. Univ. Chicago Press. – 1965. – P. 231–262.

REFERENCES

1. Koroleva, V. P., Ivanova L. G. Pathogens of animal dermatomycosis and their laboratory diagnostics // Veterinary mycology and microbiology: Proceedings of the RES. Moscow, 1987. – P. 32–41. (In Russ.)
2. The study of acute cutaneous toxicity of an antimycotic agent. / R. R. Musin, Rin. S. Mukhammadiev, I. M. Ganiev, E. R. Safarova // Collection of materials of the All-Russian scientific and practical conference with international participation. Kazan, 2023. – P. 286–290. (In Russ.)
3. Ovchinnikov, R. S., Manoyan M. G., Gainullina A. G. Asymptomatic mycophytosis and its significance in the spread of dermatophytosis in animals and humans // VetPharma. – 2012. – No 3. – P. 40–44. (In Russ.)
4. The study of the antimycotic activity of substances against dermatophytes of the genus *Microsporum* / Rin. S. Mukhammadiev, R. R. Musin, V. Yu. Titova [et al.] // Veterinarian. – 2023. – No 2. – P. 23–27.
5. Evaluation of the antifungal activity of substances against dermatophytes of the genus *Trichophyton* / Rin. S. Mukhammadiev, R. R. Musin, V. Yu. Titova [et al.] // Bulletin of the Altai State Agrarian University. – 2022. – No 12 (218). – P. 98–104.
6. The study of the toxicodynamics of "Startin-Phyto" after administration to rats at various stages of pregnancy / E. K. Rakhmatullin [et al.] // Veterinarian. – 2022. – No 6. – P. 50–55. (In Russ.)
7. Study of the embryotoxic properties of a new antiparasitic drug "Stoppar" / A. V. Zaitseva, M. Kh. Lutfullin, R. R. Gizzatullin, R. R. Timerbaeva // Veterinary doctor. – 2023. – No 5. – P. 68-72.
8. The study of the embryotoxic effect of the antibacterial drug "Doxycycline Complex" / K. I. Sazykina [et al.] // Modern problems of science and education. – 2014. – No. 3. – P. 822. (In Russ.)
9. The study of the embryotoxic effect of the drug "Endoseptam" / A. I. Eroshin, A. M. Tremasova, V. V. Birulya [et al.] // International Journal of Veterinary Medicine. – 2024. – No. 2. – P. 88-94. –
10. Mironov, A. N. Guidelines for conducting preclinical studies of medicines. Part one. / A. N. Mironov – M. : Vulture and K, 2012. – 944 p. (In Russ.)
11. Guidelines for the experimental (preclinical) study of new pharmacological substances / Under the general editorship of the corresponding member of the Russian Academy of Medical Sciences, prof. R. U. Khabrieva. – M.: JSC "Publishing House "Medicine", 2005. – 832 p. (In Russ.)
12. Dawson, A. B. Note on the staining of the sceletion cleared specimens with alizarin reds / A. B. Dawson // Stain Tecnol. – 1926. – No.1. – P. 123-128. (In Eng.)
13. Wilson, J. G. Embriological consideration in teratology methods administering agents and detecting malformations in experimental animals / J. Wilson // Technigues. Univ. Chicago Press. – 1965. – P. 231-262.

УДК: 636.5.082.31.03.087.7
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.4.107

ВЛИЯНИЕ БЕТАИНА У ПЕТУХОВ ЛИНИИ СМ 7 КРОССА «СМЕНА 9» В УСЛОВИЯХ ОГРАНИЧЕННОГО КОРМЛЕНИЯ

Ильин Г.М.[1] – мл. науч. сотр. отдела фармакологии и токсикологии (ORCID 0009-0009-5706-2564); **Лунегов А.М.** [2] – канд. ветеринар. наук, доц., зав. каф. фармакологии и токсикологии (ORCID 0000-0003-4480-9488); **Слободянюк А.А.**[1] – мл. науч. сотр. отдела фармакологии и токсикологии (ORCID 0009-0003-2680-6870)

[1] Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт птицеводства» – филиал ФНЦ «ВНИТИП» (ВНИВИП)
[2] ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины»

[*] a.m.lunegov@mail.ru

Ключевые слова: бетаин, продуктивность, неспецифическая резистентность, петухи линии СМ 7 кросса «Смена 9».
Key words: betaine, productivity, non-specific resistibility, cocks of the SM 7 line of the "Smena 9" cross.

Поступила: 23.10.2024 **Принята к публикации: 02.12.2024**
Опубликована онлайн:16.12.2024

РЕФЕРАТ
В научной статье представлены результаты изучения влияния применения бетаина в форме кормовой добавки «Бетакорм» на продуктивность, неспецифическую резистентность и перекисное окисление у петухов линии СМ 7 кросса «Смена 9» в условиях ограниченного кормления. Были отобраны суточные цыплята-прародители и сформировано 2 группы (опытная и контрольная) по 20 голов в каждой. Длительность эксперимента составляло 38 дней. Опытной группе включали в рацион добавку «Бетакорм» отечественного производства, содержащую 32% бетаина, в количестве 2 г/кг корма с десятидневного возраста постепенно снижая норму суточного потребления корма. Цыплят выращивали в условиях вивария ВНИВИП. На 38-е сутки жизни, в условиях ограниченного кормления, в опытной группе, получавшей бетаин, наблюдалось увеличение живой массы на 5,6%, среднесуточного привеса на 5,7%, а также снижение конверсии корма на 5,7%. Оценка неспецифической резистентности показала тенденцию улучшения морфологического состава крови и повышение на 15,3% бактерицидной активности гранулоцитов крови. Применение бетаина в рационе цыплят способствовало достоверному снижению уровня малонового диальдегида на 15,5%. При исследовании биохимических показателей плазмы крови (табл. 5) у цыплят опытной группы установлена тенденция увеличения количества общего белка и альбумина на 4,4% и 7,3%, кальция и фосфора на 2,5% и 16,8%, а также уменьшения активности аспартатаминотрансферазы на 3,6%. Полученные результаты свидетельствуют о благоприятном вли-

янии бетаина в рационе на здоровье цыплят. Установлено улучшение неспецифической резистентности, повышение показателей продуктивности, бактерицидной активности гранулоцитов и биохимических показателей крови.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Обеспечение высоких показателей рентабельности является одной из важнейших проблем птицеводческой отрасли. Содержание птицы в условиях высокой плотности поголовья, воздействие сопровождающих стресс факторов приводят к значительному снижению продуктивности и резистентности организма, повышению заболеваемости и падежу [1].

Влияние на организм стресс факторов приводит к высвобождению свободных радикалов, приводящих к нарушению синтеза белка, липидов [2, 3]. Применение различных биологически активных веществ смягчает их негативное влияние, повышает стрессоустойчивость [2, 3, 4,5].

Организм животных не способен к самостоятельному синтезу метильных групп и в условиях стресса они необходимы в большем количестве [6]. В связи с этим большой интерес представляет бетаин, который является модифицированной аминокислотой, состоящей из глицина с тремя метильными группами. Он служит донором метильных групп для различных метаболических путей [7,8].

Ограничение в потреблении корма положительно сказывается на обмене веществ петухов, предотвращая избыточное накопление жира в организме, также оно обеспечивает равномерный рост костяка и мышечной ткани относительно внутренних органов [9].

Цель данной работы - изучение влияния бетаина на продуктивность неспецифическую резистентность и перекисное окисление липидов у петухов линии СМ 7 кросса «Смена 9» в условиях последующего щадящего ограничения кормления. Для изучения использовали кормовую добавку «Бетакорм», отечественного производства, содержащую 32% бетаина.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Работу проводили в отделе фармакологии и токсикологии и в условиях вивария ВНИВИП. Были отобраны суточные цыплята-прародители и сформировано 2 группы по 20 голов в каждой. Длительность эксперимента 38 дней. Исследования показателей проводились на 1 и 38 сутки жизни. Опытной группе включили в рацион добавку «Бетакорм» в количестве 2 г/кг корма с десятидневного возраста со сниженной нормой суточного потребления корма. Принцип ограниченного кормления заключается в сокращении норм потребления корма.

С целью оценки неспецифической резистентности исследовали бактерицидную активность гранулоцитов крови (лизомально-катионный тест) [10], морфологический состав крови, некоторые биохимические показатели плазмы крови, такие как общий белок, альбумин, кальций, фосфор, АсАТ и дополнительно малоновый диальдегид [11] на 1 и 38 сутки жизни. Гематологические показатели определялись на анализаторе Dymind DF50 и ручными методами подсчета лейкограммы; биохимию плазмы крови на анализаторе IMagic S7; определение уровня малонового диальдегида проводили с помощью спектрофотометрии. Оценку статистических данных проводили по критерию t-стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

На 38-е сутки жизни, в условиях ограниченного кормления, в опытной группе, получавшей бетаин, наблюдалось достоверное увеличение живой массы на 5,6%, а также повышение среднесуточного привеса на 5,7% и снижение конверсии корма на 5,7% (табл. 1). Продуктивные показатели являются эффективным критерием обменных процессов птиц в период роста и показателем состояния организма при воздействии технологических стресс факторов.

Оценка неспецифической резистентности не показала значимых улучшений морфологического состава крови (табл. 2), однако наблюдалось достоверное повышение на 15,3% бактерицидной активности гранулоцитов крови (табл. 3). Лизо-

сомально-катионный тест основан на выявлении неферментных катионных белков, локализующихся в гранулах (лизосомах) нейтрофильных и эозинофильных гранулоцитов. Данные белки обладают бактерицидным действием, нарушая структуру и функции мембраны микробных клеток.

В связи с поставленными задачами, было проведено определение малонового диальдегида в цельной крови. Малоновый диальдегид образуется в организме при дегидрировании полиненасыщенных жиров свободными радикалами и служит биомаркером пероксидации и оксидативного стресса [12]. Применение бетаина в рационе цыплят способствовало достоверному снижению уровня малонового диальдегида на 15,5% (табл. 4).

При исследовании биохимических показателей плазмы крови (табл. 5) у цыплят опытной группы установлена тенденция увеличения количества общего белка и альбумина на 4,4% и 7,3%, кальция и фосфора на 2,5% и 16,8%, а также уменьшения активности аспартатаминотрансферазы на 3,6%.

Изменения уровня белка, альбумина и кальция в крови связано с влиянием бетаина на иммунную систему, в том числе и на неспецифическую резистентность. Повышение уровня белка и альбумина свидетельствует об улучшении белкового обмена в организме цыплят [13].

Таблица 1 – Продуктивные показатели цыплят при ограниченном кормлении (M±m, n=20)

Показатель	Группа	
	Контроль	Опыт
Средняя живая масса (г) в 1 сут.	42,67±0,84	42,79±0,77
Средняя живая масса (г) в 38 сут.	1998,53±26,24	2110,22±21,12*
Среднесуточный прирост, г.	55,88	59,07
Конверсия корма	1,30	1,23

*Различия с контрольной группой достоверны при: * p<0,01.*

Таблица 2 – Результаты общего клинического анализа крови цыплят, (M±m, n=5)

Показатель	Сроки исследования, сут.	Группа	
		Контроль	опыт
Гемоглобин, г/л	1	97,20±5,30	97,60±5,73
	38	142,00±3,32	147,00±1,64
Эритроциты 10^{12}/л	1	2,15±0,10	2,13±0,10
	38	2,65±0,06	2,76±0,03
Гематокрит, %	1	29,92±1,49	29,88±1,34
	38	34,40±0,89	35,28±0,46
Лейкоциты, 10^{9}/л	1	21,70±2,27	22,20±2,11
	38	36,06±1,81	37,30±1,55

Таблица 3 – Бактерицидная активность гранулоцитов крови цыплят, (M±m, n=5)

Сроки исследования, сут.	Контроль	Опыт
1	1,81±0,08	1,78±0,08
38	2,02±0,07	2,33±0,04*

*Различия с контрольной группой достоверны при: * p<0,01.*

Таблица 4 – Содержание малонового диальдегида в крови цыплят, мкмоль/л (M±m, n=5)

Сроки исследования, сут.	Группа	
	Контроль	Опыт
1	2,31±0,15	2,28±0,20
38	2,46±0,06	2,13±0,09*

*Различия с контрольной группой достоверны при: * p<0,01.*

Таблица 5-Биохимические показатели плазмы крови цыплят, (M±m, n=5)

Показатель	Сроки исследования, сут.	Группа	
		Контроль	Опыт
Общий белок, г/л	1	25,37±2,28	24,33±2,76
	38	29,10±0,72	30,40±0,66
Альбумин, г/л	1	14,00±1,68	15,03±1,41
	38	21,50±0,95	22,00±0,38
Кальций, ммоль/л	1	3,21±0,03	3,11±0,18
	38	3,11±0,05	3,19±0,05
Неорганический фосфор, ммоль/л	1	4,73±0,15	4,78±0,18
	38	4,62±0,11	5,04±0,30
Аспартат-аминотрансфераза, Ед/л	1	161,97±3,90	162,87±11,05
	38	205,76±4,30	198,52±17,00

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Повышение продуктивных и физиологических показателей организма прародительского и родительского стада имеет важное значение в улучшении показателей потомства. Приведенные результаты свидетельствуют, что применение бетаина в рационе петухов линии СМ 7 кросса «Смена 9», при ограниченном кормлении, привело к повышению у них показателей неспецифической резистентности, увеличению показателей продуктивности (повышение живой массы, среднесуточного привеса и снижение конверсии корма), снизило влияние оксидативного стресса.

THE EFFECT OF BETAINE IN ROOSTERS OF THE CM 7 LINE OF THE "SHIFT 9" CROSS IN CONDITIONS OF LIMITED FEEDING

Ilyin G.M. [1] – Junior Researcher at the Department of Pharmacology and Toxicology (ORCID 0009-0009-5706-2564); **Lunegov A.M.** [2*] – Candidate of Veterinary Sciences, Associate Professor Head of the Department of Pharmacology and Toxicology (ORCID 0000-0003-4480-9488); **Slobodyanyuk A.A.** [1] – Junior Researcher at the Department of Pharmacology and Toxicology (ORCID 0009-0003-2680-6870)

[1] All-Russian Scientific Research Veterinary Institute of Poultry Farming — branch of the FSBSI of the FSC (All-RSRTIPF)

[2] St. Petersburg State University of Veterinary Medicine

[*] a.m.lunegov@mail.ru

ABSTRACT

The scientific article presents the results of studying the effect of the use of betaine in the form of a feed additive "Betacorm" on productivity, nonspecific resistance and peroxide oxidation in roosters of the CM 7 line of the "Shift 9" cross in conditions of limited feeding. Day-old progenitor chickens were selected and 2 groups (experimental and control) of 20 heads each were formed. The duration of the experiment was 38 days. The experimental group was included in the diet of the additive "Betacorm" of domestic pro-

duction, containing 32% betaine, in the amount of 2 g / kg of feed from the age of ten days, gradually reducing the rate of daily feed intake. The chickens were raised in vivarium conditions in VIVIP. . On the 38th day of life, under conditions of limited feeding, in the experimental group receiving betaine, there was an increase in body weight by 5.6%, an average daily gain of 5.7%, as well as a decrease in feed conversion by 5.7%. The assessment of nonspecific resistance showed a tendency to improve the morphological composition of blood and an increase in the bactericidal activity of blood granulocytes by 15.3%. The use of betaine in the diet of chickens contributed to a significant decrease in the level of malondialdehyde by 15.5%. In the study of biochemical parameters of blood plasma (Table. 5) the chickens of the experimental group showed a tendency to increase the amount of total protein and albumin by 4.4% and 7.3%, calcium and phosphorus by 2.5% and 16.8%, as well as a decrease in the activity of aspartate aminotransferase by 3.6%. The results obtained indicate the beneficial effect of betaine in the diet on the health of chickens. An improvement in nonspecific resistance, an increase in productive indicators, bactericidal activity of granulocytes and biochemical parameters of blood were found.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Колпакова, Л.В. Повышение жизнеспособности птиц, улучшение качества яичной и мясной продукции в условиях промышленного производства / Л.В. Колпакова, М.Ю. Саенко // Материалы XVII Международной конференции ВНАП. – Сергиев Посад, 2012 – С. 349 2

2. Фисинин, В. И. Эффективная защита от стрессов в птицеводстве: от витаминов к витагенам / В. И. Фисинин, П. Ф. Сурай // Птица и птицепродукты. – 2011 – № 5 – С. 23–26.

3. Шацких, Е. В. Развитие внутренних органов яичной птицы под влиянием добавок антистрессового действия / Е. В. Шацких, Е. Н. Латыпова // Аграрный вестник Урала. – 2014 – № 4 – С. 35-42.

4. Практические рекомендации по применению кормовых добавок для улучшения продуктивности и стрессоустойчивости яичной птицы / И. И. Кочиш [и др.]. – Москва: Сельскохозяйственные технологии, 2019 – 48 с. – ISBN 978-5 6043642 9-1.

5.Попова, О. С. Оценка эффективности сорбционно-метаболической кормовой добавки в условиях птицефабрики / О. С. Попова // Международный вестник ветеринарии. – 2024. – № 1. – С. 106-111. – DOI 10.52419/issn2072-2419.2024.1.106

6.Романов В.Н. Эффективность комплексного применения источника метилирующих агентов и пробиотика в рационах крупного рогатого скота / В.Н. Романов, Н.В. Боголюбова // Вестник курской сельскохозяйственной академии, 2019 - №3 – С. 87-93.

7. Wen, C. Betaine improves growth performance, liver health, antioxidant status, breast meat yield, and quality in broilers fed a mold -contaminated corn-based diet / C. Wen, R. Chen, Y. Chen, L. Ding, T. Wang, Y. Zhou // Anim. Nutr. - 2021 - V. 7 - No 3 - P. 661-666.

8. Ratriyanto, A. Osmoregulatory and Nutritional Functions of Betaine in Monogastric Animals / A. Ratriyanto [et al.] // Asian-Australasian Journal of Animal Sciences. - 2009 - Vol. 22(10). - P. 1461-1476. – URL: https://doi.org/10.5713/ajas.2009.80659.

9. Епимахова, Е.Э. Интенсивное кормление сельскохозяйственных птиц // Е. Э. Епимахова, Н.В. Самошкин, Б.Т. Абилов. – Ставрополь: Учебное пособие, Ставропольский Государственный Аграрный Университет 2017. С. 45-46.

10.Колабская, Л.С. Рекомендации по использованию новых методов оценки неспецифической резистентности организма разных видов птиц с целью прогнозирования заболеваний, контроля эффективности профилактических мероприятий / Л.С. Колабская, В.Д. Попова, В.Е. Пигаревский [и др.]. – Ленинград, 1987 – С. 7-11.

11.Садовников, Н.В. Общие и специальные методы исследования крови птиц промышленных кроссов / Н.В. Садовников, Н.Д. Придыбайло, Н.А. Верещак [и

др.]. – Екатеринбург-Санкт-Петербург: Уральская ГСХА, НПП «АВИВАК», 2009. С.6-11. и С.26-27.
12.Булатова И.А Значение малонового диальдегида и глутатионтрансферазы в оценке поражений печени и мониторинге терапии при хроническом гепатите С / Булатова И.А. Щёкотова А.П. Кривцов А.В. [и др.]- Пермь: Фундаментальные исследования. – 2014. – № 4 (часть 2) – С. 246-251
13.Саломатин, В.В. Инновационные технологии разработки и применения биологически активных препаратов при производстве мяса птицы на промышленной основе / В.В. Саломатин, В.А. Злепкин, Н.А. Злепкина. - Волгоград: ВолГАУ, 2019. - 128 с.

REFERENCES

1. Kolpakova, L.V. Increasing the viability of birds, improving the quality of egg and meat products in industrial production / L.V. Kolpakova, M.Y. Minnesotan / / Minnesotan / XVII Minnesotan. – Sergiev Posad, 2012 – p. 349 2
2. Fisinin, V. I. Effective protection from stress in poultry farming: from vitamins to vitagens / V. I. Fisinin, P. F. Surai // Poultry and poultry products. – 2011 – No. 5 – pp. 23-26.
3. Shatskikh, E. V. The development of internal organs of egg poultry under the influence of anti-stress additives / E. V. Shatskikh, E. N. Latypova // Agrarian Bulletin of the Urals. - 2014 – No. 4 – pp. 35-42.
4. Practical recommendations on the use of feed additives to improve productivity and stress resistance of egg poultry / I. I. Kochish [et al.]. – Moscow: Agricultural Technologies, 2019 – 48 p. - ISBN 978-5 6043642 9-1.
5. Wen, C. betain javítja a növekedési teljesítményt, a máj egészségét, az antioxidáns státuszt, a mellhúshozamotés a penészszennyezett Kukorica alapú étrendet táplált brojlerek minőségét / C. Wen, R. Chen, Y. Chen, L. Ding, T. Wang, Y. Zhou // anim. Nutr. - 2021-V. 7-Nem 3-P. 661-666.
6. Ratriyanto, A. a betain Ozmoregulációs és táplálkozási funkciói monogasztrikus állatokban / A. Ratriyanto [et al.] / / Asian-Australasian Journal of Animal Sciences. - 2009-Vol. 22(10). - p. 1461-1476. - URL: https://doi.org/10.5713/ajas.2009.80659
7. Epimakhova, E.E. Intensive feeding of farm birds // E. E. Epimakhova, N.V. Samoshkin, B.T. Abilov. – Stavropol: Textbook, Stavropol State Agrarian University 2017. pp. 45-46.
8. Kolabskaya, L.S. Recommendations on the use of new methods for assessing the nonspecific resistance of the organism of different bird species in order to predict diseases, control the effectiveness of preventive measures / L.S. Kolabskaya, V.D. Popova, V.E. Pigarevsky [et al.]. – Leningrad, 1987 – pp. 7-11.
9. Jupp, Jupp.V. General and special methods of studying the blood of birds of industrial crosses / N.V. Sadovnikov, N.D. Pridybailo, N.A. Vereshchak [et al.]. – Yekaterinburg-St. Petersburg: Ural State Agricultural Academy, NPP AVIVAK, 2009. pp.6-11. and pp.26-27.
10.Nielsen, F. Plasma malondialdehid mint biomarker az oxidatív stresszhez: az életstílus faktorok referencia intervalluma és hatásai / F. Nielsen, B. B. Mikkelsen, J. B. Nielsen et.al]. / / Clin. Kémia. – 1997 – 43 – P. 1209-1214.
11. Salomatin, V.V. Innovative technologies for the development and application of biologically active drugs in the production of poultry meat on an industrial basis / V.V. Salomatin, V.A. Zlepkin, N.A. Zlepkina. - Volgograd: VolGAU, 2019. - 128 p.

УДК: 58:615:32
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.4.113

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ В РАЦИОНЕ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ (ОБЗОР)

Ларюшина И.Э. – канд. мед. наук, ст. науч. сотр. лаборатории молекулярно-генетических исследований в животноводстве (ORCID 0000-0001-5571-4535); **Букарева Е.А.*** – канд. биол. наук, ст. науч. сотр. лаборатории молекулярно-генетических исследований в животноводстве (ORCID 0000-0002-1622-1284)

ФГБНУ «Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий Российской академии наук»

* elenka_rs@mail.ru

Ключевые слова: *лекарственные растения, Оренбургская область, антибактериальные свойства, сельское хозяйство.*

Key words: *medicinal plants, Orenburg region, anti-bacterial properties, agriculture.*

Финансирование: *Исследования выполнены по теме НИР № FNWZ-2022-0010.*

Поступила: 16.09.2024 **Принята к публикации: 02.12.2024**
Опубликована онлайн:16.12.2024

РЕФЕРАТ

Одной из основных задач современного животноводства является обеспечение благоприятных условий для максимальной реализации генетического потенциала продуктивности сельскохозяйственных животных. Очевидно, что это невозможно без введения в рацион скота различных кормовых добавок. При этом важную роль играет экологичность, безопасность и эффективность таких добавок. Более двадцати лет назад во многих странах стали вводится ограничения на использование кормовых антибиотиков, вплоть до их полного запрета. В России на данный момент также активно обсуждается возможность принятия законодательного запрета на применение кормовых антибиотиков. В этой связи появилась необходимость в изучении альтернативных подходов к обеспечению высокой продуктивности в животноводстве. Натуральные кормовые добавки растительного происхождения (фитобиотические добавки) являются перспективной заменой кормовых антибиотиков. Поиск источников проводили в библиографических базах данных, в научных электронных библиотеках с поисковыми системами: Pubmed (https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov); Web of Science (http://www.webofscience.com); Elsevier (https://www.elsevier.com); Scopus (https://www.scopus.com); Springer (https://www.springer. com); Google Scholar (https://scholar.google.com); ЦНСХБ (http://www.cnshb.ru). Базы данных «Список растений» (http://www.theplantlist.org) использовались для предоставления научных названий и подвидов растений. В обзоре приведены данные об антибактериальных, антипаразитарных свойствах и биологической активности экстрактов и фракций лекарственных растений (хмель вьющийся, крапива двудомная, тысячелистник обыкновенный, ромашка аптечная, обыкновенный, зверобой продырявленный, солодка голая), а также представлена информация об опыте применения этих растений либо их фракций в качестве кормовых добавок для сельскохозяйственных животных.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Поиск природных, безопасных и эффективных кормовых добавок на сегодняшний день является актуальной задачей в животноводстве. Более двадцати лет назад во многих странах стали вводится ограничения на использование кормовых антибиотиков, вплоть до их полного запрета. В России на данный момент также активно обсуждается возможность принятия законодательного запрета на применение кормовых антибиотиков. В этой связи появилась необходимость в изучении альтернативных подходов к обеспечению высокой продуктивности в животноводстве.

Натуральные добавки растительного происхождения (фитобиотические добавки) обладают противоспалительными и антимикробными свойствами, а также оказывают иммуномодулирующий эффект и могут положительно влиять на продуктивность животных. [1]

Сырьем для получения фитобиотиков являются лекарственные растения, которые с одной стороны проявляют антибактериальные и антипаразитарные свойства, а с другой оказывают положительное воздействие на процессы всасывания и переваривания пищи [2].

Перспективной и экономически выгодной стратегией производства натуральных кормовых добавок является поиск необходимого сырья (лекарственные растения) в том же регионе, где выращиваются сельскохозяйственные животные. Оренбургская область характеризуется уникальными климатическими условиями, с преобладанием степного и лесостепного ландшафтов, и обладает значительным ресурсом лекарственных растений.

К наиболее распространенным лекарственным растениям Оренбургской области можно отнести хмель вьющийся, крапиву двудомную, тысячелистник обыкновенный, ромашку аптечную, цикорий обыкновенный, зверобой продырявленный и солодку голую. Перечисленные растения известны своими положительными биологическими эффектами и достаточно подробно изучены как отечественными специалистами, так и за рубежом. Современные исследования демонстрируют антибактериальную активность экстрактов, эфирных масел, а также фракций, полученных из данных растений.

В обзоре приведены данные об антибактериальных свойствах лекарственных растений (хмель вьющийся, крапива двудомная, тысячелистник обыкновенный, ромашка аптечная, цикорий обыкновенный, зверобой продырявленный, солодка голая), а также представлена информация об опыте применения этих растений либо их фракций в качестве кормовых добавок для сельскохозяйственных животных.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Поиск источников проводили в библиографических базах данных, в научных электронных библиотеках с поисковыми системами: Pubmed (https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov); Web of Science (http://www.webofscience.com); Elsevier (https://www.elsevier.com); Scopus (https://www.scopus. com); Springer (https://www.springer. com); Google Scholar (https://scholar.google.com); ЦНСХБ (http://www.cnshb.ru). Базы данных «Список растений» (http://www.theplantlist.org) использовались для предоставления научных названий и подвидов растений.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Натуральные кормовые добавки, в отличии от синтетических, могут производится из повсеместно доступного сырья. В Таблице 1 приведены некоторые лекарственные растения, которые произрастают на территории Оренбургской области, а также указаны их основные биологические эффекты. В изученной нами литературе большое число публикаций было посвящено именно этим растениям, их противовоспалительным и антибактериальным свойствам, а также возможности их применения в практическом животноводстве.

Таблица 1 – Список некоторых лекарственных растений, произрастающих на территории Оренбургской области

№	Семейство	Название растения	Основные биологические эффекты
1.	Cannabaceae Endl. - Коноплевые	*Humulus lupulus L.* – Хмель вьющийся	Соплодия хмеля оказывают успокаивающее, **противовоспалительное**, мочегонное, спазмолитическое, бактерицидное действие. Основными веществами, обусловливающими лечебные свойства хмеля, являются горечи, фенольные соединения и эфирное масло
2.	Urticactae Juss. - Крапивные	*Urtica dioica* L. – Крапива двудомная	Лекарственные формы крапивы обладают сосудосуживающим, желчегонным, витаминизирующим, мочегонным и **противовоспалительным** свойствами, повышают процессы регенерации слизистых оболочек желудочно-кишечного тракта
3.	Asteraceae Dumort. (Compositae Giseke) – Астровые, сложноцветные	*Achilea millefolium* L. – Тысячелистник обыкновенный	Дубильные вещества, цинеол и азулены обуславливают **противовоспалительные, бактерицидные**, противоаллергические и ранозаживляющие свойства тысячелистника. Эфирное масло тысячелистника проявляет **антибактериальную** и противогрибковую активность
4.	Asteraceae Dumort. (Compositae Giseke) – Астровые, сложноцветные	*Matricaria recutita* L. *(M. chamomilla* L. var. *recutita* (L.) Grierson) – Ромашка аптечная, или ободранная	Обладает **противовоспалительным**, спазмолитическим и умеренным **антимикробным действием**, уменьшает процессы брожения в кишечнике, повышает секрецию пищеварительных желез
5.	Asteraceae Dumort. (Compositae Giseke) – Астровые, сложноцветные	*Cichorium intybus* L. – Цикорий обыкновенный	Применение галеновых препаратов цикория возбуждает аппетит, улучшает деятельность всей пищеварительной системы, их назначают при **колитах, гастритах и энтеритах**
6.	Hypericaceae Juss. - Зверобойные	*Hypericum perforatum* L. – Зверобой продырявленный	Препараты зверобоя оказывают **противовоспалительное, антисептическое**, вяжущее, спазмолитическое, диуретическое действие, стимулируют регенерацию тканей. Растение обладает общеукрепляющими и кровоостанавливающими свойствами.
7.	Fabaceae Lindl. (*Leguminosae* Juss., *Papilionaceae* Giseke) – Бобовые, Мотыльковые	*Glycrrhiza glarba* L. (inc. G. glandulifera Waldst. et Kit.) - Солодка голая	Отвар корней солодки оказывает отхаркивающее и **противовоспалительное** действие

Как уже отмечалось выше, фитобиотики рассматриваются многими специалистами как замена кормовых антибиотиков. При этом кроме прямого антибактериального действия экстракты и фракции растений проявляют антикворумную активность. Поскольку многие патогенные свойства бактерий, в том числе биопленкообразование, зависят от чувства кворума, подавление этого феномена является

дополнительным преимуществом применения лекарственных растений в рационе скота. В настоящее время ведется активное изучение антибактериальных свойств лекарственных растений и их фракций. Фитобиотики в своем составе могут содержать различные биологически активные вещества, такие как алкалоиды, гликозиды, сапонины, органические кислоты, горькие и дубильные вещества, эфирные масла и т. д. Именно благодаря этим веществам достигается необходимый эффект.

Хмель вьющийся (*Humulus lupulus* L.). содержит вещества с антибактериальными свойствами. Проводились исследования антимикробной активности очищенных компонентов хмеля: гумулона, лупулона и ксантогумола в отношении анаэробных бактерий. Установлена антимикробная активность в отношении штаммов *B. fragilis, C. perfringens* и *C. difficile*. Наиболее сильный противомикробный эффект наблюдался у ксантогумола со значениями МИК и МБК 15–107 мкг/мл, что близко к показателям традиционных антибиотиков у штаммов бактерий с повышенной резистентностью. Немного более высокие значения МИК и МБК были получены при использовании лупулона, за которым следовали более высокие значения гумулона [3]. Антимикробную активность экстрактов *H. lupulus L.*, полученных из разных генотипов *H. lupulus L.* исследовали в отношении *Staphylococcus aureus* и *Lactobacillus acidophilus*. Гидроацетоновые экстракты *H. lupulus L.* были более эффективны против *Staphylococcus aureus*, чем против *Lactobacillus acidophilus* [4]. Было проведено исследование антибиопленочных свойств соединений, полученных из *H. lupulus* L. (гумулона, лупулона и ксантогумола), против выбранной группы видов *Staphylococcus*, включая метициллин-чувствительные и устойчивые штаммы. Было показано, что все протестированные соединения *H. lupulus L.* обладают антимикробными свойствами в отношении всех протестированных стафилококков, как планктонных, так и обитающих в биопленках, без существенной разницы между устойчивыми и чувствительными штаммами. Все соединения снижали количество бактериальных клеток, высвобождаемых из биопленки, причем самый сильный эффект наблюдался у лупулона, за которым следовал ксантогумол. Более того, лупулон и ксантогумол не только смогли проникнуть в биопленку и уменьшить количество бактерий внутри нее, но и их более высокие концентрации (~60 мкг/мл для ксантогумола и ~125 мкг/мл для лупулона) снизили количество выживших бактериальных клеток до нуля [5].

Крапива двудомная (*Urtica dioica L.*) и ее экстракты используются как в фармацевтической, так и в пищевой промышленности в качестве пищевых добавок и консервантов. Фитохимические исследования *U. dioica L.* в основном были сосредоточены на изучении ее биологически активных соединений и их воздействия на бактериальные и вирусные патогены, включая возбудителей пищевой токсикоинфекции [6]. Листья *U. dioica L.* содержат в своем составе танины, участвующие в ингибировании мембранных транспортных белков и снижающие адгезивность бактерий, и терпены, участвующие в разрушении клеточной стенки бактерий. Водный, гексановый, хлороформный, этилацетатный и метанольный экстракты *U. dioica L.* показали антимикробное действие на патогенные бактерии, такие как *Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus, Salmonella Typhi, Klebsiella. pneumoniae u Enterococcus faecalis.* Также проводились исследования *in vitro*, демонстрирующие воздействие *U. dioica L.* на биопленкообразование *Salmonella enterica*. Метанольный экстракт листьев *U. dioica L.* оказывает антибактериальное действие на *Campylobacter jejuni* в концентрации 1,45-1,87 мг/мл [7].

Тысячелистник обыкновенный (Achillea millefolium L.). Фитохимический состав *A. millefolium L.* достаточно хорошо изучен и включает флавоноиды, терпеноиды, лигнаны, производные аминокислот, жирные кислоты. При этом некоторые исследования свидетельствуют о

различиях в концентрации компонентов в разных частях растения, в частности, установлено, что в листьях преобладают кофеилхиновые кислоты, а в соцветиях – флавоноиды. Вторичные метаболиты (флавоноиды, фенольные кислоты, кумарины, терпеноиды), входящие в состав растения, обуславливают его биологическую активность в отношении бактерий, грибов и паразитов.

Эфирное масло тысячелистника показало антибактериальную и противогрибкоую активность. В эксперименте эфироное масло из *A. millefolium* L. подавляло рост грамположительных бактерий *B. Cereus* и *St. Aureus*. Противогрибковая активность была зарегистрирована для *R. Stolonifer, V. dahliae, C. gloeosporioides, Botrytis cinerea*, и *Aspergillus niger* [8].

Ромашка аптечная/ободранная (Matricaria recutita L.). Посредством фитохимического скрининга в составе эфирного масла и экстрактов *M. chamomilla L.* идентифицировано более 120 компонентов, включая терпеноиды и фенольные соединения (фенольные кислоты, флавоноиды и кумарины) [9]. Многочисленные исследования показывают, что *M. Chamomilla L.* обладает несколькими видами биологической активности, в том числе противопаразитарной, инсектицидной, противогрибковой (против *Candida sp.* и *Aspergillus sp.*) и антибактериальной (в отношении *Staphylococcus aureus* и *Pseudomonas aeruginosa* [10].

Цикорий обыкновенный (Cichorium intybus L.). Антибактериальную и противогрибковую активность сырого экстракта *C. Intybus L.* и его различных растворимых в растворителях фракций определяли стандартными методами на *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, синегнойной палочке, эпидермальном стафилококке, метициллинрезистентном золотистом стафилококке и *Bacillus subtilis*. Водная и этилацетатная фракции показали многообещающую активность против *Fusariun solani* и *Aspergillus niger*. Аналогичным образом, было обнаружено, что хлороформная фракция также обладает высокой активностью против *Fusariun solani* [11]. Все экстракты семян *C. Intybus L.* проявил антимикробную активность в отношении тестируемых микроорганизмов, тогда как *S. aureus* оказался наиболее чувствительным к водному экстракту и имел самую широкую зону ингибирования. Было обнаружено, что этилацетат и этанольный экстракт эффективны в отношении *P. aeruginosa* и *S. Aureus* [12].

Зверобой продырявленный (Hypericum perforatum L.). Обнаружено влияние *H. perforatum L.* на систему кворум сенсинга у *P. Aeruginosa.* Этанольный, метанольный и ацетоновый экстракты H. *perforatum L.* в дозировке 250 мкг/мл ингибировали сигнальный путь LasIR до 65,43%, 59,60%, 55,95%, а экстракты из тех же растворителей, полученные с помощью ультразвука, ингибировали 71,33%, 64,47%, 57,35% соответственно. Кроме того, степень ингибирования пути RhlIR составила 28,80%, 50,83%, 45,84% для экстрактов этанола, метанола, ацетона (дозы 250 мкг/мл) и 51,43%, 57,41%, 50,02% для экстрактов, обработанных ультразвуком (дозы 250 мкг/мл). по сравнению с необработанным контролем [13]. В работе Tamfu A.N. с соавторами обнаружена антибактериальная активность фенольного экстракта *Hypericum perforatum*, полученного с помощью ультразвука с использованием смеси этанол: вода (70%) в качестве растворителя. В этом исследовании экстракт *H. Perforatum* проявлял противомикробную активность в отношении Chromobacterium *violaceum CV026 (*МИК составляла 0,625 мг/мл) [14].

Солодка голая (Glycrrhiza glarba L.). Обнаружена антикворумная активность у фракции, полученной из растения G. *glarba L*. В эксперименте G. *glarba L*. снижала выработку факторов вирулентности у *Acinetobacter baumannii*, которые регулируются с помощью чувства кворума, а именно, подвижность, биопленокообразование и выработку антиоксидантных ферментов. Фракции G. *glarba L*. подавляли экспрессию гена аутоиндуктора синтазы, abaI, и, следовательно, снижали (92%) выработку 3-OH-C12-HSL. Анализ соста-

ва растительной фракции выявил наличие в ней флавоноидов в качестве активных ингредиентов (ликорикон, глицирин и глизарин). В другом недавнем исследовании также обнаружено снижение биопленкообразования у *Acinetobacter baumannii при воздействии экстракта G. glabra L. Фитохимическое качественное тестирование этанольных экстрактов листьев G. glabra L. показало наличие флавоноидов, алкалоидов, фенольной, дубильной кислоты и терпеноидов. Кроме того, авторы оценивали токсичность данного экстракта на лабораторных животных. Результаты эксперимента продемонстрировали низкую токсичность экстракта G. glabra L. для крыс (LD50 4,95 г/кг) [15].*

Применение кормовых добавок на основе лекарственных растений в животноводстве

Изучается влияние *хмеля вьющегося* (*Humulus lupulus L.*) и его экстрактов на переваривание и метаболизм питательных веществ, а также на продуктивность жвачных животных. В одном из исследований отмечено, что скорость роста бычков, получавших наибольшее количество хмеля в период выращивания и откорма, была на 6% выше, чем скорость роста в контрольной группе. Стоит отметить, что побочные продукты пивоварения уже давно использовались в качестве корма для сельскохозяйственных животных. Однако рассматривать их с точки зрения биологически активных вторичных метаболитов начали сравнительно недавно. Bryant R.W. и Cohen S.D. обнаружили, что отработанные дрожжи американских крафтовых пивоваренных заводов содержат α- и β-кислоты в концентрации свыше 2,5 мг/г. Эксперименты *in vitro* с микроорганизмами рубца показали, что отработанные пивные дрожжи содержат достаточно вторичных метаболитов хмеля, чтобы подавить выработку аммиака и выработку метана. Эти результаты позволяют предположить, что отходы пивоваренных заводов могут быть использованы для получения фитохимических веществ из хмеля для жвачных и другого домашнего скота [16]. Большинство исследователей сосредоточено на изучении биологической активности горьких кислот хмеля, в особенности β-кислот. Однако, существуют и другие активные вторичные метаболиты *H. Lupulus L.* В частности, было показано, что ксантогумол, который представляет собой пренилированный флавоноид, а не горькую кислоту, ингибирует метаногены и снижает метаногенез смешанными микроорганизмами рубца. Ксантогумол не изменял аммиак/pH и, по-видимому, избирательно ингибировал метаногены.

В исследованиях на цыплятах-бройлерах показано положительное влияние растительной кормовой добавки *Anta®Phyt*, в состав которой входят компоненты хмеля, солодки голой, винограда и витамин Е. При скармливании этой добавки, из расчета 400г/ т корма, авторы отмечают улучшение роста птицы, хорошее развитие и мясную продуктивность. Кроме того, кормовая добавка *Anta®Phyt* также успешно подавляла рост *Staphylococcus aureus* как и тетрациклин, и следовательно, возможно использование фитобиотиков такого состава в качестве альтернативы антибактериальным препаратам [17].

Крапива двудомная (Urtica dioica L.) издавна используется в лечебных целях и является наиболее эксплуатируемым видом *Urticaceae*. Листья *U. dioica L.* в сушеном виде или других формах широко применяются в качестве корма для сельскохозяйственных животных. *U. Dioica L.* хорошо адаптируется в стрессовых условиях засухи и недостаточного освещения. Следовательно, *U. Dioica L.* можно добавлять в рационы животных в качестве подходящего корма для снижения затрат и повышения экономической эффективности. Благодаря специфичности зародышевой плазмы, содержанию питательных веществ и активным ингредиентам, присутствующим в *U. Dioica L.*, она может используется в качестве богатого белком ингредиента в кормах для жвачных животных. По мнению ряда исследователей, *U. Dioica L.* повышает производитель-

ность, улучшает показатели здоровье, желудочно-кишечное пищеварение и всасывание питательных веществ [18].

Проводились исследования по скармливанию муки из крапивы двудомной, бурых водорослей и хвои стланника кедрового, в качестве кормовой добавки, курам-несушкам. Авторы отмечают, применение такой добавки способствует повышению продуктивности птицы и положительно влияет на качество продукции (яиц). Кроме того, кормовая добавка улучшала конверсию корма. [19]

В другом исследовании включение в рацион кроликов сена крапивы оказало положительное влияние на качество шкурок кроликов. Сено крапивы скармливалось двум опытным группам в количестве 5% и 25% от питательности грубого корма, причем 5%-я доза оказалась более эффективной, чем 25%-я [20].

Тысячелистник обыкновенный (Achillea millefolium L.) традиционно используется в качестве народного средства для лечения желудочно-кишечных заболеваний. Результаты недавнего исследования показали, что *A. Millefolium L.* обладает потенциальным прокинетическим действием, которое может предотвратить или облегчить такое нарушение моторики желудочно-кишечного тракта как смещение сычуга (распространенное заболевание у молочного скота). [21].

Введение в корм курам-несушкам фитодобавки, состоящей из 1,0% муки тысячелистника обыкновенного; 0,5% муки пижмы обыкновенной; 1,0% муки крапивы двудомной; 0,5% муки хвои стланика кедрового; 0,5% муки бурых морских водорослей, способствовало улучшению зоотехнических показателей продукции и повышению экономической эффективности [22].

Ромашка аптечная (Matricaria recutita L.) также широко применяется в медицинских целях и в качестве кормовой добавки для сельскохозяйственных животных. Ворошилин Р.А. с соавторами рекомендуют добавление в рацион кроликов экстракта *M. recutita L.* дозе 1 г на голову в сутки. Экспериментальные данные демонстрируют улучшение показателей периферической крови, увеличение живой массы, высокое содержание белка и низкое содержание жира в мясе кроликов, потреблявших экстракт *M. recutita L.* в качестве пищевой добавки. При этом каких-либо патологических изменений во внутренних органах кроликов зарегистрировано не было [23].

Кормление телят фитоминеральной добавкой, в составе которой содержались лекарственные растения (ромашка лекарственная, чистотел большой, куркума длинная) оказало положительное влияние на прирост живой массы. Все телята, получавшие кормовую добавку на основе лекарственных растений, были здоровы на протяжении всего опытного периода [24].

Цико*рий обыкновенный (Cichorium intybus L.).* Многоцелевая культура и один из наиболее многообещающих биологически активных кормов в регионах с умеренным климатом. В многочисленных исследованиях *in vivo* был изучен его потенциал против паразитических нематод у домашнего скота. Имеющиеся данные указывают на то, что кормление *C. intybus L.* может снизить количество яиц в фекалиях и/или количество гельминтов сычуговых нематод. Диеты с высоким содержанием *C. intybus L.* (≥ 70% сухого вещества *C. intybus L.* в рационе) могут быть необходимы для прямого воздействия на паразитарную инфекцию. Известно, что *C. intybus L.* синтезирует несколько биологически активных соединений с потенциальной противопаразитарной активностью, но большинство исследований было посвящено роли сесквитерпеновых лактонов. Так, недавние исследования *in vitro* подтвердили прямую и мощную активность экстрактов *C. intybus L.*, богатых сесквитерпеновыми лактонами, против различных желудочно-кишечных гельминтов домашнего скота. [25].

Экстракты *зверобоя продырявленного* обладают противовоспалительным, противовирусным и антипаразитарным эффектами. В экспериментальной работе на цыплятах-бройлерах показана эффектив-

ность кормовой добавки, содержащей зверобой продырявленный, против эймериоза. Введение кормовой добавки из расчета 1,05 г/кг зверобоя продырявленного, 1,05 г/кг одуванчика лекарственного, 2,1 г/кг полыни горькой снижало инвазию ооцистами эймерий с 681,85±36,87 до 9,25±6,05 (на 1 г фекалий) за 12 дней применения. При этом у цыплят не было зарегистрировано аллергических реакций [26].

Кармалиевым Р.С. разработана и запатентована антигельминтная кормовая добавка, в составе которой содержится в том числе зверобой продырявленный. В экспериментальном исследовании автором установлено, что совместное применение фитосбора и альбендозола позволяет существенно сократить лечебную дозу последнего, что предупреждает развитие резистентности гельминтов к антгельминтикам, а также снижает интоксикацию организма животного. Данная кормовая добавка может использоваться для лечения мониезиоза и стронгилятозов у крупного рогатого скота и овец [27].

Солодка голая (*Glycyrriza glabra L.*) широко распространена во многих регионах, поэтому часто упоминается в научных работах, связанных с сельским хозяйством. Добавление корня солодки голой в рацион телят голштинской породы увеличивало общие концентрации Ig и IgG в их крови на 31%, однако не влияло на производительность животных [28]. В другом исследовании оценивали влияние мякоти и листьев *G. glabra L.* на снижение выработки биогаза в рубце у овец. Результаты показали, что включение в рацион листьев *G. glabra L.* в дозе 150 г/кг сухого вещества положительно изменило некоторые параметры рубца. Наблюдалась положительная динамика в выработке микробного белка, а также уменьшение популяции простейших и концентрация NH3-N в рубце. Авторы полагают, что такие эффекты могут быть экономически полезны для жвачных животных и снижают загрязнение окружающей среды [29].

Положительный эффект обнаружен при применении фитодобавки Альгасол, в составе которой содержатся экстракты солодки голой и ламинарии. При добавлении Альгасола в корм свиноматок (в дозировке 50 мл на голову) отмечалось повышение аппетита животных, увеличивалась молокопродукция и привес поросят [30].

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Использование кормовых добавок на основе лекарственных растений является перспективным направлением в животноводстве и обладает рядом потенциальных преимуществ, в том числе экономических. Лекарственные растения и их фракции могут применяться в качестве замены антибиотикам, что снижает токсичную нагрузку на организм животного и частоту антибиотикорезистентности. Кроме того, многие лекарственные растения положительно влияют на моторику желудочно-кишечного тракта, улучшают переваривание и всасывание питательных веществ, что может приводить к увеличению продуктивности.

USE OF MEDICINAL PLANTS IN THE DIETS OF FARM ANIMALS (REVIEW)

Laryushina I. E. – Candidate of Medical Sciences, Senior Researcher, Laboratory of Molecular Genetic Research in Animal Production (ORCID 0000-0003-4907-9656), **Bukareva E. A.** * – Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher of the Laboratory of Molecular Genetic Research in Animal Husbandry (ORCID 0000-0002-1622-1284)

Federal Scientific Center of Biological Systems and Agrotechnologies of the Russian Academy of Sciences

*elenka_rs@mail.ru

Financing: The research was carried out under project number FNWZ-2022-0010.

ABSTRACT

One of the main tasks of modern animal husbandry is to provide favorable conditions for the maximum realization of the genetic potential of agricultural animals. Obviously, this is impossible without the introduction of various feed additives into the livestock diet.

In this case, the environmental friendliness, safety and effectiveness of such additives play an important role. More than twenty years ago, many countries began to introduce restrictions on the use of feed antibiotics, up to and including a complete ban. In Russia, the possibility of adopting a legislative ban on the use of feed antibiotics is also currently being actively discussed. In this regard, there is a need to study alternative approaches to ensuring high productivity in animal husbandry. Natural feed additives of plant origin (phytobiotic additives) are a promising replacement for feed antibiotics. The search for sources was carried out in bibliographic databases, in scientific electronic libraries with search engines: Pubmed (https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov); Web of Science (http://www.webofscience.com); Elsevier (https://www.elsevier.com); Scopus (https://www.scopus. com); Springer (https://www.springer. com); Google Scholar (https://scholar.google.com); CNSHB (http://www.cnshb.ru). The Plant List database (http:// www.theplantlist.org) was used to provide scientific names and subspecies of plants.

The review presents data on the antibacterial, antiparasitic properties and biological activity of extracts and fractions of medicinal plants (climbing hops, stinging nettle, common yarrow, chamomile, common chamomile, St. John's wort, naked licorice), and also provides information on the experience of using these plants or their fractions as feed additives for farm animals.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1.Багно, О. А. Фитобиотики в кормлении сельскохозяйственных животных/ О.А. Баргно, О.Н. Прохоров, С. А. Шевченко, А.И. Шевченко, Т.В. Дядичкина // Сельскохозяйственная биология. – 2018. – Т. 53. – №. 4. – С. 687-697. - DOI: 10.15389/agrobiology.2018.4.687rus. Режим доступа: https://cyberleninka.ru/article/n/fitobiotiki-v-kormlenii-selskohozyaystvennyh-zhivotnyh

2.Chassagne, F. A systematic review of plants with antibacterial activities: A taxonomic and phylogenetic perspective / F. Chassagne, T. Samarakoon, G. Porras, J. T. Lyles, M. Dettweiler, L. Marquez, A. M. Salam, S. Shabih, D. R. Farrokhi, C. L. Quave // Frontiers in pharmacology. – 2021. – Т. 11. – С. 586-548. – DOI 10.3389/fphar.2020.586548. Режим доступа: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33488385.

3.Cermak, P. Strong antimicrobial activity of xanthohumol and other derivatives from hops (Humulus lupulus L.) on gut anaerobic bacteria / P. Cermak //Apmis. – 2017. – Vol. 125. – No. 11. – P. 1033-1038. – DOI 10.1111/apm.1274. Режим доступа: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28960474.

4.Kolenc, Z.Antimicrobial Properties of Different Hop (Humulus lupulus L.) Genotypes / Z. Kolenc, T. Langerholc, G. Hostnik, M. Ocvirk, S. Štumpf, M. Pintarič, U. Bren // Plants. – 2022. – Vol. 12. – No. 1. – P. 120-125. – DOI 10.3390/plants12010120. Режим доступа: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36616249.

5.Bogdanova, K. Antibiofilm activity of bioactive hop compounds humulone, and xanthohumol toward susceptible and resistant staphylococci / K. Bogdanova, M. Röderova, M. Kolar, K. Langova, M. Dusek, P. Jost, J. Olsovska, // Research in microbiology. – 2018. – Vol. 169. – No. 3. – P. 127-134. – DOI 10.1016/j.resmic.2017.12.005. Режим доступа: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29407045.

6.Dhouibi, R. Screening of pharmacological uses of Urtica dioica and others benefits / R. Dhouibi, H. Affes, M. Ben Salem, S. Hammami, Z. Sahnoun, K. M. Zeghal, K. Ksouda // Progress in Biophysics and Molecular Biology. – 2022. – Vol. 150. – P. 67–77. – DOI 10.1016/j.pbiomolbio.2019.05.008. Режим доступа: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31163183.

7. Aydın, H. B. Antibacterial and antiviral activities of stinging nettle (Urtica dioica L.) leaf extract on norovirus and Campylobacter jejuni as foodborne pathogens / H. B. Aydın, S. Korkmaz, B. I. O. Korkmaz // Journal of microbiology, biotechnology and food sciences. – 2023. – Vol. 13. – No. 1. – P. e9768 -e9768. – DOI 10.55251/jmbfs.9768. Режим доступа: https://office2.jmbfs.org/index.php/JMBFS/article/view/9768.

8.El-Kalamouni, C. Antioxidant and antimicrobial activities of the essential oil of Achillea millefolium L. grown in France / C. El-Kalamouni, P. R. Venskutonis, B. Zebib, O. Merah, C. Raynaud, T. Talou // Medicines. - 2017. - Vol. 4. - № 2., 30. DOI: 10.3390/medicines4020030. Режим доступа: https://www.mdpi.com/2305-6320/4/2/30

9. El Mihyaoui, A. Chamomile (Matricaria chamomilla L.): A Review of Ethnomedicinal Use, Phytochemistry and Pharmacological Uses / A. El Mihyaoui, J. C. G. Esteves da Silva, S. Charfi, M. E. C. Castillo, A. Lamarti, M. B. Arnao // Life (Basel). – 2022. – Vol. 12. – No 4. – P. 479-482. – DOI 10.3390/life12040479. Режим доступа: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9032859.

10.Poudineh, F. Antibacterial activity of ethanolic extract of Matricaria chamomilla, Malva cylvestris, and Capsella bursa-pastoris against multidrug-resistant Pseudomonas aeruginosa strains / F. Poudineh, A. A. Azari, L. Fozouni // Avicenna Journal of Clinical Microbiology and Infection. – 2021. – Vol. 8. – No 1. P. 23 26. DOI 10.34172/ajcmi.2021.05. Режим доступа: https://ajcmi.umsha.ac.ir/Article/ajcmi-3244.

11. Shaikh, T. Antimicrobial screening of Cichorium intybus seed extracts / T. Shaikh, R. A. Rub, S. Sasikumar // Arabian Journal of Chemistry. – 2016. – No. 9. – P. 1569–1573. – DOI 10.1016/j.arabjc.2012.04.012. Режим доступа: https://www.researchgate.net/publication/271562848_Antimicrobial_screening_of_Cichorium_intybus_seed_extracts.

12. Kagkli, D. M. Antiradical and antimicrobial properties of fermented red chicory (Cichorium intybus L.) by-products / D. M. Kagkli, V. Corich, B. Bovo, A. Lante, A. Giacomini // Annals of Microbiology. – 2016. – No. 66. – P. 1377–1386. –DOI 10.1007/s13213 016 1225 3. Режим доступа: https://annalsmicrobiology.biomedcentral.com/articles/10.1007/s13213-016-1225-3.

13. Tamfu, A. N. Ultrasound-assisted extraction of Syringa Vulgaris Mill., Citrus Sinensis L. and Hypericum Perforatum L.: Phenolic composition, enzyme inhibition and anti-quorum sensing activities / A. N. Tamfu, S. Küçükaydın, M. M. Quradha, M. E. Duru // Chemistry Africa. – 2022. – Vol. 5. – No. 2. – P. 237-249. –DOI: 10.1007/s42250 022 00315 6. Режим доступа: https://www.researchgate.net/publication/357811966_Ultrasound_Assisted_Extraction_of_Syringa_vulgaris_Mill_Citrus_sinensis_L_and_Hypericum_perforatum_L_Phenolic_Composition_Enzyme_Inhibition_and_Anti quorum_Sensing_Activities.

14. Bhargava, N. Attenuation of quorum sensing-mediated virulence of Acinetobacter baumannii by Glycyrrhiza glabra flavonoids / N. Bhargava, S. P. Singh, A. Sharma, P. Sharma, N. Capalash // Future microbiology. – 2015. – Vol. 10. – No. 12. – P. 1953-1968. – DOI 10.2217/fmb.15.107. Режим доступа: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26582430.

15. Mohamad, T. S. Down-regulation of abaI, abaR, Bap and OmpA genes in Acinetobacter baumannii by ethanol extract of Glycyrrhiza glabra after toxicity assessment / T. S. Mohamad, J. K. Rahman, A. A. Ahmed, A. R. Ganjo // Cellular and Molecular Biology. – 2023. – Vol. 69. – No. 12. – P. 194-200. – DOI: 10.14715/cmb/2023.69.12.31. Режим доступа: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38063097.

16. Bryant, R. W. Characterization of hop acids in spent brewer's yeast from craft and multinational sources / R. W. Bryant, S. D. Cohen // J Am Soc Brew Chem. – 2015. – No. 73 – P. 159–64. – DOI 10.1094/asbcj-2015-0315-01. Режим доступа: https://www.researchgate.net/publication/282304100_Characterization_of_Hop_Acids_in_Spent_Brewer's_Yeast_from_Craft_and_Multinational_Sources.

17. Мерзленко, О. В. Растительные компоненты кормовой добавки Anta® Phyt в производстве экологически чистого мяса птицы / О. В. Мерзленко, А.В. Хмыров, А.А.Горбач, Е.Н. Елисеева // Птицеводство. – 2020. - № 11. - С. 49-54. DOI 10.33845/0033-3239-2020-69-11-49-54. Режим доступа: http://dspace.bsu.edu.ru/

bitstream/123456789/42419/1/
Khmyrov_Rastitelnye_20.pdf
18. Zhang, Y. Research progress in physiological effects of resistant substances of Urtica dioica L. on animal performance and feed conversion / Y. Zhang, X. Zhang, M. H. Zafar, J. Zhang, J. Wang, X. Yu, W. Liu, M. Wang // Frontiers in Plant Science. – 2023. – No. 14. – P. 1164-1176. –DOI: 10.3389/fpls.2023.1164363. Режим доступа: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37448866.
19. Игнатович, Л. С. Кормовые добавки из растительного сырья /Л.С. Игнатович // Птицеводство. – 2015. – №. 5. – С. 23-25. Режим доступа: https://www.elibrary.ru/download/elibrary_24116585_64138924.pdf
20. Бурмистров, Е. А. Влияние кормовой добавки из крапивы двудомной на шкурковую продуктивность кроликов / Е. А. Бурмистров, Н. Л. Наумова //Актуальные проблемы ветеринарии и интенсивного животноводства: Материалы национальной научно-практической конференции с международным участием. - Брянск. – 2021. – С. 243 -247. Режим доступа: https://kpfu.ru/staff_files/F_1268839718/2_04032021.pdf#page=243
21.Mohseni, M. Does Achillea millefolium extracts possess prokinetic effects on the bovine abomasum thourgh M3 muscarinic receptors? / M. Mohseni, M. Maham, B. Dalir-Naghadeh, G. Jalilzadeh-Amin // Veterinary Research Forum. Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran. – 2017. – Vol. 8. – No. 2. – P. 115-120. Режим доступа: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28785386.
22. Игнатович Л. С. Влияние применения компонентных кормовых добавок, изготовленных с применением травяной муки из тысячелистника обыкновенного, на продуктивность кур-несушек, качество производимой продукции (яиц) и конверсию корма / Л. С. Игнатович // Дальневосточный аграрный вестник. – 2017. – №. 2 (42). – С. 75-81. Режим доступа: https://cyberleninka.ru/article/n/vliyanie-primeneniya-komponentnyh-kormovyh-dobavok-izgotovlennyh-s-primeneniem-travyanoy-muki-iz-tysyachelistnika-obyknovennogo-na
23. Ворошилин, Р. А. Оценка воздействия экстрактов ромашки аптечной на комплекс хозяйственно-полезных качеств мяса кроликов / Р. А. Ворошилин, С. Н. Рассолов, Е. В. Ульрих, М. Г. Курбанова // Техника и технология пищевых производств. – 2019. – № 4. – С. 643-651. – DOI 10.21603/2074-9414-2019-4-643-651. Режим доступа: https://cyberleninka.ru/article/n/otsenka vozdeystviya ekstraktov romashki aptechnoy na kompleks hozyaystvenno poleznyh kachestv myasa krolikov.
24. Фролов А. И. Эффективность применения пребиотической добавки в кормлении телят / А. И. Фролов, О. Б. Филиппова, А. И. Бетин, Н. И. Маслова // Эффективное животноводство. – 2020. – №. 5 (162). – С. 94-95. DOI: 10.24411/9999-007A-2020-00018. Режим доступа: https://elibrary.ru/item.asp?id=43832850
25. Peña-Espinoza, M. Antiparasitic activity of chicory (Cichorium intybus) and its natural bioactive compounds in livestock: a review / M. Peña-Espinoza, A. H. Valente, S. M. Thamsborg, H. T. Simonsen, U. Boas, H. L. Enemark, R. López-Muñoz, A. R. Williams // Parasites & Vectors. – 2018. – Vol. 11. – No. 1. – P. 1-14. DOI 10.1186/s13071 018 3012 4. Режим доступа: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30134991.
26. Колесникович, К. В. Изучение терапевтической эффективности кормовой добавки при эймериозе цыплят-бройлеров / К. В. Колесникович // Материалы 106й Международной научно-практичсекой конференции студентов и магистрантов «Студенты — науке и практике АПК». - 2021. - Витебск. - С. 119-120. Режим доступа: https://www.vsavm.by/wp-content/uploads/2013/11/Studenty-nauke-i-praktike-APK-2021-106-2.pdf
27. Кармалиев, Р.С. Эффективность антгельминтной кормовой добавки при гельминтозах пищеварительного тракта жвачных / Р.С. Кармалиев // Вестник науки казахского агротехнического университета им. С. Сейфуллина. – 2021. – №. 1 (108). – С. 143-151. Режим доступа: file:///C:/Users/%D0%BC%D1%81%D0%

B8/Downloads/effectiveness-of-antihelminth-forage-supplement-in-helminthosis-of-digestive-tract-of-ruminants.pdf
28. Bonchenari, M. Kazemi Immune Responses and some Blood Metabolite Responses of Female Holstein Calves to Dietary Supplementation with Licorice Root (Glycyrrhiza glabra) / M. K. Bonchenr, M. K. Motlagh ,A.A. Solati ,R. Sajjadi // Iranian Journal of Applied Animal Science. – 2014. – Vol. 4. – No. 3. – P. 505-508. Режим доступа: https://journals.iau.ir/article_513505.html.
29. Abarghuei, M. J. Sustainable impact of pulp and leaves of Glycyrrhiza glabra to enhance ruminal biofermentability, protozoa population, and biogas production in sheep / M. J. Abarghuei, A. Z. M. Salem // Environmental Science and Pollution Research. – 2021. – No. 28. – P. 33371-33381. – DOI: 10.1007/s11356-021-12968-w. Режим доступа: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33638783.
30.Ивановский, А. А. Влияние адаптогенов растительного происхождения на поросят и свиноматок / А. А. Ивановский, Н. П. Тимофеев, С. А. Ермолина // Аграрная наука Евро-Северо-Востока. – 2019. – Т. 20. – №. 4. – С. 387-397. DOI: 10.30766/2072-9081.2019.20.4.387-397. Режим доступа: https://cyberleninka.ru/article/n/vliyanie-adaptogenov-rastitelnogo-proishozhdeniya-na-porosyat-i-svinomatok

REFERENCES

1. Bagno, O.A. Use of phytobioticts in farm animal feeding (review)/ O.A. Bagno, O.N. Prokhorov, S.A. Shevchenko, A.I. Shevchenko, T.V. Dyadichkina//Agricultural Biology. – 2018. – Vol. 53. – №. 4. – P. 687-697. - DOI: 10.15389/agrobiology.2018.4.687rus. URL: https://cyberleninka.ru/article/n/fitobiotiki-v-kormlenii-selskohozyaystvennyh-zhivotnyh (In Russ.)
2.Chassagne, F. A systematic review of plants with antibacterial activities: A taxonomic and phylogenetic perspective / F. Chassagne, T. Samarakoon, G. Porras, J. T. Lyles, M. Dettweiler, L. Marquez, A. M. Salam, S. Shabih, D. R. Farrokhi, C. L. Quave // Frontiers in pharmacology. – 2021. – T. 11. – C. 586-548. – DOI 10.3389/fphar.2020.586548. URL: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33488385.
3.Cermak, P. Strong antimicrobial activity of xanthohumol and other derivatives from hops (Humulus lupulus L.) on gut anaerobic bacteria / P. Cermak //Apmis. – 2017. – Vol. 125. – No. 11. – P. 1033-1038. – DOI 10.1111/apm.1274. URL: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28960474.
4.Kolenc, Z.Antimicrobial Properties of Different Hop (Humulus lupulus L.) Genotypes / Z. Kolenc, T. Langerholc, G. Hostnik, M. Ocvirk, S. Štumpf, M. Pintarič, U. Bren // Plants. – 2022. – Vol. 12. – No. 1. – P. 120-125. – DOI 10.3390/plants12010120. URL: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36616249.
5.Bogdanova, K. Antibiofilm activity of bioactive hop compounds humulone, and xanthohumol toward susceptible and resistant staphylococci / K. Bogdanova, M. Röderova, M. Kolar, K. Langova, M. Dusek, P. Jost, J. Olsovska, // Research in microbiology. – 2018. – Vol. 169. – No. 3. – P. 127-134. – DOI 10.1016/j.resmic.2017.12.005. URL: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29407045.
6.Dhouibi, R. Screening of pharmacological uses of Urtica dioica and others benefits / R. Dhouibi, H. Affes, M. Ben Salem, S. Hammami, Z. Sahnoun, K. M. Zeghal, K. Ksouda // Progress in Biophysics and Molecular Biology. – 2022. – Vol. 150. – P. 67–77. – DOI 10.1016/j.pbiomolbio.2019.05.008. URL: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31163183.
7. Aydın, H. B. Antibacterial and antiviral activities of stinging nettle (Urtica dioica L.) leaf extract on norovirus and Campylobacter jejuni as foodborne pathogens / H. B. Aydın, S. Korkmaz, B. I. O. Korkmaz // Journal of microbiology, biotechnology and food sciences. – 2023. – Vol. 13. – No. 1. – P. e9768-e9768. – DOI 10.55251/jmbfs.9768. URL: https://office2.jmbfs.org/index.php/JMBFS/article/view/9768.
8. El-Kalamouni, C. Antioxidant and antimicrobial activities of the essential oil of Achillea millefolium L. grown in France / C. El-

Kalamouni, P. R. Venskutonis, B. Zebib, O. Merah, C. Raynaud, T. Talou // Medicines. - 2017. - Vol. 4. - № 2., 30. DOI: 10.3390/ medicines4020030. URL: https:// www.mdpi.com/2305-6320/4/2/30

9. El Mihyaoui, A. Chamomile (Matricaria chamomilla L.): A Review of Ethnomedicinal Use, Phytochemistry and Pharmacological Uses / A. El Mihyaoui, J. C. G. Esteves da Silva, S. Charfi, M. E. C. Castillo, A. Lamarti, M. B. Arnao // Life (Basel). – 2022. – Vol. 12. – No 4. – P. 479-482. – DOI 10.3390/life12040479. URL: https:// www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/ PMC9032859.

10. Poudineh, F. Antibacterial activity of ethanolic extract of Matricaria chamomilla, Malva cylvestris, and Capsella bursa-pastoris against multidrug-resistant Pseudomonas aeruginosa strains / F. Poudineh, A. A. Azari, L. Fozouni // Avicenna Journal of Clinical Microbiology and Infection. – 2021. – Vol. 8. – No 1. P. 23 26. DOI 10.34172/ ajcmi.2021.05. URL: https:// ajcmi.umsha.ac.ir/Article/ajcmi-3244.

11. Shaikh, T. Antimicrobial screening of Cichorium intybus seed extracts / T. Shaikh, R. A. Rub, S. Sasikumar // Arabian Journal of Chemistry. – 2016. – No. 9. – P. 1569–1573. – DOI 10.1016/j.arabjc.2012.04.012. URL: https://www.researchgate.net/ publication/271562848_Antimicrobial_screening_of_Cichorium_intybus_seed_extracts.

12. Kagkli, D. M. Antiradical and antimicrobial properties of fermented red chicory (Cichorium intybus L.) by-products / D. M. Kagkli, V. Corich, B. Bovo, A. Lante, A. Giacomini // Annals of Microbiology. – 2016. – No. 66. – P. 1377–1386. –DOI 10.1007/s13213 016 1225 3. URL: https:// annalsmicrobiology.biomedcentral.com/ articles/10.1007/s13213-016-1225-3.

13. Tamfu, A. N. Ultrasound-assisted extraction of Syringa Vulgaris Mill., Citrus Sinensis L. and Hypericum Perforatum L.: Phenolic composition, enzyme inhibition and anti-quorum sensing activities / A. N. Tamfu, S. Küçükaydın, M. M. Quradha, M. E. Duru // Chemistry Africa. – 2022. – Vol. 5. – No. 2. – P. 237-249. –DOI: 10.1007/s42250 022 00315 6. URL: https:// www.researchgate.net/ publication/357811966_Ultrasound Assisted_Extraction_of_Syringa_vulgaris_Mill_Citrus_sinensis_L_and_Hypericum_perforatum_L_Phenolic_Composition_Enzyme_Inhibition_and_Anti quorum_Sensing_Activities.

14. Bhargava, N. Attenuation of quorum sensing-mediated virulence of Acinetobacter baumannii by Glycyrrhiza glabra flavonoids / N. Bhargava, S. P. Singh, A. Sharma, P. Sharma, N. Capalash // Future microbiology. – 2015. – Vol. 10. – No. 12. – P. 1953-1968. – DOI 10.2217/fmb.15.107. URL: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26582430.

15. Mohamad, T. S. Down-regulation of abaI, abaR, Bap and OmpA genes in Acinetobacter baumannii by ethanol extract of Glycyrrhiza glabra after toxicity assessment / T. S. Mohamad, J. K. Rahman, A. A. Ahmed, A. R. Ganjo // Cellular and Molecular Biology. – 2023. – Vol. 69. – No. 12. – P. 194-200. – DOI: 10.14715/ cmb/2023.69.12.31. Режим доступа: https:// pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38063097.

16. Bryant, R. W. Characterization of hop acids in spent brewer’s yeast from craft and multinational sources / R. W. Bryant, S. D. Cohen // J Am Soc Brew Chem. – 2015. – No. 73 – P. 159–64. – DOI 10.1094/asbcj-2015-0315-01. Режим доступа: https:// www.researchgate.net/ publication/282304100_Characterization_of_Hop_Acids_in_Spent_Brewer's_Yeast_from_Craft_and_Multinational_Sources.

17. Merzlenko, O.V. Plant Components of Feed Additive Anta®Phyt in the Production of Organic Poultry Meat / O.V. Merzlenko , A.V. Khmyrov , A.A. Gorbach , E.N. Eliseeva // Poultry farming. – 2020. - № 11. - P. 49-54. DOI 10.33845/0033-3239-2020-69-11-49-54. URL: http://dspace.bsu.edu.ru/ bitstream/123456789/42419/1/ Khmyrov_Rastitelnye_20.pdf (In Russ.)

18. Zhang, Y. Research progress in physiological effects of resistant substances of Urtica dioica L. on animal performance and feed conversion / Y. Zhang, X. Zhang, M. H. Zafar, J. Zhang, J. Wang, X. Yu, W. Liu, M.

Wang // Frontiers in Plant Science. – 2023. – No. 14. – P. 1164-1176. –DOI: 10.3389/fpls.2023.1164363. URL: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37448866.
19. Ignatovich L.S. Plant-Derived Feed Additives / L.S. Ignatovich L.S. // Poultry farming. – 2015. – №. 5. – P. 23-25. URL: https://www.elibrary.ru/download/elibrary_24116585_64138924.pdf (In Russ.)
20. Burmistrov, E. A. Naumova N.L. Influence of feed additive from stinging nettle on furs productivity of rabbits / E. A. Burmistrov, N.L Naumova // Current problems of veterinary and intensive animal husbandry: Materials of the national scientific and practical conference with international participation. - Bryansk. – 2021. – P. 243 - 247. (In Russ.)
21. Mohseni, M. Does Achillea millefolium extracts possess prokinetic effects on the bovine abomasum thourgh M3 muscarinic receptors? / M. Mohseni, M. Maham, B. Dalir-Naghadeh, G. Jalilzadeh-Amin // Veterinary Research Forum. Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran. – 2017. – Vol. 8. – No. 2. – P. 115-120.
22. Ignatovich L.S. Influence of use of component feed additives, manufactured with the use of grass meal of yarrow, on laying hens productivity, quality of the products (eggs) and feed conversion / L.S. Ignatovich // Far Eastern Agricultural Journal. - 2017. – №. 2 (42). – P. 75-81.
23. Voroshilin, R. A. Evaluation of the impact of extracts of chamomile apothecary on the complex of economic and useful qualities of rabbit meat / R. A. Voroshilin, S. N. Rassolov, E. V. Ulrich, M. G. Kurbanova // Technics and technology of food production. – 2019. – No. 4. – P. 643-651. – DOI 10.21603/2074-9414-2019-4-643-651. URL: https://cyberleninka.ru/article/n/otsenka vozdeystviya ekstraktov romashki aptechnoy na kompleks hozyaystvenno poleznyh kachestv myasa krolikov (In Russ.)
24. Frolov, A.I. Efficiency of using a prebiotic additive in feeding calves / A. I. Frolov, O. B. Filippova, A. I. Betin, N. I. Maslova // Effective Animal Husbandry – 2020. – №. 5 (162). – P. 94-95. DOI: 10.24411/9999-007A-2020-00018. URL: https://elibrary.ru/item.asp?id=43832850 (In Russ.)
25. Peña-Espinoza, M. Antiparasitic activity of chicory (Cichorium intybus) and its natural bioactive compounds in livestock: a review / M. Peña-Espinoza, A. H. Valente, S. M. Thamsborg, H. T. Simonsen, U. Boas, H. L. Enemark, R. López-Muñoz, A. R. Williams // Parasites & Vectors. – 2018. – Vol. 11. – No. 1. – P. 1-14.
26. Kolesnikovich, K. V. Study of the therapeutic effectiveness of a feed additive for eimeriosis in broiler chickens / K. V. Kolesnikovich // Materials of the 106th International Scientific and Practical Conference of Students and Masters “Students - Science and Practice of the Agro-Industrial Complex”. - 2021. - Vitebsk. - P. 119-120.(In Russ.)
27. Karmaliyev R. S. Effectiveness of antihelminth forage supplement in helminthosis of digestive tract of ruminants / R. S. Karmaliyev //Scientific journal" Bulletin of Science of the Kazakh Agrotechnical Research University named after S. Seifullin". – 2021. – №. 1 (108). – P. 143-151. URL: file:///C:/Users/%D0%BC%D1%81%D0%B8/Downloads/effectiveness-of-antihelminth-forage-supplement-in-helminthosis-of-digestive-tract-of-ruminants.pdf (In Russ.)
28. Bonchenari, M. Kazemi Immune Responses and some Blood Metabolite Responses of Female Holstein Calves to Dietary Supplementation with Licorice Root (Glycyrrhiza glabra) / M. K. Bonchenr, M. K. Motlagh ,A.A. Solati ,R. Sajjadi // Iranian Journal of Applied Animal Science. – 2014. – Vol. 4. – No. 3. – P. 505-508. URL: https://journals.iau.ir/article_513505.html.
29. Abarghuei, M. J. Sustainable impact of pulp and leaves of Glycyrrhiza glabra to enhance ruminal biofermentability, protozoa population, and biogas production in sheep / M. J. Abarghuei, A. Z. M. Salem // Environmental Science and Pollution Research. – 2021. – No. 28. – P. 33371-33381.
30. Ivanovsky A. A. Effect of plant adaptogens on piglets and sows / A. A. Ivanovsky, N. P. Timofeev, S. A. Ermolina // Agricultural Science Euro-North-East. – 2019. – Vol. 20. – №. 4. – P. 387-397.

УДК: 619:615.28
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.4.127

ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ ИСТОЧНИКИ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ ОМСКОЙ ОБЛАСТИ ДЛЯ СОЗДАНИЯ ФИТОБИОТИКОВ И ФИТОГЕНИКОВ

Бойко Т.В.* – д-р ветеринар. наук, доц., зав. каф. диагностики, внутренних незаразных болезней, фармакологии, хирургии и акушерства (ORCID 0000-0002-0799-8921); **Огурной И.В.** – асс. каф. диагностики, внутренних незаразных болезней, фармакологии, хирургии и акушерства (ORCID 0009-0005-9900-2579); **Огурная Ю.Е.** – асп. (ORCID 0009-0000-0486-3565)

ФГБОУ ВО «Омский государственный аграрный университет имени П.А. Столыпина».

*tv.boyko@omgau.org;

Ключевые слова: *фитобиотики, фитогеники, лекарственные растения, Salicornia, солерос солончаковый, лох узколистый.*

Key words: *phytobiotics, phytogenics, medicinal plants, Salicornia, Salicornia perennans, Elaengus angustifolia.*

Поступила: 25.10.2024 **Принята к публикации: 02.12.2024**
Опубликована онлайн:16.12.2024

РЕФЕРАТ

В статье представлен аналитический материал по изучению и применению растительного сырья в качестве источников для создания фитобиотиков и фитогеников для животноводства. В качестве источников литературы были приняты научные статьи на английском и русском языках с ключевыми словами «фитогеники», «фитобиотики», «лекарственные растения», «эфирно-масличные растения», «растения Омской области», размещенные в библиографических базах данных, в научных электронных библиотеках поисковых систем. Подробно изучены публикации ученых Омской области, на основании которых установлено, что в Омской области произрастает более 74 видов лекарственных растений, из которых 30 имеют декоративное, 27 медоносное, 17 лекарственное и кормовое значение. Проведенный анализ научных публикаций о потенциальных источниках БАВ растений, произрастающих на территории Омской области, показал, что перспективными растениями для создания фитогеников и фитобиотиков являются дикоросы: крапива двудомная, календула лекарственная, тысячелистник обыкновенный, солерос солончаковый и лох узколистный, биологически активные вещества которых обладают плейотропным действием на организм, оказывая антибактериальный, противовоспалительный, кровоостанавливающий, иммуномодулирующий, спазмолитический, регенерирующий эффекты, а также повышающие секреторную активность желез желудка и кишечника. Представленный анализ химического состава образцов солероса, произрастающего на территории Омской области, свидетельствует о высокой питательной ценности растительного сырья

и необходимости изучения его влияния на функции организма животных. Проведенный сравнительный анализ макроэлементного состава галофита, показал, что в июньских образцах превалирует содержание магния, хлора и нитрат-аниона, а в образцах, отобранных в сентябре – превалирует содержание калия, натрия, кальция и фосфатов, что необходимо учитывать при заготовке растения.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Проблема чрезмерного применения антибиотиков в животноводстве с целью повышения продуктивности и сохранности разных видов животных привело к развитию резистентности многих видов микроорганизмов и, как следствие – снижению терапевтической эффективности противомикробных препаратов при инфекционных заболеваниях не только у животных, но и человека [1]. Запретительные меры, введенные на большинство кормовых антибиотиков в европейских странах и ряде других стран, а также ограничение их применения в России и странах Таможенного Союза, способствуют переходу на использование в животноводстве уже известных фитобиотиков и поиску новых источников их получения [2]. Сегодня «*переход к высокопродуктивному и экологически чистому агро- и аквахозяйству…»* является одним из приоритетных направлений научно-технологического развития Российской Федерации [3].

Фитобиотики (кормовые добавки растительного происхождения) – это натуральные кормовые добавки растительного происхождения, обладающие антимикробным, противовирусным, иммуномодулирующим, противогрибковым, противовоспалительным и др. действием на организм. В зарубежной литературе фитобиотики определяются как соединения растительного происхождения, используемые в кормлении животных с целью повышения их продуктивности путем улучшения производственных показателей, кормовых свойств, а также улучшения качества пищевых продуктов животного происхождения [2]. Понятие «фитогенные кормовые добавки» или фитогеники было предложено экспертами австрийской исследовательской корпорации по их производству *Delacon*, вышедшей на национальный рынок в 1980-х гг. – это «группа естественных стимуляторов роста, или не антибиотических стимуляторов роста, используемых в качестве кормовых добавок для сельскохозяйственных животных, получаемые из трав, специй растений других категорий, таких как орегано, тимьян, чеснок, хрен, кайенский перец, перечная мята и пр. – весьма широкого спектра растительных материалов – большинство из которых имеют многовековую историю в питании человека, где они с древних времен использовались в качестве ароматизаторов, пищевых консервантов и лекарственных средств» [4]. Во многих источниках литературы фитобиотики и фитогеники используются как синонимы, однако, по механизму действия это две разные группы – фитобиотики – снижают активность условно-патогенной микрофлоры в кишечнике, фитогеники – улучшают процессы пищеварения через активизацию секреторно-моторной функции желудочно-кишечного-тракта. Стоит отметить, что многогранный спектр биологически активных веществ (БАВ) фитобиотиков, включающий: эфирные масла, терпеноиды, полифенолы, стероиды, сапонины, флавоноиды, каротиноиды, витамины, макро- и микроэлементы и др., обусловливают полифункциональность их действия на организм животных, что выражается в стимуляции моторики и секреции органов пищеварительного тракта и, как следствие, – повышении аппетита, потребления и усвоения питательных веществ корма, росте продуктивности и воспроизводительной функции; активации иммунной системы, устойчивости организма к инфекции; противомикробном, противовоспалительном, противовирусном, антипаразитарном, антиоксидантном, гепатопротективном действии – что, в совокупности, обеспечивает фитобиотический и фитогенный потен-

циал обеспечивающий высокую сохранность поголовья и рентабельность отрасли животноводства в целом [5, 6].

Сегодня очевидна ведущая роль фитобиотиков в составе кормовых добавок, которые с успехом применяются в свиноводстве, птицеводстве и молочном животноводстве. Использование их в рационе здоровых животных на постоянной основе позволяет профилактировать многие заболевания, обусловленные нарушением обменных процессов в организме животных, что является основным отличием от ветеринарных препаратов, используемых только для лечения заболеваний [7].

Для производства фитобиотиков европейские страны преимущественно используют эфиромасличные и пряно-ароматические растения, содержащие флавоноиды и терпеноиды в качестве действующих веществ, а также лекарственные растения, синтезирующие сапонины и изохинолиновые алкалоиды [5, 6, 7].

Несмотря на доказанные полезные качества фитобиотики и фиттоники имеют ряд недостатков, сдерживающие их широкое применение в животноводстве. Например, отсутствие прямого анаболического эффекта и слабая эффективность при технологическом стрессе в свиноводстве и птицеводстве, а также проблемы, связанные с оценкой их безопасности и стандартизацией по действующим веществам [8].Тем не менее, примеры массового успешного внедрения в странах Европы и Азии новых и нетрадиционных растений из местной флоры, ввиду широкого спектра биологической активности данных видов, улучшающих вкусовые и органолептические свойства рационов кормления животных, стимулирующих пищеварение и оказывающих полифункциональный лечебно-профилактический и оздоровительный эффект, широко представлены в литературе [5, 6].

К сожалению, в России набор культур, используемых в качестве фитобиотиков и фитогеников крайне ограничен, несмотря на богатейший генофонд дикорастущей флоры. В связи с этим, поиск новых видов растений с уникальными свойствами профилактической, терапевтической, анаболической, антистрессовой и адаптогенной направленности, являющихся одновременно экономически более выгодными в сравнении с традиционными культурами, является важной задачей фармакологов [7].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

В статье представлен аналитический материал по изучению и применению растительного сырья в качестве источников для создания фитобиотиков и фитогеников для животноводства. В качестве источников литературы были приняты научные статьи на английском и русском языках с ключевыми словами «фитогеники», «фитобиотики», «лекарственные растения», «эфирно-масличные растения», «растения Омской области», опубликованные на сентябрь 2024 года и размещенные в библиографических базах данных, в научных электронных библиотеках поисковых систем:Web of Science (http://www.webofscience.com); Scopus (https://www.scopus. com); eLIBRARY.RU (https://www.elibrary.ru); Pubmed (https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov); ЦНСХБ (http://www.cnshb.ru), гугл-академии (https://scholar.google.ru/schhp?hl=ru.). Глубина научного поиска составила более 20 лет. Из списка исключены материалы, не имеющие доказательной базы. Подробно изучены публикации ученых Омской области.

РЕЗУЛЬТАТЫ/ RESULTS

В Омской области произрастает более 74 видов лекарственных растений, из которых 30 имеют декоративное, 27 медоносное, 17 лекарственное и кормовое значение [9]. Учеными Омского ГАУ на протяжении многих лет ведется успешная работа по изучению биологических особенностей, хозяйственных признаков и отдельных приемов технологии возделывания отдельных видов наиболее востребованного лекарственного сырья, прежде всего, календулы лекарственной (*Calendula officinalis L.*) и тысячелистника

обыкновенного *(Achillea millefolium L.)* [10]. Лекарственным сырьем календулы является цельные цветочные корзинки, содержащие эфирное масло, сапогенин, сапонины, гликозиды, каротиноиды, ксантофиллы, горечи, слизи, флавоноиды, ферменты и органические кислоты. Экспериментально доказано, что лекарственные препараты на основе календулы лекарственной обладают выраженным бактерицидным действием по отношению к стрептококкам, стафилококкам и патогенным грибам, оказывают противовоспалительный, ранозаживляющий, спазмолитический и желчегонный эффекты [11]. Биологически активный комплекс тысячелистника обыкновенного представлен фенольными соединениями, эфирным маслом, содержащим до сорока компонентов, полисахаридами, витаминами, микро-макроэлементами и др., основными эффектами которого являются противовоспалительный, кровоостанавливающий, иммуномодулирующий, спазмолитический и регенерирующий [12].

На основании известных фармакологических свойств лекарственных растений и применения их в акушерско-гинекологической практике учеными Омского ГАУ были разработаны два состава фитокомпозиций, включающих настойки тысячелистника, крапивы и чемерицы (состав 1), и настойки календулы, крапивы и чемерицы (состав 2) с добавлением пропиленгликоля в качестве вспомогательного вещества. Фитокомпозиции представляют собой растворы для парентерального применения от темно-зеленого до зелено-коричневого цвета, вязкой консистенции. Безопасность применения обеих составов фитокомпозиций была доказана в доклинических исследованиях на лабораторных животных [13]. Экспериментально подтверждены утеротонический, руминаторный, противовоспалительный, гемостатический и иммуностимулирующий эффекты фитокомпозиций, кроме того, введение их в организм коров способствовало кратковременному повышению глюкозы в крови – источнику энергии, дефицит которой наблюдается у животных в ранний послеродовый период. Пилотные испытания обеих образцов фитокомпозиций подтвердили высокую их эффективность при лечении и в профилактике послеродового эндометрита, субинволюции матки, гипофункции и кистах яичников у коров. Данные фитокомпозиции могут быть использованы как средства неотложной помощи для отделения последа [3, 14].

Одним из малоизученных представителей флоры Омской области, является галофит – солерос солончаковый (*Salicornia perennans* WILLD.), произрастающий на засоленных почвах, прилегающих к обширным приозерным впадинам – Тюкалинской, Эбейтинской, Курумбельской, Камышловскому логу, к Омь-Иртышской, Саргатской, Алаботинской неогенным озерноалювиальным равнинам. Несмотря на то, что солончаки характеризуются неблагоприятными свойствами для возделывания сельскохозяйственных культур, многие из них вовлечены в полевые и кормовые севообороты многих стран мира. В лесостепной зоне Омского Прииртышья солонцовые комплексы занимают почти треть сельскохозяйственных угодий (1,9 млн. га) и преимущественно используются как сенокосы и пастбища [15].

Анализируя научные публикации, посвященные изучению биологически активных веществ солероса, установлено, что семена растений рода *Salicornia,* обладают приятным ореховым вкусом и консистенцией, похожей на оливковое масло, богаты олеиновой, линолевой, пальмитиновой, линоленовой и стеариновой аминокислотами. В побегах установлено высокое содержание ионов магния, кальция, железа, калия, а также белка, полисахаридов и пищевых волокон. Фенольные соединения представлены флавоноидами и фенольными кислотами, биологическая активность которых проявляется антиоксидантными, диуретическими, гепатопротекторными и противовоспалительными свойствами. Содержание хлорогеновой, глутаминовой и аспарагиновой кислот, а также бетацианинов,

представляющих собой красный пигмент растения, обусловливают антиоксидантные свойства солероса. Глицинбетаин, пролин, сахара считаются осморегуляторами и могут выполнять протекторную функцию. В метанольном экстракте *Salicornia herbacea* выделены ситостерол, стигмастерол, флавоноловые гликозиды, обладающие гипохолистеринемическим действием [16].

Сегодня растения рода *Salicornia* находят применение только в народной медицине. Из листьев, стеблей и цветов солероса готовят отвары, которые используют в качестве желудочного, слабительного, мочегонного и противовоспалительного средства. Считают, что употребление солероса качественно улучшает пищеварение, а также тормозит рост опухолей. Северные народы России традиционно используют травянистые части растения для приготовления водочной настойки – эффективного противовоспалительного и болеутоляющего средства при артритах, ревматизме и подагре. При хроническом артрите настойки оказывают обезболивающее и согревающее действие и, в конечном итоге, улучшают подвижность суставов. Солерос в форме порошка используют не только в качестве биологически активной добавки, но и ингредиента мясных изделий. Так, включение порошка солероса в количестве 10 % в рецептуру сосисок повышало растворимость миофибриллярных белков, что обусловливало водоудерживающую способность, стабильность эмульсии, стойкость текстуры и вязкость. При органолептической оценке отмечено повышение мягкости и сочности изделий, что позволило авторам рекомендовать порошок солероса для улучшения показателей качества мясной продукции [16, 17].

При анализе химического состава солероса европейского (*Salicornia europaéa*), произрастающего на территории Омской области и собранного в сентябре, массовая доля сырого протеина в сырье составляла 9,13±0,31%, массовая доля сырого жира - 8,15 %±0,78%, массовая доля сырой клетчатки - 9,1±1,3%, массовая доля сырой золы - 31,6 %±1,2%. Сравнительный анализ макроэлементного состава галофита, показал, что в июньских образцах превалирует содержание магния, хлора и нитрат-аниона, а в образцах, отобранных в сентябре – превалирует содержание калия, натрия, кальция и фосфатов [18]. Источники литературы подтверждают перспективность использования солероса в качестве сырья для производства биологически активных добавок животным и человеку.

На территории Омской области, в том числе, в городской зоне произрастает редкий вид в Сибири невысоких деревьев с широкой раскидистой кроной и серебристыми листьями – лох узколистный *(Elaengus angustifolia L.).* Отличительной особенностью лоха являются: быстрый рост, высокая декоративность, устойчивость к техногенному загрязнению, солеустойчивость, фитонцидная активность и приятный медовый аромат цветов. В естественных условиях лох узколистный произрастает на юге европейской части России, в Сибири и на Алтае, в поймах рек, образуя обширные заросли, растет на солончаках и невысоких горах. Начинает плодоносить с 5-6 лет, доживает до 80-100 лет. Является медоносом, лекарственным, пищевым, техническим растением, а также используется в парфюмерной и пищевой промышленности. Состав БАВ растения многообразен и уникален. В цветках обнаружены витамины группы В, аскорбиновая кислота и терпеноиды – нерол, линалоол, гераниол, фарнезол, цитронеллол, которые используют для изготовления ликера и в парфюмерии. В листьях установлено высокое содержание конденсированных танинов (стриктинин, изостриктинин, казуаринин, гипофенин), карбоновых (кофейная, хлорогеновая, неохлорогеновая кислоты) и фенолкарбоновых кислот (галловая кислота аскорбиновой кислоты), витаминов А, К и Е. Плоды питательны и содержат сахара, белки, калийные и фосфорные соли. В листе и плоде отмечено содержание полипренолов – многоатомных спиртов, превращающихся в печени в долихолы, которые

участвуют в синтезе гликопротеинов – белковых молекул липидного слоя клеточных мембран, обеспечивающих трансмембранный транспорт веществ, а также полисахаридов (глюкоза, манноза, галактоза, фруктоза, ксилоза, рамноза), являющихся источником энергии для организма. Установлено, что количество общего сахара в плоде составляет около 60%, из которых более 50% – это редуцирующие сахара и около 4% представлены пектинами. В листе, плоде, коре и цветах обнаружено высокое содержание флавоноидов: рутин, кверцетин, изорамнетин, изорамнетин-3-0-β-галактопиранозид, элеагнозид, кемпферол. В семенах и коре обнаружены β-карболины – алкалоиды, усиливающие высвобождение норадреналина, дофамина и серотонина в моноаминергических и/ или ГАМК-ергических синапсах, высокие концентрации которых вызывают антидепрессивный эффект (нормализуют настроение), подобный имипрамину и амитриптилину. Количество β-карболинов в листе и плоде значительно меньше, однако, в этих частях растения установлено высокое содержание фитостеринов (β-ситостерин и стигмастерин) – веществ, понижающих уровень холестерина в организме за счет снижения его всасывания в кишечнике, а также обладающих онкопрофилактической и иммунологической активностью. Аминокислотный состав плодов представлен треонином, серином, глутамином, пролином, глицином, аланином, валином, метионином, изолейцинм, лейцином, тирозином, фенилаланином, гистидином, лизином, аргинином, триптофаном, цистеином, аспаргином. В семенах обнаружены пальмитиновая, стеариновая, олеиновая, линолевая жирные кислоты. В плоде и коре установлено высокое содержание дубильных веществ и каротиноидов (β-каротин). В коре обнаружены фенилпропаноиды (n-кумаровая кислота, коричная кислота, умбеллиферон) [19, 20, 21]. Экспериментальными исследованиями установлены гастропротекторный и кардиопротективный эффекты экстрактов плодов и листьев лоха; противовоспалительный и анальгезирующий эффекты сиропа из плодов растения; миорелаксантный эффект водных и этанольных экстрактов цветков и листьев лоха; выраженный регенеративный эффект масла из семян, включенного в состав экспериментальных образцов мягких лекарственных форм; антибактериальное действие экстракта листьев лоха в тестах с сенной палочкой; а также противоастматический, противокашлевой, отхаркивающий и антидепрессивный эффекты [22].

Еще одним ценным источником БАВ в Омской области является цианопрокариотическая водоросль *Limnospira/ Arthrospira fusiformis (Voronichin) Nowicka-Krawczyk, Mühlsteinová et Hauer*, обнаруженная коллективом ученых Омского ГАУ во главе с профессором О.П. Баженовой в оз. Солёном, расположенном на юго-восточной окраине г. Омска, и вызывающая в летне-осенний период «цветение» воды. В исследованиях были определены запасы лимноспиры в озере, ее кормовая и биологическая ценность, изучены особенности существования вида в зимний период, дана токсикологическая оценка фитомассы лимноспиры и установлены возможности ее использования в качестве биодобавки при кормлении животных. На сегодняшний день артроспиру/спирулину культивируют в промышленных масштабах в России, а также завозят из-за рубежа. Анализ ассортимента препаратов артроспиры/спирулины, имеющихся в продаже, показал, что все они изготовлены из *Arthrospira platensis*. Данных о питательной ценности других видов артроспиры/спирулины пока крайне недостаточно [23].

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Проведенный анализ научных публикаций о потенциальных источниках БАВ растений, произрастающих на территории Омской области, как источников для создания новых фитобиотиков и фитогеников, показал, что перспективными растениями являются дикоросы: крапива двудомная, календула лекарственная, тысячелистник обыкновенный, солерос солончаковый и лох узколистный, а также циано-

прокариотическая водоросль *Limnospira/ Arthrospira fusiformis (Voronichin) Nowicka-Krawczyk, Mühlsteinová et Hauer*.

POTENTIAL SOURCES OF BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES IN OMSK REGION FOR THE CREATION OF PHYTOBIOTICS AND PHYTOGENICS

Boyko T.V. * – doctor of veterinary sciences, associate professor, head of the department of diagnostics, internal non-communicable diseases, pharmacology, surgery and obstetrics (ORCID 0000-0002-0799-8921); **Ogurnoy I.V.** – assistant, department of diagnostics, internal non-communicable diseases, pharmacology, surgery and obstetrics (ORCID 0009-0005-9900-2579); **Ogurnaya Yu.E.** – postgraduate student (ORCID 0009-0000-0486-3565)

Omsk State Agrarian University named after P.A. Stolypin

*tv.boyko@omgau.org;

ABSTRACT

The article presents analytical material on the study and application of plant materials as sources for the creation of phytobiotics and phytogenics for animal husbandry. Scientific articles in English and Russian with the keywords "phytogenics", "phytobiotics", "medicinal plants", "essential oil plants", "plants of the Omsk region" posted in bibliographic databases, in scientific electronic libraries of search engines were accepted as sources of literature. Publications of scientists of the Omsk region were studied in detail, on the basis of which it was established that more than 74 species of medicinal plants grow in the Omsk region, of which 30 have decorative, 27 honey, 17 medicinal and fodder values. The conducted analysis of scientific publications on potential sources of biologically active substances of plants growing in the Omsk region showed that the following wild plants are promising for the creation of phytogenics and phytobiotics: stinging nettle, calendula officinalis, yarrow, saltwort and oleaster angustifolia, the biologically active substances of which have a pleiotropic effect on the body, providing antibacterial, anti-inflammatory, hemostatic, immunomodulatory, antispasmodic, regenerating effects, as well as increasing the secretory activity of the glands of the stomach and intestines. The presented analysis of the chemical composition of saltwort samples growing in the Omsk region indicates the high nutritional value of plant materials and the need to study its effect on the functions of the animal body. A comparative analysis of the macroelement composition of halophyte showed that in June samples the content of magnesium, chlorine and nitrate anion prevails, while in samples collected in September the content of potassium, sodium, calcium and phosphates prevails, which must be taken into account when harvesting the plant.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1.Борьба с устойчивостью к антибиотикам с позиций безопасности пищевых продуктов в Европе. Копенгаген: Европейское региональное бюро ВОЗ, 2011. 106 с. Режим доступа: https://www.euro.who.int/__data/assets/pdf_file/0011/144695/e94889R.pdf

2.Латышева Д. А., Ульрих Е. В. История и современное состояние производства фитобиотических кормовых добавок в мире //ББК 40 Н 347. – 2018. – С. 206.

3.Указ Президента РФ от 1 декабря 2016 г. N 642 "О Стратегии научно-технологического развития Российской Федерации" (с изменениями и дополнениями). Режим доступа : https://base.garant.ru/71551998/ (дата обращения 17.02.2024).

4.Фитогенные кормовые добавки и возможности их применения // Эффективное животноводство. – 2019. – № 2(150). – С. 14-15.

5.Franz C., Baser K. H. C., Windisch W. Essential oils and aromatic plants in animal feeding – a European perspective. A review. Flavour and Fragrance Journal. 2010;25 (5);327-340. DOI: https://doi.org/10.1002/ffj.1967

6.Harrington D., Hall H., Wilde D., Wakeman W. Chapter 11 − Application of aromatic plants and their extracts in the diets of

laying hens. Feed Additives. Academic Press. 2020. pp. 187-203. DOI: https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814700-9.00011-X
7.Тимофеев Н.П. Фитобиотики в мировой практике: виды растений и действующие вещества, эффективность и ограничения, перспективы (обзор) // Аграрная наука Евро-Северо-Востока. 2021. №6. URL: https://cyberleninka.ru/article/n/fitobiotiki-v-mirovoy-praktike-vidy-rasteniy-i-deystvuyuschie-veschestva-effektivnost-i-ogranicheniya-perspektivy-obzor (дата обращения: 06.02.2024).
8.Шевелуха В. С. Новые проблемы нетрадиционного растениеводства. Мат-лы VIII Всероссийского симпозиума по новым кормовым растениям. Сыктывкар: Коми НЦ УрО РАН, 1993. С. 188-190.
9.Природа России. Национальный портал. Омская область. – Электронный ресурс. – Точка доступа : http://www.priroda.ru/regions/earth/detail.php?SECTION_ID=&FO_ID=559&ID=6264
10.Тищенко, Н. Н. Влияние цинка и меди на урожайность тысячелистника обыкновенного (Achillea millefolium L.) на лугово-черноземной почве в условиях южной лесостепи Западной Сибири / Н. Н. Тищенко // Омский научный вестник. – 2015. – № 1(138). – С. 123-127.
11.Шорин, Н. В. Продуктивность календулы лекарственной сорта Кальта в условиях Омской области / Н. В. Шорин, А. Н. Крикливая, А. Ю. Верховых // Разнообразие и устойчивое развитие агробиоценозов Омского Прииртышья : материалы Национальной научно-практической конференции, посвященной 90-летию ботанического сада Омского ГАУ, Омск, 25 сентября 2017 года. – Омск: Омский государственный аграрный университет имени П.А. Столыпина, 2017. – С. 179-183.
12.Калинкина Г. И., Дембицкий А. Д., Березовская Т. П. Химический состав эфирных масел некоторых видов тысячелистника флоры Сибири // Химия растительного сырья. 2000. №3. URL: https://cyberleninka.ru/article/n/himicheskiy-sostav-efirnyh-masel-nekotoryh-vidov-tysyachelistnika-flory-sibiri (дата обращения: 23.02.2024).
13.Разработка полифункциональных лекарственных препаратов для молочного животноводства как альтернатива антибиотикам и гормонам / Т. В. Бойко, В. С. Веретенникова, И. В. Огурной [и др.] // Актуальные проблемы и инновации в современной ветеринарной фармакологии и токсикологии : Материалы VI Международного съезда ветеринарных фармакологов и токсикологов, Витебск, 09–11 июня 2022 года / Редколлегия: Н.И. Гавриченко (гл. ред.) [и др.]. – Витебск: Учреждение образования "Витебская ордена "Знак Почета" государственная академия ветеринарной медицины ", 2022. – С. 18-20.
14.Бойко, Т. В. Морфофункциональные изменения в органах репродукции самок на фоне применения фитопрепарата (экспериментальное исследование) / Т. В. Бойко, И. В. Огурной, М. В. Кошкарев // Международный вестник ветеринарии. – 2023. – № 4. – С. 133-142. – DOI 10.52419/issn2072-2419.2023.4.133.
15.Гиндемит А.М. Свойства малонатриевых солонцов лесостепной зоны Омского Прииртышья / дисс. на соиск. канд.биол. наук. – 2012 г. – Электронный ресурс. – точка доступа: https://www.dissercat.com/content/svoistva-malonatrievykh-solontsov-lesostepnoi-zony-omskogo-priirtyshya
16.Бойко, Т. В. Перспективы применения солероса (Salicornia) в ветеринарной медицине / Т. В. Бойко, И. О. Нестеров // Импортонезависимость и продовольственная безопасность: глобальные вызовы и стратегические тренды развития АПК в условиях трансформации международных экономических отношений : Материалы международной научно-практической конференции, посвящённой 105-летию со дня основания ФГБОУ ВО Омский ГАУ, Омск, 14 июня 2023 года / Омский государственный аграрный университет имени П.А. Столыпина. – Омск: Омский государственный аграрный университет имени П.А. Столыпина, 2023. – С. 637-641. – EDN OTNDRV.
17.Климова, Е. В. 1070. [Влияние добавки, содержащей гидраты солероса, кар-

боксиметилцеллюлозу, каррагинан, соевые изоляты и казеин натрия на физико-химические свойства, консистенцию и органолептические показатели низкожирных сосисок с пониженным содержание соли. (Южная Корея)]. Lim Yun-Bin, Kim Hyun-Wook, Hwang Ko-Eun, Song Dong-Heon, Kim Yong-Jae, Ham Youn-Kyung, Jang Sung-Jin, Lee Choong-Hee, He Fu-Yi, Choi Yun-Sang, Kim Cheon-Jei Effects of Glasswort (Salicornia herbacea L.) Hydrates on Quality Characteristics of Reduced-salt, Reduced-fat Frankfurters // Korean Journal for Food Science of Animal Resources. - 2015.-Vol.35,N 6.-P. 783-792.-Англ.-Bibliogr.: p.791-792. Шифр *http://ocean.kisti.re.kr/IS_mvpopo210L.do?method=list&poid=ksfsar&kojic=CSSPBQ / Е. В. Климова // Экологическая безопасность в АПК. Реферативный журнал. – 2017. – № 4. – С. 1070.

18.Макроэлементный состав минеральных солей галофита Солерос озера Эбейты Омской области / Т. В. Бойко, Т. В. Постнова, С. П. Шалыгин, Л. В. Бельская // Электронный научно-методический журнал Омского ГАУ. – 2023. – № 4(35).

19.Киселева Т. И., Чиндяева Л. Н. Особенности биологии лоха узколистного (Elaengus angustifolia L.) на северо-восточной границе ареала. Сибирский экологический журнал, 2 (2011). -С 293-299. Электронный ресурс. – Точка доступа : https://www.sibran.ru/upload/iblock/9e0/9e05c10400f6476881f2d7f5bdad1ae4.pdf

20.Сальникова Наталья Алексеевна, Цибизова Александра Александровна, Шур Юлия Владимировна Перспективы применения растений рода Elaeagnus в фармацевтической и пищевой промышленности // Бюллетень науки и практики. 2018. №12. URL: https://cyberleninka.ru/article/n/perspektivy-primeneniya-rasteniy-roda-elaeagnus-v-farmatsevticheskoy-i-pischevoy-promyshlennosti (дата обращения: 02.03.2024).

21.Круглякова А.А., Раменская Г.В. Бета-ситостерин: свойства, подходы к количественному определению // Вестник Национального медико-хирургического Центра им. Н. И. Пирогова. 2016. №4. URL: https://cyberleninka.ru/article/n/beta-sitosterin-svoystva-podhody-k-kolichestvennomu-opredeleniyu (дата обращения: 02.03.2024).

22.Гонохов, Е. С. Общая характеристика и перспективы применения лоха узколистного (Elaeagnus angustifolia l.) в ветеринарии / Е. С. Гонохов, Т. В. Бойко // Электронный научно-методический журнал Омского ГАУ. – 2023. – № 4(35).

23.Экологическое состояние и биоресурсы озера Солёного Г. Омск / О. П. Баженова, О. А. Коновалова, В. В. Михайлов, Т. В. Бойко ; Под общей редакцией О. П. Баженовой. – Омск : Омский государственный аграрный университет имени П.А. Столыпина, 2023. – 107 с. – ISBN 978-5-907687-01-1.

REFERENCES

1.Tackling antibiotic resistance from a food safety perspective in Europe. Copenhagen: WHO Regional Office for Europe, 2011. 106 p. Available at: https://www.euro.who.int/__data/assets/pdf_file/0011/144695/e94889R.pdf (In Russ.)

2.Latysheva D. A., Ulrich E. V. History and current state of production of phytobiotic feed trends in the world // BBK 40 N 347. - 2018. - P. 206. (In Russ.)

3.Decree of the President of the Russian Federation of December 1, 2016 N 642 "On the strategy of scientific and technological development of the Russian Federation" (with amendments and additions). Available at: https://base.garant.ru/71551998/ (date of access 17.02.2024). (In Russ.)

4.Phytogenic feed additives and their application possibilities // Effective animal husbandry. - 2019. - No. 2 (150). - P. 14-15.. (In Russ.)

5.Franz C., Baser K. H. C., Windisch W. Essential oils and aromatic plants in animal feeding – a European perspective. A review. Flavour and Fragrance Journal. 2010;25 (5);327-340. DOI: https://doi.org/10.1002/ffj.1967

6.Harrington D., Hall H., Wilde D., Wake-

man W. Chapter 11 − Application of aromatic plants and their extracts in the diets of laying hens. Feed Additives. Academic Press. 2020. pp. 187-203. DOI: https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814700-9.00011-X
7.Timofeev N.P. Phytobiotics in world practice: plant species and active substances, efficiency and prospects, prospects (review) // Agrarian science of the Euro-North-East. 2021. No. 6. URL: https://cyberleninka.ru/article/n/fitobiotiki-v-mirovoy-praktike-vidy-rasteniy-i-deystvuyuschie-veschestva-effektivnost-i-ogranicheniya-perspektivy-obzor (date of access: 06.02.2024). (In Russ.)
8.Shevelukha V.S. New problems of non-traditional plant growing. Proceedings of the VIII All-Russian symposium on new forage plants. Syktyvkar: Komi Scientific Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, 1993. Pp. 188-190. (In Russ.)
9.Nature of Russia. National portal. Omsk region. – Electronic resource. – Access point: http://www.priroda.ru/regions/earth/detail.php?SECTION_ID=&FO_ID=559&ID=6264 (In Russ.)
10.Tishchenko N.V. N. Analysis of zinc and copper on the yield of common yarrow (Achillea millefolium L.) on meadow-chernozem soil in the conditions of the southern forest-steppe of Siberia / N. N. Tishchenko // Omsk Scientific Bulletin. – 2015. – No. 1 (138). – P. 123-127. (In Russ.)
11.Shorin, N. V. Productivity of the medicinal calendula variety Kalta in the conditions of the Omsk region / N. V. Shorin, A. N. Kriklivaya, A. Yu. Verkhovnykh // Diversity and sustainable development of agrobiocenoses of the Omsk Irtysh region: materials of the National scientific and practical conference dedicated to the 90th anniversary of the botanical garden of the Omsk State Agrarian University, Omsk, September 25, 2017. - Omsk: P.A. Stolypin Omsk State Agrarian University, 2017. - P. 179-183. (In Russ.)
12.Kalinkina G. I., Dembitsky A. D., Berezovskaya T. P. Chemical composition of essential oils of some yarrow species of the Siberian flora // Chemistry of plant raw materials. 2000. No. 3. URL: https://cyberleninka.ru/article/n/himichesky-sostav-efirnyh-masel-nekotoryh-vidov-tysyachelistnika-flory-sibiri (date of access: 23.02.2024). (In Russ.)
13.Development of multifunctional drugs for dairy farming as an alternative to antibiotics and hormones / T. V. Boyko, V. S. Veretennikova, I. V. Ogurnoy [et al.] // Actual problems and innovations in modern veterinary pharmacology and toxicology: Proceedings of the VI International Congress of Veterinary Pharmacologists and Toxicologists, Vitebsk, June 9-11, 2022 / Editorial board: N. I. Gavrichenko (editor-in-chief) [et al.]. – Vitebsk: Educational Institution "Vitebsk Order of the Badge of Honor" State Academy of Veterinary Medicine", 2022. – P. 18-20. – EDN KHORMKK. (In Russ.)
14.Boyko, T. V. Morphofunctional changes in the reproductive organs of females against the background of the use of a herbal preparation (experimental study) / T. V. Boyko, I. V. Ogurnoy, M. V. Koshkarev // International Bulletin of Veterinary Medicine. – 2023. – No. 4. – P. 133-142. – DOI 10.52419/issn2072-2419.2023.4.133. (In Russ.)
15.Gindemith A.M. Properties of low-sodium solonetz soils in the forest-steppe zone of the Omsk Irtysh region / diss. for soy. cand. biol. sciences. - 2012 - Electronic resource. - access point: https://www.dissercat.com/content/svoistva-malonatrievykh-solontsov-lesostepnoi-zony-omskogo-priirtyshya (In Russ.)
16.Boyko TV Prospects for the use of glasswort (Salicornia) in veterinary medicine / TV Boyko, IO Nesterov // Import independence and food security: global challenges and strategic trends in the development of the agro-industrial complex in the context of the transformation of international economic relations: Materials of the international scientific and practical conference dedicated to the 105th anniversary of the foundation of the Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education Omsk State Agrarian University, Omsk, June 14, 2023 / Omsk State Agrarian University named after P.A. Stolypin. - Omsk: Omsk State Agrarian University named after P.A. Stolypin, 2023.

- P. 637-641. - EDN OTNDRV. (In Russ.)
17.Klimova, E. V. 1070. [Effect of additive containing glasswort hydrates, carboxymethyl cellulose, carrageenan, soy isolates and sodium casein on physicochemical properties, consistency and organoleptic indices of low-fat sausages with reduced salt content. (South Korea)]. Lim Yun-Bin, Kim Hyun-Wook, Hwang Ko-Eun, Song Dong-Heon, Kim Yong-Jae, Ham Youn-Kyung, Jang Sung-Jin, Lee Choong-Hee, He Fu-Yi, Choi Yun-Sang, Kim Cheon-Jei Effects of Glasswort (Salicornia herbacea L.) Hydrates on Quality Characteristics of Reduced-salt, Reduced-fat Frankfurters // Korean Journal for Food Science of Animal Resources. -2015.-Vol.35,N 6.-P. 783-792.-English-Bibliogr.: p.791-792. Code *http://ocean.kisti.re.kr/IS_mvpopo210L.do?method=list&poid=ksfsar&kojic=CSSPBQ / E. V. Klimova // Environmental safety in the agro-industrial complex. Abstract journal. - 2017. - No. 4. - P. 1070.
18.Macroelement composition of mineral salts of the halophyte Saleros of Lake Ebeity, Omsk region / T. V. Boyko, T. V. Postnova, S. P. Shalygin, L. V. Belskaya // Electronic scientific and methodological journal of Omsk State Agrarian University. - 2023. - No. 4 (35). (In Russ.)
19.Kiseleva T. I., Chindyaeva L. N. Features of the biology of the narrow-leaved oleaster (Elaengus angustifolia L.) on the northeastern border of the range. Siberian Ecological Journal, 2 (2011). -P 293-299. Electronic resource. - Access point: https://www.sibran.ru/upload/iblock/9e0/9e05c10400f6476881f2d7f5bdad1ae4.pdf (In Russ.)
20.Salnikova Natalya Alekseevna, Tsibizova Alexandra Aleksandrovna, Shur Yulia Vladimirovna Prospects for the use of plants of the genus Elaeagnus in the pharmaceutical and food industries // Bulletin of Science and Practice. 2018. No. 12. URL: https://cyberleninka.ru/article/n/perspektivy-primeneniya-rasteniy-roda-elaeagnus-v-farmatsevticheskoy-i-pischevoy-promyshlennosti (date of access: 02.03.2024). (In Russ.)
21.Kruglyakova A.A., Ramenskaya G.V. Beta-sitosterol: properties, approaches to quantitative determination // Bulletin of the National Medical and Surgical Center named after N.I. Pirogov. 2016. No. 4. URL: https://cyberleninka.ru/article/n/beta-sitosterin-svoystva-podhody-k-kolichestvennomu-opredeleniyu (date of access: 02.03.2024). (In Russ.)
22.Gonokhov, E. S. General characteristics and prospects for the use of narrow-leaved oleaster (Elaeagnus angustifolia l.) in veterinary medicine / E. S. Gonokhov, T. V. Boyko // Electronic scientific and methodological journal of Omsk State Agrarian University. - 2023. - No. 4 (35). (In Russ.)
23.Ecological state and bioresources of Lake Solenoye, Omsk / O. P. Bazhenova, O. A. Konovalova, V. V. Mikhailov, T. V. Boyko; Under the general editorship of O. P. Bazhenova. - Omsk: Omsk State Agrarian University named after P.A. Stolypin, 2023. - 107 p. - ISBN 978-5-907687-01-1.. (In Russ.)

УДК: 591.111.7:636.5.034:615.33
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.4.138

ФАГОЦИТАРНЫЕ ИНДЕКСЫ ПСЕВДОЭОЗИНОФИЛОВ КРОВИ ЦЫПЛЯТ ПРИ ПРИМЕНЕНИИ ЦИПРОФЛОКСАЦИНА И ЭНРОФЛОКСАЦИНА

Присный А.А.* – д-р биол. наук, зав. лабораторией Белгородского филиала ВИЭВ (ORCID 0000-0001-5229-4576); **Скворцов В.Н.** – д-р ветеринар. наук, руководитель Белгородского филиала ВИЭВ (ORCID 0000-0002-9629-0000); **Горбанёва А.С.** – мл. науч. сотр. (ORCID 0000-0002-9629-0000); **Мазур А.Д.** – мл. науч. сотр. (ORCID 0000-0003-1340-8024); **Степанова Т.В.** – ст. науч. сотр. (ORCID 0000-0001-9092-8045)

ФГБНУ «Федеральный научный центр – Всероссийский научно - исследовательский институт экспериментальной ветеринарии имени К.И. Скрябина и Я.Р. Коваленко РАН»

*andreyprisny@gmail.com

Ключевые слова: *цыплята, кровь, псевдоэозинофилы, фагоцитоз, фторхинолоны.*

Key words: *chicks, blood, pseudoeosinophils, phagocytosis, fluoroquinolones.*

Поступила: 22.09.2024 **Принята к публикации: 02.12.2024**
Опубликована онлайн:16.12.2024

РЕФЕРАТ

Изучено влияние выпаивания ципрофлоксацина и энрофлоксацина в дозе 200 мг/л на показатели фагоцитоза псевдоэозинофилов в крови цыплят. Ципрофлоксацин и энрофлоксацин – антибактериальные препараты фторхинолоновой группы, применяемые в ветеринарии. Наиболее распространено использование указанных лекарственных средств в птицеводстве, что обусловлено их отличными фармакодинамическими и противомикробными свойствами. Целью работы является изучение влияния фторхинолонов на показатели фагоцитоза псевдоэозинофилов. В исследовании было задействовано три группы, состоящие из цыплят суточного возраста кросса Хайсекс Бравун. Цыплята группы I (контроль) получали чистую воду, в то время как в группах II и III производили выпаивание ципрофлоксацина и энрофлоксацина на протяжении 10 суток с водой в дозе 200 мг/л. Отбор крови осуществляли на первые, третьи, пятые, седьмые и девятые сутки после отмены препарата. Исследовали фагоцитарную активность, фагоцитарное число, фагоцитарный индекс и фагоцитарную емкость песевдоэозинофилов после совместного инкубирования на протяжении 30 и 120 минут с культурой *Staphylococcus aureus*. В результате проведенных исследований влияния фторхинолонов на фагоцитарную реакцию значительного негативного воздействия препаратов не выявлено. Основные изменения при инкубации псевдоэозинофилов совместно с *St. aureus* зарегистрированы на третьи и пятые сутки. Энрофлоксацин вызвал сдвиги после 30-минутной инкубации с *St. aureus,* что проявилось в достоверном, но не продолжительном снижении фагоцитарной активности, а также неоднозначном кратковременном уменьшении с последующим повышением фагоцитарного индекса и фагоцитарного числа. Все зарегистрированные изменения являлись непродолжительными.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Противомикробные препараты широко используются в современном птицеводстве в качестве терапевтических и профилактических мер для предотвращения вспышек и распространения инфекционных заболеваний [1]. Эффективными антибактериальными препаратами широкого спектра действия, успешно применяемыми в птицеводстве, являются фторхинолоны [2]. При этом, использование фармакологических агентов не должно угнетать естественные защитные силы организма. Важным элементом неспецифической иммунной защиты является фагоцитоз. Полиморфноядерные лейкоциты – многочисленные клетки, проявляющие высокую степень фагоцитарной активности. Их деятельность характеризуется значительной скоростью и интенсивностью развития реакции [3]. Псевдоэозинофилы – специфические полиморфноядерные лейкоциты, характерные для системы крови птиц. Способность к осуществлению амебоидного движения позволяет псевдоэозинофилам проникать через эндотелий кровеносных капилляров, перемещаясь к месту расположения патогенов, и осуществлять фагоцитоз. Процесс запускается в результате контакта с живыми и погибшими микроорганизмами, а также с разрушающимися клетками собственных тканей [4]. Воздействие фторхинолонов на фагоцитирующие клетки и протекание фагоцитоза у птиц является малоизученным [5]. Подобные исследования осуществляли, преимущественно, на млекопитающих, однако существующие данные крайне противоречивы. Известно, что фторхинолоны способны к проникновению и аккумуляции в фагоцитах [6, 7]. При этом, высокие концентрации препаратов, накапливающиеся внутри клеток способны менять их метаболизм и функциональную активность [8].

В связи с вышесказанным, целью представленного исследования было изучение влияния фторхинолонов на показатели фагоцитоза псевдоэозинофилов крови цыплят.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Для достижения поставленной цели исследования были сформированы три группы, состоящие из цыплят кросса «Хайсекс Браун» суточного возраста. Все экспериментальные цыплята получали рацион, сбалансированный по основным питательным и биологически активным веществам. Группа I являлась контрольной, получавшей обычную питьевую воду, группам II и III производили выпаивание ципрофлоксацина и энрофлоксацина соответственно в дозе 200 мг/л на протяжении десяти суток. Отбор крови методом внутрисердечной пункции осуществляли на первые, третьи, пятые, седьмые и девятые сутки после отмены препаратов. Влияние фторхинолонов на фагоцитарную реакцию исследовали *in vitro* с применением культуры *Staphylococcus aureus*. Предварительно осуществляли подготовку объекта фагоцитоза – суспензии *St. aureus*, для чего использовали чистую суточную культуру бактерий, выросших на плотной питательной среде. Отбирали несколько однотипных четко изолированных колоний и переносили в пробирку со стерильным изотоническим раствором хлорида натрия, доводили плотность суспензии до 9 по стандарту McFarland. Полученный инокулянт использовали в течение 15 минут. В лунки планшета вносили по 0,02 мл гепаринизированной крови и бактериальной суспензии. Планшеты с полученной взвесью помещали в термостат при температуре 40^{o}C. Спустя 30 и 120 минут осуществляли приготовление мазка с высушиванием на воздухе, фиксацией спиртом и окрашиванием по Романовскому-Гимзе. На мазках подсчитывали псевдоэозинофилы с поглощенными объектами фагоцитоза и число микробных тел, поглощенных одним фагоцитом. На основе полученных результатов рассчитывали фагоцитарные индексы [9, 10, 11]:

1) фагоцитарная активность псевдоэозинофилов (ФА) – характеризуется количеством клеток, вступивших в фагоцитоз

$$ФА = \frac{\text{Число фагоцитирующих клеток}}{\text{Общее число учтенных фагоцитов (100)}} \times 100$$;

2) фагоцитарный индекс (ФИ) – число фагоцитированных микробных клеток в пересчете на один учтенный фагоцит, определяется делением общего количества фагоцитированных микробных тел на количество учтенных фагоцитов;

3) фагоцитарное число (ФЧ) – отражает интенсивность реакции фагоцитоза, определяют путем деления общего количества поглощенных бактерий на число активных псевдоэозинофилов;

4) фагоцитарная емкость (ФЕ) – число активных псевдоэозинофилов в 1 мкл крови.

Обработка цифрового материала проведена с использованием программного обеспечения SPSS Statistic 17.0, статистическую значимость полученных результатов оценивали при помощи непараметрического критерия Манна-Уитни.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Вследствие проведенных исследований показателей фагоцитоза установлены непродолжительные статистически значимые изменения. Фагоцитарная активность псевдоэозинофилов при 30-минутной инкубации с культурой *St. aureus,* был снижена в группах, принимавших ципрофлоксацин и энрофлоксацин, соответственно на 23 % и 24% на третьи сутки после отмены препаратов. В последующем достоверных отличий не выявлено. На седьмые и девятые сутки у цыплят, получавших энрофлоксацин, после 120-минутной экспозиции зарегистрировано увеличение фагоцитарной активности псевдоэозинофилов на 11 % и 18 % соответственно (табл. 1).

Снижение значений фагоцитарного индекса после 30-минутной экспозиции было зафиксировано в группах II и III, что проявилось в достоверном падении показателей на третьи сутки (на 37 % и 40 %), однако на пятые сутки установлен рост показателя в группах на 39 % и 58 % соответственно.

На третьи сутки исследования произошло падение значений фагоцитарного числа псевдоэозинофилов после 30-минутной экспозиции в группе энрофлоксацина на 21 %, а на пятые сутки в этой группе зарегистрировано повышение показателя на 40 %, кроме того, увеличение на 29 % отмечено и в группе ципрофлоксацина (табл. 2).

Увеличение значений фагоцитарной емкости произошло на третьи сутки в группах II и III на 27 % и 24 % соответственно.

Анализируя полученные данные, можно предположить, что фторхинолоновые препараты оказывают определенное влияние на функциональность клеток фагоцитарной системы цыплят, о чем свидетельствует увеличение ряда исследованных показателей. Кроме того, в связи с ростом значений полученных данных, можно предположить наличие у препара-

Таблица 1 – Фагоцитарная активность псевдоэозинофилов в крови цыплят, получавших ципрофлоксацин и энрофлоксацин (группы II и III)

Показатель	Группа	1 сутки	3 сутки	5 сутки	7 сутки	9 сутки
ФА 30 минут, %	I	28,3±1,56	40,7±2,11	33,7±2,81	40,5±2,45	39,8±1,41
	II	30,0±2,11	31,2±1,31**	39,3±1,17	37,5±1,09	39,8±1,13
	III	33,8±1,05	30,7±1,41**	41,8±2,89	40,3±2,08	41,5±1,56
ФА 120 минут, %	I	45,7±0,71	47,5±1,76	49,8±1,62	46,2±1,85	46,0±1,55
	II	44,5±1,45	48,7±0,95	55,2±2,06	45,7±1,33	51,0±2,49
	III	44,8±1,01	47,8±1,22	52,5±2,59	52,2±1,28*	56,7±2,81**

*Примечание: ФА – фагоцитарная активность; ** – статистически достоверные различия между значениями параметров в контрольной и группах опыта по U-критерию Манна-Уитни при p<0,01; * – статистически достоверные различия между значениями параметров в контрольной и группах опыта по U-критерию Манна-Уитни при p<0,05.*

тов некоторого иммуностимулирующего эффекта. Обнаруженные волнообразные сдвиги отдельных значений, возможно, обусловлены применением фторхинолонов, однако, это может быть взаимосвязано и с возрастом цыплят, у которых только происходит формирование и становление иммунитета.

Таблица 2 – Фагоцитарное число псевдоэозионофилов крови цыплят, получавших ципрофлоксацин и энрофлоксацин (группы II и III)

Показатель	Сутки	Группа I	Группа II	Группа III
ФЧ 30 минут, у.е.	1	1,98±0,14	1,79±0,14	1,61±0,03
	3	2,59±0,11	2,14±0,26	2,04±0,15**
	5	1,66±0,08	2,34±0,21**	2,78±0,32**
	7	2,89±0,39	2,77±0,39	2,06±0,16
	9	2,35±0,17	2,12±0,14	2,64±0,14

*Примечание: ФЧ – фагоцитарное число; ** – статистически достоверные различия между значениями параметров в контрольной и группах опыта по U-критерию Манна-Уитни при p<0,01.*

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Проведенные исследования влияния ципрофлоксацина и энрофлоксацина на фагоцитарную реакцию значительного воздействия препаратов не выявили. Основные изменения при инкубации псевдоэозинофилов совместно с *St. aureus* зарегистрированы на третьи и пятые сутки. Энрофлоксацин вызвал сдвиги после 30-минутной инкубации с *St. aureus,* что проявилось в статистически значимом, но непродолжительном снижении фагоцитарной активности, а также неоднозначных кратковременных флуктуациях значений фагоцитарного индекса и фагоцитарного числа. Все зарегистрированные изменения непродолжительны и малоинформативны. Следует отметить, что, несмотря на существующие данные об усилении ципрофлоксацином киллинга *St. aureus* полиморфноядерными лейкоцитами [12], в наших исследованиях существенного влияния препарата на фагоцитоз не установлено.

PHAGOCYTIC INDICES OF BLOOD PSEUDOEOSINOPHILS WITH THE USE OF CIPROFLOXACIN AND ENROFLOXACIN

Prisnyi A.A.* – Dr. Biol. Sci., Head of Laboratory FGBNU "Federal Scientific Centre VIEV" (ORCID 0000-0001-9380-4136); **Skvortsov V.N. –** Dr. Vet. sci., Head of Belgorod Department of FGBNU "Federal Scientific Centre VIEV" (ORCID 0000 0002 9629 0000); **Gorbaneva A.S. –** Junior Researcher (ORCID 0000-0002-9629-0000); **Mazur A.D.**, Junior Researcher (ORCID 0000-0003-1340-8024); **Stepanova T.V.** – Senior Researcher (ORCID 0000-0001-9092 -8045)

FGBNU "Federal Scientific Centre – All-Russian Research Institute of Experimental Veterinary Medicine named after K.I. Scriabin and Ya.R. Kovalenko of Russian Academy of Sciences"

*andreyprisny@gmail.com

ABSTRACT

The effect of drinking ciprofloxacin and enrofloxacin at a dose of 200 mg/l on phagocytosis of pseudoeosinophils in the blood of chickens was studied. Ciprofloxacin and enrofloxacin are antibacterial drugs of the fluoroquinolone group used in veterinary medicine. The most common use of these drugs in poultry farming is due to their excellent pharmacodynamic and antimicrobial properties. The aim of the work is to study the effect of fluoroquinolones on the phagocytosis of pseudoeosinophils. The study involved three groups consisting of day-old chickens of the Haysex Braun cross. Chickens of group I (control) received clean water, while in groups II and III ciprofloxacin and

enrofloxacin were soldered for 10 days with water at a dose of 200 mg/l. Blood sampling was performed on the 1, 3, 5, 7 and 9 days after drug withdrawal. The phagocytic activity, phagocytic number, phagocytic index and phagocytic capacity of pseudoeosinophils were studied after co-incubation for 30 and 120 minutes with a culture of *Staphylococcus aureus*. As a result of the conducted studies of the effect of fluoroquinolones on the phagocytic reaction, no significant negative effects of the drugs were revealed. The main changes during incubation of pseudoeosinophils together with *St. aureus* were registered on the third and fifth days. Enrofloxacin caused shifts after 30-minute incubation with *St. aureus*, which manifested itself in a significant but not prolonged decrease in phagocytic activity, as well as an ambiguous short-term decrease followed by an increase in the phagocytic index and phagocytic number. All registered changes were short-lived.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Huyghebaert, G. An update on alternatives to antimicrobial growth promoters for broilers / G. Huyghebaert, R. Ducatelle, F. Immerseal // The Veterinary Journal. – 2011. – Vol. 187 – P. 182-188.
2. Zhu, D. Prevalence of fluoroquinolone resistance and mutations in the gyr A, par C and par E genes of *Riemerella anatipigtifer* isolated from ducks in China / D. Zhu, M. Zheng, J. Xu, M. Wang, R. Jia // BMC Microbial. – 2019. – Vol. 19. – P. 274-278.
3. Игнатов, П.Е. Иммунитет и инфекция. Возможность управления / П.Е. Игнатов. – М: Время, 2002. – 352 с.
4. Гудин, В.А. Физиология и этология сельскохозяйственных птиц / В.А. Гудин, В.Ф. Лысов, В.И. Максимов. – СПб: Лань, 2010. – 336 с.
5. Prisnyi, A.A. Analysis of Dynamics of Phagocytic Indices in Ducklings Caused by Administration of Enrofloxacin / A.A. Prisnyi, A.A. Moiseeva, V.N. Skvortsov, S.S. Belimova // AIP Conference Proceedings. – 2022. – Vol. 2467. – 070029. – DOI 10.1063/5.0092593. Режим доступа: https://pubs.aip.org/aip/acp/article-abstract/2467/1/070029/2826724/Analysis-of-dynamics-of-phagocytic-indices-in?redirectedFrom=fulltext
6. Михайлов, В.В. Антимикробная активность комплексного препарата ципровентор / В.В. Михайлов, И.В. Ульянов, Д.Н. Филимонов // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. – 2014. – № 4. – С. 116-120.
7. Соболев, В.П. Современные возможности выбора препаратов для этиотропной терапии / В.П. Соболев, Е.И. Петрова // Медицинский совет. – 2017. – № 8. – С. 124-129.
8. Никитин, А.В. Методические подходы к изучению действия антибиотиков на иммунную систему / А.В. Никитин // Антибиотики и химиотерапия. – 1990. – Т. 35. – № 8. – С. 45-48.
9. Кудрявцев, А.А. Клиническая гематология животных / А.А. Кудрявцев, Л.А. Кудрявцева. – М.: Колос, 1974. – 339 с.
10. Оценка естественной резистентности сельскохозяйственных животных: метод. рекомендации / Россельхозакадемия, Сиб. отделение, ГНУ ИЭВСиДВ, ГНУ ВИЭВ, ФГОУ НРИПК АПК МСХ РФ, НГАУ. – Новосибирск, 2003. – 32 с.
11. Кисленко, В.Н. Практикум по ветеринарной микробиологии и иммунологии / В.Н. Кисленко. – М.: КолосС, 2005. – 232 с.
12. Forsgren, A. Effect of ciprofloxacin on phagocytosis / A. Forsgren, P. Bergkvist // European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases. – 1985. – Vol. 4 (6). – P. 575-578. – DOI 10.1007/BF02013398. Режим доступа: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2936604/

REFERENCES

1. Huyghebaert, G. An update on alternatives to antimicrobial growth promoters for broilers / G. Huyghebaert, R. Ducatelle, F. Immerseal // The Veterinary Journal. – 2011. – Vol. 187 – P. 182-188.
2. Zhu, D. Prevalence of fluoroquinolone resistance and mutations in the gyr A, par C and par E genes of *Riemerella anatipigtifer* isolated from ducks in China / D. Zhu, M. Zheng, J. Xu, M. Wang, R. Jia // BMC Mi-

crobial. – 2019. – Vol. 19. – P. 274-278.
3. Ignatov, P.E. Immunity and infection. The possibility of management / P.E. Ignatov. – Moscow: Vremya, 2002. – 352 p. (In Russ.)
4. Gudin, V.A. Physiology and ethology of farm birds / V.A. Gudin, V.F. Lysov, V.I. Maksimov. – St. Petersburg: Lan, 2010. – 336 p. (In Russ.)
5. Prisnyi, A.A. Analysis of Dynamics of Phagocytic Indices in Ducklings Caused by Administration of Enrofloxacin / A.A. Prisnyi, A.A. Moiseeva, V.N. Skvortsov, S.S. Belimova // AIP Conference Proceedings. – 2022. – Vol. 2467. – 070029. – DOI 10.1063/5.0092593. URL: https://pubs.aip.org/aip/acp/article-abstract/2467/1/070029/2826724/Analysis-of-dynamics-of-phagocytic-indices-in?redirectedFrom=fulltext
6. Mikhailov, V.V. Antimicrobial activity of the complex drug ciproventor / V.V. Mikhailov, I.V. Ulyanov, D.N. Filimonov // Issues of regulatory regulation in veterinary medicine. – 2014. – № 4. – P. 116-120. (In Russ.)
7. Sobolev, V.P. Modern possibilities of choosing drugs for etiotropic therapy / V.P. Sobolev, E.I. Petrova // Medical Council. – 2017. – № 8. – P. 124-129. (In Russ.)
8. Nikitin, A.V. Methodological approaches to the study of the effect of antibiotics on the immune system / A.V. Nikitin // Antibiotics and chemotherapy. – 1990. – Vol. 35. – № 8. – P. 45-48. (In Russ.)
9. Kudryavtsev, A.A. Clinical hematology of animals / A.A. Kudryavtsev, L.A. Kudryavtseva. – M.: Kolos, 1974. – 339 p. (In Russ.)
10. Assessment of the natural resistance of farm animals: a methodological recommendations / Russian Agricultural Academy, Siberian Branch, GNU IEVSiDV, GNU RES, FGOU NRIPK Agroindustrial Complex of the Ministry of Agriculture of the Russian Federation, NGAU. – Novosibirsk, 2003. – 32 p. (In Russ.)
11. Kislenko, V.N. Practicum on veterinary microbiology and immunology / V.N. Kislenko. – M.: KolosS, 2005. – 232 p. (In Russ.)
12. Forsgren, A. Effect of ciprofloxacin on phagocytosis / A. Forsgren, P. Bergkvist // European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases. – 1985. – Vol. 4 (6). – P. 575-578. – DOI 10.1007/BF02013398. URL: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2936604/

УДК: 639.3.043.13
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.4.144

ВЛИЯНИЕ ПРОБИОТИКА «БАЦЕЛЛ-М» НА МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ПЕЧЕНИ КАРПА ОБЫКНОВЕННОГО (*CYPRINUS CARPIO*)

Семенова Е.В. [1]* – асп., ст. лаборант лаборатории инновационных препаратов рекомбинантной протеомики. (ORCID 0000-0003-3675-5467); **Стрельников Н.А.**[1] – мл. науч. сотр. лаборатории инновационных препаратов рекомбинантной протеомики (ORCID 0000-0002-0781-7713); **Мармурова О.М**. [2] – канд. с.-х. наук, доц. каф. ветеринарно-санитарной экспертизы, эпизоотологии и паразитологии (ORCID 0000-0002-1726-3769); **Михайлов Е.В.** [1,2] – канд. ветеринар. наук, вед. науч. сотр., зав. отделом экспериментальной фармакологии и функционирования живых систем, доцент кафедры ветеринарно-санитарной экспертизы, эпизоотологии и паразитологии (ORCID 000-0001-54-57-1325).

[1]ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии», Воронеж, Россия
[2] ФГБОУ ВО «Воронежский Государственный аграрный университет им. Петра I», Воронеж, Россия

* elenasemyonova5@gmail.com

Ключевые слова*: аквакультура, промысловое рыбоводство, карп обыкновенный, пробиотик «Бацелл- М», жировая дистрофия печени, экспрессия генов.*

Keywords: *aquaculture, commercial fish farming, common carp, Bacell-M probiotic, liver steatosis, gene expression.*

Поступила: 07.11.2024 **Принята к публикации: 02.12.2024**
Опубликована онлайн:16.12.2024

РЕФЕРАТ

Рыбоводство является одной из важных отраслей сельского хозяйства. Успех в данной сфере в значительной мере зависит от эффективности использования кормов, что делает рациональное питание рыб одним из важнейших аспектов их разведения. Целью работы было изучение изменений морфофункционального статуса печени карпа обыкновенного (*Cyprinus Carpio*) при использовании пробиотика "Бацелл-М". В ходе данного эксперимента была использована товарная рыба массой 800-900 г. Для фонового исследования биологический материал отбирался от карпа обыкновенного (Cyprinus carpio) всех исследуемых групп для проведения цитоморфологических исследований. Особи, участвующие в работе, были разделены на две основные группы. Первая группа – контрольный пруд (n=600) – получали основной рацион. Гидробионты второй группы (n=600) в течение 30 дней питались основным рационом с добавлением пробиотического препарата «Бацелл-М» в дозировке 2 кг/тонну. Убой и отбор биологического материала исследуемых особей всех групп (n=6) проходил в два этапа: первый – через 14 дней после начала эксперимента, второй - через 35 дней после начала исследований. Полученные в ходе исследования данные показали, что применение пробиотика показывает положительные результаты,

такие как поддержка целостности сосудистой и паренхимотозной структуры печени, способствует снижению накопления липидов в гепатоцитах, уменьшает количество воспалительных инфильтратов и обеспечивает сохранение микроциркуляции в исследуемом органе. Для оценки полученных результатов исследовали экспрессию гена GPx-1, который играет ключевую роль в поддержании клеточной защиты от окислительного стресса.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Рыбоводство является одной из важных отраслей сельского хозяйства. Успех в данной сфере в значительной мере зависит от эффективности использования кормов, что делает рациональное питание рыб одним из важнейших аспектов их разведения. Значительную роль здесь играют высокоэффективные комбикорма, обеспечивающие гидробионтов всеми необходимыми питательными веществами, аминокислотами и витаминами [1, 2]. Важность разработки рациональных кормов в аквакультуре тесно связана с изучением проблем, возникающих при неправильном питании рыбы. Жировая дистрофия, возникающая вследствие несбалансированного питания, приводит к значительным нарушениям в работе организма рыб, включая деградацию функций печени и общего обмена веществ, что приводит к снижению продуктивности гидробионтов и их устойчивости к болезням.

Полученные за последние несколько лет данные показывают, что применение пробиотиков, таких как «Бацелл-М», в рационе рыб может способствовать не только улучшенному усвоению питательных веществ, но и снижению риска развития патологий печени [3]. Все это делает изучение взаимодействия пробиотиков и липидного обмена у карпов особенно актуальным для дальнейшего развития эффективных методов кормления, которые позволят значительно повысить продуктивность аквакультурных хозяйств, улучшая состояние здоровья рыб. Полученные результаты могут предоставить ценные научные данные для оптимизации кормовых стратегий и профилактики у гидробионтов, что особенно важно для коммерческого выращивания карпов и других видов рыб в условиях интенсивного производства.

Целью работы было изучение изменений морфофункционального статуса печени рыбы при использовании пробиотика "Бацелл-М".

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

В данном эксперименте участие принимали карпы обыкновенные *(Cyprinus Carpio)* массой 800-900 г. После проведенных фоновых исследований гидробионты были разделены на две группы. Особи первой группы (контрольный пруд) (n=600) получали основной рацион, гидробионты второй группы (n = 600) получали в течение 30 дней основной рацион с добавлением пробиотика «Бацелл-М», в дозировке 2 кг/тонну. Убой и отбор биологического материала исследуемых особей всех групп проходил в два этапа: первый – через 14 дней после начала эксперимента, второй - через 35 дней после начала исследований.

Для проведения морфологических исследований тканей были отобраны образцы печени карпов, которые фиксировали в 10 %-ом растворе нейтрального формалина. Затем образцы тканей обезвоживали в растворах этилового спирта возрастающей концентрации и уплотняли парафином. Из парафиновых блоков готовили срезы толщиной 3-5 мкм, которые окрашивали гематоксилин-эозином и просматривали в светооптическом микроскопе.

Оценка экспрессии генов карпа обыкновенного проходила посредством ПЦР-анализа с добавлением красителя SYBR Green и с использованием специфичных праймеров генов: GPx-1. Выделение РНК осуществлялось набором «РНК-Экстран» (Син тол, Россия) по утвержденной инструкции. Оценку качества выделенной РНК произвели с помощью электрофореза в 2 % агарозном геле. По-

лимеразная цепная реакция проводилась на приборах Bio-Rad CFX 96 (Bio-rad, США) и Rotor-Gene 6000 (Corbett Research, Австралия) с готовой коммерчески доступной смесью для PCR 5X qPCRmix-HS LowROX (Евроген, Россия). В качестве референсного гена выступал β-Актин (табл 1).

Таблица 1 – Список праймеров для ПЦР в реальном времени

Исследуемый ген	Последовательность праймеров
β-Актин	F: GTACGTTGCCATCCAGGCTGTG R: ACGTCACACTTCATGATGGAGTTGAAG
Fish GPX1	F: TGCAACCAGTTCGGACATCA R: GAAGCCATTTCCAGGACGGA

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Фоновые исследования тканей печени карпа обыкновенного выявили наличие патологических процессов. На рисунке 1А можно отметить выраженный макровезикулярный стеатоз, характеризующийся накоплением липидных капель в гепатоцитах. Ядра гиперхромны и вытеснены на периферию клетки, что служит индикатором процесса адаптации к хроническим повреждениям. На некоторых участках отмечается кариопикноз, характеризующий начальные стадии апоптоза или некроза. Цитоплазма клеток выглядит неровной, гранулярной, что, по мнению Roh H., может свидетельствовать о повреждениях митохондрий и эндоплазматического ретикулума в результате окислительного стресса, проводящего к накоплению дефектных белков и липидов в гепатоцитах [4].

Окраска гистологических препаратов суданом III + IV (рисунок 1, Б) подтверждает наличие макровезикулярного стеатоза визуализацией значительной степени вакуолизации клеток печени. Ткань выглядит дезорганизованной с малым количеством видимых сосудов и капилляров, что так же подтверждает начальную стадию некроза. Темные точечные включения, предположительно, являются областями гемосидерина - пигмента, который образуется в результате кровоизлияний и распада эритроцитов.

При исследовании морфофункционального статуса карпа обыкновенного на 14 сутки у контрольной группы был выявлен лизис гепатоцитов (рисунок 2, А). Они теряют свою структурную целостность, их мембраны разрушаются, что приводит к высвобождению внутриклеточных компонентов в межклеточное пространство, усиливая воспаление. Исходя из результатов опубликованных Engin S. и Gurkan S. можно сделать вывод, что потеря митохондрий и эндоплазматического ретикулума приводит к нарушению синтеза белков и метаболизму липидов [5]. Разрушение центральной вены является следствием воспаления, что нарушает микроциркуляцию в печени и ухудшает доставку кислорода и питательных веществ.

На рисунке 2Б представлен гистологический препарат печени опытной группы. Можно отметить, что структура центральной вены остается интактной, а области с очагами воспаления сведены к минимуму. Отсутствие значительного разрушения сосудов указывает на нормализацию венозного оттока и улучшение микроциркуляции в печени, что способствует восстановлению клеток [6]. Гепатоциты сохраняют нормальную округлую форму, их ядра не смещены, что говорит о хорошем состоянии клеток. Сохранение структуры гепатоцитов связано с тем, что пробиотик поддерживает нормальный метаболизм митохондрий, предотвращая развитие жировой дистрофии и разрушение клеток [7].

На 35 сутки у контрольной группы (рисунок 3, А) было выявлено наличие очагов воспалительных клеток в процессе системного воспаления, которое затрагивает микрососудистую систему печени, приводя ткани к развитию дистрофий и некрозов. Это явление также может свидетельствовать о нарушении метаболической и детоксикационной функции пече-

ни, поскольку гепатоциты теряют способность эффективно обрабатывать питательные вещества и удалять токсины, что согласуется с выводами, сделанными Li X. и Zheng S. [8, 9].

У карпов, получавший пробиотик (рисунок 3, Б), отмечается сохранность структуры паренхимы печени, нормализующейся в связи с поддержкой пробиотика целостности клеточных мембран и предотвращении накопление липидов в гепатоцитах. Сами клетки печени остаются структурно неповрежденными, их ядра и цитоплазма имеют нормальное состояние. Центральная вена и синусоиды не расширены, что указывает на отсутствие застойных процессов и воспаления [10].

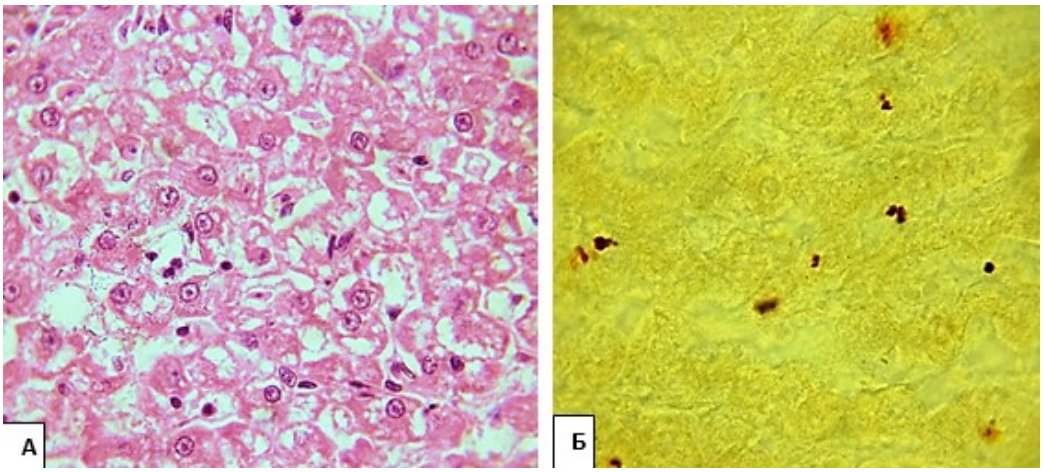


Рисунок 1 (А, Б) - Микрофотографии структуры печени карпа обыкновенного (Cyprinus Carpio) при фоновом исследовании:
А - Среднекапельная жировая дистрофия. Окраска гематоксилин-эозином, ув. х400. Б - Среднекапельная диффузная жировая дистрофия в печени. Окр. суданом III + IV, ув. ок. 8, об.40.

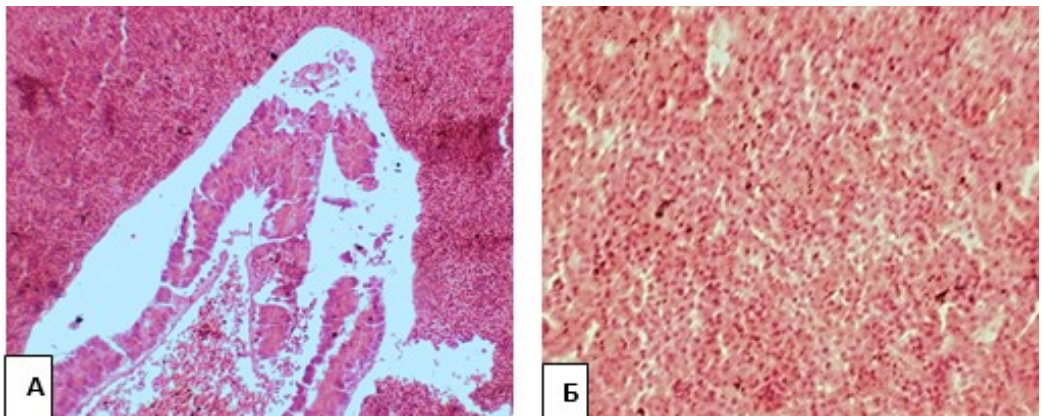


Рисунок 2 (А, Б) - Микрофотографии структуры печени карпа обыкновенного (Cyprinus Carpio) на 14 день:
А – Лизис гепатоцитов и разрушение центральной вены у особей контрольной группы. Б – Сохранная структура печени у рыб, получавших «Бацелл-М». Окраска гематоксилин-эозином, ув. х400.

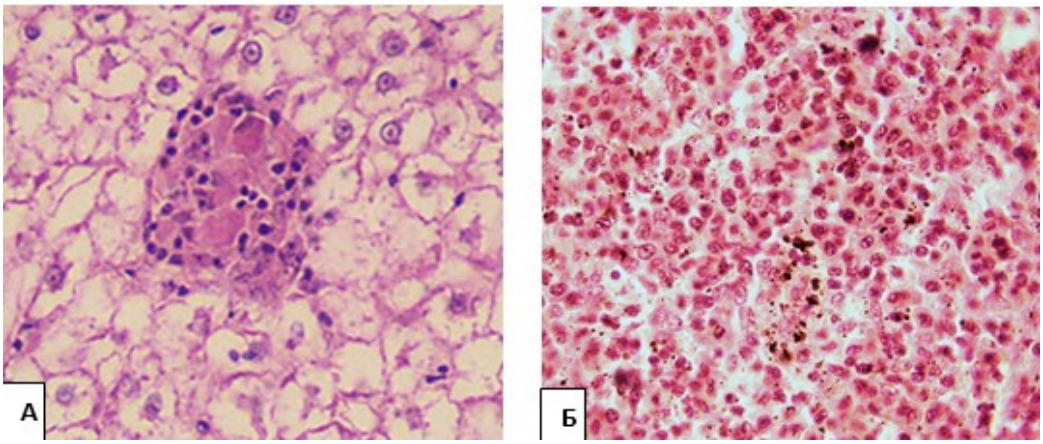


Рисунок 3 (А, Б) – Микрофотографии структуры печени карпа обыкновенного (Cyprinus Carpio) на 35 день:
А – Очаг воспалительных клеток у особей контрольной группы. Б – Сохранная структура паренхимы печени у рыб, получавших «Бацелл-М». Окраска гематоксилин-эозином, ув. х400.

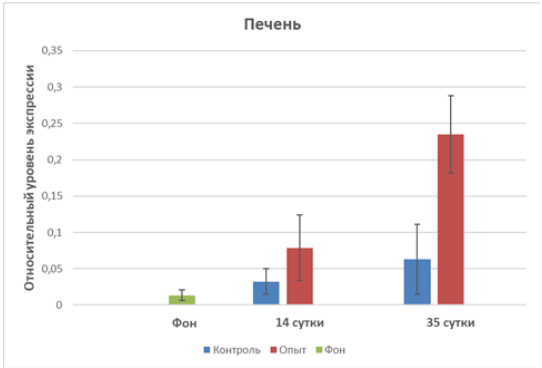


Рисунок 4 – Уровни экспрессии гена GPx-1 в печени карпа обыкновенного (Cyprinus Carpio) на 14 и 35 день.

Для оценки полученных результатов гистологического исследования печени карпа обыкновенного оценивали экспрессию гена GPx-1 (рисунок 4), который играет ключевую роль в поддержании клеточной защиты от окислительного стресса.

Фоновый уровень экспрессии отражает исходный уровень экспрессии гена в печени до начала эксперимента. Его крайне низкое значение – менее 0,02 – о том, что исследуемый ген в печени, вероятно, не является активно задействованным в нормальных физиологических условиях или включается только при определённых стимулирующих факторах, таких как стресс.

Уровень экспрессии гена GPx-1 в опытной группе, получавшей пробиотик «Бацелл-М» на 14 и 35 сутки оказался выше, чем в контрольной группе, что свидетельствует о положительном влиянии пробиотика на антиоксидантную систему, способствуя активации гена GPx-1 и улучшению состояния печени на фоне жировой дистрофии. Михайлов Е.В. утверждает, что «Бацелл-М» способствует восстановлению микрофлоры кишечника и нормализации обменных процессов [11]. Поскольку печень тесно связана с метаболизмом и является важным орга-

ном для детоксикации, улучшение её состояния за счёт пробиотика может проявляться в повышении активности антиоксидантных ферментов, таких как глутатионпероксидаза-1.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Проведенный эксперимент показал, что использование пробиотика "Бацелл-М" положительно влияет на морфофункциональное состояние печени карпа обыкновенного. Пробиотик способствует сохранению структурной целостности печени, уменьшает воспалительные процессы и предотвращает повреждение тканей, что подтверждается гистологическими исследованиями. Оценка уровня экспрессии гена антиоксидантной системы GPx-1 так же подтвердила положительное влияние пробиотика на состояние печени карпа обыкновенного на фоне жировой дистрофии. Дальнейшие работы в данном направлении могут быть направлены на оценку долгосрочного влияния пробиотиков на другие органы и системы организма рыб, а также на разработку новых комплексных подходов к профилактике заболеваний в аквакультуре.

THE EFFECT OF THE PROBIOTIC "BACELL-M" ON THE MORPHO-FUNCTIONAL STATE OF THE LIVER OF COMMON CARP (*CYPRINUS CARPIO*)

Semenova E.V.* – graduate student, senior laboratory assistant at the laboratory of innovative drugs for recombinant proteomics (ORCID ID0000-0003-3675-5467); **Strelnikov N.A**. – Junior researcher, Laboratory of Innovative Recombinant Proteomics. (ORCID ID 0000-0002-0781-7713); **Mikhailov E.V.** – Candidate of Veterinary Sciences, Senior researcher, Head of the Department of Experimental Pharmacology and Living Systems Functioning (ORCID ID 000-0001-54-57-1325).

All-Russian Veterinary Research Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy (ARVRIPP&T), Voronezh, Russia.

*elenasemyonova5@gmail.com

ABSTRACT

Fish farming is one of the important branches of agriculture. Success in this area largely depends on the efficiency of feed use, which makes rational feeding of fish one of the most important aspects of their breeding. The purpose of this study was to investigate the changes in the morphofunctional state of the liver in common carp (Cyprinus carpio) after the inclusion of the probiotic "Bacell-M" in the fish diet. During the experiment, market-size carp weighing 800-900 grams were used. For baseline research, biological material was collected from common carp across all experimental groups for cytomorphological analysis. The fish were divided into two main groups. The first group (control, n=600) received a standard diet, while the second group (n=600) was fed the same diet supplemented with the probiotic Bacell-M at a dose of 2 kg/ton for 30 days. Slaughter and biological sampling for all groups (n=6) were performed at two time points: 14 days and 35 days after the start of the experiment.

The results of the study demonstrated that the probiotic exerted positive effects, such as supporting the integrity of the liver's vascular and parenchymal structures, reducing lipid accumulation in hepatocytes, decreasing inflammatory infiltrates, and maintaining microcirculation within the liver. To assess these effects, we measured the expression of the GPx-1 gene, which plays a key role in cellular defense against oxidative stress.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1.Остроумова И. Н. Биологические основы кормления рыб / И. Н. Остроумова // СПб.: ГосНИОРХ -2001. -372 с. ISBN 978 -5-91648-039-9

2.Шалгимбаева С. М. Изучение влияния продукционных кормов на микробиоценоз органов тиляпии (Tilapia) в установках замкнутого водообеспечения / С. М. Шалгимбаева // Вестник АГТУ. Серия: Рыбное хозяйство. - 2016. -№3.- С. 94-99. URL: https://cyberleninka.ru/article/n/izuchenie-vliyaniya-produktsionnyh-kormov-na-mikrobiotsenoz-organov-tilyapii-tilapia-v-ustanovkah-zamknutogo-

vodoobespecheniya.
3.Михайлов Е.В. Морфофункциональное состояние печени маточного стада карпа обыкновенного (Cyprinus carpio) в период нереста / Е.В. Михайлов // Ученые записки УО ВГАВМ. – 2022. - Т. 58. – С. 148-153. - DOI 10.52368/2078-0109-2022-58-4-148-153
4.Roh H. Overfeeding-Induced Obesity Could Cause Potential Immuno-Physiological Disorders in Rainbow Trout (Oncorhynchus mykiss) / H. Roh // Animals. - 2020. - №10. - P.1499. URL: https://doi.org/10.3390/ani10091499.
5.Engin S., Gurkan S. Cellular Changes in Liver Tissue of Adult Common Sole (Solea solea L. 1758) in the Aegean Sea, Turkey / S. Engin, S. Gurkan // Journal of Coastal Research. – 2024. - №40. – P. 740-748. URL: https://doi.org/10.2112/JCOASTRES-D-23-00087.1
6.Eriegha O. J. Histopathology of Selected Economically Important Fish Species from the Escravos Estuary, Nigeria: A Baseline Study for Environmental Monitoring / Eriegha O. J. // International Journal of Innovative Studies in Aquatic Biology and Fisheries. - №9. – 2024. – P. 1-8. DOI:10.20431/2454-7670.0901001.
7.Miščević M. Effect of probiotics on the production of one-year old tench and common carp / M. Miščević // Archiva Zootechnica. - 2012. -№15. -P. 69-76. URL: https://www.ibna.ro/arhiva/AZ%2015-4/AZ%2015-4_07_miscevic.pdf
8.Li X., Zheng S. Effects of dietary protein and lipid levels on the growth performance, feed utilization, and liver histology of largemouth bass (Micropterus salmoides) / X. Li, S. Zheng // Amino Acids. – 2020. - №52. – P. 1043–1061. DOI: 10.1007/s00726-020-02874-9
9.Li X. Hepatic glucose metabolism and its disorders in fish / X. Li //Recent advances in animal nutrition and metabolism. – 2022. – № 1. - С. 207-236. DOI:10.1007/978-3-030-85686-1_11.
10.Neyrão I. M. Quantification of liver lipid deposition and melano-macrophages in lesser guitarfish Zapteryx brevirostris submitted to different feeding cycles / I. M. Neyrão // Comparative Clinical Pathology. – 2019. – Т. 28. – С. 805-810. DOI:10.1007/s00580-019-02953-8
11.Оценка экспрессии генов и биохимических показателей крови карпа обыкновенного при применении пробиотика «Бацелл-М» в условиях антропогенного прессинга / Е. В. Михайлов, Н. В. Пасько, А. В. Голубцов и др. // Теория и практика инновационных технологий в АПК: материалы национальной научно-практической конференции (Воронеж, 1 марта-28 апреля 2023 г.): секция "Актуальные проблемы развития животноводства и ветеринарной медицины" (27 -31 марта 2023 г.) / Воронежский государственный аграрный университет. — Воронеж, 2023. – Ч. I. URL: http://elib.vsau.ru/main/last?page=47

REFERENCES

1.Ostrooumova I. N. Biological principles of fish feeding / I. N. Ostrooumova // St. Petersburg: GosNIORH, 2001. - 372 p. ISBN 978-5-91648-039-9 (In Russ.)
2.Shalgimbaeva S. M. Study of the effect of production feeds on the microbiocenosis of tilapia organs (Tilapia) in recirculating aquaculture systems / S. M. Shalgimbaeva // Vestnik AGTU. Series: Fisheries. - 2016. - No. 3. – P. 94-99. URL: https://cyberleninka.ru/article/n/izuchenie-vliyaniya-produktsionnyh-kormov-na-mikrobiotsenoz-organov-tilyapii-tilapia-v-ustanovkah-zamknutogo-vodoobespecheniya.(In Russ.)
3.Mikhailov E.V. Morphofunctional state of the liver in broodstock of common carp (Cyprinus carpio) during spawning / E.V. Mikhailov // Scientific Notes of the Vitebsk State Academy of Veterinary Medicine. - 2022. - Vol. 58. - P. 148-153. - DOI 10.52368/2078-0109-2022-58-4-148-153 . (In Russ.)
4.Roh H. Overfeeding-Induced Obesity Could Cause Potential Immuno-Physiological Disorders in Rainbow Trout (Oncorhynchus mykiss) / H. Roh // Animals. – 2020. - No. 10. - P. 1499. URL: https://doi.org/10.3390/ani10091499.
5.Engin S., Gurkan, S. Cellular Changes in Liver Tissue of Adult Common Sole (Solea

solea L. 1758) in the Aegean Sea, Turkey / S. Engin, S. Gurkan // Journal of Coastal Research. – 2024. - No. 40. - P. 740-748. URL: https://doi.org/10.2112/JCOASTRES-D-23-00087.1.

6.Eriegha O. J. Histopathology of Selected Economically Important Fish Species from the Escravos Estuary, Nigeria: A Baseline Study for Environmental Monitoring / O. Eriegha // International Journal of Innovative Studies in Aquatic Biology and Fisheries. – 2024. - No. 9. - P. 1-8. DOI:10.20431/2454-7670.0901001

7.Miščević M. Effect of probiotics on the production of one-year-old tench and common carp / M. Miščević // Archiva Zootechnica. - 2012. - No. 15.- P. 69-76. URL: https://www.ibna.ro/arhiva/AZ%2015-4/AZ%2015-4_07_miscevic.pdf.

8.Li X., Zheng S. Effects of dietary protein and lipid levels on the growth performance, feed utilization, and liver histology of largemouth bass (Micropterus salmoides) / X. Li, S. Zheng // Amino Acids. – 2020. - No. 52. – P.1043–1061. DOI: 10.1007/s00726-020-02874-9

9.Li, X. Hepatic glucose metabolism and its disorders in fish / X. Li // Recent Advances in Animal Nutrition and Metabolism. – 2022. - №1. – P. 207-236. DOI:10.1007/978-3-030-85686-1_11

10.Neyrão I. M. Quantification of liver lipid deposition and melano-macrophages in lesser guitarfish Zapteryx brevirostris subjected to different feeding cycles / I. M. Neyrão // Comparative Clinical Pathology. – 2019. - Vol. 28. – P. 805-810. DOI:10.1007/s00580-019-02953-8

11.Mikhailov E.V. et al. Assessment of gene expression and biochemical indicators in common carp under the influence of Bacell-M probiotic in anthropogenic stress conditions // Theory and Practice of Innovative Technologies in Agriculture: Proceedings of the National Scientific-Practical Conference (Voronezh, March 1 - April 28, 2023): Section “Current Issues in Livestock and Veterinary Medicine” (March 27-31, 2023) / Voronezh State Agrarian University. Voronezh, 2023. Part I. URL: http://elib.vsau.ru/main/last?page=47. (In Russ.)

УДК: 619:615.37
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.4.152

ВЛИЯНИЕ ЭНРОФЛОКСАВЕТФЕРОНА И ГЕНТАБИФЕРОНА-Б НА ПОКАЗАТЕЛИ КРОВИ КОРОВ ПРИ ТЕРАПИИ ЭНДОМЕТРИТА

Сыромятников М.Ю. [1,2,3*] – канд. биол. наук, доц., вед. науч. сотр. (ORCID 0000-0001-9028-0613); **Шабунин С.В.**[1] – д-р вет. н., проф., академик РАН, науч. рук. (ORCID ID 0000-0002-2689-6998); **Михалев В.И.**[1] – д-р ветеринар. наук, гл. науч. сотр. (ORCID ID 0000-0001-9684-4045); **Чиркин Е.А.**[3] – студ. (ORCID ID 0009-0000-0021-6408); **Михайлов Е.В.** [1] – канд. ветеринар. наук, вед. науч. сотр. (ORCID ID 0000-0001-5457-1325).

[1]ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии»
[2]ФГБОУВО «Воронежский государственный университет инженерных технологий»
[3] ФГБОУВО «Воронежский государственный университет»

[*] mihan.vrn@mail.ru

Ключевые слова: *эндометрит, «Энрофлоксаветферон», «Гентабиферон-Б», коровы, показатели крови, терапия*

Key words: *endometritis, «Enrofloxavetferon», «Gentabiferon-B», cows, blood counts, therapy*

Поступила:10.11.2024 **Принята к публикации: 02.12.2024**
Опубликована онлайн:16.12.2024

РЕФЕРАТ

Нарушение фертильности крупного рогатого скота является причиной существенных экономических потерь животноводческих комплексов. Комплексное лечение коров при остром эндометрите может предусматривать различные подходы, включая применение антибиотиков и препаратов на основе интерферонов. Терапевтический подход, связанный с применением иммуностимулирующих веществ наиболее безопасен. Целью работы явилась оценка показателей крови коров при терапии острого послеродового гнойно-катарального эндометрита с применением «Энрофлоксаветферона-Б» и «Гентабиферона-Б». Установлено, что терапия «Энрофлоксаветфероном-Б», «Гентабифероном-Б», а также традиционная схема лечения приводит к увеличению фагоцитарной активности, что вероятно связано с активизацией иммунной системы животных. В то же время при терапии «Энрофлоксаветфероном-Б» наблюдалось уменьшение каталазной активности, что, может быть связано с уменьшением уровня активных форм кислорода в крови животных при терапии этим препаратом. Также было отмечено, что при терапии «Энрофлоксоветфороном-Б» не наблюдалось изменений в уровне ЦИК, в то время как при традиционной схеме лечения наблюдалось повышение данного показателя. Терапия «Энрофлоксаветфероном-Б» не приводила к повышению нейтрофилов. При этом как традиционная схема лечения, так и терапия «Гентабифероном-Б» приводила к увеличе-

нию доли нейтрофилов. Примечательно, что не было выявлено ярко выраженного отрицательного воздействия на показатели крови всех трёх вариантов терапии эндометрита. Можно предположить, что наиболее оптимальной схемой лечения острого послеродового гнойно-катарального эндометрита коров может быть терапия, включающая «Энрофлоксаветферон-Б» в дозе 20 мл с интервалом 24 часа в течение 5 дней.

ВВЕДЕНИЕ/ INTRODUCTION

Большое разнообразие факторов влияет на эффективность ведения молочной отрасли сельского хозяйства. Нарушение фертильности крупного рогатого скота является главенствующей причиной экономических потерь животноводческих комплексов [1]. Снижение рождаемости поголовья зачастую связано с инфекциями и хроническими заболевания репродуктивных органов животных. Так, послеродовой эндометрит стал главной причиной развития бесплодия у коров. Данное заболевание связано с разрастанием клеток эндометрия матки и нарушением нормальной работы яичников, что в конечном итоге приводит к трудностям зачатия, а также нездоровому протеканию беременности с высокими рисками аборта [2]. Послеродовой эндометрит возникает, прежде всего, в результате повреждения эпителия матки и развития микробной инфекции на фоне сниженного иммунитета животного. Как правило заболевание клинически проявляется на 8-12 день после родов и сопровождается гнойными выделениями [3].

Терапия послеродового эндометрита заключается в систематическом приеме антибиотиков и иммуностимулирующих препаратов. Лечение данного заболевания такими противомикробными препаратами, как пенициллин, цефалоспорины третьего поколения и ампициллин демонстрировало позитивные результаты [4]. Важно избирательно подходить к данной стратегии лечения в связи с возможным возникновением явления резистентности. Терапевтический подход, связанный с применением иммуностимулирующих веществ наиболее безопасен. Этот подход продемонстрировал хорошие результаты в лечении и профилактики послеродового эндометрита. Так, применение простагландина F2a значительно улучшило репродуктивное здоровье животных [5].

Комплексное лечение коров при хроническом эндометрите, предусматривающее применение общестимулирующих, симптоматических и этиотропных средств обеспечивает повышение терапевтической эффективности на 9,5-17,3%. Клиническое выздоровление сопровождается снижением микробной обсемененности матки в 7,29 раза, свидетельствующее о санации полости матки, а также восстановлении структурной организации эндометрия [6]. Эффективным средством профилактики послеродовых эндометритов является комплексное применение «Утеротона» с бычьими рекомбинантными α- и γ-интерферонами, результативность которого составляла 88,9% [7]. Среди препаратов на основе видоспецифических интерферонов известны «Энрофлоксаветферон-Б» и «Гентабифероном-Б». Ранее было установлено, что «Энрофлоксаветферон-Б» не оказывал какого-либо негативного влияния на биохимические показатели сыворотки крови телят [8]. «Гентабиферон-Б» нашёл применение при терапии мастита у коров [9].

Целью работы явилась оценка показателей крови коров при терапии острого послеродового гнойно-катарального эндометрита препаратами «Энрофлоксаветферон-Б» и «Гентабиферон-Б».

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Объектом для исследования служили коровы, больные острым послеродовым гнойно-катаральным эндометритом, а также кровь, полученная от этих животных до и после терапии острого послеродового гнойно-катарального эндометрита. Диагноз на острый послеродовый эндометрит ставили по результатам клинических, трансректальных и ультразвуковых

исследований коров через 8-12 дней после отёла. Терапевтическую эффективность схем лечения коров с острым послеродовым эндометритом установили на 35 животных, разделённых на три группы. Животные первой группы (n=11) подвергались комплексному лечению с применением миотропных (утеротон внутримышечно четырёхкратно, начиная с первого дня лечения в дозе 10 мл с 24-часовым интервалом), общестимулирующих (ПДЭ подкожно в 1-5-9 дни в дозе 25 мл/животное) и этиотропных средств. Выбор этиотропных препаратов проведён по результатам бактериологических исследований шеечно-вагинального секрета больных эндометритом коров, на основании которых установлено, что наиболее эффективным оказался препарат «Тилозинокар». «Тилозинокар» вводили внутриматочно в дозе 120-150 мл трёхкратно с 48-часовым интервалом. Коровам второй группы (n=12) внутримышечно инъецировали препарат «Гентабиферон-Б»в дозе 20 мл один раза в день в течение 5 дней и «Утеротон» внутримышечно четырёхкратно, начиная с первого дня лечения в дозе 10 мл с 24-часовым интервалом. Животным третьейгруппы (n=12) внутримышечно инъецировали препарат «Энрофлоксаветферон-Б» в дозе 20 мл с интервалом 24 часа в течение 5 дней и «Утеротон» внутримышечно четырёхкратно, начиная с первого дня лечения в дозе 10 мл с 24-часовым интервалом. От 5 коров из каждой группы перед введением препаратов и в конце терапевтического курса отобраны пробы крови для проведения лабораторных исследований.

В крови и сыворотке крови определяли показатели гуморальной и клеточной защиты: лизоцимную (ЛАСК), бактерицидную (БАСК) и комплементарную (КАСК) активность в соответствии с «Методическими рекомендациями по оценке и коррекции неспецифической резистентности животных» [10], содержание общих иммуноглобулинов [11], циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК), показатели фагоцитоза полиморфноядерных нейтрофилов: фагоцитарную активность нейтрофилов (ФАН), фагоцитарный индекс (ФИ) и фагоцитарное число (ФЧ) - в соответствии с «Методическими рекомендациями по оценке и коррекции иммунного статуса животных» [12].

Содержание малонового диальдегида (МДА), активность каталазы (КА) и глутатионпероксидазы (ГПО), среднемолекулярные пептиды (СМП), индекс эндогенной интоксикации (ИЭИ) определяли в соответствии с «Методическими положениями» [13] и с использованием стандартных методик [14].

Морфологический анализ крови проводили на гематологическом анализаторе «ABX Micros 60».

Обработку экспериментальных данных проводили с использованием прикладной статистической программы «Statistica 8.0» («StatSoft, Inc», USA).

РЕЗУЛЬТАТЫ/ RESULTS

На первом этапе проводили оценку активности иммунных клеток крови. В ходе проведения экспериментов была оценена фагоцитарная активность (рисунок 1).

После курса лечения коров «Энрофлоксаветфероном-Б» фагоцитарная активность увеличилась на 17,0% (с 72,8±1,5 до 85,2±1,7), «Гентабифероном-Б» - на 12,2% (с 75,2±1,5до84,4±1,3), при лечении по традиционной схеме - на 13,9% (с 73,4±1,5 до 83,6±0,7). Содержание общих иммуноглобулинов достоверно не различалась между исследуемыми группами до и после терапии препаратами, а также при традиционной схеме лечения.

Далее оценивали показатели ферментативной активности системы ПОЛ-АОЗ крови экспериментальных животных до и после терапии (таблица 1).

При терапии «Гентабифероном-Б» отмечено снижение МДА с 2,23±0,19 до 1,57±0,10 мкМ/л, что свидетельствует о снижении уровня оксидативного стресса в крови животных.

При оценке каталазной активности не были выявлены статистических значимые

изменения для групп «Гентабиферон-Б» и «традиционная схема». В то же время изменения активности каталазы установлены для группы «Энрофлоксоветферон-Б» (рисунок 2).

После курса лечения коров «Энрофлоксаветфероном-Б» активность каталазы снизилась на 24,6% (с 58,2±4,5 до 43,9±1,1 – мкмоль восстановленной перекиси/л*мин). Это может свидетельствовать об общем снижении уровня активных форм кислорода в крови.

На рисунке 3 и 4 показаны диаграммы, отражающие долю палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилов в крови коров.

После лечения «Гентабифероном-Б» доля палочкоядерных нейтрофилов в крови увеличилась в 2,0 раза. После лечения «Энрофлоксаветфероном-Б» и при традиционной схеме лечения статистически достоверных различий не выявлено.

После лечения по традиционной схеме доля сегментоядерных нейтрофилов в крови увеличилась на 44,0% (с 28,2±2,0 до 40,6±4,3). После лечения «Энрофлоксаветфероном-Б» и «Гентабифероном-Б» статистически достоверных различий не выявлено. Повышения количества нейтрофилов может говорить о продолжающемся воспалительном процессе. Только терапия «Энрофлоксаветфероном-Б» не приводила к повышению нейтрофилов.

Кроме того, была проведена оценка бактерицидной и лизоцимной активности сыворотки крови (Таблица 2).

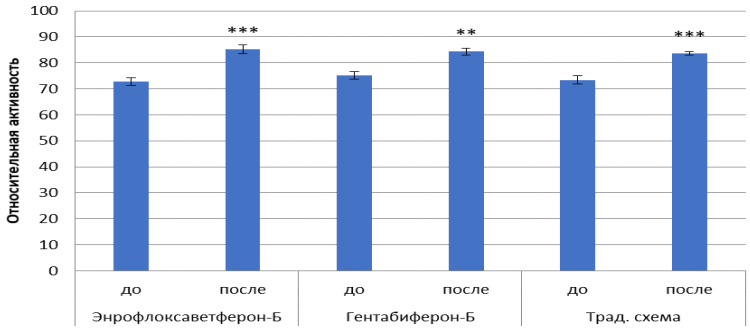


Рисунок 1 – Показатели фагоцитарной активности сыворотки крови коров.
** - различия статистически достоверны (p<0,01)
*** - различия статистически достоверны (p<0,001).

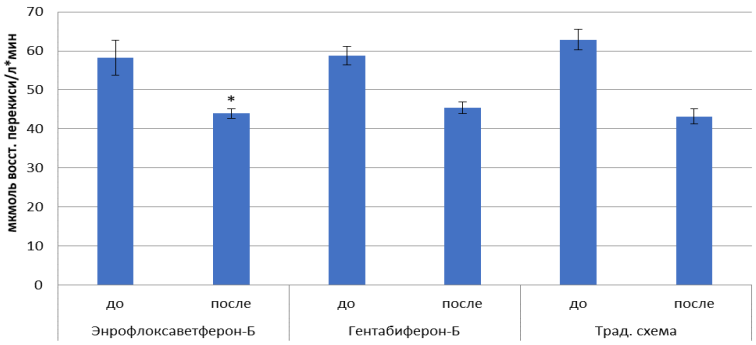


Рисунок 2 – Уровень активности каталазы.
** - различия в значении активности каталазы до и после терапии статистически достоверны (p<0,05).*

Таблица 1 – Показатели системы ПОЛ-АОЗ до терапии и после терапии

Группа	МДА (мкМ/л)	ГПО (мкМ G-SH/л*мин*103)	NOx(мкМ/л)	СМП	ИЭИ
до терапии					
«Энрофлоксаветферон-Б»	1,92±0,24	16,91±2,44	91,26±40,48	1,25±0,22	27,84±0,40
«Гентабиферон-Б»	2,23±0,19	15,87±2,6	85,56±47,12	1,06±0,15	28,06±0,42
Традиционная схема	2,08±0,52	15,27±1,82	58,65±13,74	1,12±0,07	27,96±0,53
после терапии					
«Энрофлоксаветферон-Б»	1,83±0,23	17,9±1,95	40,28±17,77	1,31±0,07	28,39±0,54
«Гентабиферон-Б»	1,57±0,10*	19,64±0,58	33,8±11,16	1,34±0,19	28,44±0,82
Традиционная схема	1,8±0,23	18,57±2,13	41,36±15,66	1,6±0,19	29,56±0,86

* - различия в значении показателя до и после терапии статистически достоверны ($p<0,05$).

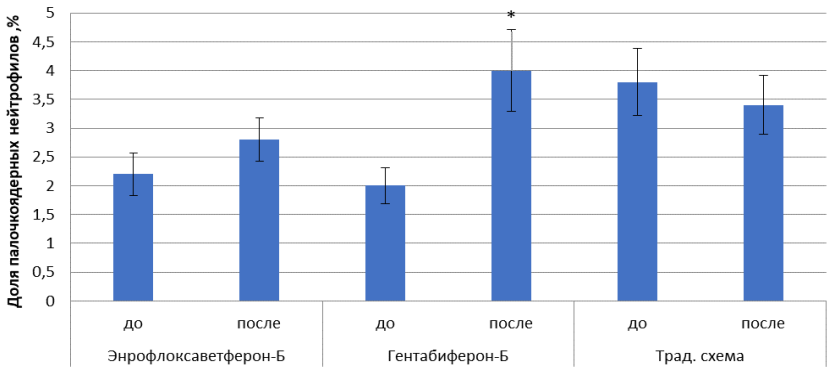


Рисунок 3 – Доля палочкоядерных нейтрофилов в крови.
** - различия в значении до и после терапии статистически достоверны ($p<0,05$).*

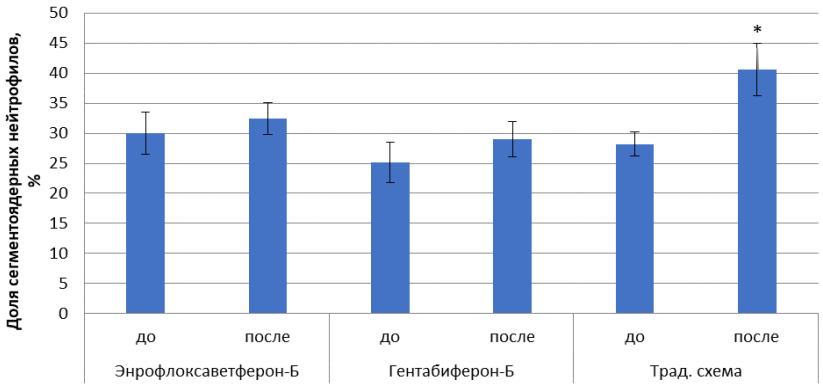


Рисунок 4 – Доля сегментоядерных нейтрофилов в крови.
** - различия в значении до и после терапии статистически достоверны ($p<0,05$).*

Таблица 2 – Показатели неспецифической резистентности коров до и после терапии

Группа	До терапии		После терапии	
	БАСК, %	ЛАСК, мкг/мл	БАСК, %	ЛАСК, мкг/мл
Энрофлоксаветферон-Б	83±3,71	1,52±0,04	81,64±2,81	1,42±0,06
Гентабиферон-б	88,5±5,48	1,53±0,06	86,6±6,94	1,42±0,12
Традиционная схема	87±4,11	1,49±0,07	85,56±2,57	1,44±0,05

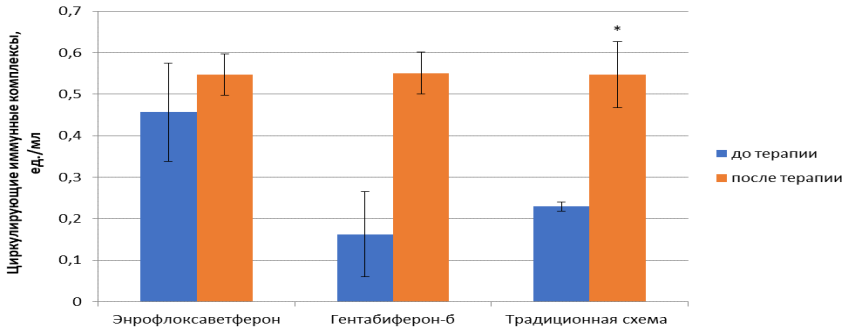


Рисунок 5 – Количество ЦИК в экспериментальных группах.
** - различия в значении до и после терапии статистически достоверны (p< 0,05)*

При исследовании бактерицидной и лизоцимной активности сыворотки крови не было отмечено достоверных изменений в их значениях до и после терапии. Однако наблюдалась тенденция снижения лизоцимной активности после терапии «Энрофлоксаветфероном-Б» на 6,6 % и «Гентабифероном-Б» на 7,2%.

Также было установлено увеличение циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) в группе с традиционной схемой лечения (рисунок 5).

Традиционная схема лечения приводила к увеличению циркулирующих иммунных комплексов в 2,4 раза, что может свидетельствовать о продолжении активности заболевания. Кроме того, наблюдалась тенденция повышения ЦИК при терапии «Гентабифероном-Б». При этом при терапии «Энрофлоксоветфороном-Б» изменения в уровне ЦИК не были выявлены.

Таким образом, терапия «Энрофлоксаветфероном», «Гентабифероном-Б», а также традиционная схема лечения в целом приводили к схожим эффектам после применения препаратов. Однако при терапии «Энрофлоксаветфероном-Б» наблюдались более выраженные положительные свойства на показатели крови, что, вероятно, может быть обусловлено присутствием антибиотика энрофлоксацина. Кроме того, при терапии «Энрофлоксоветфороном -Б» не наблюдалось изменений в уровне ЦИК, в то время как при традиционной схеме лечения наблюдалось повышение ЦИК. Примечательно, что не было выявлено ярко выраженного отрицательного воздействия на показатели крови всех трёх вариантов терапии эндометрита.

ВЫВОДЫ/ CONCLUSION

В ходе работы установлено, что все три схемы терапии эндометрита приводят к увеличению фагоцитарной активности, что может быть связано с активизацией иммунной системы животных. При терапии «Энрофлоксаветфероном-Б» наблюдалось уменьшение каталазной активности, что вероятно связано с уменьшением

уровня активных форм кислорода в крови животных при терапии «Энрофлоксаветфероном-Б». Как традиционная схема лечения, так и терапия «Гентабифероном-Б» приводила к увеличению доли нейтрофилов, что может говорить о продолжающемся воспалительном процессе. Только терапия «Энрофлоксаветфероном-Б» не приводила к повышению нейтрофилов. Также было отмечено, что при терапии «Энрофлоксоветфороном-Б» не наблюдалось изменений в уровне ЦИК, в то время как при традиционной схеме лечения наблюдалось повышение данного показателя. Таким образом, можно предположить, что наиболее оптимальной схемой лечения коров может быть терапия, включающая «Энрофлоксаветферон-Б»в дозе 20 мл с интервалом 24 часа в течение 5 дней.

THE EFFECT OF ENROFLOXAVETFERON AND GENTABIFERON-B ON BLOOD PARAMETERS OF COWS IN THE TREATMENT OF ENDOMETRITIS

Shabunin S.V. [1] – PhD in Veterinary Sciences, Professor, Academician of the Russian academy Of Sciences, Scientific Advisor of The All-Union Research Institute of Non-Contagious Animal Diseases (ORCID ID 0000-0002-2689-6998); **Syromyatnikov M.Yu.** [1,2*3] – PhD in Biological Sciences, Associate Professor, Leading Researcher (ORCID ID 0000-0001-9028-0613); **Parshin P.A.** [1] – PhD in Veterinary Sciences, Professor (ORCID ID 0000-0002-8790- 0540); **Mikhalev V.I.**[1]**–** PhD in Veterinary Sciences, Chief Researcher (ORCID ID 0000-0001-9684-4045); **Chirkin E. A.** [3] – student (ORCID ID 0009-0000-0021-6408); **Mikhaylov E.V.** [2]– PhD in Veterinary Sciences, Leading Researcher (ORCID ID 0000-0001-5457-1325)

[1]All-Russian Veterinary Research Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy

[2]Voronezh State University of Engineering Technology

[3]Voronezh State University

[*] mihan.vrn@mail.ru

ABSTRACT

Impaired fertility in cattle is the cause of economic losses in livestock farms. Complex treatment of cows with acute endometritis may include various approaches, including the use of antibiotics and interferon-based drugs. The therapeutic approach associated with the use of immunostimulating substances is the safest. The aim of the study was to evaluate the blood parameters of cows during the treatment of acute postpartum catarrhal endometritis using «Enrofloxacinferon-B» and «Gentabiferon-B». It was found that therapy with «Enrofloxacinferon-B», «Gentabiferon-B», and the traditional treatment regimen led to an increase in phagocytic activity, which was probably due to the activation of the immune system of animals. At the same time, during therapy with «Enrofloxacinferon-B», a decrease in catalase activity was observed, which may be due to a decrease in the level of active oxygen forms in the blood of animals during therapy with this drug. It was also noted that during the therapy with «Enrofloxacinferon-B» no changes in the level of the circulating immune complexes were observed, while with the traditional treatment regimen an increase in this indicator was observed. Therapy with «Enrofloxacinferon-B» did not lead to an increase in neutrophils. At the same time, both the traditional treatment regimen and therapy with «Gentabiferon-B» led to an increase in the proportion of neutrophils. It is noteworthy that there was no pronounced negative effect on blood parameters of all three endometritis treatment options. It can be assumed that the most optimal treatment regimen for acute postpartum catarrhal endometritis in cows may be therapy including «Enrofloxacinferon-B» at a dose of 20 ml at intervals of 24 hours for 5 days.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1.Britt J.H. Invited review: learning from the future-a vision for dairy farms and cows in 2067 /J.H. Britt, R.A. Cushman, C.D. Dechow [et al.] // Journal of Dairy Science.

– 2018. – Vol. 101. – № 5. – P. 3722-3741. – DOI 10.3168/jds.2017-14025
2.Sheldon I.M. Tolerance and innate immunity shape the development of postpartum uterine disease and the impact of endometritis in dairy cattle / I.M. Sheldon, J.G. Cronin, J.J. Bromfield // Annual Review of Animal Biosciences. – 2019. – Vol. 7. – P. 361-384. – DOI 10.1146/annurev-animal-020518-115227
3.Miranda-CasoLuengo R. Delayed differentiation of vaginal and uterine microbiomes in dairy cows developing postpartum endometritis / R. Miranda-CasoLuengo, J. Lu, E.J. Williams [et al.] // PLoS One. – 2019. – Vol. 14, № 1. – e0200974 p. – DOI 10.1371/journal.pone.0200974
4.Haimerl P. Invited review: Antibiotic treatment of metritis in dairy cows: a systematic approach / P. Haimerl, W. Heuwieser // Journal of Dairy Science. – 2014. – Vol. 97. – № 11. – P. 6649-61. – DOI 10.3168/jds.2014-8462
5.Haimerl P. Therapy of bovine endometritis with prostaglandin F2α: a meta-analysis / P. Haimerl, W. Heuwieser, S. Arlt // Journal of Dairy Science. – 2013. –Vol. 96 – № 5. – P. 2973-87. – DOI 10.3168/jds.2012-6154
6.Болотова В. С. Комплексный способ лечения коров при хроническом эндометрите / В. С. Болотова, В. И. Михалев, О. А. Манжурина // Ветеринарный фармакологический вестник. – 2023. – Т. 21. – № 4 – С. 143 - 149. – DOI 10.17238/issn2541-8203.2023.3.143
7.Скориков В. Н. Применение бычьих рекомбинантных α- и γ-интерферонов для профилактики острого послеродового эндометрита у коров / В. Н. Скориков, В. И. Михалев // Ветеринарный фармакологический вестник. – 2019. – Т. 6. – № 1 – С. 69 - 72. – DOI 10.17238/issn2541-8203.2019.1.69
8.Зайцева А. В. Оценка влияния комплексного препарата на биохимические показатели сыворотки крови телят / А. В. Зайцева, В.А. Прокулевич, Г. Э. Дремач [и др.] // Ветеринарный журнал Беларуси. – 2016. – № 2. – С. 13-17.
9.Грицюк В. Лечение мастита у коров комплексным препаратом Гентабиферон-Б / В. Грицюк, Г. Востроилова, Л. Ческидова [и др.] // Ветеринария сельскохозяйственных животных. –2024. –№1.
10.Шахов А. Г. Методические рекомендации по оценке и коррекции иммунного статуса животных / А. Г. Шахов [и др.] // Новые методы исследований по проблемам ветеринарной медицины. Ч. III. «Методы исследований по проблемам незаразной патологии у продуктивных животных». – М.: РАСХН, 2007. – С. 216-292.
11.Методы ветеринарной клинической лабораторной диагностики / И. П. Кондрахин, А. В. Архипов, В. И. Левченко [и др.]. – М. : Колос, 2004. – 520 с.
12.Шахов А. Г. Методические рекомендации по оценке и коррекции неспецифической резистентности животных / А. Г. Шахов, Ю.Н. Бригадиров, А.И. Ануфриев [и др.]. – Воронеж, 2005. – 32 с.
13.Рецкий М.И. Методические положения по изучению процессов свободнорадикального окисления и системы антиоксидантной защиты организма / М.И. Рецкий, С.В. Шабунин, Г.Н. Близнецова [и др.] – Воронеж, 2010. – 61с.
14.Гребнева О.Л. Способ подсчета показателей веществ низкой и средней молекулярной массы плазмы крови / О.Л. Гребнева, Е.А. Ткачук, В.О. Чубейко // Клиническая лабораторная диагностика. – 2006. – №6. – С.17-19.

REFERENCES

1.Britt J.H. Invited review: learning from the future-a vision for dairy farms and cows in 2067 /J.H. Britt, R.A. Cushman, C.D. Dechow [et al.] // Journal of Dairy Science. 2018:101(5):3722-3741. – DOI 10.3168/jds.2017-14025.
2.Sheldon I.M. Tolerance and innate immunity shape the development of postpartum uterine disease and the impact of endometritis in dairy cattle / I.M. Sheldon, J.G. Cronin, J.J. Bromfield // Annual Review of Animal Biosciences. 2019:7:361-384. – DOI 10.1146/annurev-animal-020518-115227
3.Miranda-CasoLuengo R. Delayed differentiation of vaginal and uterine microbiomes in dairy cows developing postpartum endome-

tritis / R. Miranda-CasoLuengo, J. Lu, E.J. Williams [et al.] // PLoS One. 2019:14 (1):e0200974 – DOI 10.1371/ journal.pone.0200974
4.Haimerl P. Invited review: Antibiotic treatment of metritis in dairy cows: a systematic approach / P. Haimerl, W. Heuwieser // Journal of Dairy Science. 2014:97 (11):6649-61. – DOI 10.3168/jds.2014-8462.
5.Haimerl P. Therapy of bovine endometritis with prostaglandin F2α: a meta-analysis. / P. Haimerl, W. Heuwieser, S. Arlt // Journal of Dairy Science. 2013:96(5):2973-87. – DOI 10.3168/jds.2012-6154.
6.Bolotova V. S. Complex method of treatment of cows with chronic endometritis. / V. S. Bolotova, V. I. Mikhalev, O. A. Manzhurina // Veterinary Pharmacological Bulletin. 2023:21(4):143-149. - DOI 10.17238/ issn2541-8203.2023.3.143. 3 (In Russ).
7.Skorikov V. N. Use of bovine recombinant α- and γ-interferons for the prevention of acute postpartum endometritis in cows / V. N. Skorikov, V. I. Mikhalev // Veterinary Pharmacological Bulletin. 2019:6(1):69-72. – DOI 10.17238/issn2541-8203.2019.1.69 (In Russ).
8.Zaitseva AV Evaluation of a complex drug based on biochemical parameters of calf blood serum / AV Zaitseva, VA Prokulevich, GE Dremach [et al.] // Veterinary Journal of Belarus. 2016:2:13-17. (In Russ).
9.Gritsyuk V. Treatment of mastitis in cows with the complex drug Gentabiferon-B / V. Gritsyuk, G. Vostrorova, L. Cheskidova [et al.] // Veterinary science of agricultural animals. 2024:(1) (In Russ).
10.Shakhov A. G. Methodological recommendations for assessing and correcting the immune impact of animals / A. G. Shakhov [et al.] // New research methods on problems of veterinary medicine. Part III. "Research methods on problems of non-infectious nature in productive animals". - M.: RAAS, 2007:216-292. (In Russ).
11.Methods of veterinary clinical laboratory diagnostics / I. P. Kondrakhin, A. V. Arhipov, V. I. Levchenko [et al.]. - M.: Kolos, 2004:520. (In Russ).
12.Shakhov A. G. Methodological recommendations for assessing and correcting nonspecific resistance of animals / A. G. Shakhov Yu. N. Brigadirov, A. I. Anufriev [et al.]. – Voronezh, 2005:32. (In Russ).
13.Retsky M.I. Methodical provisions for the study of free-radical oxidation processes and antioxidant defense systems of the body / M.I. Retsky, S.V. Shabunin, G.N. Bliznetsova [et al] – Voronezh, 2010:61. (In Russ).
14.Grebneva O.L. Ability to calculate indicators of low and medium molecular weight of blood / O.L. Grebneva, E.A. Tkachuk, V.O. Chubeiko // Clinical laboratory diagnostics. 2006:(6):17-19 (In Russ).

УДК: 619:618.19-002.2/615.281.9
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.4.161

ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ БАКТЕРИЙ К АНТИБИОТИКАМ МАСТИБЛОК® DC 49, МАСТИКАН-П, МАСТИГАРД ПРИ МАСТИТАХ СУХОСТОЙНЫХ КОРОВ

Енгашев С.В.[1] **–** д-р ветеринар. наук, проф., академик РАН, проф. каф. паразитологии и ветеринарно-санитарной экспертизы (ORCID 0000-0002-7230-0374); **Новак М.Д.**[2] – д-р биол. наук, проф., проф. каф. эпидемиологии (ORCID 0000-0002-1421-0039); **Новак А.И.**[2]* – д-р биол. наук, доц., проф. каф. микробиологии (ORCID 0000-0003-0345-7316); **Евдокимова О.В.**[2] – канд. мед. наук, доц., зав. каф. микробиологии (ORCID 0000-0002-5035-7302); **Енгашева Е.С.**[3] – д-р биол. наук, науч. сотр. лаб. фармакологии и токсикологии (ORCID 0000-0002-4808-8799)

[1] ФГБОУ ВО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА имени К.И. Скрябина»
[2] ФГБОУ ВО «Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова»
[3] Федеральный научный центр – Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии им. К.И. Скрябина и Я.Р. Коваленко РАН

*marieta69@mail.ru

Ключевые слова: *коровы, сухостойный период, мастит, антибиотики, чувствительность бактерий, МАСТИБЛОК® DC 49, эффективность.*

Key words: *cows, dry period, mastitis, antibiotics, sensitivity of bacteria, MASTIBLOCK® DC 49, efficacy.*

Поступила: 30.08.2024 **Принята к публикации: 02.12.2024**
Опубликована онлайн:16.12.2024

РЕФЕРАТ

В этиологии маститов первостепенное значение имеют патогенные бактерии *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Corynebacterium bovis* и ряд других. Частое необоснованное применение антибактериальных препаратов без предварительного определения эффективности против микроорганизмов в конкретном хозяйстве приводит к формированию резистентных изолятов. Цель исследований заключалась в изучении чувствительности штаммов бактерий, выделенных от больных маститом коров, к антибактериальным препаратам МАСТИБЛОК® DC 49, МАСТИКАН-П и МАСТИГАРД. Исследования выполнены в крупном молочном комплексе Центрального района Российской Федерации. В подопытные группы включены коровы с клиническими признаками (№1) и субклинической формой (№2) мастита при положительных результатах исследований с помощью реактива КЕНОТЕСТ. Чувствительность к анти-

биотикам изолятов бактерий, выделенных из молока, устанавливали методом цилиндров. У коров с субклинической и клинически выраженной формой мастита при бактериологическом исследовании выделены *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Corynebacterium spp.*, *Bacillus spp*. (β-гемолитические изоляты). Максимальная эффективность препарата МАСТИБЛОК® DC 49 установлена при субклинической серозно-катаральной форме мастита преимущественно против грамположительных бактерий. МАСТИГАРД имеет более широкий спектр антимикробного действия, в том числе на штаммы, продуцирующие β-лактамазу и ингибирующие действие антибиотиков пенициллинового ряда. Полученные результаты позволяют рекомендовать применение комплексного антибиотика МАСТИБЛОК® DC 49 не только в сухостойный период, но и на протяжении лактации для купирования бактериальной инфекции молочной железы у коров при соблюдении соответствующей технологии доения и переработки молока.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Экономически важные проблемы молочного животноводства включают маститы, получение некондиционной продукции, нарушение воспроизводительной функции и преждевременное выбытие коров.

В ряде молочных комплексов и товарных ферм распространение клинически выраженного мастита достигает 20-25 %, субклинического – 50 % [1]. Причинами заболеваний являются снижение иммунного статуса дойного стада, повышенная восприимчивость коров отдельных пород к бактериальным инфекциям, несбалансированность рациона по основным питательным веществам [2, 3], несоблюдение ветеринарно-санитарных требований содержания, технологии доения, а также послеродовые осложнения [4].

В этиологии маститов первостепенное значение имеют патогенные бактерии *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Corynebacterium bovis* и ряд других [5]. Наиболее часто у больных маститом коров выявляют *S. aureus*, характеризующийся не только широким распространением резистентных к антибиотикам штаммов, но и способностью формировать биопленки, препятствующие направленному антимикробному действию лекарственных препаратов [6, 7].

Современные систематизированные подходы в лечении маститов без применения антибиотиков до настоящего времени не разработаны. Но частое необоснованное применение антибактериальных препаратов без предварительного определения чувствительности к ним штаммов микроорганизмов, циркулирующих в популяциях животных, приводит к формированию резистентных изолятов бактерий [8, 9].

Основные способы преодоления антибиотикорезистентности у бактерий: использование комбинаций антибиотиков с разным механизмом действия, их периодическая смена, введение лекарственных препаратов непосредственно в очаг инфекционного процесса, то есть в сосковый канал вымени при маститах [10].

В состав некоторых лекарственных форм, применяемых при маститах, входят противовоспалительные средства, в частности кортикостероиды (дексаметазон, преднизолон и др.). При субклинических маститах использование этой группы препаратов усугубляет течение инфекционного процесса, так как снижается иммунологическая реактивность, резистентность тканей к патогенным и условно-патогенным микроорганизмам. Поэтому комплексные антибактериальные препараты с содержанием кортикостероидов следует применять одно-, двукратно с учетом индивидуального состояния иммунитета животного [11].

Для преодоления антибиотикорезистентности микроорганизмов перспективно сочетание антибиотикотерапии с использованием инновационных антимикробных препаратов, например, наночастиц серебра (Арговит). Ежедневное интрацистернальное введение Арговит при серозно-катаральном мастите во все четверти вымени коров в сочетании с массажем обеспечивает сокращение сроков

выздоровления и позволяет в два раза уменьшить дозу антибиотиков [12].

Цель исследований заключалась в изучении чувствительности штаммов бактерий, выделенных от больных маститом коров, к антибактериальным препаратам МАСТИБЛОК® DC 49, МАСТИКАН-П и МАСТИГАРД.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Исследования выполнены в крупном молочном комплексе Центрального района Российской Федерации, а также на кафедре микробиологии ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России.

Эффективность лекарственного препарата МАСТИБЛОК® DC 49 (Клоксациллин – 605 мг/мл и Амоксициллин – 500 мг/мл) оценивали по результатам бактериологического и клинического исследований коров двух подопытных групп соответственно до интрацистернального введения, в день отела или на второй – третий день после него и в течение 55-75 дней опыта (с интервалами 3-4 дня). В подопытные группы включены коровы с клиническими признаками (№1) и субклинической формой (№2) мастита при положительных результатах исследований с помощью реактива КЕНОТЕСТ.

Лекарственный препарат МАСТИБЛОК® DC 49 суспензия («АВЗ С-П») применяли коровам подопытных групп №1 и №2 в сухостойный период интрацистернально однократно в дозе 5,4 г в каждую четверть вымени.

Подопытная группа №1: №1 – 988, №2 – *1082*, №3 – *2355*, №4 – *2530*, №5 – 2744, №6 – *3309*, №7 – 3404, №8 – *3800*, №9 – *3996*, №10 – 4643, №11 – 697, №12 – 870, №13 – *1070*, №14 – 3101, №15 – 3332, №16 – 3334, №17 – 3473, №18 – 3756 (курсивом обозначены номера животных с гнойно-катаральной формой мастита).

Подопытная группа №2 (коровы с серозно-катаральной субклинической формой мастита): №19 – 3726, №20 – 3278, № 21 – 3483, №22 – 3901, №23 – 3995, №24 – 4893, №25 – 3752, № 26 – 110, №27 – 908, №28 – 2855, №29 – 3110, №30 – 3337, №31 – 3350, №32 – 3543, №33 – 3648, №34 – 3729, №35 – 3905, №36 – 3947, №37 – 4162, №38 – 4465, №39 – 4624, №40 – 4891.

Чувствительность выделенных культур бактерий от коров, больных маститом, устанавливали к антимикробным препаратам МАСТИБЛОК® DC 49 (Клоксациллин + Амоксициллин), МАСТИКАН-П (Канамицин + Бензилпенициллин), МАСТИГАРД (Левофлоксацин + Нозигептид).

Лабораторные бактериологические исследования проводили в соответствии с разработанными и утвержденными методиками: Методические указания по лабораторной диагностике инфекционных болезней животных, утверждены ГУВ Госагропрома СССР 29.07.1987 г., №432-3; утверждены ГУВ МСХ СССР 29.09.1990 г.; утверждены Департаментом ветеринарии МСХ РФ 27.07.2000 г., №13-7-2/2117 МУ 4.2.2723-10); ГОСТ Р 53022.3-2008.

С целью выявления бактерий посев проб молока проводили методом «сплошного газона» на среду Мюллера-Хинтона, для идентификации *Streptococcus spp.* дополнительно использовали кровяной агар. Культивирование проводили в термостате при температуре 37º С в течение 24 часов. Чувствительность к антибиотикам выделенных из молока изолятов бактерий устанавливали методом цилиндров. Антимикробные препараты (МАСТИБЛОК® DC 49, МАСТИКАН-П, МАСТИГАРД) вносили в цилиндры по 300 мкл трехкратно.

Статистический анализ осуществляли с использованием программы «Primer of Biostatistics 4. 03. For Windows» на основе критерия Стьюдента. Цифровой материал представлен в единицах СИ, рекомендованных Всемирной организацией здравоохранения.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

В Центральном районе Российской Федерации основу молочного стада большинства хозяйств составляют коровы голштинской породы, генетически малоустойчивые к маститам. Для лечения и профилактики маститов интрацистер-

нально применяются комплексные антибактериальные препараты МАСТИКАН-П, МАСТИГАРД и другие.

С целью профилактики маститов для коров в сухостойный период испытан лекарственный препарат МАСТИБЛОК® DC 49 (Клоксациллин + Амоксициллин).

Из молока коров с субклинической и клинически выраженной формой мастита при бактериологическом исследовании выделены *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Corynebacterium spp.*, *Bacillus spp*. (β-гемолитические изоляты).

Выделенные штаммы бактерий показали высокую чувствительность к антибиотикам, входящим в состав лекарственного препарата МАСТИБЛОК® DC 49 (таблица 1).

Лекарственный препарат МАСТИБЛОК® DC 49 эффективен в отношении грамположительных бактерий. Зоны ингибирования роста бактерий варьируют от 36 до 50 мм.

Результаты сравнительной оценки эффективности комплексных антибиотиков МАСТИБЛОК® DC 49, МАСТИКАН -П, МАСТИГАРД в подопытных группах коров № 1 с симптомами мастита и № 2 с субклинической формой заболевания представлены в таблицах 2 и 3.

В пробах молока от коров с клиническими признаками мастита выделены Streptococcus agalactiae в 45,5 % случаев, Staphylococcus aureus и Corynebacterium spp. – по 36,4 %, Bacillus spp. (β-гемолитические изоляты) и грамотрицательные палочковидные бактерии – по 9,1 % (таблица 2).

При субклиническом мастите, так же как и при клинически выраженном заболевании бактерии Staphylococcus aureus и Streptococcus agalactiae в совокупности идентифицированы соответственно в пробах молока от коров №3110 и №3996.

Результаты изучения чувствительности выделенных культур бактерий к комплексным антибиотикам приведены в таблице 3.

У животных с субклинической формой мастита более часто, по сравнению с коровами группы № 1, в молоке присутствуют β-гемолитические штаммы Bacillus spp. (26,7 %), грамотрицательные палочковидные бактерии (13,3 %) и Corynebacterium spp. (6,7 %). Наличие в выделенных культурах высоко патогенных бактерий Staphylococcus aureus, Streptococcus agalactiae подтверждает потенциальную возможность перехода субклинической формы мастита в клинически выраженное заболевание (таблица 3).

Таблица 1 – Эффективность комплексного антибиотика МАСТИБЛОК® DC 49 по результатам изучения (*in vitro*) чувствительности к нему бактерий– возбудителей маститов

№№ коров	Штаммы бактерий	Зона ингибирования роста бактерий, в мм
2530	*Bacillus spp. (β-гемолитический)*	37 ± 0,4
4643	*Streptococcus agalactiae*	42 ± 0,7
2744	*Corynebacterium spp.*	50 ± 0,9
2744	*Streptococcus agalactiae*	48 ± 0,8
2355	*Streptococcus agalactiae*	45 ± 0,1
2355	*Corynebacterium spp.*	40 ± 0,3
3800	*Staphylococcus aureus*	40 ± 0,3
3800	*Staphylococcus spp.*	40 ± 0,3
3404	*Staphylococcus aureus*	42 ± 0,7
3404	*Corynebacterium spp.*	36 ± 0,3
3995	*Streptococcus agalactiae*	37 ± 0,4
3309	*Corynebacterium spp.*	40 ± 0,3

Таблица 2 – Сравнительная эффективность комплексных антибиотиков МАСТИБЛОК® DC 49, МАСТИКАН-П, МАСТИГАРД при клинически выраженном мастите коров (группа №1)

№№ коров	Штаммы бактерий	МАСТИБЛОК® (Клоксациллин, Амоксициллин)	МАСТИКАН-П (Канамицин, Бензилпенициллин)	МАСТИГАРД (Левофлоксацин, Нозигептид)
		Зона ингибирования роста бактерий, в мм		
3996	*Staphylococcus aureus*	42 ± 0,3	40 ± 0,2	45 ± 0,3
1070	*Staphylococcus aureus*	47 ± 0,2	45 ± 0,2	50 ± 0,3
3800	*Staphylococcus aureus*	40 ± 0,1	37 ± 0,2	56 ± 0,2
3404	*Staphylococcus aureus*	42 ± 0,3	22 ± 0,1	48 ± 0,3
2355	*Corynebacterium spp.*	40 ± 0,2	38 ± 0,1	56 ± 0,1
870	*Corynebacterium spp.*	30 ± 0,1	24 ± 0,2	36 ± 0,2
2744	*Corynebacterium spp.*	50 ± 0,3	46 ± 0,4	58 ± 0,4
3404	*Corynebacterium spp.*	36 ± 0,2	26 ± 0,5	50 ± 0,3
2744	*Streptococcus agalactiae*	48 ± 0,2	34 ± 0,2	54 ± 0,1
2355	*Streptococcus agalactiae*	45 ± 0,1	44 ± 0,3	48 ± 0,2
4643	*Streptococcus agalactiae*	42 ± 0,5	28 ± 0,2	52 ± 0,4
3996	*Streptococcus agalactiae*	37 ± 0,1	34 ± 0,1	42 ± 0,2
3101	*Streptococcus agalactiae*	46 ± 0,2	37 ± 0,3	56 ± 0,4
2530	*Bacillus spp*. (β-гемолитический)	39 ± 0,4	35 ± 0,2	48 ± 0,3
2530	Грамотрицательные палочковидные бактерии	14 ± 0,2	19 ± 0,1	46 ± 0,4

Зоны ингибирования антибиотиками бактерий Streptococcus agalactiae, выделенных от коров с клиническими признаками и субклинической формой мастита (рисунки 1 и 2), существенно не отличаются: МАСТИБЛОК® DC 49 – соответственно 37-48 мм и 27-41 мм, МАСТИКАН-П – 28-44 и 25-39 мм, МАСТИГАРД – 42-56 и 38-53 мм.

Три штамма бактерий (рисунок 1, точка 4 и рисунок 2, точки 3 и 4) характеризуются относительно низкой чувствительностью ко всем антибиотикам. В большинстве случаев эффективность лекарственного препарата МАСТИКАН-П в отношении всех штаммов стрептококков ниже, чем МАСТИБЛОК® DC 49 и МАСТИГАРД.

При изучении эффективности антибиотиков в отношении *Staphylococcus aureus* выявлено пять изолятов, обладающих более низкой чувствительностью к компонентам антимикробного препарата МАСТИКАН-П (зона ингибирования роста от 22 до 35 мм), по сравнению со стандартным лабораторным штаммом (рисунки 3, 4).

В условиях *in vitro* различные штаммы бактерий - возбудителей мастита, выделенные от коров с субклинической и клинически выраженной формой заболевания, показывают аналогичные результаты по чувствительности к комплексным антибиотикам (рисунок 5).

Таблица 3 – Сравнительная эффективность комплексных антибиотиков МАСТИБЛОК® DC 49, МАСТИКАН-П, МАСТИГАРД при субклиническом мастите коров (группа №2)

№№ коров	Штаммы бактерий	МАСТИБЛОК® (Клоксациллин, Амоксициллин)	МАСТИКАН-П (Канамицин, Бензилпенициллин)	МАСТИГАРД (Левофлоксацин, Нозигептид)
		Зона ингибирования роста бактерий, в мм		
2855	*Streptococcus agalactiae*	36 ± 0,3	33 ± 0,2	38 ± 0,3
3543	*Streptococcus agalactiae*	37 ± 0,2	34 ± 0,3	53 ± 0,2
4624	*Streptococcus agalactiae*	27 ± 0,1	25 ± 0,1	40 ± 0,2
3110	*Streptococcus agalactiae*	41 ± 0,4	39 ± 0,3	45 ± 0,3
3995	*Staphylococcus aureus*	28 ± 0,1	25 ± 0,2	32 ± 0,3
4893	*Staphylococcus aureus*	45 ± 0,3	40 ± 0,4	48 ± 0,2
110	*Staphylococcus aureus*	43 ± 0,4	35 ± 0,3	50 ± 0,2
3110	*Staphylococcus aureus*	30 ± 0,3	30 ± 0,2	38 ± 0,1
3473	*Staphylococcus aureus*	40 ± 0,2	34 ± 0,1	50 ± 0,3
110	*Bacillus spp*. (β-гемолитический)	30 ± 0,1	27 ± 0,2	35 ± 0,2
1180	*Bacillus spp*. (β-гемолитический)	25 ± 0,1	23 ± 0,2	33 ± 0,1
3947	*Bacillus spp*. (β-гемолитический)	43 ± 0,2	41 ± 0,1	47 ± 0,3
4465	*Bacillus spp*. (β-гемолитический)	40 ± 0,2	40 ± 0,1	50 ± 0,1
3332	*Bacillus spp*. (β-гемолитический)	37 ± 0,2	34 ± 0,1	38 ± 0,2
697	*Corynebacterium spp*.	32 ± 0,1	30 ± 0,2	54 ± 0,3
3901	Грамотрицательные палочковидные бактерии	10 ± 0,1	14 ± 0,3	45 ± 0,1
3483	Грамотрицательные диплококки	17 ± 0,2	15 ± 0,1	55 ± 0,3
станд.	*Staphylococcus aureus*	47 ± 0,4	41 ± 0,2	50 ± 0,3
станд.	*Pseudomonas aeruginosa*	16 ± 0,2	16 ± 0,1	39 ± 0,2
станд.	*Escherichia coli*	11 ± 0,2	15 ± 0,1	43 ± 0,2

Примечание: «станд.» – чувствительность антибиотиков к стандартным лабораторным штаммам бактерий Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa, Escherichia coli.

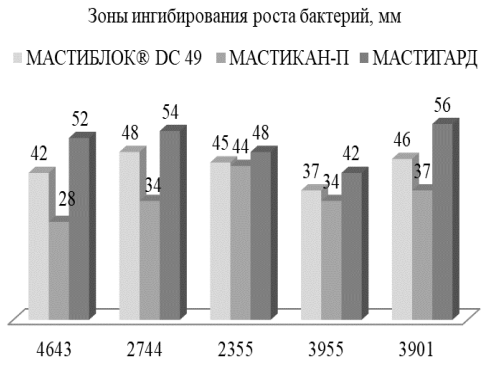


Рисунок 1 – Зоны ингибирования роста Streptococcus agalactiae антибиотиками у коров группы № 1.

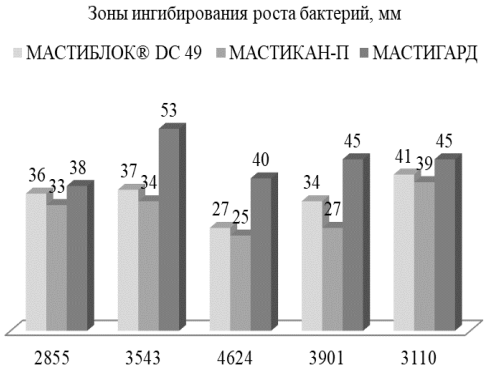


Рисунок 2 – Зоны ингибирования роста Streptococcus agalactiae антибиотиками у коров группы № 2.

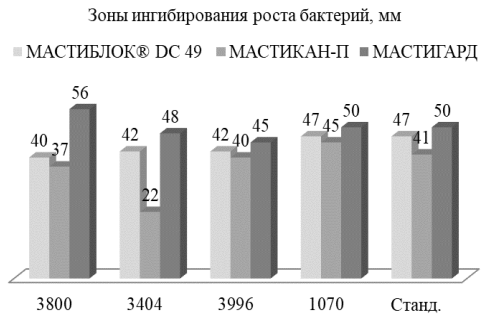


Рисунок 3 – Зоны ингибирования роста Staphylococcus aureus антибиотиками у коров группы № 1.

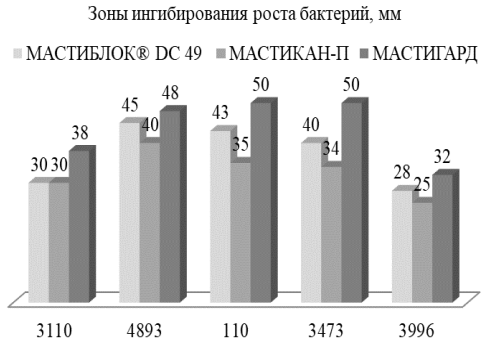


Рисунок 4 – Зоны ингибирования роста Staphylococcus aureus антибиотиками у коров группы № 2.

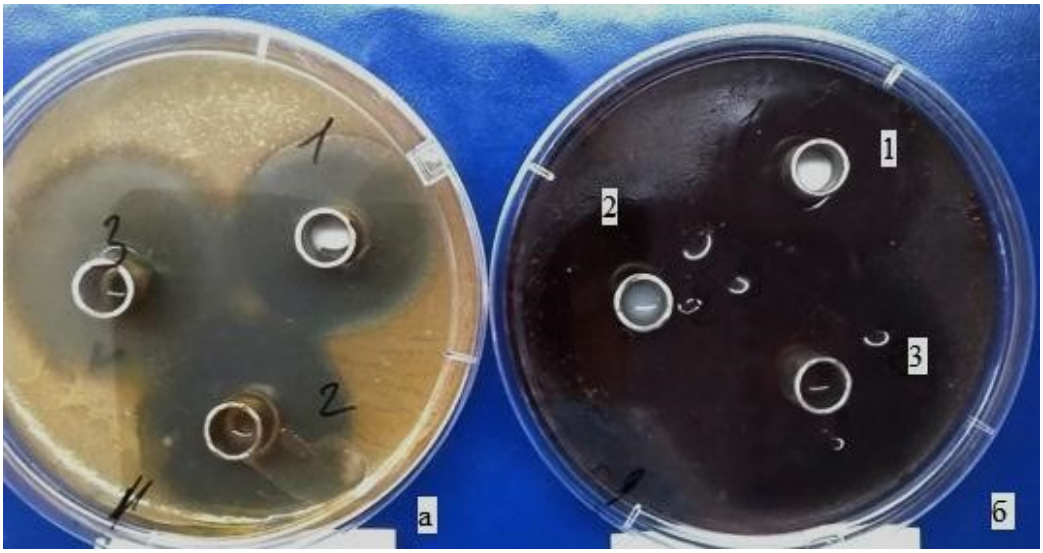


*Рисунок 5 – Чувствительность Bacillus spp. (β-гемолитический штамм), № 2530 (а) и Streptococcus agalactiae, № 4643 (б) к лекарственным препаратам: 1 – МАСТИБЛОК® DC **49**; 2 – МАСТИКАН-П; 3 – МАСТИГАРД.*

Максимальной эффективностью против стафилококков и стрептококков обладает лекарственный препарат МАСТИГАРД. Чувствительность грамположительных бактерий к комплексному антибиотику МАСТИБЛОК® DC 49 также высокая, что обусловлено эффективным воздействием препаратов пенициллинового ряда на пептидогликан, преобладающий в составе клеточной стенки микробов.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

На основании результатов исследований лекарственный препарат МАСТИБЛОК® DC 49 суспензия («АВЗ С-П»), в состав которого в качестве действующих веществ входят Клоксациллин и Амоксициллин, при однократном интрацистернальном введении по 5,4 г в каждую четверть вымени коровам в сухостойный период обладает выраженным антибактериальным действием. Максимальная эффективность комплексного антибиотика МАСТИБЛОК® DC 49 установлена при субклинической серозно-катаральной форме мастита.

Данные бактериологических исследований показывают, что применение лекарственного препарата МАСТИБЛОК® DC 49 позволяет купировать развитие преимущественно грамположительных бактерий, предупреждать стафилококковую и стрептококковую инфекции молочной железы – мастит.

При экспериментальном изучении *(in vitro)* чувствительности штаммов бактерий, выделенных из молока коров, к лекарственным препаратам МАСТИБЛОК® DC 49, МАСТИКАН-П и МАСТИГАРД выяснены оптимальные показатели эффективности.Полученные результаты позволяют рекомендовать использование комплексного антибиотика МАСТИБЛОК® DC 49 не только в сухостойный период, но и для купирования бактериальной инфекции молочной железы у коров при остром течении мастита на протяжении лактации при соблюдении соответствующих технологических параметров доения и переработки молока.

SENSITIVITY OF BACTERIA TO ANTIBIOTICS MASTI BLOCK® DC 49, MASTIC-P, MASTERCARD WITH MASTITIS OF DRY COWS

Engashev S.V.[1] – Professor, Doctor of Veterinary Sciences, Academician of the Russian Academy of Sciences, Professor of the Department of Parasitology and Veterinary and Sanitary Expertise (ORCID 0000-0002-7230-0374); **Novak M.D.**[2] – Professor, Doctor of Biology, Professor of the Department of Epidemiology (ORCID: 0000-0002-1421-0039); **Novak A.I.**[2]* – Associate Professor, Doctor of Biology, Professor of the Department of Microbiology (ORCID: 0000-0003-0345-7316); **Evdokimova O.V.**[2] – Associate Professor, Candidate of Medical Sciences, Head of the Department of Microbiology (ORCID: 0000-0002-5035-7302); **Engasheva E. S.**[3] – Doctor of Biology, Scientific sotr. lab. Pharmacology and Toxicology (ORCID: 0000-0002-4808-8799)

[1] Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology – MBA named after K.I. Scriabin

[2] Ryazan State Medical University named after Academician I.P. Pavlov

[3] Federal Scientific Center – All-Russian Scientific Research Institute of Experimental Veterinary named after K.I. Scriabin and Ya.R. Kovalenko of the Russian Academy of Sciences

*marieta69@mail.ru

ABSTRACT

In the etiology of mastitis, pathogenic bacteria *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Corynebacterium bovis* and a number of others are of paramount importance. Frequent unjustified use of antibacterial drugs without prior determination of effectiveness against microorganisms in a particular farm led to the formation of resistant isolates. The aim of the research was to study the sensitivity of bacterial strains isolated from cows with mastitis to the antibacterial drugs MASTIBLOCK® DC 49, MASTICAN-P and MASTIGARD. The research was carried out in a large dairy complex in the Central district of the Russian Federation. The experimental groups included cows with clinical signs (No. 1) and subclinical form (No. 2) of mastitis with positive results of studies using the KENOTEST reagent. Antibiotic sensitivity of bacterial isolates isolated from milk was determined by the cylinder method. In cows with a subclinical and clinically pronounced form of mastitis, *Staphylococcus aureus*, *Corynebacterium spp.*, *Streptococcus agalactiae*, *Bacillus spp.* (β-hemolytic isolates) were isolated during bacteriological examination. The maximum effectiveness of MASTIBLOCK® DC 49 has been established in the subclinical serous-catarrhal form of mastitis, mainly against Gram-positive bacteria. MASTIGARD has a wider range of antimicrobial effects, including on strains producing β-lactamase and inhibiting the action of penicillin antibiotics. The results obtained allow us to recommend the use of the complex antibiotic MASTIBLOCK® DC 49 not only during the dry season, but also during lactation to stop bacterial infection of the breast in cows, while observing the appropriate technology of milking and milk processing.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Семиволос, А. М. Рекомендации по диагностике, терапии и профилактики мастита у коров / А. М. Семиволос, В. С. Авдеенко, В. Г. Гавриш. – Саратов, 2009. – 71 с. Режим доступа: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=26269916

2. Петров, Р. В. Иммунология / Р. В. Петров. – Москва: Издательство «Медицина», 1987. – 414 с.

3. Погодаева, П. С. Некоторые аспекты локального иммунного ответа в тканях молочной железы / П. С. Погодаева, Л. Ю. Карпенко, В. С. Понамарев // Международный вестник ветеринарии. – 2020. – № 4. – С. 129-133. – DOI 10.17238/issn2072-2419.2020.4.129. Режим доступа: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=44402163

4. Симонов, Ю. И. Условия содержания как этиологический фактор возникновения болезней у молочных коров при промышленном содержании / Ю. И. Симонов, Л. Н., Симонова, И. В. Малявко // Зоотехния. – 2021. – № 4. – С. 23-27. – DOI 10.25708/ZT.2021.31.46.007. Режим доступа: https://www.elibrary.ru/item.asp?

id=46246405
5. Руденко, П. А. Микробный пейзаж при маститах у коров / П. А. Руденко, А. А. Руденко, Ю. А. Ватников // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. – 2020. – № 2 (50). – С. 172-179. – DOI 10.18286/1816-4501-2020-2-172-179. Режим доступа: https://cyberleninka.ru/article/n/mikrobnyy-peyzazh-pri-mastitah-u-korov
6. Манжурина, О. А. Мониторинг чувствительности золотистого стафилококка, изолированного из молока больных маститом коров / О. А. Манжурина, А. М. Скогорева, Ю. С. Пархоменко // Ветеринарно-санитарные аспекты качества и безопасности сельскохозяйственной продукции: Материалы II-й международной конференции по ветеринарно-санитарной экспертизе. Воронежский ГАУ. – Воронеж, 2017. – С. 179-183. Режим доступа: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=34987780
7. Рыщанова, Р. М. Устойчивость к антибиотикам и способность к образованию биопленок золотистого стафилококка, выделенного из молока коров Костанайской области РК / Р. М. Рыщанова, А. М. Мендыбаева, Г. Б. Муканов // Инновации и продовольственная безопасность. – 2021. – № 3 (33). – С. 29-39. – DOI 10.31677/2072-6724-2021-33-3-29-39. Режим доступа: https://www.elibrary.ru/item.asp?edn=bprfpp
8. Скогорева, А. М. Антибиотикочувствительность возбудителей мастита в скотоводческом хозяйстве Воронежской области / А. М. Скогорева, О. А. Манжурина, О. В. Попова // Актуальные вопросы ветеринарной медицины и технологии животноводства: Материалы научной и учебно-методической конференции. Воронежский государственный аграрный университет им. Императора Петра. – Воронеж, 2019. – № 8. – С. 205-206. Режим доступа: https://www.elibrary.ru/tfkyvv
9. Фирсов, Г. М. Мастит у молодых стельных коров и телок и антибиотикорезистентность его возбудителей / Г. М. Фирсов, А. А. Ряднов, Т. А. Ряднова, Ю. Г. Фирсова // Научное обоснование стратегии цифрового развития АПК и сельских территорий: материалы Национальной научно-практической конференции. Волгоградский ГАУ. – Волгоград, 2023. – С. 331-336. Режим доступа: https://www.elibrary.ru/item.asp?edn=dlklkp
10. Kalsoom, F. A model of antibiotic resistance against various Staphylococcus aureus isolates from raw milk samples / F. Kalsoom, N. H. S. Syed, J. Farzana // J. Res. Sci. – 2004. – V. 15. – P. 145-151.
11. Семина, Л. К. Чувствительность микрофлоры вымени больных маститом коров к комплексным антимикробным препаратам с преднизолоном и без него / Л. К. Семина, З. А. Скулябина, С. В. Тимошина, Н. Н. Авдуевская // Ветеринария Кубани. – 2019. – № 2. – С. 8-10. – DOI 10.33861/2071-8020-2019-2-8-10 Режим доступа: http://vetkuban.com/num2_201903.html
12. Чердакова, В. О. Маститы у коров: оптимизация схем лечения животных в направлении снижения уровня антибиотикорезистентности у вызывающей их микрофлоры / В. О. Чердакова, А. С. Димова // Вопросы ветеринарной науки и практики: Сборник трудов научно-практической конференции. Новосибирский ГАУ. Новосибирск, 2022: 104-106. Режим доступа: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=48548967&pff=1

REFERENCES

1. Semivolos, A. M. Recommendations for the diagnosis, therapy and prevention of mastitis in cows / A. M. Semivolos, V. S. Avdeenko, V. G. Gavrish. – Saratov, 2009: 71. URL: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=26269916 (In Russ.)
2. Petrov, R. V. Immunology / R. V. Petrov. – Moscow: Publishing house "Medicine", 1987: 414. (In Russ.)
3. Pogodaeva, P. S. Some aspects of the local immune response in breast tissues / P. S. Pogodaeva, L. Y. Karpenko, V. S. Ponamarev // International Bulletin of Veterinary Medicine. 2020:4:129-133. – DOI 10.17238/issn2072-2419.2020.4.129. URL: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=44402163 (In Russ.)

4. Simonov, Yu. I. Conditions of maintenance as an etiological factor of the occurrence of diseases in dairy cows with industrial maintenance / Yu. I. Simonov, L. N., Simonova, I. V. Malyavko // Zootechnia. 2021:4:23-27. – DOI 10.25708/ZT.2021.31.46.007. URL: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=46246405 (In Russ.)
5. Rudenko, P. A. Microbial landscape with mastitis in cows / P. A. Rudenko, A. A. Rudenko, Yu. A. Vatnikov // Bulletin of the Ulyanovsk State Agricultural Academy. 2020:2(50):172-179. – DOI 10.18286/1816-4501-2020-2-172-179. URL: https://cyberleninka.ru/article/n/mikrobnyy-peyzazh-pri-mastitah-u-korov (In Russ.)
6. Manzhurina, O. A. Monitoring of sensitivity of staphylococcus aureus isolated from milk of cows with mastitis / O. A. Manzhurina, A.M. Skogoreva, Y. S. Parkhomenko // Veterinary and sanitary aspects of quality and safety of agricultural products: Proceedings of the II-th International Conference on Veterinary and sanitary expertise. Voronezh State University. Voronezh, 2017:179-183. URL: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=34987780 (In Russ.)
7. Ryshchanova, R. M. Antibiotic resistance and the ability to form biofilms of staphylococcus aureus isolated from cow milk of the Kostanay region of the Republic of Kazakhstan / R. M. Ryshchanova, A.M. Mendybaeva, G. B. Mukanov // Innovations and food security. 2021:3(33):29-39. – DOI 10.31677/2072-6724-2021-33-3-29-39.
URL: https://www.elibrary.ru/item.asp?edn=bprfpp (In Russ.)
8. Skogoreva, A.M. Antibiotic sensitivity of mastitis pathogens in cattle breeding in the Voronezh region / A.M. Skogoreva, O. A. Manzhurina, O. V. Popova // Topical issues of veterinary medicine and animal husbandry technology: Materials of the scientific and educational-methodical conference. Voronezh State Agrarian University named after Emperor Peter. Voronezh, 2019:8:205-206. URL: https://www.elibrary.ru/tfkyvv (In Russ.)
9. Firsov, G. M. Mastitis in young pregnant cows and heifers and antibiotic resistance of its pathogens / G. M. Firsov, A. A. Ryadnov, T. A. Ryadnova, Yu. G. Firsova // Scientific substantiation of the strategy of digital development of agriculture and rural territories: materials of the National scientific and practical conference. Volgograd State University. Volgograd, 2023:331-336. URL: https://www.elibrary.ru/item.asp?edn=dlklkp (In Russ.)
10. Kalsoom, F. A model of antibiotic resistance against various Staphylococcus aureus isolates from raw milk samples / F. Kalsoom, N. H. S. Syed, J. Farzana // J. Res. Sci. 2004:15:145-151.
11. Semina, L. K. Sensitivity of the udder microflora of cows with mastitis to complex antimicrobial drugs with and without prednisone / L. K. Semina, Z. A. Skulyabina, S. V. Timoshina, N. N. Avduevskaya // Veterinary medicine of Kuban. 2019:2:8-10. – DOI 10.33861/2071-8020-2019-2-8-10 URL: http://vetkuban.com/num2_201903.html (In Russ.)
12. Cherdakova, V. O. Mastitis in cows: optimization of animal treatment regimens in the direction of reducing the level of antibiotic resistance in the microflora causing them / V. O. Cherdakova, A. S. Dimova // Issues of veterinary science and practice: Proceedings of the scientific and practical conference. Novosibirsk State University. Novosibirsk, 2022:104-106. URL: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=48548967&pff=1 (In Russ.)

УДК: 619: 577.118: 636.5.03
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.4.172

ВЛИЯНИЕ ПРЕПАРАТОВ БИОФЕРРОН И БИОЦИНК НА СОСТАВ НЕЗАМЕНИМЫХ АМИНОКИСЛОТ В МЯСНОМ СЫРЬЕ ПЕРЕПЕЛОВ

Лазарева М.В.[1]– канд. ветеринар. наук, доц., зав. каф. анатомии и физиологии; **Шкиль Н.А.** [2] – д-р ветеринар. наук, проф., гл. науч. сотр.

[1]ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный аграрный университет»
[2]Сибирский федеральный научный центр агробиотехнологий РАН

*Lazareva7@mail.ru

***Ключевые слова**: сельское хозяйство, перепел, хелатные соединения, аминокислота, Биоферрон, Биоцинк.*
***Keywords**: agriculture, quail, chelate compounds, amino acid, Bioferron, Biocinc.*

Поступила: 10.10.2024 **Принята к публикации: 02.12.2024**
Опубликована онлайн:16.12.2024

РЕФЕРАТ

Обосновано положительное влияние хелатных соединений микроэлементов в составе препаратов Биоферрон и Биоцинк на состав незаменимых кислот в мясном сырье перепелов. В опыте были использованы перепела японской породы, яично-мясного направления в количестве 280 голов. Наибольший уровень незаменимых аминокислот в мясном сырье отмечали у перепелов 37-суточного возраста. Наибольший уровень аргинина отмечен в шестой опытной группе (Биоцинк 0,3 мл/кг) – 5,25±0,27% (p≤0,01), что на 0,92% выше, чем в контрольной группе. Наибольший уровень валина отмечен в группе, в рацион которых включили Биоферрон в дозе 0,2 мл/кг, он составил 3,30±0,19% (p≤0,01), что на 0,79% выше, чем в контрольной группе. Уровень гистидина превышал контрольную на 0,25-0,40% (p≤0,05). Наибольший уровень среди всех аминокислот в мясном сырье перепелов имеют лейцин и изолейцин. В мясном сырье перепелов 37-дневного возраста среди опытных групп, получавших Биоферрон, наибольший уровень лейцина и изолейцина отмечали при дозе 0,2 мл/кг – 13,17±0,49% (p≤0,001), что на 3,86% больше чем в контрольной. Среди опытных групп, получавших Биоцинк, наибольший уровень лейцина и изолейцина отмечали при дозе 0,2 мл/кг – 12,45±0,54% (p≤0,01), что на 3,14% больше чем в контрольной. Содержание метионина в мясном сырье 37-дневных перепелов, в рационе которых присутствовал Биоферрон в дозах 0,1, 0,2 и 0,3 мл/кг, составило 1,57±0,10, 1,75±0,11 и1,74±0,11% при p≤0,01, что на 0,28, 0,46 и 0,45% выше контроля соответственно. В группах перепелов, получавших препарат Биоцинк в дозах 0,1, 0,2 и 0,3 мл/кг, уровень метионина составил 1,47±0,07, 1,70±0,11 (p≤0,01) и 1,69±0,12 (p≤0,05), что на 0,18, 0,41 и 0,40% выше контроля соответственно. В группах с включением препарата Биоферрон в дозах 0,1, 02 и 0,3 мл/кг уровень триптофана был выше на 0,21, 0,67 (p≤0,05) и 0,65% (p≤0,01) соответственно. В группах с включением препарата Биоцинк в дозах 0,1, 02 и 0,3 мл/кг уровень триптофана был выше на 0,16, 0,66 (p≤0,05) и 0,64% (p≤0,01) соответственно. Наибольший уровень фенилаланина отмечен во второй опытной группе (Биоферрон 0,2 мл/кг) – 3,87±0,25% (p≤0,01), что на 1,13% выше, чем в контрольной группе.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

В России сельское хозяйство считается основным видом деятельности, направленное на выращивание, переработку и производство продукции, особенно в отдаленных районах с суровыми климатическими условиями. Одним из таких районов является Сибирский регион, который территориально расположен таким образом, что климатические условия и природные факторы ограничивают производство отдельных видов сельскохозяйственных культур, но благоприятно способствуют развитию отраслей животноводства [1].

Стабильными темпами развивается в Сибири отрасль птицеводства. В 2018 г. в Сибири было произведено 541,8 тыс. т мяса птицы против 531,8 тыс. т в 2017 г. Однако темпы роста мясного птицеводства в среднем по России оказались выше. В 2018 г. в Сибири было произведено 7823,1 млн. шт. яиц, это на 115,6 млн. шт. меньше уровня 2017 г. Л.У. Войцеховская с соавт. (2022 г.) отметили, что мясное сырье индеек и перепелов сбалансировано по аминокислотному и жирнокислотному составу, богато полноценным и легкодоступным белком, что позволяет использовать его в составе функциональных продуктов [2].

Производство перепелов является популярной отраслью в птицеводстве, оно вносит разнообразие в мясо птицы [3, 4]. Перепел имеет некоторые преимущества относительно других видов птицы, а именно: быстрый рост, высокая производительность, раннее начало кладки, высокие показатели размножения, низкое потребление корма, низкие инвестиции, и устойчивость к болезням [5, 6].

В настоящее время для повышения продуктивности и сохранности птицы предлагается большое количество биологически активных добавок (пробиотиков, пребиотиков, синбиотиков, фитобиотиков, антиоксидантов и др.) [7, 8, 9, 10, 11, 12]. Аминокислоты и их количество в белках мяса птицы определяют его биологическую ценность. Содержание незаменимых аминокислот зависит от наличия их в рационе птицы, так как организм птицы не способен синтезировать эти элементы. Количество и соотношение аминокислот является важнейшим фактором, определяющим качество белка. Для синтеза белка все аминокислоты должны присутствовать одновременно в необходимых количествах и правильных пропорциях. Дефицит любой из незаменимых аминокислот ограничивает синтез белка [13, 14]. Незаменимые аминокислоты, такие как: лизин, лейцин, изолейцин, валин, метионин, триптофан и др. участвуют в синтезе тканевых белков и выполняют ряд специальных функций в организме человека, животных и птицы. Этим объясняется их высокая биологическая значимость. Полноценность мышечных белков в мясе птицы – белково-качественный показатель (БКП) на практике определяется соотношением таких аминокислот, как триптофан (из группы незаменимых) и оксипролин (из группы заменимых) [15]. В связи с этим возникает интерес воздействия на продуктивность и качество продукции перепелов хелатных соединений биоэлементов. Цель исследований – изучить влияние препаратов Биоферрон и Биоцинк на состав незаменимых аминокислот в мясном сырье перепелов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Работа выполнена в 2020-2024 гг. на кафедре анатомии и физиологии института ветеринарной медицины и биотехнологии ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный аграрный университет». Отдельные исследования проводили на базе СФНЦА РАН. В опыте использовали перепелов японской породы, яично-мясного направления в количестве 280 голов. Было сформировано 7 групп по 40 перепелов в каждой, суточного возраста. Перепелов контрольной группы кормили основным рационом (ОР), разработанным сотрудниками СФНЦА РАН, включающим зерновые и бобовые культуры. В 1-й, 2-й и 3-й опытных группах к основному рациону добавляли препарат Биоферрон в дозах 0,1, 0,2 и 0,3 мл/кг массы тела 1 раз в сут-

ки в течение 21 дня, повторный курс через 45 дней. В 4-й, 5-й и 6-й опытных группах к основному рациону добавляли препарат Биоцинк в дозах 0,1, 0,2 и 0,3 мл/кг массы тела 1 раз в сутки в течение 21 дня, повторный курс через 45 дней. Выведение животных из эксперимента провели в 37-суточном и 98-суточном возрасте [14]. Препараты Биоферрон и Биоцинк представляют собой водный раствор биологически активных веществ (не менее 5%), в состав которых входит органическое железо и органический цинк в форме хелатов и карбоксилатов (1000 мг/л), являющиеся естественным биосовместимым стимулятором гемопоэза. Лабораторные исследования образцов мясного сырья проводили в лаборатории биохимии СФНЦА РАН. Для определения аминокислотного состава использовали хроматографический метод, основанный на кислотном гидролизе белка до его полного распада на составляющие аминокислоты с последующим хроматографическим анализом смеси на автоматическом жидкостном аминокислотном анализаторе для выявления состава и определения массовой доли индивидуальных аминокислот (М 04-87-2016). Статистическую обработку полученных данных проводили при помощи программных пакетов Excel MS Office-2016 и Past 4.03 (SPSS 22.0). Полученные выборки проверяли на нормальность распределения с помощью критерия Шапиро-Уилка. В случае нормального распределения признака данные представляли в виде M±Sd (где M — среднее значение, Sd — стандартное отклонение); сравнения производили с использованием t-критерия Стьюдента для непарных выборок. В случае ненормального распределения выборки использовали U-критерий Манна–Уитни с поправкой Бонферрони. Статистически значимыми считали различия при $p \leq 0,05$ (А.Н. Наркевич с соавт., 2020).

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

По нашим данным, белок мышечной ткани перепелов испытуемых групп содержал все незаменимые аминокислоты, что характеризует мясо перепелов как биологически полноценный продукт.

Нашими исследованиями установлено, что на содержание аминокислот в мышцах перепелов влияют различные дозы скармливания хелатных соединений железа и цинка (табл. 1). Отмечено, что перепела, в рационах которых присутствовали препараты Биоферрон и Биоцинк, имели более высокое содержание аргинина в мясе в 37 суточном возрасте. Наибольший уровень аргинина отмечен в шестой опытной группе (Биоцинк 0,3 мл/кг) – 5,25±0,27% ($p \leq 0,01$), что на 0,92% выше, чем в контрольной группе. Наименьший уровень аргинина в мясе перепелов среди опытных групп отмечен в первой опытной группе (Биоферрон 0,1 мл/кг) – 4,35±0,27%, что на 0,02% выше, чем в контрольной группе (рис. 1). В возрасте 98 дней уровень аргинина в мясе перепелов понижается, что объясняется тем, что с возрастом утрачивается способность к синтезу его организмом, но при этом уровень его остается высоким в опытных группах по сравнению с контрольной. В контрольной группе уровень аргинина составил 3,77±0,13%. Наибольший уровень аргинина отмечен в группах, в рацион которых включили Биоцинк в дозах 0,2 и 0,3 мл/кг, он составил 4,55±0,33 и 4,56±0,24% ($p \leq 0,01$), что на 0,78 и 0,79% выше соответственно, чем в контрольной группе. Наименьший уровень аргинина в мясе перепелов среди опытных групп отмечен в первой опытной группе (Биоферрон 0,1 мл/кг) – 3,78±0,24%, что на 0,01% выше, чем в контрольной группе. Аргинин оказывает благотворное влияние на сосудистый эндотелий, профилактируя сосудистые заболевания, обеспечивает интенсивный синтез белков (при наличии других аминокислот), имеющий место во время роста молодого организма.

Содержание валина в белке перепелов 37-дневного возраста контрольной группы составило 2,88±0,22%. У перепелов опытных групп его содержание находилось в пределах 3,27-3,79%. В 98-дневном возрасте отмечается снижение уровня валина по сравнению с 37-дневным возрастом, что закономерно.

Таблица 1 – Аминокислотный состав мяса перепелов (незаменимые аминокислоты), %

Показатели	Возраст, сутки	Группа						
		контрольная (ОР)	1 опытная, (ОР + Биоферрон 0,1 мл/кг)	2 опытная, (ОР + Биоферрон 0,2 мл/кг)	3 опытная, (ОР + Биоферрон 0,3 мл/кг)	4 опытная, (ОР + Биоцинк 0,1 мл/кг)	5 опытная, (ОР + Биоцинк 0,2 мл/кг)	6 опытная, (ОР + Биоцинк 0,3 мл/кг)
Аргинин	37	4,33±0,15	4,35±0,27	5,23±0,33*	5,21±0,29*	4,58±0,23	5,23±0,38	5,25±0,27**
	98	3,77±0,13	3,78±0,24	4,54±0,28*	4,53±0,25*	3,98±0,20	4,55±0,33	4,56±0,24**
Валин	37	2,88±0,22	3,31±0,15	3,79±0,22**	3,65±0,23*	3,27±0,23	3,63±0,18*	3,61±0,17*
	98	2,51±0,18	2,89±0,13	3,30±0,19**	3,18±0,19*	2,86±0,20	3,17±0,16*	3,15±0,14*
Гистидин	37	1,43±0,11	1,68±0,10	1,83±0,10*	1,81±0,07*	1,66±0,14	1,78±0,10*	1,76±0,09*
	98	1,25±0,09	1,46±0,09	1,60±0,09*	1,58±0,06*	1,44±0,12	1,56±0,09*	1,53±0,08*
Лейцин + изолейцин	37	9,31±0,41	11,01±0,41*	13,17±0,49***	13,04±0,39***	10,98±0,50*	12,45±0,54**	12,33±0,42***
	98	7,01±0,24	8,32±0,32**	9,95±0,38***	9,83±0,26***	8,28±0,35**	9,37±0,34***	9,29±0,29***
Лизин	37	5,29±0,35	5,57±0,33	6,69±0,32*	6,69±0,19**	5,54±0,35	6,55±0,39*	6,42±0,27*
	98	4,59±0,29	4,84±0,28	5,82±0,28**	5,81±0,18**	4,81±0,29	5,68±0,32*	5,58±0,24*
Метионин	37	1,29±0,11	1,57±0,10*	1,75±0,11**	1,74±0,11**	1,47±0,07	1,70±0,11**	1,69±0,12*
	98	1,12±0,09	1,36±0,09*	1,52±0,09**	1,51±0,09**	1,28±0,06*	1,48±0,09**	1,47±0,10*
Треонин	37	2,56±0,13	3,11±0,18*	3,42±0,14***	3,39±0,17**	3,00±0,19	3,41±0,14**	3,38±0,17**
	98	1,93±0,09	2,35±0,13*	2,58±0,08***	2,56±0,12**	2,27±0,15	2,57±0,10**	2,55±0,12**
Триптофан	37	0,89±0,09	1,10±0,14	1,56±0,20*	1,54±0,15**	1,05±0,08	1,55±0,19*	1,53±0,12**
	98	0,77±0,08	0,95±0,12	1,35±0,17*	1,33±0,12**	0,91±0,07	1,34±0,16*	1,33±0,10**
Фенилаланин	37	2,74±0,21	3,10±0,21	3,87±0,25**	3,86±0,36	3,25±0,21	3,83±0,15**	3,84±0,31*
	98	2,39±0,20	2,70±0,18	3,36±0,22**	3,35±0,31*	2,82±0,18	3,32±0,13**	3,33±0,26*
Сумма незаменимых аминокислот	37	30,72	34,80	41,32	40,93	34,80	40,12	39,81
	98	25,33	28,65	34,03	33,70	28,66	33,04	32,81

*Примечание: * - $p \leq 0,05$; ** - $p \leq 0,01$; *** - $p \leq 0,001$ относительно контрольной группы*
ОР – основной рацион, сбалансированный по нормам ВНИИТИП (2003).

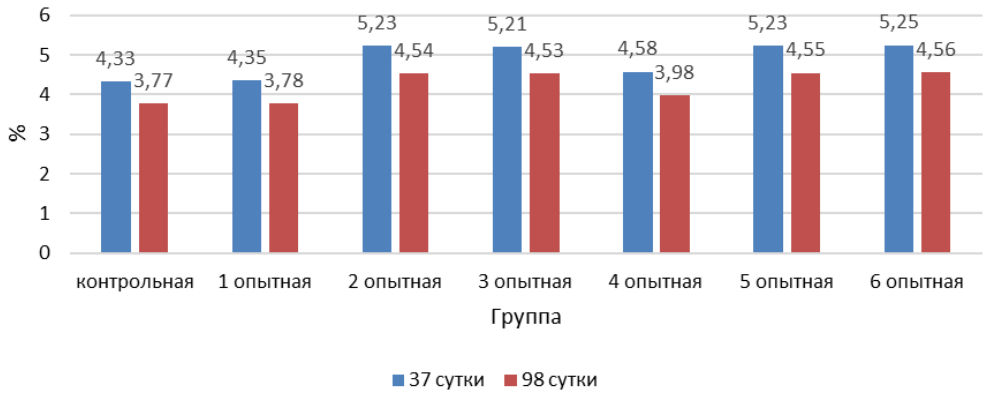


Рисунок 1 – Содержание аргинина в мясном сырье перепелов.

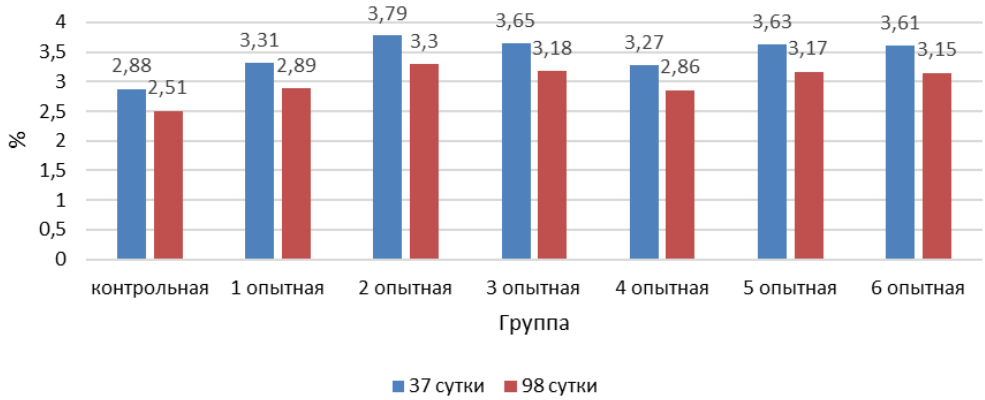


Рисунок 2 – Содержание валина в мясном сырье перепелов.

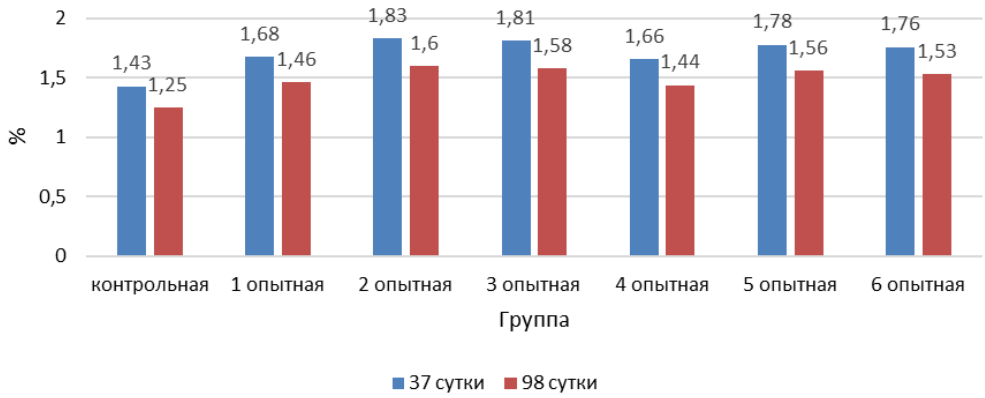


Рисунок 3 – Содержание гистидина в мясном сырье перепелов.

Но сохраняется разница по накоплению его у перепелов опытных групп и контрольной. Наибольший уровень валина отмечен в группе, в рацион которых включили Биоферрон в дозе 0,2 мл/кг, он составил 3,30±0,19% (p≤0,01), что на 0,79% выше, чем в контрольной группе. Наименьший уровень валина в мясе перепелов среди опытных групп отмечен в четвертой опытной группе (Биоцинк 0,1 мл/кг) – 2,86±0,20%, что на 0,35% выше, чем в контрольной группе. Уровень гистидина в мясном сырье перепелов контрольной группы 37-дневного возраста составил 1,43±0,11%. У перепелов опытных групп, в рацион которых был включен препарат Биоферрон, уровень гистидина превышал контрольную на 0,25-0,40% (p≤0,05). У перепелов опытных групп, в рацион которых был включен препарат Биоцинк, уровень гистидина превышал контрольную на 0,23-0,35% (p≤0,05) (рис. 3). Уровень гистидина в мясном сырье перепелов контрольной группы 98-дневного возраста составил 1,25±0,09%. У перепелов опытных групп сохраняется преобладание уровня данной аминокислоты по сравнению с контролем. Наибольший уровень гистидина отмечен в группе, в рацион которых включили Биоферрон в дозе 0,2 мл/кг, он составил 1,60±0,09% (p≤0,05), что на 0,35% выше, чем в контрольной группе. Наименьший уровень гистидина в мясе перепелов среди опытных групп отмечен в четвертой опытной группе (Биоцинк 0,1 мл/кг) – 1,44±0,12%, что на 0,19% выше, чем в контрольной группе. Наибольший уровень среди всех аминокислот в мясном сырье перепелов имеют лейцин + изолейцин. Они играют существенную роль в синтезе многих заменимых аминокислот и других органических соединений, необходимых для нормальной жизнедеятельности организмов. Включение в рацион перепелов хелатных соединений железа и цинка способствовало повышению уровня данных аминокислот в мясе (рис. 4). В мясном сырье перепелов 37-дневного возраста среди опытных групп, получавших Биоферрон, наибольший уровень отмечали при дозе 0,2 мл/кг – 13,17±0,49% (p≤0,001), что на 3,86% больше чем в контрольной. Среди опытных групп, получавших Биоцинк, наибольший уровень отмечали при дозе 0,2 мл/кг – 12,45±0,54% (p≤0,01), что на 3,14% больше чем в контрольной. При достижении перепелов 98-дневного возраста уровень лейцина и изолейцина в мясном сырье снизился, но при этом сохранилось превосходство их в группах перепелов, получавших препараты Биоферрон и Биоцинк. Наибольший уровень отмечали в группе, в рацион которых включили Биоферрон в дозе 0,2 мл/кг, он составил 9,95±0,38% (p≤0,001), что на 2,94% выше, чем в контрольной группе. Наименьший уровень лейцина и изолейцина в мясе перепелов среди опытных групп отмечен в четвертой опытной группе (Биоцинк 0,1 мл/кг) – 8,28±0,35% (p≤0,01), что на 1,27% выше, чем в контрольной группе.

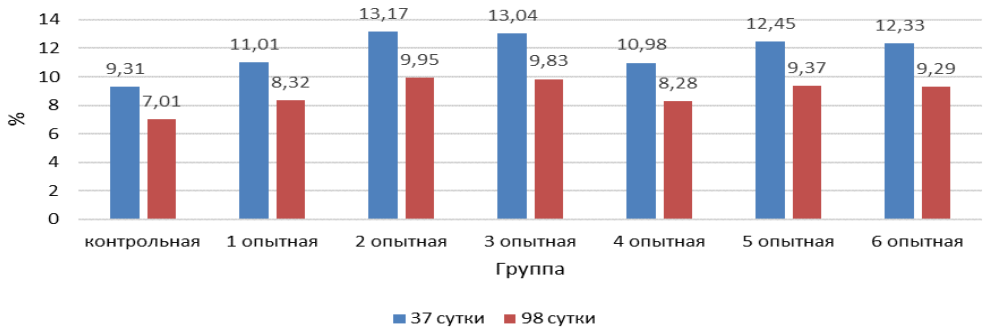


Рисунок 4 – Содержание лейцина и изолейцина в мясном сырье перепелов.

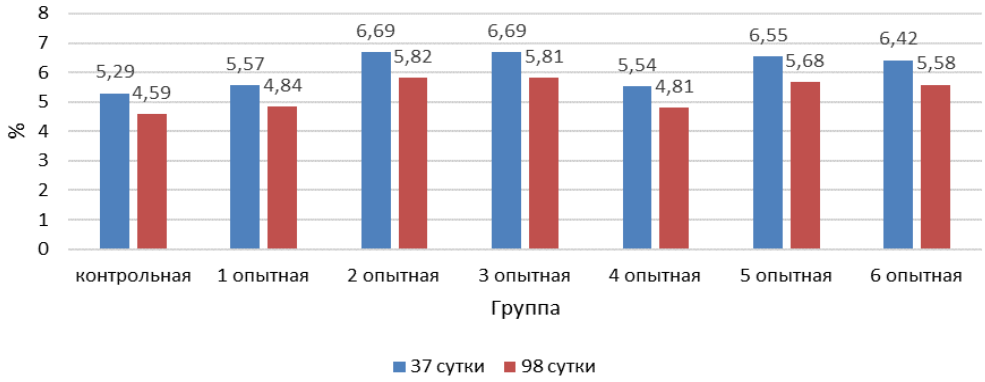


Рисунок 5 – Содержание лизина в мясном сырье перепелов

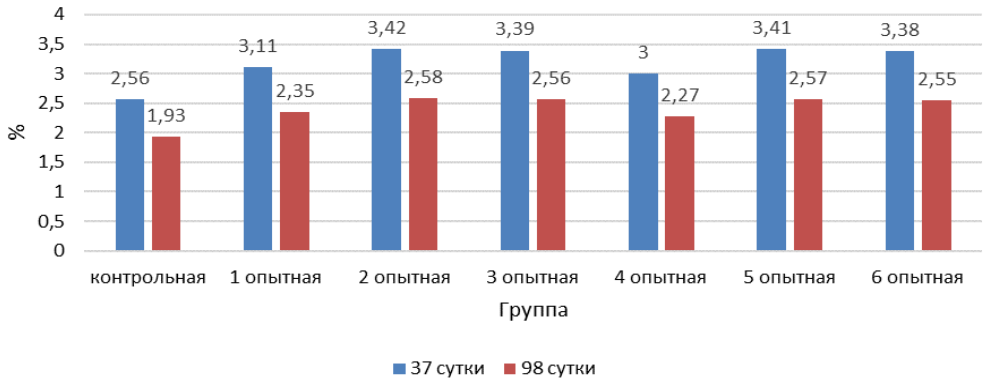


Рисунок 6 – Содержание треонина в мясном сырье перепелов.

Установлено, что птица, которая употребляла исследуемые препараты, имела более высокое содержание лизина в мясе в 37 суточном возрасте, чем в контрольном образце: в группах с включением препарата Биоферрон в дозах 0,1, 0,2 и 0,3 мл/кг уровень был выше на 0,28, 1,40 ($p \leq 0,05$) и 1,40% ($p \leq 0,01$) соответственно (рис. 5).

В группах с включением препарата Биоцинк в дозах 0,1, 0,2 и 0,3 мл/кг уровень был выше на 0,25, 1,26 ($p \leq 0,05$) и 1,13% ($p \leq 0,05$) соответственно. С достижением 98 суточного возраста перепелов уровень лизина в мясном сырье уменьшается. В контрольной группе уровень лизина составил 4,59±0,29%. Наибольший уровень лизина отмечен в группе, в рацион которых включили Биоферрон в дозе 0,2 мл/кг, он составил 5,82±0,28% ($p \leq 0,01$), что на 1,23% выше, чем в контрольной группе. Наименьший уровень лизина в мясе перепелов среди опытных групп отмечен в четвертой опытной группе (Биоцинк 0,1 мл/кг) – 4,81±0,29%, что на 0,22% выше, чем в контрольной группе. В организме лизин устраняет функциональные нарушения нервной системы, оказывает положительное влияние на калиевый обмен в тканях, синтез гемоглобина, ДНК и РНК, развитие эмбриона.

Содержание треонина на 37 сутки у перепелов опытных групп больше, чем в контрольной. На 98 сутки его количество уменьшилось. Это связано с тем, что треонин участвует в синтезе коллагена и эластина, в белковом и жировом обмене и препятствует отложению в ней жиров.

Таким образом, нами установлена зависимость между показателями сырого жира и уровнем треонина в мясном сырье. У перепелов контрольной группы 37-суточного возраста уровень сырого жира составил 1,34±0,28%, при этом уровень треонина был 2,56±0,13% (рис. 6).

На 98 сутки уровень сырого жира увеличился до 5,53±0,11%, а уровень треонина уменьшился до 1,93±0,09%. Среди опытных групп перепелов с наиболее значимыми результатами являлись вторая опытная (Биоферрон 0,2 мл/кг) и пятая опытная (Биоцинк 0,2 мл/кг) группы, в которых уровень сырого жира в возрасте 98 дней увеличился по отношению к 37-дневному до 4,72±0,20 ($p \leq 0,01$) и 4,53±0,22% ($p \leq 0,001$), а уровень треонина уменьшился до 1,35±0,17 ($p \leq 0,05$) и 1,34±0,16% ($p \leq 0,05$). Такие же показатели и свойства имеет аминокислота метионин.

Метионин регулирует жировой и белковый обмен, участвует в синтезе гормонов, витамина В12, фолиевой кислоты и др. При недостатке наблюдается ожирение печени, нарушение функции почек, ухудшение оплодотворяемости, снижение скорости роста молодняка. По количеству метионина опытные группы превосходили контрольную. Содержание метионина в мясном сырье 37-дневных перепелов, в рационе которых присутствовал Биоферрон в дозах 0,1, 0,2 и 0,3 мл/кг, составило 1,57±0,10, 1,75±0,11 и1,74±0,11% при $p \leq 0,01$, что на 0,28, 0,46 и 0,45% выше контроля соответственно (рис. 7). В группах перепелов, получавших препарат Биоцинк в дозах 0,1, 0,2 и 0,3 мл/кг, уровень метионина составил 1,47±0,07, 1,70±0,11 ($p \leq 0,01$) и 1,69±0,12 ($p \leq 0,05$), что на 0,18, 0,41 и 0,40% выше контроля соответственно.

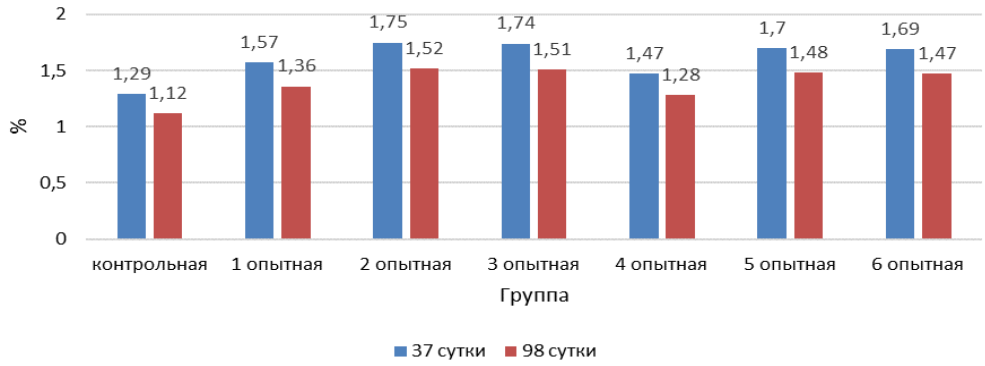


Рисунок 7 – Содержание метионина в мясном сырье перепелов.

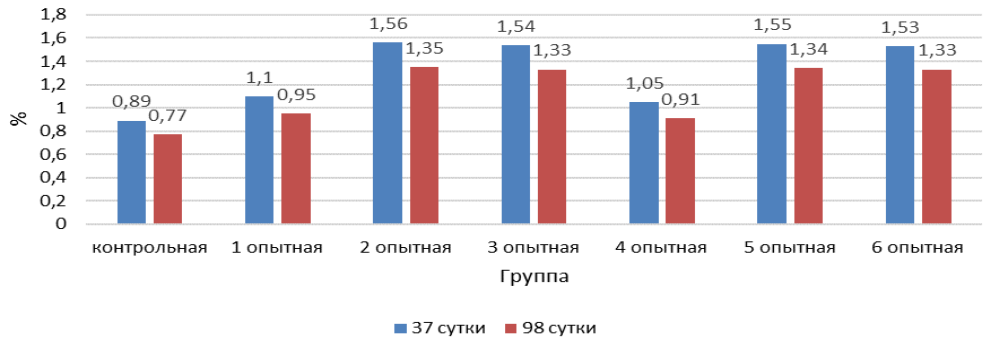


Рисунок 8 – Содержание триптофана в мясном сырье перепелов.

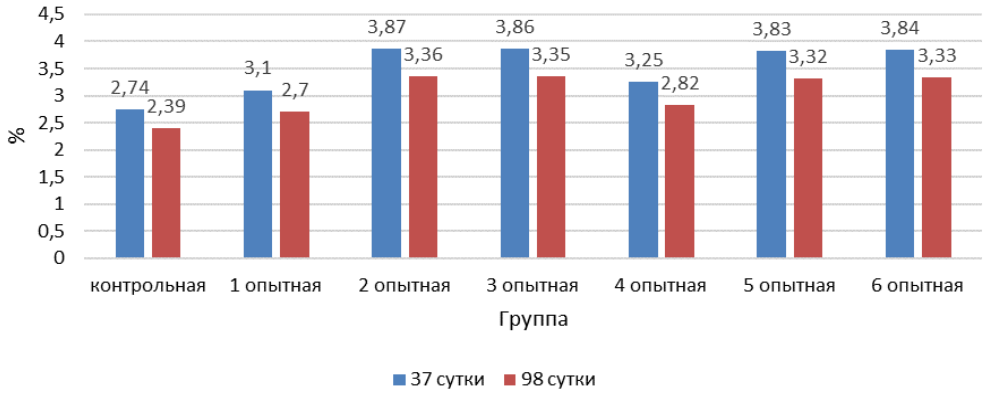


Рисунок 9 – Содержание фенилаланина в мясном сырье перепелов.

При достижении перепелов 98-дневного возраста уровень метионина в мясном сырье снизился, но при этом сохранилось превосходство их в группах перепелов, получавших препараты Биоферрон и Биоцинк. Содержание метионина в мясном сырье 98-дневных перепелов, в рационе которых присутствовал Биоферрон, составило 1,36±0,09-1,52±0,09% при p≤0,01, в рационах которых присутствовал Биоцинк – 1,28±0,06-1,48±0,09% при p≤0,01.

В основе критерия оценки биологической полноценности мяса лежит содержание и соотношение отдельных аминокислот, а именно триптофана. Триптофан играет важную роль в синтезе тканевых белков, в процессах обмена веществ и роста, участвует в образовании гемоглобина, сывороточных белков, никотиновой кислоты. В наших исследованиях было установлено, что содержание триптофана в мясном сырье 37-суточных перепелов контрольной группы составило 0,89±0,09%. Содержание триптофана у перепелов опытных групп было более высокое, чем у перепелов контрольной группы (рис. 8). В группах с включением препарата Биоферрон в дозах 0,1, 02 и 0,3 мл/кг уровень был выше на 0,21, 0,67 (p≤0,05) и 0,65% (p≤0,01) соответственно.

В группах с включением препарата Биоцинк в дозах 0,1, 02 и 0,3 мл/кг уровень был выше на 0,16, 0,66 (p≤0,05) и 0,64% (p≤0,01) соответственно. С достижением 98 суточного возраста перепелов уровень триптофана в мясном сырье уменьшается. В контрольной группе уровень триптофана составил 0,77±0,08%. Наибольший уровень триптофана отмечен в группах, в рацион которых включили Биоферрон и Биоцинк в дозах 0,2 мл/кг, он составил 1,35±0,17 (p≤0,05) 1,34±0,16% (p≤0,05), что на 0,58 и 0,57% выше, чем в контрольной группе. Наименьший уровень триптофана в мясе перепелов среди опытных групп отмечен в четвертой опытной группе (Биоцинк 0,1 мл/кг) – 0,91±0,07%, что на 0,14% выше, чем в контрольной группе.

Фенилаланин в организме превращается в тирозин, который используется в синтезе нейромедиаторов. Содержание фенилаланина в мясном сырье перепелов контрольной группы в возрасте 37 дней составило 2,74±0,21%. Наибольший уровень фенилаланина отмечен во второй опытной группе (Биоферрон 0,2 мл/кг) – 3,87±0,25% (p≤0,01), что на 1,13% выше, чем в контрольной группе (рис. 9).

Наименьший уровень фенилаланина в мясе перепелов среди опытных групп отмечен в первой опытной группе (Биоферрон 0,1 мл/кг) – 3,10±0,21%, что на 0,36% выше, чем в контрольной группе. В возрасте 98 дней уровень фенилаланина в мясе перепелов понижается, но при этом уровень его остается высоким в

опытных группах по сравнению с контрольной. В контрольной группе уровень фенилаланина составил 2,39±0,20%. Наибольший уровень фенилаланина отмечен в группах, в рацион которых включили Биоферрон в дозах 0,2 и 0,3 мл/кг, он составил 3,36±0,22 ($p \leq 0,01$) и 3,35±0,31% ($p \leq 0,05$), что на 0,97 и 0,96% выше, чем в контрольной группе соответственно. Наименьший уровень фенилаланина в мясе перепелов среди опытных групп отмечен в первой опытной группе (Биоферрон 0,1 мл/кг) – 2,70±0,18%, что на 0,31% выше, чем в контрольной группе.

Таким образом, в результате наших исследований установлено повышение уровня всех незаменимых аминокислот в мясном сырье перепелов, которым в рацион добавляли препараты Биоферрон и Биоцинк в дозах 0,1, 0,2 и 0,3 мл/кг. По достижению перепелами возраста 98 суток уровень незаменимых аминокислот во всех испытуемых группах снижался, что закономерно, но это не снижает ценности мяса взрослых перепелов.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Включение хелатных соединений железа и цинка в составе препаратов Биоферрон и Биоцинк в рацион позволяет повысить биологическую ценность мясного сырья перепелов. Наибольший уровень незаменимых кислот в мясном сырье отмечали у перепелов 37-суточного возраста. В возрасте 98 суток уровень аминокислот в мясе перепелов понижается, что объясняется тем, что с возрастом утрачивается способность к синтезу их организмом, но при этом уровень остается высоким в опытных группах по сравнению с контрольной.

Введение в рацион перепелов препарата Биоферрон в дозе 0,2 мл/кг способствовало повышению уровня незаменимых аминокислот в мясном сырье: валина на 0,91%, лейцина и изолейцина – на 3,86%, треонина – на 0,86%, метионина – на 0,46%, триптофана – на 0,67%.

Введение в рацион перепелов препарата Биоцинк в дозе 0,2 мл/кг способствовало повышению уровня незаменимых аминокислот в мясном сырье: валина на 0,75%, лейцина и изолейцина – на 3,14%, треонина – на 0,85%, метионина – на 0,41%, триптофана – на 0,66%.

THE EFFECT OF BIOFERRON AND BIOCINC PREPARATIONS ON THE COMPOSITION OF ESSENTIAL AMINO ACIDS IN QUAIL MEAT RAW MATERIALS

Lazareva M.V. [1] **–** edging. veterinarian. sciences, associate professor, head of Anatomy and physiology; **Shkil H.A.** [2] **–** Dr. Vet. sciences, professor, chief scientist

[1]Novosibirsk State Agrarian University

[2]Sibirsky Federal Scientific Center of Agrobiotechnologies of the Russian Academy of Sciences

*Lazareva7@mail.ru

ABSTRACT

The positive effect of microelement chelates compounds in Bioferron and Biocink on the composition of essential acids in quail meat raw materials has been substantiated. The experiment used quail of the Japanese breed, egg-meat direction in the amount of 280 heads. The highest level of essential amino acids in meat raw materials was noted in quails of 37-day age. The highest level of arginine was noted in the sixth experimental group (Biocink 0,3 ml/kg) – 5,25 ± 0,27% ($p \leq 0,01$), which is 0,92% higher than in the control group. The highest level of valine was noted in the group in whose diet Bioferron was included at a dose of 0,2 ml/kg, it was 3,30±0,19% ($p \leq 0.01$), which is 0,79% higher than in the control group. The histidine level exceeded the control level by 0,25 -0,40% ($p \leq 0,05$). Leucine and isoleucine have the highest levels of all amino acids in quail meat raw materials. In the meat raw materials of quail of 37 days of age among the experimental groups receiving Bioferron, the highest level of leucine and isoleucine was noted at a dose of 0,2 ml/kg – 13,17 ± 0,49% ($p \leq 0,001$), which is 3,86% more than in the control. Among the experimental groups treated with Biocink, the highest level of leucine and isoleucine was noted at a dose of 0,2 ml/kg – 12,45±0,54% ($p \leq 0,01$),

which is 3,14% more than in the control. The content of methionine in meat raw materials of 37-day quail, in the diet of which Bioferron was present at doses of 0,1, 0,2 and 0,3 ml/kg, was 1,57±0,10, 1,75±0,11 and 1,74±0,11% at p≤0,01, which is 0,28, 0,46 and 0,45% higher than the control, respectively. In the quail groups treated with Biocink 0,1, 0,2 and 0,3 mL/kg, methionine levels were 1,47±0,07, 1,70±0,11 (p≤0,01) and 1,69±0,12 (p≤0,05), which is 0,18, 0,41 and 0,40% higher than the control, respectively. In the Bioferron 0,1, 0,2 and 0,3 mL/kg inclusion groups, tryptophan levels were 0,21, 0,67 (p≤0,05) and 0,65% (p≤0,01) higher, respectively. Tryptophan levels were 0,16, 0,66 (p≤0,05), and 0,64% (p≤0,01) higher in the Biocink 0,1, 0,2, and 0,3 mL/kg inclusion groups, respectively. The highest level of phenylalanine was noted in the second experimental group (Bioferron 0,2 ml/kg) – 3,87±0,25% (p≤0.01), which is 1,13% higher than in the control group.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Утенков, Т.И. Развитие отраслевой структуры сельского хозяйства Сибири / Т.И. Утенков // Никоновские чтения. – 2019. – №. 24. – С. 162-164.
2. Нутриентная адекватность как критерий выбора мясного сырья для функциональных продуктов / Л.У. Войцеховская, С.Б. Вербицкий, Е.В. Франко [и др.] // Аграрная наука-сельскому хозяйству. – 2022. – С. 101-103.
3. Quaresma M. A. G. et al. The composition of the lipid, protein and mineral fractions of quail breast meat obtained from wild and farmed specimens of Common quail (Coturnix coturnix) and farmed Japanese quail (Coturnix japonica domestica) // Poultry Science. – 2022. – Т. 101. – №. 1. – P. 101505.
4. Sabow A.B. Carcass characteristics, physicochemical attributes, and fatty acid and amino acid compositions of meat obtained from different Japanese quail strains // Tropical Animal Health and Production. – 2020. – Т. 52. – №. 1. – P. 131-140.
5. Коновалова, Е.В. Влияние факторов окружающей среды на онтогенез японских перепелов / Е.В. Коновалова, М.В. Лазарева // Научные основы развития АПК : Сборник научных трудов по материалам XX Всероссийской (нац.) научно-практической конференции студентов, аспирантов и молодых ученых с международным участием, Томск, 31 мая – 09 2018 года. – Томск: ИЦ "Золотой колос", 2018. – С. 181-184.
6. Carvalho L. C. et al. Determination of the optimal dietary amino acid ratio based on egg quality for Japanese quail breeder // Agriculture. – 2023. – Т. 13. – №. 1. – P. 173.
7. Маркин, Ю. Разумная альтернатива антибиотикам. Пробиотики в рационах для птицы / Ю. Маркин, Н. Нестеров // Животноводство России. – 2018. – № 2. – С. 8-11.
8. Сахно, О.Н. Эффективность промышленного выращивания цыплят-бройлеров с применением препаратов «Апекс» и «Эмицидин» / О.Н. Сахно, В.С. Буяров // Аграрный вестник Верхневолжья. 2018. – № 3 (24). – С. 114-123.
9. Андреева, О.Н. Минеральные компоненты сыворотки крови, структура скорлупы яиц и продуктивность мясных кур на фоне применения препаратов «Апекс» и «Эмицидин» / О.Н. Андреева // Вестник аграрной науки. 2020. – № 2 (83). – С. 147-156.
10. Ansaripoor A. et al. Optimization of growth performance responses of Japanese quail with different concentrations of metabolizable energy, lysine, and sulfur amino acids using Taguchi method // Livestock Science. – 2020. – Т. 241. – P. 104234.
11. Смоленцев, С.Ю. Оценка безопасных растительных кормовых добавок для перепелов / С.Ю. Смоленцев, И.И. Стрельникова, Н.А. Кислицына // Современные проблемы экспериментальной и клинической токсикологии, фармакологии и экологии: Сборник тезисов докладов Международной научно-практической конференции (9 – 10 сентября 2021 г.). – Казань: ФГБНУ «Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности». – 2021. – С. 51-59.
12. Растриженкова, В.К. Необходимость применения биологически активных до-

бавок в промышленном выращивании животных (обзор) / В.К. Растриженкова, М.В. Лазарева // Актуальные вопросы акушерства, гинекологии и репродуктологии животных: Сборник трудов научно-практической конференции студентов института ветеринарной медицины и биотехнологии Новосибирского ГАУ, Новосибирск, 15 июля 2023 года. – Новосибирск: Издательский центр Новосибирского государственного аграрного университета "Золотой колос", 2023. – С. 41-44.

13. Сравнительный анализ аминокислотного состава грудной мышцы перепелов / У.И. Кундрюкова, Е.Н. Беспамятных, Л.И. Дроздова [и др.] // Иппология и ветеринария. – 2023. – № 3 (49). – С. 203-211.

14. Лазарева, М.В. Экспериментальное обоснование влияния хелатных соединений микроэлементов на химический состав мяса перепелов / М.В. Лазарева, Н.А. Шкиль // Международный вестник ветеринарии. – 2024. – № 1. – С. 142-154.

15. Бачинская, В.М. Биологическая ценность и анализ аминокислотного состава разных видов мяса птицы / В.М. Бачинская, В.А. Васильева, Д.В. Гончар // Инновационная наука. – 2021. – №. 12-2. – С. 110-113.

REFERENCES

1. Utenkov T.I. Razvitie otraslevoj struktury sel'skogo hozjajstva Sibiri. *Nikonovskie chtenija*, 2019,162-164. (In Russ.)

2. Voitsekhovskaya L.U., Verbitskii S.B., Franko E.V., Shelkovaya T.V. Nutrientnaja adekvatnost' kak kriterij vybora mjasnogo syr'ja dlja funkcional'nyh produktov. *Agrarnaya nauka-sel'skomu khozyaistvu*, 2022: 101-103. (In Russ.)

3. M.A.G. Quaresma, I.C. Antunes, B. Gil Ferreira, A. Parada, A. Elias, M. Barros, C. Santos, A. Partidário, M. Mourato, L.C. Roseiro. The composition of the lipid, protein and mineral fractions of quail breast meat obtained from wild and farmed specimens of Common quail (Coturnix coturnix) and farmed Japanese quail (Coturnix japonica domestica). *Poultry Science*, 2022: 101505.

4. Sabow A.B. Carcass characteristics, physicochemical attributes, and fatty acid and amino acid compositions of meat obtained from different Japanese quail strains. *Tropical Animal Health and Production*, 2020: 131-140.

5. Konovalova E.V., Lazareva M.V. Vlijanie faktorov okruzhajushhej sredy na ontogenez japonskih perepelov. *Nauchnye osnovy razvitija APK*, 2018: 181-184. (In Russ.)

6. Carvalho L.C.; Malheiros D.; Lima M.B.; Mani T.S.A.; Pavanini J.A.; Malheiros R.D.; Silva E.P. Determination of the optimal dietary amino acid ratio based on egg quality for Japanese quail breeder. *Agriculture*, 2023: 173.

7. Markin Yu., Nesterov N. Razumnaja al'ternativa antibiotikam. Probiotiki v racionah dlja pticy. *Zhivotnovodstvo Rossii*. 2018; 2: 8-11. (In Russ.)

8. Sakhno O.N., Buyarov V.S. Jeffektivnost' promyshlennogo vyrashhivanija cypljat-brojlerov s primeneniem preparatov «Apeks» i «Jemicidin». *Agrarnyi vestnik Verkhnevolzh'ya*. 2018; 3 (24): 114-123. (In Russ.)

9. Andreeva O.N. Mineral'nye komponenty syvorotki krovi, struktura skorlupy jaic i produktivnost' mjasnyh kur na fone primenenija preparatov «Apeks» i «Jemicidin». *Vestnik agrarnoi nauki.* 2020; 2 (83): 147-156. (In Russ.)

10. Abolfazl Ansaripoor, Mohammad Sedghi, Ali Sadeghi-Sefidmazgi, Mohammad Pilevar. Optimization of growth performance responses of Japanese quail with different concentrations of metabolizable energy, lysine, and sulfur amino acids using Taguchi method. *Livestock Science*, 2020: 104234.

11. Smolencev S.Ju., Strel'nikova I.I., Kislicyna N.A. Ocenka bezopasnyh rastitel'nyh kormovyh dobavok dlja perepelov. *Sovremennye problemy jeksperimental'noj i klinicheskoj toksikologii, farmakologii i jekologii*, 2021: 51-59. (In Russ.)

12. Rastrizhenkova V.K., Lazareva M.V. Neobhodimost' primenenija biologicheski aktivnyh dobavok v promyshlennom vyrashhivanii zhivotnyh (obzor). *Aktual'nye voprosy akusherstva, ginekologii i reproduktologii zhivotnyh*, 2023: 41-44. (In Russ.)

13. Kundrjukova U.I., Bespamjatnyh E.N., Drozdova L.I., Isaeva A.G., Popova N.Ju. Sravnitel'nyj analiz aminokislotnogo sostava grudnoj myshcy perepelov i cypljat-brojlerov. *Ippologija i veterinarija*, 2023: 203-212. (In Russ.)
14. Lazareva M.V., Shkil' N.A. Jeksperimental'noe obosnovanie vlijanija helatnyh soedinenij mikrojelementov na himicheskij sostav mjasa perepelov. *Mezhdunarodnyj vestnik veterinarii*, 2024: 42-154. (In Russ.)
15. Bachinskaja V.M., Vasil'eva V.A., Gonchar D.V. Biologicheskaja cennost' i analiz aminokislotnogo sostava raznyh vidov mjasa pticy. *Innovacionnaja nauka*, 2021: 110-113. (In Russ.)

УДК: 636:616.36:612.357
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.4.185

КОРРЕЛЯЦИОННЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ МЕЖДУ ФАРМАКОКИНЕТИЧЕСКИМИ ПАРАМЕТРАМИ КОФЕИНА У КЛИНИЧЕСКИ ЗДОРОВЫХ ЛАБОРАТОРНЫХ И СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ

Понамарев В.С.* – канд. ветеринар. наук, доц. каф. фармакологии и токсикологии (ORCID 0000-0002-6852-3110); **Кострова А.В.** – асп. каф. фармакологии и токсикологии (ORCID 0000-0002-6852-3110)

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины»

*psevdopyos@mail.ru

Ключевые слова: *клиренс-тест, кофеин, корреляционный анализ.*
Keywords: *clearance test, caffeine, correlation analysis*
Благодарности: *Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 23-26-00011, https://rscf.ru/project/23-26-00011*

Поступила: 25.10.2024 **Принята к публикации: 02.12.2024**
Опубликована онлайн:16.12.2024

РЕФЕРАТ

Корреляционный анализ является важным инструментом в ветеринарии, поскольку он позволяет исследовать зависимости между различными показателями здоровья животных и результатами диагностических тестов, что позволяет подтверждать или отвергать релевантность различных биомедицинских гипотез. Актуальность этого метода обусловлена необходимостью подтверждения достоверности диагностических моделей, что, в свою очередь, способствует повышению точности диагностики заболеваний, а также внедрения новых подобных методик с высокой прогностической ценностью. Ветеринарная практика требует высокой степени достоверности в результатах, так как неправильная диагностика может привести к серьезным последствиям для здоровья животных. В качестве материала для исследования использовались фармакокинетические показатели кофеина у клинически здоровых лабораторных животных и крупного рогатого скота. Анализировались корреляционные взаимозависимости между концентрацией кофеина (за эквивалентные промежутки времени), общий плазменный клиренс, среднее время пребывания субстанции, а также объём распределения. Для полноценного использовались параметрические (коэффициент корреляции Пирсона) и непараметрические (коэффициент ранговой корреляции Спирмена) показатели корреляции. Коэффициенты корреляции, используемые нами для анализа взаимосвязей в фармакокинетических исследованиях, демонстрируют неоднозначные результаты при сравнении экзогенного кофеина у двух видов животных. Несмотря на наличие сходных корреляционных признаков, стойкие связи не были установлены, что указывает на сложность взаимодействий и индивидуальных межвидовых

особенностей. Кроме того, различия в реакциях между самцами и самками также не проявляют ярко выраженной стабильности, что может быть связано с различиями в метаболизме и физиологических характеристиках. Таким образом, будущие исследования должны включать изучение фармакокинетических показателей на других видах жвотных, чтобы обеспечить более точные прогнозы и улучшить понимание метаболических процессов, связанных с кофеином. Это позволит создать надежные и универсальные методы оценки состояния гепатобилиарной системы у различных животных.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Несмотря на высокую актуальность создания и апробации новых диагностических моделей для своевременного выявления патологий у животных, в их практической реализации имеются определённые трудности, обусловлены множеством факторов, связанных как с особенностями самих моделей, так и с условиями их применения, так как каждый вид животного может иметь свои уникальные физиологические и патофизиологические особенности. Это разнообразие затрудняет универсальную адаптацию новых диагностических методов, разработанных для одного вида, к другим. Одним из инструментов, позволяющих определить степень применимости межвидового экстраполирования результатов подобных методик, является корреляционный анализ [1-3].

Корреляционный анализ является важным инструментом в ветеринарии, поскольку он позволяет исследовать зависимости между различными показателями здоровья животных и результатами диагностических тестов. Актуальность этого метода обусловлена необходимостью подтверждения достоверности диагностических моделей, что, в свою очередь, способствует повышению точности диагностики заболеваний, а также внедрения новых подобных методик с высокой прогностической ценностью. [4,5].

Корреляционный анализ позволяет выявить статистически значимые связи между параметрами, такими как клинические симптомы, лабораторные показатели и результаты визуализирующих методов исследования [6]. С его помощью можно оценить надежность диагностических моделей, что играет ключевую роль в разработке рекомендаций по лечению и профилактике заболеваний животных [7]. В результате, использование корреляционного анализа не только обогащает научные исследования в ветеринарии, но и способствует развитию более релевантных практических подходов к диагностике и дальнейшей коррекции патологий [8].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

В данном исследовании использовались фармакокинетические показатели кофеина у клинически здоровых лабораторных животных и крупного рогатого скота.

Для исследования были использованы нелинейные лабораторные крысы (18 самцов, 18 самок, средняя живая масса 180 г. ±4%, возраст- 3 месяца) [9] и голштинизированный крупный рогатый скот, средняя продуктивность – до 5,5 тыс. молока в год, возраст – 1 ±0,2 года (10 самцов, 10 самок) [10]. Все животные были стратифицированы по живой массе, условиям кормления и содержания. Основным критерием отбора также являлось отсутствие различных патологий путём физикального осмотра и клинико-биохимических параметров.

Спустя 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 10, 12, 18 и 24 часа после однократного введения изотонического раствора кофеин-натрия бензоата (ООО «Мосагроген», Россия) в дозировке 5 мг/кг, у подопытных животных отбирали кровь путём венепункции (хвостовой вены у крыс и ярёмной вены у крупного рогатого скота), после чего уровни кофеина определяли методом иммуноферментного анализа по методике и с использованием тест- системы ИФА-Кофеин (производитель- Gold Standard Diagnostics, США) на триповом ИФА-анализаторе Stat Fax 4700 (США).

Анализировались корреляционные взаимозависимости между концентрацией кофеина (за эквивалентные промежутки времени), общий плазменный клиренс, среднее время пребывания субстанции, а также объём распределения [9,10].

Необходимость проведения корреляционного анализа обоснована грантовым соглашением № 23-26-00011, корреляционный анализ проводился с использованием методик, рекомендованных Schmidt, S. A. J., Lo, S., & Hollestein, L. M. (2018) [11].

Для полноценного использовались параметрические (коэффициент корреляции Пирсона) и непараметрические (коэффициент ранговой корреляции Спирмена) показатели корреляции.

Коэффициент корреляции Пирсона — это статистический показатель, который позволяет оценить степень и направление линейной зависимости между двумя количественными переменными. Он варьируется от -1 до 1, где

-1 указывает на идеальную обратную зависимость, 1 — на идеальную прямую зависимость, а 0 свидетельствует о том, что между переменными нет линейной корреляции [12].

Коэффициент корреляции Пирсона рассчитывали по стандартной формуле:

$$r = \frac{n(\Sigma xy) - (\Sigma x)(\Sigma y)}{\sqrt{[n\Sigma x^2 - (\Sigma x)^2][n\Sigma y^2 - (\Sigma y)^2]}}$$

где n — число пар наблюдений, x и y — значения переменных [13].

Коэффициент ранговой корреляции Спирмена представляет собой важный статистический инструмент, используемый в биомедицинских исследованиях для оценки силы и направления взаимосвязи между двумя переменными. Он основан на ранжировании значений вместо непосредственного их сравнения, что делает его особенно полезным в тех случаях, когда данные не подчиняются нормальному распределению или имеют аномальные значения.

Применение коэффициента Спирмена позволяет исследователям выявить не только линейные, но и нелинейные зависимости, что значительно расширяет возможности анализа сложных биомедицинских данных. Для анализа используются ранжированные данные, что минимизирует влияние выбросов и повышает надежность результатов [14].

Рассчитывали вышеуказанный параметр согласно формуле:

$$\rho = 1 - \frac{6\sum d_i^2}{n(n^2-1)}$$

где d_i — разница между рангами пар наблюдений, а n — количество пар [15].

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Результаты расчета вышеуказанных показателей представлены в таблицах 1 и 2. Также нами были построены графики коэффициента корреляции по вышеуказанным показателям (рис. 1,2).

Коэффициент корреляции Пирсона, используемый нами для анализа взаимосвязей в фармакокинетических исследованиях, демонстрирует неоднозначные результаты при сравнении экзогенного кофеина у двух видов животных. Несмотря на наличие сходных корреляционных признаков, стойкие связи не были установлены, что указывает на сложность взаимодействий и индивидуальных межвидовых особенностей. Кроме того, различия в реакциях между самцами и самками также не проявляют ярко выраженной стабильности, что может быть связано с различиями в метаболизме и физиологических характеристиках.

Учитывая, что кофеин является сложным алкалоидом, влияние его на обмен веществ может варьироваться между видами. Эта ситуация подчеркивает необходимость проведения более глубоких исследований для выяснения механизмов действия кофеина и его усвоения, что могло бы дать возможность более точно предсказать его предикторный потенциал и возможность экстраполяции показателей одного вида на другие.

Корреляционные взаимозависимости фармакокинетических параметров экзогенного кофеина по ранговой корреляции Спирмена также имеют неоднозначные результаты, не позволяющие сделать вывод о возможности экстраполяции результатов на другие виды животных.

Таблица 1 – Коэффициент корреляции Пирсона между фармакокинетическими параметрами экзогенного кофеина у клинически здоровых лабораторных животных и крупного рогатого скота

	r для концентрации кофеина		r для общего плазменного клиренса		r для среднего времени пребывания		r для объёма распределения	
Т после введения / пол животных	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀
1 час	- 0,21	+0,05 *						
2 часа	-0,16	- 0,24						
3 часа	+0,07	-0,04						
4 часа	+0,19	+0,28						
5 часов	- 0,14	+0,23*						
6 часов	+0,23	-0,16*	**+0,16**	**+ 0,08**	**-0,19**	**+0,05***	**+0,23**	**+0,22**
8 часов	+0,07	+0,15						
10 часов	-0,27	+0,09						
12 часов	-0,13	- 0,21						
18 часов	+0,11	-0,17*						
24 часа	+0,04	+0,22						

** достоверное отличие между ♂ и ♀ (p< 0.05)*

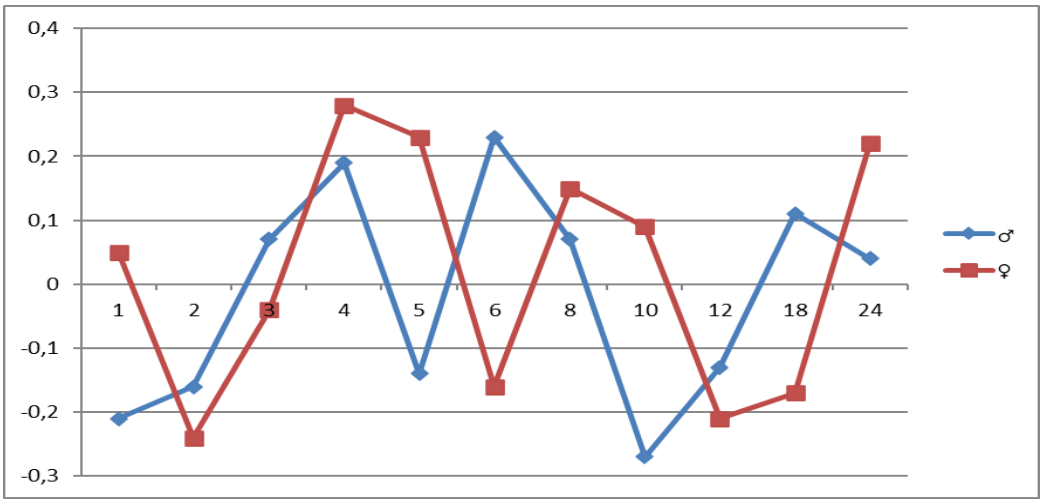


Рисунок 1 – Коэффициент корреляции Пирсона между фармакокинетическими параметрами экзогенного кофеина у клинически здоровых лабораторных животных и крупного рогатого скота.

Таблица 2 – Коэффициент корреляции Спирмена между фармакокинетическими параметрами экзогенного кофеина у клинически здоровых лабораторных животных и крупного рогатого скота

	ρ для концентрации кофеина		ρ для общего плазменного клиренса		ρ для среднего времени пребывания		ρ для объёма распределения	
Т после введения / пол животных	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀
1 час	-0,32	-0,26						
2 часа	-0,18	+021 *						
3 часа	+0,22	-0,08*						
4 часа	+0,16	+0,14						
5 часов	-0,36	-0,18						
6 часов	-0,14	-0,09	**+0,32**	**+0,27**	**-0,15**	**+0,03**	**- 0,08**	**+0,04**
8 часов	+0,27	+0,21						
10 часов	-0,11	+0,16*						
12 часов	+0,19	+0,08						
18 часов	-0,14	+0,11*						
24 часа	-0,05	-0,08						

** достоверное отличие между ♂ и ♀ (p< 0,05).*

Рисунок 2 – Коэффициент корреляции Спирмена между фармакокинетическими параметрами экзогенного кофеина у клинически здоровых лабораторных животных и крупного рогатого скота.

Разнообразие физиологических реакций на кофеин у различных видов может быть связано с различиями в метаболизме, а также с генетическими факторами, влияющими на ферментативную активность [16,17]. Это, в свою очередь, усложняет попытки агрегации данных и нахождения универсальных закономерностей.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Дальнейшее изучение предикторного потенциала клиренса кофеина как индикатора состояния гепатобилиарной системы должно учитывать видовые особенности животных. Разные виды могут поразному метаболизировать кофеин, что связано с уникальными ферментативными путями и физиологическими характеристиками.

Эмпирические данные и статистический анализ показывают, что у лабораторных крысы и крупного рогатого скота метаболизм кофеина осуществляется с различной скоростью, что может повлиять на интерпретацию результатов. В контексте ветеринарной медицины, исследования, фокусирующиеся на клиренсе кофеина, могут быть полезны для диагностики заболеваний гепатобилиарной системы и мониторинга ее функции.

Таким образом, будущие исследования должны включать изучение фармакокинетических показателей на других видах жвотных, чтобы обеспечить более точные прогнозы и улучшить понимание метаболических процессов, связанных с кофеином. Это позволит создать надежные и универсальные методы оценки состояния гепатобилиарной системы у различных животных.

FEATURES OF EXOGENEOUS SORBITOL CLEARANCE IN LABORATORY ANIMALS

Ponamarev V.S. * – Ph.D. of Veterinary Science, Associate Professor Department of Pharmacology and Toxicology (ORCHID 0000-0002-6852-3110); **Kostrova A.V.** – Assistant Professor of Pharmacology and Toxicology (ORCID 0000-0002-6852-3110)

St. Petersburg State University of Veterinary Medicine

*psevdopyos@mail.ru

Acknowledgments: *The study was supported by the Russian Science Foundation Grant No. 23-26-00011, https://rscf.ru/project/23-26-00011.*

ABSTRACT

Correlation analysis is an important tool in veterinary medicine, since it allows us to study the relationships between various indicators of animal health and the results of diagnostic tests, which allows us to confirm or reject the relevance of various biomedical hypotheses. The relevance of this method is due to the need to confirm the reliability of diagnostic models, which, in turn, helps to improve the accuracy of disease diagnosis, as well as the introduction of new similar methods with high prognostic value. Veterinary practice requires a high degree of reliability in the results, since incorrect diagnosis can lead to serious consequences for the health of animals. The pharmacokinetic parameters of caffeine in clinically healthy laboratory animals and cattle were used as material for the study. Correlation relationships between caffeine concentration (for equivalent time intervals), total plasma clearance, average residence time of the substance, and distribution volume were analyzed. For a complete analysis, parametric (Pearson correlation coefficient) and nonparametric (Spearman rank correlation coefficient) correlation indicators were used. The correlation coefficients we used to analyze relationships in pharmacokinetic studies show ambiguous results when comparing exogenous caffeine in two animal species. Despite the presence of similar correlation features, stable relationships were not established, which indicates the complexity of interactions and individual interspecies characteristics. In addition, differences in responses between males and females also do not show pronounced stability, which may be due to differences in metabolism and physiological characteristics. Thus, future studies should include the study of pharmacokinetic parameters in other animal species to provide more accurate predictions and

improve understanding of metabolic processes associated with caffeine. This will allow the creation of reliable and universal methods for assessing the state of the hepatobiliary system in various animals.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Корреляционный анализ. Непараметрические методы / А.М. Шихалёв. –Казань: Казан. ун-т, 2015. – 58 с.
2. Шаныгин, С. И. Корреляционный и регрессионный анализ: учебник для вузов / С. И. Шаныгин ; ответственный редактор В. В. Ковалев. — Москва: Издательство Юрайт, 2024. — 70 с. — (Высшее образование). — ISBN 978-5-534-18393-1. — Текст: электронный // Образовательная платформа Юрайт [сайт]. — URL: https://urait.ru/bcode/534917 (дата обращения: 11.11.2024).
3. Вербицкая, Е. В. Основы биомедицинской статистики и планирования экспериментов: методические рекомендации: (презентации лекций на диске) / Е. В. Вербицкая; Вербицкая Е. В. ; М-во здравоохранения и социального развития Российской Федерации, Санкт-Петербургский гос. мед. ун-т им. акад. И. П. Павлова. – Санкт-Петербург: Изд-во СПбГМУ, 2012. – 8 с. – ISBN 978-5-88999-108-3.
4. Жильцов, И. Основы медицинской статистики. Дизайн биомедицинских исследований: практическое руководство / И. Жильцов, В. Семенов, С. Зенькова; И. В. Жильцов, В. М. Семенов, С. К. Зенькова. – 2-е издание, переработанное и дополненное. – Витебск: Витебский государственный медицинский университет, 2014. – 153 с. – ISBN 978-985-466-677-8.
5. Зубов, Н. Н. Биомедицинская статистика: информационные технологии анализа данных в медицине и фармации: Учебное пособие / Н. Н. Зубов, В. И. Кувакин, С. З. Умаров; Под общей редакцией Н.Н. Зубова. – Москва: Общество с ограниченной ответственностью "Издательство "КноРус", 2021. – 466 с. – ISBN 978-5-4365-7695-4.
6. Оценка эффективности нейросетевого прогнозирования количественных показателей здоровья у пациентов с заболеваниями гепатопанкреатодуоденальной зоны / В. А. Лазаренко, А. Е. Антонов, А. В. Прасолов, М. И. Чурилин // Якутский медицинский журнал. – 2017. – № 3(59). – С. 83-85.
7. Гржибовский, А. М. Описательная статистика с использованием пакетов статистических программ SPSS и Stata / А. М. Гржибовский, Т. Н. Унгуряну, М. А. Горбатова // Наркология. – 2017. – Т. 16, № 4 (184). – С. 36-51.
8. Герасимов, А. Н. Параметрические и непараметрические методы в медицинской статистике / А. Н. Герасимов, Н. И. Морозова // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. – 2015. – Т. 14, № 5(84). – С. 6-12.
9. Фармакокинетические параметры кофеина у лабораторных животных в контексте оценки функционального состояния печени / О. С. Попова, В. С. Понамарев, А. В. Кострова, Л. А. Агафонова // Международный вестник ветеринарии. – 2023. – № 2. – С. 142-149. – DOI 10.52419/issn2072-2419.2023.2.142.
10. Фармакокинетические параметры кофеина у крупного рогатого скота в контексте оценки функционального состояния печени/ О. С. Попова, В. С. Понамарев, А. В. Кострова, Л. А. Агафонова // Международный вестник ветеринарии. – 2024. – № 3. – С. 177-181. – DOI 10.52419/issn2072-2419.2024.3.177.
11. Schmidt, S. A. J., Lo, S., & Hollestein, L. M. (2018). Research Techniques Made Simple: Sample Size Estimation and Power Calculation. The Journal of investigative dermatology, 138(8), 1678–1682. https://doi.org/10.1016/j.jid.2018.06.165
12. Саадалов, Т. Методика расчета коэффициента корреляции Фехнера и Пирсона, и их области применения / Т. Саадалов, Р. Мырзаибраимов, Ж. Д. Абдуллаева // Бюллетень науки и практики. – 2021. – Т. 7, № 10. – С. 270-276. – DOI 10.33619/2414-2948/71/31.
13. Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ № 2023664998 Российская Федерация. Информационная система построения корре-

ляционных плеяд на основании показателя коэффициента корреляции Пирсона "Корреляционные плеяды Пирсон" : № 2023664337 : заявл. 06.07.2023: опубл. 11.07.2023 / Н. С. Кононенко, П. В. Ткаченко, Н. И. Белоусова; заявитель федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Курский государственный медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации.
14. Павлова, К. В. Применение коэффициента ранговой корреляции Спирмена в статистических исследованиях / К. В. Павлова // Наука УИС. – 2023. – Т. 3, № 3 (3). – С. 28-32.
15. Черкасова, Т. С. Проблема диагностики случайного характера временных данных на основе использования коэффициента ранговой корреляции Спирмена / Т. С. Черкасова, М. А. Нагорная // Труды Ростовского государственного университета путей сообщения. – 2014. – № 4. – С. 117-120.
16. Попова, О. С. Современные аспекты вопросов фармакокинетики / О. С. Попова // SPbVetScience : сборник научных трудов. Том Выпуск 4. – Санкт-Петербург: Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины, 2023. – С. 59-63.
17. Попова, О. С. Проблема валидации токсикологических моделей в фармации / О. С. Попова // Нормативно-правовое регулирование в ветеринарии. – 2023. – № 1. – С. 79-82. – DOI 10.52419/issn2782-6252.2023.1.79.

REFERENCES

1. Correlation analysis. Nonparametric methods / A.M. Shikhalev. -Kazan: Kazan. University, 2015. - 58 p.
2. Shanygin, S. I. Correlation and regression analysis: textbook for universities / S. I. Shanygin; editor-in-chief V. V. Kovalev. - Moscow: Publishing house Yurait, 2024. - 70 p. - (Higher education). - ISBN 978-5-534-18393-1. - Text: electronic // Educational platform Yurait [website]. - URL: https://urait.ru/bcode/534917 (date of access: 11.11.2024).
3. Verbickaya, E. V. Fundamentals of Biomedical Statistics and Experimental Design: Guidelines: (lecture presentations on disk) / E. V. Verbickaya; Verbickaya E. V.; Ministry of Health and Social Development of the Russian Federation, St. Petersburg State Medical University named after academician I. P. Pavlov. – St. Petersburg: Publishing house of St. Petersburg State Medical University, 2012. – 8 p. – ISBN 978-5-88999-108-3.
4. Zhiltsov, I. Fundamentals of Medical Statistics. Biomedical Research Design: A Practical Guide / I. Zhiltsov, V. Semenov, S. Zenkova; I. V. Zhiltsov, V. M. Semenov, S. K. Zenkova. – 2nd edition, revised and supplemented. – Vitebsk: Vitebsk State Medical University, 2014. – 153 p. – ISBN 978-985-466-677-8.
5. Zubov, N. N. Biomedical statistics: information technologies for data analysis in medicine and pharmacy: Textbook / N. N. Zubov, V. I. Kuvakin, S. Z. Umarov; Under the general editorship of N. N. Zubov. – Moscow: Limited Liability Company "Izdatelstvo" Knorus ", 2021. – 466 p. – ISBN 978-5-4365-7695-4.
6. Evaluation of the effectiveness of neural network forecasting of quantitative health indicators in patients with diseases of the hepatopancreatoduodenal zone / V. A. Lazarenko, A. E. Antonov, A. V. Prasolov, M. I. Churilin // Yakut Medical Journal. – 2017. – No. 3 (59). – P. 83-85.
7. Grzhibovsky, A. M. Descriptive statistics using the SPSS and Stata statistical software packages / A. M. Grzhibovsky, T. N. Unguryanu, M. A. Gorbatova // Narcology. – 2017. – Vol. 16, No. 4 (184). – P. 36-51.
8. Gerasimov, A. N. Parametric and nonparametric methods in medical statistics / A. N. Gerasimov, N. I. Morozova // Epidemiology and vaccine prevention. - 2015. - Vol. 14, No. 5 (84). - P. 6-12.
9. Pharmacokinetic parameters of caffeine in laboratory animals in the context of assessing the functional state of the liver / O. S. Popova, V. S. Ponomarev, A. V. Kostrova, L. A. Agafonova // International Bulletin of Veterinary Medicine. - 2023. - No. 2. - P. 142-149. - DOI 10.52419/

issn2072-2419.2023.2.142.
10. Pharmacokinetic parameters of caffeine in cattle in the context of assessing the functional state of the liver / O. S. Popova, V. S. Ponomarev, A. V. Kostrova, L. A. Agafonova // International Bulletin of Veterinary Medicine. - 2024. - No. 3. - P. 177-181. - DOI 10.52419/issn2072-2419.2024.3.177.
11. Schmidt, S. A. J., Lo, S., & Hollestein, L. M. (2018). Research Techniques Made Simple: Sample Size Estimation and Power Calculation. The Journal of investigative dermatology, 138(8), 1678–1682. https://doi.org/10.1016/j.jid.2018.06.165
12. Saadalov, T. Methodology for calculating the Fechner and Pearson correlation coefficients, and their areas of application / T. Saadalov, R. Myrzaibraimov, Zh. D. Abdullaeva // Bulletin of Science and Practice. - 2021. - Vol. 7, No. 10. - P. 270-276. - DOI 10.33619/2414-2948/71/31.
13. Certificate of state registration of computer program No. 2023664998 Russian Federation. Information system for constructing correlation pleiades based on the Pearson correlation coefficient indicator "Correlation Pleiades_Pearson": No. 2023664337: declared. 06.07.2023: published. 11.07.2023 / N. S. Kononenko, P. V. Tkachenko, N. I. Belousova; applicant Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "Kursk State Medical University" of the Ministry of Health of the Russian Federation.
14. Pavlova, K. V. Application of Spearman's rank correlation coefficient in statistical studies / K. V. Pavlova // Science UIS. - 2023. - Vol. 3, No. 3 (3). – P. 28-32.
15. Cherkasova, T. S. The problem of diagnostics of random nature of time data based on the use of Spearman's rank correlation coefficient / T. S. Cherkasova, M. A. Nagornaya // Proceedings of the Rostov State University of Railway Engineering. – 2014. – No. 4. – P. 117-120.
16. Popova, O. S. Modern aspects of pharmacokinetics issues / O. S. Popova // SPbVetScience: collection of scientific papers. Volume Issue 4. - St. Petersburg: St. Petersburg State University of Veterinary Medicine, 2023. - Pp. 59-63.
17. Popova, O. S. The problem of validation of toxicological models in pharmacy / O. S. Popova // Normative-legal regulation in veterinary medicine. - 2023. - No. 1. - Pp. 79-82. - DOI 10.52419/issn2782-6252.2023.1.79.

УДК: 616.36-07:619
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.4.194

ОЦЕНКА РЕЛЕВАНТНОСТИ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ПОЧЕЧНОГО КЛИРЕНСА КОФЕИНА НА МОДЕЛИ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

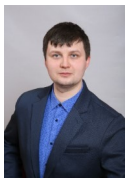
Понамарев В.С.[*] – канд. ветеринар. наук, доц. каф. фармакологии и токсикологии (ORCID 0000-0002-6852-3110); **Кострова А.В.** – асп. каф. фармакологии и токсикологии

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины»

[*]psevdopyos@mail.ru

Ключевые слова: *клиренс-тест, кофеин, почеченый клиренс*
Keywords: *clearance test, caffeine, renal clearance*
Финансирование: *Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 23-26-00011, https://rscf.ru/project/23-26-00011*

Поступила: 25.10.2024 **Принята к публикации: 02.12.2024**
Опубликована онлайн:16.12.2024



РЕФЕРАТ

В контексте изучения клиренс-методов оценки экзогенных субстанций как диагностического показателя состояния гепатобилиарной системы, исследователи не пришли к однозначному выводу, какой из показателей клиренса является наиболее релевантным, поэтому данный вопрос требует дальнейшего изучения. Основная цель данного исследования- выявить основные показатели почечного клиренса у клинически здоровых продуктивных животных (крупный рогатый скот) и оценить релевантность данных показателей в сравнении с данными, полученными в предыдущем опыте, по оценке плазменного клиренса. Исследования проводились в 2024 году в одном из животноводческих хозяйств Псковской области молочного направления, в экспериментах использовался голштинизированный крупный рогатый скот, средняя продуктивность – до 5,5 тыс. молока в год, возраст – 1 ±0,2 года. Опытным животным однократно вводился изотонический раствор кофеиннатрия бензоата (ООО «Мосагроген», Россия) в дозировке 5 мг/кг, так как данная дозировка является наиболее безопасной в токсикологическом отношении и наиболее репрезентативной в клиническом. Спустя 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 10, 12, 18 и 24 часа у подопытных животных отбирали мочу путём массажа мочевого пузыря, после чего уровни кофеина определяли методом иммуноферментного анализа по методике и с использованием тест-системы ИФА-Кофеин на стриповом ИФА-анализаторе Stat Fax 4700 (США). Полученые результаты сравнивались с концентрацией кофеина в плазме крови из предыдущей серии экспериментов посредством определения коэффициента корреляции по методикам вычисления коэффициента корреляции Пирсона, Спирмена, Фехнера. Показатели почечного и плазменного [10] клиренса имеют прямую умеренную взаимосвязь, что подтверждается всеми методиками измерения коэффициента корреляции. Эта взаимосвязь подчеркивает

важность функционального состояния почек для системного метаболизма и фармакокинетики экзогенных субстанций, а также возможность применимости данной диагностической модели на практике.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Плазменный и почечный клиренсы лекарственных средств представляют собой два ключевых механизма, которые обеспечивают удаление препаратов из организма, но хотя оба процесса направлены на скорейшую метаболизацию и экскрецию потенциального ксенобиотика, они имеют принципиальные отличия [1-3].

Плазменный клиренс описывает скорость, с которой лекарственное средство удаляется из плазмы крови, он учитывает метаболизм экзогенного агента посредством функционирования гепатобилиарной системы, а также их связывание с белками плазмы. Высокий плазменный клиренс может указывать на интенсивный метаболизм или экстракцию препарата, что критически важно при разработке оптимальных схем лечения или диагностических моделей [4].

Почечный клиренс, в свою очередь, является показателем, отражающим способность почек удалять лекарственные вещества из крови и экскретировать их с мочой. Основные процессы, задействованные в почечном клиренсе, включают фильтрацию в клубочках, канальцевую секрецию и реабсорбцию. Эта величина позволяет оценить эффективность почечной функции [5].

В контексте изучения клиренс-методов оценки экзогенных субстанций как диагностического показателя состояния гепатобилиарной системы, исследователи не пришли к однозначному выводу [4-6], какой из показателей клиренса является наиболее релевантным, поэтому данный вопрос требует дальнейшего изучения.

Основная цель данного исследования-выявить основные показатели почечного клиренса у клинически здоровых продуктивных животных (крупный рогатый скот) и оценить релевантность данных показателей в сравнении с данными, полученными в предыдущем опыте, по оценке плазменного клиренса.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Исследования проводились в 2024 году в одном из животноводческих хозяйств Псковской области молочного направления, в экспериментах использовался голштинизированный крупный рогатый скот, средняя продуктивность – до 5,5 тыс. молока в год, возраст – 1 ±0,2 года.

Из животных, по принципу пар аналогов, была опытная (n=20) и интактная (n=20) группы, состоящие из разнополых животных. Интактная группа была введена в эксперимент с целью исключения ложноположительных результатов и перекрёстной чувствительности с другими метилксантинами. Все животные были стратифицированы по живой массе, условиям кормления и содержания. Основным критерием отбора также являлось отсутствие различных патологий путём физикального осмотра и клинико-биохимических параметров [7].

Опытным животным однократно вводился изотонический раствор кофеин-натрия бензоата (ООО «Мосагроген», Россия) в дозировке 5 мг/кг, так как данная дозировка является наиболее безопасной в токсикологическом отношении и наиболее репрезентативной в клиническом [8].

Спустя 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 10, 12, 18 и 24 часа у подопытных животных отбирали мочу путём массажа мочевого пузыря [9], после чего уровни кофеина определяли методом иммуноферментного анализа по методике и с использованием тест-системы ИФА-Кофеин (производитель Gold Standard Diagnostics, США) на стриповом ИФА-анализаторе Stat Fax 4700 (США).

Полученные результаты сравнивались с концентрацией кофеина в плазме крови из предыдущей серии экспериментов [10] посредством определения коэффициента корреляции по методикам вычисления

коэффициента корреляции Пирсона [11], Спирмена[12], Фехнера[11].

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Результаты расчета вышеуказанных показателей представлены в таблице 1. Коэффициенты корреляции рассчитывал относительно показателей предыдущей серии экспериментов [10]. Интактная группа не представлена в таблице, так как наличие метилксантинов по итогам эксперимента не было детектировано.

В первую очередь, следует отметить трудновоспроизводимость методики исследования почечного клиренса по сравнению с плазменным в связи с крайне небольшой концентрацией вещества. Это порождает ряд сложностей, которые затрудняют получение точных и воспроизводимых результатов. Необходимость в высокоточных аналитических методах и специализированном оборудовании становится очевидной, особенно в условиях ограниченных ресурсов и времени.

Показатели почечного и плазменного [10] клиренса имеют прямую умеренную взаимосвязь, что подтверждается всеми методиками измерения коэффициента корреляции (Пирсона, Спирмена, Фехнера). Эта взаимосвязь подчеркивает важность функционального состояния почек для системного метаболизма и фармакокинетики экзогенных субстанций, а также возможность применимости данной диагностической модели на практике.

Таблица 1 – Концентрация кофеина в моче у клинически здорового крупного рогатого скота и коэффициенты Пирсона, Спирмена, Фехнера в сравнении с показателями плазменного клиренса

	Концентрация кофеина (в мкг/мл$^{-1}$)		Значение коэффициента корреляции Пирсона		Значение коэффициента корреляции Спирмена		Значение коэффициента корреляции Фехнера	
Т после введения / пол животных	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀
1 час	0,14 ±0,06	0,16 ± 0,03	**+0,63**	**+ 0,71**	**+ 0,74**	**+0,77**	**+0,61**	**+0,67**
2 часа	0,14 ±0,04	0,15 ±0,02						
3 часа	0,14 ±0,01	0,12 ±0,04						
4 часа	0,12 ±0,03	0,12 ±0,05						
5 часов	0,12 ±0,02	0,11 ±0,03						
6 часов	0,09 ±0,01	0,10 ±0,04						
8 часов	0,08 ±0,01	0,09 ±0,02						
10 часов	0,08 ±0,01	0,09 ±0,01						
12 часов	0,03	0,04 ±0,01						
18 часов	0	0						
24 часа	0	0						

** достоверное отличие между ♂ и ♀ ($p<0.05$)*

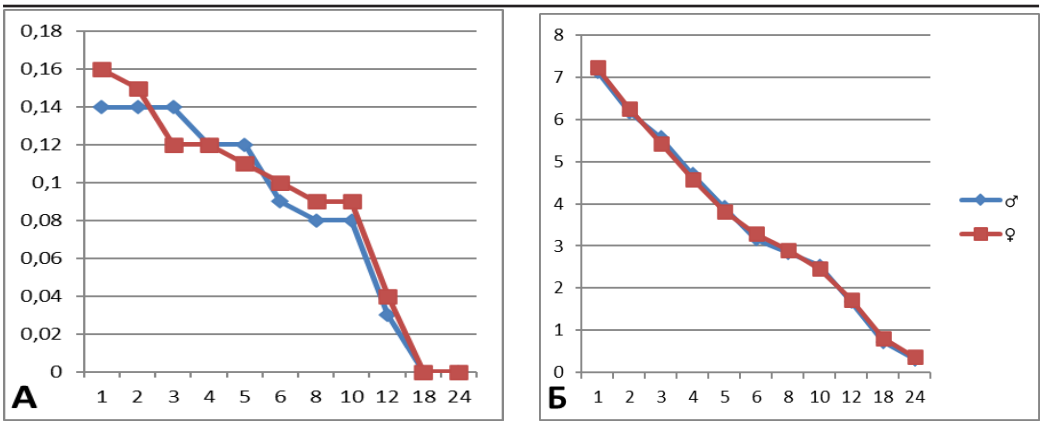


Рисунок 1 – Концентрация кофеина в моче (А) у клинически здорового крупного рогатого скота в сравнении с показателями плазменного клиренса (Б). По вертикальной оси концентрация кофеина (мкг/мл$^{-1}$), по горизонтальной оси время (ч.). Заметны общие тенденции (планомерное снижение).

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Изучение клиренс-методов оценки состояния функциональных систем, таких как плазменный и почечный клиренс, является неотъемлемой частью современной ветеринарной фармакологии, предоставляя важные данные для оценки физиологического состояния организма. Актуальность этих исследований становится особенно очевидной в контексте клинической практики, где мониторинг фармакокинетических параметров различных экзогенных субстанций обладает значительным предикторным потенциалом.

Современные подходы к анализу фармакокинетических показателей для экзогенных субстанций позволяют не только количественно оценивать эффективность почечной экскреции, но и детализировать механизмы взаимодействия плазменного и почечного клиренса. Изучение данных корреляций открывает новые горизонты в понимании патофизиологических процессов, происходящих в организме, и способствует разработке более точных методов диагностики и лечения различных заболеваний, в частности, гепатобилиарной или выделительной систем.

ASSESSING THE RELEVANCE OF CAFFEINE RENAL CLEARANCE IN A BOVINE MODEL

Ponamarev V.S. * – Associate Professor, Ph.D. of Veterinary Science, Kostrova A.V. – Assistant Professor of Pharmacology and Toxicology (ORCID 0000-0002-6852-3110)

St. Petersburg State University of Veterinary Medicine"

* psevdopyos@mail.ru

Financing: *The study was supported by the Russian Science Foundation grant No. 23-26-00011, https://rscf.ru/project/23-26-00011.*

ABSTRACT

In the context of studying clearance methods for assessing exogenous substances as a diagnostic indicator of the state of the hepatobiliary system, the researchers did not come to an unambiguous conclusion about which of the clearance indicators is the most relevant, so this issue requires further study. The main objective of this study is to identify the main indicators of renal clearance in clinically healthy productive animals (cattle) and to assess the relevance of these indicators in comparison with the data obtained in the previous experiment on assessing plasma clearance. The studies were conducted in 2024 in one of the livestock farms of the Pskov region of the dairy industry, Holsteinized cattle were used in the experiments,

average productivity is up to 5.5 thousand milk per year, age is 1 ± 0.2 years. The experimental animals were given a single injection of an isotonic solution of caffeine sodium benzoate (OOO Mosagrogen, Russia) at a dosage of 5 mg/kg, since this dosage is the safest in toxicological terms and the most representative in clinical terms. After 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 10, 12, 18 and 24 hours, urine was collected from the experimental animals by massaging the bladder [9], after which the caffeine levels were determined by the enzyme immunoassay method using the ELISA-Caffeine test system (manufacturer Gold Standard Diagnostics, USA) on a Stat Fax 4700 strip ELISA analyzer (USA). The results obtained were compared with the concentration of caffeine in blood plasma from the previous series of experiments by determining the correlation coefficient using the methods for calculating the Pearson, Spearman, and Fechner correlation coefficients. Renal and plasma clearance indices have a direct moderate relationship, which is confirmed by all methods of measuring the correlation coefficient. This relationship emphasizes the importance of the functional state of the kidneys for the systemic metabolism and pharmacokinetics of exogenous substances, as well as the possibility of applicability of this diagnostic model in practice.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Борисова, Е. О. Основы фармакокинетики лекарственных средств / Е. О. Борисова // Справочник поликлинического врача. – 2014. – № 6. – С. 44-51.
2. Хапалюк, А. В. Фармакокинетика лекарственных средств: взаимосвязь особенностей всасывания с терапевтической эффективностью и безопасностью / А. В. Хапалюк // Лечебное дело: научно-практический терапевтический журнал. – 2022. – № 1(80). – С. 16-26.
3. Проблемы химико-аналитических лабораторий при исследовании фармакокинетики лекарственных средств / Е. И. Савельева, Т. И. Алюшина, Г. В. Каракашев, А. С. Радилов // Молекулярные и биологические аспекты химии, фармацевтики и фармакологии: сборник тезисов докладов пятой Междисциплинарной конференции, Судак, 15–18 сентября 2019 года. – Судак: Издательство "Перо", 2019. – С. 78.
4. Основы фармакокинетики и фармакодинамики лекарственных средств: учебное пособие / Е.В. Бибарцева, О.А. Науменко, Е.С. Барышева, А.Н. Сизенцов, Оренбургский гос. ун-т. – Оренбург: ОГУ, 2021. – 94 с.
5. Мирошников, М. В. Обзор методов определения скорости клубочковой фильтрации в доклинических исследованиях / М. В. Мирошников, М. А. Ковалева, К. Т. Султанова // Лабораторные животные для научных исследований. – 2024. – № 3. – С. 66-77. – DOI 10.57034/2618723X-2024-03-06.
6. Клиническая фармакокинетика. Практика дозирования лекарств: Спец. выпуск серии «Рациональная фармакотерапия» / Ю. Б. Белоусов, К. Г. Гуревич. — М.: Литтерра, 2005. — 288 с.
7. Биохимия печени и лабораторная оценка ее физиолого-биохимического состояния: учебно-методическое пособие / О. С. Белоновская, А. А. Лисицына, Л. Ю. Карпенко, А. А. Бахта. – Санкт-Петербург: Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины, 2014. – 116 с.
8. JANUS, K., & ANTOSZEK, J. (2000). The effect of sex and age on caffeine pharmacokinetics in cattle. Research in Veterinary Science, 69(1), 33–37.
9. Мотузко, Н. С. Физиология мочевыделения сельскохозяйственных животных: учебно-методическое пособие / Н. С. Мотузко, В. К. Гусаков; Учреждение образования "Витебская ордена "Знак Почета" государственная академия ветеринарной медицины". – Витебск: Без издательства, 2003. – 19 с.
10. Фармакокинетические параметры кофеина у крупного рогатого скота в контексте оценки функционального состояния печени/ О. С. Попова, В. С. Понамарев, А. В. Кострова, Л. А. Агафонова // Международный вестник ветеринарии. – 2024. – № 3. – С. 177-181. – DOI 10.52419/issn2072-2419.2024.3.177.
11. Саадалов, Т. Методика расчета коэф-

фициента корреляции Фехнера и Пирсона, и их области применения / Т. Саадалов, Р. Мырзаибраимов, Ж. Д. Абдуллаева // Бюллетень науки и практики. – 2021. – Т. 7, № 10. – С. 270-276. – DOI 10.33619/2414-2948/71/31.
12. Павлова, К. В. Применение коэффициента ранговой корреляции Спирмена в статистических исследованиях / К. В. Павлова // Наука УИС. – 2023. – Т. 3, № 3(3). – С. 28-32.

REFERENCES

1. Borisova, E. O. Fundamentals of Pharmacokinetics of Medicines / E. O. Borisova // Handbook of a Polyclinic Doctor. - 2014. - No. 6. - P. 44-51.
2. Khapalyuk, A. V. Pharmacokinetics of Medicines: Relationship between Absorption Features and Therapeutic Efficacy and Safety / A. V. Khapalyuk // General Medicine: Scientific and Practical Therapeutic Journal. - 2022. - No. 1 (80). - P. 16-26.
3. Problems of chemical analytical laboratories in the study of drug pharmacokinetics / E. I. Savelyeva, T. I. Alyushina, G. V. Karakashev, A. S. Radilov // Molecular and biological aspects of chemistry, pharmaceuticals and pharmacology: collection of abstracts of reports of the fifth Interdisciplinary Conference, Sudak, September 15-18, 2019. - Sudak: Pero Publishing House, 2019. - P. 78.
4. Fundamentals of pharmacokinetics and pharmacodynamics of drugs: a textbook / E. V. Bibartseva, O. A. Naumenko, E. S. Barysheva, A. N. Sizentsov, Orenburg State University. - Orenburg: OSU, 2021. - 94 p.
5. Miroshnikov, M. V. Review of methods for determining the glomerular filtration rate in preclinical studies / M. V. Miroshnikov, M. A. Kovaleva, K. T. Sultanova // Laboratory animals for scientific research. - 2024. - No. 3. - P. 66-77. - DOI 10.57034/2618723X-2024-03-06.
6. Clinical pharmacokinetics. Practice of drug dosing: Special. issue of the series "Rational pharmacotherapy" / Yu. B. Belousov, K. G. Gurevich. - M.: Litterra, 2005. - 288 p.
7. Biochemistry of the liver and laboratory assessment of its physiological and biochemical state: a teaching aid / O. S. Belonovskaya, A. A. Lisitsyna, L. Yu. Karpenko, A. A. Bakhta. - St. Petersburg: St. Petersburg State Academy of Veterinary Medicine, 2014. - 116 p.
8. JANUS, K., & ANTOSZEK, J. (2000). The effect of sex and age on caffeine pharmacokinetics in cattle. Research in Veterinary Science, 69(1), 33–37.
9. Motuzko, N. S. Physiology of urination in farm animals: a teaching aid / N. S. Motuzko, V. K. Gusakov; Educational Institution "Vitebsk Order of the Badge of Honor State Academy of Veterinary Medicine". – Vitebsk: Without publishing house, 2003. – 19 p.
10. Pharmacokinetic parameters of caffeine in cattle in the context of assessing the functional state of the liver / O. S. Popova, V. S. Ponomarev, A. V. Kostrova, L. A. Agafonova // International Bulletin of Veterinary Medicine. – 2024. – No. 3. – P. 177-181. – DOI 10.52419/issn2072-2419.2024.3.177.
11. Saadalov, T. Methodology for calculating the Fechner and Pearson correlation coefficient, and their areas of application / T. Saadalov, R. Myrzaibraimov, Zh. D. Abdullaeva // Bulletin of Science and Practice. – 2021. – Vol. 7, No. 10. – P. 270-276. – DOI 10.33619/2414-2948/71/31.
12. Pavlova, K. V. Application of Spearman's rank correlation coefficient in statistical research / K. V. Pavlova // Science of UIS. – 2023. – Vol. 3, No. 3(3). – P. 28-32.

УДК: 616.36-07:619
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.4.200

ДИАГНОСТИКА ЗАБОЛЕВАНИЙ ПЕЧЕНИ У КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА С ПОМОЩЬЮ КЛИРЕНСА КОФЕИНА, НА ПРИМЕРЕ ЖИРОВОГО ГЕПАТОЗА

Попова О. С.* – канд. ветеринар. наук, доц. каф. фармакологии и токсикологии (ORCID 0000-0002-0650-0837)

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины»

* alef_z@mail.ru

Ключевые слова: *жировой гепатоз, крупный рогатый скот, фармакокинетика, клиренс-тесты*

Финансирование: *Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 23-26-00011, https://rscf.ru/project/23-26-00011*

Поступила: 25.10.2024 **Принята к публикации: 02.12.2024**
Опубликована онлайн:16.12.2024

РЕФЕРАТ

Печеночная элиминация является функцией взаимодействия между различными процессами, такими как синусоидальное поглощение, внутриклеточный метаболизм, каналикулярная (билиарная) секреция и синусоидальный отток. Целью нашего исследования было изучить взаимосвязь клинического состояния крупного рогатого скота с подтвержденным диагнозом жировой гепатоз, и метаболизмом кофеина-бензоата натрия. Исследования проведены в хозяйстве Псковской области, объектом исследования были голштинизированные коровы, у которых была проведена диспансеризация, по результатам которой были отобраны животные с жировым гепатозом. Опытным животным однократно вводился стерильный раствор кофеин-натрия бензоата (ООО «Мосагроген», Россия) в дозировке 5 мг/кг (согласно инструкции и отработанным ранее методикам). Группе контроля, здоровым животным, инъецировали такой же лекарственный препарат в аналогичной дозировке. Спустя 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 10, 12, 18 и 24 часа у подопытных животных отбирали кровь путём венепункции ярёмной вены, после чего уровни кофеина определяли методом иммуноферментного анализа по методике и с использованием тест-системы ИФА-Кофеин (производитель Gold Standard Diagnostics, США) на стриповом ИФА-анализаторе Stat Fax 4700 (США). Корреляционная модель диагностики патологий гепатобилиарной системы на основе клиренса кофеина исследовалась с помощью выявления коэффициентов корреляции (Спирмена и Пирсона). При нормальной функции печени кофеин элиминируется в ожидаемые сроки, однако при наличии патологий, наблюдается задержка («плато») в выводе вещества. На основании анализа полученных данных можно создавать прогностические модели, позволяющие ветеринарным специалистам не только диагностировать, но и формировать представление о течении заболеваний.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Гепатобилиарные заболевания включают в себя гетерогенную группу заболеваний печени и желчевыводящей системы, вызванных как инфекционными заболеваниями, так и неинфекционными заболеваниями, включая нарушения, вызванные эндотоксикозом, химическими веществами, неправильным кормлением, а также метаболическими нарушениями и сердечной недостаточностью.

Жировой гепатоз одно их часто встречающихся заболеваний у крупного рогатого скота. Печеночная элиминация является функцией взаимодействия между различными процессами, такими как синусоидальное поглощение, внутриклеточный метаболизм, каналикулярная (билиарная) секреция и синусоидальный отток.

Корреляционная модель диагностики патологий гепатобилиарной системы на основе клиренса кофеина представляет собой инновационное решение, позволяющее более точно выявлять нарушения в работе печени и желчного пузыря [1,2]. Методика включает определение клиренса кофеина с помощью пробы, основанной на его внутривенном введении и последующем анализе крови. В этом случае метаболизируемый экзогенный кофеин играет роль маркера по оценке состояния гепатобилиарной системы.

Поэтому **целью** нашего исследования было изучить взаимосвязь клинического состояния крупного рогатого скота с подтвержденным диагнозом жировой гепатоз, и метаболизмом кофеина-бензоата натрия.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Исследования проведены в хозяйстве Псковской области, объектом исследования были голштинизированные коровы, у которых была проведена диспансеризация, по результатам которой были отобраны животные с жировым гепатозом. Далее по принципу пар аналогов, была сформирована подопытная (n=20) и интактная (n=20) группы, состоящие из разнополых животных. Опытным животным однократно вводился стерильный раствор кофеин-натрия бензоата (ООО «Мосагроген», Россия) в дозировке 5 мг/кг (согласно инструкции и отработанным ранее методикам), как наиболее репрезентативной в клиническом отношении [3]. Группе контроля, здоровым животным, инъецировали такой же лекарственный препарат в аналогичной дозировке.

Спустя 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 10, 12, 18 и 24 часа у подопытных животных отбирали кровь путём венепункции ярёмной вены, после чего уровни кофеина определяли методом иммуноферментного анализа по методике и с использованием тест-системы ИФА-Кофеин (производитель Gold Standard Diagnostics, США) на стриповом ИФА-анализаторе Stat Fax 4700 (США). Корреляционная модель диагностики патологий гепатобилиарной системы на основе клиренса кофеина исследовалась с помощью выявления коэффициентов корреляции (Спирмена и Пирсона) [4].

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Диагноз жировой гепатоз был поставлен на основании биохимических исследований, у коров наблюдали общее угнетение, гипотонию рубца, тусклый и ломкий шерстный покров. В лабораторных исследованиях особое внимание уделяли печеночным показателям: АсАт, АлАт, Общий билирубин, соотношение активности сывороточных АСТ и АЛТ. Данные представлены в таблице 1. Так же проводили исследования по оценке уровня эндогенной интоксикации по концентрации МСМ, а уровень процессов перекисного окисления по МДА [5].

Концентрация молекул средней массы 257, усл.ед составила 0,354±0,010 для животных с жировым гепатозом, и 0,157±0,002 для здоровых животных, соответственно МДА составил 1,72±0,13 и 1,15±0,14

Сравнительный анализ полученных данных с нормами, установленными для здоровых животных, позволяет выявить изменения и провести корреляцию между показателями крови и состоянием организма, на уроне метаболизма кофеина,

Исследования подразумевают построение графиков элиминации кофеина, взятых у пациентов с различными заболеваниями гепатобилиарной системы. Эти графики служат основой для вычисления коэффициента клиренса, который отражает способность печени метаболизировать и выводить кофеин. Коэффициент корреляции Спирмена применялся для изучения не линейных зависимостей, тогда как коэффициент Пирсона использовался для определения линейных отношений между переменными [6].. Полученные данные по элиминации кофеина представлены в таблице 2.

Полученные данные могут указывать на наличие хронических заболеваний печени, таких как воспалительные и дегенеративные, а также на дисфункцию желчного пузыря. Важно отметить, что такая корреляционная модель может быть дополнительно откалибрована путем учета индивидуальных особенностей животного, включая возраст и сопутствующие заболевания [6].

Таблица 1 – Релевантные показатели крови крупного рогатого скота в начале эксперимента

Показатель	Группа 1, контрольная	Группа 2, подопытная
Общий белок, г/л	85,6±1,96	72,6±4,25
АсАт, Ед/л	86,3±4,12	110,3±4,68
АлАт, Ед/л	23,7±3,20	35,3±2,14
Общий билирубин, мкмоль/л	5,47±0,59	9,12±0,74
Мочевина, ммоль/л	4,53±0,47	3,24±0,36

*Примечание: степень достоверности * p≤0,05.*

Таблица 2 – Концентрация кофеина у подопытных животных и основные фармакокинетические параметры

Т после введения / пол животных	Концентрация кофеина (в мкг/мл$^{-1}$)		Общий плазменный клиренс (мл/мин$^{-1}$/кг$^{-1}$)		Среднее время пребывания (ч)		Объём распределения (л/кг$^{-1}$)	
	Подопытная группа (n=20)	Контрольная группа (n=20)	Подопытная группа (n=20)	Контрольная группа (n=20)	Подопытная группа (n=20)	Контрольная группа (n=20)	Подопытная группа (n=20)	Контрольная группа (n=20)
1 час	7,20±0,54	7,35±0,05						
2 часа	6,23±0,27	6,28±0,98						
3 часа	5,48±0,36	5,78±0,68						
4 часа	4,78±0,34	4,69±0,58						
5 часов	3,86±0,49	3,98±0,53						
6 часов	3,30±0,24	3,25±0,42	**2,32± 0,05**	**1,52± 0,09**	**6,70± 0,22**	**5,5± 0,09**	**0,442± 0,06**	**32± 0,05**
8 часов	2,84±0,20	2,91±0,57						
10 часов	2,53±0,64	2,46±0,24						
12 часов	1,78±0,27	1,73±0,31						
18 часов	1,23±0,09	0,81±0,23						
24 часа	0,52±0,54	0,37±0,36						

** достоверное отличие между ♂ и ♀ (p< 0,05).*

При нормальной функции печени кофеин элиминируется в ожидаемые сроки, однако при наличии патологий, наблюдается задержка («плато») в выводе вещества. На основании анализа полученных данных можно создавать прогностические модели, позволяющие ветеринарным специалистам не только диагностировать, но и предсказывать течение заболеваний. Данный метод улучшает персонализированный подход в ходе лечения, позволяя адаптировать терапию в зависимости от индивидуальных особенностей животного.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Анализ показал, что снижение клиренса кофеина (в среднем, на 7-11% для «хронических» и 32-38% для «острых» патологий) коррелировало с ухудшением функционального состояния печени (определяемых по классическим клинико-биохимическим параметрам).

Данные о клиренсе кофеина у различных видов могут стать основой для индивидуализированных схем диагностики, позволяя более точно выявлять патологические изменения и оптимизировать стратегии лечения. Использование этой модели в ветеринарной практике может значительно улучшить качество диагностики и повысить эффективность лечебных вмешательств.

DIAGNOSTICS OF LIVER DISEASES IN CATTLE USING CAFFEINE CLEARANCE, WITH FATTY HEPATOSIS AS AN EXAMPLE

Popova O.S. [*] – Associate Professor, Ph.D. of Veterinary Science, Department of Pharmacology and Toxicology (ORCID 0000-0002-0650-0837)

St. Petersburg State University of Veterinary Medicine

[*] alef_z@mail.ru

Financing: *The study was supported by the Russian Science Foundation grant No. 23-26-00011, https://rscf.ru/project/23-26-00011.*

ABSTRACT

Hepatic elimination is a function of interactions between various processes, such as sinusoidal absorption, intracellular metabolism, canalicular (biliary) secretion and sinusoidal outflow. The aim of our study was to investigate the relationship between the clinical condition of cattle with a confirmed diagnosis of fatty hepatosis and the metabolism of sodium caffeine benzoate. The studies were conducted on a farm in the Pskov region; the object of the study was Holsteinized cows, which underwent a medical examination, according to the results of which animals with fatty hepatosis were selected. The experimental animals were injected once with a sterile solution of sodium caffeine benzoate (OOO Mosagrogen, Russia) at a dosage of 5 mg / kg (according to the instructions and previously developed methods). The control group, healthy animals, were injected with the same drug in a similar dosage. After 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 10, 12, 18 and 24 hours, blood was collected from the experimental animals by venipuncture of the jugular vein, after which caffeine levels were determined by the enzyme immunoassay method using the ELISA-Caffeine test system (manufacturer Gold Standard Diagnostics, USA) on a Stat Fax 4700 strip ELISA analyzer (USA). The correlation model for diagnosing hepatobiliary pathologies based on caffeine clearance was studied by identifying correlation coefficients (Spearman and Pearson). With normal liver function, caffeine is eliminated within the expected time frame, but in the presence of pathologies, a delay ("plateau") in the elimination of the substance is observed. Based on the analysis of the data obtained, it is possible to create prognostic models that allow veterinary specialists not only to diagnose, but also to form an idea of the course of diseases.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1.Количественная оценка функции печени методом клиренс-теста с индоцианином зеленым / И. И. Дзидзава, Б. Н. Котив, Д. П. Кашкин [и др.] // Трансплантология. – 2010. – № 1. – С. 30-37

2.Modern Methods for Assessing the Regenerative Potential of the Liver after Partial Hepatectomy (Review) / S. A. Rodimova, D. S. Kuznetsova, N. V. Bobrov [et al.] // Modern Technologies in Medicine. – 2019. –Vol. 11, No. 4. – P. 175-190
3.Janus, K., Antoszek, J. The effect of sex and age on caffeine pharmacokinetics in cattle. Research in Veterinary Science. - 2000.-№ 69(1), p.33–37
4.Лукьянова, Е. А. Биостатистика. Планирование исследований. Описание данных / Е. А. Лукьянова, Т. В. Ляпунова, Е. М. Шимкевич. –Москва: Российский университет дружбы народов (РУДН), 2020. – 32 с. – ISBN 978-5-209-10559-6.
5.Алехин Ю. Н. Влияние метода отбора крови на риск механического гемолиза эритроцитов у телят здоровых и с синдромом эндогенной интоксикации / Ю. Н. Алехин, М. С. Жуков, Г. В. Никоненко // Международный вестник ветеринарии. – 2022. – № 1. – С. 110-116.
6.. Проблемы химико-аналитических лабораторий при исследовании фармакокинетики лекарственных средств / Е. И. Савельева, Т. И. Алюшина, Г. В. Каракашев, А. С. Радилов // Молекулярные и биологические аспекты химии, фармацевтики и фармакологии: сборник тезисов докладов пятой Междисциплинарной конференции, Судак, 15–18 сентября 2019 года. – Судак: Издательство "Перо", 2019. – С. 78.
7.Павлова, К. В. Применение коэффициента ранговой корреляции Спирмена в статистических исследованиях / К. В. Павлова // Наука УИС. – 2023. – Т. 3, № 3 (3). – С. 28-32.

REFERENCES

1. Quantitative assessment of liver function by the indocyanine green clearance test / I. I. Dzidzava, B. N. Kotiv, D. P. Kashkin [et al.] // Transplantology. - 2010. - No. 1. - P. 30-37
2. Modern Methods for Assessing the Regenerative Potential of the Liver after Partial Hepatectomy (Review) / S. A. Rodimova, D. S. Kuznetsova, N. V. Bobrov [et al.] // Modern Technologies in Medicine. - 2019. -Vol. 11, No. 4. - P. 175-190
3. Janus, K., Antoszek, J. The effect of sex and age on caffeine pharmacokinetics in cattle. Research in Veterinary Science. - 2000.-№ 69(1), p.33–37
4. Lukyanova, EA Biostatistics. Research planning. Data description / EA Lukyanova, TV Lyapunova, EM Shimkevich. – Moscow: Peoples' Friendship University of Russia (RUDN), 2020. – 32 p. – ISBN 978-5-209-10559-6.
5. Alekhine Yu. N. Effect of blood sampling method on the risk of mechanical hemolysis of erythrocytes in healthy calves and those with endogenous intoxication syndrome / Yu. N. Alekhine, MS Zhukov, GV Nikonenko // International Bulletin of Veterinary Medicine. – 2022. – No. 1. – P. 110-116.
6. Problems of chemical analytical laboratories in the study of drug pharmacokinetics / E. I. Savelyeva, T. I. Alyushina, G. V. Karakashev, A. S. Radilov // Molecular and biological aspects of chemistry, pharmaceuticals and pharmacology: collection of abstracts of reports of the fifth Interdisciplinary Conference, Sudak, September 15-18, 2019. - Sudak: Pero Publishing House, 2019. - P. 78.
7. Pavlova, K. V. Application of Spearman's rank correlation coefficient in statistical studies / K. V. Pavlova // Science UIS. - 2023. - Vol. 3, No. 3 (3). - P. 28-32.

ЗООГИГИЕНА, САНИТАРИЯ, КОРМЛЕНИЕ

УДК: 547.[874.14+495.2]:637.12.072
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.4.205

ВЛИЯНИЕ МЕЛАМИНА И МОЧЕВИНЫ НА ПОКАЗАТЕЛИ КАЧЕСТВА МОЛОКА

Калюжная Т.В. * – канд. ветеринар. наук, доц., доц. каф. ветеринарно-санитарной экспертизы (ORCID 0000-0002-8682-1840); **Дрозд А.В.** – канд. ветеринар. наук, асс. каф. физической культуры и основ военной подготовки (ORCID 0000-0002-4575-7213); **Алмакаева Д.С.** – студ. 4 курса факультета ветеринарно-санитарной экспертизы; **Жмуркина П.С. –** магистрант 2 курса факультета ветеринарно-санитарной экспертизы.

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины»

*tomagafk087@mail.ru

Ключевые слова: *молоко, мочевина, меламин, ультразвук, показатели качества, фальсификация молока.*

Keywords: *milk, urea, melamine, ultrasound, quality indicators, milk adulteration.*

Финансирование: *Работа выполнена при поддержке Министерства сельского хозяйства Российской Федерации в рамках государственного задания за счет средств федерального бюджета (соглашение №082-03-2024-253 от 26.01.2024)*

Поступила: 25.10.2024 **Принята к публикации: 02.12.2024**
Опубликована онлайн:16.12.2024

РЕФЕРАТ

Добавление меламина и мочевины в молоко способствует повышению содержания белка, который является одним из главных критериев оценки его качества. Это связано с тем, что определение белка проводят вычислением по методу Кьедаля, устанавливая содержание азота небелкового и белкового, а меламин и мочевина содержат молекулы этого вещества в своем составе. Интересным вопросом является влияние этих фальсифицирующих компонентов на показатели качества молока. Основным методом определения этих показателей является ультразвуковой, реализуемый с помощью анализаторов молока. Однако в них не предусмотрено определение меламина и мочевины, которые обнаруживают методами высокоэффективной жидкостной хроматографии и колориметрическим соответственно. Следовательно, выявить фальсификацию молока меламином и мочевиной с помощью ультразвуковых анализаторов не представляется возможным. Целью работы являлось определение влияния меламина и мочевины при их добавлении на показатели качества молока, определяемые с помощью ультразвукового анализатора «Лактан 1-4». Работу проводили поэтапно на базе учебно-исследовательского центра экспертизы пищевых продуктов и кормов для животных ФГБОУ ВО «Санкт-

Петербургский государственный университет ветеринарной медицины». Объектами для исследований служили пробы сырого молока с различной концентрацией меламина и мочевины. В результате исследований установлена зависимость показателей качества молока от концентрации мочевины и меламина в нём. При этом, выявлено, что чем больше концентрация этих веществ в молоке, тем выше значение таких его показателей как плотность и массовые доли белка, жира.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

С развитием спроса на молочную продукцию участились случаи ее фальсификации, в том числе молока. Среди фальсифицирующих компонентов наиболее распространены такие как вода, сухое молоко, растительные жиры и другие заменители молочного жира, но особое место занимают такие вещества, как мочевина и её производное – меламин.

Добавление меламина и мочевины в молоко способствует повышению содержания белка, который, в свою очередь, является одним из главных критериев оценки его качества при приёме на молокоперерабатывающие предприятия. Это связано с тем, что определение белка проводят вычислением по методу Кьедаля, устанавливая содержание азота небелкового и белкового, а меламин и мочевина содержат его молекулы в своем составе. В соответствии с установленными требованиями в нормативных документах, количество данных веществ не должно превышать предельно-допустимые значения: для меламина –не более 1 мг/кг, для мочевины – не более 40 мг%.

При этом, интересным вопросом является влияние этих фальсифицирующих компонентов на такие показатели качества молока как плотность, массовая доля жира, массовая доля белка.

Основным инструментальным методом определения этих показателей качества молока является ультразвуковой, реализуемый с помощью анализаторов молока типа «Клевер», «Лактан» и другие. Этот метод основан на измерении скорости и степени затухания ультразвуковых колебаний при прохождении их в молоке. Однако в этих анализаторах не предусмотрено определение меламина и мочевины, которые обнаруживают методами высокоэффективной жидкостной хроматографии и колориметрическим соответственно. Следовательно, выявить фальсификацию молока меламином и мочевиной с помощью ультразвуковых анализаторов не представляется возможным.

Поэтому вопрос влияния различных концентраций мочевины и меламина на показатели качества молока является актуальным.

Целью работы являлось определение влияния меламина и мочевины при их добавлении на показатели качества молока, определяемые с помощью ультразвукового анализатора «Лактан 1-4».

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Работу проводили поэтапно на базе учебно-исследовательского центра экспертизы пищевых продуктов и кормов для животных ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургского государственного университета ветеринарной медицины» в 2024 году. Объектами для проведения исследований служили пробы сырого молока с различной концентрацией меламина и мочевины (таблица 1).

В ходе эксперимента устанавливали такие показатели качества исследуемых проб молока с заданной концентрацией мочевины и меламина как плотность, массовая доля жира и массовая доля белка с помощью ультразвукового анализатора молока «Лактан 1-4» (ООО ВПК «Сибагроприбор»).

На первом этапе исследовали пробы молока без меламина и мочевины, а полученные результаты принимали за контроль, затем на следующем этапе – пробы молока с меламином и мочевиной. Для достоверности полученных результатов исследование одной пробы проводили не менее 5 раз и вычисляли среднее арифметическое значение.

Таблица 1 – Концентрация меламина и мочевины в пробах молока

№ пробы	Компонент	Концентрация меламина, мг/кг	№ пробы	Компонент	Концентрация мочевины, мг%
1	Молоко контроль	0	12	Молоко контроль	0
2	Молоко + меламин	0,1	13	Молоко + мочевина	5
3	Молоко + меламин	0,5	14	Молоко + мочевина	10
4	Молоко + меламин	1,0	15	Молоко + мочевина	15
5	Молоко + меламин	1,5	16	Молоко + мочевина	20
6	Молоко + меламин	2,0	17	Молоко + мочевина	25
7	Молоко + меламин	2,5	18	Молоко + мочевина	30
8	Молоко + меламин	3,0	19	Молоко + мочевина	35
9	Молоко + меламин	5,0	20	Молоко + мочевина	40
10	Молоко + меламин	10,0	21	Молоко + мочевина	45
11	Молоко + меламин	25,0	22	Молоко + мочевина	50

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

В результате проведенных исследований проб молока с определёнными концентрациями мочевины и меламина можно сделать вывод, что при их добавлении в молоко показатели его качества значительно изменялись, и это зависело от концентрации данных веществ в анализируемой пробе (таблица 2 и 3).

Анализируя результаты исследований, представленные в таблицах 2 и 3, установили, что массовая доля белка при концентрации мочевины, установленной как ПДК в нормативных документах, увеличивалась в 1,62 раза по сравнению с контролем, а при концентрации меламина равной ПДК - в 1,08 раза. Показатель массовая доля жира увеличивался при вышеуказанных концентрациях меламина и мочевины в 1,05 и 1,82 раз соответственно, а плотность – в 1,01 и 1,04 раза.

Проводя анализ полученных результатов, можно сделать вывод, что добавление меламина и мочевины в молоко повышает количественные показатели, определяемые с помощью ультразвуковых анализаторов (рисунок 1 и 2). Так, при концентрации меламина в молоке 0,5 мг/кг прибор «Лактан 1-4» определяет повышение массовой доли белка на 0,06%, массовой доли жира - на 0,05%, а плотности - на 2,94 кг/м^3 по сравнению с контролем, а при концентрации 1,0 мг/кг показатель массовой доли белка при сравнении с контролем увеличивается на 0,26%, массовой доли жира - на 0,12%, а плотности - на 9,6 кг/м^3.

При концентрации мочевины в молоке 10 мг% установлено повышение массовой доли белка на 0,16%, массовой доли жира – на 0,29%, плотности – на 5,66 кг/м^3, по сравнению с контролем, а при концентрации 40 мг% выявлено повышение массовой доли белка на 2,02%, массовой доли жира на 2,17 %, а плотности на 46 кг/м^3.

Таблица 2 – Показатели качества молока в зависимости от концентрации мочевины

Концентрация мочевины, мг%	Показатели		
	Массовая доля белка, %	Массовая доля жира, %	Плотность, кг/м^3
Контроль	3,26±0,02	2,64±0,01	1028,71±0,02
5	3,28±0,01	2,71±0,02	1028,94±0,09
10	3,42±0,04	2,93±0,01	1034,37±0,02
15	3,65±0,06	3,01±0,04	1047,31±0,05
20	3,78±0,09	3,56±0,03	1052,55±0,01
25	3,91±0,02	3,72±0,01	1059,74±0,08
30	4,23±0,05	3,98±0,07	1062,22±0,04
35	4,89±0,07	4,17±0,05	1069,51±0,02
40	5,28±0,08	4,81±0,04	1074,18±0,09
45	6,35±0,07	5,13±0,02	1085,89±0,06
50	7,21±0,03	5,52±0,09	1096,91±0,02

Таблица 3 – Показатели качества молока в зависимости от концентрации меламина

Концентрация меламина, мг/кг	Показатели		
	Массовая доля белка, %	Массовая доля жира, %	Плотность, кг/м^3
Контроль	3,26±0,02	2,64±0,02	1028,71±0,02
0,1	3,26±0,01	2,64±0,03	1028,72±0,09
0,5	3,32±0,04	2,69±0,05	1031,65±0,02
1,0	3,52±0,06	2,76±0,01	1038,31±0,05
1,5	3,72±0,09	2,95±0,04	1045,55±0,01
2,0	3,85±0,02	3,24±0,03	1051,79±0,08
2,5	4,06±0,05	3,62±0,06	1058,81±0,04
3,0	4,29±0,07	3,81±0,07	1064,51±0,02
5,0	4,51±0,08	4,14±0,05	1079,12±0,09
10,0	6,15±0,07	5,04±0,04	1088,23±0,06
25,0	8,22±0,03	6,16±0,08	1096,91±0,02

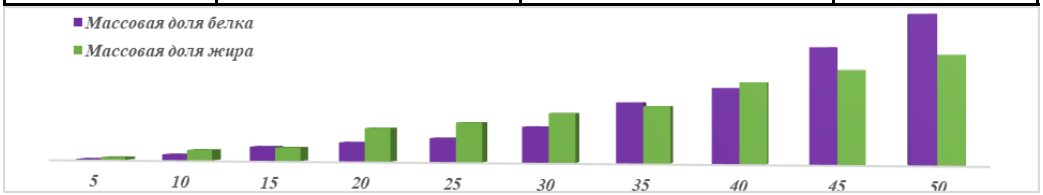


Рисунок 1 – Динамика изменения показателей массовая доля жира и белка в зависимости от концентрации мочевины в молоке.

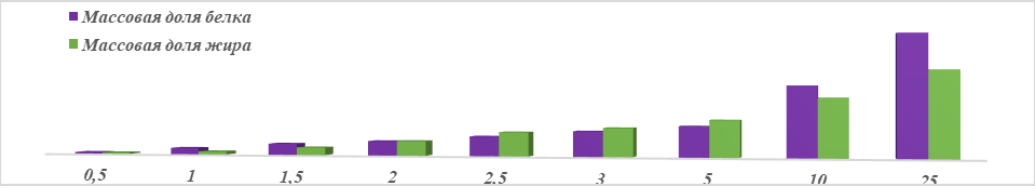


Рисунок 2 – Динамика изменения показателей массовая доля жира и белка в зависимости от концентрации меламина в молоке.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Таким образом, установлена зависимость показателей качества молока от концентрации мочевины и меламина в нём. При этом, выявлено, что чем больше концентрация исследуемых веществ в молоке, тем выше значение таких его показателей как массовые доли белка, жира и плотность.

Предполагаем, что повышение показателей качества молока при добавлении меламина и мочевины, определяемые ультразвуковыми анализаторами, связаны с влиянием молекул азота данных химических веществ на скорость и степень затухания ультразвуковых колебаний.

Полученные данные об изменении показателей качества молока в зависимости от концентрации меламина и мочевины следует учитывать при проведении экспертизы молока с помощью ультразвуковых анализаторов на перерабатывающих предприятиях.

INFLUENCE OF MELAMINE AND UREA ON MILK QUALITY INDICATORS

Kalyuzhnaya T.V.* - Candidate of Veterinary Sciences, Associate Professor of the Department of Veterinary and Sanitary Expertise (ORCHID 0000-0002-8682-1840); **Drozd A.V. -** Candidate of Veterinary Sciences, Assistant of the Department of Physical Culture and Fundamentals of Military Training (ORCID 0000-0002-4575-7213); **Almakaeva D.S.** – 4th year undergraduate student of the Faculty of Veterinary and Sanitary Expertise; **Zhmurkina P.S.** - 1st year undergraduate student of the Faculty of Veterinary and Sanitary Expertise.

St. Petersburg State University of Veterinary Medicine

*tomagafk087@mail.ru

Financing: *The work was carried out with the support of the Ministry of Agriculture of the Russian Federation within the framework of the state task at the expense of the federal budget (Agreement No. 082-03-2024-253 dated 01/26/2024)*

ABSTRACT

The addition of melamine and urea to milk helps to increase the protein content, which is one of the main criteria for evaluating its quality. This is due to the fact that the determination of protein is directly related to its calculation by the non-protein and protein nitrogen determined by the Kjedal method, and melamine and urea contain nitrogen molecules in their composition. An interesting question is the effect of these adulterating components on milk quality indicators. The main method for determining these indicators is ultrasonic, implemented using milk analyzers. However, they do not provide for the determination of melamine and urea, which are determined by high-performance liquid chromatography and colorimetric methods, respectively. Therefore, it is not possible to detect the adulteration of milk with melamine and urea using ultrasonic analyzers. The aim of the work was to determine the effect of melamine and urea when added to milk quality indicators determined using an ultrasonic analyzer "Lactane 1-4". The work was carried out in stages on the basis of the educational and research center for the examination of food and animal Feed of the St. Petersburg State University of Veterinary Medicine. The objects for research were samples of raw milk with different concentrations of melamine and urea. Thus, the dependence of milk quality indicators on the

concentration of urea and melamine in it has been established. At the same time, it was found that the higher the concentration of these substances in milk, the higher the value of its indicators such as mass fractions of protein, fat and density.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1.Дрозд, А. В. К вопросу о методах идентификации меламина в молоке и продуктах его переработке / А. В. Дрозд, П. С. Жмуркина // Международный вестник ветеринарии. – 2024. – № 2. – С. 180-189. Режим доступа: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=68597290

2.Дубова Е. А. Об «истинном» белке и содержании мочевины в молоке / Е. А. Дубова, Л. А. Буйлова, Н. Г. Острецова, Е. Г. Гуляев, О. В. Инихова // Молочная промышленность. 2017. – № 4. – С. 48-49. Режим доступа: https://elibrary.ru/item.asp?edn=yhxahn&ysclid=m2k7znh6mu466718106

3.Калюжная, Т. В. Изучение спектральных характеристик меламина для оценки безопасности молока и продуктов его переработки при лабораторном контроле / Т. В. Калюжная, А. В. Дрозд // Международный вестник ветеринарии. – 2024. – № 2. – С. 166-171. Режим доступа: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=68597287

4.Лепилкина, О. В. Ультразвуковые и инфракрасные анализаторы: особенности применения / О. В. Лепилкина, И. В. Логинова // Молочная промышленность. – 2023. – № 2. – С. 31-33. Режим доступа: https://elibrary.ru/item.asp?id=50155952

5.Мордвинова, А.О. Фальсификация кисломолочной продукции и метрологические проблемы ее выявления / А.О. Мордвинова // Электронный научный журнал «Международный студенческий научный вестник». - 2017. - №4 (ч.2). - С. 153-157. Режим доступа: https://s.eduherald.ru/pdf/2017/4-2/17370.pdf

6.Шидловская, В. П. К вопросу о содержании мочевины в молоке и методах ее определения / В. П. Шидловская, Е. А. Юрова // Молочная промышленность. – 2012. – № 4. – С. 42-44. Режим доступа: https://elibrary.ru/item.asp?id=17674969&ysclid=m2k89vgpi1463105263

REFERENCES

1.Drozd, A.V. On the issue of methods for the identification of melamine in milk and its processed products / A.V. Drozd, P. S. Zhmurkina // International Bulletin of Veterinary Medicine. 2024:2:180-189. URL: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=68597290 (In Russ.)

2.Dubova E.A., Builova L.A., Ostretsova N.G., Gulyaev E.G., Inikhova O.V. On the "true" protein and urea content in milk // Dairy industry. 2017: 4: 48-49. URL: https://elibrary.ru/item.asp?edn=yhxahn&ysclid=m2k7znh6mu466718106 (In Russ.)

3.Kalyuzhnaya, T. V. The study of the spectral characteristics of melamine for assessing the safety of milk and its processed products during laboratory control / T. V. Kalyuzhnaya, A.V. Drozd // International Bulletin of Veterinary Medicine. 2024:2:166-171. URL: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=68597287 (In Russ.)

4.Lepilkina, O. V. Ultrasonic and infrared analyzers: application features / O. V. Lepilkina, I. V. Loginova // Dairy industry. 2023:2:31-33. URL: https://elibrary.ru/item.asp?id=50155952 (In Russ.)

5.Mordvinova, A.O. Falsification of fermented milk products and metrological problems of its detection / A.O. Mordvinova // Electronic scientific journal "International Student Scientific Bulletin". 2017: 4:2:153-157. URL: https://s.eduherald.ru/pdf/2017/4-2/17370.pdf. (In Russ.)

6.Shidlovskaya V.P., Yurova E.A. On the issue of urea content in milk and methods of its determination / V.P. Shidlovskaya, E.A. Yurova //Dairy industry. 2012:4:42-44. URL: https://elibrary.ru/item.asp?id=17674969&ysclid=m2k89vgpi1463105263 (In Russ.)

УДК: 636.5.033
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.4.211

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ЭКСТРАКТА *QUERCUS CORTEX* И ЛАКТОБИФАДОЛА В РАЦИОНЕ: РАСХОД И ПЕРЕВАРИМОСТЬ КОРМА, ПОКАЗАТЕЛИ РОСТА БРОЙЛЕРОВ

Букарева Е.А.* – канд. биол. наук, ст. науч. сотр. лаборатории молекулярно-генетических исследований в животноводстве (ORCID 0000-0002-1622-1284), **Лазебник К.С.** – мл. науч. сотр. лаборатории молекулярно-генетических исследований в животноводстве (ORCID 0000-0003-4907-9656); **Дускаев Г.К.** – д-р биол. наук, вед. науч. сотр. отдела кормления сельскохозяйственных животных и технологии кормов им. С. Г. Леушина (ORCID 0000-0002-9015-8367); **Рахматуллин Ш.Г.** – канд. биол. наук, ст. науч. сотр. отдела кормления сельскохозяйственных животных и технологии кормов им. С. Г. Леушина (ORCID 0000-0003-0143-9499)

ФГБНУ «Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий Российской академии наук»

* elenka_rs@mail.ru

Ключевые слова: бройлеры, рацион, экстракт *Quercus cortex*, лактобифадол, рост, переваримость корма.

Key words: broilers, diet, *Quercus cortex* extract, lactobifadol, growth, feed digestibility.

Финансирование: *Исследования выполнены по теме НИР № FNWZ-2022-0010.*

Поступила: 28.08.2024 **Принята к публикации: 02.12.2024**
Опубликована онлайн:16.12.2024

РЕФЕРАТ

Цель работы – оценка эффективности применения фитобиотика (*Quercus cortex*) и пробиотического препарата (лактобифадола) в качестве кормовых добавок при выращивании цыплят-бройлеров. Исследования проводились на базе вивария и ЦКП ФНЦ БСТ РАН (Оренбург, Россия) на основании общепринятых в птицеводстве зоотехнических методов. Научная новизна основывается на том, что повышение производительности птицеводства и получение качественной продукции, достигается за счет исключения из рациона кормления антибактериальных препаратов. Их использование может вызвать не только положительные эффекты, но и отрицательные последствия, такие как токсические или аллергические реакции, а также возможное попадание остатков антибиотиков в продукцию через потребление мяса бройлеров. В настоящее время научное и практическое внимание сосредоточено на поиске и изучении альтернативных кормовых добавок, а также их комбинированном воздействии. В результате было установлено, что животные, получающие добавки, потребляли меньшее количество корма, демонстрировали более высокие темпы роста относительно контрольной группы. Прирост живой массы тела цыплят, получавших экстракт *Quercus cortex* и лактобифидол по отдельности, увеличивался на 9,54 и 6,75 %, при снижении расхода корма на 5,68 и 7,01 %, соответственно. Максимальный достоверный

прирост живой массы бройлеров (16,9 % ($p \leq 0,01$)) отмечен на фоне совместного скармливания экстракта *Quercus cortex* и лактобифадола, на фоне снижения расхода корма (8,39 %), относительно контроля. Более того, было отмечено улучшение переваримости корма у животных, получающих добавки. Таким образом, синергетический эффект экстракта *Quercus cortex* и лактобифадола на прирост живой массы бройлеров, расход и переваримость питательных веществ корма был более выражен, чем при индивидуальном добавлении в рацион цыплят-бройлеров экстракта *Quercus cortex* и лактобифадола. Данный комплекс веществ может быть эффективным средством для улучшения пищеварения и роста бройлеров.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Основным фактором, способствующим повышению производительности быстрорастущего подсектора сельского хозяйства и ветеринарии, а именно птицеводческой отрасли, и получению качественной продукции, является исключение из рациона кормления антибактериальных препаратов. Это связано с тем, что применение антибиотиков в профилактических целях в качестве добавок в рационы широко используется в птицеводстве по всему миру и помимо благоприятных эффектов, таких как улучшение состояния кишечника, благодаря снижению нагрузки патогенных микробов, сокращение субклинических инфекций, повышение продуктивности, улучшение показателей роста и эффективности конверсии корма [1], а также простоте использования и низкой стоимости имеет и негативные последствия в виде токсических или аллергических эффектов, ухудшения качества мяса, за счет замены пищевого белка подкожным жиром, снижения продуктивности, происходящего вследствие роста дозы антибиотика, благодаря их непрерывному применению [2], к тому же за счет аккумуляции применяемых препаратов в мясе бройлеров, существует вероятность их попадания в организм потребителя. Кроме этого, колоссальную опасность представляет и развитие антибиотикорезистентности микроорганизмов, признанная в настоящее время одной из важнейших угроз общественному здоровью в мире и развивающейся благодаря нерациональному и неизбирательному использованию антибиотиков, из-за этого инфекции, которые обычно успешно излечиваются антибиотиками, становится трудно, а порой невозможно вылечить, что в итоге приводит к увеличению числа заболевших особей и падежу [3]. А так как устойчивое производство бройлеров требует не только максимальной производительности, но также включает в себя благополучие птицы, людей и защиту окружающей среды, то по этой причине с 1 января 2006 года в страны Европейского союза ввели запрет на использование всех видов антибиотиков-стимуляторов роста. На территории Российской Федерации прямой запрет на применение кормовых антибиотиков отсутствует, единственное ограничение состоит в том, что установлены нормативы содержания антибиотиков в пределах, определенных соответствующими методиками [4,5].

В связи с этим к настоящему времени определенный научный и практический интерес кормовых и фармацевтических компаний направлен на поиски и изучение альтернативных кормовых добавок, а также их комбинированного воздействия. В качестве альтернативы синтетическим растет интерес к натуральным добавкам в питании животных, что обусловлено их потенциальным положительным воздействием, кроме того, во многих регионах применение натуральных кормовых добавок может быть экономически выгодным [6]. При этом идеальные альтернативы должны соответствовать ряду требований, оказывая благоприятное воздействие, обеспечивая оптимальную продуктивность животных и повышая доступность питательных веществ. Помимо этой задачи перед производителями кормовых добавок стоит и задача производства добавок с бактерицидным эффектом. В данном случае подход, основанный на ингибировании Q*uorum sensing*, становится

все более популярным в разработке новых антибактериальных препаратов. *Quorum sensing* – это способность бактерий обмениваться информацией о популяционной плотности и координировать свои действия на основе этой информации, что играет ключевую роль в формировании биопленок и вирулентности бактерий, делая их более устойчивыми к антибиотикам и иммунному ответу организма-хозяина. Ингибиторы «кворума» помогают предотвратить формирование биопленок и снизить вирулентность бактерий, делая их более уязвимыми к антибиотикам, тем самым, устраняя их способность вызывать инфекции. Эта стратегия имеет потенциал в разработке новых способов лечения инфекций, особенно в случаях, когда бактерии становятся устойчивыми к стандартным антибиотикам. Научные исследования в этой области продолжаются, и возможно, что в будущем ингибиторы *Quorum sensing* станут частью широкого спектра антибактериальных препаратов [7].

На рынке представлено более десятка решений, которые предлагают вышеперечисленные свойства на разных уровнях эффективности. Эффективность некоторых из них подтверждена как на лабораторном уровне, так и в условиях птицеводческих ферм [8]. Среди них можно выделить фитобиотики и пробиотики, повышающие продуктивность и сохранность поголовья, улучшающие пищеварение и функции кишечника, обладающие антиоксидантной и противомикробной активностью, направленной на широкий спектр микроорганизмов, включая как грамположительных, так и грамотрицательных бактерий, таких как *Escherichia, Salmonella, Staphylococcus, Klebsiella, Proteus, Bacillus, Clostridium и Mycobacterium* [9], а также снижающие влияние тяжелых металлов, что в результате позволяет получить экологически чистую продукцию птицеводства [10].

Принимая во внимание вышеизложенное, реализация поиска веществ, направленных на антибиотикозамещение, имеет важное значение. С целью изучения эффективности использования кормовых добавок фитобиотика – экстракта коры дуба (*Quercus cortex*) и пробиотического препарата – лактобифадола на основе *Lactobacillus acidophilus* и *Bifidobacterium adolescentis* при выращивании бройлеров были поставлены задачи по определению показателей роста бройлеров и влияние на расход и переваримость корма при введение изучаемых кормовых добавок и их комплекса в рацион птицы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Объект исследования. Цыплята-бройлеры (кросс Арбор Айкрес).

Используемые вещества. Экстракт коры дуба (*Quercus cortex*) и пробиотик лактобифадол.

Эксперимент проводился на базе вивария и Центра коллективного пользования ФНЦ БСТ РАН (https://ckp-rf.ru/ckp/77384/) (Оренбург, Россия). В таблице 1 представлена схема данного исследования.

Таблица 1 – Схема экспериментального исследования

Группа	Количество бройлеров в группе, гол	Рацион питания
Контрольная	30	ОР
I		ОР + экстракт *Quercus cortex* (2,0 мл/кг живой массы)
II		ОР + лактобифадол (0,2 г/кг живой массы)
III		ОР + экстракт *Quercus cortex* (2,0 мл/кг живой массы) + лактобифадол (0,2 г/кг живой массы)

Примечание: ОР – основной рацион.

Согласно рекомендациям и требованиям ВНИТИП (2010), в помещении был установлен соответствующий микроклимат. Согласно рекомендациям ВНИТИП (2010) групповым способом осуществлялось кормление и поение. Период исследования: 42 дня (три повторности).

Ежедневно (утром, до кормления) определяли показатели живой массы и прироста. Показатели поедаемость и расхода корма при выращивании бройлеров рассчитывались ежедневно.

Экспериментальные данные обрабатывались с использованием методов статистического анализа при помощи программы «Statistica 10.0» («Stat Soft Inc.», США).

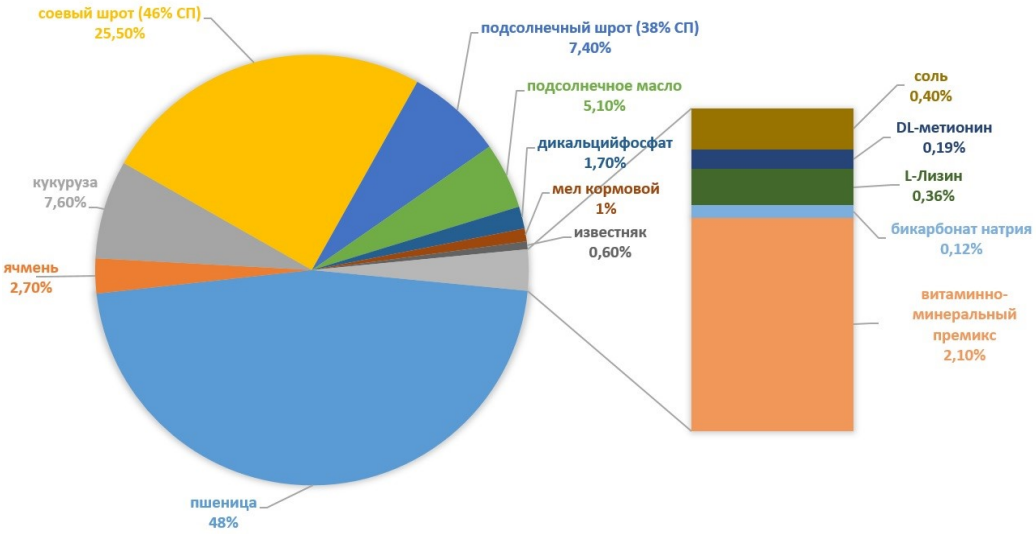


Рисунок 1 – Состав рациона бройлеров, %.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Динамика живой массы в группах в период исследования различалась (Рис. 2).

В период всего эксперимента живой вес в группах, которым скармливали экстракт *Quercus cortex* (I группа) и лактобифадол (II группа), была больше относительно контроля. Достоверные различия в живой массе были обнаружены в конце опыта (42 дня) с прибавкой 8,83 % и 6,12 % ($p < 0,01$) в I и II группах, соответственно по сравнению с контрольными значениями. Максимально высокий показатель живого веса отмечен на фоне совместного использования в рационе экстракта *Quercus cortex* и лактобифадола (III группа), в конце эксперимента (42 дня), превышающего контрольное значение на 15,64 % ($p < 0,01$).

Прирост живой массы тела цыплят, получавших экстракт *Quercus cortex* (в дозе 2,0 мл/кг) (I группа) увеличивался на 9,54 % (Рис. 3А), хотя расход корма снижался (5,68 %) относительно контроля. Скармливание лактобифидола бройлерам в дозе 0,2 г/кг (II группа) увеличивало прирост живого веса птицы на 6,75 %, при снижении расхода корма на 7,01 %, относительной контрольной группы. Максимальный достоверный прирост живой массы бройлеров (16,9 % ($p \leq 0,01$)) отмечен на фоне совместного скармливания экстракта *Quercus cortex* (в дозе 2,0 мл/кг) и лактобифадола (в дозе 0,2 г/кг) (III группа), на фоне снижения расхода корма (8,39 %), относительно контроля (Рис. 3Б).

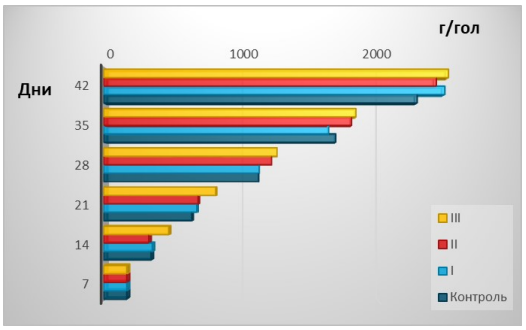


Рисунок 2 – Динамика живого веса бройлеров, г/гол.

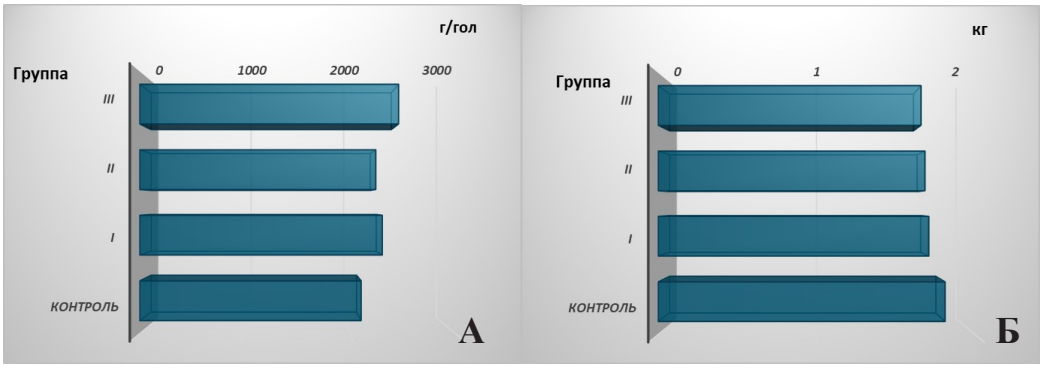


*Рисунок 3 – Среднесуточный прирост бройлеров (**А**), г/гол и расход корма (**Б**), кг.*

Переваримость СВ, СЖ, СП и углеводов при внесении экстракта *Quercus cortex* (в дозе 2,0 мл/кг) (I группа) в стартовый рацион увеличивалась на 2,69; 1,04; 3,64 и 1,15 %, соответственно, относительно контрольной группы. Тенденция увеличения коэффициентов переваримости питательных веществ (СВ, СЖ, СП и углеводы) сохраняется при внесении в стартовый рацион лактобифидола (в дозе 0,2 г/кг) (II группа), а именно на 3,93 %; 7,55% ($p \leq 0,01$); 4,12 % ($p \leq 0,01$) и 3,56 %, соответственно, при сравнении с контрольной группой. Сочетание экстракта *Quercus cortex* (в дозе 2,0 мл/кг) и лактобифидола (в дозе 0,2 г/кг) (III группа) в стартовом рационе бройлеров повышало переваримость сухого вещества на 5,26 % ($p \leq 0,01$), сырого жира на 7,28 % ($p \leq 0,01$), сырого протеина на 4,85 % ($p \leq 0,01$) и углеводов на 3,51 %, относительно контрольной группы (Рис. 4А). Дополнительное введение в ростовой рацион экстракта *Quercus cortex* (в дозе 2,0 мл/кг) (I группа) сопровождалось достоверным увеличением коэффициентов переваримости СП на 3,78 % ($p \leq 0,01$), СЖ на 1,43 % ($p \leq 0,01$) на фоне незначительного увеличения переваримости СВ и углеводов на 0,52 и 0,18 %, относительно контроля. Аналогичная картина роста переваримости питательных веществ отмечена при внесении лактобифидола (в дозе 0,2 г/кг) (II группа) в ростовой рацион. Так, переваримость СВ увеличилась на 6,25 %, СЖ на 4,28 % ($p \leq 0,01$), СП на 6,37 % ($p \leq 0,01$) и углеводов на 5,46 %, при сравнении с контролем. Совместное использование экстракта *Quercus cortex* (в дозе 2,0 мл/кг) и лактобифидола (в дозе 0,2 г/кг) (III группа) в ростовом рационе бройлеров способствовало максимальному увеличению переваримости СВ, СЖ, СП и углеводов на 8,79 %, 8,82 % ($p \leq 0,01$), 6,99 % ($p \leq 0,01$) и 6,41 %, соответственно, относительно контрольной группы (Рис. 4Б).

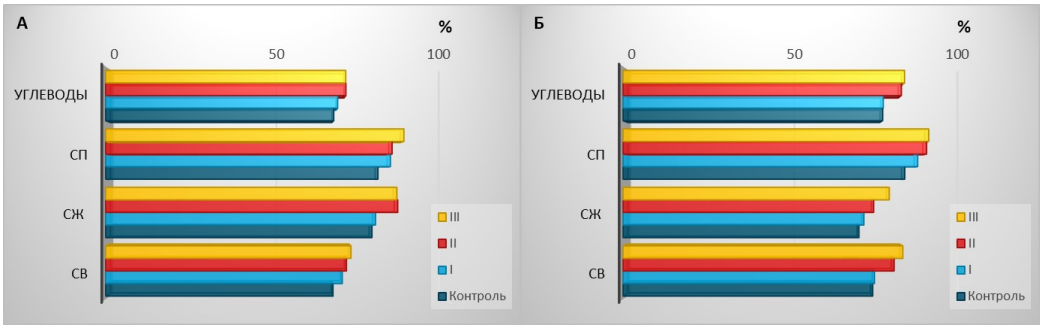


*Рисунок 4 – Стартовый (**А**) и ростовой (**Б**) рационы. Переваримость корма, %.*

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Таким образом, животные, получающие добавки, потребляли меньшее количество корма, демонстрировали более высокие темпы роста по сравнению с контрольной группой. Прирост живой массы тела цыплят, получавших экстракт *Quercus cortex* и лактобифидол по отдельности, увеличивался на 9,54 и 6,75 %, при снижении расхода корма на 5,68 и 7,01 %, соответственно. Максимальный достоверный прирост живой массы бройлеров (16,9 % ($p \leq 0,01$)) отмечен на фоне совместного скармливания экстракта *Quercus cortex* и лактобифадола, на фоне снижения расхода корма (8,39 %), относительно контроля. Более того, было отмечено улучшение переваримости корма у животных, получающих добавки.

Высокие темпы роста живой массы цыплят, расхода и усвоения питательных элементов корма были достигнуты благодаря более выраженному синергетическому эффекту, который был получен при совместном использовании экстрактов экстракта *Quercus cortex* и лактобифадола в рационе.

Благодаря потенциально широкому использованию таких композиций с высокой биологической активностью, их можно рассматривать как основу для разработки новых оригинальных структур противомикробных препаратов и, как следствие, в качестве будущих терапевтических агентов для использования в отраслях животноводства и птицеводства, как альтернативу антибиотикам.

THE USE OF *QUERCUS CORTEX* EXTRACT AND LACTOBIFADOL IN THE DIET: FODDER FLOW AND DIGESTIBILITY, GROWTH PERFORMANCE OF BROILERS

Bukareva E.A. * – Candidate of biological sciences, senior researcher, Federal Research Centre of Biological Systems and Agro-technologies of the Russian Academy of Sciences (ORCID 0000-0002-1622-1284), **Lazebnik K.S.** – Junior Researcher, Federal Research Centre of Biological Systems and Agro-technologies of the Russian Academy of Sciences (ORCID 0000-0003-4907-9656), **Duskaev G.K.** – doctor of biological sciences, chief researcher, Federal Research Centre of Biological Systems and Agro-technologies of the Russian Academy of Sciences (ORCID 0000-0002-9015-8367); **Rakhmatullin Sh.G.** – Candidate of biological sciences, senior researcher, Federal Research Centre of Biological Systems and Agro-technologies of the Russian Academy of Sciences (ORCID 0000-0003-0143-9499).

Federal Research Centre of Biological Systems and Agrotechnologies of the Russian Academy of Sciences

* elenka_rs@mail.ru

Financing: *The research was carried out under the theme of research work No. FNWZ-2022-0010.*

ABSTRACT

The objective of this study is to assess the efficacy of a combination of phytobiotic (*Quercus cortex*) and probiotic preparations

(lactobifadol) as feed additives in the growth of broiler chickens. The studies were conducted in accordance with accepted zootechnical methods in poultry farming, under controlled conditions in a vivarium and the Center for Collective Use FRC BST RAS (Orenburg, Russia). The scientific novelty of this study lies in the fact that the primary factor contributing to the enhancement of poultry productivity and the production of quality products is the exclusion of antibacterial drugs from the feed ration. The use of these substances can result in both beneficial and adverse effects. For instance, they may cause toxic or allergic reactions, and the ingestion of antibiotic residues through the consumption of broiler meat is also a possibility. Currently, there is a great deal of scientific and practical interest in the identification and study of alternative feed additives, as well as their combined effects. The results demonstrated that animals receiving supplements consumed less feed and exhibited higher growth rates compared to the control group. The live weight gains of chickens receiving *Quercus cortex* extract and lactobifidol separately increased by 9.54 and 6.75%, respectively, while feed consumption decreased by 5.68 and 7.01%, respectively. The maximum reliable gain in live weight of broilers (16.9% ($p \leq 0.01$)) was observed on the background of combined feeding of *Quercus cortex* extract and lactobifadol, on the background of reduced feed consumption by 5.68 and 7.01%, respectively.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1.Романова, Е. В., Петров В. В. Оценка качества и безопасности мяса птицы при использовании препарата ветеринарного «Мультиомицин 1%» / Е. В. Романова, В. В. Петров // Актуальные проблемы интенсивного развития животноводства. – 2018. – № 21. – С. 39–44. Режим доступа: https://cyberleninka.ru/article/n/otsenka-kachestva-i-bezopasnosti-myasa-ptitsy-pri-ispolzovanii-preparata-veterinarnogo-multiomitsin-1.

2.Тимофеев, Н. П. Фитобиотики в мировой практике: виды растений и действующие вещества, эффективность и ограничения, перспективы (обзор) / Н. П. Тимофеев // Аграрная наука Евро-Северо-Востока. – 2021. – Том 22. – № 6. – С. 804–825. DOI: 10.30766/2072-9081.2021.22.6.804-825. Режим доступа: https://www.agronauka-sv.ru/jour/article/view/897?locale=ru_RU.

3.Haulisah, N. A. High Levels of Antibiotic Resistance in Isolates from Diseased Livestock / N. A. Haulisah, L. Hassan, S. K. Bejo, S. M. Jajere, N. I. Ahmad // Frontiers in veterinary science. – 2021. – Vol. 8. – 652351 p. DOI: 10.3389/fvets.2021.652351. URL: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33869326.

4.Технический регламент Таможенного союза ТС 021/2011 «О безопасности пищевой продукции». Режим доступа: https://docs.cntd.ru/document/902320560.

5.Технический регламент Таможенного союза ТР ТС 034/2013 «О безопасности мяса и мясной продукции». Режим доступа: https://docs.cntd.ru/document/499050564.

6.Manuelian, C. L. Plant feed additives as natural alternatives to the use of synthetic antioxidant vitamins on livestock mammals' performances, health, and oxidative status: A review of the literature in the last 20 years / C. L. Manuelian // Antioxidants. – 2021. – Vol. 10. – No. 9. – 1461 p. DOI:10.3390/antiox10091461. URL: https://www.mdpi.com/2076-3921/10/9/1461.

7.Borges, A. New Perspectives on the Use of Phytochemicals as an Emergent Strategy to Control Bacterial Infections Including Biofilms / A. Borges, A. C. Abreu, C. Dias, M. J. Saavedra, F. Borges, M. Simões // Molecules. – 2016. – Vol. 21. – No. 877. – P. 2–41. DOI: 10.3390/molecules21070877. URL: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27399652.

8.Puvaca, N. The effect of using natural or biotic dietary supplements in poultry nutrition on the effectiveness of meat production / N. Puvaca, I. Brkic, M. Jahic, S. R. Nikolic, G. Radovic, D. Ivanisevic, M. Dokic, D. Boskovic, D. Illic, S. Brkanlic // Sustainability. – 2020. – Vol. 12. – 4373 p. DOI: 10.3390/su12114373. URL: https://www.mdpi.com/2071-1050/12/11/4373.

9. Wong, S. Y. Antibacterial activities of naturally occurring compounds against Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis / S. Y. Wong, I. R. Grant, M. Friedman, C. T. Elliott, C. Situ // Appl. Environ. Microbiol. – 2008. – Vol. 74. – 5986e90 p. DOI: 10.1128/AEM.00981-08. URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2565950.

10. Овсепьян, В. А. Применение кормовых добавок в рационах цыплят-бройлеров / В. А. Овсепьян, Н. А. Юрина, И. Р. Тлецерук, Д. А. Юрин. Краснодар: Краснодарский научный центр по зоотехнии и ветеринарии. – 2023. – 166 с. DOI: 10.48612/monograph-2023-1. URL: https://skniig.ru/page.php?287

REFERENCES

1. Romanova, E. V. Ocenka kachestva i bezopasnosti myasa pticy pri ispol`zovanii preparata veterinarnogo «Mul`tiomicin 1%» (Assessment of the quality and safety of poultry meat when using the veterinary drug "Multimycin 1%") / E. V. Romanova, V. V. Petrov // Actual problems of intensive development of animal husbandry.2018:21:39–44. URL: https://cyberleninka.ru/article/n/otsenka-kachestva-i-bezopasnosti-myasa-ptitsy-pri-ispolzovanii-preparata-veterinarnogo-multiomitsin-1 (In Russ.)

2. Timofeev, N. P. Fitobiotiki v mirovoj praktike: vidy` rastenij i dejstvuyushhie veshhestva, e`ffektivnost` i ogranicheniya, perspektivy` (obzor) (Phytobiotics in world practice: plant species and active substances, effectiveness and limitations, prospects (review)) / N. P. Timofeev // Agrarian science of the Euro-North-East.2021:22(6):804–825. – DOI: 10.30766/2072-9081.2021.22.6.804-825. URL: https://www.agronauka-sv.ru/jour/article/view/897?locale=ru_RU (In Russ.)

3. Haulisah N. A., Hassan L., Bejo S. K., Jajere S. M., Ahmad N. I. High Levels of Antibiotic Resistance in Isolates from Diseased Livestock. Frontiers in veterinary science. 2021:8:652351. – DOI: 10.3389/fvets.2021.652351. URL: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33869326

4. Texnicheskij reglament Tamozhennogo soyuza TS 021/2011 «O bezopasnosti pishhevoj produkcii» (Technical Regulations of the Customs Union CU 021/2011 «On food safety»). URL: https://docs.cntd.ru/document/902320560. (In Russ.)

5. Texnicheskij reglament Tamozhennogo soyuza TR TS 034/2013 «O bezopasnosti myasa i myasnoj produkcii» (Technical Regulations of the Customs Union TR CU 034/2013 «On the safety of meat and meat products»). URL: https://docs.cntd.ru/document/499050564 (In Russ.)

6. Manuelian, C. L. Plant feed additives as natural alternatives to the use of synthetic antioxidant vitamins on livestock mammals' performances, health, and oxidative status: A review of the literature in the last 20 years / C. L. Manuelian // Antioxidants.2021:10 (9):1461.

7. Borges, A. New Perspectives on the Use of Phytochemicals as an Emergent Strategy to Control Bacterial Infections Including Biofilms / A. Borges, A. C. Abreu, C. Dias, M. J. Saavedra, F. Borges, M. Simões // Molecules.2016:21(877): 2–41.

8. Puvaca, N. The effect of using natural or biotic dietary supplements in poultry nutrition on the effectiveness of meat production / N. Puvaca, I. Brkic, M. Jahic, S. R. Nikolic, G. Radovic, D. Ivanisevic, M. Dokic, D. Boskovic, D. Illic, S. Brkanlic // Sustainability.2020:12:4373. – DOI: 10.3390/su12114373. URL: https://www.mdpi.com/2071-1050/12/11/4373.

9. Wong, S. Y. Antibacterial activities of naturally occurring compounds against Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis / S. Y. Wong, I. R. Grant, M. Friedman, C. T. Elliott, C. Situ // Appl. Environ. Microbiol.2008:74:5986e90. – DOI: 10.1128/AEM.00981-08. URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2565950.

10. Ovsepyan, V. A. Primenenie kormovy`x dobavok v racionax cyplyat-brojlerov. (The use of feed additives in the diets of broiler chickens) / V. A. Ovsepyan, Yurina N. A., Tletseruk I. R., Yurin D. A. // Krasnodar: Krasnodar Scientific Center of Animal Science and Veterinary Medicine. 2023:166.

УДК: 547.874.14:637.12.074:543.422.3-74
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.4.219

МОДЕЛИРОВАНИЕ ГРАДУИРОВОЧНОЙ ЗАВИСИМОСТИ ДЛЯ ОЦЕНКИ СОДЕРЖАНИЯ МЕЛАМИНА В МОЛОКЕ С ПОМОЩЬЮ ИК-ФУРЬЕ-СПЕКТРОМЕТРА

Калюжная Т.В. * – канд. ветеринар. наук, доц., доц. каф. ветеринарно-санитарной экспертизы (ORCID 0000-0002-8682-1840).

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины»

*tomagafk087@mail.ru

Ключевые слова: *градуировочная зависимость, инфракрасная спектрометрия, ИК-Фурье спектрометр, спектрометрия в средней инфракрасной области, ИК – спектр, меламин.*

Keywords: *calibration dependence, infrared spectrometry, IR-Fourier spectrometer, mid-infrared spectrometry, IR spectrum, melamine.*

Финансирование: *Работа выполнена при поддержке Министерства сельского хозяйства Российской Федерации в рамках государственного задания за счет средств федерального бюджета (соглашение №082-03-2024-253 от 26.01.2024).*

Поступила: 25.10.2024 **Принята к публикации: 02.12.2024**
Опубликована онлайн:16.12.2024

РЕФЕРАТ

К перспективным методам лабораторного анализа, в том числе по определению содержания различных веществ в пищевых продуктах, можно отнести инфракрасную спектрометрию в ближней и средней области, позволяющую проводить идентификацию химических соединений. Наибольший интерес с научной и практической точки представляет метод ИК - спектрометрии в средней области, а именно применение его в качестве экспресс анализа для количественного определения содержания химических веществ. В научной литературе представлено мало работ по построению градуировочных характеристик для ИК-Фурье спектрометров с целью оценки параметров безопасности молока, в том числе по содержанию меламина. Цель работы заключалась в построении градуировочной зависимости для оценки содержания меламина в молоке с помощью ИК-Фурье спектрометров. Исследования проводили поэтапно на базе учебно-исследовательского центра экспертизы пищевых продуктов и кормов для животных ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины». В качестве материалов для исследований использовали стандартный образец меламина, пробы сырого молока без меламина и с меламином в различных концентрациях, установленных методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. На основании полученных результатов была построена модель градуировочной зависимости, позволяющая определить количественное содержание меламина в молоке при его добавлении с целью фальсификации белка. Применение таких моделей позволит проводить не только идентификацию химических веществ, но и определять их количество, что является перспективным направлением в разработке новых методик физико-химического анализа пищевых продуктов и сырья.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

В настоящее время для определения содержания меламина в молоке и молочных продуктах в практике лабораторного контроля широко применяется метод высокоэффективной жидкостной хроматографии. Однако воспроизведение данного метода связано с использованием дорогостоящего оборудования, такого как хроматограф жидкостный, детектор спектрофотометрический, колонки с сорбентами, а также сложной пробоподготовкой, включающей внесение химических реактивов и прочее [1; 2].

К более перспективным методам лабораторного анализа, в том числе по определению содержания различных веществ в пищевых продуктах можно отнести инфракрасную спектрометрию (ИК) в ближней и средней области, позволяющую проводить идентификацию химических соединений.

Применение метода ИК - спектрометрии для лабораторного анализа молока и молочных продуктов регламентируется ГОСТ 32255-2013 «Молоко и молочная продукция. Инструментальный экспресс-метод определения физико-химических показателей идентификации с применением инфракрасного анализатора (с Изменениями N 1, 2)», в котором описаны основанные принципы и порядок работ по исследованию молока и молочных продуктов с помощью ИК - спектрометрии в ближней области. Однако использование инфракрасных анализаторов предусматривает построение, а также регулярную поверку и корректировку обязательных градировочных моделей необходимых для точности полученных результатов исследований [3].

Наибольший интерес с научной и практической точки представляет метод ИК - спектрометрии в средней области, а именно применение его в качестве экспресс анализа для количественного определения содержания химических веществ [4; 5; 6; 7]. В научной литературе представлено мало работ по построению градуировочных характеристик для ИК-Фурье спектрометров с целью оценки параметров качества и безопасности молока и молочных продуктов, в том числе по содержанию меламина.

Цель работы заключалась в построении градуировочной зависимости для оценки содержания меламина в молоке с помощью ИК-Фурье спектрометров.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Исследования выполняли поэтапно на базе учебно-исследовательского центра экспертизы пищевых продуктов и кормов для животных ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургского государственного университета ветеринарной медицины» в 2024 году.

Материалами для исследований служили пробы сырого молока, пробы сырого молока с меламином в различных концентрациях и стандартный образец меламина (таблица 1).

На первом этапе осуществляли регистрацию ИК – спектров фона рабочей среды, молока сырого и стандартного образца 2,4,6-триамино-1,3,5-триазина (меламина) (ГК «ЛЮМЭКС», массовая доля основного вещества, не менее 99%).

На втором этапе в пробы молока добавляли меламин в разных количествах и устанавливали его концентрацию по методике М 04-54-2008 «Методика измерений массовой доли меламина в пробах пищевых продуктах и сырья для их производства методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) со спектрофотометрическим детектированием с использованием жидкостного хроматографа «Люмахром» (ГК «ЛЮМЭКС»).

На следующем этапе проводили регистрацию ИК – спектров проб молока с меламином, концентрацию которого установили на предыдущем этапе исследований и рассчитывали градуировочную зависимость на основании анализа полученных ИК-спектров.

Для регистрации ИК – спектров использовали приставку нарушенного полного внутреннего отражения (НПВО) с кристаллом **ZnSe** и Фурье-спектрометр инфракрасный «ИнфраЛюм ФТ-08», а для обработки полученных ИК – спектров и

построения градуировочных зависимостей - программу «СпектраЛЮМ» (ГК «ЛЮМЭКС»).

При расчете градуировочной зависимости использовали высоту или площадь пика идентификационной полосы поглощения, а аппроксимацию проводили с помощью линейного уравнения через 0, вычисляя коэффициент b по следующей формуле:

y=b×x,

где y - содержание компонента, а x – значение высоты или площади пика на спектре.

Для расчета выражений применяли метод наименьших квадратов. Точность полученной градуировочной зависимости определяли по коэффициенту детерминации (R^2) значение которого должно быть близко к 1.

Коэффициент детерминации вычисляется по формуле:

$$R^2 = 1 - \frac{\sum_{i=1}^{n}(y_i - \hat{y})^2}{\sum_{i=1}^{n}(y_i - \tilde{y})^2};$$

где $\hat{y}$ - предсказанное по градуировочной зависимости значение определяемого компонента для i-го образца градуировочного набора;

y_i - референтное значение определяемого компонента для i-го образца градуировочного набора;

$\tilde{y}$ - среднее значение определяемого компонента по всем образцам градуировочного набора;

n – количество образцов градуировочного набора.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

В результате определения меламина методом высокоэффективной жидкостной хроматографии в пробах молока после его добавления установили, что его концентрация составляла от 0,109 до 25,033 мг/кг (таблица 1). Для дальнейших исследований использовали эти же пробы молока с меламином.

Таблица 1 – Концентрация меламина в пробах молока

№ пробы	Концентрация меламина, мг/кг	№ пробы	Концентрация меламина, мг/кг
1	0,109	6	2,523
2	0,511	7	3,093
3	1,081	8	5,041
4	1,502	9	10,091
5	2,043	10	25,033

В результате изучения ИК – спектров стандартного образца меламина, молока без меламина и молока с добавленным в него меламином в различных концентрациях установили, что для построения градуировочной зависимости можно использовать полосу поглощения в среднем инфракрасном диапазоне 810 $см^{-1}$. На выбор этой полосы в качестве идентификационной повлиял ряд выявленных в результате анализа спектральных характеристик меламина, молока без меламина и молока с различными концентрациями меламина, факторов: во-первых, она присутствует во всех ИК - спектрах молока с концентрацией меламина от 1,0 до 25 мг/кг, во-вторых эта полоса отсутствует в спектре молока без меламина (рисунок 1). Отдельно следует отметить что эта полоса поглощения не визуализируется в ИК- спектрах молока с меламином при его концентрации меньше 1,0 мг/кг, но в рамках лабораторного анализа молока на содержание данного вещества эта величина соответствует установленному предельно-допустимому значению, указанному в Техническом регламенте Таможенного союза «О безопасности молока и молочной продукции».

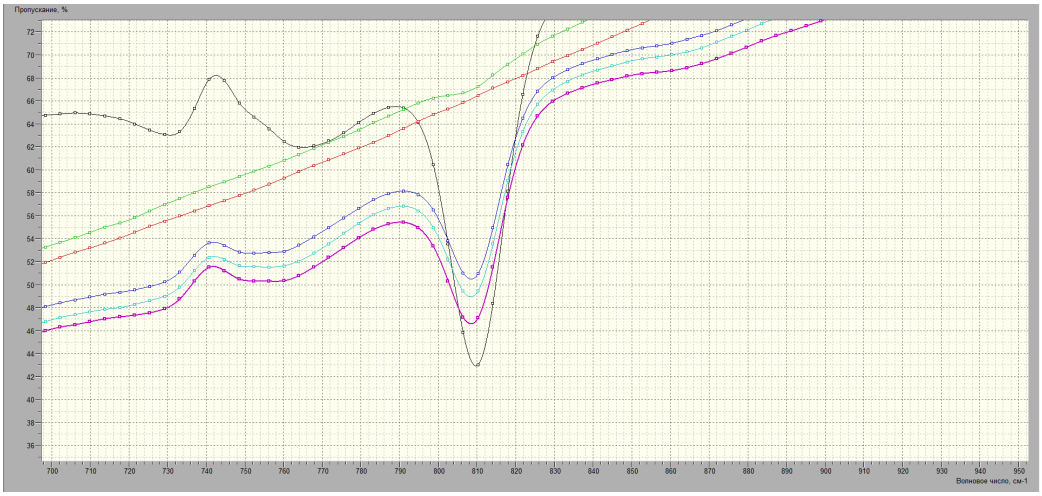


Рисунок 1 – Идентификационная полоса поглощения 810 см$^{-1}$ в исследуемых ИК – спектрах. A – стандартный образец меламина; B – молоко с концентрацией меламина 1,0 мг/кг; C – молоко сырое без меламина; D – молоко с концентрацией меламина 5,0 мг/кг; E - молоко с концентрацией меламина 10,0 мг/кг; F – молоко с концентрацией меламина 25 мг/кг

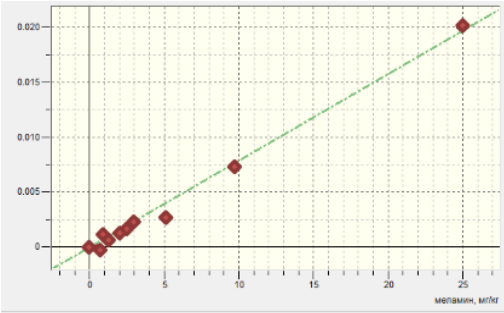


Рисунок 2 – Модель градуировочной зависимости по высоте пика.

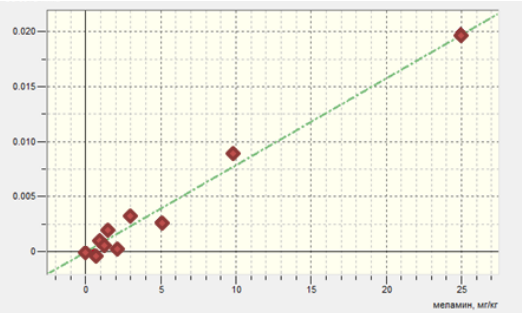


Рисунок 3 – Модель градуировочной зависимости по площади пика.

При расчете градуировочной зависимости по высоте пика идентификационной полосы поглощения значение коэффициента b составляло 0,000789, а коэффициента детерминации 0,994292 (рисунок 2). Аналогичные показатели при моделировании градуировочной зависимости по площади идентификационного пика составляли 0,078581 и 0,896784 соответственно (рисунок 3).

Анализируя полученные градуировочные зависимости по площади и высоте идентификационного пика, установили, что для количественного определения содержания меламина больше подходит модель, построенная по высоте пика, потому что именно при ее расчете коэффициент детерминации близок к 1. Это характеризует чувствительность данной градуировочной модели к интенсивности поглощения полосы 810 см$^{-1}$, характеризующей валентные связи C – N группы в ИК – спектрах молока с различным содержанием меламина.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

На основании полученных результатов была построена модель градуировочной зависимости, позволяющая опреде-

лить количественной содержание меламина в молоке при его добавлении в него с целью фальсификации белка.

Применение градуировочных моделей для ИК-Фурье-спектрометров, проводящих анализ в среднем инфракрасном диапазоне, позволит проводить не только идентификацию химических веществ, но и их количественное определение, что в свою очередь способствует упрощению лабораторных методов исследований и является перспективным направлением в разработке новых методик физико-химического анализа пищевых продуктов и сырья.

MODELING OF THE CALIBRATION DEPENDENCE FOR ESTIMATING THE MELAMINE CONTENT IN MILK USING AN IR FOURIER SPECTROMETER

Kalyuzhnaya T.V.* - Candidate of Veterinary Sciences, Associate Professor of the Department of Veterinary and Sanitary Expertise (ORCHID 0000-0002-8682-1840).

St. Petersburg State University of Veterinary Medicine

*tomagafk087@mail.ru

Financing: *The work was carried out with the support of the Ministry of Agriculture of the Russian Federation within the framework of the state task at the expense of the federal budget (Agreement No. 082-03-2024-253 dated 01/26/2024)*

ABSTRACT

Promising methods of laboratory analysis, including the determination of the content of various substances in food products, include near- and medium-range infrared spectrometry, which allows the identification of chemical compounds. The method of IR spectrometry in the medium range is of the greatest scientific and practical interest, namely its application as an express analysis for the quantitative determination of the content of chemicals. There are few works in the scientific literature on the construction of calibration characteristics for IR-Fourier spectrometers in order to assess the safety parameters of milk, including melamine content. The aim of the work was to construct a calibration dependence for estimating the melamine content in milk using IR-Fourier spectrometers. The research was carried out in stages on the basis of the educational and research Center for the examination of Food and Animal Feed of the St. Petersburg State University of Veterinary Medicine. A standard sample of melamine, samples of raw milk without melamine and with melamine in various concentrations determined by high-performance liquid chromatography were used as materials for research. Based on the results obtained, a model of calibration dependence was built, which makes it possible to determine the quantitative content of melamine in milk at its pressure in order to falsify protein. The use of such models will allow not only the identification of chemicals, but also to determine their quantity, which is a promising direction in the development of new methods of physico-chemical analysis of food products and raw materials.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1.Определение меламина методом спектроскопии диффузного отражения по его влиянию на формирование нанокомпозита золота и пенополиуретана / А. И. Исаченко, А. О. Мелехин, В. В. Апяри [и др.] // Журнал аналитической химии. – 2021. – Т. 76, № 3. – С. 227-233. Режим доступа: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=44652099

2.Дрозд, А. В. К вопросу о методах идентификации меламина в молоке и продуктах его переработке / А. В. Дрозд, П. С. Жмуркина // Международный вестник ветеринарии. – 2024. – № 2. – С. 180-189. Режим доступа: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=68597290

3.Чигасов, А. И. Изучение измерения М.Д. меламина методом ИК-спектроскопии в молоке и молочных продуктах / А. И. Чигасов // Международная научно-практическая конференция молодых учёных и специалистов отделения сельскохозяйственных наук Российской академии наук. – 2016. – № 1. – С. 409-

413. Режим доступа: https://elibrary.ru/item.asp?id=28417910
4.Kalyuzhnaya T. V. A. V. Drozd Identification of melamine in milk using mid-infrared spectrometry // BIO Web Conf. № 126. 2024. P 01022. Режим доступа:https://www.bioconferences.org/articles/bioconf/abs/2024/45/bioconf_aeea2024_01022/bioconf_aeea2024_01022.html
5.Калюжная, Т. В. Изучение спектральных характеристик меламина для оценки безопасности молока и продуктов его переработки при лабораторном контроле / Т. В. Калюжная, А. В. Дрозд // Международный вестник ветеринарии. – 2024. – № 2. – С. 166-171. Режим доступа: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=68597287
6.Калюжная, Т. В. Применение метода инфракрасной спектрометрии в среднем диапазоне для определения меламина в молоке/ Т. В. Калюжная // Международный вестник ветеринарии. – 2024. – № 3. – С. 188-193.
Режим доступа: https://spbguvm.ru/wp-content/uploads/2024/10/%D0%9C%D0%92%D0%92-3-2024
7.Коршунова, Н. А. Применение спектроскопии для оценки качества виноградных вин / Н. А. Коршунова, В. А. Романов, В. В. Евелева // Научный журнал НИУ ИТМО. Серия: Процессы и аппараты пищевых производств. – 2019. – № 3. – С. 42-51. Режим доступа: https://elibrary.ru/item.asp?id=41041195.

REFERENCES

1.Isachenko, A. I. et al. Determination of melamine by diffuse reflection spectroscopy by its effect on the formation of gold and polyurethane foam nanocomposite / A. I. Isachenko et al. // Journal of Analytical Chemistry. 2021:76:3:227-233. URL: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=44652099 (In Russ.)
2.Drozd, A.V. On the issue of methods for the identification of melamine in milk and its processed products / A.V. Drozd, P. S. Zhmurkina // International Bulletin of Veterinary Medicine. 2024:2:180-189. URL: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=68597290 (In Russ.)
3.Chigasov, A. I. Studying the measurement of M.D. melamine by IR spectroscopy in milk and dairy products / A. I. Chigasov // International scientific and practical conference of young scientists and specialists of the Department of Agricultural Sciences of the Russian Academy of Sciences. 2016:1: 409-413. URL: https://elibrary.ru/item.asp?id=28417910 (In Russ.)
4.Kalyuzhnaya T. V. A. V. Drozd Identification of melamine in milk using mid-infrared spectrometry // BIO Web Conf. № 126. 2024. P 01022. URL: https://www.bioconferences.org/articles/bioconf/abs/2024/45/bioconf_aeea2024_01022/bioconf_aeea2024_01022.html
5.Kalyuzhnaya, T. V. The study of the spectral characteristics of melamine for assessing the safety of milk and its processed products during laboratory control / T. V. Kalyuzhnaya, A.V. Drozd // International Bulletin of Veterinary Medicine. 2024:2:166-171. URL: y.ru/item.asp?id=68597287 (In Russ.)
6.Kalyuzhnaya, T. V. Application of the method of infrared spectrometry in the middle range for the determination of melamine in milk / T. V. Kalyuzhnaya // International Bulletin of Veterinary Medicine. 2024:3:188-193. URL: https://spbguvm.ru/wp-content/uploads/2024/10/%D0%9C%D0%92%D0%92-3-2024 (In Russ.)
7.Korshunova N. A. et al. The use of spectroscopy to assess the quality of grape wines / N. A. Korshunova, V. A. Romanov, V. V. Eveleva // Scientific journal NRU ITMOSeries «Processes and Food Production Equipment» 2019:3:42-51. URL: https:// https://elibrary.ru/item.asp?id=41041195 (In Russ.)

УДК: 619:636
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.4.225

ВЛИЯНИЕ КОРМОВОЙ ДОБАВКИ МОНОКАЛЬЦИЙФОСФАТ НА КОРОВ ДЖЕРСЕЙСКОЙ ПОРОДЫ С ПРИЗНАКАМИ ОСТЕОДИСТРОФИИ

Бирюков К.Н. – канд. ветеринар. наук, доц. каф. зоогигиены и птицеводства имени А.К. Даниловой (ORCID 0000-0002-2836-0628); **Рязанов И.Г. –** канд. с.-х. наук, доц. каф. зоогигиены и птицеводства имени А.К. Даниловой (ORCID 0000-0003-2825-5868); **Капитонова Е.А.*** – д-р биол. наук, доц., проф. каф. зоогигиены и птицеводства имени А.К. Даниловой (ORCID 0000-0003-4307-8433).

ФГБОУ ВО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА имени К.И. Скрябина»

*kapitonovalena1110@mail.ru

Ключевые слова: *монокальцийфосфат, остеодистрофия, крупный рогатый скот, кровь, сыворотка крови.*
Key words: *monocalcium phosphate, osteodystrophy, cattle, blood, blood serum.*

Поступила: 01.11.2024 **Принята к публикации: 02.12.2024**
Опубликована онлайн:16.12.2024

РЕФЕРАТ

Одним из распространенных нарушений у высокопродуктивных животных, является алиментарная остеодистрофия, которая приводит к значительным экономическим убыткам. Наиболее часто нарушение минерального обмена наблюдается у высокопродуктивных коров в период лактации, когда последние хвостовые позвонки у них размягчаются или совсем исчезают. Для достижения наилучших физиологических показателей дойных коров джерсейской породы, перед нами была поставлена задача, изучить практическую значимость использования кормовой добавки «Монокальцийфосфат» в лечении алиментарной остеодистрофии у коров джерсейской породы в условиях промышленного животноводства. Целью научно-исследовательской работы явилось установление влияния кормовой добавки «Монокальцийфосфат» при лечении алиментарной остеодистрофии у крупного рогатого скота. Нами было сформировано две группы животных, по принципу пар-аналогов по возрасту и живой массе (n=75). В контрольной группе осуществлялось кормление согласно общепринятого в хозяйстве рациона. В опытной группе «Монокальцийфосфат» вводился с кормом животных в течение 30 дней 100 г/гол. ежедневно. В течение первых пяти дней доза постепенно увеличивалась. В первый день добавку вводили из расчета 10 г/гол., во второй день – 20 г/гол., в третий – 40 г/гол., в четвертый – 60 г/гол., а затем 80 г/гол. однократно. Длительность наблюдений 30 суток. Кровь для анализа брали из яремной вены на шее утром, до кормления животных. Результаты эксперимента показали, что включение монокальцийфосфата в рацион животных оказало положительное влияние на клинический состав крови. В частности, в опытной группе увеличился уровень гемоглобина – на 3,2

%, общего белка – на 6,2 %, резервной щелочности – на 10,1 %, Ca – на 2,56 % и P – на 17,07 % при оптимизации соотношения микроэлементов. Таким образом, на основании проведенных исследований установлено, что применение «Монокальцийфосфат» в рационах дойного стада, способствует улучшению обменных процессов в организме животных, нормализации кальциевого обмена, а, следовательно, эффективному лечению алиментарной остеодистрофии.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Современное животноводство нуждается в улучшении эффективности профилактических и лечебных мероприятий [3, 12]. Одним из распространенных нарушений у высокопродуктивных животных, является алиментарная остеодистрофия, которая приводит к значительным экономическим убыткам. Недостаток макро- и микроэлементов в корме, его несбалансированность по основным питательным компонентам приводит к алиментарным болезням высокопродуктивных животных [1, 5, 9]. Наиболее часто нарушение минерального обмена наблюдается у высокопродуктивных коров в период лактации, когда последние хвостовые позвонки у них размягчаются или совсем исчезают. Установлено, что концентрация кальция в молоке не снижается даже при жестком его дефиците [8, 12].

Остеодистрофия может возникнуть из-за несбалансированности рациона, применения некачественных кормов, нарушения усвояемости питательных веществ, дисбаланса кальция и фосфора и множества других причин [10, 11]. Стельность и нарушение всасывания в желудочно-кишечном тракте обычно являются внутренними причинами деструктивных изменений в костной ткани. Также к остеодистрофии может привести и трансформация гормонального фона животного по причине нарушения работы желез внутренней секреции, интоксикации, хронического ацидоза и кетоза [3, 6]. У коров с нарушенной функцией паращитовидной железы вскоре после отела часто возникает родильный парез, который характеризуется пониженным содержанием кальция в сыворотке крови, мышечными судорогами, а в более тяжелых случаях – потерей сознания и параличом [2, 7].

В связи с вышеизложенным, актуальным становится поиск и применение доступного действенного решения, которое поможет снизить, а в лучшем случае и полностью устранить последствия заболевания.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Целью – установить влияние добавки «Монокальцийфосфат» при лечении алиментарной остеодистрофии у крупного рогатого скота джерсейской породы.

Эксперименты были проведены на коровах дойного стада джерсейской породы Ступинского района Московской области. Для оценки эффективности препарата было исследовано 150 голов в возрасте от 4 до 5 лет с явными признаками остеодистрофии. Для проведения эксперимента использовался «Монокальцийфосфат» (производитель АО «Апатит») содержащий Ca 16% и P 22% [4]. Нами было сформировано две группы животных, по принципу параналогов по возрасту и живой массе (n=75). По окончанию эксперимента были взяты пробы крови для проведения морфологических и биохимических исследований.

Все животные прошли клиническое обследование, включающее осмотр, пальпацию, перкуссию и аускультацию, а также изучение условий содержания, рациона питания и факторов, способствующих возникновению и развитию заболевания. В контрольной группе осуществлялось кормление согласно общепринятого в хозяйстве рациона. В опытной группе «Монокальцийфосфат» вводился с кормом животных в течение 30 дней 100 г/гол. ежедневно. В течение первых пяти дней доза постепенно увеличивалась. В первый день добавку вводили из расчета 10 г/гол., во второй день – 20 г/гол., в третий – 40 г/гол., в четвертый – 60 г/гол., а затем 80 г/гол. однократно. Длительность наблюдений 30 суток. Кровь для анализа

брали из подкожной вены на шее утром, до кормления животных.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

По окончанию эксперимента общее физиологическое состояние животных улучшилось, нормализовался аппетит, исчез симптом «лизухи». Были отмечены улучшения в работе опорно-двигательного аппарата, животные легче поднимались, исчезла болезненность в конечностях, движения стали более активными.

По окончанию эксперимента у коров дойного стада была взята кровь для проведения общеклинического исследования (таблица 1).

По данным таблицы можно сделать вывод, что у животных из опытной группы наблюдалось улучшение показателей крови по сравнению с контрольной группой. Уровень гемоглобина в опытной группе увеличился – на 3,2 %, что указывает на положительное воздействие «Монокальцийфосфат» на физиологические процессы в организме. Результаты лейкограммы представлены в таблице 2.

В группе испытуемых животных наблюдалось незначительное увеличение уровня лимфоцитов на 2,1 %, по сравнению с группой контроля. Другие показатели крови опытной группы имели незначительные изменения, различия не достоверны. Однако, было замечено уменьшение количества эозинофилов на 7,5 %, палочкоядерных нейтрофилов – на 12,9 % и сегментоядерных – на 3,2 % при увеличении числа моноцитов – на 10,2 %. Результаты биохимического анализа крови представлены в таблице 3.

Таблица 1 – Клинические показатели крови, (M±m, n=75)

Показатель	Единица измерения	Группа	
		контрольная	опытная
Лейкоциты	$^{x}10^{9}$/л	7,62±0,17	7,67±0,18
Эритроциты	$^{x}10^{12}$/л	6,32±0,18	6,47±0,15
Гемоглобин	г/л	102,7±1,9	106,0±1,7

Таблица 2 – Лейкограмма, % (M±m, n=75)

Показатель		Группа	
		контрольная	опытная
Лимфоциты		61,2±1,1	62,4±1,1
Моноциты		3,8±0,5	4,2±0,8
Базофилы		0	0
Эозинофилы		4,0±0,7	3,7±0,6
Нейтрофилы	палочкоядерные	3,1±0,9	2,7±0,5
	сегментоядерные	27,8±1,2	26,9±1,6

Из таблицы 3 видно, что после применения «Монокальцийфосфат» показатель общего белка у животных опытной группы увеличилось на 6,2 % ($p<0,05$). При увеличении уровня Ca – на 2,56 % и P – на 17,07 % произошла оптимизация соотношения микроэлементов до оптимальной физиологической нормы в опытной группе, по сравнению с контролем. Также отмечено заметное увеличение резервной щелочности – на 10,1 %, по сравнению с контрольной группой.

Таблица 3 – Биохимические показатели крови коров после лечения (M±m, n=75)

Показатель	Единица измерения	Группа	
		контрольная	опытная
Общий белок	г/л	67,31±1,88	71,47±1,95*
Альбумины	г/л	24,52±1,91	27,65±1,88*
Глобулины	г/л	42,7±2,71	44,0±3,52
Резервная щелочность	об. % CO_2	40,22±1,62	44,26±2.0*
Общий кальций	мкмоль/л	9,37±0,31	9,61±0,2
Неорганический фосфор	мкмоль/л	2,05±0,21	2,40±0,13*
Ca / P		1,6±0,04: 0,4±0,04	1,6±0,05: 0,5*±0,04
Mg	мкмоль/л	2,25±0,10	2,32±0,12
Креатинин	мкмоль/л	0,15±0,02	0,21±0,05
АсАТ	Ед/л	55,95±2,44	55,29±2,63
АлАТ	Ед/л	36,74±2,11	37,5±2,35
Мочевина	мкмоль/л	28,12±2.1	28,47±2,16
Щелочная фосфатаза	Ед/л	165,2±4,2	163,1±4,28
Общий билирубин	мкмоль	0,22±0,02	0,22±0,07

*Примечание: *- p<0,05*

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

На основании всего вышеизложенного можно сделать вывод, что применение «Монокальцийфосфат» в рационах дойного стада, способствует улучшению обменных процессов в организме животных, нормализации минерального обмена, а, следовательно, эффективному лечению алиментарной остеодистрофии. В частности, в опытной группе увеличился уровень гемоглобина – на 3,2 %, общего белка – на 6,2 %, резервной щелочности – на 10,1 %, Ca – на 2,56 % и P – на 17,07 % при оптимизации соотношения микроэлементов. Указанные изменения подтверждаются клиническими и биохимическими анализами крови.

INFLUENCE OF FEED ADDITIVE MONOCALCIUM PHOSPHATE FOR JERSEY COWS WITH SIGNS OF OSTEODISTROPHY

Biryukov K.N. – candidate of veterinary sciences Sc., Associate Professor of the Department of Animal Hygiene and Poultry Science named after A.K. Danilova (ORCID 0000-0002-2836-0628). **Ryazanov I.G.** – Ph.D. Sc., Associate Professor of the Department of Animal Hygiene and Poultry Science named after A.K. Danilova (ORCID 0000-0003-2825-5868). **Kapitonova E.A.*** – Doctor of Biology Sci., Associate Professor, Professor of the Department of Animal Hygiene and Poultry Science named after A.K. Danilova (ORCID 0000-0003-4307-8433).

Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology – MBA named after K.I. Scriabin

*kapitonovalena1110@mail.ru

ABSTRACT

One of the common disorders in highly productive animals is nutritional osteodystrophy, which leads to significant economic losses. Most often, a violation of mineral metabolism is observed in highly productive cows during lactation, when their last caudal vertebrae soften or completely disappear. To achieve the best physiological parameters of Jersey dairy cows, we were tasked with studying the practical significance of using the Monocalcium Phosphate feed additive in the treatment of nutritional osteodystrophy in Jersey cows in industrial

livestock farming conditions. The purpose of the research work was to establish the effect of the feed additive "Monocalcium phosphate" in the treatment of nutritional osteodystrophy in cattle. We formed two groups of animals, according to the principle of analogous pairs in age and live weight (n=75). The control group was fed according to the diet generally accepted on the farm. In the experimental group, "Monocalcium phosphate" was administered with animal feed for 30 days at a rate of 100 g/animal. daily. During the first five days, the dose was gradually increased. On the first day, the additive was introduced at the rate of 10 g/bird, on the second day – 20 g/bird, on the third – 40 g/bird, on the fourth – 60 g/bird, and then 80 g/bird. once. The duration of observations was 30 days. Blood for analysis was taken from the saphenous vein in the neck in the morning, before feeding the animals. The results of the experiment showed that the inclusion of monocalcium phosphate in the diet of animals had a positive effect on the clinical composition of the blood. In particular, in the experimental group the level of hemoglobin increased by 3.2%, total protein - by 6.2%, reserve alkalinity - by 10.1%, Ca - by 2.56% and P - by 17.07% at optimizing the ratio of microelements. Thus, based on the research conducted, it has been established that that the use of "Monocalcium phosphate" in the diets of dairy herds helps to improve metabolic processes in the body of animals, normalize mineral metabolism, and, consequently, prevent nutritional osteodystrophy.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Адсорбент микотоксинов «Беласорб» в кормлении сельскохозяйственных животных: рекомендации / Голушко В.М., Козинец А.И., Голушко О.Г. [и др.]. – Жодино, 2020. – 14 с.
2. Внутренние болезни животных / Г.Г. Щербаков, А.В. Коробов // Учебник для вузов. – Спб.: Изд. «Лань», 2005, 736 с.
3. Выращивание теленка от рождения до высокопродуктивной коровы: технологические: кормовые и ветеринарные аспекты: учебник для студентов высших учебных заведений, обучающихся по направлению подготовки 36.03.02 «Зоотехния» (квалификация - бакалавр) и 36.04.02 (квалификация - магистр) / Л.И. Подобед, Н.П. Буряков, Г.Ю. Лаптев [и др.] // Санкт-Петербург, 2017. – 580 с.
4. Герасимова, В. М. Кормовая добавка - монокальцийфосфат / В. М. Герасимова, А. А. Румянцева, К. А. Максимова // Modern Science. – 2020. – № 12-3. – С. 38-41. – EDN ICUKDB.
5. Козинец А.И. Разработка новых адсорбентов микотоксинов для повышения санитарного качества кормов и безопасности производства продуктов питания животного происхождения / Козинец А.И., Дубина И.Н., Капитонова Е.А. // Ученые Записки учреждения образования «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», 2021. – Т. 51. № 3. – С. 94-98.
6. Комплексная терапия и терапевтическая техника в ветеринарной медицине: учебное пособие / Под общей редакцией А.А. Стекольникова. – Спб.: Изд. «Лань», 2007 – 288с.
7. Кондрахин, И. П. Диспансеризация – важнейшее звено профилактики внутренних болезней животных / И. П. Кондрахин, В. И. Левченко, В. В. Влизло // Ветеринария. – 2011. – № 11. – С. 3-6.
8. Метаболические заболевания крупного рогатого скота / В. А. Мищенко, А. В. Мищенко, Р. В. Яшин [и др.] // Ветеринария сегодня. – 2021. – № 3(38). – С. 184-189. – DOI 10.29326/2304-196X-2021-3-38-184-189.
9. Перспективы Хотимского трепела в кормовых рационах / Голушко В.М., Козинец А.И., Линкевич С.А. [и др.]. – Наше сельское хозяйство, 2019. - № 4 (204). – С. 70-77.
10. Пышмынцева, К. С. Остеодистрофия молодняка крупнорогатого скота / К. С. Пышмынцева, В. К. Пилипчук // Научные исследования молодых учёных: сборник

статей XI Международной научно-практической конференции, Пенза, 17 мая 2021 года. – Пенза: Общество с ограниченной ответственностью "Наука и Просвещение", 2021. – С. 111-113.
11. Сборник производственных ситуаций по гигиене животных: учебно-методическое пособие / Медведский В.А., Соколов Г.А., Карташова А.Н. [и др.]. – Витебск: ВГАВМ, 2011. – 39 с.
12. Технологии производства и переработки продукции животноводства: учебное пособие / Улимбашев М.Б. [и др.]. // ФГБНУ «Северо-Кавказский ФНАЦ»; изд -во «Ставрополь-Сервис-Школа». – Ставрополь, 2024. – 207 с.

REFERENCES

1. Adsorbent mikotoksinov «Belasorb» v kormlenii sel'skokhozyaystvennykh zhivotnykh : rekomendatsii / Golushko V.M., Kozinets A.I., Golushko O.G. [i dr.]. – Zhodino, 2020. – 14 s. (In Russ.)
2. Vnutrenniye bolezni zhivotnykh / G.G. Shcherbakov, A.V. Korobov // Uchebnik dlya vuzov. – Spb.: Izd. «Lan'», 2005, 736 s. (In Russ.)
3. Vyrashchivaniye telenka ot rozhdeniya do vysokoproduktivnoy korovy: tekhnologicheskiye: kormovyye i veterinarnyye aspekty: uchebnik dlya studentov vysshikh uchebnykh zavedeniy, obuchayushchikhsya po napravleniyu podgotovki 36.03.02 «Zootekhniya» (kvalifikatsiya - bakalavr) i 36.04.02 (kvalifikatsiya - magistr) / L.I. Podobed, N.P. Buryakov, G.YU. Laptev [i dr.] // Sankt-Peterburg, 2017. – 580 s. (In Russ.)
4. Gerasimova, V. M. Kormovaya dobavka - monokal'tsiyfosfat / V. M. Gerasimova, A. A. Rumyantseva, K. A. Maksimova // Modern Science. – 2020. – № 12-3. – S. 38-41. (In Russ.)
5. Kozinets A.I. Razrabotka novykh adsorbentov mikotoksinov dlya povysheniya sanitarnogo kachestva kormov i bezopasnosti proizvodstva produktov pitaniya zhivotnogo proiskhozhdeniya / Kozinets A.I., Dubina I.N., Kapitonova Ye.A. // Uchenyye Zapiski uchrezhdeniya obrazovaniya «Vitebskaya ordena «Znak Pocheta» gosudarstvennaya akademiya veterinarnoy meditsiny», 2021. – T. 51. № 3. – S. 94-98. (In Russ.)
6. Kompleksnaya terapiya i terapevticheskaya tekhnika v veterinarnoy meditsine: uchebnoye posobiye / Pod obshchey redaktsiyey A.A. Stekol'nikova. – Spb.: Izd. «Lan'», 2007 - 288s. (In Russ.)
7. Kondrakhin, I. P. Dispanserizatsiya – vazhneysheye zveno profilaktiki vnutrennikh bolezney zhivotnykh / I. P. Kondrakhin, V. I. Levchenko, V. V. Vlizlo // Veterinariya. – 2011. – № 11. – S. 3-6. (In Russ.)
8. Metabolicheskiye zabolevaniya krupnogo rogatogo skota / V. A. Mishchenko, A. V. Mishchenko, R. V. Yashin [i dr.] // Veterinariya segodnya. – 2021. – № 3(38). – S. 184-189. – DOI 10.29326/2304-196X-2021-3-38-184-189. (In Russ.)
9. Perspektivy Khotimskogo trepela v kormovykh ratsionakh / Golushko V.M., Kozinets A.I., Linkevich S.A. [i dr.]. – Nashe sel'skoye khozyaystvo, 2019. - № 4 (204). – S. 70-77. (In Russ.)
10. Pyshmyntseva, K. S. Osteodistrofiya molodnyaka krupnorogatogo skota / K. S. Pyshmyntseva, V. K. Pilipchuk // Nauchnyye issledovaniya molodykh uchonykh : sbornik statey XI Mezhdunarodnoy nauchno-prakticheskoy konferentsii, Penza, 17 maya 2021 goda. – Penza: Obshchestvo s ogranichennoy otvetstvennost'yu "Nauka i Prosveshcheniye", 2021. – S. 111-113. (In Russ.)
11. Sbornik proizvodstvennykh situatsiy po gigiyene zhivotnykh: uchebno-metodicheskoye posobiye / Medvedskiy V.A., Sokolov G.A., Kartashova A.N. [i dr.]. – Vitebsk: VGAVM, 2011. – 39 s. (In Russ.)
12. Tekhnologii proizvodstva i pererabotki produktsii zhivotnovodstva: uchebnoye posobiye / Ulimbashev M.B. [i dr.]. // FGBNU «Severo-Kavkazskiy FNATS»; izdvo «Stavropol'-Servis-Shkola». – Stavropol', 2024. – 207 s. (In Russ.)

УДК: 577.17:591.11:636.5
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.4.231

ВЛИЯНИЕ НАНОКОМПОЗИТА FE-C НА РОСТ И МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ КРОВИ ЦЫПЛЯТ-БРОЙЛЕРОВ

Килякова Ю.В.[1*] – канд. биол. наук, доц., доц. каф. биотехнологии животного сырья и аквакультуры (ORCID 0000-0002-2385-264X); **Мирошникова Е.П.**[1] – д-р биол. наук, проф., зав. каф. биотехнологии животного сырья и аквакультуры (ORCID 0000-0003-3804-5151); **Аринжанов А.Е.**[1] – канд. с-х. наук, доц., доц. каф. биотехнологии животного сырья и аквакультуры (ORCID 0000-0001-6534-7118); **Мингазова М.С.**[1,2] – асс. каф. биотехнология животного сырья и аквакультуры, аспирант (ORCID: 0000-0002-2818-1312).

[1] ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный университет»
[2]ФГБНУ «Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий Российской академии наук»

*fish-ka06@mail.ru

Ключевые слова: *цыплята-бройлеры, кормление, нанокомпозит железа, морфологические показатели крови, динамика роста, кормовые добавки*.

Key words: *broiler chickens, feeding, iron nanocomposite, blood morphology, growth dynamics, feed additives*.

Благодарности: *Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (соглашение №075-15-2024-550).*

Поступила: 01.11.2024 **Принята к публикации: 02.12.2024**
Опубликована онлайн:16.12.2024

РЕФЕРАТ

В статье представлены результаты биологического действия нанокомпозита железа на рост и гематологические показатели цыплят-бройлеров кросса «Arbor Acres». Исследования выполнены в условиях кафедры биотехнологии животного сырья и аквакультуры ФГБУ ВО «Оренбургский государственный университет» и ФГБНУ «Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий Российской академии наук». Цель исследований – оценить биологическое действие нанокомпозита Fe-C на рост, морфологические показатели крови цыплят-бройлеров. Опытные группы в качестве кормовой добавки в течение учетного периода получали нанокомпозит железа в дозировках: 0,2 ppm, 0,4 ppm и 0,8 ppm. Установлено положительное влияние нанокомпозита Fe-C на рост и гематологические показатели молоди карпа при включении в рацион. Зафиксировано увеличение содержания и концентрации гемоглобина в эритроцитах, количества эозинофилов во всех опытных группах, нейтрофилов – во второй и третьей группах, лимфоцитов – в первой группе относительно контрольных значений, а также повышение количества тромбоцитов в первой и третьей группах. Наилучший результат по динамике роста и гематологическим показателям был получен в опытной группе, в которой дополнительно к основному рациону добавлялся нанокомпозит железа в количестве 0,2 ppm.

ВВЕДЕНИЕ/INTRODUCTION

Россия в последние годы стала одним из крупнейших производителей куриного мяса в мире [1]. Важнейшая роль в отечественном птицеводстве принадлежит бройлерному направлению, которое демонстрирует стабильный рост и высокую конкурентоспособность благодаря инвестициям, инновационным технологиям и государственной поддержке [2].

Бройлерное птицеводство в России демонстрирует стабильный рост и высокую конкурентоспособность благодаря инвестициям, инновационным технологиям и государственной поддержке [3]. Бройлеры имеют множество преимуществ, что делает их крайне популярными в птицеводстве: высокая производительность, устойчивость к болезням, эффективность откорма. Высокопродуктивные кроссы цыплят-бройлеров обладают значительным генетическим потенциалом, позволяющим за месяц-полтора выращивания получить живую массу более двух килограммов [2].

Увеличение продуктивности и реализация генетического потенциала бройлеров в полном объеме возможны только при регулярной корректировке условий выращивания, а также сбалансированном кормлении [1]. Все более актуальным в птицеводческих хозяйствах становится использование биологически активных кормовых добавок, оптимизирующих обмен веществ, для профилактики гиповитаминозов, активации иммунных реакций, что, в свою очередь, приводит к повышению продуктивности и рентабельности предприятия [4].

Частицы металлов в наноформе обладают уникальными физическими и химическими свойствами, отличающимися от свойств макроскопических образцов того же вещества [5]. Эти уникальные характеристики делают их объектом активных исследований и применений в различных отраслях. Наночастицы металлов в птицеводстве — это относительно новая область исследований, которая привлекает внимание благодаря потенциальным преимуществам для здоровья птиц, повышения продуктивности и улучшения состояния окружающей среды. В птицеводстве применяются в нескольких направлениях: для профилактики инфекционных болезней, сорбента различных загрязнителей, для увеличения питательных свойств корма, стимуляции роста и усиления иммунной защиты [6, 7]. Однако, необходимо отметить, что использование наночастиц металлов также может иметь негативные последствия. Излишнее применение или неправильно выбранная концентрация могут оказывать токсические эффекты на птиц [4, 5]. Поэтому необходимо проводить дальнейшие исследования для оценки безопасности и выявления допустимых дозировок для различных кроссов цыплят -бройлеров.

Цель исследований – оценить биологическое действие нанокомпозита Fe-C на рост, морфологические показатели крови цыплят-бройлеров.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Исследования выполнены в условиях кафедры биотехнологии животного сырья и аквакультуры ФГБУ ВО «Оренбургский государственный университет» и ФГБНУ «Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий Российской академии наук». Объектами исследования выбраны цыплята-бройлеры кросса «Arbor Acres». Бройлеры породы Арбор (Arbor Acres) – это одна из популярных мясных пород кур, которая была выведена в начале XX века и известна высокой производительностью и хорошими показателями роста. Один из основных плюсов этой породы — высокая эффективность конверсии корма, что позволяет получать больше мяса с меньшими затратами [1]. В возрасте 14 суток методом пар-аналогов были отобраны 24 штуки цыплят-бройлеров и распределены на четыре группы в равных количествах (n=6). Продолжительность исследования включала подготовительный (7–13-суточного возраста) и основной учётный (14–42 суточного возраста) периоды.

В течение всего периода эксперимента кормление бройлеров опытных и кон-

трольной групп осуществлялось согласно рекомендациям ВНИТИП в соответствии с возрастом. Цыплята до 25 суток получали ростовой рацион ПК-5 и с 26 по 42 сутки – финишный рацион ПК-6. Комбикорм ПК-5 и ПК-6 произведен ЗАО «Птицефабрика Оренбургская», г. Оренбург, Россия.

Во время подготовительного периода все цыплята-бройлеры потребляли основной рацион (ОР). Начиная с 14-суточного возраста цыплятам, в ОР, включавший стартовый и ростовой рационы, дополнительно вносили нанокомпозит в различных дозировках (углеродная матрица с наночастицами железа, радиус 40-60 нм, Институт Теплофизики им. С.С. Кутателадзе Сибирского отделения РАН). Схема эксперимента представлена на рисунке 1.

Дозировка рассчитана с учётом информации от производителя и проводимых ранее исследований [6-10].

В процессе исследования еженедельно проводили оценку роста и развития цыплят-бройлеров путём индивидуального взвешивания утром до кормления. Отбор крови осуществляли в последний день эксперимента из подкрыльцовой вены. Исследования морфологических показателей крови выполнены на ветеринарном автоматическом гематологическом анализаторе DF50 Vet.

Статистический анализ был выполнен с помощью программы «Statistica 10.0» («Stat Soft Inc.», США). Достоверность различий определяли по t-критерию Стьюдента, при котором статистически значимым считались значения с $P \leq 0,05$, $P \leq 0,01$ и $P \leq 0,001$. Данные представлены в виде M±m, где M – среднее арифметическое значение, m – ошибка средней арифметической величины.

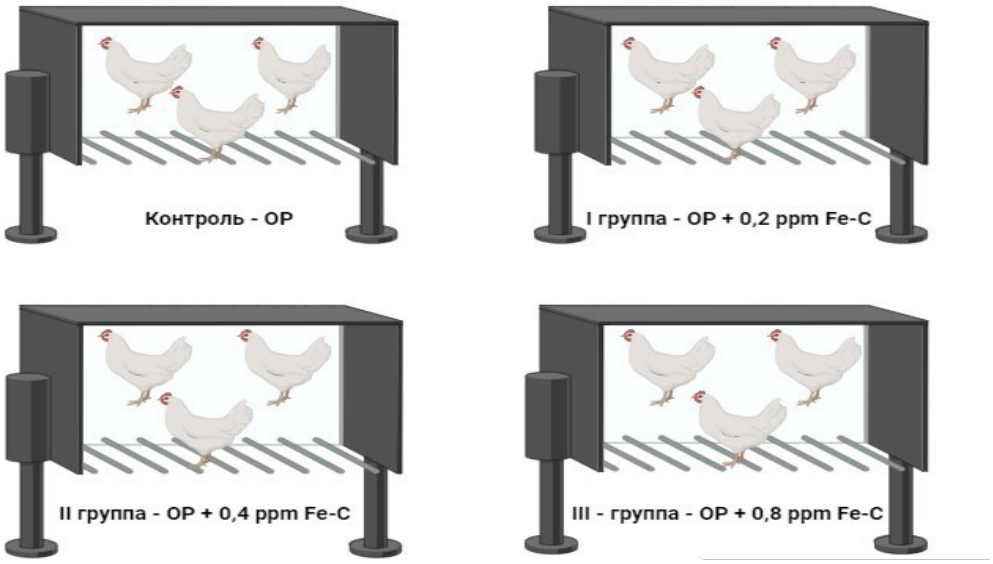


Рисунок 1 – Схема *эксперимента.*

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Важными показателями при учете мясной продуктивности птицы является динамика роста и убойный выход. Чем выше эти показатели, тем выше мясная продуктивность птицы [2]. Бройлеры отличаются значительной скороспелостью. Этот показатель критически важен для многих птицеводов, поскольку напрямую влияет на сроки производства, затраты на корм и общую рентабельность бизнеса [6]. Анализируя данные по динамике,

роста подопытных бройлеров установлено, что добавление нанокомпозита Fe имела следующий рисунок динамики роста птицы: минимальная дозировка (0,2 ppm) Fe отличалось более высокой интенсивностью роста относительно контрольной группы – на 7,1 % (I опытная группа). Превосходство живой массы I группы относительно контроля началось на третьей неделе эксперимента. На первых этапах эксперимента организм птиц может адаптироваться к новым условиям, и лишь после некоторого времени начинают проявляться положительные эффекты от вмешательства. При увеличении дозировок Fe (II и III опытные группы) продуктивность птицы снизилась, но была выше контроля на 2,5-2,8 % (рисунок 2).

Для оценки безопасности изучаемой кормовой добавки была проведена оценка морфологических показателей крови цыплят-бройлеров как наиболее чувствительных разнообразным воздействиям. Морфологические показатели цыплят-бройлеров кросса «Arbor Acres» представлены в таблице 1.

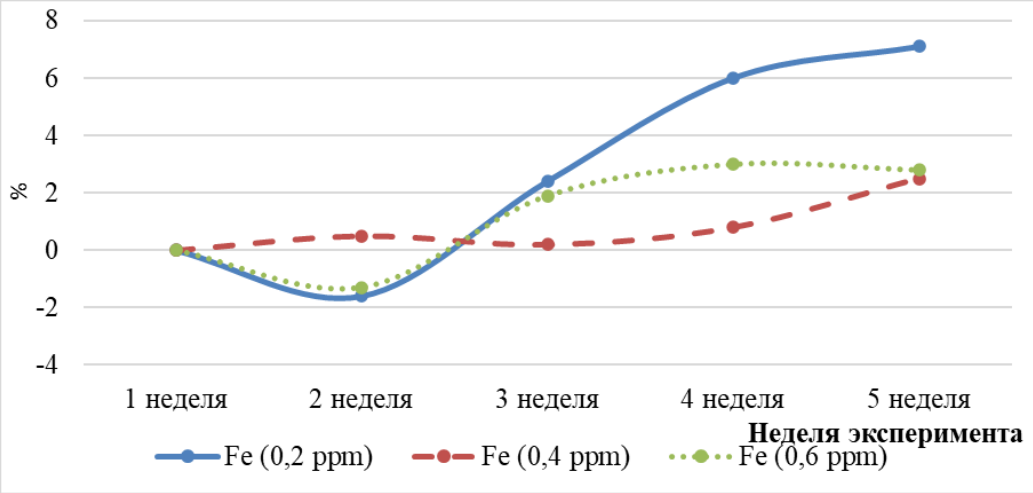


Рисунок 2 – Разница живой массы птицы с нанокомпозитами Fe по сравнению с контролем, %.

При использовании нанокомпозита железа в рационе цыплят-бройлеров происходило изменение всех гематологических показателей. Увеличение количества лейкоцитов на 7,82% во второй опытной группе относительно контроля может говорить о более активной иммунной защите. Это свидетельствует о том, что птицы могли лучше справляться с потенциальными инфекциями или воспалительными процессами благодаря улучшению состояния их иммунной системы [3].

В лейкоцитарной формуле цыплят заметно происходило увеличение количества эозинофилов во всех опытных группах, нейтрофилов – во второй и третьей группах, лимфоцитов – в первой группе относительно контрольных значений. Количество моноцитов зафиксировано значительно ниже контроля во всех опытных группах, а базофилов – во второй и третьей группах.

Включение в рацион нанокомпозита железа сопровождалось снижением количества эритроцитов и гемоглобина. Количество эритроцитов оказалось ниже контроля во всех опытных группах на 4,69%, 0,94%, 5,63%, а гемоглобина - на 4,79%, 3,19% во II и III группах, оставаясь при этом в пределах нормы. Снижение уровня гематокрита относительно контрольных значений в крови бройлеров всех опытных групп свидетельствует об отсутствии анемии у цыплят-бройлеров [10]. Размеры

эритроцитов не имели значительных отличий от контроля и находились в пределах физиологической нормы во всех группах, получавших в качестве кормовой добавки нанокомпозит железа.

Насыщенность эритроцитов гемоглобином у цыплят, получавших кормовую добавку, находилась на высоком уровне, несмотря на снижение их количества. Средняя концентрация гемоглобина в эритроците превышала контрольные значения в 2,5 раза во всех опытных группах. Такие значения говорят о развитии компенсаторных механизмов, направленных на улучшение кислородной емкости крови, что важно для интенсивно растущих животных, таких как бройлеры [3]. Тромбоциты в I и III группах были выше контроля на 98,51% и 149,25%. Повышенное количество тромбоцитов указывает на активизацию иммунной системы, так как тромбоциты играют важную роль в воспалительных реакциях и защите организма от инфекций. Они участвуют в гемостазе и способны реагировать на повреждения сосудов, что может быть особенно важно для поддержки здоровья птиц, подвергающихся стрессам или потенциальным патогенам [2, 7].

Таким образом, насыщенность эритроцитов гемоглобином у бройлеров, получавших кормовую добавку, находилась на высоком уровне, несмотря на снижение их количества. Следовательно, процессы дыхания и насыщения тканей и органов кислородом происходили активно.

Таблица 1 – Морфологические показатели цыплят-бройлеров кросса «Arbor Acres»

Показатели	Группа			
	К	I	II	III
WBC 10^9/l	40,15±3,46	37,86±1,97	43,29±7,69	38,69±0,55
Neu %	35,33±3,12	34,03±4,36	45,13±3,31	47,77±11,45
Lym %	52,87±7,89	57±5,42	45,07±3,96	41,8±14,45
Mon %	6,27±5,47	0,5±0,25	0,9±0,2	0,53±0,39
Eos %	5,13±0,78	8,07±1,92	8,63±0,74	9,53±3,25
Bas %	0,4±0,15	0,4±0,06	0,27±0,12	0,37±0,09
Neu 10^9/l	13,97±0,75	12,73±1,43	19,6±4,07	18,33±4,38
Lym 10^9/l	21,63±4,56	21,6±2,65	19,37±3,29	16,15±5,7
Mon 10^9/l	2,18±1,84	0,18±0,09	0,36±0,04	0,2±0,15
Eos 10^9/l	2,11±0,49	3,1±0,8	3,8±0,93	3,68±1,27
Bas 10^9/l	0,16±0,06	0,15±0,03	0,09±0,03	0,14±0,04
RBC 10^{12}/l	2,13±0,06	2,03±0,06	2,11±0,18	2,01±0,02
HGB g/l	125,33±5,36	119,33±4,91	121,33±9,35	121,33±0,88
HCT %	26,7±1,01	25,03±0,95	25,83±1,83	25,73±0,15
MCH pg	58,67±0,96	58,7±0,82	57,67±0,45	60,57±0,68
MCV fl	125,2±1,43	123,33±1,56	122,63±1,74	128,57±1,19
MCHC g/l	133,45±132,4	475,67±0,88	470,67±2,96	471±1
RDW-CV %	9,4±0,06	9,5±0,1	9,33±0,18	9,17±0,24
RDW-SD fl	47,7±0,65	47,73±0,73	46,77±1,48	48,37±1,86
PLT 10^9/l	0,67±0,33	1,33±0,88	0,67±0,33	1,67±0,88

*Примечание: * - P≤0,05; ** - P≤0,01; *** - P≤0,001*

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Являясь важнейшим микроэлементом в питании бройлеров, железо участвует в процессах кроветворения и обеспечении нормального обмена веществ. Недостаток этого элемента может приводить к анемии, снижению продуктивности и ухудшению здоровья птицы. Включение более низких концентраций нанокомпозита железа в нашем исследовании способствовало большей биодоступности железа и лучшему ростостимулирующему эффекту. Нанокомпозиты металлов можно рассматривать как более выгодную альтернативу традиционным минеральным солям благодаря их преимуществам в плане контролируемого высвобождения, сниженной токсичности и увеличенной эффективности [4-10].

Применение нанокомпозита железа в рационе цыплят-бройлеров демонстрировало положительное влияние на гематологические показатели. Зафиксировано увеличение содержания и концентрации гемоглобина в эритроцитах, количества эозинофилов, нейтрофилов, лимфоцитов, а также повышение количества тромбоцитов. Улучшение этих показателей говорит о позитивном влиянии добавления данного компонента в рацион птиц, что может привести к улучшению их роста, здоровья и продуктивности. Отсутствие патологических нарушений кровообращения также поддерживает вывод о том, что добавка безопасна для применения и может быть полезной для повышения продуктивности птицы. Исследования в этой области необходимо продолжать для получения дополнительных данных о механизмах действия и долгосрочных эффектах использования нанокомпозитов в птицеводстве.

EFFECT OF FE-C NANOCOMPOSITE ON GROWTH AND MORPHOLOGICAL BLOOD PARAMETERS OF BROILER CHICKENS

Kilyakova Y.V.[1]* – Candidate of Biological Sciences, Associate Professor, Associate Professor of the Department of Biotechnology of Animal Raw Materials and Aquaculture (ORCID 0000-0002-2385-264X); **Miroshnikova E.P.**[1] – Doctor of Biological Sciences, Professor, Head of the Department of Biotechnology of Animal Raw Materials and Aquaculture (ORCID 0000-0003-3804-5151); **Arinzhanov A.E.**[1] – Candidate of Agricultural Sciences, Associate Professor, Associate Professor of the Department of Biotechnology of Animal Raw Materials and Aquaculture (ORCID: 0000-0001-6534-7118); **Mingazova M.S.**[1,2] – Assistant of the Department of Biotechnology of Animal Raw Materials and Aquaculture, postgraduate student (ORCID 0000-0002-2818-1312).

[1] Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education “Orenburg State University

[2] FGBNU “Federal Scientific Center of Biological Systems and Agrotechnologies of the Russian Academy of Sciences”

*fish-ka06@mail.ru

Acknowledgments: *This work was financially supported by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (agreement №075-15-2024-550).*

ABSTRACT

The article presents the results of biological effect of iron nanocomposite on growth and hematological parameters of broiler chickens cross “Arbor Acres”. The research was carried out in the conditions of the Department of Biotechnology of Animal Raw Materials and Aquaculture of the Federal State Budgetary Institution of Higher Education "Orenburg State University" and the Federal State Budgetary Scientific Institution "Federal Scientific Center of Biological Systems and Agrotechnologies of the Russian Academy of Sciences". The aim of the research is to evaluate the biological effect of the Fe-C nanocomposite on growth, morphological parameters of the blood of broiler chickens.Experimental groups as a feed additive during the accounting period received iron nanocomposite in dosages: 0.2 ppm, 0.4 ppm and 0.8 ppm. The positive effect of Fe-C nanocomposite on growth and hematological parameters of young carp when included

in the diet was established. The increase in the content and concentration of hemoglobin in erythrocytes, the number of eosinophils in all experimental groups, neutrophils - in the second and third groups, lymphocytes - in the first group relative to control values, as well as an increase in the number of platelets in the first and third groups. The best result in terms of growth dynamics and hematological parameters was obtained in the experimental group, in which 0.2 ppm iron nanocomposite was additionally added to the main diet.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Кияева, Е.В. Влияние микроэлементов на продуктивные качества кур-несушек / Е.В. Кияева, О.В. Маршинская, Т.В. Казакова // Труды Кубанского государственного аграрного университета. – 2022. - №102. – С. 254-258. DOI: 10.21515/1999-1703-102-254-258

2. Нечитайло, К.С. Влияние ферментной добавки в сочетании с цинком в ультрадисперсной форме на продуктивные показатели цыплят-бройлеров / К.С. Нечитайло, Е.А. Сизова, К.В. Рязанцева, О.В. Кван // Международный вестник ветеринарии. – 2023. - №4. – С. 197-205. DOI: 10.52419/issn2072-2419.2023.4.197

3. Нечитайло, К.С. Влияние фитобиотического экстракта в сочетании с ферментной добавкой и ультрадисперсными частицами цинка на морфобиохимические показатели цыплят-бройлеров / К.С. Нечитайло, Е.А. Сизова, В.С. Полякова, А.С. Мустафина, И.В. Маркова // Животноводство и кормопроизводство. – 2023. – Т. 106. - №4. – С. 121-134. DOI: 10.33284/2658-3135-106-4-121

4. Лебедева, Т.И. Влияние ветеринарных препаратов на основе наночастиц микроэлементов на здоровье животных и качество продукции / Т.И. Лебедева, И.А. Красочко, П.А. Красочко // Вестник АПК Верхневолжья. – 2021. - № 2(54). – С. 73-79. DOI: 10.35694/YARCX.2021.54.2.012

5. Сизова, Е.А. Перспективность использования ультрадисперсной формы металлов в кормлении животных / Е.А. Сизова, К.С. Нечитайло, А.П. Иванищева, Н.И. Рябов // Животноводство и кормопроизводство. – 2020. – Т. 103. - №3. – С. 177-189. DOI: 10.33284/2658-3135-103-3-177

6. Цехмистренко, О.С. Использование наночастиц металлов и неметаллов в птицеводстве / О.С. Цехмистренко и др. // Технология производства и переработки продукции животноводства. – 2019. - №2 (152). – С. 113-130. DOI: 10.33245/2310-9289-2019-150-2-113-130

7. Лебедев, С.В. Влияние микрочастиц железа и пробиотического препарата Соябифидум на рост, развитие и морфобиохимические показатели цыплят-бройлеров / С.В. Лебедев, Е.П. Мирошникова, В.В. Гречкина, Д.М. Муслюмова, М.Я. Курилкина // Животноводство и кормопроизводство. – 2019. – Т.102. - №4. – С. 227-237. DOI: 10.33284/2658-3135-102-4-227

8. Сизова, Е.А. Сравнительная характеристика биологических эффектов разноразмерных наночастиц меди и железа / Е.А. Сизова // Вестник российской сельскохозяйственной науки. – 2017. - №3. – С. 13-17.

9. Julmar, C.F. Iron requirements of broiler chickens as affected by supplemental phytase / C.F. Julmar, L.V. Sergio, M.H. Raquel, E.A. Walter, T. Giovane // J Anim Sci. 2023 Jan 3;101:skad265. DOI: 10.1093/jas/skad265.

10. Kwiecień, M. Effects of iron-glycine chelate on growth, carcass characteristic, liver mineral concentrations and haematological and biochemical blood parameters in broilers / M. Kwiecień, W. Samolińska, B. Bujanowicz-Haraś // J Anim Physiol Anim Nutr (Berl). 2015 Dec;99(6):1184-96. DOI:10.1111/jpn.12322.

REFERENCES

1.Kiyaeva, E.V. Effect of trace elements on the productive qualities of laying hens / E.V. Kiyaeva, O.V. Marshinskaya, T.V. Kazakova // Proceedings of the Kuban State Agrarian University. - 2022. - №102. - C. 254-258. DOI: 10.21515/1999-1703-102-254-258 [in Russ.]

2.Nechitaylo, K.S. Effect of enzyme additive in combination with zinc in ultradisperse

form on the productive performance of broiler chickens / K.S. Nechitaylo, E.A. Sizova, K.V. Ryazantseva, O.V. Kwan // International Veterinary Gazette. - 2023. - №4. - C. 197 -205. DOI: 10.52419/issn2072-2419.2023.4.197 [in Russ.]
3. Nechitailo, K.S. Effect of phytobiotic extract in combination with enzyme additive and ultradisperse zinc particles on morphobiochemical parameters of broiler chickens / K.S. Nechitailo, E.A. Sizova, V.S. Polyakova, A.S. Mustafina, I.V. Markova // Animal husbandry and fodder production. - 2023. - T. 106. - №4. - C. 121-134. DOI: 10.33284/2658-3135-106-4-121 [in Russ.]
4.Lebedeva, T.I. Effect of veterinary drugs based on nanoparticles of trace elements on animal health and product quality / T.I. Lebedeva, I.A. Krasochko, P.A. Krasochko // Vestnik AIC Verkhnevolzhye. - 2021. - № 2 (54). - C. 73-79. DOI: 10.35694/ YARCX.2021.54.2.012 [in Russ.]
5.Sizova, E.A. Perspectivity of the use of ultradisperse form of metals in animal feeding / E.A. Sizova, K.S. Nechitaylo, A.P. Ivanischeva, N.I. Ryabov // Animal husbandry and fodder production. - 2020. - T. 103. - №3. - C. 177-189. DOI: 10.33284/2658-3135-103-3-177 [in Russ.]
6.Tsekhmistrenko, O.S. Use of nanoparticles of metals and nonmetals in poultry farming / O.S. Tsekhmistrenko et al. // Technology of production and processing of livestock products. - 2019. - №2(152). - C. 113-130. DOI: 10.33245/2310-9289-2019-150-2-113-130 [in Russ.]
7.Lebedev, S.V. Effect of iron microparticles and probiotic preparation Soya bifidum on growth, development and morphobiochemical parameters of broiler chickens / S.V. Lebedev, E.P. Miroshnikova, V.V. Grechkina, D.M. Muslyumova, M.Y. Kurilkina // Animal husbandry and fodder production. - 2019. - T.102. - №4. - C. 227-237. DOI: 10.33284/2658-3135-102-4-227 [in Russ.]
8. Sizova, E.A. Comparative characterization of biological effects of different-sized nanoparticles of copper and iron / E.A. Sizova // Bulletin of Russian agricultural science. - 2017. - №3. - C. 13-17. [in Russ.]
9. Julmar, C.F. Iron requirements of broiler chickens as affected by supplemental phytase / C.F. Julmar, L.V. Sergio, M.H. Raquel, E.A. Walter, T. Giovane // J Anim Sci. 2023 Jan 3;101:skad265. DOI: 10.1093/ jas/skad265.

УДК: 636.85.52: 579.6: 004.032.26
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.4.239

НЕЙРОСЕТЕВОЙ АНАЛИЗ КАЧЕСТВА СИЛОСОВАННЫХ КОРМОВ ПО ИНДЕКСУ БИОКОНСОЛИДАЦИИ БИОСИСТЕМЫ МОЛОЧНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ

Воробьев Н.И. [1,2] – канд. технических наук, вед. научн. сотр., ст. научн. сотр. (ORCID 0000-0001-8300-2287); **Ильина Л.А.** [3] – д-р биол. наук, рук. молекулярно-генетической лаборатории (ORCID 0000-0003-2490-6942); **Лаптев Г.Ю.** [3] – д-р биол. наук, директор (ORCID 0000-0002-8795-6659); **Селина М.В**. [1*] – канд. пед. наук, доц. каф. экономики и цифровых технологий в АПК (ORCID 0000-0001-8201-1042); **Гусельникова А.А**.[1] – нач. отдела организации и мониторинга НИД (ORCID 0000-0003-0284-5253)

[1]ФГБОУ ВО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии - МВА имени К.И. Скрябина»
[2]ФГБНУ ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии
[3]ООО «Биотроф»

[*]selina.marina@gmail.com

Ключевые слова: *фрактальный профиль микрофлоры силоса, силосные закваски и консерванты, индексы газообразования и молочной кислоты, нейросеть.*

Key words: *fractal profile of silage microflora, silage inoculants and preservatives, gas and lactic acid indices, neural network.*

Финансирование: *Материалы подготовлены в рамках конкурса Российского научного фонда 2022 года «Проведение фундаментальных научных исследований и поисковых научных исследований малыми отдельными научными группами» (соглашение № 23-26-00234 от 12.01.2023 г.) https://rscf.ru/project/23-26-00234*

Поступила: 17.10.2024 **Принята к публикации: 02.12.2024**
Опубликована онлайн:16.12.2024

РЕФЕРАТ

В данном исследовании с помощью оригинальной нейросетевой информационной технологии удалось провести интеллектуальный анализ молекулярно-генетических данных микрофлоры силоса и оценить влияние силосных заквасок и консерваторов на направленность микробиологических биохимических процессов в силосных биомассах. Выходным продуктом интеллектуального анализа фрактальных профилей микрофлоры силоса стали индексы CSIgaZ и CSImU, выбранные для количественного представления с точки зрения микробиологических данных интенсивности газовыделений силоса и количества молочной и уксусной кислот в силосе. По индексу CSImU удалось оценить возрастание молочной кислоты и уменьшение уксусной кислоты в силосе, что сигнализирует о замедлении развития гнилостных микроорганизмов в силосе, а по индексу CSIgaZ –

уменьшение газовыделений силоса, что свидетельствует об благоприятных анаэробных условиях, в которых протекают микробиологические биохимические процессы в силосе. Проведенный в молекулярно-генетической лаборатории ООО «Биотроф» лабораторный опыт по силосованию ежи сборной показал, что «Биотроф-111» (на основе Bacillus subtilis, произв. ООО «Биотроф») создает наилучшие анаэробные условия в силосуемой растительной биомассе, при которых микрофлора силоса биоконсолидируется в биосистему молочнокислых бактерий с минимальным значением индекса CSIgaZ = 3,1 и максимальным значением индекса CSImU = 6,8, то есть в этом варианте силосования ежи сборной микрофлоре силоса удается сгруппироваться так, что одновременно обеспечивается относительно низкая интенсивность газовыделений силоса, ускоренное образование молочной кислоты и замедленное образование уксусной кислоты в силосе, а значит в этих условиях процессы завершатся с наилучшими качественными питательными показателями силоса.

ВВЕДЕНИЕ/ INTRODUCTION

Качество заготовленного силоса зависит от интенсивности процессов анаэробного молочнокислого брожения, от pH силосованной массы и от ингибирования в анаэробных условиях развития вредных гнилостных микроорганизмов, плесневых грибов и дрожжей, то есть ингибирования путем ограничения поступления атмосферного кислорода в растительную биомассу [1]. Для интенсификации процессов анаэробного брожения применяются силосные закваски, содержащие молочнокислые бактерии и антимикробные пептиды [2, 3]. Ведущей культурой заквасок остаются молочнокислые бактерии, синтезирующие органические кислоты и способствующие поддержанию на высоком уровне качественных и количественных, биохимических и питательных характеристик силоса [4]. В итоге, все технологические и биологические агроприемы при силосовании направляются на создание благоприятных условий для развития молочнокислых бактерий и неблагоприятных условий для развития маслянокислых, уксуснокислых, гнилостных бактерий и дрожжей.

При силосовании и консервировании растительных субстратов в кормопроизводстве используются следующие микробиологические препараты: «Биотроф 600» на основе *Lactobacillus plantarum*; «Биотроф 700» на основе *Lactobacillus buchneri*; «Биотроф-АС» на основе *Lactobacillus plantarum* и *Lactobacillus buchneri*; «Биотроф-111» на основе *Bacillus subtilis* (произв. ООО «Биотроф») [5-7]; «Christian Hansen» на основе культур молочнокислых бактерий (произв. компания CHR HANSEN, Дания) [8]. В качестве растительного сырья для силосования используются бобово-злаковые смеси, козлятник восточный, клевер, люцерна, кукуруза [9-11]. Для заготовки силоса, сенажа и консервирования плющеного фуражного зерна применяются также химические консерванты, например, «AIV» (произв. «Taminco Finland OY»), содержащий смесь муравьиной, пропионовой, бензойной органических кислот [7].

Готовность и качество силосной биомассы оценивают по количеству маслянокислых бактерий и других бактерий, вызывающих гнилостные процессы в силосе, по потерям питательных веществ в биомассе силоса и по содержанию в нем микотоксинов [12]. Косвенными показателями качества силоса являются отношение количества молочной кислоты к количеству уксусной кислоты в биомассе силоса и объем газов, выделенных при силосовании [13, 14]. Из этого следует, измеряя состав микрофлоры силоса и количество органических кислот, синтезированных микроорганизмами при силосовании, можно косвенным образом оценить качество силосования растительных субстратов.

Исследования микробиоценоза силоса, проведенные молекулярно-генетическим NGS методом, продемонстрировали расширенное генотипическое разнообразие микрофлоры силоса, насчитывающее тысячи оперативно таксономических единиц

(ОТЕ) [15, 16]. Обнаружение большого количества ОТЕ в силосе значительно осложнило исследование зависимости качества силоса от состава его микрофлоры и от биоконсолидации микроорганизмов в биосистему молочнокислых бактерий. Кроме этого, молекулярно-генетические данные силоса (ед. измер.: шт. ОТЕ в г высушенного силоса), количество в силосе молочной и уксусной органических кислот (ед. измер.: процентное содержание в силосе органических кислот) и количество выделяемых газов являются цифровыми данными разнородных биологических и биохимических объектов: микрофлоры силоса и физико-биохимических продуктов метаболизма микроорганизмов. Поэтому для изучения взаимосвязи этих разнородных характеристик силосования мы были вынуждены применить интеллектуальный нейросетевой анализ данных – вычислительную нейронную сеть [17-19]. Нейросетевая обработка молекулярно-генетических данных микрофлоры силоса позволила нам провести сравнение силосных заквасок и консервантов, используя значения специальных безразмерных индексов, характеризующих интенсивность накопления в силосе молочной и уксусной кислот, а также интенсивность выделения газов силосными биомассами [20]. Целью исследования являлся интеллектуальный нейросетевой анализ фрактальных молекулярно-генетических профилей микрофлоры силоса и оценка по результатам анализа влияния биопрепаратов на биоконсолидацию микрофлоры силоса в биосистему молочнокислых бактерий и на интенсивность разложения растительных субстратов с выделением молочной и уксусных кислот, характеризующих качество готового силоса. При этом предполагалось, что сравнение эффективности биопрепаратов для силосования будет проведено по индексу газовыделений силоса и по индексу молочно-уксусного соотношения органических кислот, которые предполагается вычислять, используя только молекулярно-генетические данные микрофлоры силоса.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Фрактальный профиль ОТЕ

При биоконсолидации микроорганизмов в биосистемы интенсивность биохимических процессов в силосе может значительно возрастать [21-23], так как в биосистемах микроорганизмы выполняют биохимические операции организованно и по наиболее экономичным и производительным биохимическим схемам. В биосистемах микроорганизмы концентрируются в одном направлении и сосредоточены на предварительном разложении растительных субстратов с накоплением в силосе молочной органической кислоты. Образованная биосистема молочнокислых бактерий дополнительно должна характеризоваться замедленным образованием уксусной органической кислоты и низкой интенсивностью выделения силосной биомассой сопутствующих газов, так как снижение интенсивности этих процессов повышает качество силоса Для оценки общей целевой настроенности биосистемы молочнокислых бактерий на высококачественный силос мы решили использовать фрактальный профиль ОТЕ и исследовать особенности его формы в различных вариантах проведенного опыта [24].

Фрактальные профили микроорганизмов можно составить из частот ОТЕ, определенных молекулярно-генетическим методом [25]. Фрактальный профиль ОТЕ формируется расстановкой частот ОТЕ в монотонно убывающий числовой ряд (рис. 1). Среди возможных форм фрактальных профилей ОТЕ силоса выделяется особая идеальная степенная форма, соответствующая геометрическому цифровому ряду (например ряду: 0.1, 0.01, 0.001,…) [26]. Мы выбрали идеальный фрактальный профиль ОТЕ в качестве опорного базиса, относительно которого рассчитывается величина отклонения фактических фрактальных профилей ОТЕ, а по вычисленному отклонению – уровень биоконсолидации микроорганизмов в биосистему молочнокислых бактерий.

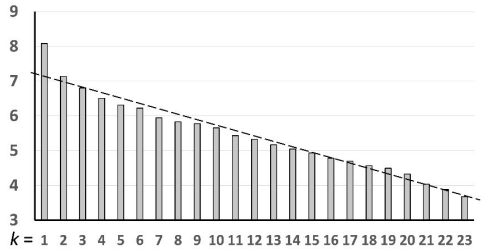


Рисунок 1 – Фрактальный профиль ОТЕ. По Y-оси отложены значения .

$$ln(10^4 \cdot f_k)$$

f_k, k – частота встречаемости ОТЕ и порядковый номер позиции ОТЕ во фрактальном профиле. Пунктирная линия представляет идеальный степенной фрактальный профиль ОТЕ.

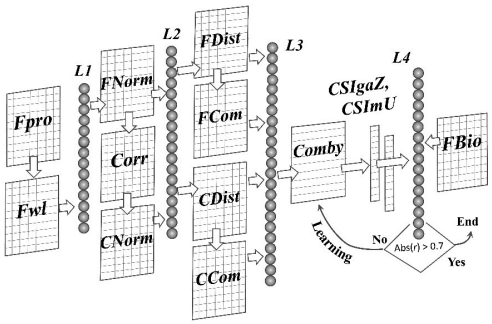


Рисунок 2 – Нейросеть, обрабатывающая фрактальные профили ОТЕ силоса и вычисляющая индексы CSIgaZ и CSImU. FPro, Fwl – матрица фрактальных профилей ОТЕ и матрица WaveLet-преобразованных данных матрицы FPro. FNorm, CNorm – матрицы нормализованных данных матрицы Fwl и произведения матриц FNorm × Corr. Corr – матрица коэффициентов корреляции между столбцами матрицы FNorm. FDist, CDist – матрицы евклидовых дистанций между столбцами матриц FNorm, CNorm. FCom, CCom – матрицы собственных векторов матриц FDist, CDist. Learning – цикл обучения-поиска корректного алгоритма нейросети. Comby — база алгоритмов нейросети. FBio – матрица опытных данных по выделению газов и образованию молочной и уксусной кислот при силосовании.

Нейросетевые вычисления

В качестве цифровых индикаторов уровня биоконсолидации микроорганизмов силоса в биосистему молочнокислых бактерий нами были выбраны индексы когнитивной значимости цифровых данных CSIgaZ = 0…10 б/р и CSImU = 0…10 б/р (Cognitive Salience Index) [27, 28]. При этом предполагается, что индекс CSIgaZ количественно будет представлять интенсивность газовыделений при силосовании, а индекс CSImU – величину отношения количества молочной кислоты к количеству уксусной кислоты в силосе. Нейросеть (рис. 2) запрограммирована вычислять значения индексов CSIgaZ и CSImU только по отклонению фактического фрактального профиля микрофлоры силоса от идеальной формы. Для этого в нейросети предполагается использовать процедуры регрессионного, корреляционного, кластерного и дискриминантного статистических анализов [29, 30]. Дополнительно в нейросети на программном уровне организован доступ к сервису обучения-поиска алгоритма нейросети Learning, который позволяет изменять алгоритм вычисления индексов CSIgaZ и CSImU и осуществлять циклический поиск корректного алгоритма вычисления этих индексов [31-34].

1 этап. Слой нейронов L1 упорядочивает частоты ОТЕ во фрактальные профили (матрица FPro) и преобразует данные матрицы FPro по формуле (1) в данные матрицы Fwl.

$$Fwl_{k,l} = ln(FPro_{k,l} \cdot 10^4) - ln(FPro_{k+1,l} \cdot 10^4), \quad (1)$$

где $\sum_{k=1}^{k=N} FPro_{k,l} = 1;$ $FPro_{k,l}$ –частоты встречаемости ОТЕ, записанные в матрицу FPro; k=1,...,N-1; l = 1,…,M – порядковые номера строк и столбцов в матрице FPro; N, M – число ОТЕ во фрактальном профиле и число вариантов опыта.

2 этап. Слой нейронов L1 нормализует цифровые данные матрицы Fwl с помощью стандартной функции нормализации числовых данных *Normalization ()* [35] и записывает результаты нормализации в матрицу FNorm.

$$FNorm = Normalization(Fwl)$$. (2)

3 этап. Слой нейронов L1 вычисляет корреляционную матрицу Corr, используя данные в строках матрицы FNorm и стандартную процедуру *Correlation ()* [36].

$$Corr = Corralation(FNorm).$$ (3)

4 этап. Слой нейронов L1 вычисляет произведение матриц FNorm×Corr, нормализует полученные цифровые данные стандартной процедурой *Normalization ()* и записывает результаты нормализации в матрицу CNorm.

$$CNorm = Normalization(FNorm \times Corr).$$ (4)

5 этап. Слой нейронов L2 вычисляет матрицы Евклидовых дистанций FDist и CDist, используя цифровые данные столбцов матриц FNorm и CNorm, и стандартную вычислительную процедуру *Euclid-Distance()* [37].

$$FDist_{kl} = EuclidDistance(FNorm_{1k}, \dots, FNorm_{Nk}; FNorm_{1l}, \dots, FNorm_{Nl}),$$ (5)

$$CDist_{kl} = EuclidDistance(CNorm_{1k}, \dots, CNorm_{Nk}; CNorm_{1l}, \dots, CNorm_{Nl}),$$ (6)

где *k, l* = 1,…,M – порядковые номера столбцов в матрицах FNorm и CNorm; M, N –число столбцов и строк в матрицах FNorm и CNorm.

6 этап. Слой нейронов L2 вычисляет матрицы FCom и CCom, используя данные матриц FDist, CDist и стандартную процедуру вычисления собственных векторов симметричных матриц *EigenVectors ()* [38].

$$FCom = EigenVectors(DFist),$$ (7)

$$CCom = EigenVectors(CDist).$$ (8)

7 этап. Слой нейронов L3 вычисляет значение индекса CSIgaZ и CSImU после выбора алгоритма из базы алгоритмов Comby в цикле обучения-поиска нейросети Learning. Вычислительные алгоритмы в базе алгоритмов Comby представляют собой алгебраические выражения с операндами сложения, вычитания, умножения и деления и данными матриц FNorm, CNorm, FDist, CDist, FCom, CCom в разной комбинации.

8 этап. Слой нейронов L4 анализирует в каждом цикле настройки-обучения нейросети Learning корреляцию (*r*) индексов CSIgaZ и CSImU с данными матрицы Fbio. Если корреляция этих индексов не удовлетворяет условию Abs(*r*) ≥ 0.7, то выбор алгоритма из базы Comby продолжается, а при удовлетворении условия Abs(*r*) ≥ 0.7 настройка-обучение нейросети заканчивается и вычисленные значения индексов CSIgaZ и CSImU принимаются, как корректные.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Микробиологические и биохимические данные силосования

В лабораторном опыте, проведенном в молекулярно-генетической лаборатории ООО «Биотроф» [39], были получены микробиологические и биохимические данные (табл. 1, 2) силосованной растительной массы ежи сборной с биопрепаратами: «Биотроф 600» на основе *Lactobacillus plantarum*; «Биотроф-111» на основе *Bacillus subtilis* (произв. ООО «Биотроф»); «Christian Hansen» на основе культур молочнокислых бактерий (произв. компания CHR HANSEN, Дания), а также с химическим консервантом «AIV» (произв. «Taminco Finland OY», содержащим смесь муравьиной, пропионовой, бензойной кислот).

На оборудовании лаборатории ООО «Биотроф» были измерены и построены фрактальные профили ОТЕ (табл. 1), соответствующие образцам силоса:

Образец силоса в начале силосования и без заквасок;

Образец силоса на 32 сутки силосования и без заквасок;

Образец силоса на 32 сутки силосования с консервантом AIV;

Образец силоса на 32 сутки силосования с закваской Биотроф-111;

Образец силоса на 32 сутки силосования с закваской Биотроф-600;

Образец силоса на 32 сутки силосования с закваской Christian Hansen.

Фрактальные профили ОТЕ и физико-биохимические данные образцов силоса представлены в таблице 1.

Рассчитанные нейросетью значения индексов CSIgaZ и CSImU представлены в таблице 1 и на рисунке 3.

Среди исследованных заквасок «Биотроф-111» (на основе *Bacillus subtilis*, произв. ООО «Биотроф») выделяется созданием наилучших анаэробных условий в силосуемой растительной биомассе, при которых микрофлора силоса биоконсолидируется в биосистему молочнокислых бактерий с минимальным значением индекса CSIgaZ = 3,1 (табл. 1, рис. 3) и максимальным значением индекса CSImU = 6,8 (табл. 1, рис. 3), то есть в этом варианте силосования ежи сборной микрофлоре силоса удается сгруппироваться так, что одновременно обеспечивается относительно низкая интенсивность газовыделений силоса, ускоренное образование молочной кислоты и замедленное образование уксусной кислоты в силосе. В остальных вариантах опыта такое соотношение газовыделений и образования органических кислот не наблюдается.

Таблица 1 – Фрактальные профили ОТЕ (частота ОТЕ в %) и соответствующие им данные газовыделения силоса (объемные %), отношения молочной кислоты к уксусной кислоте в силосе (б/р) и значения индексов CSIgaZ и CSImU (б/р)

№ ОТЕ	Номера образцов силоса					
	1	2	3	4	5	6
1	32,4	34,4	33,4	34,3	39,7	54,7
2	12,6	20,4	23,0	20,7	16,9	8,03
3	9,03	9,86	15,1	6,70	6,65	6,73
4	6,71	7,90	4,75	3,91	3,88	6,10
5	5,50	5,14	4,13	3,13	3,66	3,53
6	5,04	3,09	2,62	2,91	3,42	2,69
7	3,82	2,61	2,50	2,79	3,18	2,40
8	3,41	2,07	2,19	2,60	2,99	2,15
9	3,23	1,92	1,85	2,41	2,63	2,00
10	2,86	1,66	1,44	2,28	2,44	1,54
11	2,28	1,63	1,38	1,99	1,94	1,40
12	2,06	1,42	1,15	1,82	1,72	1,17
13	1,76	1,36	1,06	1,72	1,60	1,04
14	1,56	1,27	0,88	1,66	1,50	0,94
15	1,39	0,97	0,78	1,58	1,38	0,90
16	1,19	0,76	0,68	1,50	1,20	0,86
17	1,10	0,73	0,61	1,43	1,10	0,81
18	0,96	0,56	0,53	1,31	1,02	0,69
19	0,89	0,52	0,43	1,20	0,78	0,60
20	0,76	0,50	0,41	1,14	0,72	0,48
21	0,57	0,46	0,39	1,06	0,59	0,45
22	0,49	0,39	0,38	0,99	0,55	0,41
23	0,39	0,37	0,29	0,86	0,46	0,38
Газовыделение	0	52,38	29,72	11,27	42	33
Отношение кислот	0	8,7	4,3	11,1	1,4	4,3
CSIgaZ	2,5	6,9	5,2	3,1	7,4	4,9
CSImU	3,1	7,4	5,3	6,8	2,5	4,9

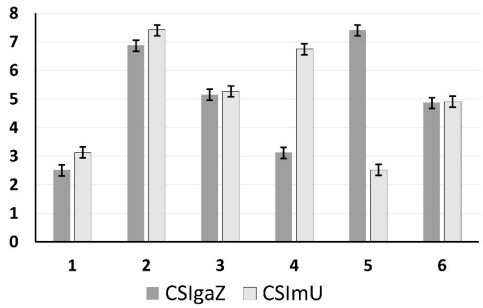


Рисунок 3 – Значения индексов CSIgaZ и CSImU, представляющих количественно интенсивность газовыделения при силосовании растительных биомасс и отношение количества молочной кислоты в силосе к количеству уксусной кислоты. Номера столбиков соответствуют номерам образцов силоса (табл. 1).

Индексы на старте процессов силосования без заквасок не равны нулю (CSIgaZ = 2,5, CSImU = 3,1, табл. 1, рис. 3), а на 30-е сутки силосования достигают значительно больших величин (CSIgaZ = 6,9, CSImU = 7,4, табл. 1, рис. 3). Это означает, что микрофлора силоса затрачивает определенное время на самоорганизацию биосистемы молочнокислых бактерий и это удлиняет время приготовления силоса. Применение же закваски «Биотроф-111» сокращает стартовый период самоорганизации биосистемы молочнокислых бактерий, а значит силосование растительной биомассы с закваской будет происходить не хаотично, а с самого начала будет происходить строго под контролем биосистемных микроорганизмов.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

С помощью информационной технологии, использующей нейросеть, удалось провести интеллектуальный анализ [40] влияния силосных заквасок и консервантов на направленность микробиологических биохимических процессов в силосных биомассах. Интеллектуальный нейросетевой анализ фрактальных профилей микрофлоры силоса выявил не только биоконсолидацию силосной микрофлоры в биосистему, возглавляемую молочнокислыми бактериями, но и определил наилучшую закваску, которая направляет биохимические процессы на наилучшие качественные и количественные показатели приготовленного силоса. Таким образом, микробиологическое сопровождение анаэробного брожения силосной растительной биомассы закваской «Биотроф-111» обеспечивает созревание силоса с наилучшими качественными и количественными показателями [5, 6].

NEURAL NETWORK ANALYSIS OF SILAGE FORAGE QUALITY BASED ON THE BIOCONSOLIDATION INDEX OF LACTIC ACID BACTERIA BIOSYSTEMS

Vorobyov N.I. [1,2] **–** Candidate of Technical Sciences, Lead Researcher, Senior Lecturer, (ORCID 0000-0001-8300-2287)**; Ilyina L.A.**[3] **–** Doctor of Biological Sciences, Head of Molecular Genetic Laboratory (ORCID 0000-0003-2490-6942); **Laptev G.Y.** [3] **–** Doctor of Biological Sciences, Director (ORCID 0000-0002-8795-6659); **Selina M.V.** [1]* – Candidate of Pedagogical Sciences, Associate Professor of the Department of Economics and Digital Technologies in the AIC1 (ORCID 0000-0001-8201-1042); **Guselnikova A.A.** [1] – Head of the Department of Organization and Monitoring of Scientific and Research Information1 (ORCID 0000-0003-0284-5253)

[1]Moscow Veterinary Academy

[2]All-Russia Research Institute for Agricultural Microbiology

[3]LLC ‘Biotrof’

* Selina.marina@@gmail.com

Financing: The materials were prepared within the framework of the 2022 Russian Science Foundation competition “Conducting fundamental scientific research and exploratory scientific research by small individual scientific groups” (agreement No. 23-26-00234 dated 12.01.2023) https://rscf.ru/project/23-26-00234

ABSTRACT

In this study, using the original neural

network information technology, it was possible to perform an intelligent analysis of molecular genetic data of silage microflora and evaluate the influence of silage starters and preservatives on the directionality of microbiological biochemical processes in silage biomass. The output product of the intelligent analysis of fractal profiles of silage microflora was the CSIgaZ and CSImU indices, chosen to represent quantitatively, in terms of microbiological data, the intensity of silage outgassing and the amount of lactic and acetic acids in silage. According to the CSImU index it was possible to evaluate the increase of lactic acid and decrease of acetic acid in silage, which signals the slowing down of development of putrefactive microorganisms in silage, and according to the CSIgaZ index - the decrease of silage gas emissions, which indicates favourable anaerobic conditions in which microbiological biochemical processes in silage take place. The laboratory experiment on silage of hedgehog silage conducted in the molecular genetic laboratory of 'Biotrof' Ltd. showed that 'Biotrof-111' (based on Bacillus subtilis, produced by 'Biotrof' Ltd.) creates the best anaerobic conditions in the silaged plant biomass, where the microflora of silage bioconsolidates in the biosystem of lactic acid bacteria. LLC 'Biotrof') creates the best anaerobic conditions in the silage plant biomass, in which the silage microflora bioconsolidates into a biosystem of lactic acid bacteria with a minimum value of CSIgaZ index = 3.1 and a maximum value of CSImU index = 6.8, that is, in this variant of silage silage hedgehog silage microflora of silage manages to group in such a way, that simultaneously provides a relatively low intensity of silage gas emissions, accelerated formation of lactic acid and slow formation of acetic acid in silage, and thus in these conditions the processes will be completed with the best quality nutritional indicators of silage.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1.Зенькова Н.Н. Практическое руководство по использованию кормовых ресурсов в кормопроизводстве: практическое руководство / Зенькова Н.Н., Ганущенко О.Ф.; Шлома Т.М.; Ковалева И.В. // Витебск: ВГАВМ. 2021. 176 с.

2.Лаптев Г.Ю.Закваска Промилк обеспечит качество силоса и зерносенажа / Лаптев Г.Ю., Йылдырым Е.А., Ильина Л.А., Новикова Н.И., Тюрина Д.Г., Маркман И.Л. // Животноводство России. №4. 2023. С. 50-55.

3.Лаптев Г.Ю. Предотвращаем вторичную ферментацию и аэробную порчу силоса / Йылдырым Е.А, Тюрина Д.Г., Новикова Н.И., Ильина Л.А., Черватенко Д.Ю. // Животноводство России. №4. 2024. С. 52-54.

4.Лаптев Г.Ю. Эффективность препарата «Биотроф-600» для борьбы с нежелательной микрофлорой при хранении плющеного зерна. / Сб. «Актуальные проблемы заготовки, хранения и рационального использования кормов» международной научно-практической конференции, посвященной 100-летию со дня рождения доктора сельскохозяйственных наук, профессора С.Я. Зафрена // М.: 2009. С. 41-45.

5.Йылдырым Е.А, Биотроф-111: все возможное делает сразу / Йылдырым Е.А, Тюрина Д.Г. // Животноводство России. 2021. №4. С. 48-51

6.Победнов Ю.А. Эффективность силосования кукурузы и трав с препаратом Биороф 111 (рекомендации) / Победнов Ю.А., Мамаев А.А., Худокормов В.В., Щукин Н.Н., Горькин А.М., Бородуля В.И., Лаптев Г.Ю., Солдатова В.В. // М.: ФГУ РЦСК, 2010. 17 с.

7.Биконя С.Н. Повышение питательной ценности силоса и сенажа с использованием биоконсервантов / Дисс. канд. с.-х. наук // Волгоград: Волгоградский ГАУ. 2023. 128 с.

8.Chagarovskiĭ V., Chagarovskiĭ A. Study of the biological activity of direct ferments of the Christian Hansen company used in the production of lactic acid milk products/ Ukraine Mikrobiolohichnyĭ Zhurnal . 2003. 5(1): 78 – 83.

9.Driehuis F. Fermentation characteristics and aerobic stability of grass silage inoculated with Lactobacillus buchneri, with or without homofermentative lactis acid bacteria/

Driehuis F., Oude Elferink S.J.W.H., Van Wikselaar P.G. // Grass Forage Sci., 2001, 56(4): 330-343 (doi: 10.1046/j.1365-2494.2001.00282.x).
10.Tabacco E. Dry matter and nutritional losses during aerobic deterioration of corn and sorghum silages as influenced by different lactic acid bacteria inocula / Tabacco E., Righi F., Quarantelli A., Borreani G. // J. Dairy Sci., 2011, 94: 1409-1419 (doi: 10.3168/jds.2010-3538).
11.Rigy E. Ensiling alfalfa with hydrolyzed corn meal additive and bacterial inoculant / Rigy E., Zsédely E., Tóth T., Schmidt J. // Acta Agronomica Óvariensis, 2011, 53(2): 15-23.
12.Лаптев Г.Ю. Анализ накопления микотоксинов в кормовом растительном сырье и силосе / Лаптев Г.Ю., Новикова Н.И., Дубровина Е.Г., Ильина Л.А., Йылдырым Е.А., Никонов И.Н., Филиппова В.А., Бражник Е.А. // Кормопроизводство. 2014. №10. с. 36-39.
13.Победнов Ю.А., Косолапов В.М. Биологические основы силосования люцерны с препаратами молочнокислых бактерий (обзор) / Сельскохозяйственная биология. 2018. Т. 53, № 2. С. 258-269.
14.Осипян Б.А., Мамаев А.А. Эффективность применения препаратов «Биотроф 600» и «Биотроф 700» при силосовании обеспеченного сахаром растительного сырья / Кормопроизводство. 2014. № 11. С. 35-39.
15.Нетрусов А.И., Бонч-Осмоловская Е.А., Горленко В.М. Экология микроорганизмов / М.: Академия, 2004. 272 с.
16.Чубенко Г.И. Методы идентификации бактерий: метод. пособие / Благовещенск: Амурская ГМА, 2018. 44 с.
17.Гафаров Ф.М., Галимянов А.Ф. Искусственные нейронные сети и приложения: учеб. пособие. – Казань: Изд-во Казан. ун -та, 2018. 121 с.
18.Круглов В.В., Борисов В.В. Искусственные нейронные сети. Теория и практика / М.: Горячая линия Телком, 2002. 382 с.
19.Воробьев Н.И., Селина М.В., Гусельникова А.А. Нейросетевая программа анализа состояния микробиоты животных / Свидетельство государственной регистрации программы для ЭВМ № 2024614895 от 29.02.2024 Заявка МВА имени К.И. Скрябина № 2024613194 от 16.02.2024.
20.Witten I.H., Frank E., Hall M.A., Kaufmann M. Data Mining: Practical Machine Learning Tools and Techniques. 3rd ed. / Witten I.H., Frank E., Hall M.A., Kaufmann M. // Elsevier, 2011. 629 p.
21.Ben-Jacob E. Bacterial self-organization: coenhancement of complexication and adaptability in a dynamic environment / Phil. Trans. R. Soc. Lond. A. 2003. 361: 1283-1312.
22.Young I.M., Crawford J.W. Interactions and self-organization in the soil-microbe complex / Science, 2004, 304(5677): 1634-1637.
23.Crawford J.W., Deacon L., Grinev D., Harris J.A., Ritz K., Singh B.K., Young I. Microbial diversity affects self-organization of the soil-microbe system with consequences for function / Journal of the Royal Society Interface. 2012, 9(71): 1302-1310.
24.Воробьев Н.И. Биосистемная самоорганизация и фрактальная структура частотно-таксономических профилей микробиоты кишечника бройлеров под влиянием кормовых пробиотиков / Воробьев Н.И., Егоров И.А., Кочиш И.И., Никонов И.Н., Ленкова Т.Н. // Сельскохозяйственная биология. 2021. 56(2): 400-410.
25.Кочиш И.И. Нейросетевое моделирование фрактальной самоорганизации микробно-организменных биосистем в кишечниках птиц / Кочиш И.И., Воробьев Н.И., Никонов И.Н., Селина М.В. // Ветеринария и Зоотехния. 2022. №12. С. 57-65.
26.Manfred Schroeder. Fractals, Chaos, Power Laws: Minutes from an Infinite Paradise / NY: 2009. Dover Publications. 448 p.
27.Sutrop U. List Task and a Cognitive Salience Index / Field metods. 2001. V. 13(3). P. 263-276.
28.Загоруйко Н.Г. Когнитивный анализ данных / Новосибирск: Академическое изд-во ГЕО. 2013. 183 с.
29.Ким Дж.-О. Факторный, дискриминантный и кластерный анализ/ Ким Дж.-

О., Мюллер Ч.У., Клекка У.Р., Олдендерфер М.С., Блэшфилд Р.К. // М., 1989. 216 с.
30.Заикина А.С. Нейросетевой анализ соответствия микробно-организменной биосистемы кишечника бройлеровы фрактально-стохастической модели / Заикина А.С., Буряков Н.П., Воробьев Н.И., Никонов И.Н. // Пермский аграрный вестник, № 4(40). 2022. С. 98-106.
31.Jürgen Schmidhuber. Deep learning in neural networks: an overview / Neural Netw. 2015. Jan:61:85-117 (doi: 10.1016/ j.neunet.2014.09.003)
32.Погодаев А.К. Применение нейросетевых моделей для построения продукционных правил экспертных систем / Погодаев А.К., Хабибуллина Е.Л., Инютин Д.М. // Прикладная математика и вопросы управления. 2021. № 2. С. 73-92.
33.Кулаков К.А., Димитров В.М. Основы тестирования программного обеспечения / Петрозаводск: Издательство ПетрГУ, 2018. 57 с.
34.Widrow, Bernard; et al. The no-prop algorithm: A new learning algorithm for multilayer neural networks / Neural Networks. 2013. 37. 182–188.
35.Mascarenhas, WF. Fast and accurate normalization of vectors and quaternions / Comp. Appl. Math. 2018. 37, 4649–4660.
36..Nikolić, D. Scaled correlation analysis: a better way to compute a cross-correlogram / Nikolić, D; Muresan, RC; Feng, W; Singer, W. // European Journal of Neuroscience. 2012. 35(5). 1–21.
37.Everitt, BS. Cluster Analysis / Everitt, BS, Landau S, Leese M, Stahl D. // John Wiley & Sons, 2011. 352 p.
38.Маркова Л.В., Корчевская Е.А. Численные методы нахождения собственных векторов и собственных значений матриц / Витебск: УО «ВГУ им. П. М. Машерова», 2011. 47 с.
39.Йылдырым Е.А. Изучение эпифитной микрофлоры как источника формирования микробиоценоза силоса методом NGS -секвенирования / Йылдырым Е.А., Лаптев Г.Ю., Ильина Л.А., Никонов И.Н., Филиппова В.А., Солдатова В.В., Бражник Е.А., Новикова Н.И., Гагкаева Т.Ю. // Сельскохозяйственная биология. 2015. Т. 50. №6. С. 832-838.
40.Дюк В. А., Флегонтов А. В., Фомина И. К. Применение технологий интеллектуального анализа данных в естественнонаучных, технических и гуманитарных областях // Известия РГПУ им. А.И. Герцена. 2011. №138. С. 77–84.

REFERENCES

1.Zenkova N.N. Practical guide to the use of fodder resources in fodder production: a practical guide / Zenkova N.N., Ganushchenko O.F.; Shloma T.M.; Kovaleva I.V. // Vitebsk: VGAVM. 2021. 176 p. (In Russ.)
2.Laptev G.Yu. Promilk leaven will ensure the quality of silage and grain slage / Laptev G.Yu., Yildirim E.A., Ilyina L.A., Novikova N.I., Tyurina D.G., Markman I.L. // Livestock of Russia. 2023. 4: 50-55. (In Russ.)
3.Laptev G.Y. Prevent secondary fermentation and aerobic spoilage of silage / Yildirim E.A., Tyurina D.G., Novikova N.I., Ilyina L.A., Chervatenko D.Y. // Livestock of Russia. 2024. 4: 52-54. (In Russ.)
4.Laptev G.Y. Effectiveness of the preparation ‘Biotrof-600’ to combat undesirable microflora in the storage of conditioned grain. / Collection ‘Actual problems of preparation, storage and rational use of forages’ of the international scientific-practical conference devoted to the 100th anniversary of the birth of Doctor of Agricultural Sciences, Professor S.Y. Zafren // M.: 2009. 41-45. (In Russ.)
5.Yildirim E.A., Biotrof-111: all possible does at once / Yildirim E.A., Tyurina D.G. // Livestock of Russia. 2021. 4: 48-51 (In Russ.)
6.Pobednov Yu.A. Effectiveness of corn and grass silage with the preparation Biorof 111 (recommendations) / Pobednov Yu.A., Mamaev A.A., Khudokormov VV, Shchukin NN, Gorkin AM, Borodulya V.I., Laptev GY, Soldatova VV // M.: FSU RCSC, 2010. 17 p. (In Russ.)
7.Bikonya S.N. Increase of nutritive value of silage and haylage with the use of bioconservatives / Dissertation of Candidate of Agricultural Sciences // Volgograd: Volgograd GAU. 2023. 128 p. (In Russ.)

8.Chagarovskiĭ V., Chagarovskiĭ A. Study of the biological activity of direct ferments of the Christian Hansen company used in the production of lactic acid milk products/ Ukraine Mikrobiolohichnyĭ Zhurnal . 2003. 5(1): 78 – 83.
9.Driehuis F. Fermentation characteristics and aerobic stability of grass silage inoculated with Lactobacillus buchneri, with or without homofermentative lactis acid bacteria/ Driehuis F., Oude Elferink S.J.W.H., Van Wikselaar P.G. // Grass Forage Sci., 2001, 56(4): 330-343 (doi: 10.1046/j.1365-2494.2001.00282.x).
10.Tabacco E. Dry matter and nutritional losses during aerobic deterioration of corn and sorghum silages as influenced by different lactic acid bacteria inocula / Tabacco E., Righi F., Quarantelli A., Borreani G. // J. Dairy Sci., 2011, 94: 1409-1419 (doi: 10.3168/jds.2010-3538).
11.Rigy E. Ensiling alfalfa with hydrolyzed corn meal additive and bacterial inoculant / Rigy E., Zsédely E., Tóth T., Schmidt J. // Acta Agronomica Óvariensis, 2011, 53(2): 15-23.
12.Laptev G.Yu. Analysis of mycotoxin accumulation in fodder plant raw materials and silage / Laptev G.Yu., Novikova N.I., Dubrovina E.G., Ilyina L.A., Yildirim E.A., Nikonov I.N., Filippova V.A., Brazhnik E.A. // Fodder production. 2014. 10: 36-39. (In Russ.)
13.Pobednov Yu.A., Kosolapov V.M. Biological basis of alfalfa silage with preparations of lactic acid bacteria (review) / Agricultural Biology. 2018. 53(2): 258-269. (In Russ.)
14.Osipyan B.A., Mamaev A.A. Efficiency of application of preparations 'Biotroph 600' and 'Biotroph 700' at ensiling of plant raw materials provided with sugar / Fodder production. 2014. 11: 35-39. (In Russ.)
15.Netrusov A.I., Bonch-Osmolovskaya E.A., Gorlenko V.M. Ecology of microorganisms / M.: Akademiya, 2004. 272 p. (In Russ.)
16.Chubenko G.I. Methods of bacterial identification: method. manual / Blagoveshchensk: Amurskaya GMA, 2018. 44 p. (In Russ.)
17.Gafarov F.M., Galimyanov A.F. Artificial neural networks and applications: textbook. - Kazan: Izd-vo Kazan. un-sta, 2018. 121 p. (In Russ.)
18.Kruglov V.V., Borisov V.V. Artificial neural networks. Theory and practice / M.: Hotline Telkom, 2002. 382 p. (In Russ.)
19.Vorobyov N.I., Selina M.V., Guselnikova A.A. Neural network programme for the analysis of the state of animal microbiota / Certificate of state registration of computer program No. 2024614895 from 29.02.2024 Application of K.I. Skryabin MBA No. 2024613194 from 16.02.2024. (In Russ.)
20.Witten I.H., Frank E., Hall M.A., Kaufmann M. Data Mining: Practical Machine Learning Tools and Techniques. 3rd ed. / Witten I.H., Frank E., Hall M.A., Kaufmann M. // Elsevier, 2011. 629 p.
21.Ben-Jacob E. Bacterial self-organization: coenhancement of complexication and adaptability in a dynamic environment / Phil. Trans. R. Soc. Lond. A. 2003. 361: 1283-1312.
22.Young I.M., Crawford J.W. Interactions and self-organization in the soil-microbe complex / Science, 2004, 304(5677): 1634-1637.
23.Crawford J.W., Deacon L., Grinev D., Harris J.A., Ritz K., Singh B.K., Young I. Microbial diversity affects self-organization of the soil-microbe system with consequences for function / Journal of the Royal Society Interface. 2012, 9(71): 1302-1310.
24.Vorobyov N.I. Biosystem self-organisation and fractal structure of frequency-taxonomic profiles of microbiota of broiler intestine under the influence of feed probiotics / Vorobyev N.I., Egorov I.A., Kochish I.I., Nikonov I.N., Lenkova T.N. // Agricultural Biology. 2021. 56(2): 400-410. (In Russ.)
25.Kochish I.I. Neural network modelling of fractal self-organization of microbial-organism biosystems in the intestines of birds / Kochish I.I., Vorobiev N.I., Nikonov I.N., Selina M.V. // Veterinary and Zootechnia. 2022. 12: 57-65. (In Russ.)
26.Manfred Schroeder. Fractals, Chaos, Power Laws: Minutes from an Infinite Paradise / NY: 2009. Dover Publications. 448 p.

27.Sutrop U. List Task and a Cognitive Salience Index / Field metods. 2001. 13(3): 263-276.
28.Zagoruiko N.G. Cognitive data analysis / Novosibirsk: Academic Publishing House GEO. 2013. 183 p. (In Russ.)
29.Kim J.-O. Factor, discriminant and cluster analysis / Kim J.-O., Mueller C.W., Klecka W.R., Oldenderfer M.S., Blashfield R.K. // M., 1989. 216 p.
30.Zaikina A.S. Neural network analysis of compliance of microbial-organism biosystem of broiler intestine fractal-stochastic model / Zaikina A.S., Buryakov N.P., Vorobyev N.I., Nikonov I.N. // Perm agrarian bulletin, 4(40). 2022: 98-106. (In Russ.)
31.Jürgen Schmidhuber. Deep learning in neural networks: an overview / Neural Netw. 2015. Jan:61:85-117 (doi: 10.1016/ j.neunet.2014.09.003)
32.Pogodaev, A.K. Application of neural network models for building the production rules of expert systems / Pogodaev, A.K.; Habibullina, E.L.; Inyutin, D.M. // Applied mathematics and control issues. 2021. 2: 73-92. (In Russ.)
33.Kulakov, K.A.; Dimitrov, V.M. Fundamentals of software testing / Petrozavodsk: PetrSU Publishing House, 2018. 57 p. (In Russ.)
34.Widrow, Bernard; et al. The no-prop algorithm: A new learning algorithm for multi-layer neural networks / Neural Networks. 2013. 37: 182–188.
35.Mascarenhas, WF. Fast and accurate normalization of vectors and quaternions / Comp. Appl. Math. 2018. 37: 4649–4660.
36..Nikolić, D. Scaled correlation analysis: a better way to compute a cross-correlogram / Nikolić, D; Muresan, RC; Feng, W; Singer, W. // European Journal of Neuroscience. 2012. 35(5): 1–21.
37.Everitt, BS. Cluster Analysis / Everitt, BS, Landau S, Leese M, Stahl D. // John Wiley & Sons, 2011. 352 p.
38.Markova L.V., Korchevskaya E.A. Numerical methods of finding eigenvectors and eigenvalues of matrices / Vitebsk: P.M. Masherov State University, 2011. 47 p. (In Russ.)
39.Yildirim E.A. Study of epiphytic microflora as a source of silage microbiocenosis formation by NGS-sequencing method / Yildirim E.A., Laptev G.Y., Ilyina L.A., Nikonov I.N., Filippova V.A., Soldatova V.V., Brazhnik E.A., Novikova N.I., Gagkaeva T.Y. // Agricultural Biology. 2015. T. 50(6): 832-838. (In Russ.)
40.Duke V. A., Flegontov A. V. V., Fomina I. K. Application of data mining technologies in natural science, technical and humanitarian fields // Izvestiya RGPU named after A.I. Herzen. 2011. 138: 77-84. (In Russ.)

УДК: 636.579.62.576.524
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.4.251

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ АНТАГОНИСТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ЛАКТОБАКТЕРИЙ ПРОБИОТИЧЕСКОГО БИОКОМПЛЕКСА «АВИБИОЛАКТ»

Овчарова Е.С. * – канд. ветеринар. наук, вед. науч. сотр., зав. отделом бактериологии (ORCID 00009-0006-1690-003X); **Маслов Д.В.** – канд. ветеринар. наук, ст. науч. сотр. отдела бактериологии (ORCID 0009-0005-1371-6272); **Новикова А.Ф.** – канд. ветеринар. наук, ст. науч. сотр. отдела бактериологии (ORCID 0009-0006-6267-9217)

«Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт птицеводства» — филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения Федерального научного центра «Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт птицеводства»

*ovcharova__el@bk.ru

Ключевые слова: *антагонистическая активность, лактобактерии, пробиотики, патогенная и условно-патогенная микрофлора, тест-микроорганизмы*
Key words: *antagonistic activity, lactobacilli, probiotics, pathogenic and opportunistic microflora, test-microorganisms.*

Поступила: 01.11.2024 **Принята к публикации: 02.12.2024**
Опубликована онлайн:16.12.2024

РЕФЕРАТ

В настоящее время, актуальным способом коррекции и поддержания баланса кишечной микрофлоры птиц является применение пробиотиков - биопрепаратов, созданных на основе живых микробных культур. Особый интерес для профилактики желудочно-кишечных болезней птиц представляют пробиотики на основе лактобактерий с высокой антагонистической способностью, которая определяет их практическое применение в птицеводстве. Введение в рацион птиц пробиотиков с первых дней жизни стабилизирует микрофлору желудочно-кишечного тракта и улучшает физиологические процессы, что способствует повышению сохранности и увеличению продуктивности птиц. В статье представлены данные сравнительного изучения антагонистической активности пробиотического биокомплекса «АВИБИОЛАКТ» и отдельных культур лактобактерий, входящих в состав данного биопрепарата -*Lactobacillus acidophilus, Lactococcus lactis, Lactococcus cremoris*. В качестве тест-культур использовали изоляты патогенных и условно-патогенных микроорганизмов из коллекции музея рабочих культур отдела бактериологии ВНИВИП: *Escherichia coli, Salmonella enteritidis, Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa*. Настоящими исследованиями подтверждена антагонистическая эффективность биокомплекса «АВИБИОЛАКТ» в отношении условно-патогенных и патогенных тест-микроорганизмов. Наибольшей антагонистической активностью в отношении тест-микроорганизмов обладал пробиотический биокомплекс

«АВИБИОЛАКТ». Он образовывал зону задержки роста от 16,4 до 19,6 мм в зависимости от тест-штамма. Так зона задержки роста *Staphylococcus aureus* составляла 19,6 мм, *Escherichia coli* и *Salmonella enteritidis* - 19,3 и 18,8 мм соответственно, а *Pseudomonas aeruginosa* – 16,1 мм. Установлено, что уровень антимикробной активности в отношении тест-микроорганизмов - *Escherichia coli, Salmonella enteritidis, Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa*. был выражен в большей степени у биокомплекса «АВИБИОЛАКТ». У отдельных культур лактобактерий исследуемого пробиотического биокомплекса, антагонистическая способность была менее выражена. Наибольшей антагонистической активностью среди отдельных культур лактобактерий обладал *Lactobacillus acidophilus.*

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

В птицеводстве промышленного типа болезни желудочно-кишечного тракта бактериальной этиологии занимают одно из ведущих мест и являются главной причиной гибели молодняка птицы.

Нормальная микрофлора желудочно-кишечного тракта является важным звеном в жизнедеятельности птиц [1]. Она выполняет такие незаменимые функции как переваривание кормов, стимуляцию иммунной системы, защиту организма от патогенной микрофлоры и другие [2]. Исключительно важными качествами полезной микрофлоры кишечника является способность к колонизации и антагонистическая активность в отношении условно-патогенных и патогенных микроорганизмов.

В настоящее время, актуальным способом коррекции и поддержания баланса кишечной микрофлоры птиц является применение пробиотиков - биопрепаратов, созданных на основе живых микробных культур. Особый интерес для профилактики желудочно-кишечных болезней птиц представляют пробиотики на основе лактобактерий с высокой антагонистической способностью, которая определяет их практическое применение в птицеводстве [3]. Лактобактерии продуцируют антагонистические компоненты, такие как молочная кислота, бактериоцины, перекись водорода, лизоцим и другие вещества с бактерицидным действием, которые ингибируют рост условно-патогенной и патогенной микрофлоры кишечника [4, 5]. Введение в рацион птиц пробиотиков с первых дней жизни стабилизирует микрофлору желудочно-кишечного тракта и улучшает физиологические процессы, что способствует повышению сохранности и увеличению продуктивности птиц [6].

Целью исследования являлось изучение антагонистической активности пробиотического биокомплекса «АВИБИОЛАКТ» и отдельных монокультур лактобактерий, входящих в его состав, в отношении условно-патогенных и патогенных тест-культур.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

При определении антагонистической способности исследуемых пробиотических лактобактерий использовали методом лунок. Для проведения опыта использовали комплекс пробиотических лактобактерий биопрепарата «АВИБИОЛАКТ» и монокультуры лактобактерий, входящих в его состав: *Lactobacillus acidophilus, Lactococcus lactis subsp. lactis, Lactococcus lactis subsp. cremoris*. Устанавливали наличие и степень выраженности антагонистической активности у данных культур лактобактерий в отношении патогенных и условно-патогенных тест-микроорганизмов - *Salmonella enteritidis, Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa.*

Для исследования использовали свежеприготовленный пробиотический биокомплекс «АВИБИОЛАКТ» в жидкой форме.

Монокультуры лактобактерий, перед проведением исследования, трехкратно культивировали на обезжиренной жидкой молочной среде. Ацидофильную палочку инкубировали в течении 48 часов при 37 ^{o}C, в анаэробных условиях, с использованием анаэростата и газогенерирующих пакетов «КАМПИЛОГАЗ» с содержанием

CO_2 8-10%, сливочный лактококк и молочный стрептококк культивировали в термостате при 30ºС в течении 48 часов в аэробных условиях. Затем проводили культивирование, данных микроорганизмов, на поверхности MRS агара в тех же условиях.

У изолированных колоний, типичных для каждой культуры лактобактерий, выросших на MRS-агаре подтверждали культурально-морфологические, тинкториальные и биохимические свойства. Затем повторно пересевали на MRS-агар газоном. Через 48 часов культуры смывали стерильным физиологическим раствором, готовили суспензию микробных клеток в концентрации 5,2-5,8×10^9 КОЕ/$см^3$.

В качестве тест-культур использовали изоляты патогенных и условно-патогенных микроорганизмов из коллекции музея рабочих культур отдела бактериологии ВНИВИП: *Escherichia coli, Salmonella enteritidis, Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa*. Перед проведением эксперимента все тест-микроорганизмы освежали и подтверждали их культуральные, тинкториальные, морфологические и биохимические свойства. Из отдельно взятых колоний суточного роста готовили суспензию на физиологическом растворе в концентрации микробных клеток: *Salmonella enteritidis* – 3,5×10^9 КОЕ/$см^3$, *Staphylococcus aureus* – 6,4×10^9 КОЕ/$см^3$, *Escherichia coli* – 5,8×10^9 КОЕ/$см^3$, *Pseudomonas aeruginosa* – 3,1×10^9 КОЕ/$см^3$. Подготовленную суспензию в объеме 1 $см^3$ добавляли в расплавленный и остуженный МПА в чашку Петри. После застывания агара в нем вырезали лунки диаметром 5 мм. Для предупреждения подтекания микробной суспензии под агар, на дно лунки вносили по 1 капле расплавленного мясопептонного агара. В каждую лунку вносили по 0,2 мл взвеси культуральной жидкости лактобактерий – один вид тест-культуры на чашку с одним видом лактобактерии в три лунки - 1, 2, 3. Контролем на каждой чашке служила лунка, заполненная стерильным физиологическим раствором. Чашки Петри термостатировали при оптимальной температуре в течении 24-48 ч. Зону задержки роста тест-культур вокруг лунок фиксировали штангенциркулем в мм. Числовые данные обрабатывали статистически.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Важным критерием оценки эффективности применения пробиотических штаммов лактобактерий является уровень их антагонистической активности по отношению к условно-патогенной и патогенной микрофлоре.

Результаты изучения антагонистической активности биокомплекса «АВИБИОЛАКТ» и отдельных культур лактобактерий, входящих в его состав, в отношении тест-культур представлены в табл.1 и рис.1.

Данные таблицы 1 и рисунка 1 свидетельствуют, что наибольшей антагонистической активностью в отношении тест -микроорганизмов обладал пробиотический биокомплекс «АВИБИОЛАКТ». Он образовывал зону задержки роста от 16,4 до 19,6 мм в зависимости от тест-штамма. Так зона задержки роста *Staphylococcus aureus* составляла 19,6 мм, *Escherichia coli* и *Salmonella enteritidis* - 19,3 и 18,8 мм соответственно, а *Pseudomonas aeruginosa* – 16,1 мм.

При раздельном культивировании лактобактерий биокомплекса было установлено, что все штаммы пробиотических микроорганизмов обладали антибактериальным эффектом в отношении тест-культур, но в разной степени выраженности. Зоны задержки роста тест-культур по отношению к отдельным штаммам исследуемых лактобактерий были менее выражены, чем у пробиотического биокомплекса «АВИБИОЛАКТ» и находились в пределах от 15,3 до 19,0 мм. Наиболее значимые показатели были определены в отношении штамма *Lactobacillus acidophilus*, где уровень зоны задержки роста к патогенным культурам *Escherichia coli* и *Salmonella enteritidis* составлял 18,7 и 17,9 мм соответственно, а к *Staphylococcus aureus* этот показатель был выше и составил 19,0 мм. Самая низкая величина зоны задержки роста была выявлена в отноше-

нии *Pseudomonas aeruginosa* и составила 16,1 мм. У штаммов *Lactococcus cremoris* и *Lactococcus lactis* были выявлены следующие показатели антагонистической активности: зона задержки роста *Escherichia coli* составляла 18,1 и 17,5 мм соответственно; *Salmonella enteritidis* - 17,2 и 16,8 мм, а Staphylococcus aureus - 18,6 и 18,3 мм соответственно. Самый низкий показатель наблюдался у Pseudomonas aeruginosa – 15,8 и 15,3 мм соответственно.

Анализ полученных данных изучения антагонистической активности биокомплекса «АВИБИОЛАКТ» и монокультур лактобактерий, входящих в его состав, свидетельствует о том, что биокомплекс «АВИБИОЛАКТ» и все исследуемые штаммы лактобактерий обладали выраженной антагонистической активностью по отношению к тест-культурам патогенных и условно-патогенных микроорганизмов.

Таблица 1 – Результаты антагонистической активности биокомплекса «АВИБИОЛАКТ» и входящих в его состав лактобактерий в отношении тест-культур

Патогенные и условно-патогенные тест-штаммы	Диаметр задержки роста, мм (M±m)			
	Lactobacillus acidophilus	*Lactococcus lactis*	*Lactococcus cremoris*	биокомплекс «АВИБИОЛАКТ»
Escherichia coli	18,7±0,9	17,5±0,7	18,1±2,3	19,3±1,2
Salmonella enteritidis	17,9±1,5	16,8±2,1	17,2±1,6	18,8±1,6
Staphylococcus aureus	19,0±1,1	18,3±2,4	18,6±2,8	19,6±2,3
Pseudomonas aeruginosa	16,1±0,5	15,3±1,2	15,8±0,4	16,4±0,8

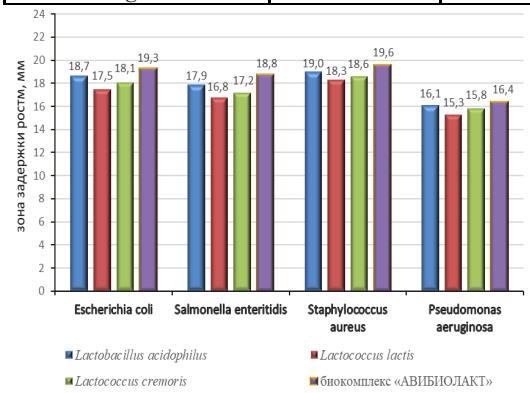


Рисунок 1 – Антагонистическая активность лактобактерий к тест-микроорганизмам.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

При раздельном культивировании лактобактерий биокомплекса было установлено, что все штаммы пробиотических микроорганизмов обладали антибактериальным эффектом в отношении тест-культур, но в разной степени выраженности. Проведёнными исследованиями было установлено выраженное антагонистическое действие пробиотического биокомплекса «АВИБИОЛАКТ» и отдельных лактобактерий, входящих в его состав в отношении изучаемых тест-микроорганизмов. Антимикробная активность биокомплекса была выше, чем у монокультур лактобактерий.

COMPARATIVE ANALYSIS OF THE ANTAGONISTIC ACTIVITY OF LACTOBACILLI OF THE PROBIOTIC BIOCOMPLEX «AVIBIOLACT»

Ovcharova E.S. * – Candidate of Veterinary Sciences, Leading Researcher – Head of the Department of Bacteriology (ORCID 00009-0006-1690-003X); **Maslov D.V.** – Candidate of Veterinary Sciences, Senior Researcher at the Department of Bacteriology (ORCID 0009-0005-1371-6272); **Novikova A.F.** – Candidate of Veterinary Sciences, Senior Researcher at the Department of Bacteriology (ORCID 0009-0006-6267-9217).

«All-Russian Research Veterinary Institute of Poultry Science» — Branch of the Federal State Budget Scientific Institution Federal Scientific Center "All-Russian Research and Technological Poultry Institute"

*ovcharova__el@bk.ru

ABSTRACT

Currently, the current method of correction and maintenance of the balance of intestinal microflora of birds is the use of probiotics - biopreparations created on the basis of live microbial cultures. Of particular interest for the prevention of gastrointestinal diseases of birds are probiotics based on lactobacilli with high antagonistic ability, which determines their practical application in poultry farming. The introduction of probiotics into the diet of birds from the first days of life stabilizes the microflora of the gastrointestinal tract and improves physiological processes, which contributes to increased safety and increased productivity of birds. The article presents data from a comparative study of the antagonistic activity of the probiotic biocomplex "AVIBIOLAKT" and individual cultures of lactobacilli included in this biopreparation - Lactobacillus acidophilus, Lactococcus lactis, Lactococcus cremoris. Isolates of pathogenic and opportunistic microorganisms from the collection of the Museum of Working Cultures of the Bacteriology Department of the All-Russian Research Institute of Vitiligo and Infectious Diseases were used as test cultures: Escherichia coli, Salmonella enteritidis, Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa. The present studies have confirmed the antagonistic efficiency of the biocomplex "AVIBIOLAKT" in relation to opportunistic and pathogenic test microorganisms. The probiotic biocomplex "AVIBIOLAKT" had the highest antagonistic activity in relation to test microorganisms. It formed a growth inhibition zone from 16.4 to 19.6 mm depending on the test strain. Thus, the growth inhibition zone of Staphylococcus aureus was 19.6 mm, Escherichia coli and Salmonella enteritidis - 19.3 and 18.8 mm, respectively, and Pseudomonas aeruginosa - 16.1 mm. It was established that the level of antimicrobial activity against test microorganisms - Escherichia coli, Salmonella enteritidis, Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa. was expressed to a greater extent in the biocomplex "AVIBIOLAKT". In individual cultures of lactobacilli of the studied probiotic biocomplex, the antagonistic ability was less pronounced. Lactobacillus acidophilus had the greatest antagonistic activity among individual cultures of lactobacilli.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1.Скворцова, Л. Н. Функции микрофлоры желудочно-кишечного тракта сельскохозяйственной птицы / Л. Н. Скворцова // Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета. – 2020. – № 161. – С. 44-51. - DOI 10.21515/1990-4665-161-005.

2.Фисинин, В. И. Кишечный иммунитет у птиц: факты и размышления (обзор) / В. И. Фисинин, П. Сурай // Сельскохозяйственная биология. – 2013. – Т. 48, № 4. – С. 3-25.

3.Гиндуллин, А. И. Возможности применения пробиотиков на основе лактобактерий в птицеводстве / А. И. Гиндуллин // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. – 2013. – Т. 215. – С. 74 -77.

4.Овчарова, А. Н. Новые пробиотические препараты на основе Lactobacillus reuteri и перспективы использования их в животноводстве / А. Н. Овчарова, Е. С. Петраков // Проблемы биологии продуктивных животных. – 2018. – № 2. – С. 5-18.

5.Абдуллаева, Н. Ф. Микробиологические

и биохимические характеристики молочнокислых бактерий и области их применения (обзор) / Н. Ф. Абдуллаева, З. А. Тагизаде, Р. С. Мустафаева // Актуальные проблемы гуманитарных и естественных наук. – 2017. – № 3-3. – С. 31-35.
6.Кононенко, С. И. Повышение биологического потенциала птицы за счет использования пробиотиков / С. И. Кононенко // Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета. – 2017. – № 127. – С. 527-545. – DOI 10.21515/1990-4665-127-036.

REFERENCES

1.Skvortsova, L. N. Functions of the microflora of the gastrointestinal tract of agricultural poultry / L. N. Skvortsova // Polythematic network electronic scientific journal of the Kuban State Agrarian University. – 2020. – No. 161. – P. 44-51. – DOI 10.21515/1990-4665-161-005.
2.Fisinin, V. I. Intestinal immunity in birds: facts and reflections (review) / V. I. Fisinin, P. Surai // Agricultural biology. – 2013. – T. 48, No. 4. – P. 3-25.
3.Gindullin, A. I. Possibilities of using probiotics based on lactobacilli in poultry farming / A. I. Gindullin // Scientific notes of the Kazan State Academy of Veterinary Medicine named after. N.E. Bauman. – 2013. – T. 215. – P. 74-77.
4.Ovcharova, A. N. New probiotic preparations based on Lactobacillus reuteri and prospects for their use in animal husbandry / A. N. Ovcharova, E. S. Petrakov // Problems of biology of productive animals. – 2018. – No. 2. – P. 5-18.
5.Abdullaeva, N. F. Microbiological and biochemical characteristics of lactic acid bacteria and their areas of application (review) / N. F. Abdullaeva, Z. A. Tagizade, R. S. Mustafaeva // Current problems of the humanities and natural sciences. – 2017. – No. 3-3. – pp. 31-35.
6.Kononenko, S. I. Increasing the biological potential of poultry through the use of probiotics / S. I. Kononenko // Polythematic network electronic scientific journal of the Kuban State Agrarian University. – 2017. – No. 127. – P. 527-545. – DOI 10.21515/1990-4665-127-036.

УДК: 637.54.074:543.544.943.3:632.95
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.4.257

ТОНКОСЛОЙНАЯ ХРОМАТОГРАФИЯ КАК СПОСОБ ВЫЯВЛЕНИЯ ПЕСТИЦИДОВ В КУРИНОМ ЯЙЦЕ

Соколов И.В.* – асс. каф. ветеринарно-санитарной экспертизы (ORCID 0000-0003-0191-6726); **Терехов А.А.** – соиск. (ORCID 0000-0002-0436-5627); Токарев **А.Н.** – д-р ветеринар. наук, доц. каф. ветеринарно-санитарной экспертизы (ORCID 0000-0002-7117-306X); **Смирнов А.В.** – канд. ветеринар. наук, доц. каф. ветеринарно-санитарной экспертизы (ORCID 0000-0003-3250-4433); **Юнггрен В.А.** – асс. каф. ветеринарно-санитарной экспертизы (ORCID 0000-0002-9819-4397)

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины»

*wanya.sokolov@gmail.com

Ключевые слова: *тонкослойная хроматография, яйцо, пестициды, синтетические пиретроиды, s-биотрин, ветеринарно-санитарная экспертиза.*

Key words: *thin layer chromatography, egg, pesticides, synthetic pyrethroids, s-biotrin, veterinary and sanitary examination.*

Финансирование: *Работа выполнена при поддержке Министерства сельского хозяйства Российской Федерации в рамках государственного задания за счет средств федерального бюджета (соглашение №082-03-2024-253 от 26.01.2024)*

Поступила: 25.10.2024 **Принята к публикации: 02.12.2024**
Опубликована онлайн:16.12.2024

РЕФЕРАТ

В статье описывается применение метода тонкослойной хроматографии с целью выявления синтетических пиретроидов в курином яйце, полученном в птицеводческих помещениях хозяйства яичного направления, находящегося на территории Ленинградской области после инсектицидной обработки 1 % раствором s-биотрина. Хроматографию проводили по адаптированной методики с применением ультрафиолетового кабинета УФК-HDi, компании ООО «Петролазер». Подготовка проб проводилась исходя из анализа литературных источников и опыта проводимых ранее экспериментов. Для этого содержимое яйца гомогенизировали и подвергали экстракции с добавлением органического растворителя ацетона. Полученный экстракт центрифугировали в режиме 1000 об/мин. Осадок дегидрировали в сушильном шкафу до достижения наименьшей массы. В образцах куриного яйца, отобранных в птицеводческом помещении, подвергавшемся инсектицидной обработке, не было установлено содержания пестицида. Результаты соответствовали показателям, проб из контрольного птичника, не подвергавшегося обработке. Результаты хро-

матографии проб куриного яйца из производственных помещений сравнивали с результатами исследования яиц, экспериментально обработанных раствором инсектицида с концентрацией 1%. В качестве контроля для оценки результатов хроматографии использовались растворы действующего вещества в той же концентрации. Пятна веществ на пластинах соответствовали показателям проб раствора чистого вещества. Коэффициент подвижности s-биотрина составил 0,31±0,03. Метод тонкослойной хроматографии является доступным и показательным методом качественного анализа содержания остаточных концентраций синтетических пиретроидов и эффективности дезинсекции [1]. Применение современного оборудования и материалов отечественного производства делает данный метод доступным для лабораторий и научно-исследовательских организаций различного уровня, что демонстрирует актуальность разработки данной методики в условиях необходимости импортозамещения.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

В условиях современной экономической ситуации рынок пищевой продукции России нуждается в развитии высокопродуктивных отраслей животноводства. Основной задачей для производственных предприятий агропромышленного комплекса является увеличение мощностей производства и внедрение более прогрессивных технологий.

На фоне растущего спроса на высококачественные и доступные продукты питания, наиболее рентабельной отраслью является птицеводство. Птицефабрики способны обеспечивать население сырьём, полуфабрикатами и готовыми продуктами, покрывая потребности населения. На сегодняшний день яйцо и мясо птицы являются лидирующими видами продукции животного происхождения, потребляемыми в России.

В силу интенсивности разведения птицы, скученного содержания и потребности птицы в определённых условиях при выращивании, появляется риск возникновения большого количества болезней, способных нанести значительный ущерб отрасли. Одним из основных факторов риска для сельскохозяйственной птицы являются многочисленные эктопаразиты, обитающие в производственных помещениях.

С целью снижения ущерба и обеспечения необходимых условий для производства качественной и безопасной продукции производители вынуждены прибегать к использованию инсектицидов.

Химические вещества, используемые для борьбы с паразитами, имеют большое разнообразие на рынке. Одними из наиболее распространённых видов химических веществ являются синтетические пиретроиды [2].

Данная группа веществ высоко эффективна против амбарных вредителей, клещей разных видов, пухо-пероедов и синантропных насекомых. Универсальность пиретроидов является основным фактором для подбора инсектицидов. В большинстве своём соединения из данной группы обладают нейротоксическим действием для членистоногих, однако многие из них мало токсичны для теплокровных. Одним из довольно действеных химических веществ с инсектицидным действием из группы синтетических пиретроидов является s-биотрин.[3]

Пиретроиды способны накапливаться в куриных яйцах, поэтому подбор современных методов для проведения ветеринарно-санитарной экспертизы данного вида продукции является наиболее актуальной задачей для современной ветеринарной науки.

Целью проведённой работы было установление качественного наличия s-биотрина в пробах куриного яйца при помощи метода тонкослойной хроматографии. Для ее решения были поставлены следующие задачи:

Выявить вероятность проникновения s -биотрина в куриное яйцо через контакт с рабочей поверхностью, после дезинсекции;

Определить наличие остаточного содержания инсектицида в курином яйце после аэрозольной обработки рабочих поверхностей методом тонкослойной хро-

матографии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Исследования проводились в условиях учебно-исследовательского центра экспертизы пищевых продуктов и кормов для животных ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины».

Объектом исследования послужили пробы яйца из птицеводческих помещений, после инсектицидной обработки 1% раствором s-биотрина. После осуществления инсектицидной обработки в птичник заселяли кур несушек, после чего отбирали пробы в количестве 10 яиц, с целью установления вероятности проникновения веществ в продукцию с рабочих поверхностей. Эксперимент проводился в условиях птицеводческого предприятия яичного направления Ленинградской области [2].

Для моделирования загрязнения яиц инсектицидом 10 проб куриного яйца были обработаны аэрозольным методом 1% раствором s-биотрина в герметичной камере.

Для исследования был выбран метод тонкослойной хроматографии [4].

Подготовка проб проводилась исходя из анализа литературных источников и опыта проводимых ранее экспериментов. Для этого содержимое яйца гомогенизировали и подвергали экстракции с добавлением органического растворителя ацетона. Полученный экстракт центрифугировали в режиме 1000 об/мин. Осадок дегидрировали в сушильном шкафу до достижения наименьшей массы [5].

После этого пробы наносились на хроматографические пластины Sorbfil и подвергались элюированию в герметичной камере с подвижной системой гексан-ацетон (1:3) [6]. Полученные хроматограммы проявляли при помощи ультрафиолетового кабинета УФК-HDi компании ООО «Петролазер». В качестве контрольной пробы для сравнения опытных образцов, на пластины наносили 1% раствор s-биотрина. Вещества идентифицировались методом подсчёта коэффициента подвижности R_f [4].

Коэффициент подвижности веществ, представляет собой отношение расстояния, пройденного исследуемым веществом к расстоянию, пройденному растворителем, применяемым в качестве подвижной фазы. Рассчитывается по формуле:

$$\mathbf{Rf = a/b;}$$

a – расстояние от стартовой линии до центра пятна,

исследуемого вещества;

b – расстояние от стартовой линии до фронта растворителя [7].

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

В результате хроматографического исследования проб куриного яйца, отобранных в птицеводческом помещении после инсектицидной обработки, не было выявлено остаточных количеств s-биотрина. В качестве контроля на пластинки был нанесен 1% исследуемого вещества. Результаты отражены в Таблице 1.

После аэрозольной обработки куриного яйца была проведена оценка вероятности проникновения действующего вещества в исследуемое сырьё. Для проб с положительными результатами были рассчитаны коэффициенты подвижности R_f, сравниваемые с коэффициентами, контрольного раствора. Результаты представлены в таблице 2.

В образцах куриного яйца, отобранных в птицеводческом помещении, подвергавшемся инсектицидной обработке, не было установлено содержания s-биотрина.

Пробы яиц, подвергнутых аэрозольной обработке, показали наличие инсекто -акарицида. Пятна на хроматографических пластинах соответствовали показателям, характерным для раствора чистого вещества.

Коэффициент подвижности s-биотрина, рассчитанный в ходе эксперимента, составил 0,31±0,03, что характерно для данного вещества.

Таблица 1 – Результаты тонкослойной хроматографии проб куриного яйца, полученных после аэрозольной обработки помещения

№ пробы	Яйцо, собранное в птичнике после проведенной дезинсекции	1% р-р. s-биотрина
1	-	+
2	-	+
3	-	+
4	-	+
5	-	+
6	-	+
7	-	+
8	-	+
9	-	+
10	-	+
R_f	-	0,31±0,03

Таблица 2 – Результаты тонкослойной хроматографии проб куриного яйца, полученных после экспериментальной обработки

№ пробы	Результаты обработки проб яйца	Контрольный раствор s-биотрина	Коэффициент подвижности R_f s-биотрина при экспериментальной обработке
1	+	+	0,34
2	+	+	0,32
3	+	+	0,32
4	+	+	0,31
5	+	+	0,33
6	+	+	0,32
7	+	+	0,29
8	+	+	0,31
9	+	+	0,32
10	+	+	0,33
R_f	0,31±0,03	0,31±0,03	

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Вероятность проникновения s-биотрина в куриное яйцо через контакт с рабочей поверхностью довольно мала. Остаточное содержание инсектицида в курином яйце при аэрозольной обработке, поверхностей методом тонкослойной хроматографии, возможна только при непосредственном попадании инсектицида на поверхность яйца. На основе полученных результатов можно сделать вывод, что метод тонкослойной хроматографии является доступным и показательным методом анализа содержания остаточных концентраций синтетических пиретроидов и эффективности дезинсекции.

THIN-LAYER CHROMATOGRAPHY AS A METHOD OF DETECTING PESTICIDES IN POULTRY PRODUCTS

Sokolov I.V. – ass. of the department of veterinary and sanitary expertise, (orcid.org/0000-0003-0191-6726); **Terekhov A.A.** – the applicant (orcid.org/0000-0002-0436-5627); **Tokarev A.N.** – doctor of veterinary sciences, associate professor of the department of veterinary and sanitary expertise, (orcid.org/0000-0002-7117-306X); **Smirnov A.V.** – candidate of

veterinary sciences, associate professor of the department of veterinary and sanitary expertise (orcid.org/0000-0003-3250-4433); **Junggren V.A.** – ass. of the department of veterinary and sanitary (orcid.org/0000-0002-9819-4397)

St. Petersburg State University of Veterinary Medicine

*wanya.sokolov@gmail.com

Financing: The work was supported by the Ministry of Agriculture of the Russian Federation under the state assignment at the expense of the federal budget (agreement №082-03-2024-253 from 26.01.2024).

ABSTRACT

The article describes the application of thin-layer chromatography method for the detection of synthetic pyrethroids in hen's eggs obtained in poultry farm egg production facilities located in the Leningrad region after insecticidal treatment with 1% s-biotrin solution. Chromatography was carried out according to the adapted methodology with the use of UVK-HDi ultraviolet cabinet, the company "Petrolaser" Ltd. Sample preparation was based on the analysis of literature sources and the experience of the experiments conducted earlier. For this purpose, the egg contents were homogenized and subjected to extraction with the addition of organic solvent acetone. The obtained extract was centrifuged at 1000 rpm. The precipitate was dehydrated in a desiccator until the lowest mass was reached. No pesticide content was detected in chicken egg samples collected from the insecticide treated poultry house. The results were consistent with those of samples from a control poultry house that had not been treated. The chromatography results of chicken egg samples from production facilities were compared with the results of eggs experimentally treated with a 1% insecticide solution. Solutions of the active substance at the same concentration were used as a control to evaluate the chromatography results. Substance stains on the plates corresponded to the values of pure substance solution samples. The mobility coefficient of s-biotrin was 0.31±0.03. The method of thin-layer chromatography is an accessible and indicative method of qualitative analysis of the content of residual concentrations of synthetic pyrethroids and disinsection efficiency. The use of modern equipment and materials of domestic production makes this method available for laboratories and research organizations of various levels, which demonstrates the relevance of the development of this technique in the context of the need for import substitution.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Пацовский А.П. Современные достижения в области тонкослойной хроматографии/ А. П. Пацовский // «Теория. Исследования. Практика». Санкт-Петербург. – 2013. – № 1. С. 36-40.
2. Смирнов А.В. Ветеринарно-санитарная оценка и идентификация сырья и пищевых продуктов, А.В. Смирнов, Д.А. Орлова, А.Н. Токарев, В.Г. Урбан, А.С. Смолькина, Т.В. Калюжная // Учебно-методическое пособие / Санкт-Петербург, – 2022.
3. Ващук, А.В. Акарицидная и инсектицидная активность эсбиотрина, цифлутрина и тетраметрина при обработке крупного рогатого скота, зараженного хориоптесами, псороптесами и бовиколами / А.В. Ващук, А.Н. Токарев, О.А. Токарева // Международный вестник ветеринарии. - 2017. - №. 3. - С. 24-30.
4. Соколов И.В. Определение остаточного количества эсбиотрина в молоке методом тонкослойной хроматографии / И.В. Соколов, А.А. Терехов, А.Н. Токарев, А.В. Смирнов, В.А. Лашкова // Актуальные проблемы ветеринарной медицины. сборник научных трудов. Санкт-Петербург, – 2022. – С. 53-56.
5. Терехов А.А. Выявление остаточного количества фосфорорганических пестицидов в молочной продукции методом тонкослойной хроматографии А.А. Терехов, И.В. Соколов, А.В. Смирнов // Нормативно-правовое регулирование в ветеринарии. – 2022. – № 4. С. 149-151.
6. Умарова, З.Х. Методы количественного анализа при тонкослойной хроматогра-

фии / З.Х. Умарова, О.В. Малыхина, К.С. Юсупова, Э.С. Юсупова // Информационное обеспечение как двигатель научного прогресса. – 2019 – С 1-1.
7.Кибардин, С.А. Тонкослойная хроматография в органической химии / С.А. Кибардин, К.А. Макаров – М.: Химия, 1978. – 128 с.

REFERENCES

1.Vashchuk, A.V. Acaricidal and insecticidal activity of esbiothrin, cyfluthrin and tetramethrin in the treatment of cattle infected with chorioptes, psoroptes and bovicola / A.V. Vashchuk, A.N. Tokarev, O.A. Tokareva // International Bulletin of Veterinary Medicine. - 2017. - No. 3. - P. 24-30. (In Russ.)
2.Kibardin, S.A. Thin-layer chromatography in organic chemistry / S.A. Kibardin, K.A. Makarov - M.: Chemistry, 1978. - 128. (In Russ.)
3.Patsovsky A.P. Modern achievements in the field of thin-layer chromatography / A.P. Patsovsky // "Theory. Research. Practice". St. Petersburg. – 2013. – No. 1. P. 36-40. (In Russ.)
4.Smirnov AV Veterinary and sanitary assessment and identification of raw materials and food products, AV Smirnov, DA Orlova, AN Tokarev, VG Urban, AS Smolkina, TV Kalyuzhnaya // Textbook-method manual / St. Petersburg, – 2022. (In Russ.)
5.Sokolov IV Determination of residual amount of esbiothrin in milk by thin-layer chromatography / IV Sokolov, AA Terekhov, AN Tokarev, AV Smirnov, VA Lashkova // Actual problems of veterinary medicine. collection of scientific papers. St. Petersburg, – 2022. – P. 53-56. (In Russ.)
6.Terekhov A.A. Detection of residual organophosphorus pesticides in dairy products by thin-layer chromatography A.A. Terekhov, I.V. Sokolov, A.V. Smirnov // Normative and legal regulation in veterinary medicine. - 2022. -No. 4. P. 149-151. (In Russ.)
7.Umarova, Z.Kh. Methods of quantitative analysis in thin-layer chromatography / Z.Kh. Umarova, O.V. Malykhina, K.S. Yusupova, E.S. Yusupova // Information support as an engine of scientific progress. - 2019 - P. 1-1. (In Russ.)

УДК: 43.544:637.12.07:632.95
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.4.263

ВЫЯВЛЕНИЕ ФОСФОРОРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ МЕТОДОМ ТОНКОСЛОЙНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

Терехов А.А.* – соиск. (ORCID 0000-0002-0436-5627); **Смирнов А.В.** – канд. ветеринар. наук, доц. каф. ветеринарно-санитарной экспертизы (ORCID 0000-0003-3250-4433); **Токарев А.Н.** – д-р ветеринар. наук, зав. каф. ветеринарно-санитарной экспертизы (ORCID 0000-0002-7117-306X); **Соколов И.В.** – асс. каф. ветеринарно-санитарной экспертизы (ORCID 0000-0003-0191-6726); **Юнггрен В.А.** – асс. каф. ветеринарно-санитарной экспертизы, (orcid.org/0000-0002-9819-4397)

*andterekhov7@yandex.ru

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины»

Ключевые слова: *сырое молоко, тонкослойная хроматография, фосфорорганические соединения, ветеринарно-санитарная экспертиза.*

Key words: *fresh milk, thin-layer chromatography, organophosphorus compounds, veterinary and sanitary examination.*

Поступила: 25.10.2024 **Принята к публикации: 02.12.2024**
Опубликована онлайн:16.12.2024

РЕФЕРАТ

В условиях интенсивной химизации сельского хозяйства увеличиваются случаи контаминации сельскохозяйственной продукции остаточными количествами пестицидов и ветеринарных препаратов. Значимую роль среди них занимают фосфорорганические соединения, которые несмотря на относительно низкую опасность для организма способны накапливаться в жировой ткани животных, что несет угрозу для здоровья человека. Ввиду широкого разнообразия химических групп используемых веществ, отличиях в их физико-химических свойствах, способа применения и условий внешней среды зачастую трудно точно идентифицировать контаминанты. Определялись органолептические, физико-химические показатели, а также коэффициенты подвижности остаточных количеств диазинона и хлорофоса методом ТСХ, используя УФК 254/365 – HDi. При этом в опытных образцах отсутствовало изменение органолептических и физико-химических показателей, что не позволяет установить контаминацию продукции. При проведении хроматографии было обнаружено содержание остаточного количества ФОСов, определены коэффициенты подвижности Rf диазинона 0,65±0,01 и хлорофоса 0,19±0,01, что соответствует значению контрольных растворов. Использование доступных компонентов и отечественного оборудования, а также возможности параллельного определения большого количества образцов позволяет использовать данную методику в качестве скрининговой при обеспечении продовольственной безопасности.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Одной из наиболее значимых отраслей сельского хозяйства является молочная промышленность. В связи со значимостью развития отечественных предприятий, а также создания новых рынком экспорта наблюдается стабильное увеличение объемов производства сырого коровьего молока на 3-4% ежегодно. В процессе интенсивной химизации сельского хозяйства происходит увеличение не только объемов применяемых пестицидов и ветеринарных препаратов, но и расширение ассортимента. Одними из наиболее доступных для использования являются фосфорорганические соединения.

Основными причинами попадания ФОС в продукты животноводства являются нарушение инструкции по их применяю, неконтролируемое использование, а также отравления животных через загрязненную воду или корма из-за нарушения условий применения пестицидов в сельском хозяйстве.

Фосфорорганические соединения в продукции питания представляют большую опасность для потребителей. Их опасность заключается в способности кумулировать в жире, в том числе молочном. При их попадании в организм человека происходит блокировка ацетилхолинэстеразы, что приводит к нарушению работы нервной системы, возбуждению органов и тканей, заканчивающееся параличом.

В связи с этим особую актуальность представляет ветеринарно-санитарная экспертиза молока с целью контроля наличия в нем фосфорорганических соединений [1,2].

В настоящее время контроль за содержанием остаточных количеств ФОСов в молоке осуществляется преимущественно с помощью газовой хроматографии, однако высокая стоимость оборудования, требования к высокой квалификации специалиста, а также сложностью очистки экстракта затрудняет использование данного метода в производственных и небольших лабораториях [3,4].

Нами был выбран метод тонкослойной хроматографии, который обладает достаточной чувствительностью, для выявления остаточных количеств опасных соединений, при этом сохраняет простоту и экономическую доступность.

Целью нашего исследования стала разработка методики выявления содержания остаточного количества фосфорорганических соединений в молоке методом тонкослойной хроматографии.

Для ее решения нами были поставлены следующие задачи: адаптировать методику QuEChERS для пробоподготовки молока, благодаря которой возможно выделить широкий спектр фосфорорганических соединений и снизить времязатратность [5,6].

Изучить влияние обработки кожных покровов крупного рогатого скота на органолептические и физико-химические показатели молока.

Доказать переход фосфорорганических соединений в молоко при наружной обработке животных, методом тонкослойной хроматографии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Исследования проводились в лаборатории кафедры ветеринарно-санитарной экспертизы ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины». Материалами исследования служили пробы коровьего молока, отобранного у крупного рогатого скота черно-пестрой породы через 24 часа после обработки раствором диазинона и раствором хлорофоса. В качестве контроля использовали 1% растворы диазинона и хлорофоса.

Обработку 10 голов опытной группы животных производили водной эмульсией диазинона с концентрацией 0,06% на кожный покров и вымя. Вторую группу животных в количестве 10 голов обрабатывали 1% водным раствором хлорофоса. Для каждой из опытных групп формировали контрольные группы животных. Группы формировали по принципу аналогов. Отбор проб проводился на территории молочного хозяйства Ленинградской области.

Определяли цвет, запах, консистенцию, кислотность, плотность, массовую долю жира и СОМО, а также наличие остаточного количества диазинона и хлорофоса, соответственно. Определение органолептических и физико-химических показателей проводили в соответствии с ГОСТ 28283-2015, ГОСТ Р ИСО 22935-2-2011, ГОСТ 3624-92, ГОСТ Р 54758-2011, ГОСТ 5867-90, ГОСТ Р 54761-2011.

Подготовка проб методом QuEChERS состояла из комбинации этапа экстракции и очистки. Для экстракции использовали ацетон, а для очистки экстракта смесь солей хлорида натрия, сульфата магния и сульфата цинка, полученную смесь центрифугировали при 1000 об/мин, а после окисляли азотной кислотой, что позволило извлечь диазинон и хлорофос из пробы молока и выделить их в поверхностный слой.

Предложенная методика подготовки проб сравнивалась с классической жидкостной экстракцией, включающую в себя экстракцию ацетонитрилом, 2,5% водным раствором сернокислого натрия и хлористого метилена.

Последующий процесс хроматографирования включал в себя следующие этапы: подготовка пластинок путем насыщения раствором аммиака с последующей температурной активации, разметка линии старта и фронта, насыщение хроматографической камеры смесью гексан-ацетон 5:1 в течении 1 часа, нанесение проб молока на линию старта, помещение пластинки в насыщенную камеру, где происходит развитие хроматограммы. Учет проводили при помощи современного УФК 254/365 – HDi с длиной волны 254 нм.

Идентификация выделенных веществ происходила путем определения коэффициента подвижности R_f, который равен отношению расстояния, пройденного определяемым веществом, к расстоянию, пройденному элюенту. Данный показатель постоянен для конкретного вещества в заданных условиях.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

В результате органолептических исследований было установлено, что молоко имеет специфический кремово-белый цвет, однородную консистенцию, специфический аромат, без присутствия посторонних запахов.

По физико-химическим показателям определено следующее: кислотность была в диапазоне от 17 до 19 °Т, плотность молока от 1027,6 кг/м^3 до 1028,1 кг/м^3, массовая доля жира от 2,7 до 3,2 %, СОМО (8,5±0,2) %. Отсутствие изменений в органолептических и лабораторных показателях молока подчеркивают значимость дополнительных методов контроля продукции на остаточное содержание фосфорорганических соединений (таблица 1).

По результатам проведенной хроматографии было установлено выделение наличие остаточного количества диазинона и хлорофоса в пробах молока, идентификацию веществ проводили путем расчета коэффициента подвижности и сравнения с контрольными растворами, содержащими 1% действующего вещества. Результаты отражены в таблице 2 и таблице 3.

Было установлено наличие остаточного количества действующего вещества в пробах молока, полученного через 24 часа после обработки животных, а в пробах молока контрольной группы отсутствовали определяемые соединения. Коэффициент подвижности диазинона равен 0,65±0,01, а хлорофоса 0,19±0,01, что соответствовала показателям контрольных растворов.

Таблица 1 – Результаты физико-химических исследований молока

Показатель	Молоко от опытной группы	Нормативные показатели
Кислотность, °Т	18±0,5	От 16 до 21
Плотность, кг/м^3	1027,9±0,3	Не менее 1027
Массовая доля жира, %	3,0±0,2	Не менее 2,8
СОМО, %	8,5±0,2	Не менее 8,2

Таблица 2 – Результаты тонкослойной хроматографии проб коровьего молока, полученного после обработки животных раствором диазинона

№ пробы	Результаты тонкослойной хроматографии проб коровьего молока		
	Молоко, полученное от животных, после обработки диазиноном	Молоко, полученное от контрольной группы животных	Контрольный раствор диазинона
1	+	-	+
2	+	-	+
3	+	-	+
4	+	-	+
5	+	-	+
6	+	-	+
7	+	-	+
8	+	-	+
9	+	-	+
10	+	-	+
R_f	0,65±0,01	-	0,65±0,01

Таблица 3 – Результаты тонкослойной хроматографии проб коровьего молока, полученного после обработки животных раствором хлорофоса

№ пробы	Результаты тонкослойной хроматографии проб коровьего молока		
	Молоко, полученное от животных, после обработки хлорофосом	Молоко, полученное от контрольной группы животных	Контрольный раствор хлорофоса
1	+	-	+
2	+	-	+
3	+	-	+
4	+	-	+
5	+	-	+
6	+	-	+
7	+	-	+
8	+	-	+
9	+	-	+
10	+	-	+
R_f	0,19±0,01	-	0,19±0,01

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

В результате сравнения методики пробоподготовки QuEChERS для молока жидкостной экстракции, было установлено, что данная позволяет сократить время подготовки проб и снизить расход реактивов, а также совместить процессы экстракции и очистки пробы. При этом эффективно извлечь диазинон и хлорофос из пробы молока.

По результатам проведенных исследований было выявлено, что при соблюдении наставлений по применению отсутствует влияние на органолептические и физико-химические показатели коровьего молока, а, следовательно, установить факт обработки животных возможно только при использовании специальных методов контроля.

Установлено, что после обработки кожных покровов животных происходит переход ФОСов в молоко. Определены коэффициенты подвижности для диазинона и хлорофоса, характерных для данной системы элюентов: Rf диазинона равен 0,65, а для хлорофоса 0,19. Таким обра-

зом используемая методика подходит для одновременного скринингового определения диазинона и хлорофоса в молоке.

Разработана скрининговая методика определения содержания остаточного количества фосфорорганических соединений в молоке методом тонкослойной хроматографии.

IDENTIFICATION OF ORGANOPHOSPHORUS COMPOUNDS BY THIN LAYER CHROMATOGRAPHY

Terekhov A.A.* – the applicant (ORCID 0000-0002-0436-5627); **Smirnov A.V.** – PhD in Veterinary Sciences, Associate Professor of the Department of Veterinary and Sanitary Expertise (ORCID 0000-0003-3250-4433), **Tokarev A.N.** – DSc in Veterinary Sciences, Head of the Department of Veterinary and Sanitary Expertise (ORCID 0000-0002-7117-306X); **Sokolov I.V.** – Assistant of the Department of Veterinary and Sanitary Expertise (ORCID 0000-0003-0191-6726); **Ljunggren V.A.** – Assistant of the Department of Veterinary and Sanitary Expertise (ORCID 0000-0002-9819-4397)

St. Petersburg State University of Veterinary Medicine

*andterekhov7@yandex.ru

ABSTRACT

In conditions of intensive chemicalization of agriculture, cases of contamination of agricultural products with residual amounts of pesticides and veterinary drugs are increasing. A significant role among them is played by organophosphorus compounds, which, despite the relatively low danger to the body, are capable of accumulating in the fatty tissue of animals, which poses a threat to human health. Due to the wide variety of chemical groups of the substances used, differences in their physicochemical properties, method of application and environmental conditions, it is often difficult to accurately identify contaminants. Organoleptic, physicochemical indicators, as well as mobility coefficients of residual amounts of diazinon and chlorophos were determined by TLC, using UFK 254/365 - HD. At the same time, there was no change in organoleptic and physicochemical indicators in the test samples, which does not allow us to establish contamination of the products. During chromatography, residual amounts of organophosphorus compounds were detected, mobility coefficients Rf of diazinon were determined to be 0.65±0.01 and chlorophos to be 0.19±0.01, which corresponds to the value of control solutions. The use of available components and domestic equipment, as well as the possibility of parallel determination of a large number of samples, allows this method to be used as a screening method to ensure food security.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Смирнов А.В. Сравнительный анализ требований, предъявляемых к сырому молоку РФ №88 Техническим регламентом на молоко и молочную продукцию от 13.06.2008 с поправками от 22.03.2014 и техническим регламентом таможенного союза 033/2013 "О безопасности молока и молочной продукции ОТ 09.05.2014 Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. 2014. №2. С. 19-22.

2. Терехов, А. А. Выявление остаточного количества фосфорорганических пестицидов в молочной продукции методом тонкослойной хроматографии / А. А. Терехов, И. В. Соколов, А. В. Смирнов // Нормативно-правовое регулирование в ветеринарии. – 2022. – № 4. – С. 149-151.

3. Андреева, И. И. Тонкослойная хроматография в анализе молочной продукции / И. И. Андреева, Ю. Ю. Гайнуллина // Достижения молодых ученых: химические науки: федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Уфимский университет науки и технологий", 2023. – с. 144.

4. Окружнова, Л. С. Разделение и анализ веществ методом тонкослойной хроматографии / Л. С. Окружнова // Актуальные вопросы фармацевтических и естественных наук: Иркутский государственный медицинский университет, 2020. – С. 82-85.

5. Терехов, А. А. Разработка методики пробоподготовки для определения остаточного количества фосфорорганических

соединений в молоке по методу QUECHERS / А. А. Терехов // Материалы 78-й международной научной конференции молодых ученых и студентов СПбГУВМ, Санкт-Петербург, 01–08 апреля 2024 года. – Санкт-Петербург: Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины, 2024. – С. 248-249.
6. Третьякова, О. М. Особенности применения газовой хроматографии при определении остаточного количества хлорорганических пестицидов в свинине / О. М. Третьякова, А. Г. Беляев // Технологии пищевой и перерабатывающей промышленности АПК – продукты здорового питания. – 2017. – № 4(18). – С. 90-93.

REFERENCES

1. Smirnov A.V. Comparative analysis of the requirements imposed on raw milk of the Russian Federation No. 88 Technical Regulations for Milk and Dairy Products dated 13.06.2008 with amendments dated 22.03.2014 and Technical Regulations of the Customs Union 033/2013 "On the Safety of Milk and Dairy Products dated 09.05.2014 Issues of regulatory framework in veterinary medicine. 2014. No. 2. P. 19-22.
2. Terekhov, A. A. Detection of residual amounts of organophosphorus pesticides in dairy products by thin-layer chromatography / A. A. Terekhov, I. V. Sokolov, A. V. Smirnov // Normative and legal regulation in veterinary medicine. - 2022. - No. 4. - P. 149 -151.
3. Andreeva, I. I. Thin-layer chromatography in the analysis of dairy products / I. I. Andreeva, Yu. Yu. Gainullina // Achievements of young scientists: chemical sciences: Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "Ufa University of Science and Technology", 2023. - p. 144.
4. Okruzhnova, L. S. Separation and analysis of substances by thin-layer chromatography / L. S. Okruzhnova // Current issues in pharmaceutical and natural sciences: Irkutsk State Medical University, 2020. - P. 82-85.
5. Terekhov, A. A. Development of a sample preparation technique for determining the residual amount of organophosphorus compounds in milk using the QUECHERS method / A. A. Terekhov // Proceedings of the 78th international scientific conference of young scientists and students of St. Petersburg State University of Veterinary Medicine, St. Petersburg, April 01-08, 2024. - St. Petersburg: St. Petersburg State University of Veterinary Medicine, 2024. - P. 248-249.
6. Tretyakova, O. M. Features of the application of gas chromatography in determining the residual amount of organochlorine pesticides in pork / O. M. Tretyakova, A. G. Belyaev // Technologies of the food and processing industry of the agro-industrial complex - healthy food products. - 2017. - No. 4 (18). - P. 90-93.

УДК: 636.5.033.087:612.11/12
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.4.269

АНАЛИЗ КОРМОВЫХ ДОБАВОК С КОМПОНЕНТАМИ РАСТИТЕЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ ИСПОЛЬЗУЕМЫХ В ОТЕЧЕСТВЕННОМ ПТИЦЕВОДСТВЕ

Казачкова Н.М.* – канд. биол. наук, науч. сотр. отдела кормления сельскохозяйственных животных и технологии кормов им. С.Г. Леушина, (ORCID 0000-0002-0871-736X).

Федерального государственного бюджетного научного учреждения
Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий
Российской академии наук (ФГБНУ ФНЦ БСТ РАН).

* yagoda-oren@mail.ru

Ключевые слова: *фитобиотики, кормовая добавка, отечественный рынок, птица, птицеводство.*
Keywords: *phytobiotics, feed additive, domestic market, bird, poultry farming.*
Финансирование: *Работа выполнена в соответствии с планом НИР FNWZ-2022-0010.*

Поступила: 25.09.2024 **Принята к публикации: 02.12.2024**
Опубликована онлайн:16.12.2024

РЕФЕРАТ

Птицеводство является одной из наиболее динамично развивающихся отраслей сельского хозяйства в России. Для обеспечения высокой продуктивности птицы и улучшения качества продукции, птицеводы используют различные кормовые добавки. Однако, сейчас ввиду сложной ситуации в стране и множества вводимых санкций, на отечественном рынке кормовых добавок предложения могут вызвать затруднения при выборе оптимального варианта. В связи с этим **целью** данной статьи стало проведение анализа кормовых добавок с компонентами растительного происхождения, существующих в нашей стране и используемых в птицеводстве (на 2023 год). Анализ литературных данных, данных государственного реестра кормовых добавок, выпускаемых на российском рынке, позволил оценить ситуацию, сложившуюся в сфере кормления сельскохозяйственной птицы. Изучено предложение и спрос на эти добавки, а также приведены данные исследований различных видов добавок с растительными составляющими на организм сельскохозяйственной птицы. Необходимо отметить, что все больше внимания в современном производстве кормовых антибиотиков для сельскохозяйственных животных и птицы уделяют использованию компонентов растительного происхождения, так называемым фитобиотикам. В статье приводятся пути решения проблемы и перспектив развития отечественного рынка кормовых добавок, а также указывается потенциал для улучшения качества и разнообразия предложения. Сделан вывод, что проведенный анализ важен для производителей кормовых добавок, а также специалистов и исследователей в области птицеводства.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Птицеводство является важной отраслью сельского хозяйства в России, и эффективные кормовые добавки играют ключевую роль в повышении производительности и здоровья птиц.

Однако, не секрет, что в кормовые добавки добавляют антибиотики, поэтому проблема антибиотикорезистентности в мире и в настоящее время стоит очень остро. Так, использование кормовых добавок с антибиотиками в животноводстве и птицеводстве для стимулирования роста и профилактики заболеваний способствует развитию устойчивости животных и птицы к антибиотикам и последующей передаче их человеку по пищевой цепочке [1,2].

Необходимо отметить, что все больше внимания в современном производстве кормовых антибиотиков для сельскохозяйственных животных и птицы уделяют использованию компонентов растительного происхождения, так называемым фитобиотикам. [3].

Полезные свойства обусловлены биологически активными веществами, входящими в состав многих растений. В основном это вторичные метаболиты (фенолы, кетоны, альдегиды, эфиры, лактоны) [4]. Кроме того, лекарственные растения являются ингибиторами системы «кворум сенсинг» у бактерий. Учеными доказано, что экзогенные ферменты, входящие в их состав, помимо увеличения продуктивности сельскохозяйственных животных способствуют развитию микробиома всего желудочно-кишечного тракта и таким образом косвенно влияют на их популяцию [5, 6].

Существует достаточно большой опыт исследований научного сообщества в области применения кормовых фитобиотиков именно на птице [7-11]. Поэтому анализ литературных источников и данных проведенных исследований, разбор государственного реестра кормовых добавок регистрируемых и выпускаемых на российском рынке позволит полноценно оценить ситуацию, сложившуюся в сфере кормления сельскохозяйственной птицы в нелегкой для нашей страны обстановке.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Поиск источников проводили в открытых источниках информации в области птицеводства, библиографических базах данных, в научных электронных библиотеках с поисковыми системами: Web of Science (http://webofscience.com); Scopus (https://www.scopus.com); eLIBRARY.RU (https://www.elibrary.ru); Pubmed (https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov).

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

По данным Россельхознадзора в Реестре кормовых добавок для сельскохозяйственной птиц, на отечественном рынке по итогам 2023 года зарегистрировано 174 кормовые добавки российских производителей, включающих в свой состав растительные компоненты [12].

Так, в исследованиях Даниловой А.А. с соавторами при использовании фитогенной кормовой добавки, разработанной ООО НТЦ «Химинвест», г. Нижний Новгород на основе экстракта древесной (хвойной) зелени сосны птице, отмечалось снижение затрат корма на 6,7 %, увеличение количества и массы яиц на 5,6 % и 1,2 %, соответственно. Интенсивность яйцекладки также возросла на 6,1% [13].

По данным Заикиной А.С. и др. при скарливании цыплятам-бройлерам натуральной лечебно-профилактической кормовой добавки из экстракта древесины сладкого каштана - Фарматан П, отмечено повышение интенсивности процесса переваривания питательных веществ. В результате улучшились качественные показатели тушки бройлера в течение всего периода роста [14]. Применение отечественной кормовой добавки «Метаверон» на основе травы серпухи венценосной, в дозе 0,1-1,0 мг/кг живой массы позволяет существенно повысить сохранность и суточные привесы сельскохозяйственной птицы [15].

По данным исследований А. Лаврентьева и А. Николаевой, при использовании цыплятам-бройлерам растительной кормовой добавки Биостронг 510 в состав

которой входят эфирные масла, травяные растения и приправы в дозе 0,015% от сухого вещества комбикорма, повышались показатели предубойной живой массы птицы относительно контроля на 8,3%, массы полупотрошеной и потрошеной тушки также была выше соответственно на 8,9 и 13,7%. Убойный выход бройлеров превосходил контроль на 0,6% [16].

Кочиш И.И., с соавторами при анализе фитобиотика Интебио® установили увеличение экспрессии генов проэнкефалина (PENK) и овальбумина (OVAL), что в свою очередь оказывает положительный эффект на увеличение массы яйца, в дополнение к антимикробному действию данной добавки [17].

Достаточно хорошо известны фитобиотики и иностранного производства, встречаемые на отечественном рынке. Например, кормовая добавка XTRACT Caps XL (Pancosma) производства Швейцарии, создана на основе красного острого перца, в составе которого содержится компонент капсаицин, оказывающий раздражающее действие на слизистую кишечника, тем самым повышая аппетит у животного. Отмечен положительный эффект применения данной добавки и в борьбе с тепловым стрессом, способствуя увеличению потребления корма на 10–14% и воды на 10–25%. [18]. При скармливании перца цыплятам-бройлерам отмечалось увеличение среднесуточного привеса и коэффициента конверсии корма [19].

Растительный фитобиотик Апекс 3010, разработанный Великобританской компанией «Braes Feed Ingredients» основанный на экстрактах лекарственных растений для птицы также дает положительные результаты. Так, сохранность поголовья составила 99,71%, снизился уровень падежа, возросла поедаемость и перевариваемость корма, улучшилось качество скорлупы яиц [20].

В настоящее время, многие зарубежные добавки стали недоступны в результате вводимых санкций странами ЕС в отношении нашей страны, и их просто нет возможности приобрести, а те, которые доступны - значительно подорожали. Поэтому возможность создания новых фитобиотиков в России, поддержка отечественных производителей кормовых добавок особенно актуальна сейчас на рынке.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

В целом, в ходе проведенного анализа кормовых добавок с растительными компонентами, доступных сейчас на отечественном рынке определена их роль для всей отрасли птицеводства, так как данные добавки обладают рядом положительных эффектов на организм птицы. Это и обеспечение сохранности поголовья, снижение воздействие теплового стресса, повышение продуктивности птицы.

С учетом усилением роста производства растительных добавок именно отечественных производителей, существует необходимость проводить и в дальнейшем исследования для определения оптимальных вариантов использования кормовых добавок и их комбинаций, которые соответствовали бы потребностям птицеводов и обеспечивали высокую продуктивность птицы, улучшая качество получаемой продукции.

ANALYSIS OF FEED ADDITIVES WITH PLANT-ORIGIN COMPONENTS USED IN DOMESTIC POULTRY FARMING

Kazachkova N.M.* – Ph.D. (Biology), research associate of the Department of Farm Animal Feeding and Feed Technology named after S.G. Leushin (ORCID 0000-0002-0871-736X)

Federal State Budgetary Scientific Institution Federal Scientific Center for Biological Systems and agrotechnologies of the Russian Academy of Sciences (FSBSI FSC BST RAS)

* yagoda-oren@mail.ru

Financing: *The work was carried out in accordance with the research plan FNWZ-2022-0010*

ABSTRACT

Poultry farming is one of the most dynamically developing branches of agriculture in Russia. To ensure high productivity of poultry and improve product quality, poultry farmers use various feed additives. However, now, due to the difficult situation in the country and many sanctions imposed, the offers on the domestic feed additives market may cause difficulties in choosing the best option. In this regard, the purpose of this article was to analyze feed additives with components of plant origin that exist in our country and are used in poultry farming (as of 2023). An analysis of literary data, data from the state register of feed additives produced on the Russian market made it possible to assess the situation in the field of feeding agricultural poultry. The supply and demand for these additives were studied, and research data on various types of additives with plant components on the body of agricultural poultry are provided. It should be noted that more and more attention in the modern production of feed antibiotics for farm animals and poultry is paid to the use of components of plant origin, the so-called phytobiotics. The article provides solutions to the problem and development prospects for the domestic feed additives market, and also indicates the potential for improving the quality and diversity of supply. It is concluded that the analysis is important for feed additives manufacturers, as well as specialists and researchers in the field of poultry farming.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1.Islam T. Antibiotic Resistance in Plant Pathogenic Bacteria: Recent Data and Environmental Impact of Unchecked Use and the Potential of Biocontrol Agents as an Eco-Friendly Alternative. / T Islam, MA Haque, HR Barai, A Istiaq, JJ. Kim // Plants (Basel). – 2024. – V. 13. № 8. P. 1135. doi: 10.3390/plants13081135.

2.Buryakov N. The Effects of the Extract of Sweet Chestnut in Diets for Broilers on the Digestibility of Dietary Nutrients and Productive Performance / N. Buryakov, A. Zaikina, M. Buryakova, I. Traynev, M. Shaaban, A. Zagarin // Fundamental and Applied Scientific Research in the Development of Agriculture in the Far East: Agricultural Innovation Systems. – 2022. – V. 2. № 354. – P. 778-784. doi:10.1007/978-3-030-91405-9_86.

3.Дускаев Г.К. Использование quercus cortex в сочетании с ферментами в рационе цыплят-бройлеров / Г.К. Дускаев, Н.М. Казачкова, Ш. Г. Рахматуллин, К.С. Инчагова // Вестник Курганской ГСХА. - 2019. № 3 (31). С. 38-41.

4.Лаврентьев А. Ю. Повышение продуктивности цыплят-бройлеров при использовании комбикормов с добавками растительного происхождения: монография / А. Ю. Лаврентьев, А. И. Николаева; Министерство сельского хозяйства Российской Федерации, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Чувашский государственный аграрный университет". - Чебоксары: Чувашский ГАУ. - 2023. - 207 с.

5.Буяров В.С. Эффективность применения фитобиотиков в птицеводстве (обзор) / В.С. Буяров, И.В. Червонова, В.В. Меднова, И.Н. Ильичева // Вестник аграрной науки. – 2020. - № 3(84) с. 44-59.

6.Мальчевская М. Д. Эффективность использования растительных кормовых добавок в птицеводстве / М. Д. Мальчевская, Р. Ш. Гилязов, О. А. Багно // Агропромышленному комплексу – новые идеи и решения: материалы XXI Внутривузовской научно-практической конференции (г. Кемерово, 4 февраля 2022 г.) / ред. кол.: Е. А. Ижмулкина [и др.]; ФГБОУ ВО Кузбасская ГСХА. - Кемерово, - 2022. - С. 63-66.

7.Султанаева Л.З. Применение фитобиотических добавок в рационах перепелов (обзор) / Л.З. Султанаева, Ю.А. Балджи, Д.К. Жанабаева, С.А. Исабекова // Птицеводство. – 2023. – №5. – С. 47-52. doi: 10.33845/0033-3239-2023-72-5-47-52.

8.Гален 4.4.3 Федеральная служба ветеринарного и фитосанитарного надзора (Россельхознадзор): сайт. Государственный реестр кормовых добавок. Москва, 2023. URL: https://galen.vetrf.ru/#/ (дата

обращения 20.11.2023).
9.Федеральная служба по ветеринарному и фитосанитарному надзору (Россельхознадзор): сайт. Москва, 2023. URL: https://fsvps.gov.ru/news-cat/regionalnye-novosti/ (дата обращения 30.12.2023).
10.Правительство Российской Федерации: сайт. Москва, 2023. URL: http://government.ru/sanctions_measures/measure/132/ (дата обращения 12.02.2024).
11.Портал промышленного скотоводства: сайт. Тольятти, 2022. URL: https://www.korovainfo.ru/news/rossiyskaya-kombikormovaya-promyshlennost-oshchushchaet-na-sebe-vozdeystvie-zapadnykh-sanktsiy/ (дата обращения 22.03.2024).
12.Макеева Ю. Прогноз «ВиЖ»: что ожидает кормовую отрасль в 2023 году // Ветеринария и жизнь: федеральная отраслевая ежемесячная газета. 2022. URL: https://vetandlife.ru/sobytiya/prognoz-vizh-chto-ozhidaet-kormovuju-otrasl-v-2023-godu/ (дата обращения 10.04.2024).
13.Данилова А. А., Кормовая добавка с фитогенными свойствами в птицеводстве / А.А. Данилова, В. А. Овсепьян, Н. А. Юрина, Д. В. Осепчук, В. П. Короткий, В. А. Рыжов // Сборник научных трудов КНЦЗВ. – 2021. – Т. 10. - № 2 С.10-13.
14.Заикина А.С., Влияние добавления фитобиотиков в качестве заменителя антибиотиков в корм для цыплят-бройлеров на показатели роста, усвояемость питательных веществ и биохимические параметры. /А.С. Заикина, Н.П. Буряков, М.А. Бурякова, А.Ю. Загарин, А.А. Ражев, Д.Е. Алешин // Ветеринарная наука. – 2022. - 9 (12):672. doi: 10.3390/vetsci9120672.
15.Патент № RU2202900C2 Российская Федерация, МПК7 A 23 K 1/16, 1/00, A 01 N 65/00 Кормовая добавка "метаверон" для сельскохозяйственной птицы и способ ее производства: № 2011108858/13: заявл. 06.07.2001: опубл. 27.04.2003, бюл. №18 / Пунегов В. В., Савиновская Н.С., Портнягина Н.В., Рубан Г.А.; заявитель и патентообладатель Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения РАН.
16.Лаврентьев А. Растительная кормовая добавка для цыплят-бройлеров / А. Лаврентьев, А. Николаева // Комбикорма. – 2018. - № 10. – С. 80-81. doi 10.25741/2413-287X-2018-10-3-024.
17.Кочиш И.И. Романов М.Н, Мясникова О.В., Смоленский В.И., Мартынов В.В. и др. Практические рекомендации по применению кормовых добавок для улучшения продуктивности и стрессоустойчивости яичной птицы. М.: Издательство Сельскохозяйственные технологии, 2019. - 48с.
18.Злобин Д. Кормовые добавки против кормового стресса / Д. Злобин, А. Архипов // Животноводство России. – 2024. - №3. - С. 32-33.
19.Ogbuewu IP, Meta-analysis of the influence of phytobiotic (pepper) supplementation in broiler chicken performance. / IP Ogbuewu, VM Okoro, CA. Mbajiorgu // Trop Anim Health Prod. – 2020. - №52 (1):17-30. doi: 10.1007/s11250-019-02118-3.
20.Соловьева Л. Н., Эффективность натуральной кормовой добавки Апекс 3010 в яичном птицеводстве в условиях ЗАО ПФ «Лагово» / Л.Н. Соловьева, Г. П. Румбаль, П. Н. Хоружий, А. В. Павленко // Пищепромпродукт. 2018. URL: https://www.ppproduct.ru/company/articles/1602.html?ysclid=m234b26vu3765859422 (дата обращения 12.09.2024).

REFERENCES

1.Islam T. Resistance of pathogenic plant bacteria to antibiotics: recent data and the impact of uncontrolled use on the environment, as well as the potential of biocontrol tools as an environmentally friendly alternative. / T. Islam, M.A. Haq, H.R. Barai, A. Istiak, J. J. Kim // Plants (Basel). – 2024. – vol. 13. No. 8. p. 1135. doi: 10.3390/plants13081135.
2.Buryakov N. The Effects of the Extract of Sweet Chestnut in Diets for Broilers on the Digestibility of Dietary Nutrients and Productive Performance / N. Buryakov, A. Zaikina, M. Buryakova, I. Traynev, M. Shaaban, A. Zagarin // Fundamental and

Applied Scientific Research in the Development of Agriculture in the Far East: Agricultural Innovation Systems. – 2022. – V. 2. № 354. – P. 778-784. doi:10.1007/978-3-030-91405-9_86.
3. Duskaev G.K. The use of quercus cortex in combination with enzymes in the diet of broiler chickens / G.K. Duskaev, N.M. Kazachkova, Sh.G. Rakhmatullin, K.S. Inchagova // Bulletin of the Kurgan State Agricultural Academy. - 2019. № 3 (31). Pp. 38-41.
4. Lavrentiev A. Yu. Increasing the productivity of broiler chickens when using compound feeds with additives of plant origin: monograph / A. Yu. Lavrentiev, A. I. Nikolaeva ; Ministry of Agriculture of the Russian Federation, Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "Chuvash State Agrarian University". Cheboksary: Chuvash State University. - 2023. - 207 p.
5.Buyarov V.S. The effectiveness of phytobiotics in poultry farming (review) / V.S. Buyarov, I.V. Chervonova, V.V. Mednova, I.N. Ilyicheva // Bulletin of Agrarian Science. - 2020. - No. 3(84) pp. 44-59.
6. Malchevskaya M. D. The effectiveness of the use of vegetable feed additives in poultry farming / M. D. Malchevskaya, R. S. Gilyazov, O. A. Bagno //Agro–industrial complex - new ideas and solutions: materials of the XXI Intra-university scientific and practical Conference (Kemerovo, February 4, 2022) / ed. Col.: E. A. Izhmulkina [et al.]; Kuzbass State Agricultural Academy. - Kemerovo, - 2022. - pp. 63-66.
7.Sultanaeva L.Z. The use of phytobiotic additives in the diets of quails (review) / L.Z. Sultanaeva, Yu.A. Balji, D.K. Zhanabaeva, S.A. Isabekova // Poultry farming. – 2023. – No.5. – pp. 47-52. doi: 10.33845/0033-3239-2023-72-5-47-52.
8.Galen 4.4.3 Federal Service for Veterinary and Phytosanitary Surveillance (Rosselkhoznadzor): website. The State Register of feed additives. Moscow, 2023. URL: https://galen.vetrf.ru /#/ (accessed 11/20/2023).
9. Federal Service for Veterinary and Phytosanitary Surveillance (Rosselkhoznadzor): website. Moscow, 2023. URL: https://fsvps.gov.ru/news-cat/regionalnye-novosti / (accessed 12/30/2023).
10.Government of the Russian Federation: website. Moscow, 2023. URL: http://government.ru/sanctions_measures/measure/132 / (accessed 12.02.2024).
11.Portal of industrial cattle breeding: website. Togliatti, 2022. URL: https://www.korovainfo.ru/news/rossiyskaya-kombikormovaya-promyshlennost-oshchushchaet-na-sebe-vozdeystvie-zapadnykh-sanktsiy / (accessed 03/22/2024).
12.Makeeva Yu. VISION forecast: what awaits the feed industry in 2023 // Veterinary Medicine and Life: Federal branch monthly newspaper. 2022. URL: https://vetandlife.ru/sobytiya/prognoz-vizh-chto-ozhidaet-kormovuju-otrasl-v-2023-godu / (accessed 04/10/2024).
13. Danilova A. A. A feed additive with phytogenic properties in poultry farming / A.A. Danilova, V. A. Ovsepyan, N. A. Yurina, D. V. Osepchuk, V. P. Korotkiy, V. A. Ryzhov // Collection of scientific papers of the KNTSV. – 2021. – Vol. 10. - No. 2 pp.10 -13.
14. Zaikina A.S., The effect of adding phytobiotics as an antibiotic substitute to broiler chicken feed on growth rates, nutrient digestibility and biochemical parameters. /A.S. Zaikina, N.P. Buryakov, M.A. Buryakova, A.Yu. Zagarin, A.A. Razhev, D.E. Alyoshin // Veterinary science. – 2022. - 9 (12):672. doi: 10.3390/vetsci9120672.
15. Patent No. RU2202900C2 Russian Federation, MPK7 A 23 K 1/16, 1/00, A 01 N 65/00 Feed additive "metaveron" for poultry and its production method: No. 2011108858/13: application 06.07.2001: publ. 27.04.2003, bul. No.18 / Punegov V. V., Savinovskaya N.S., Portnyagina N.V., Ruban G.A.; applicant and patent holder Institute of Biology of the Komi Scientific Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences.
16. Lavrentiev A. Vegetable feed additive for broiler chickens / A. Lavrentiev, A. Nikolaeva // Compound feed. - 2018. - No. 10. – pp. 80-81. doi 10.25741/2413-287X-2018-10-3-024.

17. Kochish I. Practical recommendations on the use of feed additives to improve the productivity and stress resistance of egg poultry. / I.I. Kochish, M.N. Romanov, O.V. Myasnikova, V.I. Smolensky, V.V. Martynov, etc. M.: Publishing House Agricultural Technologies, 2019. – 48p.
18.Zlobin D. Feed additives against feed thermal stress / D. Zlobin, A. Arkhipov // Animal Husbandry of Russia. - 2024. - No.3. - pp. 32-33.
19.Ogbuewu IP, Meta-analysis of the influence of phytobiotic (pepper) supplementation in broiler chicken performance. / IP Ogbuewu, VM Okoro, CA. Mbajiorgu // Trop Anim Health Prod. – 2020. - №52(1):17-30. doi: 10.1007/s11250-019-02118-3.
20.Solovyova L. N., The effectiveness of the natural feed additive Apex 3010 in egg poultry farming in the conditions of PF Lagovo CJSC / L.N. Solovyova, G. P. Rumbal, P. N. Khoruzhiy, A.V. Pavlenko // Pishchepromprodukt. 2018. URL: https://www.ppproduct.ru/company/articles/1602.html ?ysclid=m234b26vu3765859422 (accessed 12.09.2024).

УДК: 636.2.034.083.1
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.4.276

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ ПОЛИМЕРНОГО ПОКРЫТИЯ КОРМОВОГО СТОЛА ДЛЯ МОЛОЧНЫХ КОРОВ

Дурсенев М.С.[1]*** –** канд. биол. наук, доц., зав. каф. разведения, кормления и частной зоотехнии (ORCID 0000-0002-8205-5042); **Падерина Р.В.**[1] **–** канд. с.-х. наук, доц., доц. каф. разведения, кормления и частной зоотехнии (ORCID 0000-0001-9579-0364); **Виноградова Н.Д.**[2] – канд. с.-х. наук, доц., доц. каф. кормления и разведения животных (ORCID 0000-0002-8030-4877)

[1]ФГБОУ ВО «Вятский государственный агротехнологический университет»
[2]ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины»

*maks.xitman@mail.ru

Ключевые слова: *полимерное покрытие, бетонное покрытие, кормовой стол, микробная обсемененность, поедаемость кормов, молочная продуктивность*

Keywords: *polymer coating, concrete coating, food table, microbial contamination, feed eatability, milk productivity*

Поступила: 11.11.2024 **Принята к публикации: 02.12.2024**
Опубликована онлайн:16.12.2024

РЕФЕРАТ

На уровень молочной продуктивности коров оказывают влияние многие факторы. Одним из таких факторов является технология кормления животных, элементом которой является кормовой стол и его покрытие. В статье приводятся данные исследования эффективности использования полимерного покрытия кормового стола «Луг Здоровья» в технологии кормления молочных коров. В результате исследований установлено, использование покрытия «Луг Здоровья» способствует значительному уменьшению микробной обсемененности: число микробных клеток в 1 группе спустя 5 месяцев с начала исследования было более чем в 2, а во 2 – в 3,7 раза меньше, чем в 3 группе ($P \geq 0,95$). Использование покрытия кормового стола «Луг Здоровья» способствует достоверно лучшей ($P \geq 0,95$) поедаемости кормов. Коровы с полимерного кормового стола съели корма на 7,0-8,6% больше, чем с бетонного. За весь период наблюдения коровы 1-й опытной группы улучшили свои показатели на 13%, а у коров 4-й контрольной группы показатели снизились на 9%. Рост молочной продуктивности коров наблюдается при переводе из секции с бетонным кормовым столом в секцию с покрытием кормового стола «Луг Здоровья». Среднесуточные удои коров при таком переводе в течение четырёх месяцев увеличиваются в среднем на 0,4-13 кг. При переводе с полимерного кормового стола на бетонный наблюдается снижение среднесуточных удоев коров. Таким образом установлено влияние полимерного покрытия кормового стола на удои коров. Расчет эффективности использования полимерного покрытия кормового стола показал, что в первый же месяц за счёт прибыли от дополнительно полученного молока затраты на полимерные покрытие окупаются уже на 65,7-77,7%.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Молочная продуктивность коров – это показатель, определяющий эффективность деятельности ферм и комплексов по производству молока. [2, 4]. Все производители молока ищут резервы увеличения продуктивности животных. Одним из таких резервов является совершенствование технологии кормления животных с целью увеличения поедаемости кормов. Может ли покрытие поверхности кормового стола повлиять на уровень удоев молочных коров?

Поверхность кормового стола ввиду не высокого качества бетона, а также наличия в бетоне гравия в процессе длительной эксплуатации выходит из строя. На её поверхности появляются выбоину и острые грани, образующиеся при выпадении наполнителя. [1,3,5,6].

Неровная, шероховатая, а местами даже острая поверхность кормового стола приводит к травмам языка коровы, что снижает количество съеденного корма и приводит к снижению молочной продуктивности. В качестве альтернативы рекомендуется использовать кормовой стол «Луг Здоровья», созданный российским предпринимателем, инженером и изобретателем А. Кимом в 2015 г (патент №183805). Производители полимерного покрытия кормового стола гарантируют гигиену кормового стола вследствие снижения численности патогенной микрофлоры на поверхности, увеличения потребления корма и, как результат - увеличение надоев, удобство кормления, а также сохранение здоровья животного [4,5]. В результате его использования повышается переваримость корма, что приводит к увеличению молочной продуктивности коров. [4,5].

Для определения эффективности применения данного покрытия кормового стола было проведено исследование на молочном комплексе одного из ведущих ПЗ Кировской области.

Цель исследования – изучить эффективность применения полимерного покрытия кормового стола «Зеленый луг» для молочных коров.

Для успешного достижения цели были определены задачи исследования:

1. Изучить состояние поверхности кормового стола.

2. Оценить влияние покрытия «Луг Здоровья» на микробную обсеменённость поверхности кормового стола.

3. Исследовать степень поедаемости кормов животными.

4. Проанализировать динамику молочной продуктивности.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Исследования проведены в условиях животноводческого комплекса по производству молока, где содержатся высокопродуктивные коровы голштинской породы в стадии стабилизации лактации.

Для этого было сформировано 4 группы животных по 9 голов в каждой:

1-я и 2-я опытные группы – потребляли рацион с полимерного покрытия кормового стола «Зеленый луг» и 3-я и 4-я контрольные группы – потребляли рацион с бетонной поверхности кормового стола. Исследования проведены с момента монтажа покрытия кормового стола «Луг Здоровья» в 2022 году. Коровы всех опытных и контрольных групп получали основной хозяйственный рацион (кормосмесь) два раза в сутки в утреннее и вечернее время.

Поверхность кормового стола оценивалась по пятибалльной шкале (табл.1).

Микробная обсемененность поверхностей полимерного и бетонного кормовых столов определена в лаборатории КО ГБУ «Кировская ОВЛ» через 1, 2 и 4 месяца после начала исследования. Смывы с поверхностей кормовых столов взяты стерильными тампонами, погружёнными в физ.раствор, в нескольких точках согласно методики взятия смывов.

На протяжение четырёхмесячного периода проведён контроль несъеденных остатков в утренние часы до кормления (табл.2).

Уровень молочной продуктивности оценивался в течение 4 месяцев по данным контрольных доений.

Экономическую эффективность применения покрытия кормового стола «Луг Здоровья» проводили из расчёта стоимости сдачи молока в 31 рубль за килограмм и цены одного погонного метра полимерного покрытия в 1950 рублей.

Таблица 1 – Шкала оценки состояния поверхности кормового стола

Балл	Наличие	
	сколов	впадин и их размер
5	отсутствуют	отсутствуют
4	незначительные	до 10 мм
3	имеются	до 30 мм
2	имеются	до 50 мм
1	имеются	до 100 мм
0	имеются	более 100 мм

Таблица 2 - Оценка степени поедаемости кормов

Количество баллов	Остатки корма на кормовом столе после поедания	
	%	визуальная оценка
0	0	отсутствуют
1	менее 5	небольшое количество
2	5-7	тонкий слой
3	25-50	слой 5,1-7,6 см
4	более 50	более 7,6 см
5	100	корм не тронут

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

На начало исследования состояние бетонных кормовых столов оценивалось на 3 балла: имеются сколы и впадины до 30 мм, а кормовых столов с полимерным покрытием «Луг Здоровья» - на 5 баллов. Состояние столов после 4 месяцев использования не изменилось. Микробная обсемённость поверхности кормового стола представлена в таблице 3.

В исследованиях установлено, что использование полимерного покрытия кормового стола «Луг Здоровья» способствует значительному уменьшению микробной обсемененности: число микробных клеток в 1-й опытной группе спустя 5 месяцев с начала исследования было более чем в 2 раза, а во 2-й опытной группе – в 3,7 раза меньше, чем в 3-й контрольной группе ($P \geq 0,95$). Увеличение микробной обсеменённости в 4-й контрольной группе вероятно связаны с влиянием неучтённых факторов на данный показатель.

Результаты оценки количества несъеденных остатков кормосмеси на кормовых столах представлены в таблице 4.

В 1-й и 2-й опытных группах количество несъеденных остатков на протяжении всего периода исследования достоверно ($P \geq 0,95$) отличалось от 3-й и 4-й опытных групп в плане меньшего их количества.

Следовательно, использование полимерного покрытия кормового стола «Луг Здоровья» способствует лучшей более полной поедаемости кормов.

Несъеденные остатки корма по своему составу ничем не отличались от раздаваемой кормосмеси, что свидетельствует о правильном измельчении и однородном перемешивании компонентов корма, а также о том, что коровы «не пересортировали» корм и не возникал «синдром пустого кормового стола».

По результатам контрольных доений проанализирована продуктивность коров в течение 4 месяцев лактации (табл. 5).

Установлено, что животные 1-й и 2-й опытных групп за 1-й месяц применения полимерного покрытия кормового стола увеличили свои удои на более, чем 4%; в то время, когда у животных 3-й и 4-й опытных групп этот показатель не превышает 0,4%. Из 4-х групп только животные 1-й опытной и 4-й контрольной лактировали в течение всех 4 месяцев. За весь период наблюдения коровы 1-й опытной группы улучшили свои показатели на 13%, а у коров 4-й контрольной группы показатели снизились на 9%

Таблица 3 – Микробная обсемененность кормовых столов

Группа	Общее количество микробных клеток, тыс.		
	через 1 мес.	через 2 мес.	через 4 месяца
1-я опытная	20,50±7,19*	27,25±0,35	3,05±1,65
2-я опытная	-	25,80±1,20	2,05±1,36*
3-я контрольная	37,50±3,75	25,65±2,45	7,60±1,80
4-я контрольная	13,85±2,05	21,15±5,85	310,00±160,00
В среднем: - «Луг Здоровья»	20,50±4,60	26,53±0,66	2,55±0,92
- бетонный стол	21,73±6,87	23,40±2,90	158,80±109,04

*Примечание: *- P≥0,95, **- P≥0,99, *** - P≥0,999.*

Таблица 4 – Результаты оценки кормовых столов по количеству несъеденных остатков корма (по 5-ти балльной шкале) (% несъеденных остатков)

Группа	Ноябрь	Декабрь	Январь	Февраль	В среднем за весь период
1-я опытная	1,86±0,08^{x}	1,97±0,05	2,00±0,04^{*x}	2,00±0,00	1,96±0,07
2-я опытная	1,81±0,09^{*x}	1,97±0,03	2,07±0,06	2,00±0,00	1,96±0,06
3-я контрольная	2,00±0,00	2,07±0,05	2,17±0,07	2,07±0,05	2,08±0,04
4-я контрольная	2,14±0,08	2,07±0,07	2,17±0,07	2,10±0,06	2,12±0,07
В среднем: - «Луг Здоровья»	1,84±0,09	1,97±0,05	2,04±0,05	2,00±0,00	1,96±0,08
- бетонный стол	2,07±0,08	2,07±0,06	2,17±0,07	2,09±0,05	2,10±0,06

*Примечание: * P≥0,95, ** P≥0,99, ***- P≥0,999 в сравнении с 3-й группой;* ^{x} *P≥0,95,* ^{xx} *P≥0,99,* ^{xxx} *P≥0,95 в сравнении с 4-й группой.*

Таблица 5 – Среднесуточные удои коров по результатам контрольных доений

Группа	Удои по месяцам, кг			
	ноябрь	декабрь	январь	февраль
1-я опытная («Луг Здоровья»)	29,4±1,9	29,6±2,0	30,3±3,0	32,1±2,1
2-я опытная («Луг Здоровья»)	22,9±2,4	24±2,0	-	-
3-я контрольная (бетон)	28,5±1,6	28,6±1,5	27,3±1,6	-
4-я контрольная (бетон)	27,5±1,4	27,6±1,5	27,6±2,2	25,1±2,3

Таблица 6 – Варианты изменения покрытий кормовых столов в процессе перемещения лактирующих животных из секции в секцию

Группа	Покрытие кормового стола	
	предшествующее	последующее
1-я опытная	полимерное	полимерное
2-я опытная	полимерное	бетонное
3-я контрольная	бетонное	бетонное
4-я контрольная	бетонное	полимерное

Таблица 7 – Потребление корма по месяцам в период исследования, т

Месяц	Секция 14 (покрытие бетон)	Секция 11 (покрытие бетон)	Секция 13 (покрытие полимер)	Секция 12 (покрытие полимер)
Ноябрь	48,3	48	48,8	50,5
Декабрь	48	48,7	51,7	52,5
Январь	48,8	49	51,6	52,8
Февраль	47,6	49,2	50,8	51,9
Март	46	47,9	50,6	51,6
Итого:	238,7	242,8	253,5	259,3

Таблица 8 – Экономическая эффективность использования полимерного покрытия кормового стола «Луг Здоровья»

Показатель	1 - я группа	2 - я группа	3 - я группа	4 - я группа
Удой коров (за 1 мес.) до использования полимерного покрытия	12411	15360	13941	15399
Удой коров (за 1 месяц) при использования полимерного покрытия	12969	16020	14016	15438
Увеличение удоя на 1 корову в день, кг	1,13	1,22	0,1	0,1
Прибавка молока в сравнении с месяцем до исследований, кг	+558	+660	+75	+39
Цена реализации 1 кг молока, руб. 31,00	31,00			
Получено прибыли дополнительно, тыс.руб	+17298	+20460	+2325	+1209
Стоимость 1 погонного метра покрытия «Луг Здоровья» с монтажом тыс. руб.:	1950,00			
Стоимость 135 погонных метров покрытия «Луг Здоровья» на 18 коров с монтажом, тыс. руб.:	26325,00			

В связи с тем, что в период лактации коров могут перемещать из одной секции в другую согласно технологической схеме движения животных в коровнике. При этом не во всех секциях смонтировано полимерное покрытие кормового стола. Поэтому нами изучены и рассмотрены все возможные варианты смены кормовых столов, связанные с перемещением животных из одной секции в другую (табл.6).

Анализ данных проведенных исследований позволяет заключить, что перевод коров из секции в секцию с другой поверхностью кормового стола влияет на их молочную продуктивность. [5]. Так при переводе из секции с полимерным покрытием кормового стола на бетонное покрытие уже на втором месяце мы наблюдаем снижение среднесуточных удоев на 0,9 кг. В дальнейшем снижение среднесуточных удоев при таком переводе усиливается и к четвёртому месяцу достигает 4,8 кг.

И наоборот, увеличение молочной продуктивности наблюдается у коров при переводе из секции с бетонным кормовым столом в секцию с полимерным покрытием кормового стола «Луг Здоровья». Среднесуточные удои коров при таком переводе в течение 4-х месяцев увеличиваются в среднем на 0,4-1,3 кг. Количество потреблённого корма животными разных групп за исследуемый период представлены в таблице 7.

Потребление кормов коровами всех групп

до проведения исследований находилось на одном уровне. В ходе проведения исследований с покрытия кормового стола «Луг здоровья» потребление кормов увеличилось на 2,3-2,8 тонны за учетный период, тогда как с бетонного кормового стола увеличение потребления корма составило 0,5-1,0 тонну.

Таким образом, разница в росте потребления кормов за учетный период в разрезе групп составила 2,3-5,6 раза в пользу кормового стола с полимерным покрытием. Если подвести итоги потребления кормов за весь учетный период, то можно сделать вывод, что коровы с полимерного кормового стола съели корма на 7,0-8,6% больше, чем с бетонного. Данное обстоятельство объясняет рост молочной продуктивности этих коров и является основой повышения экономической эффективности их использования (табл.8).

Несмотря на дополнительные затраты, связанные с приобретением и монтажом покрытия кормового стола «Луг Здоровья», его использование экономически выгодно. В первый месяц использования покрытия кормового стола за счёт прибыли от дополнительно полученного молока затраты на полимерные покрытие окупаются на 65,7-77,7%. Во втором месяце лактации возможно получить полную окупаемость затрат, а также дополнительную прибыль.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Согласно результатам оценки поверхности кормовых столов, состояние бетонных кормовых столов оценено на 3 балла (имеются сколы и впадины), кормовых столов «Луг Здоровья» - на 5 баллов. Состояние столов после 6 месяцев использования не изменилось. Использование покрытия «Луг Здоровья» способствует значительному уменьшению микробной обсемененности: число микробных клеток в 1 группе спустя 5 месяцев с начала исследования было более чем в 2, а во 2 – в 3,7 раза меньше, чем в 3 группе ($P \geq 0,95$). Использование покрытия кормового стола «Луг Здоровья» способствует достоверно лучшей ($P \geq 0,95$) поедаемости кормов. Коровы с полимерного кормового стола съели корма на 7,0-8,6% больше, чем с бетонного. Рост молочной продуктивности коров наблюдается при переводе из секции с бетонным кормовым столом в секцию с покрытием кормового стола «Луг Здоровья». Среднесуточные удои коров при таком переводе в течение четырёх месяцев увеличиваются в среднем на 0,4-13 кг. При переводе с полимерного кормового стола на бетонный наблюдается снижение среднесуточных удоев коров. В первый месяц использования покрытия кормового стола за счёт прибыли от дополнительно полученного молока затраты на полимерные покрытие окупаются на 65,7-77,7%.

THE EFFECTIVENESS OF THE POLYMER COATING OF THE FEED TABLE FOR DAIRY COWS

Dursenev M.S. *[1] – Candidate of Biological Sciences, Associate Professor, Head of the Department of Breeding, Feeding and Private Animal Husbandry (ORCID 0000-0002-8205-5042); **Paderina R.V.**[1] – Candidat of Agricultural Sciences, Associate Professor, Associate Professor of the Department of Breeding, Feeding and Private Animal Husbandry (ORCID 0000-0001-9579-0364); **Vinogradova N.D.**[2] – Candidat of Agricultural Sciences, Associate Professor, Associate Professor of the Department of Animal Feeding and Breeding (ORCID 0000 -0002-8030-4877)

[1]Vyatka State Agrotechnological University, Russia

[2]Saint Petersburg State University Veterinary Medicine

*maks.xitman@mail.ru

ABSTRACT

Many factors influence the milk productivity of cows. One of such factors is the technology of feeding animals, the element of which is the feed table and its coating. The article provides data on the effectiveness of using the polymer coating of the "Meadow of Health" fodder table in the technology of feeding dairy cows. As a result of the studies, it was found that the use of the "Meadow of Health" coating contributes to a significant decrease in microbial contamination: the number of microbial cells in group 1 after 5 months from the beginning

of the study was more than 2, and 2 - 3.7 times less than in group 3 ($P \geq 0.95$). The use of the cover of the fodder table "Meadow of Health" contributes to a reliably better ($P \geq 0.95$) food consumption. Cows from the polymer feed table ate feed 7.0-8.6% more than from concrete. Over the entire observation period, the cows of the 1st experimental group improved their performance by 13%, and the indicators of the 4th control group decreased by 9%. The increase in dairy productivity of cows is observed when transferring from the section with a concrete feed table to the section with the cover of the feed table "Meadow of Health." The average daily milk yield of cows with such a transfer within four months increases by an average of 0.4-13 kg. When transferring from a polymer feed table to a concrete one, a decrease in the average daily milk yield of cows is observed. Thus, the effect of the polymer coating of the feed table on the milk yield of cows was established. The calculation of the efficiency of using the polymer coating of the feed table showed that in the first month, due to the profit from the additionally received milk, the costs of the polymer coating pay off by 65.7-77.7%.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Дурсенев М.С., Баюнова Н.А., Овсянников Ю.С. Эффективность использования покрытия кормового стола "Луг Здоровья" // Сибирский вестник сельскохозяйственной науки. 2024. – Т. 54. – № 5. – С. 89-97.
2. Емельянов, Е. Г. Особенности полноценного кормления молочного скота в Новгородской области / Е. Г. Емельянов, И. В. Кныш, С. А. Тамаев // Известия Санкт-Петербургского государственного аграрного университета. – 2012. – № 29. – С. 46-51.
3. "Луг здоровья®" - лучшее решение для ваших коров// Эффективное животноводство. 2021. – № 1 (167). – С. 70-71.
4. Молочная продуктивность и долголетие коров в условиях промышленной технологии производства молока / С. Л. Сафронов, Н. М. Костомахин, О. И. Соловьева [и др.] // Селекционные и технологические аспекты интенсификации производства продуктов животноводства: по материалам Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, посвященной 150-летию со дня рождения академика М.Ф. Иванова, Москва, 03–04 марта 2022 года. Том ЧАСТЬ I. – Москва: РГАУ - МСХА им. К.А. Тимирязева, 2022. – С. 223-227.
5. Покрытие кормового стола «Луг Здоровья»: качество, безопасность, комфорт // Эффективное животноводство. 2020. № 9 (166). С. 46-47.
6. Покрытие кормового стола "Луг Здоровья": безопасно, качественно, экономично // Аграрная наука. 2021. – № 3. – С. 62-63.

REFERENCES

1. Dursenev M.S., Bayunova N.A., Ovsyannikov Yu.S. Efficiency of using the cover of the fodder table "Meadow of Health "// Siberian Bulletin of Agricultural Science. 2024. T. 54. № 5. S. 89-97.
2. Emelyanov, E. G. Features of full feeding of dairy cattle in the Novgorod region/E. G. Emelyanov, I. V. Knysh, S. A. Tamaev// Izvestia of the St. Petersburg State Agrarian University. – 2012. – № 29. - S. 46-51.
3. "Health Meadow ®" is the best solution for your cows//Efficient animal husbandry. 2021. № 1 (167). S. 70-71.
4. Dairy productivity and longevity of cows in the conditions of industrial milk production technology/S. L. Safronov, N. M. Kostomakhin, O. I. Solovyova [et al.]// Breeding and technological aspects of intensifying the production of livestock products: based on the materials of the All-Russian Scientific and Practical Conference with international participation, dedicated to the 150th anniversary of the birth of Academician M.F. Ivanov, Moscow, March 03-04, 2022 Volume PART I. - Moscow: RSAU - Moscow Agricultural Academy named after K.A. Timiryazev, 2022. - S. 223-227.
5. Coverage of the fodder table "Meadow of Health": quality, safety, comfort//Effective animal husbandry. 2020. № 9 (166). S. 46-47.
6. Covering the feed table "Meadow of Health": safe, high-quality, economical// Agrarian science. 2021. № 3. S. 62-63.

УДК: 636.082.474:636.5.033.084.52
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.4.283

РЕЗУЛЬТАТЫ ИНКУБАЦИИ И ОТКОРМА ЦЫПЛЯТ-БРОЙЛЕРОВ КРОССА РОСС 308, ПОЛУЧЕННЫХ ОТ КУР РАЗНОГО ВОЗРАСТА

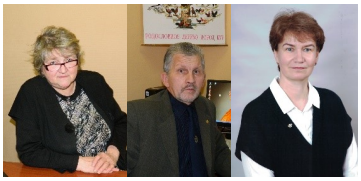
Васильева Л.Т.[1] – канд. с.-х. наук, доц., доц. каф. птицеводства и мелкого животноводства им. проф. П.П. Царенко (ORCID 0000-0002-7941-7786); **Бычаев А.Г.**[1] – канд. с.-х. наук, доц. каф. птицеводства и мелкого животноводства им. проф. П.П. Царенко (ORCID 0000-0001-8073-7421); **Виноградова Н.Д.**[2]* – канд. с.-х. наук, доц., доц. каф. кормления и разведения животных (ORCID 0000-0002-8030-4877)

[1]ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный аграрный университет»
[2]ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины»

* n_vinogradova35@mail.ru

Ключевые слова: *возраст кур, кросс Росс 308, инкубация, мясная продуктивность цыплят - бройлеров.*
Keywords: *age of chickens, Ross 308 cross, incubation, meat productivity of broiler chickens*

Поступила: 30.10.2024 **Принята к публикации: 02.12.2024**
Опубликована онлайн:16.12.2024



РЕФЕРАТ

На результаты инкубации и качество молодняка оказывают влияние многие факторы. Одним из наиболее важных является возраст кур родительского стада. Исследовано влияние кур в возрасте 35 нед. и моложе, 36-45 нед. и 46 нед. и старше родительского стада кросса Росс 308 на результаты инкубации яиц и мясную продуктивность бройлеров, полученных от разновозрастных кур. Установлено, что влияние возраста кур родительского стада имеет криволинейную зависимость с результатами инкубации яиц, полученных от них. Вывод, выводимость и оплодотворенность яиц в возрасте птицы от 36 до 45 нед. превосходили результаты инкубации яиц кур 35 нед. и менее на 2,01%, 0,91% и 1,27% и яиц, полученных от птицы 46 нед, и старше на 8,45%, 4,42% и 8,80% соответственно. При откорме цыплят-бройлеров, полученных от кур разного возраста было установлено, что несмотря на более интенсивный рост цыплят от молодой птицы и высокую живую массу бройлеров в конце откорма, полученных от кур старше 46 нед. европейский индекс продуктивности у цыплят-бройлеров полученных из яиц кур в возрасте 36 - 45 нед. составил 358,6 и превосходил первых (35 нед. и моложе) - на 3,02% и вторых (46 недель и старше) – на 1,11%. При порционной разделке тушек цыплят-бройлеров кросса Росс 308 наиболее эффективными оказались бройлеры, полученные от кур в возрасте 46 нед, и старше. Таким образом установлено влияние возраста кур родительского стада на результаты инкубации и мясную продуктивность бройлеров, полученных от кур разного возраста.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Влияние возраста кур родительского стада на результаты инкубации и на продуктивные показатели цыплят-бройлеров исследователями изучается уже на протяжении нескольких десятков лет [1-4]. Было выявлено, что возраст птицы влияет на качество инкубационных яиц, причиной чего являются возрастные особенности функционирования органов воспроизводства (яичника и яйцевода), снижение усвояемости из рациона питательных веществ и т.д. [5]. Все это приводило к высокой эмбриональной смертности, отставанию в развитии и получению молодняка с низкой однородностью по живой массе, а в последствии снижению эффективности производства мяса при откорме таких цыплят [6-10]. Остроту и актуальность исследования влияния возраста родительского стада на эффективность производства мяса приобретает в бройлерных хозяйствах с незамкнутым циклом при необходимости закупки яиц финального гибрида за рубежом. В таких хозяйствах это производится часто и в значительных объемах, что сильно снижает рентабельность при производстве мяса цыплят-бройлеров [8,9]. Поэтому исследования, посвященные анализу возрастного влияния, поступающих из-за рубежа инкубационных яиц и полученного из этих яиц молодняка не только актуальны, но и имеют высокое практическое значение. **Цель исследования** - анализ результатов инкубации и продуктивных показателей цыплят - бройлеров кросса Росс 308 при откорме, полученных от кур родительского стада разного возраста. Для успешного выполнения цели были определены задачи. Исследовать влияние возраста кур на результаты инкубации яиц кросса Росс 308. Определить продуктивные показатели цыплят - бройлеров данного кросса при откорме.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Материалом исследования явились инкубационные яйца кросса Росс 308 поступившие из Германии (n= 22555399 яиц) и цыплята - бройлеры в возрасте 1-38,5 сут. (18452657 голов), полученные от кур в возрасте от 29 до 60 нед. Все инкубируемые яйца были разделены на 3 группы в зависимости от возраста кур: 35 нед. и моложе, 36 - 45 нед. и 46 нед. и старше. В процессе инкубации в 7,5 сут. было проведено просвечивание яиц (мираж) для определения оплодотворенности яиц, количества эмбрионов, погибших до 48 ч. и в более поздние сроки (кровь-кольцо), количества яиц с присохшими к подскорлупной пленке эмбрионами, яиц с поврежденной скорлупой и др. изменениями, обнаруженными в процессе инкубирования. Материал и методика представлены в таблице 1.

Остальные отходы инкубации определялись после вывода цыплят.

В процессе исследования были использованы методики ВНИТИП и общепринятые методики расчета зоотехнических показателей.

При выводе цыплята, отобранные методом случайной выборки, были взвешены по 100 гол. от каждой возрастной группы в партиях выведенного молодняка. Цыплята на откорме содержались в одинаковых условиях и получали полнорационный комбикорм в соответствии с возрастом.

В завершении откорма все цыплята-бройлеры были забиты и из каждой возрастной группы методом случайной выборки было отобрано по 100 тушек, которые подверглись разделению на порционные части.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Анализ результатов инкубации.

Инкубация яиц родительского стада является одной из важнейших технологических операций, в значительной степени определяющих качество полученного молодняка финального гибрида и эффективность его откорма. Многочисленными исследованиями установлено, что при оптимальных условиях режима инкубирования яиц интенсивное эмбриональное развитие во многом определяется возрастом родительского стада [1,8]. В связи с этим при просвечивании яиц на 7 сутки в цехе инкубации наряду с определением

Таблица 1 – Материал и методика исследования

Этап исследования	Возрастные группы кур родительского стада	Исследуемые объекты		Исследуемые показатели
		яйца	цыпля-та	
1. Влияние возраста кур родительского стада на результаты инкубации	35 нед. и менее	4386991	–	Интенсивность эмбрионального развития в 7,5 сут. инкубации (категории), выводимость (%), оплодотворенность яиц (%), вывод (%), категории отходов инкубации (%).
	36-45 нед.	6414263	–	
	46 нед. и более	11754145	–	
2. Влияние возраста кур родительского стада на продуктивные показатели цыплят - бройлеров	35 нед. и менее	–	3729381	Живая масса суточных цыплят и бройлеров при снятии с откорма (г), сохранность цыплят за время откорма (%), среднесуточный прирост живой массы (г), затраты корма на кг прироста живой массы (кг), индекс продуктивности (%).
	36-45 нед.	–	5488044	
	46 нед. и более	–	9238232	
3. Влияние возраста кур на показатели убоя цыплят бройлеров	35 нед. и менее	–	100	Предубойная масса бройлеров (г), выход (%) потрошенной тушки, выход (%) порционных частей тушки.
	36-45 нед.	–	100	
	46 нед. и более	–	100	

оплодотворенности яиц была оценена интенсивность эмбрионального развития в яйцах, полученных от разновозрастных родителей. Средняя категория развития эмбрионов в яйцах кросса Росс 308 составила 1,07 (84,8%), что свидетельствует о хорошем начале развития эмбрионов. Исследованиями установлено, что возраст родительского стада оказывал влияние на интенсивность развития эмбрионов. Так, эмбриональное развитие в первую неделю инкубации в яйцах, полученных от кур в возрасте 36 - 45 нед. оказалась самым интенсивным, их категория была оценена 1,0, незначительное отставание в развитии наблюдалось у эмбрионов в яйцах молодых несушек (35 нед, и моложе), категория развития которых оказалась 1,01. Эмбриональное развитие в яйцах, полученных от кур старше 46 нед. достоверно ($P \geq 0,999$) отставало от первых двух групп и составило 1,3 с колебаниями от 1,07 в 46 нед. до 1,57 у птицы в возрасте 56 нед. и старше.

В целом результаты инкубации по возрастным группам несушек родительского стада представлены в таблице 2.

Анализ полученных данных показал достоверное отличие показателей вывода, выводимости и оплодотворенности между группами кур разного возраста родительского стада кросса Росс 308. Установлено, что в возрасте 36 - 45 нед. кур результаты инкубации оказались более высокими по сравнению с группами самой молодой и более старой птицей. Вывод, выводимость и оплодотворенность яиц в возрасте птицы от 36 до 45 нед. превосходили результаты инкубации яиц кур 35 нед. и менее на 2,01%, 0,91% и 1,27% и яиц, полученных от птицы 46 нед. и старше на 8,45%, 4,42% и 8,80% соответственно.

Таблица 2 – Результаты инкубации яиц в исследуемых возрастных группах кур родительского стада кросса Росс 308

Возрастные группы кур	Вывод, %	Оплодотворенность, %	Выводимость, %
35 нед. и менее	85,01	96,52	88,08
36-45 нед.	87,02	97,79	88,99
46 нед. и более	78,57	92,92	84,57

Таблица 3 – Удельный вес яиц, отнесенных к отходу инкубации (усредненные данные)

Возрастные группы кур	Категории отхода инкубации, %					Всего, %
	Неоплод.	«кровяное кольцо»	«замершие»	«задохлики»	прочее*	
35 нед. и менее	3,48	0,51	4,76	4,09	2,15	14,99
36-45 нед.	2,21	0,31	4,14	5,55	0,77	12,98
46 нед. и более	7,08	0,80	4,57	7,04	1,94	21,43

*Примечание: *Эмбрионы погибшие до 48 час развития, насечка, бой, эмбрионы, присохшие к скорлупе, и др.*

После вывода каждой партии цыплят определялся удельный вес отходов инкубации по возрастам птицы с целью определения причин эмбриональной гибели. Усредненные данные полученных результатов представлены в таблице 3.

Анализ полученных данных свидетельствует, что вероятными причинами снижения результатов инкубации у кур в возрасте 35 нед. и моложе можно считать ухудшение внутренних качеств инкубационных яиц и прочие признаки, а для яиц, полученных от птицы в возрасте 46 нед. и больше – частичная потеря биологической полноценности спермы петухов в этом возрасте вследствие чего получено значительное количество неоплодотворенных яиц, и также качество инкубационных яиц, что привело к отставанию в развитии эмбрионов в процессе инкубирования яиц («замершие» и «задохлики»). Анализ отхода инкубационных яиц в группе кур в возрасте 36 - 45 нед. показал, что следует обратить внимание на качественные характеристики яиц. Таким образом основными причинами гибели эмбрионов в процессе их развития во время инкубации можно считать инкубационные качество яиц, которые зависят от кормления родительского стада и интенсивности обмена веществ в организме кур и возрастных особенностей функционирования системы яйцеобразования у кур после 46 недель.

Влияние возраста родителей на мясную продуктивность бройлеров. После сортировки выведенных цыплят каждой партии и подготовки их к отправке в цех выращивания методом случайной выборки отбирались из каждой возрастной группы кур цыплята для взвешивания. Исследованиями было установлено, что масса выведенных цыплят значительно отставала от норматива кросса (44 г). Так, цыплята, полученные от самой молодой птицы, отставали на 8,22%, полученные от кур среднего возраста на 4,21% и полученные от кур самой старшей группы – на 0,52%.

При выращивании выведенных цыплят, полученных от разновозрастной птицы, были изучены их показатели продуктивности. В литературе неоднократно сообщалось о влиянии возраста родителей не только на качество яиц, интенсивность эмбриогенеза, результаты инкубации, но и на их жизнеспособность, рост и развитие [7,8,9,10].

В связи с этим целью этого этапа исследования явилось изучение влияния

возраста кур родительского стада кросса Росс 308 на продуктивные качества цыплят-бройлеров. Все цыплята по принятой в хозяйстве технологии откармливались в среднем 38,5 сут.

Среднесуточный прирост живой массы цыплят за 38,5 сут. откорма составил в возрастной группе кур до 35 нед. - 62,07 г, что на 0,12% превышало норматив хозяйства (62,0 г), в группе кур с возрастом 36-45 нед. он оказался на 0,63% ниже данных норматива хозяйства и составил 61,61 г. Самым высоким был среднесуточный прирост у бройлеров в группе кур родительского стада старше 46 нед. – 63,40 г и превышал норматив хозяйства на 2,26%. За счет разной интенсивности роста и первоначальной массы при постановке на откорм цыплята к концу откорма (38,5 сут) имели разную массу.

Сравнительный анализ массы бройлеров при снятии с откорма представлен на рисунке 1.

Отставание бройлеров от норматива хозяйства по кроссу Росс 308 у исследуемого поголовья наблюдалось только в группе, где возраст матерей составлял 35 нед. и меньше. Несмотря на высокую интенсивность роста цыплята этой группы начали откорм с меньшей массы и не успели догнать своих сверстников.

Обращает на себя внимание низкая сохранность при нормативах в хозяйстве 95-97%. В исследуемых группах сохранность не превышала 93,0 % и колебалась от 92,27% (возраст кур 46 нед, и выше) до 92,83 (возраст 36-45 нед.). Из-за низкой сохранности бройлеров повысились затраты корма на прирост 1 кг живой массы, которые в крайних возрастных группах составили 1,68 кг, а у молодняка в возрастной группе кур 36-45 нед. – 1,67 кг.

Продуктивность бройлеров и эффективность производства мяса на мясных птицефабриках определяют при расчете Европейского индекса продуктивности по формуле:

$$Ип = \frac{Жм \times Сп \times 100}{Пв \times Зк};$$

где: $И_п$ – европейский индекс продуктивности;

$Ж_м$ – средняя живая масса, кг;

$С_п$ – сохранность поголовья, %;

$П_в$ – продолжительность выращивания, дн;

$З_к$ – затраты корма на 1 кг прироста, кг.

На рисунке 2 представлены индексы продуктивности бройлеров, полученных от кур разного возраста.

Рисунок 1 – Сравнение живой массы бройлеров при снятии с откорма.

Рисунок 2 – Европейский индекс продуктивности в группах бройлеров, полученных от кур разного возраста.

Таблица 4 – Анализ результатов разделки тушек бройлеров

Относительная масса	Возраст кур родительского стада		
	35 нед. и менее (n=100 гол.)	36-45нед. (n=100 гол.)	46 нед. и более (n=100 гол.)
Грудка, %	24,63	25,15	25,71
Бедро, %	13,65	13,96	14,83
Голень, %	9,84	10,35	10,78
Крыло, %	7,55	7,81	8,23

Таким образом, по эффективности производства мяса значительно выделяются бройлеры, полученные от кур в возрасте 36-45 нед.

Однако, мясная продуктивность бройлеров оценивается не только количеством, но и качеством мяса. В связи с этим были изучены показатели убоя птицы в исследуемых группах (табл. 4).

При убое выход тушки у исследуемых групп составил более 77% при нормативе кросса для живой массы 2400 г - 72,38%. Так, максимальной живой перед убоем обладали бройлеры, полученные от кур в возрасте 46 и более недель. Их убойный выход составил 77,45%, превышая этот показатель на 0,39% и на 0,02% бройлеров от молодой (35 нед. и младше) птицы и кур среднего (36-45 нед.) возраста соответственно.

Далее из каждой возрастной группы было взято методом случайной выборки по 100 тушек и произведена их разделка с определением доли каждой части тушки.

Данные представленные в таблице 4 свидетельствуют, что бройлеры, полученные от всех кур родительского стада, имели очень близкие результаты. Однако наиболее высокими показателями по удельному весу в тушке грудки, бедра, голени и крыльев обладали цыплята после откорма, полученные от кур в возрасте 46 нед. и выше.

ВЫВОДЫ/CONCLUSION

Исследованиями установлено влияние возраста кур родительского стада кросса Росс 308 на результаты инкубации яиц. Вывод, выводимость и оплодотворенность яиц, полученных от кур в возрасте 36-45 нед. оказались максимальными среди исследуемых групп и составили 87,02%; 88,99% и 97,79% соответственно. Самыми низкими показателями результатов инкубации обладали яйца, полученные от кур в возрасте 46 нед. и старше (78,57%; 84,57% и 92,92%).

Максимальных показателей мясной продуктивности достигали бройлеры,

полученные от кур в возрасте 36-45 нед. Европейский индекс продуктивности в этой группе составил 358,6 превышая этот показатель крайних групп: в 1,03 (35 нед. и моложе) и в 1,01 (46 недель и старше) раза. Однако, от бройлеров, полученных от кур в возрасте 46 нед. и старше была получена тушка с максимальным выходом грудки (25,71%), бедра (14,83%), голени (10,78%) и крыльев (8,23%).

THE INFLUENCE OF THE AGE OF CHICKENS ON THE RESULTS OF INCUBATION AND FATTENING OF BROILER CHICKENS OF THE ROSS 308 CROSS

Vasilyeva L.T. [1] – Cand. Sci. (Agric.) Associate Professor, Associate Professor of the Department of Poultry and Small Animal Husbandry named after P. P. Tsarenko (ORCID 0000-0002-7941-7786); **Bychaev A. G.** [1] **–** Cand. Sci. (Agric.), Associate Professor of the Department of Poultry and Small Animal Husbandry named after P.P. Tsarenko (ORCID 0000-0001-8073-7421); **Vinogradova N.D.*[2]** – Cand. Sci. (Agric.) Associate Professor, Associate Professor of the Department of Animal Feeding and Breeding (ORCID 0000-0002-8030-4877)

[1]Saint Petersburg State Agrarian University

[2]Saint Petersburg State University Veterinary Medicine

*n_vinogradova35@mail.ru

ABSTRACT

Many factors influence the results of incubation and the quality of young animals. One of the most important is the age of the chickens of the parent flock. The effect of chickens aged 35 weeks was studied. and younger, 36-45 weeks and 46 weeks. and the senior of the parent herd of the Ross 308 cross on the results of egg incubation and meat productivity of broilers obtained from chickens of different ages. It was found that the influence of the age of the chickens of the parent flock has a curvilinear relationship with the results of incubation of eggs obtained from them. Hatching, hatchability and fertilization of eggs at the age of a bird from 36 to 45 weeks. the results of incubation of chicken eggs were superior for 35 weeks. and less by 2.01%, 0.91% and 1.27% and eggs obtained from poultry for 46 weeks. and older by 8.45%, 4.42% and 8.80%, respectively. When fattening broiler chickens obtained from chickens of different ages, it was found that despite the more intensive growth of chickens from young birds and the high live weight of broilers at the end of fattening, obtained from chickens older than 46 weeks. The European productivity index for broiler chickens obtained from eggs at the age of 36-45 weeks was 358,6 and exceeded the first by 3,02% and the second by 1,11%. When portioning chicken carcasses–broilers of the Ross 308 cross were the most effective broilers obtained from chickens at the age of 46 weeks. and older. Thus, the influence of the age of the chickens of the parent herd on the results of incubation and meat productivity of broilers obtained from chickens of different ages has been established.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1.Семакина О.В., Влияние массы инкубационных яиц на продуктивность выведенных цыплят-бройлеров/ О.В. Семакина, Е.Н. Верещагина, Р.В. Падерина // Птицеводство. –2019.–№7-8.–С.67–69.

2.Gualhanone A., Furlan R., Fernandez – Alarcon M., Macari M. Effect of breeder age on eggshell thickness, surface temperature, hatchability and chick weigh. Braz. J. Poultry Sci., 2012, 14: 9-14 (doi: 10.1590/S1516-635X2012000100002).

3.Nangsuay A., Ruangpanit Y., Meijerhof R., Attamangkune S. Yolk absorption and embryo development of small and large eggs originating from young and old breeder hens. Poultry Sci., 2011, 90(11): 2648-2655 (doi: 10.3382/ps.2011-01415).

4.Дарьин А.И. Влияние возраста курнесушек на качество яиц/А.И. Дарьин//В сб.: Охрана биоразнообразия и экологические проблемы природопользования. Сборник статей II Всероссийской (национальной) научно-практической конференции, посвященной 70-летию Пензенского государственного аграрного

университета (28-29 мая 2021 г). Пензенский государственный аграрный университет, Межотраслевой научно-информационный центр. Пенза, –2021.– С. 47-49.
5.Забудский Ю.И., Репродуктивная функция у гибридной сельскохозяйственной птицы. Сообщение III. Влияние возраста родительского стада. /Ю.И. Забудский // Сельскохозяйственная биология», 2016.– том 15.– №4.– С.436–449.
6.Левашова М.А., Влияние возраста курнесушек на качество яиц В сб.: Актуальные проблемы и перспективы развития отечественного животноводства./ М.А. Левашова, О.В. Филинская, //Сборник научных трудов по материалам Национальной научно-практической конференции с международным участием, посвященной памяти Заслуженного работника Высшей школы РФ, доктора сельскохозяйственных наук, профессора Л.П. Москаленко (29 сентября 2021 г.) Ярославская ГСХА. Ярославль, –2021. –С. 39–44.
7.Никитченко В.Е. Закономерности постэмбрионального развития мясных кур (обзор) / Д.В. Никитченко, Ж.В. Емануйлова, В.Г. Плющиков, К.М. Кондрашкина, М.С. Переплетчикова // Птицеводство. – 2023. – №5. – С. 53-59.
8.Стрельников А.И., Влияние возраста родительского стада на выживаемость ремонтного молодняка кросса Cobb-500 / А.И. Стрельников, А.В. Онегов//Вестник Марийского государственного университета. Серия «Сельскохозяйственные науки. Экономические науки». – 2020. – Т.6 –№4. –С.426–432.
9.Хорошевская Л.В. Современные подходы к повышению качества суточного молодняка, полученного из яиц мясных кур в конце продуктивного периода и при длительном сроке их хранения / Л.В. Хорошевская, И.Ф. Горлов, М.И. Сложенкина, А.В. Рудковская, Е.А. Струк, Е.Г. Абраменко, И.А. Панин// Птицеводство. – 2023. – №4. – С. 60–66.
10.Васильева Л.Т., Влияние возраста курнесушек кросса Ну-Line Brown на качество яиц / Л.Т.Васильева, А.Г. Бычаев // Известия Санкт-Петербургского государственного университета. – 2023. - №1(70). – С.79-88.

REFERENCES

1.Semakina O.V., Vliyanie massy inkubacionnyh yaic na produktivnost' vyvedennyh cyplyat-brojlerov/ O.V. Semakina, E.N. Vereshchagina, R.V. Paderina // Pticevodstvo. –2019.–№7-8.–S.67–69.
2.Gualhanone A., Furlan R., Fernandez – Alarcon M., Macari M. Effect of breeder age on eggshell thickness, surface temperature, hatchability and chick weigh. Braz. J. Poultry Sci., 2012, 14: 9-14 (doi: 10.1590/S1516-635X2012000100002).
3.Nangsuay A., Ruangpanit Y., Meijerhof R., Attamangkune S. Yolk absorption and embryo development of small and large eggs originating from young and old breeder hens. Poultry Sci., 2011, 90(11): 2648-2655 (doi: 10.3382/ps.2011-01415).
4.Dar'in A.I. Vliyanie vozrasta kur-nesushek na kachestvo yaic/A.I. Dar'in //V sb.: Ohrana bioraznoobraziya i ekologicheskie problemy prirodopol'zovaniya. Sbornik statej II Vserossijskoj (nacional'noj) nauchno-prakticheskoj konferencii, posvyashchennoj 70-letiyu Penzenskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta (28-29 maya 2021 g). Penzenskij gosudarstvennyj agrarnyj universitet, Mezhotraslevoj nauchno-informacionnyj centr. Penza, –2021.– S. 47-49.
5.Zabudskij Yu.I., Reproduktivnaya funkciya u gibridnoj sel'skohozyajstvennoj pticy. Soobshchenie III. Vliyanie vozrasta roditel'skogo stada. /Yu.I. Zabudskij // Sel'skohozyajstvennaya biologiya», 2016.– tom 15.– №4.– S.436–449.
6.Levashova M.A., Vliyanie vozrasta kurnesushek na kachestvo yaic V sb.: Aktual'nye problemy i perspektivy razvitiya otechestvennogo zhivotnovodstva. / M.A. Levashova, O.V. Filinskaya, //Sbornik nauchnyh trudov po materialam Nacional'noj nauchno-prakticheskoj konferencii s mezhdunarodnym uchastiem, posvyashchennoj pamyati Zasluzhennogo rabotnika Vysshej shkoly RF, doktora sel'skohozyajstvennyh nauk, professora L.P. Moskalenko (29 sentyabrya 2021 g.) Yaroslavskaya

GSHA. Yaroslavl', –2021. –S. 39–44.
7.Nikitchenko V.E. Zakonomernosti postembrional'nogo razvitiya myasnyh kur (obzor) / D.V. Nikitchenko, Zh.V. Emanujlova, V.G. Plyushchikov, K.M. Kondrashkina, M.S. Perepletchikova // Pticevodstvo. – 2023. – №5. – S. 53-59.
8.Strel'nikov A.I., Vliyanie vozrasta roditel'skogo stada na vyzhivaemost' remontnogo molodnyaka krossa Cobb-500 / A.I. Strel'nikov, A.V. Onegov //Vestnik Marijskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya «Sel'skohozyajstvennye nauki. Ekonomicheskie nauki». – 2020. –T.6 –№4. –S.426–432.
9.Horoshevskaya L.V. Sovremennye podhody k povysheniyu kachestva sutochnogo molodnyaka, poluchennogo iz yaic myasnyh kur v konce produktivnogo perioda i pri dlitel'nom sroke ih hraneniya / L.V. Horoshevskaya, I.F. Gorlov, M.I. Slozhenkina, A.V. Rudkovskaya, E.A. Struk, E.G. Abramenko, I.A. Panin// Pticevodstvo. – 2023. – №4. – S. 60–66.
10.Vasil'eva L.T., Vliyanie vozrasta kurnesushek krossa Hy-Line Brown na kachestvo yaic / L.T. Vasil’eva, A.G. Bychaev // Izvestiya Sankt-Peterburgskogo gosudarstvennogo universiteta. – 2023. - №1 (70). – S.79-88.

УДК: 636.5.085.11
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.4.292

ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ ДОЗ «БУТОФАН OR» НА ДИНАМИКУ ЭМБРИОГЕНЕЗА ИНКУБАЦИОННЫХ ЯИЦ

Коновалова Е.М. – канд. с.-х. наук, доц. каф. зоогигиены и птицеводства имени А.К. Даниловой (ORCID 0009-0000-5206-4389); **Кочиш И.И**. – академик РАН, д-р с.-х. наук, проф., зав. каф. зоогигиены и птицеводства имени А.К. Даниловой (ORCID 0000-0000-0002-8502-6052); **Капитонова Е.А**.* – д-р биол. наук, доц., проф. каф. зоогигиены и птицеводства имени А.К. Даниловой (ORCID 0000-0003-4307-8433); **Нестеров В.Н**. – канд. с.-х. наук, доц. каф. зоогигиены и птицеводства имени А.К. Даниловой (ORCID 0009-0004-9318-663X)

ФГБОУ ВО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА имени К.И. Скрябина»

*kapitonovalena1110@mail.ru

Ключевые слова: *трансовариальная обработка, инкубационные яйца, родительское стадо кросса «Кобб 500», препарат «Бутофан OR», эмбриогенез.*

Key word: *transovarial treatment, hatching eggs, parent stock of the Cobb 500 cross, the drug Butofan OR, embryogenesis*

Финансирование: *Материалы подготовлены в рамках гранта «Здоровье и продуктивное долголетие кур-несушек промышленных кроссов: молекулярно-генетические и иммунологические аспекты» (№ 22-16-00009 от 16.05.2022 г).*

Поступила 14.10.2024 **Принята к публикации: 02.12.2024**
Опубликована онлайн:16.12.2024

РЕФЕРАТ

В статье представлены результаты по применению препарата «Бутофан OR» в различных дозировках для трансовариальной обработки инкубационных яиц и стимуляции эмбриогенеза цыплят высокопродуктивного мясного кросса «Кобб 500». Несмотря на то, что в целом механизмы эмбриогенеза изучены, однако остается открытый вопрос по влиянию различных препаратов на процесс развития зародыша под влиянием паратипических факторов. В частности, эффективные методы применения препарата «Бутофан OR» для трансовариальной обработки инкубационных яиц кур родительского стада и стимуляции дальнейшего развития молодняка на разных этапах онтогенеза пока не изучены. Цель работы – определить эффективность применения различных доз препарата «Бутофан OR» при трансовариальной обработке яиц. «Бутофан OR» в 1 мл содержит в качестве действующих веществ бутафосфан – 100 мг и цианокобаламин – 0,050 мг; вспомогательные вещества: метил-4-гидроксибензоат – 0,7-1,3 мг, вода очищенная – до 1 мл. Препарат задавался в следующих концентрациях рабочего раствора 01 % и т.д. Установлено, что при использовании препарата в опытных группах длительность вывода сократилась на 2-4 часа. При предынкубационной обработке яиц во всех опытных группах

установлено, что с учетом отходов инкубации, выводимость увеличилась – на 5,14% и 6,71%, а вывод – на 7,03% и 7,82%. При оценке цыплят в суточном возрасте установлено, что во 2-й опытной группе по комплексу показателей критерия качества шкалы «Пасгар» средний балл составил – 8,7, а по критериям качества шкалы «Оптистарт» средний балл составил – 9,2. Лучшие показатели отмечены при обработке инкубационных яиц в концентрациях 0,5 % перед закладкой в инкубатор и 5,0% на 18,5 сутки инкубации яиц. Трансовариальная обработка инкубационных яиц оказала положительное влияние на жизнеспособность и динамику живой массы выведенного молодняка. По окончанию технологического периода выращивания живая масса цыплят превосходила результаты контрольных аналогов – на 6,91% (P <0,001) при сохранности поголовья – 99,0%.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Птицеводство является одной из ключевых отраслей агропромышленного комплекса страны [5, 6, 19]. Эффективность промышленного птицеводства во многом зависит от результатов инкубации яиц и жизнеспособности птицы. Количество и качество выращенного молодняка, а также получение безопасной для питания людей готовой продукции, напрямую зависит от результатов инкубации, которые направлены на синхронизацию мероприятий, способствующих улучшению показателей биологического контроля [3, 7]. Однако, внедрение современных интенсивных технологий выращивания бройлеров, методов генетики и селекции высокопродуктивных кроссов, позволяющих реализовать генетический потенциал птицы, может сопровождаться высоким уровнем стресса. Особенно чувствительна птица к воздействию неблагоприятных факторов на стадии эмбрионального развития и в первый месяц выращивания [14, 17, 18].

Для профилактики заболеваний и повышения продуктивности птицы на различных стадиях онтогенеза, включая эмбриональный период, успешно применяют экологически безопасные стимуляторы различного происхождения [1, 10, 22]. Их используют для снижения эмбриональной смертности, стимуляции естественной резистентности, повышения иммунного ответа на вакцинации и предотвращения поствакцинальных осложнений, профилактики и лечения болезней различной этиологии [2, 8].

До настоящего времени не разработаны комплексные схемы использования препаратов с иммуномодулирующей способностью природных адаптогенов (биостимуляторов), позволяющих эффективно корректировать метаболизм развивающегося организма, повышать резистентность и продуктивность птицы. Ассортимент данной группы очень широк, однако весьма актуальным является применение новых, недорогих и эффективных препаратов различной природы, поддерживающих защитную функцию организма цыплят на высоком физиологическом уровне [9, 12, 15, 23].

На сегодняшний день актуальной задачей является поиск новых эффективных биостимуляторов для улучшения роста и развития эмбрионов в начальном периоде эмбриогенеза птиц [4, 18, 20, 21]. Группа таких препаратов может включать: витамины, аминокислоты, ферменты и другие, биологически активные вещества. Основная цель использования биостимуляторов – это повышение выживаемости эмбрионов, активизация метаболизма, увеличение роста и повышение качества выводимых цыплят. Эти препараты могут вводиться в инкубационные яйца различными методами, включая аэрозольную или трансовариальную обработку [11, 13].

В связи с вышеизложенным считаем, что работа, направленная на использование новых экологически безопасных методов в инкубатории для стимуляции эмбриогенеза, способных увеличить показатели вывода и выводимости цыплят, их естественную резистентность и стрессоустойчивость, имеет практическую значимость и высокое народно-хозяйственное значение.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Цель работы – определить эффективность применения различных доз препарата «Бутофан OR» при трансовариальной обработке яиц.

Для реализации указанной цели была поставлена задача: оценить влияние вышеуказанного препарата на основные зоотехнические, анатомо-морфологические и гематологические показатели инкубационных яиц кур родительского стада и цыплят-бройлеров кросса «Кобб-500». Для решения поставленной задачи были проведены научно-хозяйственные опыты в условиях вивария ФГУП Загорское ЭПХ ВНИТИП, Сергиево-Посадского района, Московской области и в научной лаборатории кафедры зоогигиены и птицеводство им. А.К. Даниловой ФГБОУ ВО МГАВМиБ – МВА имени К.И. Скрябина [10, 16].

«Бутофан OR» в 1 мл содержит в качестве действующих веществ бутафосфан – 100 мг и цианокобаламин – 0,050 мг. В контрольную и опытные группы подбирали яйца из одного птичника кур родительского стада кросса «Кобб-500» при соблюдении равенства массы, времени снесения и срока хранения. Обработку яиц водным раствором вышеуказанного препарата проводили методом орошения, путем нанесения его на поверхность яиц с помощью пульверизатора, из расчета 30-40 мл раствора на 100 штук яиц, за 1 час до закладки в инкубатор, при Т – 20-23^0 С. В контрольной группе яйца не обрабатывали.

Для проведения исследований нами были взяты 378 яиц, из которых были сформированы контрольная и 2 опытных групп инкубационных яиц, по 126 штук в каждой (размер лотка). Перед закладкой в инкубатор опытные партии обработали водным раствором испытуемого препарата согласно схеме опыта (таблица 1).

Яйца контрольной и опытных групп инкубировали при стандартных режимах в машинах: ИУП-Ф-45, ИУВ-Ф-15-31. Режим инкубации яиц соответствовал стандарту отрасли 10 321 2003 «Яйца куриные инкубационные» ОСТ 46.186-85 «Инкубация яиц куриных, технологический процесс. Основные параметры».

На 11-е сутки инкубации проводили оценку степени развития аллантоиса у куриных эмбрионов по утвержденным методикам [3], на 18-е сутки – определили массу эмбрионов и их внутренних органов, а на 19-е сутки – вновь обработали яйца водным раствором препарата в концентрациях 3 и 5%. Эффективность мероприятий учитывали по результатам выводимости яиц, вывода кондиционных цыплят и отходу инкубации. Суточных цыплят подвергали морфометрической оценке с использованием шкал «Пасгар» и «Оптистарт». Уровень антиоксидантной системы защиты организма определяли по показателям пероксидазы в крови, супероксиддисмутазы (СОД), оснований Шиффа (ОШ) и малонового диальдегида (МДА). Исследования проводили спектрофотометрическим методом. Выведенный молодняк выращивали до 35-суточного возраста и учитывали: динамику живой массы, сохранность и естественную резистентность. Содержание лизоцима и бактерицидную активность сыворотки крови определяли по общепринятой методике.

Таблица 1 – Схема опыта

Группа	Количество яиц в лотке, шт.	Концентрация рабочего раствора «Бутофан OR», %
Контрольная	126	-
Опытная 1	126	перед закладкой в инкубатор – 0,3 % на 18,5 сутки – 3 %
Опытная 2	126	перед закладкой в инкубатор – 0,5 % на 18,5 сутки – 5 %

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

В начале эксперимента, перед закладкой в инкубатор, нами был проведен анализ качества инкубационных яиц, полученных от кур родительского стада мясного направления продуктивности, согласно методическим рекомендациям ВНИТИП (2023 г.). Полученные результаты представлены в таблице 2.

Из таблицы 1 следует, что качество инкубационных яиц, полученных от кур родительского стада высокопродуктивного мясного кросса, в полной мере соответствует установленным нормам.

Различия в развитии эмбрионов опытных групп яиц на 18-е сутки инкубации, по сравнению с контролем, были незначительны и недостоверны (таблица 3).

Представленные в таблице 3 результаты свидетельствуют о нормативном физиологическом развитии эмбрионов в подопытных группах. На 19-е сутки провели повторную обработку яиц раствором «Бутофан OR» в концентрациях 3% и 5%, в первой и второй опытной группах, соответственно.

Вывод начался на 20-е сутки и продолжался в течение 46 часов. В опытных группах вывод ускорился на 3-5 часов, по сравнению с контролем (таблица 4).

Выводимость яиц в контроле составила от 87,6%. При этом выводимость в 1-й и 2-й опытных группах превосходила показатели контроля на 5,14% и 6,71%, а вывод кондиционных цыплят – на 7,03% и 7,82%, соответственно. Увеличение показателей выводимости произошло за счет снижения отходов инкубации, в виде замерших и задохликов в 2,5 раза, а также уменьшения количества вывода слабых цыплят в 2 раза в опытных группах, по сравнению с контрольной группой.

Полученные результаты свидетельствуют о повышении качества эмбрионов посредством трансовариальной обработки. Повышение жизнеспособности эмбрионов обусловлено снижением интенсивности свободно-радикальных процессов.

Критерием уровня свободно-радикальных процессов являются показатели перекисного окисления липидов (ПОЛ) и антиоксидантной системы защиты (АОЗ), которые определялись спектрофотометрическим методом. Для оценки ПОЛ у суточных цыплят определили уровени су- пероксиддисмутазы (СОД), малонового диальдегида (МДА) и оснований Шиффа (ОШ). Полученные показатели представлены в таблице 5.

Из таблицы 5 видно, что в опытных группах цыплят уровень малонового диальдегида в сыворотке крови снизился в 1,2-1,1 раза, а оснований Шиффа в 1,7-2,5 раза, соответственно, по сравнению с контрольной группой. В опытных группах наблюдается повышение активности ферментов – пероксидазы и супероксиддисмутазы – на 33,1-37,9% ($p < 0,05$-$0,01$) и 15,1-12,1%, соответственно, по сравнению с контрольной группой.

Повышение активности ферментов антиоксидантной защиты очевидно можно объяснить тем, что «Бутофан OR», обладая антистрессовым действием снижает негативный эффект и оксидативного стресса. Представленные изменения динамики показателей ПОЛ и АОС свидетельствуют о стабилизации мембран, а, следовательно, о высокой функциональности всех клеток и субклеточных систем в опытных группах.

Для оценки влияния трансовариальной обработки на развитие куриных эмбрионов провели морфометрическую оценку суточных цыплят по контрольной и лучшей 2-й опытной группе (таблица 6).

Установлено, что по критериям качества шкал «Пасгар» и «Оптистар» у цыплят первой опытной группы оценочный критерий был – на 13,5% и 17,6%, соответственно, выше, чем в контроле. Во второй опытной группы балл по оценочным шкалам был выше контрольных показателей – на 34,8% и 39,4%, соответственно.

Для оценки эффективности применения водного раствора «Бутофан OR» при трансовариальной обработки яиц, с целью повышения жизнеспособности цыплят, мы оценили жизнеспособность и динамику живой массы поголовья за период выращивания до 35-суточного возраста.

Таблица 2 – Анализ яиц

Возраст птицы, мес.	Масса, г		Индекс формы яиц, %	Скорлупа		Содержание витаминов, мкг/г				Кислотное число в желтке, мг КОН
	яйца	скор-лупа		плот-ность, г/см^3	толщина, мм	каротиноиды	витамин А	витамин B_2		
								белок	желток	
11-12	61,2	5,3 9,4%	78,3	1,085	0,37	16,0	7,1	2,9	4,0	5,04
Норма	>50	12%	72-76	>1,075	>0,34	>15	6-9	2-3	4-5	5-6

Таблица 3 – Весовые размеры яйца и его содержимого на 18-е сутки инкубации, (n=5, M±m)

Показатель	Группа					
	контрольная		опытная 1		опытная 2	
	масса, г	%	масса, г	%	масса, г	%
Масса яйца	63,0±1,12	100	62,23±1,87	100	63,15±1,36	100
Масса скорлупы	5,53±0,39	8,7	5,67±0,12	9,1	5,56±0,23	8,8
Масса подскорлуп-ных оболочек	0,2±0,013	0,3	0,26±0,034	0,42	0,36±0,032	0,57
Масса эмбриона	31,42±0,52	49,9	31,34±0,75	50,4	31,1±1,1	49,2
Масса желтка с желточным мешком	14,02±0,64	22,8	12,85±1,27	21,1	12,61±0,65	20,4
Масса печени	0,4±0,021	0,63	0,54±0,026	0,87	0,54±0,028	0,86
Масса сердца	0,19±0,01	0,3	0,19±0,007	0,31	0,17±0,013	0,27

Таблица 4 – Показатели биологического контроля инкубации, % (n=126, M±m)

Группа	Отходы инкубации					Выводимость, %	±Δ	Вывод, %	±Δ
	неоплод	кровяные кольца	замершие	задохлики	слабые				
Контрольная	5,47±2,01	1,56±1,1	3,97±1,71	3,91±1,71	2,34±1,34	87,6±2,91	-	82,81±3,33	-
Опытная 1	3,13±1,54	3,13±1,54	1,56±1,1	1,56±1,1	0,78±0,78	92,74±2,29	+5,14	89,84±2,67	+7,03
Опытная 2	3,91±1,71	1,56±1,1	1,56±1,1	1,56±1,1	0,78±0,78	94,31±1,8	+6,71	90,63±2,58	+7,82

Таблица 5 – Показатели перекисного окисления липидов и антиоксидантной системы защиты, (n=5, M±m)

Группа	Пероксидаза ед.опт.пл./лс	СОД, акт/мг гемоглобина	ОШ, отн.ед/мл	МДА, мкмоль/л
Контрольная	30,8±2,32	3,3±0,34	0,5±0,07	2,0±0,16
Опытная 1	41,0±3,55*	3,8±0,68	0,3±0,04*	1,8±0,04*
Опытная 2	42,5±1,64**	3,7±0,46	0,2±0,06	1,7±0,07*

Таблица 6 – Качество цыплят суточного возраста при оценке по шкалам «Пасгар» и «Оптистарт», баллы (n=10, M±m)

Показатель	Шкала «Пасгар»			Шкала «Оптистарт»		
	контрольная	опытная 1	опытная 2	контрольная	опытная 1	опытная 2
Мышечный тонус шеи	-	-	-	1,2±0,29	1,9±0,1	1,9±0,1
Рефлекс поведения	1,0±0,25	1,3±0,24	1,4±0,26	1,0±0,25	1,7±0,1	1,9±0,1
Пупочное кольцо	0,8±0,25	1,2±0,22	1,3±0,21	0,8±0,25	0,3±0,23	1,4±0,26
Плюсна и пальцы	2,0±0	2,0±0	2,0±0	-	-	-
Клюв	2,0±0	2,0±0	2,0±0	2,0 ±0,0	2,0±0	2,0±0,0
Живот	1,6±0,22	1,9±0,1	2,0±0	1,6±0,22	2,0±0,1	2,0±0,0
Критерий по шкале	7,4±0,18	8,4±0,18**	8,7±0,24***	6,6±0,3	8,9±0,15**	9,2±0,16***

Таблица 7 – Сохранность выведенного поголовья, (n=100)

Показатель	Группа		
	контрольная	опытная 1	опытная 2
Количество голов в начале опыта, гол.	100	100	100
Количество голов в конце опыта, гол.	97	98	99
Падеж, гол.	3	2	1
Сохранность, %	97	98	99

Таблица 8 – Динамика живой массы выведенного молодняка, (n=35)

Возраст, сутки	Группы						
	контрольная	опытная 1			опытная 2		
	M±m, г	M±m, г	±Δ	%	M±m, г	±Δ	%
10	228,1±2,17	232,5±2,85	4,4	1,93	251,3±2,68***	23,2	10,17
20	682,3±3,27	747,1±3,42***	64,8	9,50	734,1±3,86***	51,8	7,59
30	1330,0±4,9	1380,0±4,1***	50,0	3,75	1442,0±4,4***	112,0	8,42
35	1910,0±5,4	1990,0±5,7***	80,0	4,19	2042,0±5,2***	132,0	6,91

Примечание для таблиц 5,6,8: *- $p<0,05$; **- $p<0,01$; *** - $p < 0,001$

Сохранность молодняка птицы зависит от ряда факторов, в том числе от естественной резистентности организма цыплят-бройлеров. Уровень жизнеспособности выведенного в инкубаторе подопытного поголовья цыплят-бройлеров кросса «Кобб 500», за технологический период выращивания, представлен в таблице 7.

За период выращивания отход цыплят в контрольной группе составил – 3%. Во 2-й опытной группе падеж птицы был на уровне 1%. Отход цыплят-бройлеров в контрольной группе был обусловлен незаразными заболеваниями, такими как энтерит, кутикулит, мочекислый диатез. Нами установлено влияние применяемого препарата, в зависимости от концентрации раствора, на жизнеспособность молодняка птицы.

Подопытные цыплята для определения продуктивности были подобраны по принципу пар-аналогов по возрасту и живой массе (ВНИТИП, 2015). Средняя живая масса суточных цыплят во всех группах, отобранных для выращивания, составила – 43+0,1 г.

Из показателей, представленных в таблице 8 видно, что в первую декаду выращивания, по этому показателю цыплята 1 -й и 2-й опытных групп достоверно превосходили аналогов из контрольной группы – на 1,93% и 10,17% (р <0,001), соответственно

Как видно из таблицы 8, аналогичная закономерность по живой массе наблюдалась у бройлеров опытных групп до конца выращивания, которые к концу технологического периода выращивания достоверно превосходили сверстников из группы контроля – на 4,19-6,91 % (р <0,001).

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Таким образом, на основании комплекса проведённых научно-хозяйственных исследований нами установлено, что водные растворы препарата «Бутофан OR», при трансовариальной обработке инкубационных яиц кур родительского стада кросса «Кобб 500» в концентрациях 0,3% и 3,0% (опытная 1), а также и 0,5%, и 5,0% (опытная 2) являются оптимальными для стимуляции эмбриогенеза. На инкубационных яйцах с выводимостью яиц и выводом цыплят в контроле 87,6 и 82,8%, соответственно, максимальный эффект получен при обработке яиц по схеме (0,5 и 5,0% раствор Бутофан OR), что соответствует 94,3% и 90,6%. При этом выводимость яиц и вывод во 2-й опытной группе возросли на 7,66% и 9,44%, соответственно, а качество выведенных цыплят достоверно возросло до 8,7 «Пасгар» и 9,2 балла «Оптистарт».

Трансовариальная обработка инкубационных яиц оказала положительное влияние на жизнеспособность и динамику живой массы выведенного молодняка. Максимальный эффект был также получен при обработке инкубационных яиц по схеме 0,5% и 5,0%, при этом живая масса цыплят в конце откорма превосходила контрольных аналогов – на 6,91% (P <0,001) при сохранности поголовья – 99,0%.

COLLECTION OF DIFFERENT DOSES OF "BUTOPHAN OR"

Konovalova E. M. – Ph.D. n, associate professor of the department of zoohygiene and poultry farming named after A.K. Danilova (ORCID 0009-0000-5206-4389); **Kocish I.I**. – Academician of the Russian Academy of Sciences, Doctor of Agricultural Sciences Sc., Prof., Head of the Department of Animal Hygiene and Poultry Science named after A.K. Danilova (ORCID 0000-0000-0002-8502-6052); **Kapitonova E. A.*** – Doctor of Biology n, associate professor, professor of the department of zoohygiene and poultry farming named after A.K. Danilova (ORCID 0000-0003-4307-8433); **Nesterov V.N**. – Ph.D. Sc., Associate Professor of the Department of Animal Hygiene and Poultry Science named after A.K. Danilova (ORCID 0009-0004-9318-663X).

Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology – MBA named after K.I. Scriabin

*kapitonovalena1110@mail.ru

Funding: *Materials were prepared within the framework of the grant "Health and productive longevity of laying hens of industrial crosses: molecular genetics and immunological aspects" (No. 22-16-00009 dated May 16, 2022).*

ABSTRACT

The article presents the results of the use of the drug "Butofan OR" in various dosages for transovarial treatment of hatching eggs and stimulation of embryogenesis in chickens of the highly productive meat cross "Cobb 500". Despite the fact that in general the mechanisms of embryogenesis have been studied, there remains an open question about the effect of various drugs on the process of embryo development under the influence of paratypic factors. In particular, effective methods of using the drug "Butofan OR" for transovarial treatment of hatching eggs of parent flock chickens and stimulation of further development of young animals at different stages of ontogenesis have not yet been studied. The purpose of the work is to determine the effectiveness of using different doses of the drug "Butofan OR" during transovarial processing of eggs. "Butofan OR" in 1 ml contains butaphosphan – 100 mg and cyanocobalamin – 0.050 mg as active ingredients; excipients: methyl 4-hydroxybenzoate – 0.7-1.3 mg, purified water – up to 1 ml. The drug was specified in the following concentrations of the working solution: 01%, etc. It was found that when using the drug in experimental groups, the duration of withdrawal was reduced by 2 -4 hours. During pre-incubation treatment of eggs in all experimental groups, it was found that, taking into account incubation waste, hatchability increased by 5.14% and 6.71%, and hatchability by 7.03% and 7.82%. When assessing chickens at one day of age, it was found that in the 2nd experimental group, according to the set of indicators of the quality criterion of the "Pasgar" scale, the average score was 8.7, and according to the quality criteria of the "Optistart" scale, the average score was 9.2. The best performance was observed when processing hatching eggs in concentrations of 0.5% before placing them in the incubator and 5.0% on the 18.5th day of egg incubation. Transovarial treatment of hatching eggs had a positive effect on the viability and dynamics of live weight of hatched young animals. At the end of the technological growing period, the live weight of the chickens exceeded the results of the control analogues - by 6.91% (P <0.001) with the safety of the livestock - 99.0%.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Аганичева, А.А. Экологически безопасные методы повышения вывода и жизнеспособности цыплят / А.А. Аганичева // Современные проблемы науки и образования, 2013. – № 5. – С. 705.
2. Азарнова, Т.О. Интенсивность развития и динамика а-фетопротеина у эмбрионов кур при действии естественных метаболитов / Т. О. Азарнова // Аграрная наука. – 2013. – № 5. – С. 23-25.
3. Бессарабов Б.Ф., Крыканов А.А., Киселёв А.Л. Инкубация яиц сельскохозяйственной птицы. Сп(б): 2015. – 160 с.
4. Епимахова Е.Э. Соматометрическая оценка суточного молодняка птицы / Е.Э. Епимахова, Т.С. Александрова // Птица и птицепродукты, 2012. – № 6. – С. 27-291.
5. Капитонова, Е.А. Способ повышения продуктивности цыплят-бройлеров в условиях промышленных технологий: рекомендации производству / Е.А. Капитонова // Витебск: ВГАВМ, 2009. – С. 19.
6. Кочиш И.И., Супрунов Д.А. Тенденции в мировом птицеводстве // Ветеринария, зоотехния и биотехнология. 2017. – № 1. – С. 46-49.
7. Линник А.А., Алексеева С.А., Кузнецов О.Ю. Эффективность прединкубационной обработки яиц стимуляторами для повышения жизнеспособности цыплят / А.А. Линник, С.А. Алексеева, О.Ю. Кузнецов//Аграрный вестник Верхневолжья, 2016. – № 4 (17). – С. 47-51.
8. Лимаренко А.А.; Щербатова Т.А.; Левченко А.В. / Стимуляция эмбриогенеза кур прединкубационным орошением яиц растворами цинка сукцината / Труды Кубанского государственного аграрного университета. Серия: Ветеринарные науки. –

Краснодар, 2009. – № 1, ч. 2. – С. 43-45.
9. Молекулярная биология: учебное пособие / Карпенко Л.Ю. [и др.]. – С.-Петербург: СПбГАВМ, 2020.
10. Микробиология: учебно-методическое пособие / Соляник Т.В., Гласкович М.А., Карпенко Л.Ю. [и др.] // В 2-х частях. Ч. 2. Специальная микробиология. – Горки: БГСХА, 2014. – 214 с.
11. Околелова Т.М.; Мансуров Р.Ш.; Кривопишина Л.В.; Москалева В.А.; Киселева Е.В.; Григорьев А.В.; Новикова С.В. Повышение продуктивности и сохранности бройлеров при использовании препаратов Стролитин и Бутофан OR / Птицеводство, 2015. – № 2. – С. 21-24.
12. Опыт корректировки рационов цыплят-бройлеров в условиях птицефабрик Республики Беларусь / Гласкович М.А., Карпенко Л.Ю., Балыкина А.Б., Бахта А.А. – Международный вестник ветеринарии, 2018. – №1. – С. 33-40.
13. Петрова М.С. Эффективность препаратов "Бутофан OR" и "Метронид 50" при балантидиозе свиней / Теория и практика борьбы с паразитар. болезнями / Всерос. науч.-исслед. ин-т фундам. и приклад. паразитологии животных и растений им. К. И. Скрябина. Москва, 2015. – Вып. 16. – С. 346-348.
14. Подобед, Л.И. Особенности кормления сельскохозяйственных птиц / Л.И. Подобед, И.В. Брыло, Е.А. Капитонова. – Минск: ИВЦ «Минфина», 2023. – 339 с.
15. Препараты микробного происхождения и их влияние на биологический ресурс цыплят-бройлеров: рекомендации производству / Гласкович М.А., Карпенко Л.Ю., Гласкович С.А. [и др.]. – Горки: БГСХА, 2017. – 92 с.
16. Савостина, Т.В. Ветеринарная санитария с основами зоогигиены: учебное пособие // Челябинск, 2020 – 100 с.
17. Технология производства яиц и мяса птицы / Гласкович М.А. [и др.]. – Ветеринарное дело, 2015. – № 11. – С. 19-25.
18. Усовершенствование системы лечебно-профилактических и диагностических мероприятий в бройлерном птицеводстве / Гласкович А.А. [и др.]. // Сборник материалов I Международной научно-методической конференции «Ветеринарная медицина на пути инновационного развития». – Гродно: ГрГАУ, 2016. – С. 134-143.
19. Фисинин В.И. Динамика развития мирового и российского птицеводства/ В.И. Фисинин // Комбикорма, 2024. – № 4. – С. 2-6.
20. A feed additive based on lactobacilli with activity against campylobacter for meat-breeding chickens parent flock / Balykina A.B., Kapitonova E.A., Nikonov I.N., Kuznetsov Y.E., Shlukov S.N. // International Transaction Journal of Engineering, Management and Applied Sciences and Technologies. – 2020. – Т. 11, № 16. – С. 11A–16 E. DOI: 10.14456/ITJEMAST.2020.314.
21. Obtaining Organic Poultry Breeding Products in Prevention of Micotoxicosis / Kapitonova A., Saginbayeva M., Bayazitova K., Bayazitov T., Aubakirova A. // OnLine Journal of Biologicsl Sciences. 2021, 21 (3) : – P. 213-220. DOI: 10.3844/ojbsci.2021.213.220.
22. Results of using tripoli on zoohygienic indicators in the raising a parent herd of meat breed chickens / I. I. Kochish, E. A. Kapitonova, I. N. Nikonov, Shlukov S.N., Omarov R.S. // International Transaction Journal of Engineering, Management and Applied Sciences and Technologies. – 2020. – Т. 11, № 15. – С. 11A–15 U. DOI: 10.14456/ITJEMAST.2020.309.
23. Results of hypoporosis prevention in farm birds / E. Kapitonova. I. Kochish. E. Vlasenko. M. Glaskovich. I. Nikonov // Fundamental and Applied Scientific Research in the Development of Adriculture in the Far East: Web of Conferences International Scientific Conference. – 2023. – Vol. 371/ - P. 01078. – DOI.org/10.1051/e3sconf/202337101078/.

REFERENCES

1. Aganicheva, A.A. Ekologicheski bezopasnyye metody povysheniya vyvoda i zhiznesposobnosti tsyplyat / A.A. Aganicheva // Sovremennyye problemy nauki i obrazovaniya, 2013. – № 5. – S. 705. (In Russ.)
2. Azarnova, T.O. Intensivnost' razvitiya i dinamika a-fetoproteina u embrionov kur pri

deystvii yestestvennykh metabolitov / T. O. Azarnova // Agrarnaya nauka. – 2013. – № 5. – S. 23-25. (In Russ.)
3. Bessarabov B.F., Krykanov A.A., Kiselëv A.L. Inkubaciâ âic sel′skohozâjstvennoj pticy. Sp(b): 2015. – 160 s. (In Russ.)
4. Epimahova E.É. Somatometričeskaâ ocenka sutočnogo molodnâka pticy / E.É. Epimahova, T.S. Aleksandrova // Ptica i pticeprodukty, 2012. – № 6. – S. 27-291. (In Russ.)
5. Kapitonova, Ye.A. Sposob povysheniya produktivnosti tsyplyat-broylerov v usloviyakh promyshlennykh tekhnologiy : rekomendatsii proizvodstvu / Kapitonova Ye.A. // Vitebsk : VGAVM, 2009. – S. 19. (In Russ.)
6. Kochish, I.I. Tendentsii v mirovom ptitsevodstve / Kochish I.I., Suprunov D.A. // Veterinariya, zootekhniya i biotekhnologiya. 2017. № 1. S. 46-49. (In Russ.)
7. Линник А.А., Алексеева С.А., Кузнецов О.Ю. Эффективность прединкубационной обработки яиц стимуляторами для повышения жизнеспособности цыплят / А.А. Линник, С.А. Алексеева, О.Ю. Кузнецов// Аграрный вестник Верхневолжья, 2016. – № 4 (17). – С. 47-51. (In Russ.)
8. Limarenko, A.A. Stimulyatsiya embriogeneza kur predinkubatsionnym oroshcheniyem yaits rastvorami tsinka suktsinata / Limarenko A.A., Shcherbatova T.A., Levchenko A.V. // Trudy Kubanskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta. Seriya: Veterinarnyye nauki. – Krasnodar, 2009; № 1, ch. 2. – S. 43-45. (In Russ.)
9. Molekulyarnaya biologiya : uchebnoye posobiye / Karpenko L.YU. [i dr.]. – S.-Peterburg: SPbGAVM, 2020. (In Russ.)
10. Mikrobiologiya : uchebno-metodicheskoye posobiye / Solyanik T.V., Glaskovich M.A., Karpenko L.YU. [i dr.] // V 2-kh chastyakh. CH. 2. Spetsial'naya mikrobiologiya. – Gorki: BGSKHA, 2014. – s. 214 s. (In Russ.)
11. Okolelova T.M.; Mansurov R.SH.; Krivopishina L.V.; Moskaleva V.A.; Kiseleva Ye.V.; Grigor'yev A.V.; Novikova S.V. Povysheniye produktivnosti i sokhrannosti broylerov pri ispol'zovanii preparatov Strolitin i Butofan OR / Ptitsevodstvo, 2015. – № 2. – S. 21-24. (In Russ.)
12. Opyt korrektirovki ratsionov tsyplyat-broylerov v usloviyakh ptitsefabrik Respubliki Belarus' / Glaskovich M.A., Karpenko L.YU., Balykina A.B., Bakhta A.A. – Mezhdunarodnyy vestnik veterinarii, 2018. - № 1. – S. 33-40. (In Russ.)
13. Petrova, M.S. Effektivnost' preparatov "Butofan OR" i "Metronid 50" pri balantidioze sviney / Teoriya i praktika bor'by s parazitar. boleznyami // Vseros. nauch. - issled. in-t fundam. i priklad. parazitologii zhivotnykh i rasteniy im. K. I. Skryabina. Moskva, 2015; Vyp. 16. – S. 346-348. (In Russ.)
14. Podobed, L.I. Osobennosti kormleniya sel'skokhozyaystvennykh ptits / L.I. Podobed, I.V. Brylo, Ye.a. Kapitonova. – Minsk: IVTS «Minfina», 2023. – 339 s. (In Russ.)
15. Preparaty mikrobnogo proiskhozhdeniya i ikh vliyaniye na biologicheskiy resurs tsyplyat-broylerov : rekomendatsii proizvodstvu / Glaskovich M.A., Karpenko L.YU., Glaskovich S.A. [i dr.]. – Gorki: BGSKHA, 2017. – 92 s. (In Russ.)
16. Savostina T.V. Veterinarnaya sanitariya s osnovami zoogigiyeny: uchebnoye posobiye. Chelyabinsk, 2020. 100 s. (In Russ.)
17. Tekhnologiya proizvodstva yaits i myasa ptitsy / Glaskovich M.A. [i dr.]. – Veterinarnoye delo, 2015. - № 11. – S. 19-25. (In Russ.)
18. Usovershenstvovaniye sistemy lechebno-profilakticheskikh i diagnosticheskikh meropriyatiy v broylernom ptitsevodstve / Glaskovich A.A. [i dr.]. // Sbornik materialov I Mezhdunarodnoy nauchno-metodicheskoy konferentsii «Veterinarnaya meditsina na puti innovatsionnogo razvitiya». – Grodno: GrGAU, 2016. – S. 134-143. (In Russ.)
19. Fisinin V.I. Dinamika razvitiya mirovogo i rossiyskogo ptitsevodstva/ V.I. Fisinin // Kombikorma, 2024. – № 4. – S. 2-6. (In Russ.)
20. A feed additive based on lactobacilli with activity against campylobacter for meat

-breeding chickens parent flock / Balykina A.B., Kapitonova E.A., Nikonov I.N., Kuznetsov Y.E., Shlukov S.N. // International Transaction Journal of Engineering, Management and Applied Sciences and Technologies. – 2020. – T. 11, № 16. – C. 11A–16 E. DOI: 10.14456/ITJEMAST.2020.314.

21. Obtaining Organic Poultry Breeding Products in Prevention of Micotoxicosis / Kapitonova A., Saginbayeva M., Bayazitova K., Bayazitov T., Aubakirova A. // OnLine Journal of Biologicsl Sciences. 2021, 21 (3) : – P. 213-220. DOI: 10.3844/ojbsci.2021.213.220.

22. Results of using tripoli on zoohygienic indicators in the raising a parent herd of meat breed chickens / I. I. Kochish, E. A. Kapitonova, I. N. Nikonov, Shlukov S.N., Omarov R.S. // International Transaction Journal of Engineering, Management and Applied Sciences and Technologies. – 2020. – T. 11, № 15. – C. 11A–15 U. DOI: 10.14456/ITJEMAST.2020.309.

23. Results of hypoporosis prevention in farm birds / E. Kapitonova. I. Kochish. E. Vlasenko. M. Glaskovich. I. Nikonov // Fundamental and Applied Scientific Research in the Development of Adriculture in the Far East : Web of Conferences International Scientific Conference. – 2023. – Vol. 371/ - P. 01078. – DOI.org/10.1051/e3sconf/202337101078/.

УДК: 636.5.033
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.4.303

ОЦЕНКА ДЕЙСТВИЯ КРУПКИ ИЗ ЛАМИНАРИИ НА ПОКАЗАТЕЛИ ПРОДУКТИВНОСТИ КУР-НЕСУШЕК

Кочиш И.И. [1] – д-р с.-х. наук, проф., академик РАН, зав. каф. зоогигиены и птицеводства имени А.К. Даниловой (ORCID 0000-0002-8502-6052); **Зимин Е.Е.** [1] – асп. (ORCID 0009-0007-9244-7334); **Никонов И.Н.** [2*] – канд. биол. наук, ст. преподаватель (ORCID 0000-0001-9495-0178)

[1] ФГБОУ ВО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА имени К.И. Скрябина»
[2] ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины»

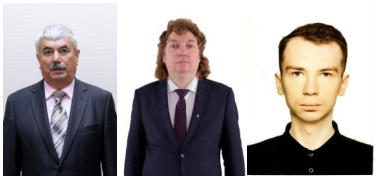
* ilnikonov@yandex.ru

Ключевые слова: ламинария, куры-несушки, продуктивность, экспрессия генов

Keywords: laminaria, laying hens, productivity, gene expression

Финансирование: *Исследование выполнено на базе ФГБОУ ВО МГАВМиБ-МВА имени К.И. Скрябина за счет гранта Российского научного фонда № 22-16-00009, https://rscf.ru/project/22-16-00009/.*

Поступила: 25.10.2024 **Принята к публикации: 02.12.2024**
Опубликована онлайн:16.12.2024



РЕФЕРАТ

Актуальной проблемой в промышленном птицеводстве является поиск кормовых добавок и технологий, способствующих реализации генетического потенциала сельскохозяйственной птицы. Одним из решений данной проблемы являются молекулярно-генетические методы исследований уровней экспрессии генов продуктивности и резистентности, позволяющие оценить влияние кормовых добавок на здоровье, продуктивность и качество продукции на молекулярном уровне. Цель представленного исследования заключалась в оценке потенциала использования крупки из Ламинарии в качестве кормового средства в рационе питания несушек промышленного кросса «Ломанн Белый». Эксперимент был проведен на базе вивария Международной лаборатории молекулярной генетики и геномики птицы ФГБОУ ВО МГАВМиБ- МВА имени К.И. Скрябина. В работе использовались зоотехнические методы исследования. В результате исследования было установлено, что интенсивность яйцекладки за весь период была выше во 2 опытной группе и составила 97,77 %, что на 2,09 % больше контроля, на 1,94 % больше третьей опытной группы и на 1,19 % больше 4 опытной группы. В группе птиц, получавших фукус пузырчатый, показатель находился на уровне 96,88 %, что на 1,2 % больше контроля и на 0,3 % больше четвертой опытной группы. Ввод 15 г/ кг ламинарии способствовал увеличению интенсивности яйцекладки на 0,9 %, по сравнению с контролем. Таким образом, в ходе проведенного исследования было оценено влияние

различных норм ввода крупки Ламинарии в качестве кормового средства. Максимальная яйценоскость 97,7 % отмечена при добавке к корму Ламинарии (5 г/кг), что выше контроля на 2,1 %. Результаты опыта являются основанием для разработки новых перспективных природных адаптогенов, нормализующих продуктивность кур-несушек промышленных кроссов и обеспечивающих получение биобезопасной продукции птицеводства.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Актуальной проблемой в промышленном птицеводстве является поиск кормовых добавок и технологий, способствующих реализации генетического потенциала сельскохозяйственной птицы. Одним из решений данной проблемы являются молекулярно-генетические методы исследований уровней экспрессии генов продуктивности и резистентности, позволяющие оценить влияние кормовых добавок на здоровье, продуктивность и качество продукции на молекулярном уровне [Кочиш и др., 2019].

Морские водоросли являются нетрадиционным кормовым средством, богатым микроэлементами в органической форме и биологически активными веществами, в т.ч., антиоксидантами. В научно-хозяйственных опытах авторами научно обоснована возможность использования ламинарии в качестве источника хрома в рационах телят, цыплят и кур [Краснощекова и др.,2014, 2015, Простокишин и др, 2014, Туаева и др., 2015, Шарвадзе и др., 2013].

В цикле работ Игнатович Л.С. отмечено положительное влияние добавки из муки Ламинарии на продуктивность несушек и качество продукции. Установлено, что введение в кормовой рацион 3% добавки сухой муки из Ламинарии, обусловливает повышение интенсивности яйцекладки кур на 13%, снижение затрат кормов на 24,1% из расчёта на 1 кг яичной массы и улучшение потребительских качеств яиц [Игнатович Л, 2008,2010, Игнатович и др. 2014]. Зоотехнический эффект от ввода Ламинарии в корма для сельскохозяйственной птицы был подтвержден и Маммаевой Т.В. [Маммаева Т., 2002, Маммаева и др., 2002].

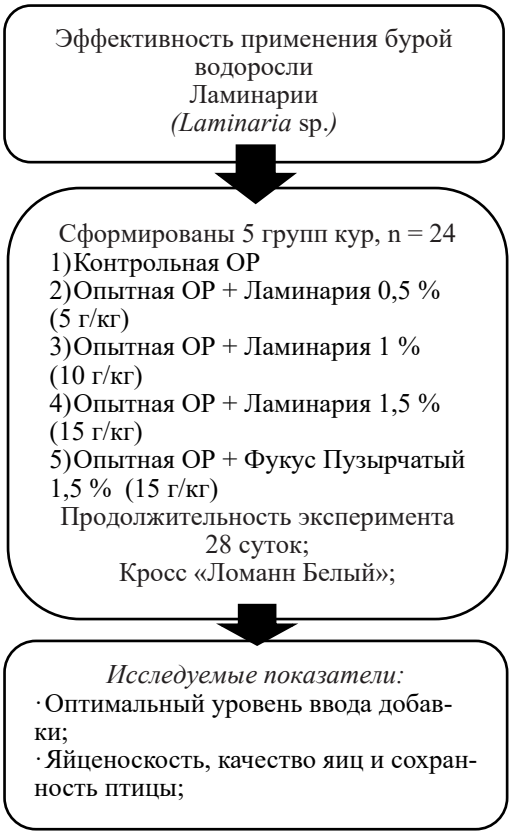
Тем не менее, остается актуальным раскрытие механизма действия кормового средства из Ламинарии на молекулярном уровне, в т.ч. связанном с механизмами продления срока продуктивного использования промышленных кроссов кур яичного направления продуктивности.

Цель представленного исследования заключалась в оценке потенциала использования крупки из Ламинарии в качестве кормового средства в рационе питания несушек промышленного кросса «Ломанн Белый». В задачи исследования входила оценка действия Ламинарии на показатели продуктивности кур и на качество яйца.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Эксперимент был проведен на базе вивария Международной лаборатории молекулярной генетики и геномики птицы ФГБОУ ВО МГАВМиБ- МВА имени К.И. Скрябина в соответствии со схемой на рисунке 1.

По принципу пар-аналогов с учетом интенсивности яйцекладки и массы яйца, куры-несушки яичного кросса «Ломанн Белый», возраст 89 недель, были разделены на 5 групп по 24 головы в каждой. Контрольная группа получала полнорационный комбикорм в соответствии с нормами кормления ВНИТИП (2019) [Руководство по кормлению, 2019], питательность комбикорма представлена в таблице 1. Три опытные группы получали с кормом добавку в виде крупки (фракция 0,2-0,8 мм) из бурой водоросли ламинарии в количестве 5-10-15 г/кг и одна группа получала добавку из бурой водоросли фукуса пузырчатого в количестве 15 г/кг. Для равномерного распределения в корме добавка была введена в рацион птицы с помощью кормосмесителя путем трехступенчатого смешивания. Продолжительность эксперимента составила 28 суток. Состав бурых водорослей представлен в таблице 2.



В течение двух научных экспериментов все группы птиц содержались в трехъярусных клеточных батареях НПО «Стимул-Инк» индивидуального содержания с индивидуальными кормушками и ниппельными поилками снабженными каплеуловителями. Плотность посадки, фронт кормления, поения, а также параметры микроклимата и освещенности были аналогичными для всех опытных и контрольных групп и соответствовали зоогигиеническим нормативам, применяемым при клеточном содержании птицы (РД-АПК 1.10.05.04-13) [Методические рекомендации, 2013]. В опыте было задействовано 672 яйца на опытную 1 группу в среднем.

В период каждого эксперимента у птицы яйценоскость учитывалась ежесуточно, интенсивность яйцекладки рассчитывалась еженедельно, массу яиц определяли еженедельно по три яйца от каждой несушки, морфологическая оценка качества яиц была выполнена в конце эксперимента по два яйца от каждой птицы. Живую массу птицы определяли еженедельно на основе индивидуального взвешивания. За период эксперимента сохранность птицы учитывалась ежесуточно в каждой группе.

Таблица 1 – Питательность комбикорма для несушек ПК-1-2

Показатель	Ед. изм.	Количество
Обменная энергия	Ккал/100 г	250,0
Сырой протеин	%	15,0
Сырой жир	%	3,40
Сырая клетчатка	%	6,24
Кальций	%	3,60
Фосфор	%	0,55
Натрий	%	0,15
Лизин	%	0,70
Метионин+Цистин	%	0,60
Витамин А	тыс. МЕ/кг	10
Витамин D3	тыс. МЕ/кг	3

Таблица 2 – Состав бурых водорослей

Показатель	Ед. изм.	Количество
Фукус Пузырчатый *(Fucus vesiculosus)*		
Сырой протеин	% СВ	8,5
Сырой жир	% СВ	1,9
Сырая клетчатка	% СВ	45,0
Сырая зола	% СВ	30,0
Кальций	Мг/100г СВ	938,0
Фосфор	Мг/100г СВ	315,0
Ламинария *(Laminaria* sp.*)*		
Сырой протеин	% СВ	9,4
Сырой жир	% СВ	1,0
Сырая клетчатка	% СВ	37,0
Сырая зола	% СВ	38,0
Кальций	Мг/100г СВ	1005,0
Фосфор	Мг/100г СВ	346,0

Статистическая обработка полученных данных включала вычисление среднего арифметического, определение стандартного отклонения, расчет достоверности по Стьюденту.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Для оценки влияния различных бурых водорослей на показатели продуктивности кур-несушек, нами был проведен эксперимент с лучшим процентом ввода фукуса пузырчатого, по результатам первого эксперимента, и новой бурой водорослью [Зимин Е., 2023]. Сохранность кур-несушек кросса «Ломанн Белый» в возрасте 89-92 недель составила 100 %.

Интенсивность яйцекладки контрольной и опытных групп представлена в таблице 3. За период эксперимента, по сравнению с первой неделей, интенсивность яйцекладки в контрольной группе снизилась на 2,97 %. Во второй и третьей опытных группах, интенсивность яйцекладки за четвертую неделю в двух группах увеличилась на 1,78 %, по сравнению с первой неделей. Отмечена наибольшая разница, за весь период скармливания ламинарии, в четвертой опытной группе, где описываемый показатель увеличился на 2,98 %. В результате скармливания фукуса пузырчатого, интенсивность яйцекладки увеличилась за вторую неделю эксперимента на 1,19 % и до конца периода скармливания оставалась в пределах 97 %.

Во всех группах средняя интенсивность яйцекладки находилась в пределах 95,68-97,77 %.

Исходя из данных Таблицы 3 интенсивность яйцекладки за весь период была выше во 2 опытной группе и составила 97,77 %, что на 2,09 % больше контроля, на 1,94 % больше третьей опытной группы и на 1,19 % больше 4 опытной группы. В группе птиц, получавших фукус пузырчатый, показатель находился на уровне 96,88 %, что на 1,2 % больше контроля и на 0,3 % больше четвертой опытной группы. Ввод 15 г/ кг ламинарии способствовал увеличению интенсивности яйцекладки на 0,9 %, по сравнению с контролем.

При скармливании экспериментальных добавок, были выявлены достоверные различия по массе яйца, результаты представлены в таблице 4.

В контрольной группе средняя масса яиц на вторую неделю эксперимента снизилась на 0,99 г. До конца периода скармливания добавки масса яиц оставалась неизменной на уровне 67 г. Скармливание 5 г/кг ламинарии не оказало влияние на массу яйца, за четыре недели наблюдались незначительные колебания в пределах 68,1-68,9 г. Фукус пузырчатый положительно повлиял на массу яйца, которая увеличилась на 1,4 г с небольшими коле-

баниями в течение последних трех недель эксперимента с достоверными различиями во вторую и четвертую недели (p≤0,05). Похожую положительную динамику по данному показателю можно отметить и в четвертой опытной группе, где масса яйца за вторую неделю достоверно увеличилась до 70,9 г (p≤0,01), за третью неделю недостоверно снизилась на 1,1 г и за последнюю неделю скармливания Ламинарии достигла 70,1 г (p≤0,05).

По данным Таблицы 4 средняя масса яиц была достоверно больше в третьей опытной группе, где разница достигла 4,5 % (p≤0,01), по сравнению с контролем. Достоверная разница получена и в четвертой опытной группе с максимальным количеством Ламинарии, где в среднем масса яиц увеличилась на 3,13 % (p≤0,05). В группе с Фукусом разница составила 1,8 %. Наименьшая разница в 0,97 %, по сравнению с контролем, отмечена во второй опытной группе.

Для оценки яичной продуктивности, нами был рассчитан комплексный показатель, характеризующий интенсивность яйцекладки и среднюю массу яиц за период эксперимента (табл. 5). Яичная масса во всех опытных группах была больше показателя контрольной группы с достоверной разницей в третьей, четвертой и пятой группах.

Таблица 3 – Интенсивность яйцекладки, % (n=24)

Возраст птицы, недель	Группа				
	(1) Контрольная	(2) Ламинария 0,5 %	(3) Ламинария 1 %	(4) Ламинария 1,5 %	(5) Фукус 1,5 %
89	97,02±1,210	96,43±1,550	95,24±1,404	95,83±1,354	95,83±1,604
90	95,24±1,647	98,81±0,823	94,64±1,442	96,43±1,550	97,02±1,210
91	96,43±1,290	97,62±1,110	96,43±1,550	95,24±1,647	97,62±1,110
92	94,05±1,907	98,21±0,985	97,02±1,210	98,81±0,823	97,02±1,484
$\bar{X}$	95,68±0,859	97,77±0,673	95,83±0,702	96,58±0,696	96,88±0,723

Таблица 4 – Масса яиц, г (n=24)

Возраст птицы, недель	Группа				
	(1) Контрольная	(2) Ламинария 0,5 %	(3) Ламинария 1 %	(4) Ламинария 1,5 %	(5) Фукус 1,5 %
89	68,50±0,753	68,10±1,057	69,88±0,943	69,26±0,703	68,88±0,731
90	67,51±0,786	68,92±0,947	71,31±0,933 **	70,90±0,789 **	69,98±0,610*
91	67,79±0,754	68,81±0,951	71,81±0,910 ***	69,81±0,842	69,05±0,585
92	67,31±0,757	68,42±1,061	71,10±0,930 **	70,09±0,838*	69,55±0,700*
$\bar{X}$	67,90±0,651	68,56±0,953	70,98±0,762 **	70,03±0,692*	69,31±0,595

*Примечание: здесь и далее выше по сравнению с контролем при *p≤0,05; **p≤0,01; *** p≤0,001.*

Таблица 5 – Яичная масса за 4 недели яйцекладки, кг

Группа	Показатель
(1) Контрольная	1,818±0,0203
(2) Ламинария 0,5 %	1,878±0,0316
(3) Ламинария 1 %	1,903±0,0204**
(4) Ламинария 1,5 %	1,893±0,0186**
(5) Фукус 1,5 %	1,879±0,0166*

Таблица 6 – Динамика живой массы птицы, г (n=24)

Возраст птицы, недель	Группа				
	Контрольная	(2) Ламинария 0,5 %	(3) Ламинария 1 %	(4) Ламинария 1,5 %	(5) Фукус 1,5 %
89	1631,9±27,15	1582,4±29,06	1630,0±26,56	1670,8±22,64	1624,9±23,28
90	1623,3±19,86	1568,8±26,55	1617,8±25,34	1649,0±22,92	1612,5±24,01
91	1621,0±19,98	1551,9±27,17	1610,9±25,67	1641,6±22,00	1592,8±23,47
92	1620,9±19,72	1567,9±27,96	1621,3±23,75	1646,5±22,37	1594,3±23,98
$\bar{X}$	**1624,3±20,20**	**1567,8±27,26**	**1620,0±24,65**	**1652,0±21,97**	**1606,1±23,11**

Наибольшая достоверная разница отмечена в третьей опытной группе, где яичная масса достигла 1,9 кг и превосходила контроль на 4,7 % ($p \leq 0,01$). Фукус пузырчатый и ламинария в количестве 15 г/кг способствовали достоверному увеличению яичной массы на 3,4 % ($p \leq 0,05$) и 4,1 % ($p \leq 0,01$). С разницей в 3,3 % яичная масса второй опытной группы была больше контрольной.

Живая масса кур в контрольной группе в течение четырех недель научного эксперимента оставалась почти неизменной в пределах 1,6 кг, как и во второй опытной группе, где живая масса была на уровне 1,5 кг. В группе с фукусом пузырчатым отмечено постепенное снижение живой массы с 1624,9 г до 1606,1 г, т.е на 30,6 г. Последовательное снижение живой массы кур также наблюдается и в группе с максимальным вводом Ламинарии, где живая масса снизилась к четвертой неделе на 24,3 г. В третьей опытной группе ко второй неделе опыта живая масса снизилась на 12,2 г и увеличилась на четвертой неделе на 11 г. Стоит отметить, что заметная разница по живой массе во второй опытной группе, в сравнении с остальными группами, связана с тем, что мы не учитывали данный показатель при составлении пар-аналогов (табл. 6).

Из представленных выше данных в таблице 6, средняя живая масса контрольной и третьей опытной группы была на уровне 1620 г. Наибольшая положительная разница в 27,7 г отмечена в группе с максимальным количеством Ламинарии. В группе с Фукусом Пузырчатым живая масса птицы за весь период опыта снизилась на 18,2 г. Минимальный ввод Ламинарии не повлиял на изучаемый показатель и за период опыта живая масса в этой группе была ниже контроля на 56,5 г.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Таким образом, в ходе проведенного исследования было оценено влияние различных норм ввода крупки Ламинарии в качестве кормового средства. Максимальная яйценоскость 97,7 % отмечена при добавке к корму Ламинарии (5 г/кг), что выше контроля на 2,1 %. По-видимому, эффект повышения яичной продуктивности у кур-несушек кросса «Ломанн Белый» проявился за счет полисахаридной фракции биологически активных ве-

ществ, содержащихся в фукусе и в ламинарии.

Полученные результаты являются основанием для разработки новых перспективных природных адаптогенов, нормализующих продуктивность кур-несушек промышленных кроссов и обеспечивающих получение биобезопасной продукции птицеводства.

EVALUATION OF THE EFFECT OF LAMINARIA GRITS ON THE PRODUCTIVITY OF LAYING HENS

Kochish I.I. [1] – Holder of an Advanced Doctorate (Doctor of Science) in Agricultural Sciences, Professor, Academician of the Russian Academy of Sciences, Head of the Department of Zoo hygiene and Poultry Farming named after A.K. Danilova (ORCID 0000-0002-8502-6052); **Zimin E.E.** [1] – postgraduate student (ORCID 0009-0007-9244-7334); **Nikonov I.N.**[2*] – Ph.D. of Biological Sciences, Senior Lecturer (ORCID 0000-0001-9495-0178).

[1] Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology named after K.I. Scriabin

[2] St. Petersburg State University of Veterinary Medicine

* ilnikonov@yandex.ru

Financing: The study was carried out at the Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biology-Master of Medical Sciences named after K.I. Skryabin using the grant of the Russian Science Foundation No. 22-16-00009, https://rscf.ru/project/22-16-00009/.

ABSTRACT

A pressing issue in industrial poultry farming is the search for feed additives and technologies that facilitate the realization of the genetic potential of agricultural poultry. One of the solutions to this problem is molecular genetic methods for studying the expression levels of productivity and resistance genes, which allow us to assess the impact of feed additives on health, productivity and product quality at the molecular level. The purpose of the presented study was to assess the potential of using Laminaria grits as a feed in the diet of industrial layers of the Lohmann White cross. The experiment was conducted at the vivarium of the International Laboratory of Molecular Genetics and Genomics of Poultry, FGBOU VO MGAVMiB-MVA named after K.I. Skryabin. Zootechnical research methods were used in the work. The study found that the egg-laying intensity for the entire period was higher in the 2nd experimental group and amounted to 97.77%, which is 2.09% more than the control, 1.94% more than the third experimental group and 1.19% more than the fourth experimental group. In the group of birds receiving bladderwrack, the indicator was at the level of 96.88%, which is 1.2% more than the control and 0.3% more than the fourth experimental group. The introduction of 15 g / kg of kelp contributed to an increase in the egg-laying intensity by 0.9%, compared to the control. Thus, in the course of the study, the effect of different rates of introducing Laminaria grits as a feed was assessed. The maximum egg production of 97.7% was noted with the addition of Laminaria to the feed (5 g / kg), which is 2.1% higher than the control. The results of the experiment form the basis for the development of new promising natural adaptogens that normalize the productivity of industrial cross-breed laying hens and ensure the production of biosafe poultry products.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1.Влияние скармливания ламидана совместно с микроэлементами на яйценоскость курнесушек / Т. А. Краснощекова, А. С. Простокишин, К. Р. Бабухадия [и др.] // Зоотехния. – 2015. – № 2. – С. 20.

2. Кочиш, И.И. Методические рекомендации по применению основ технологического кормления яичных кур, обеспечивающей высокий процент реализации из генетического потенциала продуктивности / И.И. Кочиш, П.Ф. Сурай, М.Н. Романов и др. // М.: Издательство «Сельскохозяйственные технологии». - 2019. - 70 с.

3.Использование ламидана для оптимизации хромового питания молодняка крупного рогатого скота / Е. В. Туаева, А. С. Простокишин, К. Р. Бабухадия [и др.] // Зоотехния. – 2015. – № 3. – С. 11-12.
4.Эффективность использования ламинарии японской вместе с микроэлементами в кормлении кур-несушек / Т. А. Красношекова, А. С. Простокишин, К. Р. Бабухадия [и др.] // Зоотехния. – 2014. – № 1. – С. 17-18.
5.Шарвадзе, Р. Л. Физиологические аспекты использования ламинарии в кормлении цыплят / Р. Л. Шарвадзе, А. С. Простокишин, К. Р. Бабухадия // Зоотехния. – 2013. – № 1. – С. 19.
6.Использование сапропеля и ламинарии японской в кормлении животных и птицы / А. С. Простокишин, Е. В. Туаева, В. А. Рыжков [и др.] // Зоотехния. – 2014. – № 3. – С. 21-22.
7.Игнатович, Л. Мука из ламинарии для кур-несушек / Л. Игнатович // Комбикорма. – 2009. – № 8. – С. 62.
8.Игнатович, Л. С. Применение ламинарии в кормлении кур-несушек / Л. С. Игнатович // Птицеводство. – 2010. – № 5. – С. 17-18.
9.Игнатович, Л. С. Использование ламинарии в кормлении кур-несушек в условиях Магаданской области / Л. С. Игнатович // Дальневосточный аграрный вестник. – 2008. – № 3(7). – С. 32-35.
10.Игнатович, Л. Мука из ламинарии для кур-несушек / Л. Игнатович, Л. Корж // Животноводство России. – 2014. – № S2. – С. 13.
11.Маммаева, Т. В. Влияние кормовой добавки из ламинарии на репродуктивные функции кур / Т. В. Маммаева, А. И. Окара, Н. П. Старикова // Зоотехния. – 2002. – № 12. – С. 15-17.
12.Маммаева, Т. В. Эколого-биологическое обоснование использования ламинарии как кормовой добавки в рационах кур: специальность 03.00.16: диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук / Маммаева Татьяна Валентиновна. – Хабаровск, 2002. – 106 с.
13. Руководство по кормлению сельскохозяйственной птицы / И. А. Егоров, В. А. Манукян, Т. Н. Ленкова и др. // ФГБНУ Федеральный научный центр "Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт птицеводства" Российской академии наук. – Москва: Лика. - 2019. – 226 с.
14. Методические рекомендации по технологическому проектированию птицеводческих предприятий: РД-АПК 1.10.05.04-13 / П. Н. Виноградов, С. С. Шевченко, М. Ф. Мальгин и др. // Москва: Российский научно-исследовательский институт информации и технико-экономических исследований по инженерно-техническому обеспечению агропромышленного комплекса. - 2013. – 211 с.
15.Зимин, Е. Е. Молекулярно-генетическая оценка влияния фукуса пузырчатого на показатели яичной продуктивности кур-несушек / Е. Е. Зимин // Ветеринария, зоотехния и биотехнология. – 2023. – № 7. – С. 122-132. – DOI 10.36871/vet.zoo.bio.202307015.

REFERENCES

1. The effect of feeding lamidane together with microelements on egg production of laying hens / T. A. Krasnoshchekova, A. S. Prostokishin, K. R. Babukhadiya [et al.] // Zootechnics. - 2015. - No. 2. - P. 20.
2. Kochish, I. I. Methodical recommendations for the application of the basics of technological feeding of egg-laying hens, ensuring a high percentage of realization of the genetic potential of productivity / I. I. Kochish, P. F. Surai, M. N. Romanov et al. // M.: Publishing house "Agricultural technologies". - 2019. - 70 p.
3. Using Lamidan to Optimize Chromium Nutrition in Young Cattle / E. V. Tuaeva, A. S. Prostokishin, K. R. Babukhadiya [et al.] // Zootechnics. - 2015. - No. 3. - P. 11-12.
4.Efficiency of Using Japanese Laminaria Together with Microelements in Feeding Laying Hens / T. A. Krasnoshchekova, A. S. Prostokishin, K. R. Babukhadiya [et al.] // Zootechnics. - 2014. - No. 1. - P. 17-18.

5. Sharvadze, R. L. Physiological aspects of using kelp in feeding chickens / R. L. Sharvadze, A. S. Prostokishin, K. R. Babukhadia // Zootechnics. - 2013. - No. 1. - P. 19.
6.Using sapropel and Japanese kelp in feeding animals and poultry / A. S. Prostokishin, E. V. Tuaeva, V. A. Ryzhkov [et al.] // Zootechnics. - 2014. - No. 3. - P. 21-22.
7. Ignatovich, L. Flour from kelp for laying hens / L. Ignatovich // Combined feed. – 2009. – № 8. – P. 62.
8. Ignatovich, L. S. Use of kelp in feeding laying hens / L. S. Ignatovich // Poultry farming. – 2010. – № 5. – P. 17-18.
9.Ignatovich, L. S. Use of kelp in feeding laying hens in the conditions of the Magadan region / L. S. Ignatovich // Far Eastern Agrarian Bulletin. – 2008. – № 3(7). – P. 32-35.
10.Ignatovich, L. Flour from kelp for laying hens / L. Ignatovich, L. Korzh // Animal Husbandry of Russia. – 2014. – № S2. – P. 13.
11.Mammaeva, T. V. Effect of Laminaria Feed Supplement on Reproductive Functions of Chickens / T. V. Mammaeva, A. I. Okara, N. P. Starikova // Zootechnics. – 2002. – № 12. – P. 15-17.
12.Mammaeva, T. V. Ecological and Biological Substantiation of Using Laminaria as a Feed Supplement in Chicken Diets: specialty 03.00.16: dissertation for the degree of candidate of biological sciences / Tatyana Valentinovna Mammaeva. – Khabarovsk, 2002. – 106 p.
13.. Guide to feeding agricultural poultry / I. A. Egorov, V. A. Manukyan, T. N. Lenkova, et al. // Federal State Budgetary Scientific Institution "All-Russian Research and Technological Institute of Poultry Farming" of the Russian Academy of Sciences. - Moscow: Lika. - 2019. - 226 p.
14.Methodical recommendations for the technological design of poultry enterprises: RD-APK 1.10.05.04-13 / P. N. Vinogradov, S. S. Shevchenko, M. F. Malgin, et al. // Moscow: Russian Research Institute of Information and Technical and Economic Research on Engineering and Technical Support of the Agro-Industrial Complex. - 2013. - 211 p.
15.Zimin, E. E. Molecular genetic assessment of the influence of Fucus vesiculosus on egg productivity indicators of laying hens / E. E. Zimin // Veterinary science, animal husbandry and biotechnology. - 2023. - No. 7. - P. 122-132. - DOI 10.36871/vet.zoo.bio.202307015.

УДК: 636.5 636.085.16
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.4.312

ИЗУЧЕНИЕ ДЕЙСТВИЯ КРУПКИ ИЗ ЛАМИНАРИИ НА ЭКСПРЕССИЮ ГЕНОВ ПРОДУКТИВНОСТИ В ОРГАНИЗМЕ КУР-НЕСУШЕК

Кочиш И.И. [1] – д-р с.-х. наук, проф., академик РАН, зав. каф. зоогигиены и птицеводства имени А.К. Даниловой (ORCID 0000-0002-8502-6052); **Зимин Е.Е.** [1] – асп. (ORCID 0009-0007-9244-7334); **Никонов И.Н.** [2*] – канд. биол. наук, ст. преподаватель (ORCID 0000-0001-9495-0178)

[1] ФГБОУ ВО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА имени К.И. Скрябина»
[2] ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины»

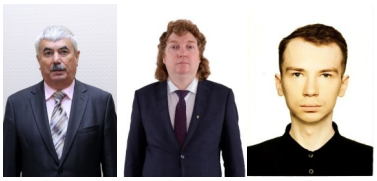
* ilnikonov@yandex.ru

Ключевые слова: ламинария, куры-несушки, продуктивность, экспрессия генов

Keywords: laminaria, laying hens, productivity, gene expression

Финансирование: *Исследование выполнено на базе ФГБОУ ВО МГАВМиБ-МВА имени К.И. Скрябина за счет гранта Российского научного фонда № 22-16-00009, https://rscf.ru/project/22-16-00009/.*

Поступила: 25.10.2024 **Принята к публикации: 02.12.2024**
Опубликована онлайн:16.12.2024



РЕФЕРАТ

В рационах питания животных, в связи с отказом от антибиотиков и стимуляторов роста, необходимы альтернативные и безопасные добавки для улучшения их здоровья и благополучия. В связи с этим, актуальное значение приобретают биологически активные компоненты растительного происхождения, такие как экстракты и вытяжки из трав и древесины, сухая биомасса растений, в т.ч. водорослей. По мнению многих авторов, морские водоросли могут применяться в птицеводстве в составе компонентов комбикормов и кормовых добавок как для улучшения иммунного статуса, так и для нормализации микрофлоры в пищеварительном тракте. Рекомендуемые дозировки водорослей, применяемые для улучшения качества получаемой продукции, составляют от 1% до 5 % на сухой вес. Цель представленного исследования заключалась в изучении действия крупки из ламинарии на экспрессию генов организма кур-несушек кросса «Ломанн Белый». В работе использовались зоотехнические методы и методы молекулярной биологии. В ходе проведенного исследования было оценено действие крупки из ламинарии на экспрессию генов продуктивности кур-несушек. Ввод ламинарии 5 г/кг в рацион кур-несушек старшего возраста, способствовал положительной активации генов продуктивности (OCX-32, OCX-36, CALB1) на 30-60 %. Полученные результаты являются основой для разработки новых биотехнологий, способствующих продлению срока

продуктивного использования кур-несушек промышленных кроссов благодаря улучшению показателей яйценоскости. С целью повышения показателей яичной продуктивности, а также увеличения экспрессии генов продуктивности и резистентности яичных кур, рекомендуем включать в рационы кур-несушек биологически активную добавку из ламинарии из расчета 5 г/кг корма.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

В рационах питания животных, в связи с отказом от антибиотиков и стимуляторов роста, необходимы альтернативные и безопасные добавки для улучшения их здоровья и благополучия. В связи с этим, актуальное значение приобретают биологически активные компоненты растительного происхождения, такие как экстракты и вытяжки из трав и древесины, сухая биомасса растений, в т.ч. водоросдей. По мнению многих авторов, морские водоросли могут применяться в птицеводстве в составе компонентов комбикормов и кормовых добавок как для улучшения иммунного статуса, так и для нормализации микрофлоры в пищеварительном тракте. Рекомендуемые дозировки водорослей, применяемые для улучшения качества получаемой продукции, составляют от 1% до 5 % на сухой вес [1, 4,5, 8].

Наумова Л.И. [9, 10] в опытах по кормлению на курах-несушках установила положительное влияние добавки из муки бурых водорослей *Laminaria* 2,5 % в составе комбикорма на зоотехнические показатели (яйценоскость, интенсивность яйцекладки). В опытной группе интенсивность яйцекладки увеличилась на 4,8 %. По данным автора, соотношение полиненасыщенных жирных кислот омега-6: омега-3 увеличилось в среднем на 65,4 % на фоне снижения концентрации омега-6.

В настоящее время изучается действие бурых водорослей в качестве препаратов для профилактики ряда зооантропонозных инфекций. В опытах Sweeney T. et al. на фоне инфекции трехсуточных цыплят кампилобактером [5], установил, что экстракты ламинарина или ламинарина/ фукоидана из бурой водоросли *Laminaria digitata* повысили поедаемость кормов, сопровождающуюся улучшением показателя конверсии, увеличили экспрессию ключевых генов резистентности, участвующих в иммунном ответе (IL-6, IL-8 и т.д.). Ввод бурых водорослей обладал пребиотическим эффектом, приводя к увеличению высоты ворсинок в тонком кишечнике, так и скорости роста цыплят.

Наиболее исследованной, в отношении синтеза биологически активных веществ, является водоросль аскофиллум из семейства Фукусовые, входящая в состав ряда кормовых добавок отечественного и зарубежного производства, в частности, препарата «Tasco». Данный препарат даже при низких уровнях включения, проявляет высокую пребиотическую активность в отношении полезной микрофлоры кишечника, в 5,5 раз превышающую действие инулина. Добавка «Tasco» из бурой водоросли улучшает работу желудочно-кишечного тракта, повышает переваримость рациона за счет изменения микробиома [2].

Цель представленного исследования заключалась в изучении действия крупки из ламинарии на экспрессию генов организма кур-несушек кросса «Ломанн Белый».

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Эксперимент был проведен на базе вивария Международной лаборатории молекулярной генетики и геномики птицы ФГБОУ ВО МГАВМиБ- МВА имени К.И. Скрябина в соответствии со схемой в Таблице 1.

В ходе проведения опыта птицу яичного кросса «Ломанн Белый», 89 недель, разделили на 5 групп (24 головы в каждой) по принципу пар-аналогов. При этом учитывали интенсивность яйцекладки и массу яйца. Контрольная группа получала полнорационный комбикорм в соответствии с нормами кормления ВНИТИП (2019) [11].

После окончания научного эксперимента был проведен убой 5 особей из

каждой группы для отбора образцов тканей матки и слепых отростков для дальнейших молекулярно-генетических исследований.

Полимеразная цепная реакция в реальном времени была выполнена в Международной лаборатории молекулярной генетики и геномики птицы МГАВМиБ – МВА имени К.И. Скрябина. Тотальную РНК из образцов выделяли вручную при помощи набора RNeasy Mini Kit (QIAGEN, Германия) согласно протоколу. Количественная оценка выделенной РНК была выполнена на флуориметре Qubit 3.0 (Thermo Fisher Scientific, США) с помощью набора Qubit RNA BR (Broad Range) Assay Kit (Thermo Fisher Scientific, США). Синтез кДНК из матрицы РНК проводили с помощью набора БиоМастер RNAscribe RT Plus (5×) (Биолабмикс, Россия) с использованием термостата «Гном» (ДНК-Технология, Россия). Полимеразная цепная реакция в реальном времени была выполнена на амплификаторе LightCycler 96 (Roche, Швейцария) с использованием 96-луночных планшетов и с использованием мастер-микса БиоМастер HS-qPCR SYBR Blue (2×) (Биолабмикс, Россия). Синтез олигонуклеотидов был выполнен в Российской биотехнологической компании «Евроген».

Таблица 1– Схема эксперимента на курах-несушках

п/п	Группы	Описание
1	Контрольная	Основной рацион в соответствии с рекомендациями для кросса(ОР)
2	1 Опытная	ОР + крупка из ламинарии 0,5 % (5 г/кг)
3	2 Опытная	ОР + + крупка из ламинарии 1 % (10 г/кг)
4	3 Опытная	ОР + + крупка из ламинарии 1,5 % (15 г/кг)
5	4 Опытная	ОР + фукусовая крупка 1,5 % (15 г/кг)

Температурный профиль реакции амплификации состоял из: 95°C в течение 10 минут; 40-45 циклов при 95°C в течение 15 секунд, включая отжиг праймеров по индивидуальной температуре в течение 30 секунд и 72°C в течение 30 секунд. Каждый образец исследовался в трех повторах на ПЦР планшете. Количество кДНК на каждую ПЦР реакцию составило 2 мкл при концентрации праймеров равной 0,32 мкМ. Нуклеотидная последовательность праймеров представлена в таблице 6. Расчёт экспрессии генов интереса относительно контрольного гена (ген домашнего хозяйства) был выполнен вручную с помощью Microsoft Office Excel с использованием метода 2^-ΔΔCt (Livak K.J., Shmitgen T.D., 2001) [3].

Статистическая обработка полученных данных включала вычисление среднего арифметического, определение стандартного отклонения, расчет достоверности по Стьюденту.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

В таблице 2 представлены результаты экспрессии генов, описывающие соотношение значений генов интереса по отношению к контролю.

По данным таблицы 2, следует, что максимальный ввод в рацион ламинарии оказал недостоверное негативное влияние на экспрессию двух генов интереса. Также, высокий (1,5%) ввод крупки из ламинарии в комбикорм для несушек 3 фазы привел к снижению экспрессии гена OCX -32, отвечающего за формирование белка матрикса яичной скорлупы. Важно отметить, что ввод такого же количества фукуса пузырчатого не оказал аналогичного влияния на исследуемые гены.

Исходя из данных, представленных в Таблице 2, ввод в комбикорм ламинарии в минимальной дозировке способствовал повышению экспрессии генов, отвечающих за формирование скорлупы OCX-36, OCX-32, CALB1 на 40, 30 и 60 % соответственно. При этом уровень белка OC-116 был недостоверно ниже контроля на 30 %. Противоположный результат отмечен с увеличением количества Ламинарии до 10 г/кг.

Таблица 2 – Результаты экспрессии по генам продуктивности (n=5)

Ген	Группа	Референсный ген, Ct	Ген интереса, Ct	ΔCt	ΔΔ Ct	2^-ΔΔCt
1	2	3	4	5	6	7
OCX-36 Ген белка матрикса яичной скорлупы Овокаликсин-36, содержится во всех слоях скорлупы куриного яйца	**(1)**	25,04±0,687	21,87±0,653	-3,17	0	***1***
	(2)	24,19±0,146	20,55±0,779	-3,64	-0,47	***1,4***
	(3)	24,01±0,181	20,76±0,715	-3,26	-0,09	***1,1***
	(4)	23,94±0,278	22,28±1,466	-1,66	1,51	***0,4***
	(5)	24,02±0,067	20,91±0,594	-3,11	0,06	***1,0***
OCX-32 Ген белка матрикса яичной скорлупы Овокаликсин-32, обнаружен в наружных слоях яичной скорлупы и в кутикуле	**(1)**	25,04±0,687	13,99±0,822	-11,06	0	***1***
	(2)	24,19±0,146	12,71±0,327	-11,48	-0,42	***1,3***
	(3)	24,01±0,181	13,06±0,226	-10,96	0,10	***0,9***
	(4)	23,94±0,278	13,10±0,312	-10,83	0,22	***0,9***
	(5)	24,02±0,067	13,01±0,099	-11,01	0,04	***1,0***
OC-116 Ген белка матрикса яичной скорлупы Овоклейдин, участвует в минерализации скорлупы и костей	**(1)**	25,04±0,687	13,41±1,840	-11,63	0	***1***
	(2)	24,19±0,146	12,99±1,343	-11,20	0,43	***0,7***
	(3)	24,01±0,181	11,19±0,325	-12,82	-1,19	***2,3***
	(4)	23,94±0,278	11,72±0,727	-12,22	-0,58	***1,5***
	(5)	24,02±0,067	11,40±0,252	-12,62	-0,99	***2,0***
CALB1 Ген кодирует белок Кальбиндин-1, который связывается с ионом Ca^{2+} и отвечает за его перенос	**(1)**	25,04±0,687	23,34±0,537	-1,71	0	***1***
	(2)	24,19±0,146	21,79±1,164	-2,41	-0,70	***1,6***
	(3)	24,01±0,181	23,16±1,041	-0,85	0,86	***0,6***
	(4)	23,94±0,278	23,15±1,370	-0,79	0,92	***0,5***
	(5)	24,02±0,067	22,72±0,997	-1,30	0,41	***0,8***

Экспрессия гена овоклейдина-116 увеличилась на 130 %, незначительно снизилась экспрессия гена CALB1 на 40 %, а по двум другим генам белка матрикса яичной скорлупы нами отмечается разница в 10 %. Увеличение количества ламинарии до 15 г/кг оказало негативное влияние на два представленных гена интереса, экспрессия которых недостоверно снизилась на 50 и 60 %. Однако, ввод такого же количества фукуса пузырчатого, не оказал никакого влияния на выработку белков овокаликсина-36 и овокаликсина-32, способствовал увеличению экспрес-

сии ОС-116 на 100 % и недостоверному снижению выработки белков гена кальбиндина-1 на 20 %.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Таким образом, в ходе проведенного исследования было оценено действие крупки из ламинарии на экспрессию генов продуктивности кур-несушек. Ввод ламинарии 5 г/кг в рацион кур-несушек старшего возраста, способствовал положительной активации генов продуктивности (OCX-32, OCX-36, CALB1) на 30-60 %.

Полученные результаты являются основой для разработки новых биотехнологий, способствующих продлению срока продуктивного использования кур-несушек промышленных кроссов благодаря улучшению показателей яйценоскости.

С целью повышения показателей яичной продуктивности, а также увеличения экспрессии генов продуктивности и резистентности яичных кур, рекомендуем включать в рационы кур-несушек биологически активную добавку из ламинарии из расчета 5 г/кг корма.

STUDY OF THE EFFECT OF LAMINARIA CRUSH ON THE EXPRESSION OF PRODUCTIVITY GENES IN THE BODY OF LAYING HENS

Kochish I.I. [1] – Holder of an Advanced Doctorate (Doctor of Science) in Agricultural Sciences, Professor, Academician of the Russian Academy of Sciences, Head of the Department of Zoo hygiene and Poultry Farming named after A.K. Danilova (ORCID 0000-0002-8502-6052); **Zimin E.E.** [1] – postgraduate student (ORCID 0009-0007-9244-7334); **Nikonov I.N.**[2*] – Ph.D. of Biological Sciences, Senior Lecturer (ORCID 0000-0001-9495-0178).

[1] Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology named after K.I. Scriabin

[2] St. Petersburg State University of Veterinary Medicine

* ilnikonov@yandex.ru

Financing: The study was carried out at the Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biology-Master of Medical Sciences named after K.I. Skryabin using the grant of the Russian Science Foundation No. 22-16-00009, https://rscf.ru/project/22-16-00009/.

ABSTRACT

In animal diets, due to the rejection of antibiotics and growth stimulants, alternative and safe additives are needed to improve their health and well-being. In this regard, biologically active components of plant origin, such as extracts and infusions from herbs and wood, dry plant biomass, including algae, are becoming relevant. According to many authors, seaweed can be used in poultry farming as part of feed components and feed additives both to improve the immune status and to normalize the microflora in the digestive tract. The recommended dosages of algae used to improve the quality of the resulting products range from 1% to 5% of dry weight. The purpose of the presented study was to study the effect of kelp grits on the expression of genes in the body of laying hens of the Lohmann White cross. The work used zootechnical methods and molecular biology methods. During the study, the effect of kelp grits on the expression of productivity genes in laying hens was assessed. The introduction of kelp at a rate of 5 g / kg into the diet of older laying hens contributed to the positive activation of productivity genes (OCX-32, OCX-36, CALB1) by 30-60%. The obtained results are the basis for the development of new biotechnologies that help extend the period of productive use of industrial cross-breed laying hens by improving egg production indicators. In order to increase egg production indicators, as well as to increase the expression of productivity and resistance genes of egg-laying hens, we recommend including a biologically active additive of kelp in the diets of laying hens at a rate of 5 g / kg of feed.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1.Abudabos, A.M. Nutritional value of green seaweed (ulva lactuca) for broilers / A.M. Abudabos, A. Okab, R.S. Aljumaah et al. // Italian Journal of Animal Science. - 2016. – 12(28). – P. 177-181.

2.Evans, F.D. Seaweeds for animal production use / F.D. Evans, A.T. Critchley // Journal of Applied Phycology. - 2014. – P. 891-899.

3.Livak, K.J. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method / K.J. Livak, T.D. Schmittgen // Methods. - 2001. - 25(4). - P. 402-408.

4.Wang, S.B. Enteromorpha prolifera supplemental level: effects on laying performance, egg quality, immune function and microflora in feces of laying hens / S.B. Wang, Y.H. Jia, L.H. Wang et al. // Chinese Journal of Animal Nutritional. - 2013. – 25 (6). – P. 1346-1352.

5.Wang, S.B. Enteromorpha prolifera: effects on performance, carcass quality and small intestinal digestive enzyme activities of broilers / S.B. Wang, X.P. Shi, C.F. Zhou et al. // Chinese Journal of Animal Nutritional. - 2013. – 25(6). – P. 1346-1352.

6.Баркова, О.Ю. Обзор генов, улучшающих яичную продуктивность несушек // Птицеводство. - 2018. - №8. - С. 2-5.

7.Кочиш, И.И. Методические рекомендации по применению антимикробной кормовой добавки для профилактики стрессов у промышленных кроссов кур-несушек / И.И. Кочиш, М.Н. Романов, И.Н. Никонов и др. // М.: Издательство «Сельскохозяйственные технологии». - 2021. - 46 с.

8.Кочиш, И.И. Морские водоросли: потенциал использования в рационах сельскохозяйственных животных (обзор) / И.И. Кочиш, Е.Е. Зимин, И.Н. Никонов и др. // Сельскохозяйственная биология. – 2023. – Т.58, №6. – С. 1006-1020.

9.Наумова, Л.И. Влияние нетрадиционной кормовой добавки на продуктивные качества кур-несушек / Л.И. Наумова, А.А. Лукашина // Вестник Дальневосточного отделения Российской академии наук. - 2020. - №4. – 5 с.

10.Наумова, Л.И. Кормовые добавки наземного и морского генеза в рационах несушек / Л.И. Наумова // Птицеводство. – 2017. - №12. – С. 20-22.

11.Руководство по кормлению сельскохозяйственной птицы / И. А. Егоров, В. А. Манукян, Т. Н. Ленкова и др. // ФГБНУ Федеральный научный центр "Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт птицеводства" Российской академии наук. – Москва: Лика. - 2019. – 226 с.

REFERENCES

1. Abudabos, A.M. Nutritional value of green seaweed (ulva lactuca) for broilers / A.M. Abudabos, A. Okab, R.S. Aljumaah et al. // Italian Journal of Animal Science. - 2016. – 12(28). – P. 177-181.

2. Evans, F.D. Seaweeds for animal production use / F.D. Evans, A.T. Critchley // Journal of Applied Phycology. - 2014. – P. 891-899.

3. Livak, K.J. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method / K.J. Livak, T.D. Schmittgen // Methods. - 2001. - 25(4). - P. 402-408.

4. Wang, S.B. Enteromorpha prolifera supplemental level: effects on laying performance, egg quality, immune function and microflora in feces of laying hens / S.B. Wang, Y.H. Jia, L.H. Wang et al. // Chinese Journal of Animal Nutritional. - 2013. – 25 (6). – P. 1346-1352.

5. Wang, S.B. Enteromorpha prolifera: effects on performance, carcass quality and small intestinal digestive enzyme activities of broilers / S.B. Wang, X.P. Shi, C.F. Zhou et al. // Chinese Journal of Animal Nutritional. - 2013. – 25(6). – P. 1346-1352.

6. Barkova, O.Yu. Review of genes improving egg productivity of laying hens // Poultry farming. - 2018. - No. 8. - P. 2-5.

7. Kochish, I.I. Methodical recommendations for the use of an antimicrobial feed additive for the prevention of stress in industrial crosses of laying hens / I.I. Kochish, M.N. Romanov, I.N. Nikonov, et al. // M.:

Agricultural Technologies Publishing House. - 2021. - 46 p.
8. Kochish, I.I. Seaweed: Potential use in the diets of farm animals (review) / I.I. Kochish, E.E. Zimin, I.N. Nikonov et al. // Agricultural Biology. - 2023. - Vol. 58, No. 6. - P. 1006- 1020.
9. Naumova, L.I. The influence of non-traditional feed additive on the productive qualities of laying hens / L.I. Naumova, A.A. Lukashin // Bulletin of the Far Eastern Branch of the Russian Academy of Sciences. - 2020. - No. 4. - 5 p.
10. Naumova, L.I. Feed additives of terrestrial and marine genesis in the diets of laying hens / L.I. Naumova // Poultry farming. - 2017. - No. 12. - P. 20-22.
11. Guide to feeding agricultural poultry / I.A. Egorov, V.A. Manukyan, T. N. Lenkova, et al. // Federal State Budgetary Scientific Institution Federal Scientific Center "All-Russian Research and Technological Institute of Poultry Farming" of the Russian Academy of Sciences. - Moscow: Lika. - 2019. - 226 p.

УДК: 593.17: [599.6/.73]
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.4.319

СОСТАВ ЭКОФАУНЫ ИНФУЗОРИЙ ДИКИХ КОПЫТНЫХ ЖИВОТНЫХ ЯКУТИИ

Слепцов Е.С. [1*] – д-р ветеринар. наук, проф., гл. науч. сотр. лаборатории оленеводства и традиционных отраслей (ORCID 0000-0002-7478-9011); **Алферов И.В.** [1] – канд. с.-х. наук, мл. науч. сотр. лаборатории селекции и разведения лошадей (ORCID 0000-0002-9795-5238); **Гаврильева Л.Ю.** [1] – канд. ветеринар. наук, ст. науч. сотр. лаборатории паразитологии; **Винокуров И.Е.** – канд. ветеринар. наук, ст. науч. сотр. лаборатории селекции и разведения лошадей, **Григорьева Н.Н.** [2] – канд. биол. наук, доц. каф. физиологии сельскохозяйственных животных и экологии

[*]evgeniycemenovic@mail.ru

[1] ФГБУН ФИЦ «Якутский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук» – Якутский научно-исследовательский институт сельского хозяйства имени М.Г. Сафронова
[2] ФГБОУ ВО «Арктический государственный агротехнологический университет»

Ключевые слова: *Эндобионтные инфузории, желудочно-кишечный тракт, копытные животные, экосистема микрофлоры, микробиота, ферментация пищи, животноводство.*

Key words: *Endobiont ciliates, gastrointestinal tract, ungulates, microflora ecosystem, microbiota, food fermentation, animal husbandry.*

Финансирование: *Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 22-16-20013, https://rscf.ru/project/22-16-20013/ с софинансированием АНО «Якутский научный фонд».*

Поступила: 25.10.2024 **Принята к публикации: 02.12.2024**
Опубликована онлайн:16.12.2024

РЕФЕРАТ

Статья посвящена исследованию эндобионтных инфузорий, обитающих в желудочно-кишечном тракте различных видов копытных животных, с акцентом на их виды, разнообразие и зависимость от рациона и физиологических особенностей. В исследовании подробно рассмотрены данные о микрофлоре рубца у лося, преджелудков у диких северных оленей, изюбря и косули. У лося (Alces alces), были выявлены четыре вида инфузорий, относящихся к трем родам: *Entodinium*, *Epidinium* и *Diplodinium*. Среди них: *Entodinium exiguum*, *Epidinium ecaudatum ecaudatum*, *Epidinium ecaudatum cattaneoni*, и *Metadinium minorum*. Исследования эндобионтных инфузорий у дикого северного оленя, обитающего в Якутии, показали наличие 14 видов инфузорий, принадлежащих к шести родам: *Entodinium*, *Diplodinium*, *Eudiplodinium*, *Ostracodinium*, *Epidinium*, *Dasitricha*. Из этих видов шесть оказались общими для всех исследованных популяций и были классифицированы по четырем родам: *Entodinium*, *Diplodinium*, *Eudiplodinium* и *Epidinium*. Эти данные свидетельствует о разнообразии микрофлоры у северных оленей, зависящем от их экосистемы и рациона. У изюбря было установлено присутствие пяти видов инфузорий,

относящихся к трем родам: *Entodinium*, *Epidinium* и *Eudiplodinium*. Среди них выделяется вид *Entodinium anteronucleatum*, который оказался специфичным для изюбря, что делает его уникальным в контексте биоразнообразия микроорганизмов, обитающих в преджелудках парнокопытных животных. Что касается косули (*Capreolus capreolus pygargus*), то в её преджелудках были выявлены два вида инфузорий: *Entodinium dubardi* и *Entodinium exiguum*, оба принадлежащие роду *Entodinium*. Результаты исследования подчеркивают важность питания и физиологических особенностей видов для формирования микрофлоры желудочно-кишечного тракта. Также обсуждается перспективность использования эндобионтных инфузорий для пересадки другим животных с целью профилактики заболеваний и повышения продуктивности.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Пищеварительные процессы у диких жвачных животных играют ключевую роль в их использовании в животноводстве, особенно в условиях Якутии. Эта региональная специфика подчеркивает важность взаимосвязи между микробной фауной и рационом этих животных. Эти взаимодействия значительно влияют на здоровье и продуктивность жвачных, поскольку известно, что состав микрофауны, особенно протозойной, напрямую зависит от питания [1]. Микробная симбиотическая фауна является неотъемлемой частью пищеварительного тракта жвачных животных. Исследования показывают, что различные виды микроорганизмов, обитающих в рубцах, играют жизненно важную роль в переваривании клетчатки и усвоении питательных веществ. Это знание становится ключевым для оптимизации кормления и улучшения условий содержания домашних жвачных.

Важно отметить, что состав микрофауны может варьироваться в зависимости от рациона. Разнообразие корма, а также его доступность в разные сезоны существенно влияют на симбиотические отношения между животным и микроорганизмами. Следовательно, понимание этой динамики является основополагающим для повышения продуктивности животных. Фауна инфузорий-эндобионтов, живущих в рубцах крупного рогатого скота и других домашних жвачных животных Якутии, была предметом множества исследований [2,3]. Однако, несмотря на значительный интерес к этим симбиотическим микроорганизмам у одомашненных видов, исследования эндобионтных инфузорий диких жвачных животных остаются недостаточно развитыми. Это открывает новые горизонты для научных изысканий, поскольку уникальные особенности пищеварительных процессов диких жвачных могут существенно отличаться от таковых у домашних видов.

Рационы диких жвачных животных характеризуются разнообразием и изменчивостью, что зависит от времени года. Например, в летний период некоторые представители диких жвачных питаются ветками хвойных и лиственных деревьев, кустарниками, разнотравьем, хвощами, лишайниками и грибами. В этот сезон наличие разнообразного корма способствует активному росту и восстановлению организма животных.

С другой стороны, зимний период представляет собой серьезное испытание для этих животных. Рацион значительно сокращается, и животные вынуждены адаптироваться к неблагоприятным условиям. Некоторые из них предпочитают обитать в поймах рек с густыми кустарниками и посещать засохшие травяные склоны и солонцы, где еще можно найти остатки растительности. Вместе с тем, эти сезонные изменения требуют от диких жвачных максимальной адаптации и эффективного использования ограниченных ресурсов корма.

Таким образом, актуальность изучения влияния микробной фауны на пищеварительные процессы и адаптацию к сезонным изменениям подчеркивает необходимость дальнейших исследований в этой области. Понимание этих аспектов поможет оптимизировать методы кормления и содержания домашних жвачных

животных, что будет способствовать повышению их продуктивности и устойчивости к внешним условиям.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Сбор образцов проводился методом забора проб содержимого всех отделов желудка жвачных и толстого отдела кишечника у моногастричных животных. Пробы помещались в стерилизованные емкости объёмом 10 мл с 10%-ным раствором формалина.

При отборе средней пробы содержимого преджелудков и кишечника мы стремились сохранить истинную картину исследуемого материала в целом. Для получения репрезентативной средней пробы мы брали всё содержимое пищеварительного органа, тщательно перемешивали его и только затем отбирали среднюю часть. Такой принцип был использован при отборе проб у диких животных, убитых в ходе планового отстрела.

Определение видового состава симбиофауны проводилось с применением индекса Чекановского-Сьеренсена на фиксированном материале с использованием специальных определителей: Догеля В. А. (1929), Корниловой О. А. (2003, 2010) [4-7]. Для изучения морфологии инфузорий применялись методы окрашивания метиловым зелёным и раствором Люголя.

Измерения инфузорий проводились на микроскопе с окулярным микрометром. Морфометрию выполняли в случайных выборках не менее 30 экземпляров каждого вида. Численность инфузорий определялась методом «калиброванной капли» по методике Корниловой О. А. Сравнение видового состава эндобионтных инфузорий проводилось по коэффициенту сходства Жаккара-Малышева (Kj-m) и индексу общности фауны Чекановского-Сьеренсена (Ics).

Статистический анализ полученных данных осуществлялся в программе "Microsoft Excel" методом хи-квадрат.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Эндобионтные инфузории у лося

В ходе исследования микрофлоры рубца лося было выявлено значительное влияние сезонных изменений рациона на состав эндобионтных инфузорий. В зимний период было установлено наличие четырех видов инфузорий, относящихся к трем родам: **Entodinium**, **Epidinium** и **Diplodinium**. Конкретно, были обнаружены следующие виды: **Entodinium exiguum**, **Epidinium ecaudatum ecaudatum**, **Epidinium ecaudatum cattaneoni**, и **Metadinium minorum**. Этот состав микрофлоры можно объяснить особенностями зимнего рациона лося, который в основном состоит из почек, веток кустарников и древесных растений, характеризующихся наличием антимифотоксичных веществ. Эти вещества, скорее всего, подавляют активность инфузорий, особенно в условиях низких температур и ограниченного доступа к питательным ресурсам.

Согласно данным Аргунова А.В. (2019), доля веточных кормов в рационе лося зимой составляет 99,2%, в то время как травянистые растения составляют лишь 0,7% [9]. Рацион, состоящий преимущественно из растительных кормов с высоким содержанием лигнина и других сложно перевариваемых веществ, приводит к снижению активности ряда микробных групп, включая инфузорий, которые играют важную роль в расщеплении растительных клетчатки и углеводов.

В летний период, когда рацион лося значительно разнообразен и состоит преимущественно из сочных травянистых растений, состав микрофлоры рубца значительно изменяется. В это время были обнаружены шесть видов инфузорий, относящихся к четырем родам: **Entodinium**, **Epidinium**, **Metadinium** и **Diplodinium**. Особенно следует отметить инфузории родов **Metadinium** и **Epidinium**, которые характеризуются большими размерами и высокой целлюлозолитической активностью. Эти виды инфузорий играют ключевую роль в расщеплении клетчатки травянистых растений, что объясняется их адаптацией к более сложному и разнообразному летнему рациону [10].

Присутствие инфузорий родов **Entodinium**, **Epidinium**, **Metadinium** и **Dip-**

lodinium в желудочно-кишечном тракте лося свидетельствует о функциональном сходстве механизма пищеварения у лося и крупного рогатого скота. Это сходство в структуре микробиоты и пищеварительных процессах может быть использовано в биотехнологических приложениях, таких как пересадка специфической эндобиофауны в рубец других животных, с целью оптимизации процессов ферментации клетчатки и повышения общей эффективности переваривания пищи.

Эндобионтные инфузории у дикого северного оленя (Rangifer tarandus)

Исследования эндобионтных инфузорий у дикого северного оленя (Rangifer tarandus) в Якутии выявили разнообразие инфузорий, присутствующих в рубце животных, обитающих в разных географических регионах.

Всего было идентифицировано 14 видов инфузорий, относящихся к 6 родам: **Entodinium**, **Diplodinium**, **Eudiplodinium**, **Ostracodinium**, **Epidinium**, и **Dasitricha**. 6 видов были общими для всех исследованных популяций и относились к 4 родам: **Entodinium**, **Diplodinium**, **Eudiplodinium** и **Epidinium**.

Оймяконский улус характеризуется высокой плотностью популяций северного оленя. В данном регионе было обнаружено 11 видов инфузорий, принадлежащих к 6 родам: **Entodinium**, **Diplodinium**, **Eudiplodinium**, **Ostracodinium**, **Epidinium**, и **Dasitricha**. Примечательно, что в данной популяции был выявлен широкий спектр инфузорий, что, возможно, связано с высокой плотностью животных и разнообразием кормов, доступных в этом регионе.

В Усть-Майском улусе популяции оленей более разрозненные и характеризуются меньшей плотностью. В этой популяции было зарегистрировано 9 видов инфузорий, принадлежащих к 4 родам: **Entodinium**, **Diplodinium**, **Eudiplodinium**, и **Epidinium**. Несмотря на меньшее видовое разнообразие по сравнению с Оймяконским улусом, здесь также преобладали виды, общие для обеих популяций.

Для обеих популяций общими видами были **Entodinium**, **Diplodinium**, **Eudiplodinium** и **Epidinium**. Из этих видов наибольшую частоту встречаемости имели **Entodinium exiguum** (15,1%) и **Epidinium ecaudatum** (16,7%), что свидетельствует о доминировании этих видов в микробиоте рубца. В Усть-Майском улусе был зафиксирован вид **Dasitricha ruminantium**, который встречался с частотой 8,42%. Этот вид не был обнаружен в Оймяконском улусе, что может свидетельствовать о региональных различиях в микрофлоре.

Исследование показало, что состав эндобионтных инфузорий у северного оленя варьируется в зависимости от региона и плотности популяции, при этом сохраняется определённая степень сходства микробиоты между популяциями. Умеренное сходство в видовом составе инфузорий в разных популяциях может быть объяснено общими адаптивными механизмами у оленей, направленными на переваривание растительной пищи.

Эндобионтные инфузории у изюбря (Cervus elaphus)

Исследования эндобионтных инфузорий, обитающих в преджелудках изюбря (Cervus elaphus), выявили присутствие четырех видов инфузорий, принадлежащих трем родам: *Entodinium*, *Epidinium* и *Eudiplodinium*. Эти виды включают *Entodinium fursa monolobum*, *Entodinium anteronucleatum*, *Epidinium ecaudatum*, и *Eudiplodinium maggii*. Особое внимание в исследовании привлекло присутствие *Entodinium anteronucleatum* — вида, который оказался специфичен для изюбря.

Сравнительный анализ инфузорий, обитающих в преджелудках изюбря, с таковыми у крупного рогатого скота показал, что эти два вида имеют общие виды инфузорий, такие как *Entodinium fursa*, *Epidinium ecaudatum* и *Eudiplodinium maggii*. Этот факт может свидетельствовать о сходстве пищеварительных процессов у этих животных, однако у изюбря эти процессы кажутся более эффективными. Это можно объяснить ограниченной кормовой базой животного в его естественной сре-

де, что требует более высокой степени адаптации и оптимизации переваривания пищи.

Особую роль в процессах пищеварения играют микроаэрофильные инфузории родов *Entodinium* и *Eudiplodinium*. Эти организмы активно участвуют в переработке грубой растительной клетчатки, улучшая доступность питательных веществ для хозяев. Эндобионтные инфузории способствуют более эффективному перевариванию пищи, особенно растительных волокон, что критически важно для животных, чей рацион в значительной степени состоит из трудноперевариваемых растительных материалов.

Эндобионтные инфузории у косули (Capreólus pygárgu)

В исследованиях, посвящённых экологии микрофлоры преджелудков косули (Capreólus pygárgu), был установлен факт наличия двух видов инфузорий, относящихся к роду **Entodinium** — **Entodinium dubardi** и **Entodinium exiguum**. Эти виды были обнаружены в преджелудках животных, что подтверждает существование разнообразной микробиоты в этом органе. Ранее в научных работах, проведённых в Якутии, был зафиксирован только один вид — **Entodinium dubardi**, что указывает на его доминирование в микрофлоре преджелудка косули. Это открытие подчёркивает важность дальнейших исследований для более глубокого понимания видового состава микрофлоры, обитающей в преджелудках этих животных [11].

На данный момент в литературе отсутствует единое мнение по поводу состава видов, относящихся к роду **Entodinium**. Различия в фаунистических списках эндобионтных инфузорий, опубликованных различными авторами, говорят о сложности классификации этих организмов. Это также свидетельствует о необходимости проведения дополнительных исследований для точного и детализированного определения видового состава микроорганизмов, обитающих в преджелудках копытных животных, в частности, косуль.

Морфометрические характеристики инфузорий, показали следующие параметры: средняя длина **Entodinium dubardi** составила 36,3±2,4 мкм, а ширина – 24,9±1,7 мкм. В то же время, **Entodinium exiguum** имел среднюю длину 40,4±2,51 мкм и ширину 19,4 ± 1,9 мкм.

Состав и численность инфузорий в преджелудках косули варьируются в зависимости от сезонных изменений и типа рациона животных. В летний период численность инфузорий увеличивается, что связано с более разнообразным и питательным кормом, тогда как зимой их количество значительно снижается. В зимние месяцы численность инфузорий может достигать минимальных значений, не превышая 500 особей на миллилитр пробы, что, вероятно, связано с ограниченным доступом к корму в зимний период. Эти сезонные колебания численности инфузорий отражают динамику микробиоты, зависящую от доступности пищи и пищевых ресурсов.

Изученные популяции косуль продемонстрировали коэффициент сходства видов инфузорий **KJ-M = -0,6**, что указывает на значительные различия в составе микрофлоры преджелудка. Индекс общности фауны этих животных составил около 50%, что свидетельствует о умеренном сходстве микробиоты между различными популяциями.

Данные, полученные в рамках исследований, также подтверждают, что инфузории рода **Entodinium** преобладают в микрофлоре преджелудков европейской косули (Capreolus capreolus), что аналогично результатам, полученным для сибирских косуль. Таким образом, доминирование инфузорий этого рода в микробиоте преджелудков является общим для нескольких популяций косуль, что подчеркивает важность **Entodinium** как ключевого компонента их экосистемы [12].

Полученные данные способствуют углубленному пониманию взаимоотношений между микрофлорой желудочно-кишечного тракта и физиологическими особенностями различных видов животных. Эти исследования также позволяют выделить инфузории, которые играют

ключевую роль в процессе переваривания пищи и поддержании здоровья хозяев.

Сравнительный анализ видов инфузорий, обитающих в желудочно-кишечном тракте различных видов копытных животных, показал значительное разнообразие этих микроорганизмов (таблица 1). Наиболее богатый видовой состав эндобионтов наблюдается у крупного рогатого скота (36 видов), в то время как наименьшее разнообразие видов фиксируется у кабарги (2 вида). Этот факт может свидетельствовать о том, что разнообразие микрофлоры желудочно-кишечного тракта зависит не только от питания и условий обитания, но и от физиологических особенностей видов.

Таблица 1 – Количество видов эндобионтных инфузорий у различных видов копытных животных Якутии

Вид животного	**Количество видов инфузорий**
Крупный рогатый скот (разные породы и гибриды)	36
Северный олень	18
Овцы и гибриды	12
Лошади	15
Лось	7
Изюбрь	4
Косуля	1
Кабарга	2

Таблица 2 – Инфузории, обитающие в желудочно-кишечном тракте различных видов копытных животных Якутии

Инфузории, обнаруженные у нескольких видов хозяев в преджелудках	**Виды хозяев**
Entodinium exiguum *Dogiel, 1925*	КРС, сев.олень, овцы и гибриды, лось
Epidinium ecaudatum caudatum *Fiorentini, 1889,* morphotype caudatum *Sharp, 1914*	КРС, сев.олень, лось, изюбрь
Eudiplodinium maggii *Fiorentini, 1889*	КРС, сев.олень, овцы и гибриды, изюбрь
Dasutricha ruminantium	КРС, Сев. олень, овцы и гибрида
Entodinium anteronucleatum dilobum, monolobum Dogiel, 1925	Сев.олень, изюбрь
Entodinium simulans caudatum, lobo-spinosum, m. dubardi *Lubinski, 1957*	КРС, овцы и гибриды
Polyplastron multivesiculatum *Dogiel, Fedorova, 1925*	КРС, Сев. олень, овцы и гибрида
Entodinium dilobum *Dogiel, 1927*	КРС, сев. олень
Entodinium fursa dilobum, monolobum *Dogiel, 1927*	КРС, изюбрь
Entodinium longinucleatum *Dogiel, 1925*	КРС, овцы и гибриды
Entodinium nanellum *Dogiel, 1923*	КРС, овцы и гибриды
Epidinium gigas *Dogiel, 1925*	Сев. олень, кабарга
Isotricha prostoma *Stein, 1859*	КРС, овцы и гибриды
Metadinium affine *Dogiel, Fedorova, 1925*	КРС, овцы и гибриды

Особое внимание в рамках исследования уделено инфузориям, обитающим в желудочно-кишечном тракте жвачных животных. Эти микроорганизмы играют ключевую роль в экосистемах преджелудков, где они участвуют в ферментации пищи и улучшении переваривания клетчатки. Например, такие инфузории, как Entodinium exiguum и Epidinium ecaudatum, активно способствуют расщеплению сложных углеводов, что способствует более эффективному извлечению питательных веществ из пищи [13].

Ряд инфузорий, обнаруженных у культурных жвачных животных, таких как КРС и овцы, также встречается у некоторых диких животных, таких как северный олень и лось. Это свидетельствует о наличии сходства в микрофлоре желудочно-кишечного тракта у разных видов, что может быть связано с общими экологическими нишами и схожими процессами переваривания пищи.

Из данных таблицы 2 можно сделать вывод о наличии инфузорий, которые характерны для экосистем преджелудков нескольких видов копытных животных. Эти виды инфузорий, такие как **Dasutricha ruminantium**, **Entodinium dilobum**, **Entodinium exiguum** и другие, оказывают влияние на ферментативные процессы в преджелудках, что непосредственно связано с эффективностью пищеварения.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Применение этих инфузорий для пересадки другим животных, как с лечебной, так и с профилактической целью, может стать важным направлением для улучшения здоровья и продуктивности скота. Введение нормальной фауны инфузорий в желудочно-кишечный тракт животных позволит не только улучшить процесс переваривания пищи, но и снизить риск развития энтеральных заболеваний, способствуя тем самым укреплению иммунной системы животных и повышению их общей продуктивности.

Таким образом, использование инфузорий для улучшения микрофлоры желудочно-кишечного тракта может стать важной частью профилактики заболеваний, повышения эффективности кормления, что особенно важно для сельского хозяйства в условиях Якутии, где экстремальные климатические условия и специфические кормовые ресурсы могут существенно влиять на продуктивность животных.

THE COMPOSITION OF THE ECOFAUNA OF CILIATES IN WILD UNGULATES OF YAKUTIA

Slepsov E.S. [1]* – Doctor of Veterinary Sciences, Professor, Chief Researcher of the Laboratory of Reindeer Herding and Traditional Industries (ORCID 0000-0002-7478-9011); **Alferov I.V.** [1] – Candidate of Agricultural Sciences, Junior Researcher of the Laboratory of Horse Selection and Breeding (ORCID 0000-0002-9795-5238); **Gavrilieva L.Y.** [1] – Candidate of Veterinary Sciences, Senior Researcher of the Laboratory of Parasitology; **Vinokurov I.E.** – Candidate of Veterinary Sciences, Senior Researcher of the Laboratory of Horse Selection and Breeding; **Grigoryeva N.N.** [2]- - Candidate of Biological Sciences, Associate Professor of the Department of Physiology of Farm Animals and Ecology of

[1] Yakut Scientific Research Institute of Agriculture

[2] Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education «Arctic State Agrotechnological University»

*evgeniycemenovic@mail.ru

Financing: *The research was carried out at the expense of the grant of the Russian Science Foundation No. 22-16-20013, https://rscf.ru/project/22-16-20013 / with co-financing of the ANO "Yakut Scientific Foundation".*

ABSTRACT

The article is dedicated to the study of endobiont ciliates inhabiting the gastrointestinal tract of various ungulate species, with a focus on their species, diversity, and dependence on diet and physiological characteristics. The study provides detailed data on the microbiota of the rumen in moose, the

forestomachs of wild reindeer, mountain goats, and roe deer. In the moose (Alces alces), four species of ciliates were identified, belonging to three genera: *Entodinium*, *Epidinium*, and *Diplodinium*. These species include *Entodinium exiguum*, *Epidinium ecaudatum ecaudatum*, *Epidinium ecaudatum cattaneoni*, and *Metadinium minorum*. Studies of endobiont ciliates in wild reindeer inhabiting Yakutia revealed the presence of 14 ciliate species, belonging to six genera: *Entodinium*, *Diplodinium*, *Eudiplodinium*, *Ostracodinium*, *Epidinium*, and *Dasitricha*. Of these, six species were common across all investigated populations and were classified into four genera: *Entodinium*, *Diplodinium*, *Eudiplodinium*, and *Epidinium*. These findings indicate the diversity of the microbiota in reindeer, which is dependent on their ecosystem and diet.

In the mountain goat, five species of ciliates were found, belonging to three genera: *Entodinium*, *Epidinium*, and *Eudiplodinium*. Notably, *Entodinium anteronucleatum* was identified as species-specific for the mountain goat, making it unique in the context of the microbial biodiversity in the forestomachs of even-toed ungulates. As for the roe deer (*Capreolus capreolus pygargus*), two ciliate species were detected in its forestomachs: *Entodinium dubardi* and *Entodinium exiguum*, both belonging to the genus *Entodinium*. The study results emphasize the importance of species-specific nutrition and physiological characteristics in shaping the gastrointestinal microbiota. Furthermore, the potential of using endobiont ciliates for transplantation into the forestomachs of other animals is discussed, with the aim of improving their health and productivity.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1.Hristov, A.N., Ivan, M., Rode, L.M., McAllister, T.A., 2001. Fermentation characteristics and ruminal ciliate protozoal populations in cattle fed medium- or high-concentrate barley-based diets. J. Anim. Sci. 79, 515–524

2.Разнообразие инфузорной симбиофауны крупного рогатого скота / Е. С. Слепцов, К. В. Племяшов, Г. Н. Мачахтыров [и др.] // Генетика и разведение животных. – 2023. – № 3. – С. 13-24. – DOI 10.31043/2410-2733-2023-3-13-24.

3.Особенности видового состава эндобионтной фауны полигастричных домашних животных Якутии / Е. С. Слепцов, Г. Н. Мачахтыров, В. А. Мачахтырова [и др.] // Ветеринария и кормление. – 2023. – № 6. – С. 65-70. – DOI 10.30917/ATT-VK-1814-9588-2023-6-15.

4.Догель, В. А. Простейшие – Protozoa. Малощетинковые инфузории – Infusoria Oligotricha. Сем. Ophryoscolecidae. Определитель по фауне СССР. [Текст] / В. А. Догель. – Л.: АН СССР, 1929. – 96 с.

5.Корнилова О.А. Эндобионтные инфузории млекопитающих // Функциональная морфология, экология и жизненные циклы животных. Сборник научных трудов кафедры зоологии РГПУ им. А.И. Герцена. Выпуск 6 // СПб: ТЕССА, 2006. С. 21-78.

6.Корнилова О.А. Определитель инфузорий, обитающих в пищеварительном тракте млекопитающих. Сборник научных трудов кафедры зоологии РГПУ им. А.И. Герцена. Выпуск 10 // СПб: ТЕССА, 2010. С. 59-94.

7.Dehority B.A. Laboratory Manual for Classification and Morphology of Rumen Ciliate Protozoa, CRC Press, Boca Raton, FL.27. 1993. 128 pp.

8.Корнилова О.А. Метод комплексного обследования фауны эндобионтных инфузорий // Функциональная морфология, экология и жизненные циклы животных. Сборник научных трудов кафедры зоологии РГПУ им. А.И. Герцена. Выпуск 4 // СПб: ТЕССА, 2004. С. 75-77.

9.Аргунов, А. В. Сезонная изменчивость питания лося (ALCES ALCES, CERVIDAE) в Центральной Якутии / А. В. Аргунов // Вестник охотоведения. – 2019. – Т. 16, № 2. – С. 78-83.

10.M, Hess & Fliegerová, Katerina & Paul, Shyam & Puniya, Anil. (2020). The anaerobic rumen fungi. In McSweeney C & Mackie RI (Eds.), Improving rumen function.Cambridge, UK. Burleigh Dodds Science Publishing. 10.1201/9781003047841.

11.Эндобионтные инфузории из рубца

косули сибирской Capreolus pygargus / О. А. Корнилова, Л. В. Чистякова, И. В. Середкин, И. П. Грабарник // Паразитология. – 2021. – Т. 55, № 6. – С. 465-475. – DOI 10.31857/S0031184721060028.
12.Эндобионтные инфузории из рубца косули сибирской Capreolus pygargus / О. А. Корнилова, Л. В. Чистякова, И. В. Середкин, И. П. Грабарник // Паразитология. – 2021. – Т. 55, № 6. – С. 465-475. – DOI 10.31857/S0031184721060028.
13.Zeitz JO, Amelchanka SL, Michałowski T, Wereszka K, Meile L, Hartnack S, Kreuzer M, Soliva CR. Effect of the rumen ciliates Entodinium caudatum, Epidinium ecaudatum and Eudiplodinium maggii, and combinations thereof, on ruminal fermentation and total tract digestion in sheep. Arch Anim Nutr. 2012 Jun;66(3):180-99. doi: 10.1080/1745039x.2012.676817. PMID: 22724165.

REFERENCES

2.Raznoobrazie infuzornoj simbiofauny` krupnogo rogatogo skota / E. S. Slepczov, K. V. Plemyashov, G. N. Machaxty`rov [i dr.] // Genetika i razvedenie zhivotny`x. – 2023. – № 3. – S. 13-24. – DOI 10.31043/2410-2733-2023-3-13-24.
3.Osobennosti vidovogo sostava e`ndobiontnoj fauny` poligastrichny`x domashnix zhivotny`x Yakutii / E. S. Slepczov, G. N. Machaxty`rov, V. A. Machaxty`rova [i dr.] // Veterinariya i kormlenie. – 2023. – № 6. – S. 65-70. – DOI 10.30917/ATT-VK-1814-9588-2023-6-15.
4.Dogel`, V. A. Prostejshie – Protozoa. Maloresnichny`e infuzorii – Infusoria Oligotricha. Sem. Ophryoscolecidae. Opredelitel` po faune SSSR. [Tekst] / V. A. Dogel`. – L.: AN SSSR, 1929. – 96 s.
5.Kornilova O.A. E`ndobiontny`e infuzorii mlekopitayushhix // Funkcional`naya morfologiya, e`kologiya i zhiznenny`e cikly` zhivotny`x. Sbornik nauchny`x trudov kafedry` zoologii RGPU im. A.I. Gercena. Vy`pusk 6 // SPb: TESSA, 2006. S. 21-78.
6.Kornilova O.A. Opredelitel` infuzorij, obitayushhix v pishhevaritel`nom trakte mlekopitayushhix. Sbornik nauchny`x trudov kafedry` zoologii RGPU im. A.I. Gercena. Vy`pusk 10 // SPb: TESSA, 2010. S. 59-94.
7.Dehority B.A. Laboratory Manual for Classification and Morphology of Rumen Ciliate Protozoa, CRC Press, Boca Raton, FL.27. 1993. 128 rp.
8.Kornilova O.A. Metod kompleksnogo obsledovaniya fauny` e`ndobiontny`x infuzorij // Funkcional`naya morfologiya, e`kologiya i zhiznenny`e cikly` zhivotny`x. Sbornik nauchny`x trudov kafedry` zoologii RGPU im. A.I. Gercena. Vy`pusk 4 // SPb: TESSA, 2004. S. 75-77.
9.Argunov, A. V. Sezonnaya izmenchivost` pitaniya losya (ALCES ALCES, CERVIDAE) v Central`noj Yakutii / A. V. Argunov // Vestnik oxotovedeniya. – 2019. – T. 16, № 2. – S. 78-83.
11.E`ndobiontny`e infuzorii iz rubcza kosuli sibirskoj Capreolus pygargus / O. A. Kornilova, L. V. Chistyakova, I. V. Seredkin, I. P. Grabarnik // Parazitologiya. – 2021. – T. 55, № 6. – S. 465-475. – DOI 10.31857/S0031184721060028.
12.E`ndobiontny`e infuzorii iz rubcza kosuli sibirskoj Capreolus pygargus / O. A. Kornilova, L. V. Chistyakova, I. V. Seredkin, I. P. Grabarnik // Parazitologiya. – 2021. – T. 55, № 6. – S. 465-475. – DOI 10.31857/S0031184721060028.

БИОХИМИЯ, МОРФОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ

УДК: 611.727.3: 569.74
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.4.328

ФЛЕКСОРЫ ЛОКТЕВОГО СУСТАВА У НЕКОТОРЫХ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ ОТРЯДА ХИЩНЫЕ (CARNIVORA)

Кухарева Т.П. – студ. (ORCID 0009-0006-6529-4339); **Былинская Д.С.*** – канд. ветеринар. наук, доц., доц. каф. анатомии животных (ORCID 0000-0001-9997-5630).

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины»

* goldberg07@mail.ru

Ключевые слова: *енот-полоскун, енотовидная собака, собака, флексоры локтевого сустава, Moment Arm.*
Key words: *american raccoon, Raccoon dog, Dog, Elbow Flexors, Moment Arm.*

Поступила: 01.11.2024 **Принята к публикации: 02.12.2024**
Опубликована онлайн:16.12.2024

РЕФЕРАТ

Представители отряда хищных имеют схожую анатомию флексоров локтевого сустава. Однако ввиду разницы образов жизни отдельных видов хищных вышеупомянутые мышцы по-разному задействованы в движении локтевого сустава. Использование основных принципов биомеханики позволило нам изучить влияние каждой мышцы в определенный момент изменения угла локтевого сустава. Материалом для исследования послужили трупы енота-полоскуна, енотовидной собаки и собак породы метис (вес 7-10 кг), доставленных на кафедру анатомии животных из ветеринарных клиник Санкт-Петербурга и охотничьих хозяйств Ленинградской области. Методом исследования послужили тонкое анатомическое препарирование. Момент силы представляет физическую величину, являющуюся произведением модуля силы, вращающей тело на ее плечо и синус угла между плечом и модулем силы [7]. Так как sin(90º)=1, то мы строили перпендикуляр от центра оси до вектора силы и эта величина принималась за Moment Arm (MA). Точкой опоры или центром оси в данном случае выступает центр локтевого сустава. Сила представлена в виде вектора, направление которого определяется в зависимости от функции мышцы. Вектор построен по точкам прикрепления мышцы. С помощью программы tpsDig2 мы измерили Moment Arm мышц при разном значении угла локтевого сустава. Пик MA плечелучевой мышцы у енота-полоскуна при 72°, у енотовидной собаки плечелучевая мышца незначительно участвует в сгибании локтевого сустава. Круглый пронатор у всех особей слабо задействован при сгибании локтевого сустава. Двуглавую мышцу плеча и плечевую мышцу мы выделили

как «основные» сгибатели локтевого сустава, потому что при любом значении угла локтевого сустава МА придерживаются средних и высоких значений. У собак максимальный диапазон движения локтевого сустава (МДД) составляет от 57° до 149°, у енота-полоскуна от 45° до 158°, у енотовидной собаки от 75° до 130°.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Представители отряди хищных (Carnivora) имеют схожую анатомию флексоров локтевого сустава. Однако ввиду разницы образов жизни отдельных видов хищных вышеупомянутые мышцы по-разному задействованы в движении локтевого сустава.

Еноты *(Procyon lotor), принадлежащие к надсемейству Musteroidea и семейству Procyonidae,* ведут древесный образ жизни, всеядны. Грудные конечности енота-полоскуна помимо опорной функции осуществляют также функцию захвата, они способны выполнять мелкие и точные движения кистью [1,2,3]. Енотовидные собаки (Nyctereutes procyonoides), надсемейства Canoidea и семейства Canidae, также всеядны, но их грудные конечности выполняют только опорную функцию, функция захвата ограничена [4]. То же самое характерно для собак (Canis familiaris), представителей надсемейства Canoidea и семейства Canidae. Во время галопа собака совершает рывок вперед плечевым поясом и грудными конечностями и одновременное быстрое подтягивание тазовых конечностей для обеспечения мощного выброса тела вперед [5, 6].

Опорно-двигательный аппарат животных состоит из многочисленных суставов, а каждый сустав - это простой рычаг. Рычаг – простейший механизм, представляющий собой балку, вращающуюся вокруг точки опоры. Крутящий момент или момент силы часто описывают как «силу, вызывающую вращение», Момент силы – это физическая величина, которая является произведением модуля силы, вращающей тело на ее плечо и синус угла между плечом и модулем силы [7]. Так как sin (90)=1, то мы можем построить перпендикуляр от центра оси до вектора силы и эта величина называется Moment Arm (Рис.1).

Точкой опоры или центром оси в данном случае будет выступать центр локтевого сустава. Сила представлена в виде вектора, направление которого определяется в зависимости от функции мышцы. Вектор построен по точкам прикрепления мышцы. Мышцы с большим плечом момента имеют большее механическое преимущество и потенциал для создания крутящего момента в суставах, часто выступая в качестве основных двигателей, в то время как мышцы с меньшим плечом момента, как правило, выполняют стабилизирующую функцию, например, внутренние мышцы.

Учитывая вышесказанное, мы поставили перед собой цель – определить роль мышц флексоров при разном положении локтевого сустава енота-полоскуна, енотовидной собаки и собаки.

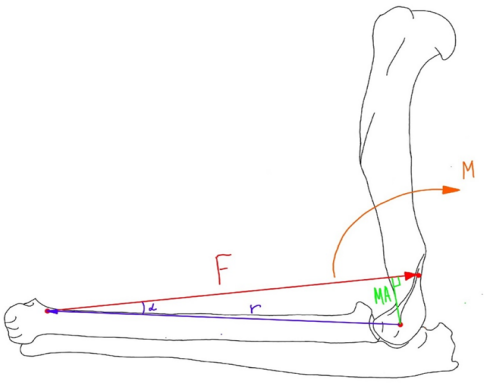


Рисунок 1 – Пример расчета Moment arm плечелучевой мышцы, где: M – момент силы, F – вектор силы, r – плечо силы, MA – moment arm.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHOD

Материалом для исследования послужили грудные конечности енота-полоскуна, енотовидной собаки и собаки породы метис (вес 7-10 кг). Всего в исследование были включены шесть грудных конечностей в каждой группе животных. Материал для исследования доставляли на кафедру анатомии животных из ветеринарных клиник Санкт-Петербурга и охотничьих хозяйств Ленинградской области.

Методом исследования послужило тонкое анатомическое препарирование. Для вывода данных МА момента силы мы использовали геометрический метод с помощью программы tpsDig2. Геометрический метод включает в себя прямое измерение перпендикулярного расстояния между траекторией мышцы и центром вращения сустава, в котором она проходит.

При указании анатомических терминов использовали международную ветеринарную анатомическую номенклатуру пятой редакции [8].

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Подвижность сустава зависит от анатомо-физиологических факторов: мышц (синергистов и антагонистов), полости сустава и синовиальной жидкости, суставных поверхностей, суставный хрящей, менисков и дисков и т.п. Также изменяется подвижность в суставе с возрастом, у разных полов, в зависимости от типа движения. У животных с ожирением также увеличивается диапазон движения. Согласно литературным данным, у собак максимальный диапазон движения (МДД) в локтевом суставе варьируется от 110° до 150°, с максимальным сгибанием в зависимости от породы от 25° до 49° и максимальным разгибанием от 155° до 175° [9].

В ходе нашего исследования было установлено, что МДД в локтевом суставе у собак составляет от 57° до 149°, у енота-полоскуна от 45° до 158°, у енотовидной собаки от 75° до 130°. Мы предполагаем, что это связано с образом жизни животных. Так, еноты помимо ходьбы и бега, задействуют грудные конечности при употреблении пищи, поднося кисти ко рту. Енотовидная собака имеет короткие лапы, медленно бегает, следовательно, имеет самый маленький МДД.

Флексоры локтевого сустава располагаются на его краниальной поверхности, внутри суставного угла. Мышцами, сгибающими локтевой сустав являются: плечелучевая, двуглавая, плечевая. Также в исследование был включен круглый пронатор, в виду его скелетотопии.

Плечелучевая мышца (m. brachioradialis), сильно редуцированна, а иногда и отсутствует, представляет собой длинную узкую мышцу [10, 11]. Наличие плечелучевой мышцы характерно для животных со значительной подвижностью в лучелоктевом суставе, особенно при свободной супинации предплечья. Данная мышца берет свое начало от гребня латерального надмыщелка плечевой кости, проксимальнее лучевого разгибателя запястья. По своему ходу она переходит с латеральной стороны на медиальную и заканчивается на надкостнице лучевой кости между третьей и дистальной четвертью кости. У собак данная мышца регистрируется не всегда. В точках прикрепления данной мышцы у енота-полоскуна и енотовидной собаки особенностей не выявлено, однако установлены её морфометрические особенности: наибольшего развития она получает у енота-полоскуна. При сравнении МА плечелучевой мышцы енота-полоскуна нами отмечено, что она до 111º имеет самое большой МА, затем значения МА резко уменьшаются. Из-за слабо развитой плечелучевой мышцы у енотовидной собаки ее значения практически равны МА круглого пронатора, следовательно, эта мышца практически не участвует в генерации крутящего момента в локтевом суставе.

Круглый пронатор (m. pronator teres) – овальной формы, проксимально начинается от медиального надмыщелка плечевой кости, заканчивается дистальнее супинатора на лучевой кости. Наиболее крупное брюшко круглого пронатора от-

Таблица 1 – Значения Moment Arm сгибателей локтевого сустава енота-полоскуна

Угол сгибания локтя (º)	Moment Arm (mm)			
	m. biceps brachii	m. pronator teres	m. brachioradialis	m. brachialis
45º	10,88±0,98 мм	3,48±0,31 мм	24,77±2,23 мм	14,57±1,31 мм
60º	12,19±1,09 мм	4,63±0,42 мм	25,8±2,32 мм	17,59±1,58 мм
72º	14,84±1,34 мм	4,82±0,44 мм	26,89±2,42 мм	18,61±1,67 мм
96º	15,08±1,35 мм	4,59±0,41 мм	22,62±2,03 мм	18,53±1,66 мм
111 º	13,29±1,19 мм	4,06±0,38 мм	19,66±1,77 мм	17,56±1,58 мм
124 º	12,54±1,13 мм	4±0,36 мм	16,34±1,47 мм	16,69±1,5 мм
135 º	11,05±0,99 мм	3,94±0,35 мм	13,32±1,2 мм	14,33±1,29 мм
149 º	10,61±0,95 мм	3,75±0,34 мм	8,37±0,75 мм	12,98±1,17 мм
158 º	9,82±0,88 мм	3,5±0,31 мм	5,45±0,49 мм	11,67±1,05 мм

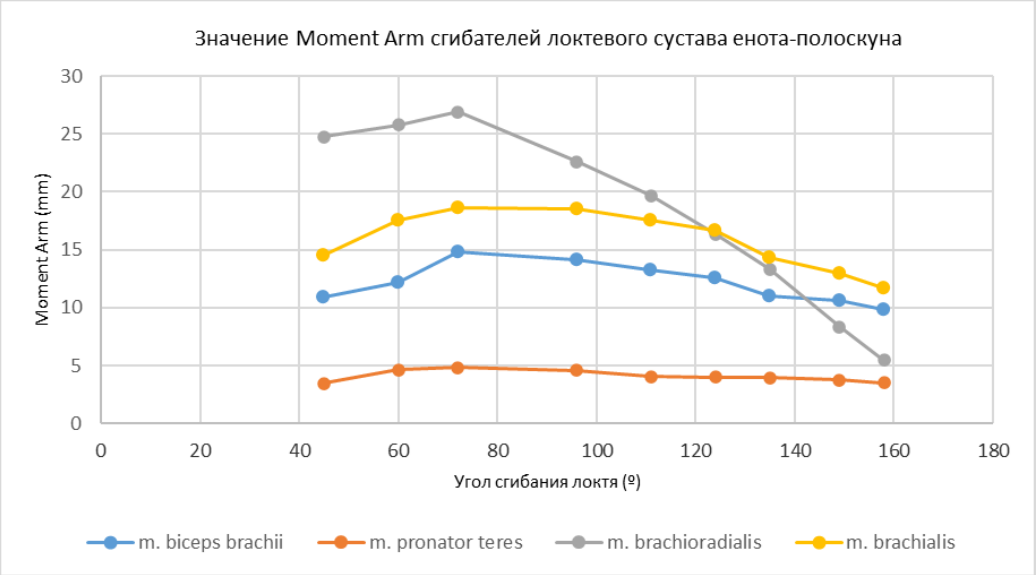


Рисунок 2 – Значение Moment Arm сгибателей локтевого сустава енота-полоскуна.

мечается на грудной конечности енота-полоскуна, у собаки и енотовидной собаки эта мышца более длинная и узкая. У всех исследуемых животных данная мышца имеет самые низкие значения МА, следовательно, является стабилизирующей мышцей. Это также связано, с тем, что сгибание локтевого сустава является дополнительной функцией для круглого пронатора.

Двуглавая мышца плеча (m. biceps brachii) начинается проксимально от надсуставного бугорка лопатки, пересекая кранио-медиально плечевой сустав, занимает центральное положение на краниальной поверхности плечевой кости. Достигая костей предплечья, мышца оканчивается на лучевой шероховатости. У собаки дистальное сухожилие делится на две ножки, первая оканчивается на локтевой шероховатости, вторая на лучевой шероховатости. Плечевая мышца (m. brachialis) берет начало от проксимальной части каудальной поверхности плечевой кости. Мышца идет от каудо-латеральной до краниальной поверхности плечевой кости. В дистальной трети плечевой кости она становится уже, переходит по сгиба-

тельной поверхности локтевого сустава к его медиальной поверхности. Значения МА этих двух мышц мы рассмотрим совместно, потому их траектория при разном угле локтевого сустава схожа. Так у всех исследуемых особей плечевая мышца имеет большее значение МА, чем двуглавая мышца плеча, мы предполагаем, что это связано с анатомическим расположением мышц. Двуглавая мышца плеча проксимально начинается от лопатки, следовательно, это двусуставная мышца, она участвует в движении плечевого и локтевого суставов. Плечевая мышца задействована в движении только в одном суставе, поэтому она генерирует большую силу для совершения крутящего момента в локтевом суставе. Двуглавую мышцу плеча и плечевую мышцу можно выделить как «основные» сгибатели локтевого сустава, потому что они придерживаются средних и высоких значений МА.

Таблица 2 – Значение Moment Arm сгибателей локтевого сустава енотовидной собаки

Угол сгибания локтя (°)	Moment Arm (mm)			
	m. biceps brachii	m. pronator teres	m. brachioradialis	m. brachialis
75 °	23±2,76 мм	1,69±0,13 мм	4,88±0,39 мм	30,63±2,45 мм
81 °	22,53±1,8 мм	2,72±0,22 мм	5,05±0,4 мм	30,04±2,40 мм
88 °	23,12±1,85 мм	3,02±0,24 мм	5,62±0,45 мм	30,04±2,40 мм
96 °	22,85±1,83 мм	3,56±0,28 мм	6,04±0,48 мм	28,55±2,28 мм
101 °	22,24±1,78 мм	3,56±0,28 мм	6,76±0,54 мм	27,63±2,21 мм
104 °	22,69±1,8 мм	5,05±0,4 мм	6,78±0,55 мм	27,14±2,17 мм
108 °	22,6±1,81 мм	5,14±0,41 мм	6,53±0,52 мм	26,82±2,15 мм
111 °	21,95±1,76 мм	5,81±0,45 мм	6,94±0,55 мм	26,87±2,15 мм
114 °	22,02±1,22 мм	5,2±0,41 мм	7,12±0,57 мм	26,28±2,10 мм
121 °	20,7±1,21 мм	5,6±0,45 мм	7,71±0,62 мм	25,02±2,01 мм
125 °	20,27±1,27 мм	7,26±0,58 мм	8,73±0,7 мм	25,04±2,01 мм
130 °	19,54±1,56 мм	6,88±0,24 мм	8,92±0,71 мм	23,41±1,87 мм

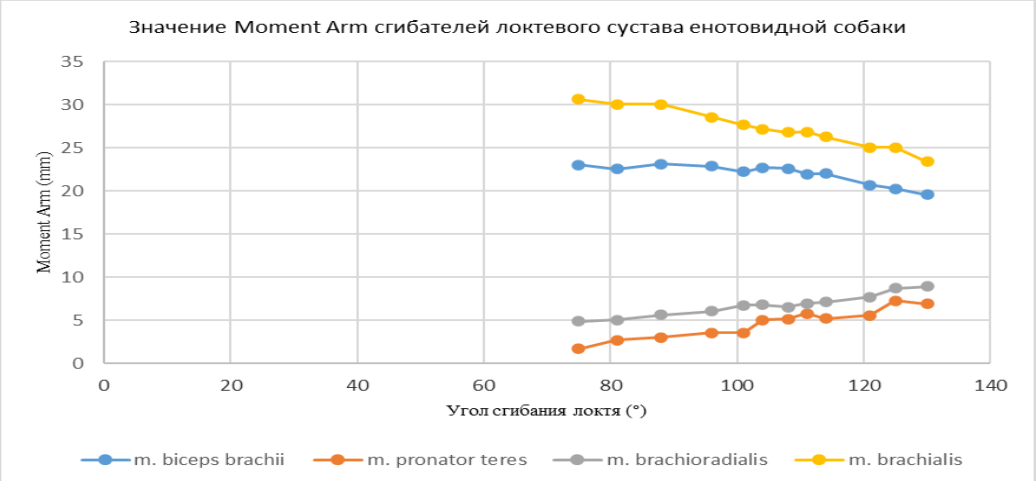


Рисунок 3 – Значение Moment Arm сгибателей локтевого сустава енотовидной собаки.

Таблица 3 – Значение Moment Arm сгибателей локтевого сустава собаки

Угол сгибания локтя (°)	Moment Arm (mm)		
	m. biceps brachii	m. pronator teres	m. brachialis
57 °	10,35±0,83 мм	3,23±0,26 мм	11,85±0,95 мм
65 °	10,58±0,85 мм	3,37±0,27 мм	13,07±1,04 мм
72 °	10,86±0,87 мм	3,56±0,29 мм	13,73±1,09 мм
77 °	11,01±0,88 мм	3,81±0,28 мм	14,39±1,15 мм
83 °	11,32±0,91 мм	3,6±0,31 мм	14,4±1,15 мм
97 °	12,35±0,99 мм	4,43±0,35 мм	15,79±1,26 мм
112 °	12,92±1,03 мм	5,03±0,4 мм	15,93±1,27 мм
119 °	13,29±1,06 мм	5,05±0,4 мм	16,09±1,29 мм
128 °	12,37±0,99 мм	6,03±0,48 мм	15±1,2 мм
136 °	10,68±0,85 мм	5,78±0,46 мм	13,47±1,08 мм
145 °	10,68±0,85 мм	5,92±0,47 мм	13,28±1,06 мм
149 °	10,1±0,81 мм	4,73±0,38 мм	12,17±0,97мм

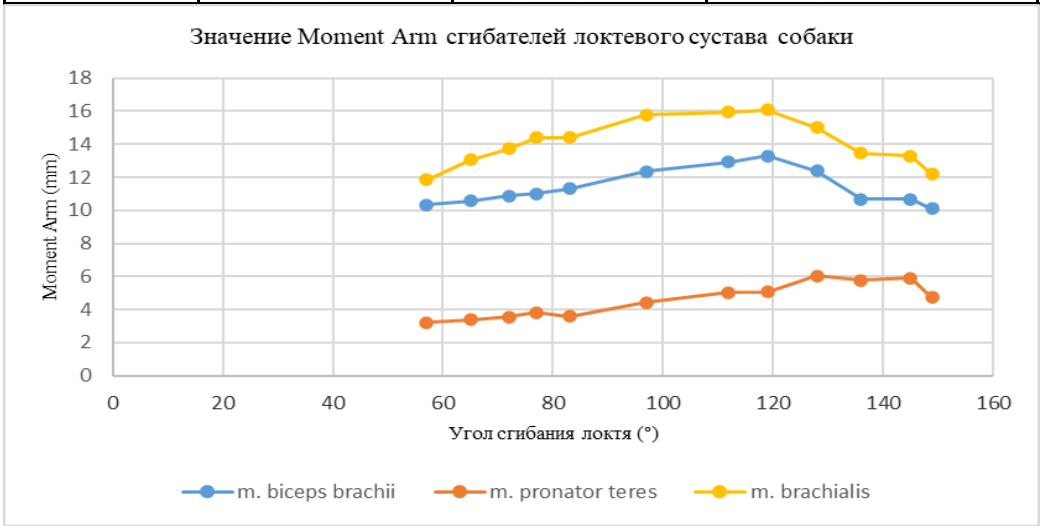


Рисунок 4 – Значение Moment Arm сгибателей локтевого сустава собаки.

На рисунке 4 видно, что значения МА двуглавой и плечевой мышц собаки увеличиваются с увеличением угла разгибания, следовательно, они способны создавать свой наибольший момент в позах с максимально разогнутыми грудными конечностями, например, во время галопа [5]. Такое расположение также будет означать, что при укорочении двуглавой и плечевой мышц будет происходить быстрое сгибание локтя и более медленное сгибание плеча, что требуется для протракции конечности при более быстрой ходьбе.

Пик в значении МА свидетельствует о том, что это наиболее «тяжелое» положение для мышцы. В таком случае мышца имеет большее механическое преимущество и потенциал для создания крутящего момента в суставах, следовательно, прилагает наибольшее количество силы для удержания костей при определенном угле. У енота-полоскуна пик МА для всех мышц достигается при значении угла локтевого сустава 72º. Мы предполагаем, что это связано с особенностями локомоции его грудной конечности: при передвижении по деревьям необходимо удерживать

локтевой сустав в согнутом состоянии при пронированной кисти.

Пик МА у енотовидной собаки различается для каждой мышцы. Так, для двуглавой мышцы плеча и плечевой наиболее «тяжелое» положение угла локтевого сустава составляет 75º, для круглого пронатора - 125º, для плечелучевой мышцы - 130º. Как было уже сказано выше двуглавую мышцу плеча и плечевую мы выделяем как «основные» сгибатели локтевого сустава, поэтому, можно предположить, что для сгибателей локтевого сустава пик МА будет при значении угла 75º. Это свидетельствует о схожести видов: енот-полоскун и енотовидная собака.

У собаки пик МА у плечевой и двуглавой мышцы плеча при 119º, круглого пронатора – 128º. Во время галопа собака совершает рывок вперед плечевым поясом и грудными конечностями и одновременное быстрое подтягивание тазовых конечностей для обеспечения мощного выброса тела вперед, чередуя движения. Следовательно, им нужно иметь «сильные» мышцы-сгибатели локтевого сустава для совершения быстрого возврата конечности в исходное положение.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

В ходе исследования было установлено, что:

1) Плечелучевая мышца у енота-полоскуна достигает пика МА при значении угла локтевого сустава 72º, затем значение МА стремительно снижается. У енотовидной собаки данная мышца почти не задействована в сгибании локтевого сустава.

2) Круглый пронатор у всех исследуемых особей прилагает наименьшее количество силы для совершения крутящего момента.

3) У всех исследуемых особей двуглавую мышцу плеча и плечевую мышцу мы выделили как «основные» сгибатели локтевого сустава.

4) МДД локтевого сустава у собаки составляет от 57° до 149°, у енота-полоскуна от 45° до 158°, у енотовидной собаки от 75° до 130°.

5) У енота-полоскуна пик значений МА для всех мышц достигается при 72º, у енотовидной собаки – при 75º, у собаки – при 119º.

FLEXORS OF THE ELBOW JOINT IN SOME REPRESENTATIVES OF THE CARNIVOROUS ORDER (CARNIVORA)

Kukhareva T.P. – student (ORCID 0009-0006-6529-4339), **Bylinskaya D.S.*** – Candidate of Vet. n., associate professor of the Department animal anatomy (ORCID 0000-0001-9997-5630).

St. Petersburg State University of Veterinary Medicine

* goldberg07@mail.ru

ABSTRACT

Representatives of the predatory order have a similar anatomy of elbow flexors. However, due to the difference in lifestyles of individual predatory species, the above-mentioned muscles are involved in the movement of the elbow joint in different ways. Using the basic principles of biomechanics allowed us to study the effect of each muscle at a certain point in the angle of the elbow joint. The material for the study was the corpses of a raccoon, raccoon dog and Mestizo dogs (weight 7-10 kg), delivered to the Department of Animal Anatomy from veterinary clinics in St. Petersburg and hunting farms in the Leningrad region. The research method was fine anatomical dissection. The moment of force is a physical quantity that is the product of the modulus of the force rotating the body by its shoulder and the sine of the angle between the shoulder and the modulus of force. Since sin(90º) =1, we built a perpendicular from the center of the axis to the force vector and this value was taken as the Moment Arm (MA). The fulcrum or center of the axis in this case is the center of the elbow joint. The force is represented as a vector, the direction of which is determined depending on the function of the muscle. The vector is based on the points of attachment of the muscle. Using the tpsDig2 program, we measured the Moment Arm of the muscles at different

values of the angle of the elbow joint. The peak of the brachialis muscle in a raccoon stripper is at 72°, in a raccoon dog, the brachialis muscle is slightly involved in flexion of the elbow joint. The circular pronator in all individuals is weakly involved in flexion of the elbow joint. We have identified the biceps muscle of the shoulder and the shoulder muscle as the "main" flexors of the elbow joint, because at any value of the angle of the elbow joint, the muscles adhere to medium and high values. In dogs, the maximum range of motion of the elbow joint (MDD) is from 57° to 149°, in a raccoon from 45° to 158°, in a raccoon dog from 75° to 130°.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1.Васильев, Д. В. Мышцы локтевого сустава лисицы породы Бастард / Д. В. Васильев, В. А. Хватов, М. В. Щипакин // Международный вестник ветеринарии. – 2022. – № 1. – С. 116-119.

2.Кухарева, Т. П. Васкуляризация мышц области плеча у енота-полоскуна (Procyon lotor) / Т. П. Кухарева // Знания молодых для развития ветеринарной медицины и АПК страны: материалы XII международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых, посвященной 215-летию СПбГУВМ, Санкт-Петербург, 23–24 ноября 2023 года. – Санкт-Петербург: Перевощикова Юлия Владимировна, 2023. – С. 207-208.

3.McClearn D. Locomotion, Posture, and Feeding Behavior of Kinkajous, Coatis and Racoons // Journal of Mammology. – 1992. - №73(2). – p. 245-261.

4.Kamioka M, Sasaki M, Yamada K, Endo H, Oishi M, Yuhara K, Tomikawa S, Sugimoto M, Oshida T, Kondoh D, Kitamura N. Mobility of the forearm in the raccoon (Procyon lotor), raccoon dog (Nyctereutes procyonoides) and red panda (Ailurus fulgens). J Vet Med Sci. 2017 Jan 24;79(1):224-229. doi: 10.1292/jvms.16-0241. Epub 2016 Nov 11.

5.Williams SB, Wilson AM, Daynes J, Peckham K, Payne RC. Functional anatomy and muscle moment arms of the thoracic limb of an elite sprinting athlete: the racing greyhound (Canis familiaris). J Anat. 2008 Oct;213(4):373-82. doi: 10.1111/j.1469-7580.2008.00962.x.

6.Слесаренко, Н. А. Анатомическое обоснование риска повреждений локтевого сустава у животных / Н. А. Слесаренко, Е. О. Широкова, Е. А. Щетинина // Ветеринария и кормление. – 2024. – № 1. – С. 80-84. – DOI 10.30917/ATT-VK-1814-9588-2024-1-17.

7.Нижегородов, А. И. Общие сведения из математики, механики, физики, теории механизмов и машин. вводная лекция / А. И. Нижегородов // Справочник. Инженерный журнал. – 2020. – № 5(278). – С. 50-56. – DOI 10.14489/hb.2020.05.pp.050-056.

8.Зеленевский, Н. В. Международная ветеринарная анатомическая номенклатура на латинском и русском языках. Nomina Anatomica Veterinaria. (пятая редакция): Учебники для вузов. Специальная литература / Н. В. Зеленевский; пер. и рус. терминология Н. В. Зеленевского. – Санкт-Петербург: Издательство "Лань", 2013. – 400 с.

9.Rohwedder T (2022) Biomechanics of the Canine Elbow Joint. Veterinary Medicine and Science. IntechOpen. Available at: http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.99569

10.Широкова, Е. О. Флексоры локтевого сустава у кошки домашней / Е. О. Широкова, Н. А. Слесаренко, Е. А. Щетинина // Ветеринария, зоотехния и биотехнология. – 2023. – № 6. – С. 23-28. – DOI 10.36871/vet.zoo.bio.202306003.

11.Evans, H. E., de Lahunta Millers, A. anatomy of the dog. - 4-е изд. - St. Louis, Missouri: Elsevier, 2013. - 850 с.

REFERENCES

1. Vasiliev, D. V. Muscles of the elbow joint of the Bastard fox / D. V. Vasiliev, V. A. Khvatov, M. V. Shchipakin // International Bulletin of Veterinary Medicine. - 2022. – No. 1. – pp. 116-119.

2. Kukhareva, T. P. Vascularization of the shoulder muscles in the raccoon (Procyon lotor) / T. P. Kukhareva // Knowledge of young people for the development of veterinary medicine and the agro-industrial complex of the country: materials of the XII in-

ternational scientific conference of students, postgraduates and young scientists dedicated to 215-The anniversary of St. Petersburg State University of Economics, St. Petersburg, November 23-24, 2023. – St. Petersburg: Perevoshchikova Yulia Vladimirovna, 2023. – pp. 207-208.
3. McClearn D. Locomotion, Posture, and Feeding Behavior of Kinkajous, Coatis and Racoons // Journal of Mammology. – 1992. - №73(2). – p. 245-261.
4. Kamioka M, Sasaki M, Yamada K, Endo H, Oishi M, Yuhara K, Tomikawa S, Sugimoto M, Oshida T, Kondoh D, Kitamura N. Mobility of the forearm in the raccoon (Procyon lotor), raccoon dog (Nyctereutes procyonoides) and red panda (Ailurus fulgens). J Vet Med Sci. 2017 Jan 24;79(1):224-229. doi: 10.1292/jvms.16-0241. Epub 2016 Nov 11. PMID: 27840376; PMCID: PMC5289265.
5. Williams SB, Wilson AM, Daynes J, Peckham K, Payne RC. Functional anatomy and muscle moment arms of the thoracic limb of an elite sprinting athlete: the racing greyhound (Canis familiaris). J Anat. 2008 Oct;213(4):373-82. doi: 10.1111/j.1469-7580.2008.00962.x. PMID: 19034998; PMCID: PMC2644772.
6. Slesarenko, N. A. Anatomical justification of the risk of damage to the elbow joint in animals / N. A. Slesarenko, E. O. Shirokova, E. A. Shchetinina // Veterinary medicine and feeding. – 2024. – No. 1. – pp. 80-84. – DOI 10.30917/ATT-VK-1814-9588-2024-1-17.
7. Zelenevsky, N. V. International veterinary anatomical nomenclature in Latin and Russian. Nomina Anatomica Veterinaria. (fifth edition): Textbooks for universities. Special literature / N. V. Zelenevsky; trans. and Russian terminology of N. V. Zelenevsky. – St. Petersburg: Lan Publishing House, 2013. – 400 p.
8. Rohwedder T (2022) Biomechanics of the Canine Elbow Joint. Veterinary Medicine and Science. IntechOpen. Available at: http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.99569
9. Shirokova, E. O. Flexors of the elbow joint in a domestic cat / E. O. Shirokova, N. A. Slesarenko, E. A. Shchetinina // Veterinary medicine, animal science and biotechnology. - 2023. – No. 6. – pp. 23-28. – DOI 10.36871/vet.zoo.bio.202306003.
10. H.E.Evans, A. de Lahunta Millers anatomy of the dog. - 4th ed. - St. Louis, Missouri: ELSEVIER, 2013. - 850 p.

УДК: 611.161:611.81:616.12-008.331.1:619
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.4.337

УЛЬТРАСТРУКТУРА КАПИЛЛЯРОВ СОСУДИСТЫХ ТЕЛ ГОЛОВНОГО МОЗГА В КОНТЕКСТЕ РАЗВИТИЯ ВНУТРИЧЕРЕПНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ

Прусаков А.В.* – д-р ветеринар. наук, доц., зав. каф. внутренних болезней животных им. Синева А.В. (ORCID 0000-0001-5582-5155).

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины»

*prusakovv-av@mail.ru

Ключевые слова: *внутричерепная гипертензия сосудистые тела, сплетения головного мозга, ликворная система, цереброспинальная жидкость, микроциркуляция.*

Key words: *intracranial hypertension vascular bodies, plexuses of the brain, cerebrospinal fluid, cerebrospinal fluid, microcirculation.*

Поступила: 01.11.2024 **Принята к публикации: 02.12.2024**
Опубликована онлайн:16.12.2024

РЕФЕРАТ

Внутричерепная гипертензия – часто регистрируемая патология головного мозга. В основе ее патогенеза лежат гиперсекреция и нарушение реабсорбции цереброспинальной жидкости (ликвора). Ее секреция осуществляется за счет сосудистых тел (сосудистых сплетений), являющихся производными его мягкой оболочки. По своей структуре их можно отнести к сосудисто-эпителиальным органам. Продукция ликвора зависит от функциональной активности сосудистых тел, которая в первую очередь обусловлена структурно-функциональными взаимоотношениями между их эпителиальными клетками и сосудами микроциркуляторного русла. Основным обменным звеном последнего являются капилляры, на уровне которых проходит двунаправленный транспорт веществ (из тканей в кровеносное русло и обратно)]. Поэтому интенсивность обменных процессов, протекающих в сосудистых телах при секреции ликвора, напрямую зависит от строения стенки их капилляров. Учитывая, что в основе патогенеза внутричерепной гипертензии часто лежит гиперсекреция ликвора, также противоречивость литературных данных, касающихся строения микроциркуляторного русла сосудистых тел головного мозга, была поставлена задача – установить особенности ультраструктурной организации их капилляров. Исследование проводили с применением методики электронной микроскопии. В качестве объекта была выбрана ультраструктурная организация капилляров сосудистых тел боковых желудочков мозга. Материалом послужили фрагменты тканей сосудистых тел боковых желудочков мозга быка домашнего. Материал получали при плановом убое животных. Образцы тканей отбирали от пяти особей возрастом 1,5 года, не имевших признаков поражения нервной системы. Их обработку с целью изготовления ультратонких срезов проводили, руководствуясь общепринятыми методиками. Срезы контрастировали 2,0% водным раствором уранилацетата и раствором цитрата свинца и изучали на

электронном микроскопе Jem-1011 (JEOL, Япония) при увеличениях 2500-3000. При обозначении клеточных и неклеточных структур использовали терминологию, соответствующую Международной гистологической номенклатуре. Установлено, что в составе ворсин сосудистых тел встречается три типа капилляров, имеющих особенности своей структурной организации. При этом, в независимости от их морфологического типа, они выстланы фенестрированным эндотелием. В составе стенки капилляров первого типа отсутствую перициты. В образовании стенки капилляров второго типа принимает участие один слой перицитов. Для стенки капилляров третьего типа характерно наличие монослоя, сформированного несколькими перицитами, замурованными в расщепления толстой базальной мембраны. Выявленные ультраструктурные особенности архитектоники капилляров сосудистых тел головного мозга могут служить сравнительным ориентиром при оценке их морфофункционального состояния, как в норме, так и в случае возникновения артериальной гипертензии головного мозга.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Внутричерепная гипертензия – часто регистрируемая патология головного мозга. В основе ее развития лежат гиперсекреция секреции и нарушение реабсорбции цереброспинальной жидкости (ликвора) [1, 2]. Последняя представляет собой гуморальную среду центральной нервной. Ее секреция осуществляется за счет сосудистых тел (сосудистых сплетений), расположенных в желудочках мозга [3, 4, 5], которые являются производными его мягкой оболочки [6]. По своей структуре их можно отнести к сосудисто-эпителиальным органам. В их основе лежит соединительная ткань, пронизанная множеством кровеносных сосудов и нервных окончаний [7]. С поверхности их покрывает однослойный эпителий, являющийся производным эпендимы [8]. Продукция ликвора зависит от функциональной активности сосудистых тел, которая в первую очередь обусловлена структурно-функциональными взаимоотношениями между их эпителиальными клетками и сосудами микроциркуляторного русла [9]. Основным обменным звеном последнего являются капилляры, на уровне которых проходит двунаправленный транспорт веществ (из тканей в кровеносное русло и обратно) [10, 11]. Поэтому интенсивность обменных процессов, протекающих в сосудистых телах при секреции ликвора, напрямую зависит от строения стенки их капилляров. Учитывая, что в основе патогенеза внутричерепной гипертензии часто лежит гиперсекреция ликвора, также противоречивость литературных данных, касающихся строения микроциркуляторного русла сосудистых тел головного мозга, мы поставили задачу – установить особенности ультраструктурной организации их капилляров.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Исследование проводили с применением методики электронной микроскопии. В качестве объекта была выбрана ультраструктурная организация капилляров сосудистых тел боковых желудочков мозга. Материалом послужили фрагменты тканей сосудистых тел боковых желудочков мозга быка домашнего. Материал получали при плановом убое животных. Образцы тканей отбирали от пяти особей возрастом 1,5 года, не имевших признаков поражения нервной системы. Их обработку с целью изготовления ультратонких срезов проводили, руководствуясь общепринятыми методиками [12]. Срезы контрастировали 2,0% водным раствором уранилацетата и раствором цитрата свинца и изучали на электронном микроскопе Jem-1011 (JEOL, Япония) при увеличениях 2500-3000. При обозначении клеточных и неклеточных структур использовали терминологию, соответствующую Международной гистологической номенклатуре [13].

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Сосудистые тела представляют собой ворсинчатые образования, в основе которых лежит соединительная ткань. Их наружную выстилку образует однослойный эпителий, сформированный из крупных кубических или низкопризматиче-

ских клеток. Последние выполняют основную функцию сосудистых тел – секрецию цереброспинальной жидкости.

Доставка необходимых для ее синтеза веществ к эпителиоцитам сосудистых тел осуществляется по гемокапиллярам, проходящим в составе соединительнотканной основы органа. В составе ворсин сосудистых тел встречается три типа капилляров, имеющих особенности своей структурной организации. При этом, в независимости от их морфологического типа, они выстланы фенестрированным эндотелием.

К первому типу следует отнести капилляры, не сопровождаемые адвентициальными клетками. Их стенка сформирована за счет одного слоя эндотелиоцитов. Последние, формируя общий эндотелиальный пласт, соединяются друг с другом плотными контактами. Местами встречаются контакты по типу «замка». В цитоплазме эндотелиоцитов выявляется множество полирибосом и пузырьков, включая пиноцитозные. Также обнаруживается небольшое число митохондрий, имеющих округлую форму и матрикс средней электронной плотности. Под эндотелием располагается базальная мембрана, представляющая собой тонкофибриллярную структуру толщиной от 10 до 20 нм (рисунок 1).

Ко второму типу следует отнести капилляры, окруженные перицитами (рисунок 2). Перициты представляют собой адвентициальные клетки, тела и отростки которых вытянуты по ходу сосудов. Объединяясь друг с другом, они формируют сплошной слой, входящий в состав стенки гемокапилляра, который отделяется от эндотелия базальной мембраной. Последняя получает большее развитие чем в капиллярах первого типа. Перициты имеют светлую цитоплазму, в составе которой выявляются мелкие митохондрии, лизосомы и фаголизосомы, полирибосомы, короткие каналы гранулярного эндоплазматического ретикулума, иногда небольшой пластинчатый комплекс Гольджи, а также умеренное количество пиноцитозных пузырьков.

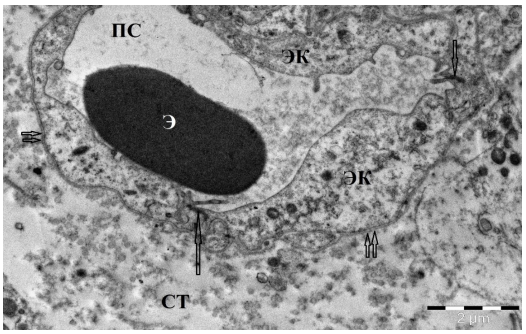


Рисунок 1 – Ультраструктура капилляра сосудистого тела бокового желудочка мозга. Электронная микрофотография: ЭК – эндотелиальная клетка; Э – эритроцит в просвете кровеносного сосуда; ПС – просвет сосуда; СТ – окружающая соединительная ткань; ↑ – плотные контакты; ↑↑ – базальная мембрана.

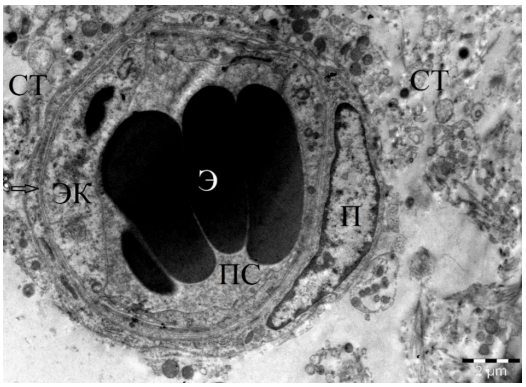


Рисунок 2 – Ультраструктура капилляра сосудистого тела бокового желудочка мозга. Электронная микрофотография: ЭК – эндотелиальная клетка; П – перицит; ПС – просвет сосуда; Э – эритроциты; СТ – окружающая соединительная ткань; ↑ – базальная мембрана.

Третий тип капилляров представляет сосуды, окруженные толстой «муфтой» из перицитов, расположенных в расщеплениях базальной мембраны (рисунок 3). Последняя достигает наибольшего развития среди всех типов капилляров и представляет собой толстый плотный фибриллярный слой. Эндотелиоциты данного типа капилляров имеют светлую цитоплазму, содержащую множество везикул и пузырьков, включая пиноцитозные, а также значительное количество рибосом и полирибосом. Помимо указанных включений обнаруживается небольшое количество мелких митохондрий и единичные небольшие пластинчатые комплексы Гольджи. Перициты, входящие в состав стенки капилляров третьего типа по своей структурной организации схожи с миофибробластами. Это обусловлено тем, что их цитоплазма содержит множество микрофиламентов. Помимо них в ее составе различимы небольшие митохондрии с тонкими кристами и полирибосомы. Следует отметить значительное число пиноцитозных пузырьков, расположенных на внутренних мембранах перицитов, свидетельствующих об активном транспорте веществ со стороны эндотелиоцитов в сторону соединительной ткани.

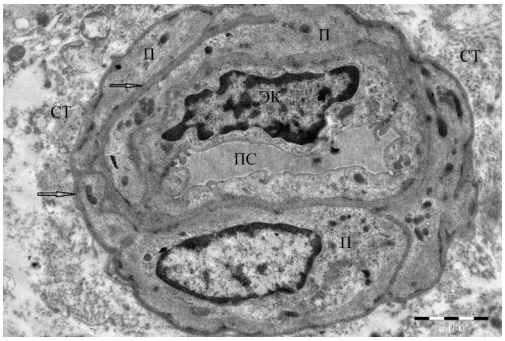


Рисунок 3 – Ультраструктура капилляра сосудистого тела бокового желудочка мозга, покрытого плотной муфтой перицитов. Электронная микрофотография: ЭК – эндотелиальная клетка; П – перицит; ПС – просвет сосуда; СТ – окружающая соединительная ткань; ↑ – базальная мембрана.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Таким образом, в составе ворсин сосудистых тел встречается три типа капилляров, имеющих особенности своей структурной организации. При этом, в независимости от их морфологического типа, они выстланы фенестрированным эндотелием. В составе стенки капилляров первого типа отсутствую перициты. В образовании стенки капилляров второго типа принимает участие один слой перицитов. Для стенки капилляров третьего типа характерно наличие монослоя, сформированного несколькими перицитами, замурованными в расщепления толстой базальной мембраны. Выявленные ультраструктурные особенности архитектоники капилляров сосудистых тел головного мозга могут служить сравнительным ориентиром при оценке их морфофункционального состояния, как в норме, так и в случае возникновения артериальной гипертензии головного мозга.

ULTRASTRUCTURE OF THE CAPILLARIES OF THE VASCULAR BODIES OF THE BRAIN IN THE CONTEXT OF THE DEVELOPMENT OF INTRACRANIAL HYPERTENSION

Prusakov A.V. * – Doctor of Veterinary Sciences, Associate Professor, Head of the Department of Internal Diseases of Animals named after Sineva A.V. (ORCID 0000-0001-5582-5155).

St. Petersburg State University of Veterinary Medicine

*prusakovv-av@mail.ru

ABSTRACT

Intracranial hypertension is a frequently reported pathology of the brain. Its pathogenesis is based on hypersecretion of secretion and impaired reabsorption of cerebrospinal fluid (CSF). Its secretion is carried out due to vascular bodies (vascular plexuses), which are derivatives of its soft shell. Ac-

cording to their structure, they can be attributed to vascular epithelial organs. The production of cerebrospinal fluid depends on the functional activity of vascular bodies, which is primarily due to the structural and functional relationships between their epithelial cells and vessels of the microcirculatory bed. The main metabolic link of the latter is the capillaries at the level of which the bidirectional transport of substances (from tissues to the bloodstream and back) takes place]. Therefore, the intensity of metabolic processes occurring in vascular bodies during secretion of cerebrospinal fluid directly depends on the structure of the wall of their capillaries. Considering that the pathogenesis of intracranial hypertension is often based on hypersecretion of cerebrospinal fluid, as well as the inconsistency of the literature data concerning the structure of the microcirculatory bed of the vascular bodies of the brain, the task was set to establish the features of the ultrastructural organization of their capillaries. The study was carried out using the technique of electron microscopy. The ultrastructural organization of the capillaries of the vascular bodies of the lateral ventricles of the brain was chosen as the object. The material was fragments of tissues of the vascular bodies of the lateral ventricles of the brain of a domestic bull. The material was obtained during the planned slaughter of animals. Tissue samples were taken from five individuals aged 1.5 years who had no signs of damage to the nervous system. Their processing for the production of ultrathin sections was carried out according to generally accepted methods. The sections were contrasted with a 2.0% aqueous solution of uranyl acetate and a solution of lead citrate and studied on an electron microscope Jem-1011 (JEOL, Japan) at magnifications of 2500-3000. When designating cellular and non-cellular structures, terminology corresponding to the International Histological Nomenclature was used. It has been established that there are three types of capillaries in the villi of vascular bodies, which have features of their structural organization. At the same time, regardless of their morphological type, they are lined with fenestrated endothelium. There are no pericytes in the composition of the capillary wall of the first type. One layer of pericytes participates in the formation of the capillary wall of the second type. The walls of capillaries of the third type are characterized by the presence of a monolayer formed by several pericytes embedded in the cleavages of a thick basement membrane. The revealed ultrastructural features of the architectonics of the capillaries of the vascular bodies of the brain can serve as a comparative guideline in assessing their morphofunctional state, both normally and in the case of arterial hypertension of the brain.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Кривенцов М.А., Девятова Н.В. Эффект цереброспинальной жидкости на функциональное состояние лейкоцитов периферической крови облученных крыс // Крымский журнал экспериментальной и клинической медицины. – 2017 – Т.7, № 3. – С. 33-37.
2. Лекарственные средства, с преимущественным действием на центральную нервную систему: учебно-методическое пособие по ветеринарной фармакологии для студентов факультета ветеринарной медицины / А. М. Лунегов, Н. Л. Андреева, В. А. Барышев [и др.]. – Санкт-Петербург: Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины, 2020. – 55 с.
3. Физиология животных и этология / В. Г. Скопичев, Т. А. Эйсымонт, Н. П. Алексеев [и др.]. – Москва: Издательство КолосС, 2005. – 720 с.
4. Физиология животных и этология / В. Г. Скопичев, Т. А. Эйсымонт, Н. Г. Алексеев [и др.]. – Москва: Издательство КолосС, 2003. – 717 с.
5. Fisher R.G. The metabolic activity of the choroid plexus / R.G. Fisher, J.H. Copenhaver // Journal of Neurosurgery. – 1959. – Vol. 16, No. 2. – P. 167-176.
6. Зеленевский, Н. В. Анатомия животных. Неврология. Органы чувств. Особенности строения домашней птицы. Практикум: Учебное пособие для вузов / Н. В. Зеленевский, М. В. Щипакин, Д. С. Бы-

линская. – Санкт-Петербург: Издательство "Лань", 2022. – 128 с.
7. Зеленевский, Н. В. Анатомия и физиология животных: учебник для студентов образовательных учреждений среднего профессионального образования / Н. В. Зеленевский, А. П. Васильев, Л. К. Логинова. – 2-е издание, исправленное. – Москва: Академия, 2009. – 462 с. 8. Morphology of the Vascular Bodies of the Encephalon's Ventricles of Cow (Bos Taurus Taurus) / A. Prusakov, N. Zelenevskiy, M. Shchipakin [et al.] // Macedonian Veterinary Review. – 2020. – Vol. 43, No. 1. – P. 31-36.
9. Сосудистый компонент в сосудистых сплетениях желудочков головного мозга / И. Х. Гасанова, В. Н. Куница, З. Х. Гасанли [и др.] // Наука и образование: новое время. – 2018. – № 4(27). – С. 203-212.
10. Ультраструктура гематоэнцефалического барьера курицы / А. В. Прусаков, Н. В. Зеленевский, М. В. Щипакин [и др.] // Ветеринария. – 2019. – № 8. – С. 45-48.
11. Яшин, А. В. Особенности состояния микроциркуляторного русла и мембранного пищеварения у новорожденных телят при диспепсии / А. В. Яшин, А. В. Прусаков // Международный вестник ветеринарии. – 2021. – № 2. – С. 155-160.
12. Уикли, Б. Электронная микроскопия для начинающих / Б. Уикли. – Москва: Издательство «Мир», 1975 – 324 с.
13. Семченко, В. В. Международная гистологическая номенклатура / В. В. Семченко, Р. П. Самусева, М. В. Моисеева // Колосова – Омск, 1999. – 156 с.

REFERENCES

1. Kriventsov M.A., Devyatova N.V. Effect of cerebrospinal fluid on the functional state of peripheral blood leukocytes of irradiated rats // Crimean Journal of Experimental and Clinical Medicine. - 2017 – Vol.7, No. 3. – pp. 33-37.
2. Medicines with a predominant effect on the central nervous system: an educational and methodological manual on veterinary pharmacology for students of the Faculty of Veterinary Medicine / A.M. Lunegov, N. L. Andreeva, V. A. Baryshev [et al.]. – St. Petersburg: St. Petersburg State University of Veterinary Medicine, 2020. – 55 p.
3. Animal physiology and ethology / V. G. Skopichev, T. A. Eisymont, N. P. Alekseev [et al.]. – Moscow: KolosS Publishing House, 2005. – 720 p.
4. Animal physiology and ethology / V. G. Skopichev, T. A. Eisymont, N. G. Alekseev [et al.]. – Moscow: KolosS Publishing House, 2003. – 717 p.
5. Fisher R.G. The metabolic activity of the choroid plexus / R.G. Fisher, J.H. Copenhaver // Journal of Neurosurgery. – 1959. – Vol. 16, No. 2. – P. 167-176.
6. Zelenevsky, N. V. Animal anatomy. Neurology. The senses. Features of the structure of poultry. Workshop: Textbook for universities / N. V. Zelenevsky, M. V. Shchipakin, D. S. Bylinskaya. – St. Petersburg: Lan Publishing House, 2022. – 128 p.
7. Zelenevsky, N. V. Anatomy and physiology of animals: textbook for students of educational institutions of secondary vocational education / N. V. Zelenevsky, A. P. Vasiliev, L. K. Loginova. – 2nd edition, revised. – Moscow: Akademiya, 2009. – 462 p.
8. Morphology of the Vascular Bodies of the Encephalon's Ventricles of Cow (Bos Taurus Taurus) / A. Prusakov, N. Zelenevsky, M. Shchipakin [et al.] // Macedonian Veterinary Review. – 2020. – Vol. 43, No. 1. – P. 31-36.
9. The vascular component in the vascular plexuses of the ventricles of the brain / I. H. Hasanova, V. N. Kunitsa, Z. H. Hasanli [et al.] // Science and education: new time. – 2018. – № 4(27). – Pp. 203-212.
10. Ultrastructure of the blood-brain barrier of chicken / A.V. Prusakov, N. V. Zelenevsky, M. V. Shchipakin [et al.] // Veterinary medicine. – 2019. – No. 8. – pp. 45-48.
11. Yashin, A.V. Features of the state of the microcirculatory bed and membrane digestion in newborn calves with dyspepsia / A.V. Yashin, A.V. Prusakov // International Bulletin of Veterinary Medicine. - 2021. – No. 2. – pp. 155-160.
12. Weekley, B. Electron microscopy for beginners / B. Weekley. – Moscow: Mir Publishing House, 1975 – 324 p.
13. Semchenko, V. V. International histological nomenclature / V. V. Semchenko, R. P. Samuseva, M. V. Moiseeva // Kolosova – Omsk, 1999. – 156 p.

УДК: 611.149:599.731.11
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.4.343

ВЕНОЗНОЕ РУСЛО ЖЕЛУДКА СВИНЕЙ ПОРОДЫ ЙОРКШИР В ПОСТНАТАЛЬНОМ ОНТОГЕНЕЗЕ

Полянская А.И.* – асс. каф. анатомии животных (ORCID 0000-0002-7119-8857); **Васильев Д.В.** – канд. ветеринар. наук, доц., доц. каф. анатомии животных (ORCID 0000-0002-9496-6433).

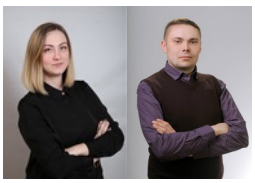
ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины»

*polyanskaya2808@mail.ru

Ключевые слова: *вена, желудок, свинья, диаметр, воротная вена, отток венозной крови, морфометрические данные.*

Key words: *vein, stomach, pig, diameter, portal vein, venous blood outflow, morphometric data.*

Поступила: 05.10.2024 **Принята к публикации: 02.12.2024**
Опубликована онлайн:16.12.2024



РЕФЕРАТ

Свиноводство является перспективным направлением животноводства в условиях импортозамещения, увеличивается количество предприятий, которые разводят данную породу свиней. Йоркширы обладают высокой многоплодностью, ранней половозрелостью, большим суточным приростом массы тела и получаемая продукция не только мясосальная, но и беконная. Желудок свиней выполняет следующие функции, такие как: образование желудочного сока и ферментов; продвижение пищевого кома, с последующим формированием химуса; транспортировкой в 12-перстную кишку. Помимо этого, знание основ формирования сердечно-сосудистой системы необходимо ветеринарным специалистам, занимающимися различными манипуляциями в области брюшной полости. Дренаж крови, осуществляемый от желудочно-кишечного тракта, имеет важное диагностическое значение при различных заболеваниях, связанных с пищеварительной системой, такими как: гастрит, гастроэнтерит, язва желудка, кишечная непроходимость, портосистемные шунты. Трупный материал для исследования был доставлен на кафедру анатомии животных ФГБОУ ВО СПбГУВМ со свиноводческого комплекса Ленинградской области. Объекты – трупы свиней йоркширской породы двух возрастных групп: новорожденные (1 день постнатального онтогенеза) и 30 дней от рождения. Для изучения возрастных и породных особенностей венозного русла свиней был применен комплекс современных анатомических методов исследования: тонкое анатомическое препарирование; заполнение венозного русла латексом с последующей макроморфометрией; вазорентгенография. В ходе нашего исследования было установлено, что от стенки желудка в области его большой кривизны и большого сальника происходит отток венозной крови в правую и левую желудочно-сальниковые вены, где левая желудочно-сальниковая вена впадает в селезеночную вену, собирая

кровь со стенки желудка его кардиального отдела и тканей селезенки, а правая желудочно-сальниковая вена сливаясь с желудочно-двенадцатиперстной образует правую желудочную вену отводя кровь от стенки желудка его пилорического отдела и начальной части двенадцатиперстной кишки. Многочисленные мелкие вены дивертикула сливаются в левую желудочную вену. Это является анатомо-топографической особенностью венозного русла свиней породы йоркшир.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Свиноводство является перспективным направлением животноводства в условиях импортозамещения, увеличивается количество предприятий, которые разводят данную породу свиней. Йоркширы обладают высокой многоплодностью, ранней половозрелостью, большим суточным приростом массы тела и получаемая продукция не только мясосальная, но и беконная. Желудок является одним из основных органов пищеварительной системы. Желудок свиней выполняет следующие функции, такие как: образование желудочного сока и ферментов; продвижение пищевого кома, с последующим формированием химуса; транспортировкой в 12-перстную кишку. Помимо этого, знание основ формирования сердечно-сосудистой системы необходимо ветеринарным специалистам, занимающимися различными манипуляциями в области брюшной полости. Дренаж крови, осуществляемый от желудочно-кишечного тракта, имеет важное диагностическое значение при различных заболеваниях, связанных с пищеварительной системой, такими как: гастрит, гастроэнтерит, язва желудка, кишечная непроходимость, портосистемные шунты [6-13]. Таким образом, данная тема исследования актуальна и перед нами встала цель исследования – изучить отток венозной крови от тканей желудка в воротную вену с определением линейных показателей сосудов.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Исследование проводили на кафедре анатомии животных ФГБОУ ВО СПбГУВМ. Трупный материал для исследования был доставлен на кафедру анатомии животных ФГБОУ ВО СПбГУВМ со свиноводческого комплекса Ленинградской области. Объекты – трупы свиней йоркширской породы двух возрастных групп: новорожденные (1 день постнатального онтогенеза) и 30 дней от рождения. В количестве восемь особей в каждой возрастной группе. Для изучения возрастных и породных особенностей венозного русла свиней породы йоркшир был применен комплекс современных анатомических методов исследования, таких как: тонкое анатомическое препарирование; заполнение венозного русла латексом с последующей макроморфометрией; вазорентгенография. При описании анатомических терминов использовали Международную ветеринарную анатомическую номенклатуру [6-13].

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

При анализе полученных результатов было определено, что самым крупным сосудом, отводящим кровь от желудка свиней в постнатальном онтогенезе, является селезёночная вена (v. lienalis), проходящая по большой кривизне и в области левого подреберья, переходящая на стенку кардиального отдела желудка, дренирующая селезенку и стенку желудка в области кардии и переходе ее в фундальный отдел. Диаметр данного сосуда к тридцатидневному возрасту достигает 4,91±0,50 мм, что в 4,16 раза превалирует над показателями животных из первой группы составляющими 1,18±0,20 мм.

Следующей венозной магистралью, значительно уступающей в диаметре вышеописанного сосуда, является левая желудочная вена (v. gastrica sinistra), проходящая по стенке малой кривизны кардиального отдела желудка, где далее анастомозирует с одноименным сосудом противоположной стороны, направляясь к области отверстия пищевода вдоль угловой складки. Диаметр данного сосуда к тридцатидневному возрасту достигает 2,63±0,30 мм, что в 2,52 раза превалирует над показателями новорожденных животных, составляющими 1,04±0,10 мм.

И последним из крупных венозных сосудов, отводящих кровь от желудка, является правая желудочная вена (v. gastrica dextra), которая, как и вышеуказанные вены самостоятельно переходят в воротную вену, она идет по малой кривизне в направлении к пилорусу и принимает на себя ветви более мелких венозных сосудов, дренирующих стенку начального участка двенадцатиперстной кишки и стенку желудка фундального отдела, а также большой сальник. Ее диаметр к тридцатидневному возрасту достигает 2,08±0,20 мм, что в 2,50 раза больше диаметра аналогичного сосуда у свиней из первой группы, который соответствует 0,83±0,10 мм.

Селезеночная вена, правая и левая желудочная вена учувствуют в формировании воротной вены направляющейся в ворота печени, дренирующая все органы пищеварительной системы. У однодневных поросят ее диаметр составляет 2,49±0,25 мм, а у второй группы исследуемых животных достигает 2,49±0,25 мм, где увеличение данного показателя происходит в 1,95 раза.

Источником оттока крови от дивертикула желудка свиней, где слизистая оболочка представлена многослойным плоским эпителием, располагающимся в кардиальной его части, являются многочисленные мелкие вены дивертикула (vv. diverticuli). Диаметр данного сосуда к тридцатидневному возрасту достигает 1,25±0,15 мм, что в 2,97 раза превалирует над показателями свиней из первой группы составляющими 0,42±0,04 мм. Вены дивертикула учувствуют в образовании левой желудочной вены.

Правая желудочная вена, проходящая по стенке пилорического отдела желудка сформирована слиянием желудочно-двенадцатиперстной вены (v. gastroduodenalis) и правой желудочно-сальниковой вены (v. gastroepiploica dextra). Желудочно-двенадцатиперстная вена дренирует двенадцатиперстную кишку в области места ее выхода из пилоруса до S-образной извилины. Диаметр данного сосуда к тридцатидневному возрасту достигает 3,10±0,30 мм, что в 2,48 раза, превалирует над показателями новорожденных животных, составляющими 1,25±0,15 мм. Правая желудочно-сальниковая вена у новорожденных поросят достигает 1,04±0,10 мм, что в 3,31 раза меньше свиней из второй группы, где данный показатель соответствует 2,32±0,20 мм.

Левая желудочно-сальниковая вена, располагается на большой кривизне желудка прилежащей к поверхности селезенки, отводя кровь от стенки желудка данной области и большого сальника. В области кардии данный сосуд объединяется с селезеночной веной. Диаметр левой желудочно-сальниковой вены у тридцатидневной свиньи в среднем будет равняться 2,08±0,20 мм, а у однодневной 0,78±0,10 мм. Из чего следует что данный сосуд будет увеличиваться в 2,66 раза у второй группы свиней по отношению к первой.

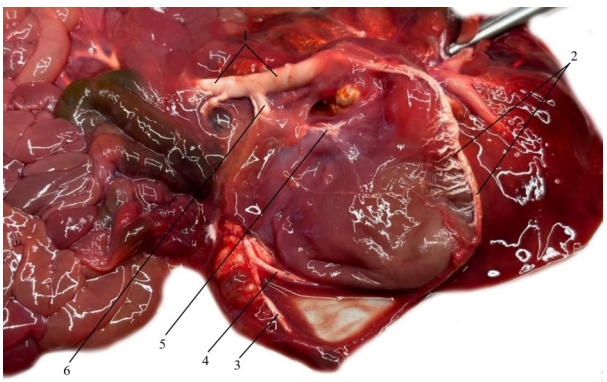


Рисунок 1 – Венозное русло желудка со стороны его висцеральной поверхности. Инъекция сосудов латексом натуральным. Возраст 14 дней: 1 – воротная вена печени; 2 – правая желудочно-сальниковая вена; 3, 6 – селезеночная вена; 4 –левая желудочно-сальниковая вена; 5 – левая желудочная.

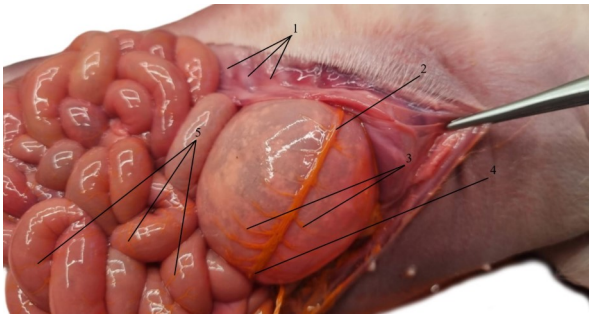


Рисунок 2 – Анастомоз правой и левой желудочно-сальниковых вен со стороны дна желудка свиньи. Инъекция сосудов свинцовым суриком. Возраст 1 день: 1 – шестнадцатое, пятнадцатое, четырнадцатое ребро; 2 – левая желудочно -сальниковая вена; 3 – внутриорганное венозное русло дна желудка; 4 – правая желудочно-сальниковая вена; 5 – петли тощей кишки и её венозное внутриорганное русло.

Таблица 1 – Возрастная морфометрия линейных показателей вен желудка у свиней породы йоркшир

Название сосуда	Единицы измерения	Возраст новорожденные свиньи 1 день	Возраст свиньи 30 дней
Селезеночная вена	мм	1,18±0,20	4,91±0,50*
Левая желудочная вена	мм	1,04±0,10	2,63±0,30*
Левая желудочно-сальниковая вена	мм	0,78±0,10	2,08±0,20*
Вены дивертикула	мм	0,42±0,04	1,15±0,15*
Желудочно-двенадцатиперстная вена	мм	1,25±0,15	3,10±0,30*
Правая желудочная вена	мм	0,83±0,10	2,08±0,20*
Правая желудочно-сальниковая вена	мм	0,70±0,10	2,32±0,20*
Воротная вена	мм	2,49±0,25	4,88±0,50*

** P<0,05 уровень достоверности при сравнении с новорожденными однодневными свиньями.*

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Таким образом, в результате исследования было установлено, что венозная кровь от желудка свиней породы йоркшир оттекает в воротную вену по трем основным венозным сосудам, таким как левая и правая желудочные вены, и селезеночная вена. От стенки желудка в области его большой кривизны и большого сальника происходит отток венозной крови в правую и левую желудочно-сальниковые вены, где левая желудочно-сальниковая вена впадает в селезеночную вену, собирая кровь со стенки желудка его кардиального отдела и тканей селезенки, а правая желудочно-сальниковая вена сливаясь с желудочно-двенадцатиперстной образует правую желудочную вену отводя кровь от стенки желудка его пилорического отдела и начальной части двенадцатиперстной кишки. Многочисленные мелкие вены дивертикула сливаются в левую желудочную вену. Это является анатомо-топографической особенностью венозного русла свиней породы йоркшир.

VENOUS BED OF THE STOMACH OF YORKSHIRE PIGS IN POSTNATAL ONTOGENESIS

Polyanskaya A.I.* – Assistant of the Department of Animal Anatomy (ORCID 0000-0002-7119-8857); **Vasiliev D.V.** – Candidate of Veterinary Sciences, Associate Professor, Associate Professor of the Department of Animal Anatomy (ORCID 0000-0002-9496-6433).

St. Petersburg State University of Veterinary Medicine

*polyanskaya2808@mail.ru

ABSTRACT

Pig farming is a promising area of animal husbandry in the context of import substitution, the number of enterprises that breed this breed of pigs is increasing. Yorkshire people have high fertility, early puberty, a large daily increase in body weight and the resulting products are not only meat-sucking, but also bacon. The stomach of pigs performs the following functions, such as: formation of gastric juice and enzymes; promotion of a food coma, followed by the formation of chyme; transportation to the duodenum. In addition, knowledge of the basics of the formation of the cardiovascular system is necessary for veterinary specialists engaged in various manipulations in the abdominal cavity. Blood drainage from the gastrointestinal tract is of great diagnostic importance in various diseases associated with the digestive system, such as: gastritis, gastroenteritis, gastric ulcer, intestinal obstruction, portosystemic shunts Cadaveric material for research was delivered to the Department of Animal Anatomy of the Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education of the Leningrad Region from the pig breeding complex. The objects are corpses of Yorkshire pigs of two age groups: newborns (1 day of postnatal ontogenesis) and 30 days from birth. To study the age and breed characteristics of the venous bed of pigs, a set of modern anatomical research methods was used: fine anatomical dissection; filling of the venous bed with latex followed by macromorphometry; vasorentgenography. In the course of our study, it was found that from the wall of the stomach in the area of its great curvature and large omentum, venous blood outflows into the right and left gastro-omentum veins, where the left gastro-omentum vein flows into the splenic vein, collecting blood from the wall of the stomach of its cardiac department and tissues of the spleen, and the right gastro-omentum the vein merges with the gastrointestinal duodenum to form the right gastric vein, diverting blood from the stomach wall of its pyloric section and the initial part of the duodenum. Numerous small veins of the diverticulum merge into the left gastric vein. This is an anatomical and topographic feature of the venous bed of Yorkshire pigs.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Особенности строения и топографии камер многокамерного желудка телят чёрно-пёстрой породы / Н. В. Зеленевский, А. В. Прусаков, М. В. Щипакин [и др.] // Иппология и ветеринария. – 2017. – № 2(24). – С. 34-37.

2. Особенности строения многокамерного желудка телят чёрно-пёстрой породы (сообщение второе) / М. В. Щипакин, Н. В. Зеленевский, А. В. Прусаков [и др.] // Иппология и ветеринария. – 2017. – № 3 (25). – С. 103-107.

3. Особенности кровоснабжения многокамерного желудка козы англо-нубийской породы / М. В. Щипакин, Н. В. Зеленевский, Д. С. Былинская [и др.] // Современные проблемы морфологии: Материалы научной конференции, посвященной памяти академика РАН, профессора Льва Львовича Колесникова, Москва, 10 декабря 2020 года. – Москва: Издательско-полиграфический центр "Научная книга", 2020. – С. 265-267.

4. Морфология желудка кролика породы немецкий великан / М. В. Щипакин, Н. В. Зеленевский, А. В. Прусаков, Д. С. Былинская // Материалы международной научной конференции профессорско-преподавательского состава, научных сотрудников и аспирантов СПбГАВМ, Санкт-Петербург, 22–26 января 2018 года. – Санкт-Петербург: Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины, 2018. – С. 110-112.

5. Methods for studying the ductus venosus in animals / S. Melnikov, D. Bylinskaya, N. Zelenevskiy [et al.] // FASEB Journal. – 2022. – Vol. 36, No. S1. – P. 3727. – DOI 10.1096/fasebj.2022.36.S1.R3727.

6. Багатомовний словник анатомічних термінів (українсько-латинсько-

англійсько-російсько-білорусько-польсько-румунський): Навчальний посібник / В. А. Костюк, E. Pasicka, М. В. Щипакин [et al.]. – Київ: Аграр Медіа Груп, 2016. – 840 p.
7. Мельников, С. И. Топография и васкуляризация рубца у овец эдильбаевской породы в возрастном аспекте / С. И. Мельников, М. В. Щипакин // Аграрное образование и наука - в развитии животноводства: Материалы Международной научно-практической конференции, посвященной 70-летию заслуженного работника сельского хозяйства РФ, почетного работника ВПО РФ, лауреата государственной премии УР, ректора ФГБОУ ВО Ижевская ГСХА, доктора сельскохозяйственных наук, профессора Любимова Александра Ивановича. В 2-х томах., Ижевск, 20 июля 2020 года. Том I. – Ижевск: Ижевская государственная сельскохозяйственная академия, 2020. – С. 301-304.
8. Мельников, С. И. Особенности ветвления венозного русла многокамерного желудка овец эдильбаевской породы в возрастном аспекте / С. И. Мельников // Актуальные вопросы ветеринарной медицины и лабораторной диагностики: материалы международной научно-практической конференции, посвященной 100-летию со дня рождения профессора В.В. Рудакова, Санкт-Петербург, 25–26 мая 2023 года. – Санкт-Петербург: Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины, 2023. – С. 201-204.
9. Полянская, А. И. Магистральные венозные сосуды желудка свиньи породы йоркшир в возрастном аспекте / А. И. Полянская, М. В. Щипакин // Нормативно-правовое регулирование в ветеринарии. – 2024. – № 1. – С. 105-108. – DOI 10.52419/issn2782-6252.2024.1.105.
10. Веремеева, С. А. Морфологическая оценка желудка и его сосудистой системы у кроликов / С. А. Веремеева, К. А. Сидорова // Аграрный вестник Урала. – 2017. – № 6(160). – С. 1.
11. Анатомия воротной вены печени у собак породы английский пойнтер / В. А. Хватов, М. В. Щипакин, Д. В. Васильев, С. С. Глушонок // Актуальные проблемы ветеринарии и интенсивного животноводства: Материалы национальной научно-практической конференции, посвященной 82-летию со дня рождения Заслуженного работника высшей школы РФ, Почётного профессора Брянской ГСХА, доктора ветеринарных наук, профессора Ткачева Анатолия Алексеевича, Брянск, 26–27 ноября 2020 года. Том Часть 1. – Брянск: Брянский государственный аграрный университет, 2020. – С. 153-155.
12. Былинская, Д. С. Анатомия венозного протока у плода северного оленя / Д. С. Былинская, М. В. Щипакин, В. А. Хватов // Иппология и ветеринария. – 2022. – № 4(46). – С. 51-57.
13. Маленьких, Н. А. Венозная васкуляризация туловища свиньи породы ландрас / Н. А. Маленьких, С. И. Мельников // Знания молодых для развития ветеринарной медицины и АПК страны: материалы XI международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых, Санкт-Петербург, 24–25 ноября 2022 года. – Санкт-Петербург: Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины, 2022. – С. 251-252.

REFERENCES

1. Features of the structure and topography of the chambers of the multicameral stomach of black-and-white calves / N. V. Zelenevsky, A.V. Prusakov, M. V. Shchipakin [et al.] // Hippology and veterinary medicine. – 2017. – № 2(24). – Pp. 34-37.
2. Features of the structure of the multicameral stomach of black-and-white calves (second message) / M. V. Shchipakin, N. V. Zelenevsky, A.V. Prusakov [et al.] // Hippology and veterinary medicine. – 2017. – № 3 (25). – Pp. 103-107.
3. Features of blood supply to the multicameral stomach of an Anglo-Nubian goat / M. V. Shchipakin, N. V. Zelenevsky, D. S. Bylinskaya [et al.] // Modern problems of morphology: Materials of a scientific conference dedicated to the memory of Academician of the Russian Academy of Sciences, Professor Lev Lvovich Kolesnikov, Moscow, Decem-

ber 10, 2020. – Moscow: Publishing and Printing Center "Scientific Book", 2020. – pp. 265-267.
4. Morphology of the stomach of a German giant rabbit / M. V. Shchipakin, N. V. Zelenevsky, A.V. Prusakov, D. S. Bylinskaya // Materials of the international scientific conference of the faculty, researchers and postgraduates of St. Petersburg State University of Economics, St. Petersburg, January 22-26, 2018. – St. Petersburg: St. Petersburg State Academy of Veterinary Medicine, 2018. – pp. 110-112.
5. Methods for studying the ductus venosus in animals / S. Melnikov, D. Bylinskaya, N. Zelenevskiy [et al.] // FASEB Journal. – 2022. – Vol. 36, No. S1. – P. 3727. – DOI 10.1096/ fasebj.2022.36.S1.R3727.
6. Bagatomov dictionary of anatomical terms (Ukrainian-Latin-English-Russian-bilorusko-Polish-rumunsky): Navchalny posibnik / V. A. Kostyuk, E. Pasicka, M. V. Shchipakin [et al.]. Kiev: Agrar Media Group, 2016. – 840 p.
7. Melnikov, S. I. Topography and vascularization of the scar in sheep of the Edilbaev breed in the age aspect / S. I. Melnikov, M. V. Shchipakin // Agrarian education and science - in the development of animal husbandry: Materials of the International Scientific and Practical Conference dedicated to the 70th anniversary of the Honored Worker of Agriculture of the Russian Federation, Honorary Worker of the Higher Educational Institution of the Russian Federation, laureate of the State Prize of the Russian Academy of Sciences, Rector of the Izhevsk State Agricultural Academy, Doctor of Agricultural Sciences, Professor Alexander Ivanovich Lyubimov. In 2 volumes., Izhevsk, July 20, 2020. Volume I. Izhevsk: Izhevsk State Agricultural Academy, 2020. – pp. 301-304.
8. Melnikov, S. I. Features of branching of the venous bed of the multicameral stomach of sheep of the Edilbaev breed in the age aspect / S. I. Melnikov // Topical issues of veterinary medicine and laboratory diagnostics: materials of the international scientific and practical conference dedicated to the 100th anniversary of the birth Professor V.V. Rudakov, St. Petersburg, May 25-26, 2023. – St. Petersburg: St. Petersburg State University of Veterinary Medicine, 2023. – pp. 201 -204.
9. Polyanskaya, A. I. The main venous vessels of the stomach of a Yorkshire pig in the age aspect / A. I. Polyanskaya, M. V. Shchipakin // Normative legal regulation in veterinary medicine. - 2024. – No. 1. – pp. 105-108. – DOI 10.52419/issn2782-6252.2024.1.105.
10. Veremeeva, S. A. Morphological assessment of the stomach and its vascular system in rabbits / S. A. Veremeeva, K. A. Sidorova // Agrarian Bulletin of the Urals. – 2017. – № 6(160). – C. 1.
11. Anatomy of the portal vein of the liver in English pointer dogs / V. A. Khvatov, M. V. Shchipakin, D. V. Vasiliev, S. S. Glushonok // Actual problems of veterinary medicine and intensive animal husbandry: Materials of the national scientific and practical conference dedicated to the 82nd anniversary of the birth of the Honored Worker of the Higher School of the Russian Federation, Honorary Professor of the Bryansk State Agricultural Academy, Doctor of Veterinary Sciences, Professor Anatoly Alekseevich Tkachev, Bryansk, November 26-27, 2020. Volume Part 1. – Bryansk: Bryansk State Agrarian University, 2020. – pp. 153-155.
12. Bylinskaya, D. S. Anatomy of the venous duct in a reindeer fetus / D. S. Bylinskaya, M. V. Shchipakin, V. A. Khvatov // Hippology and veterinary medicine. – 2022. – № 4(46). – Pp. 51-57.
13. Malynkhich, N. A. Venous vascularization of the trunk of a Landrace pig / N. A. Malynkhich, S. I. Melnikov // Knowledge of the young for the development of veterinary medicine and the agro-industrial complex of the country: materials of the XI international scientific conference of students, postgraduates and young scientists, St. Petersburg, November 24-25, 2022. – St. Petersburg: St. Petersburg State University of Veterinary Medicine, 2022. – pp. 251-252.

УДК: 575.854:636.92
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.4.350

ГОМЕОСТАЗ ОРГАНИЗМА ПОДСВИНКОВ ПРИ ДОБАВЛЕНИИ В КОРМА ПОЛИСАХАРИДА ХИТОЗАН

Зирук И.В.* – д-р ветеринар. наук, доц., проф. каф. морфологии, патологии животных и биологии; **Копчекчи М.Е.** – канд. ветеринар. наук, доц., доц. каф. морфологии, патологии животных и биологии; **Фролов В.В.** – асп.; **Копчекчи К.А.** – студ.

ФГБОУ ВО «Вавиловский университет»

*iziruk@yandex.ru

***Ключевые слова**: кровь, подсвинки, полисахариды, хитозан, организм, гомеостаз.*

***Key words:** blood, piglets, polysaccharides, chitosan, organism, homeostasis.*

Поступила: 10.10.2024 **Принята к публикации: 02.12.2024**
Опубликована онлайн:16.12.2024

РЕФЕРАТ

В настоящее время достаточно часто в разных отраслях и сферах производств используют полисахариды с различными определенными свойствами. Полисахарид хитозан в современной медицине хорошо себя зарекомендовал. Хитозан – природный полимер, его уникальная особенность - способность ингибировать вирусные инфекции, а также он проявляет свойства энтеросорбента, фактора регулятора кислотности желудочного сока и способен предотвращать развитие фаговых инфекций в зараженной культуре микроорганизмов. Так, в условиях ООО Агрофирмы «Рубеж» Пугачевского района Саратовской области была изучена биологическая безопасность и экономическая целесообразность применения полисахарида хитозан в рацион подсвинков крупной белой породы. В статье рассматривается влияние полисахарида – хитозана на общий гомеостаз организма подсвинков. На базе ветеринарной клиники ФГБОУ ВО «Вавиловский университет» провели сравнительный анализ на протяжении всего опытного периода по следующим гематологическим показателям: эритроциты, 10^{12}/л; гематокрит, %; гемоглобин, г/л; лейкоциты 10^{9}/л; общий белок, г/л; АЛТ, ед/л; АСТ ед/л; креатинин, ммоль/л; мочевина, ммоль/л; билирубин, ммоль/л. Помимо изучения изменения морфологических и биохимических показателей крови, в работе также отслеживали показатели прироста контрольной и опытной групп. Полученные данные доказывают, что изучаемый аминополисахарид не оказывает отрицательного воздействия на организм изучаемых животных, а наоборот нормализует показатели внутреннего гомеостаза и повышает течение метаболических процессов организма подсвинков. По результатам исследования, было установлено повышение уровня рентабельности животных опытной группы, за счёт снижения себестоимости потребляемых кормов. Соответственно, это свидетельствует об улучшении экономических показателей хозяйства.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

В настоящее время достаточно часто в разных отраслях и сферах производств используют полисахариды с различными определенными свойствами. Достаточно разнообразный спектр продуцентов биополимеров и их положительные свойства делают полисахариды наиболее востребованными в медицине, в ветеринарии или промышленности. Значительную перспективу имеют препараты из хитина ракообразных.

Хитозан – природный полимер, одной из его уникальных особенностей является способность ингибировать вирусные инфекции у животных, а также он проявляет свойства энтеросорбента, фактора регулятора кислотности желудочного сока и способен предотвращать развитие фаговых инфекций в зараженной культуре микроорганизмов [1,2].

Некоторые авторы утверждают, что хитозан является богатейшим источником натуральных пищевых волокон, связывающих жиры и выводящий их в непереваренном виде из организма, достаточно хорошо связывает с помощью своих водородных связей, органические вещества и комбинации гидрофобных взаимодействий, что делает полисахарид отличным адъювантом, а также антиоксидантом [3].

Важной частью гомеостаза организма является кровь, как самая информативная ткань. На качественный и количественный состав крови оказывают влияние разнообразные факторы: возраст, уровень кормления и условия содержания, физиологическое состояние, генотип животного, пол, сезон года и др. Морфологические и биохимические её показатели объективно отражают сложные цепочки взаимосвязи организма животного и внешней среды [4,5,6]

Также, её морфологические и биохимические показатели отражают интенсивность протекания обменных процессов в организме, неразрывно связаны с его ростом, развитием или продуктивностью.

Цель опыта – изучить влияние полисахарида Хитозана на общий гомеостаз организма подсвинков.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

В условиях ООО Агрофирмы «Рубеж» Пугачевского района Саратовской области был проведен научно – производственный опыт на подсвинках крупной белой породы.

Так, в ходе опыта были сформированы 2 группы животных: контрольная и опытная. Животные содержались в общепринятых условиях агрофирмы. Опытной группе ежедневно в рацион с водой включали полисахарид Хитозан в дозе 0,03 г/кг. Для исследования гематологических показателей животных производился забор крови из ярёмной вены: в начале, середине и в конце опыта. В условиях ветеринарной клиники ФГБОУ ВО «Вавиловский университет» был проведен анализ необходимых показателей. Возраст животных на начало опыта составлял 3-и месяца, к концу 7 месяцев.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Количественные гематологические показатели крови исследуемых животных в начале опыта всех изучаемых нами групп находились на относительно одинаковом уровне и в пределах физиологической, а также возрастной нормы.

Эритроциты важный гематологический показатель, функция которого заключается в переносе кислорода от легких к тканям и органам, а углекислого газа от тканей к легким. Красные кровяные тельца в комплексе с гемоглобином, принимают непосредственное участие в процессах гликолиза и обеспечивают стабильное протекание окислительно-восстановительных процессов.

Концентрация эритроцитов у подсвинков всех подопытных групп в начале опытного периода находилась на относительно стабильном уровне и составляла 5,9*1012/л, что соответствует их физиологической норме, согласно возрасту. Данные представлены на рисунке 1.

К 4-х месячному возрасту, изучаемый показатель у животных контрольной группы составлял 6,2±0,01*1012/л, в опытной группе равнялся 6,3±0,02*1012. Исходя из рисунка 1, количество эритроцитов в 7-и месячном возрасте у подсвин-

ков опытной группы повысилось на 17,2% ($p \leq 0,01$) по сравнению с показателями начала опыта.

Судить об интенсивности окислительно-восстановительных процессов у животных принято по количеству гемоглобина в их крови. Усредненные показатели приведены на рисунке 2.

У подсвинков опытной группы при добавлении в корма полисахарида мы можем наблюдать положительную динамику в увеличении показателей гемоглобина у животных опытной группы на конец опытного периода по сравнению с аналогами контроля на 7,7%.

В результате проведенных исследований установлено, что показатели гематокрита находились на стабильно одинаковом уровне по протяжении всего опытного периода и в пределах физиологической нормы, согласно их возрасту, как в контрольной, так и в опытной группе подсвинков. Так, гематокрит увеличивался с 3-х месячного возраста 43,1±0,50 мм3 ($p\leq 0,05$), и по достижению 7-и месяцев составлял 46,5±0,56 мм3 ($p\leq 0,05$) в опытной группе, в группе контроля показатели 3-х месячного возраста составляли 40,8±0,50 мм3 мм3 ($p\leq 0,05$) и к 7-и месяцам 40,6±0,50 мм3 мм3 ($p\leq 0,05$). Соответственно, показатели гематокрита группы опыта и группы контроля на конец опытного периода отличаются на 12,6%.

Данный факт указывает на то, что применение полисахарида не оказывает отрицательного воздействия на морфологические показатели крови, тем самым способствуя поддержанию гомеостаза в организме животных.

Огромную роль в специфической и неспецифической защите организма от внешних и внутренних патогенных агентов играют лейкоциты.

Таблица 1 – Морфологические и биохимические показатели крови подсвинков

Показатели	Возраст подсвинков					
	3 мес.		5 мес.		7 мес.	
	Группы					
	Контроль	Опытная	Контроль	Опытная	Контроль	Опытная
1	2	3	4	5	6	7
Эритроциты, 10^{12}/л	6,1± 0,01	5,8± 0,01	6,2± 0,01	6,3± 0,02	6,6± 0,02	6,8± 0,02**
Гематокрит, %	40,8± 0,77	43,1± 0,63*	41,1± 0,66	45,0± 0,65*	40,6± 0,77	46,5± 0,76*
Гемоглобин, г/л	123,2± 0,43	131,0± 0,33*	125,5 ± 0,41	134,2± 0,41	125,7± 0,24	136,2± 0,23**
Лейкоциты, 10^{9}/л	9,75± 0,20	8,1± 0,10	9,0± 0,19	8,5± 0,14*	9,1± 0,07	8,6± 0,09*
Общ. белок, г/л	69,6± 0,06	69,4± 0,06	68,2± 0,08	75,2± 0,05*	70,2± 0,04	69,0± 0,07
АЛТ, ед/л	21,7± 0,55	19,0± 0,63	22,7± 0,74	27,4± 0,63*	26,9± 0,70	27,9± 0,74*
АСТ, ед/л	32,5± 0,44	33,6± 0,32	33,0± 0,56	36,0± 0,61*	34,0± 0,57	35,5± 0,57*
Креатинин, ммоль/л	86,5± 0,34	90,2± 0,28	84,2± 0,61	101,5± 0,42	87,1± 0,44	96,3± 0,57
Мочевина, ммоль/л	5,8± 0,03	5,2± 0,08	5,6± 0,09	5,4± 0,10	5,7± 0,07	5,3± 0,06
Билирубин, мкмоль/л	6,4± 0,005	5,9± 0,007**	6,2± 0,008	6,1± 0,008	6,5± 0,006*	6,0± 0,008

*Примечание: * $p\leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$.*

Рисунок 1 – Количество эритроцитов в крови подсвинков исследуемых групп, 10^{12}/л.

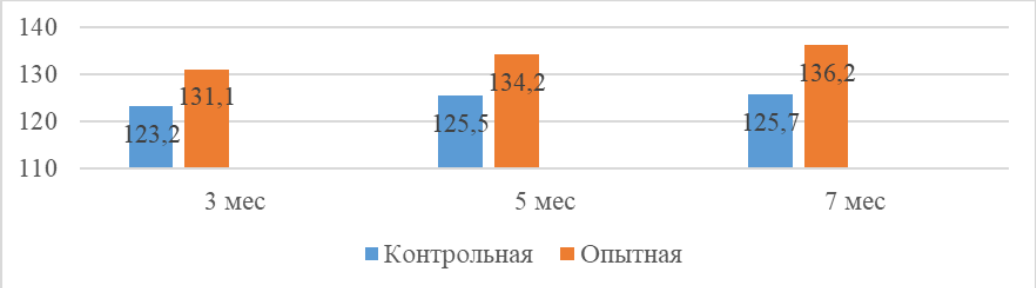


Рисунок 2 – Количество гемоглобина в крови подсвинков исследуемых групп, 10 г/л.

Рисунок 3 – Количество лейкоцитов в крови подсвинков исследуемых групп, 10^{9}/л.

Диаграмма, представленная на рисунке 3, свидетельствует об изменениях количество лейкоцитов у подопытных подсвинков, которые протекали следующим образом. В начале опытного периода содержание лейкоцитов во всех группах в среднем находилось на одинаковом уровне и составляло 8,8*10^{9}/л. В течение опытного периода содержание лейкоцитов колебалось незначительно, но находилось в пределах физиологической и возрастной нормы. В 7-и месячном возрасте содержание лейкоцитов было следующим: в контроле 9,1±0,07*10^{9}/л, в опытной группе 8,6±0,09*10^{9}/л ($p \leq 0,05$), соответственно.

Стабильное количественное содержание лейкоцитов в крови исследуемых животных указывает на то, что включение в комбикорма полисахарида обеспечивает в целом достаточно высокую общую резистентность организма и не оказывает отрицательного воздействия.

Концентрация общего белка в сыворотке крови является одним из основных показателей интенсивности роста животных. Содержание показателя зависит от различных факторов: кормления животных, уровня содержания, видовых или породных особенностей. Исследования-

ми, проведенными доказано, что добавление в рационы свиней Хитозана повышает обменные процессы. Так, концентрация общего белка у подсвинков опытной группы превосходила на 8,9% по сравнению с таковыми контроля, на конец опыта.

Аспартатаминотрансфераза (АСТ) и аланинаминотрансфераза (АЛТ) - два эндогенных фермента, которые характеризуют функциональную активность организма. Проводя анализ активности показателей нами установлено, что их значение во всех изучаемых группах находилось относительно на стабильном уровне, не выходя за пределы физиологической и возрастной нормы. Так, в начале исследований в среднем показатели АСТ и АЛТ составляли 33,05±0,32 ед/л и 20,35±0,35 ($p \leq 0,05$), соответственно.

Необходимо отметить, что к концу опытного периода у подсвинков, которые получали в составе рациона добавку, были более высокие значения трансфераз. Уровень аланинаминотрансферазы и аспартатаминотрансферазы у подсвинков опытной группы составляли 35,5±0,77 ед/л ($p \leq 0,05$) и 27,9±0,88 ед/ л ($p \leq 0,05$), что на 1,5 и 1,0 ед/л больше, чем у интактных животных.

Таким образом, можно заключить, что более интенсивно белковый обмен веществ протекал у животных опытной группы.

Поддержание энергетического обмена и азотистого равновесия в организме животных напрямую зависит от показателей креатинина и мочевины. Так, на протяжении опытного периода данные показатели варьировали в пределах физиологической и возрастной нормы.

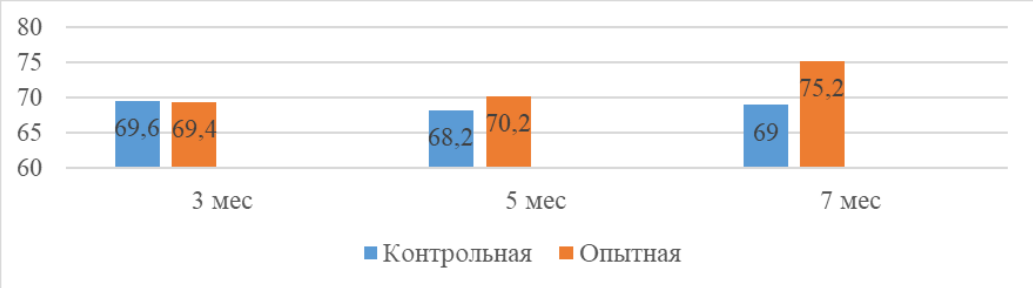


Рисунок 4 – Концентрация общего белка в сыворотке крови подсвинков исследуемых групп, г/л.

Рисунок 5 – Концентрация креатинина в сыворотке крови подсвинков исследуемых групп, ммоль/л.

В начале опытного периода концентрация креатинина и мочевины в сыворотке крови животных составляла 88,35±0,34 ммоль/л и 5,5±0,08 ммоль/л, соответственно. К концу эксперимента наблюдали увеличение показателей креатинина и мочевины в опытной группе, но они также находились в пределах нормы согласно возрасту. Приведённые данные свидетельствуют о стабильном функциональном состоянии почек подсвинков.

Показатель пигмента билирубина в крови позволяет судить о наличии и развитии патологического процесса в организме животных

Добавление в комбикорма подсвинков полисахарида не оказывало негативного влияния на организм животных, что и доказывают данные, представленные на рисунке 7.

Рисунок 6 – Концентрация мочевины в сыворотке крови подсвинков исследуемых групп, ммоль/л.

Рисунок 7 – Уровень билирубина в сыворотке крови подсвинков исследуемых групп, мкмоль/л.

Данные рисунка 7, показывают, что на протяжении всего опыта количество билирубина в сыворотке крови подсвинков находилось в пределах их физиологической нормы, согласно их возрасту. У животных в 3-х месячном возрасте содержание билирубина составляло 6,15±0,007 ммоль/л ($p \leq 0,01$) во всех опытных группах. В контрольной группе в 5-и месячном возрасте изучаемый показатель составлял 6,2±0,008 мкмоль/л, в опытной – 6,1±0,008 ($p \leq 0,05$). В 7-и месячном возрасте концентрация билирубина составляла в контроле 6,5±0,006 мкмоль/л, в опытной группе – 6,0±0,008, соответственно.

Таким образом, добавление в рационы подсвинков полисахарида Хитозана не оказывает негативного воздействия на исследуемые показатели крови подсвинков, а, напротив несколько улучшает течение метаболических процессов поддерживая при этом гомеостаз организма.

Значимым критерием при определении наиболее оптимальной кормовой добавки в рационах является экономическая эффективность в результате её включения

в состав комбикормов.

Для расчета результативности использования полисахарида взяты данные о продуктивности всех исследуемых групп подсвинков за период научно- производственного эксперимента. Экономическую эффективность при применении полисахарида в кормлении подсвинков на откорме рассчитывали в ценах, установленных в свиноводческих хозяйствах на период проведения исследований (2022 год).

Показатели экономической эффективности в результате проведенных исследований представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Экономическая эффективность при применении полисахарида

Показатели	Контроль	Опыт
Средняя живая масса в начале опыта, кг.	36,5±0,04	44,5±0,08
Средняя живая масса в середине опыта, кг.	72,2±0,07	81,0±0,06
Средняя живая масса в конце опыта, кг.	84,6±0,12	101,3±0,14
Абсолютный прирост, кг.	48,1±0,08	56,8±0,05
Среднесуточный прирост, г.	534,0±0,02	631,0±0,04
Стоимость полисахарида, руб/кг.	-	1550
Количество использованного полисахарида, г.	---	634,4
Затраты кормов на 1 кг прироста живой массы, к.ед.	7,6	6,4
Затраты кормов на 1 кг прироста живой массы, руб.	11071	12148
Стоимость кормов, руб.	8341	8341
Общие затраты, руб.	19418	20489
Реализационная цена, руб/кг.	200	200
Выручка от реализации, руб.	16920	20260
Прибыль, руб.	12066	15138
Рентабельность, %.	17,3	19,4

Прирост одной головы подсвинков опытной группы составил 56,8 кг, что выше, чем у животных контроля на 16,9 кг. Прибыль, полученная от животных контрольной группы, составила 12066 руб., что на 3072 рублей ниже, по сравнению с животными, получавшими в составе рациона полисахарид хитозан в дозе 0,03 г/кг в сутки.

Уровень рентабельности у животных опытной группы был выше на 2,1 %, по сравнению с контрольной. Результаты производственной апробации показали, что получена дополнительная продукция с минимальной себестоимостью.

Проведенные нами гомеостатические исследования организма подсвинков позволили установить отсутствие отрицательного влияния добавления в рационы подсвинков полисахарида-Хитозан. Данный результат согласуется с исследованиями Дежаткиной С.В. (2020-2021), Абрашевой Т.Д. (2013) о влиянии комплексов пищевых добавок, натурального происхождения, на организм лабораторных животных. Также, результат нашего научно – производственного опыта, подтверждает научные работы Камской Е.В. (2016), Зирук И.В. (2023) о положительном влияние полисахарида-Хитозана на повышение естественной резистентности организма животных. Динамика восстановления и достижения нормы гематологических показателей крови животных при использовании натурального комплекса в их кормлении, согласуются с исследованиями Зирук, И.В. (2012), Салаутина В.В. (2017). Таким образом, проведенный эксперимент подтверждает результаты научных работ современных

учёных России.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

На основании вышеизложенных данных, полученных в результате научно-производственного опыта можно заключить, что добавление в комбикорма подсвинков полисахарида положительно влияет на общий гомеостаз подсвинков, при этом снижает себестоимость потребляемых кормов, улучшая экономические показатели хозяйства.

HOMEOSTASIS OF THE BODY OF GILTS WHEN THE POLYSACCHARIDE CHITOSAN IS ADDED TO THE FEED

Ziruk I.V.* – Doctor of Veterinary Sciences, Associate Professor, Professor of the Department of Morphology, Pathology of Animals and Biology; **Kopchekchi M.E.** – Cand. Veterinary Sciences, Associate Professor, Associate Professor of Morphology, pathology of animals and Biology; **Frolov V.V.** – graduate student; **Kopchekchi K.A.** – student.

Vavilov University

*iziruk@yandex.ru

ABSTRACT

Currently, polysaccharides with various specific properties are used quite often in different industries and spheres of production. The polysaccharide chitosan has proven itself well in modern medicine. Chitosan is a natural polymer, its unique feature is the ability to inhibit viral infections, and it also exhibits the properties of an enterosorbent, a factor regulating the acidity of gastric juice and is able to prevent the development of phage infections in an infected culture of microorganisms. Thus, in the conditions of OOO Agrofirma Rubezh, Pugachev District, Saratov Region, the biological safety and economic feasibility of using the polysaccharide chitosan in the diet of Large White pigs were studied. The article considers the effect of the polysaccharide chitosan on the general homeostasis of the pigs' body. On the basis of the veterinary clinic of the Vavilov University, a comparative analysis was conducted throughout the entire experimental period for the following hematological parameters: erythrocytes, 1012 / l; hematocrit, %; hemoglobin, g/l; leukocytes, 109/l; total protein, g/l; ALT, U/l; AST U/l; creatinine, mmol/l; urea, mmol/l; bilirubin, mmol/l. In addition to studying changes in morphological and biochemical blood parameters, the work also monitored the growth rates of the control and experimental groups. The data obtained prove that the studied aminopolysaccharide does not have a negative effect on the body of the animals studied, but on the contrary, normalizes the indicators of internal homeostasis and improves the course of metabolic processes in the body of pigs. According to the results of the study, an increase in the level of profitability of animals in the experimental group was established due to a decrease in the cost of feed consumed. Accordingly, this indicates an improvement in the economic performance of the farm.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1.Дежаткина, С. В. Влияния аминокислотного комплекса "витамин" на биохимические показатели крови мышей / Зялалов Ш. Р., Ильинская М. А., Шаронина Н. В., Дежаткина С. В., Мухитов А. З. // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. - 2021.- Т.- 246.- №2.- С. 88 -93.

2.Дежаткина, С.В. Изучение влияния добавок цеолита и наноцеолита на организм и динамику массы крыс / Воротникова И.А., Дежаткина С.В., Любин Н.А., Шаронина Н.В., Панкратова Е.В. // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана.- 2020.- Т.- 244.- №4.- С. 57-60.

3.Зирук, И.В. Влияние комплекса хелатов на уровень резистентности и белковый обмен подсвинков / Зирук И.В. // Молодые ученые в решении актуальных проблем науки. Материалы международной научно-практической конференции молодых ученых и специалистов. ФГБОУ ВО "Южно-Уральский государственный аг-

рарный университет». - 2016. - С. 134-137.
4.Салаутин, В.В. Динамика накопления минеральных веществ в организме подсвинков / Салаутин В.В., Дёмкин Г.П., Зирук И.В., Лукьяненко А.В., Егунова А.В., Копчекчи М.Е. // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии.- 2017.-№4.- С. 126-127.
5.Камская, В.Е. Хитозан: структура, свойства и использование / В.Е. Камская // Научное обозрение. биологические науки. - 2016. - №6. - 36-42 с.
6.Зирук И.В. Основные показатели гомеостаза крыс после применения полисахаридов / Зирук И.В., Копчекчи М.Е., Фролов В.В., Копчекчи К.А. // Ветеринария, Зоотехния и Биотехнология. - 2023. - № 6. – С.16-23.

REFERENCES

1.Dejatkina, S. V. Influences the amino acid complex "Vitamin" of the biochemical indicators of Krovi M. R., Ilyinskaya M. A., Sharonina N. V., Dejatkina S. V., Mukhitov A. Z. // Scientist / notes Kazan State Academy of Veterinary Medicine. N.E. Baumana. - 2021.- T.- 246.- №2.- S. 88-93.
2.Dejatkina, S.V. Study of the influences added to the ceolite and nanoceolite of organism and dynamics mass.A., Dejatkina S.V., Lubin N.A., Sharonina N.V. It's Pankratova.V. // Scientist / notes Kazan State Academy of Veterinary Medicine. N.E. Baumana.- 2020.- T.- 244.- №4.- S. 57-60.
3.Ziruk, I.V. Influence of the chelatov complex of uroven resistance and Belkov, and exchange of subvinkov / Ziruk and.V. // Molod wawrame scientist in solutionsexciting the actual wawrame problem Sciences. Material wawrl international scientific and practical conferences molod wawrl scientist and specialist. FGBU in "South Ural State University of Agriculture and agriculture." - 2016.- S. 134-137.
4.Salautin, V.V. Dynamics of the complex mineralnabh substance in the organism subvinkov / Salautin V.V. Demkin G.P. Ziruk I.V. Lukyanenko A.V., Egunova A.V., Kopchekci M.Well. // Vopros. Regulatory-Legal Regulation in veterinarians. - 2017.-№4.- S. 126-127.
5.Kamskaya, V.Well. Chitosan: structure, properties and strength / C.Well. Kamskaya / / scientific observation. Biological Sciences. - 2016. - №6. - 36-42 PP.
6.Ziruk I.V. Homeostasis metrics are then replaced by polysaccharide / Ziruk and.V., Kopchekci M.Well., Frolov V.V. Kopchekci K.A. // Veterinary, Zootechnics and biotechnology. - 2023.- № 6. - S.16-23.

УДК: 616.39-084-092.19:599.323.45
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.4.359

ПРОФИЛАКТИКА МЕТАБОЛИЧЕСКИХ РАССТРОЙСТВ У КРЫС ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ СТРЕССА

Крячко О.В. – д-р ветеринар. наук, проф., зав. каф. патологической физиологии (ORCID 0000-0002-8996-8522); **Лукоянова Л.А.*** – канд. ветеринар. наук, доц., доц. каф. патологической физиологии (ORCID 0000-0003-4785-9632)

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины»

* Lukoyanovala@yandex.ru

Ключевые слова: *моделирование, холодовой стресс, коррекция, крысы, постстрессовые реакции, кровь, метаболические расстройства*

Key words: *modeling, cold stress, correction, rats, post-stress reactions, blood, metabolic disorders*

Поступила: 13.11.2024 **Принята к публикации: 02.12.2024**
Опубликована онлайн:16.12.2024

РЕФЕРАТ

Стресс у животных представляет собой серьезную проблему, которая влияет на их здоровье, продуктивность и общее благополучие. В условиях современного животноводства крайне важно разрабатывать методы, которые помогут минимизировать стресс и его последствия. Одним из таких подходов является использование органических кислот, которые оказывают положительное воздействие на метаболизм и адаптационные процессы у животных. Целью данного исследования стало изучение влияния органоминеральной добавки Клим на метаболические процессы у крыс в условиях холодового стресса. Для этого была проведена работа с лабораторными крысами, которые были разделены на три группы: интактную, контрольную (подверженную холодовому стрессу) и опытную (получающую добавку Клим при стрессовых условиях). Холодовой стресс моделировали помещением животных в морозильную камеру при температуре -18°С на 4 часа двукратно с интервалом 24 часа. Результаты показали, что стресс значительно ухудшал состояние белкового обмена и активировал катаболические процессы в контрольной группе, что выражалось в повышении уровня общего белка и мочевины, а также в снижении активности щелочной фосфатазы. В опытной группе, получавшей добавку Клим, отмечали отсутствие значительных изменений белкового обмена, что свидетельствует о ее эффективности для снижения негативного влияния стресса. Исследование подтвердило, что добавка Клим способствовала улучшению общего состояния животных и их адаптации к стрессовым условиям, что подчеркивает потенциал использования органических добавок в животноводстве для повышения здоровья и продуктивности. Результаты показывают необходимость дальнейших исследований в области применения добавок для минимизации стресса и улучшения благополучия животных в аграрном секторе.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Стресс у животных — это распространенное явление, которое может существенно влиять на их здоровье, продуктивность и общее благополучие. Как у продуктивных, так и у непродуктивных животных стрессовые реакции способны вызывать изменения в физиологических процессах, приводя к снижению продуктивности и ухудшению качества жизни (1, 2). В условиях современного животноводства и сельского хозяйства важно разрабатывать методы, способствующие минимизации стресса и его последствий для животных. Одним из многообещающих подходов является использование органических кислот (3). Эти соединения не только играют важную роль в метаболизме, но и могут оказывать положительное влияние на здоровье животных, способствуя улучшению их адаптивных процессов и защите от стресса.

Целью исследования – изучить влияние органоминеральной добавки Клим на метаболические процессы у крыс при моделировании холодового стресса.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHOD S

Исследования проводили на базе кафедры патологической физиологии ФГБОУ ВО СПбГУВМ. Объект исследования - лабораторные крысы, самцы, четырехмесячного возраста, массой 350-400гр.

Все экспериментальные животные были разделены на три группы по 7 крыс:

- Интактная, животные этой группы никаким манипуляциям не подвергались, находились на стандартном рационе.

- Контрольная, животным данной группы проводили моделирование холодового стресса, животные находились на стандартном рационе.

- Опытная группа, животным этой группы проводили моделирование холодового стресса и к основному рациону они ежедневно получали кормовую добавку Клим в дозировке 1 гр на 5 килограмм корма.

В качестве модели стресса был выбран холодовой стресс, который осуществляли помещением животных, находящихся в стандартных клетках, в морозильную камеру бытового холодильника при температуре -180С на 4 часа двукратно с интервалом 24 часа.

Для оценки состояния метаболизма проводили биохимические исследования сыворотки крови. Кровь для анализа отбирали через 2 часа после окончания эксперимента. Весь цифровой материал подвергали статистическому анализу с применением Microsoft Excel.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

По результатам исследования было выявлено, что стрессовое воздействие оказало значительное влияние на белковый обмен животных контрольной группы, так уровень общего белка в сыворотке крови был достоверно выше уровня общего белка у крыс в интактной группе на 18% ($p \leq 0,05$), что свидетельствует об активном выходе тканевых белков в результате протеолиза под действием стресса (5). А уровень общего белка у крыс опытной группы достоверных отличий от интактных животных не имел и находился в пределах референсных значений.

Кроме того, в сыворотке крови контрольных животных повышалось относительное содержание глобулинов, что также указывает на усиление катаболических процессов у них, тогда как в интактной и опытной группе величина альбумино-глобулинового коэффициента находилась в пределах нормативных значениях.

Концентрация мочевины, как метаболита белка, у животных контрольной группы была выше референсных значений, что свидетельствовало об усилении катаболизма белка (2).

Стрессовая ситуация оказала влияние на ферментативную активность. Активность АЛТ в исследуемых группах достоверных отличий не имела, активность АСТ была достоверно выше ($p \leq 0,05$) у животных контрольной группы: на 18% по отношению к интактной и на 12% по отношению к опытной группе, однако во всех исследуемых группах показатель находился в пределах референсных значений. Увеличение активности АСТ, кото-

рая является внутриклеточным ферментом, и присутствует как в цитоплазме, так и в митохондриях, может свидетельствовать об уменьшении стабильности клеточных мембран и повышении их проницаемости под воздействием стресса (1).

Активность щелочной фосфатазы у животных контрольной группы была достоверно ниже на 36% ($p \leq 0,05$), чем у животных интактной группы за счет подавления ее биосинтеза. Это может происходить из-за уменьшения количества каталитических белков (5). У животных опытной группы по отношению к животным интактной группы значимых различий показателя не было выявлено.

У животных контрольной группы под влиянием стресса возрастал уровень глюкозы, был выше референсных значений, и достоверно отличался от показателя у животных интактной группы. Это связано с тем, что во время стресса адреналин и кортизол способствуют выведению глюкозы в кровь, замедляют ее утилизацию мышцами, а также снижают чувствительность тканей к инсулину (2, 4). У животных опытной группы уровень глюкозы оставался в пределах референсных значений, и достоверных отличий от показателей интактной группы отмечено не было.

Таблица 1 – Метаболические показатели в сыворотке крови крыс после моделирования холодового стресса (M±m, n=7)

Показатель	Референсные значения	Группы животных		
		Интактная	Контрольная	Опытная
Общий белок, г/л	59 - 82	71,34±5,21	84,06±3,86*	74,5±4,97
Альбумин, г/л	25 - 38	32,12±1,11	29,16±0,78*	33,14±2,09
Глобулин, г/л	36-48	39,22±4,22	54,9±3,56*	41,36±5,49
Альбумины %	40-65	45,02±1,01	34,69±1,38*	44,48,8±4,59
Глобулины %	35-60	54,98±1,01	65,31±1,38*	55,51±4,59
Альбумины/глобулины, коэф.	0,8-2,4	0,81±0,02	0,53±0,01*	0,80±0,02
Мочевина, ммоль/л	3 - 7,8	6,08±1,01	8,99±0,57*	6,36±1,17
Креатинин, моль/л	44 - 85	83,94±14,48	62,62±2,44*	59,56±4,92
Билирубин, мкмоль/л	1,5-4,2	3,12±0,44	3,18±0,74	3,34±0,86
АЛТ, Е/л	34 - 76	54,36±5,51	63,96±9,75	51,18±12,84
АСТ, Е/л	60 - 223	131,2±29,45	154,65±40,54*	127,2±25,88
Щелочная фосфатаза, Е/л	61 - 287	218,76±44,51	140,72±39,31*	190,1±28,99
Глюкоза, моль/л	3 - 13	11,88±1,14	15,64±4,47*	8,48±0,69

*Примечание: * - отличия статистически достоверны при сравнении показателей опытной и контрольной групп с показателями интактной группы, $p \leq 0,05$.*

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Таким образом, результаты нашего исследования подтверждают эффективность применения органических кислот, в данном случае добавки Клим, для улучшения адаптации животных к стрессовым условиям. У животных опытной группы наблюдалось минимальное снижение метаболизма белка, оптимизация метаболических процессов и адаптации, улучшение общего состояния, что свидетельствует о способности пищевой добавки нивелировать негативные последствия стресса.

Результаты нашего исследования подчеркивают важность внедрения подобных кормовых добавок в практику животноводства, что будет способствовать улучшению здоровья животных и повышению их продуктивности. Понимание механизмов действия органических кислот открывает новые горизонты для разработки стратегий минимизации стресса в аграрном секторе и может способствовать бо-

лее устойчивому и эффективному производству сельскохозяйственной продукции.

PREVENTION OF METABOLIC DISORDERS IN RATS DURING STRESS MODELING

Kriyachko O.V. – Dr. Vet. Sci., Prof., Head of the Department of Pathophysiology (ORCID 0000-0002-8996-8522), **Lukoyanova L.A.* –** Cand. Veterinary sciences, associate professor of the Department of Pathophysiology (ORCID 0000-0003-4785-9632)

St. Petersburg State University of Veterinary Medicine

*Lukoyanovala@yandex.ru

ABSTRACT

Stress in animals poses a serious problem that affects their health, productivity, and overall well-being. In modern livestock farming, it is extremely important to develop methods that help minimize stress and its consequences. One such approach is the use of organic acids, which have a positive impact on metabolism and adaptive processes in animals. The aim of this study was to investigate the effects of the organic-mineral supplement Klim on metabolic processes under conditions of cold stress. For this purpose, a study was conducted with laboratory rats, which were divided into three groups: intact, control (subjected to cold stress), and experimental (receiving the Klim supplement under stress conditions). Cold stress was modeled by placing the animals in a freezer at a temperature of -18°C for 4 hours. The results showed that stress significantly impaired protein metabolism indicators and activated catabolic processes in the control group, as evidenced by increased levels of total protein and urea, as well as decreased alkaline phosphatase activity. In the experimental group receiving the Klim supplement, there were no significant changes in protein metabolism parameters, indicating its effectiveness in reducing the negative effects of stress. The study confirmed that the Klim supplement contributed to the improvement of the overall condition of the animals and their adaptation to stress conditions, highlighting the potential for using organic additives in livestock farming to enhance health and productivity. The results indicate the need for further research into the application of various additives to minimize stress and improve the well-being of animals in the agricultural sector.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1.Геок, И. В. Влияние окислительного стресса in vitro на биохимические показатели сыворотки крови представителей классов птиц и млекопитающих / И. В. Геок // Бюллетень медицинских интернет-конференций. – 2015. – Т. 5, № 5. – С. 507 -509.

2.Кидун, К.А. Изменение биохимических показателей сыворотки крови у крыс линии Вистар, перенесших хронический стресс / К. А. Кидун, А. Н. Литвиненко, Т. С. Угольник [и др.] // Проблемы здоровья и экологии. – 2019. – № 4(62).

3.Крячко, О. В. Влияние кормовой добавки Клим на обменные процессы у коров после отела / О. В. Крячко, Л. А. Лукоянова // Международный вестник ветеринарии. – 2021. – № 4. – С. 185-189. – DOI 10.52419/issn2072-2419.2021.4.185.

4.Крячко, О. В. Динамика уровня циркулирующих иммунных комплексов в сыворотке крови у кроликов при модельных стрессах / О. В. Крячко, Л. А. Лукоянова // Международный вестник ветеринарии. – 2020. – № 3. – С. 135-138. – DOI 10.17238/issn2072-2419.2020.3.135.

5.Ряднов, А. А. Мониторинг биохимических показателей крови свиней, характеризующих белковый обмен, под влиянием адаптогена стресс-корректора / А. А. Ряднов, Е. В. Петухова // Современное научное знание в условиях системных изменений : материалы Первой национальной научно-практической конференции, Тара, 10–11 мая 2016 года / Омский государственный аграрный университет имени П.А. Столыпина, Тарский филиал. – Тара: Омский государственный аграрный университет имени П.А. Столыпина, 2016. – С. 46-48.

REFERENCES

1.Geok, I. V. The effect of oxidative stress in vitro on the biochemical parameters of blood serum of representatives of the classes of birds and mammals / I. V. Geok // Bulletin of medical Internet conferences. – 2015. – T. 5, № 5. – P. 507-509.

2.Kidun, K.A. Changes of the biochemical parameters of the blood serum of wistar rats exposed to chronic stres / Kidun K.A., Litvinenko A.N., Ugolnik T.S., Golubykh N.M., Solodova E.K. // Health and environmental issues. – 2019. – № 4(62).

3.Kryachko, O.V. Dynamics of the level of circulating immune complexes in blood serum in rabbits under model stresses/ Kryachko O.V., Lukoyanova L.A.// International Bulletin of Veterinary Medicine. – 2020. – № 3. – C. 135-138. – DOI 10.17238/issn2072-2419.2020.3.135.

4.Kryachko, O.V. The effect of klim feed additive on metabolic processes in cows after calving / Kryachko O.V., Lukoyanova L.A. // International Bulletin of Veterinary Medicine. – 2021. – № 4. – C. 185-189. – DOI 10.52419/issn2072-2419.2021.4.185.

5.Ryadnov A.A. Monitoring of biochemical parameters of pigs blood, characterizing protein metabolism under the influence of adaptogen of stress corrector / Ryadnov A.A., Petukhova E.V. // Modern scientific knowledge in the context of systemic changes: materials of the First National Scientific and Practical Conference, Tara, May 10-11, 2016 / Omsk State Agrarian University named after P.A. Stolypin, Tarsky branch: Omsk State Agrarian University named after P.A. Stolypin, 2016. – P. 46-48

УДК: 616.61-008.64:612.466.23.01
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.4.364

МОДЕЛИРОВАНИЕ ХРОНИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ ПОЧЕК У КРЫС МОДИФИЦИРОВАННЫМ МЕТОДОМ 5/6 НЕФРЭКТОМИИ

Матичина А.А. – науч. сотр. отдела специфической токсикологии и фармакодинамики (ORCID 0000-0002-2996-0748); **Каранина В.Д. * –** науч. сотр. отдела специфической токсикологии и фармакодинамики (ORCID 0000-0001-9536-9676); **Устенко Ж.Ю.** – канд. ветеринар. наук, зам. руководителя отдела гистологии и патоморфологии (ORCID 0000-0003-1299-0200); **Мирошников М.В.** – канд. мед. наук, руководитель отдела лабораторной диагностики (ORCID 0000-0002-9828-3242); **Матичин А.А. –** руководитель отдела специфической токсикологии и фармакодинамики (ORCID 0000-0001-7478-4942)

АО «НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ»

* karanina.vd@doclinika.ru

Ключевые слова: *хроническая болезнь почек, экспериментальная модель, артериальное давление, скорость клубочковой фильтрации, иммуногистохимия, нефрэктомия, крысы.*

Key words: *chronic kidney disease, experimental model, arterial pressure, glomerular filtration rate, immunohistochemistry, nephrectomy, rats.*

Поступила: 23.09.2024 **Принята к публикации: 02.12.2024**
Опубликована онлайн:16.12.2024

РЕФЕРАТ

Хроническая болезнь почек (ХБП) – это широко распространенное заболевание человека, которое характеризуется длительным нарушением структуры или функции почек в результате замещения нормальных анатомических структур фиброзом. Патофизиология данного процесса изучена не до конца, что осложняет разработку профилактических средств, раннюю диагностику и терапию начальных стадий заболевания. В связи с этим, моделирование ХБП в условиях отечественных научных центров является актуальной задачей российской фармакологии. Выполнение 5/6 нефрэктомии на крысах рекомендуется многими учеными как «золотой стандарт» для данной патологии. В настоящем исследовании была успешно сформирована ХБП у крыс Wistar модифицированным методом 5/6 нефрэктомии: лигирование сосудистого пучка целиком вместо отдельных ветвей почечной артерии. У двух групп животных (контроль и патология) проводили комплекс клинико-лабораторных и патоморфологических исследований с целью определения критериев формирования ХБП. Повышение артериального давления и снижение клиренса креатинина позволили оценить прогрессирование заболевания у экспериментальных животных: к концу эксперимента данные изменения были частично обратимы, что характеризует выраженную адаптационную способность крыс. Для подтверждения формирования

патологии выполняли гистологическую (гематоксилин и эозин, трихром по Массону) и иммуногистохимическую (CD68, Caspase-3) окраску срезов почек. В результате патоморфологического исследования были обнаружены характерные для ХБП изменения: участки апоптоза эпителия канальцев и образование фиброза со скоплениями CD68+ макрофагов. Таким образом были определены критерии формирования ХБП у крыс модифицированным методом 5/6 нефрэктомии.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Хроническая болезнь почек (ХБП) – это длительное (не менее трех месяцев) нарушение структуры или функции органа, которое характеризуется сниженной скоростью клубочковой фильтрации (СКФ) и/или гиперальбуминурией. Международное общество нефрологии в 2021 году объявило, что более 850 млн человек страдают от ХБП по всему миру [1]. Развитие ХБП ассоциируется с возрастным снижением функции почек и наличием сопутствующих патологий: артериальной гипертензии, диабета, первичных ренальных патологий. Среди людей старше 65 лет каждый четвертый мужчина и каждая пятая женщина страдают данным заболеванием [2].

В основе патогенеза ХБП находится процесс замещения нормальных анатомических структур фиброзом, приводящий к его дисфункции. Фиброз является необратимым, хроническим состоянием, возникающим в ответ на повреждение клубочков, канальцев и интерстиция вследствие действия различных этиологических факторов [3]. К ним относят оксидативный стресс, воспаление, ишемически-реперфузионное повреждение, диабет I и II типа и употребление нефротоксических веществ, которыми являются многие современные фармакологические препараты [4]. Острые процессы, приводящие к нарушению функциональности почек, в течение трех месяцев могут завершиться полным выздоровлением с сохранением клеточных популяций органа, выздоровлением с резидуальным дефектом (снижением клеточной массы органа) или гибелью органа [5]. В настоящее время не существует лекарственных средств эффективных при сформированной ХБП, используется только симптоматическая терапия [4]. В связи с этим, своевременное использование профилактических средств, ранняя диагностика и терапия начальных стадий развития нарушений почечной функции способны предотвратить прогрессирование патологии и значительно снизить риск летальных осложнений [6]. Все это делает актуальной разработку препаратов, направленных на купирование острых патологических процессов в почках.

Моделирование ХБП у лабораторных животных позволяет понять ее патофизиологические механизмы и предоставляет ценную информацию для доклинического тестирования новых лекарственных средств. В качестве тест-систем традиционно используются грызуны в соответствии с принципами «3R's» (Replacement, Reduction, Refinement) и по экономическим соображениям как животные, которые филогенетически отстоят дальше от человека, чем более сложные виды [7]. Индукцию патологии чаще всего выполняют хирургически или путем введения различных химических веществ. К оперативным методам относят: одностороннюю обструкцию мочеточников, одностороннее ишемически-реперфузионное повреждение почек и субтотальную нефрэктомию 5/6 ткани почек. Первые две модели вызывают формирование выраженного интерстициального фиброза и повреждение канальцев, однако прижизненная оценка развития патологии затруднена в связи с компенсаторной активностью контрлатеральной почки. В свою очередь, 5/6 нефрэктомия является классической и широко распространенной моделью, основой патогенеза которой является гибель нефронов [8]. Поскольку в строении почки можно выделить условно 3 участка, то суммарную почечную массу можно представить как 6 частей. Метод 5/6 нефрэктомии заключается в удалении одной почки (3 части) и повреждении 2 частей контралатеральной почки в результате лигирования нижней и верхней

сегментальной артерии (инфаркт) или путем отсечения краниального и каудального полюсов органа (полюсэктомия). В качестве тест-систем большинство исследователей выбирают самцов крыс линий Wistar или Sprague-Dawley. Зарубежные исследования демонстрируют, что инфарктная модель по сравнению с полюсэктомией приводит к более выраженному развитию ХБП: усиленная протеинурия, стремительно развивается артериальная гипертензия средней или тяжелой степени [9]. Именно данные показатели позволяют прижизненно отслеживать прогрессирование болезни. При микроскопии гистологических препаратов обнаруживают: склероз клубочков, атрофию канальцев и интерстициальный фиброз [8]. В результате оксидативного стресса, вызванного ишемией-реперфузией почки, в тканях увеличивается уровень активных форм кислорода, что приводит к снижению проницаемости мембран митохондрий с активацией Caspase-3 и апоптоза клеток [10]. Одновременно с этим на протяжении формирования патологии происходит инфильтрация макрофагов разных фенотипов в зависимости от стадии развития почечной недостаточности. CD68 является общим маркером макрофагов как для острой, так и для хронической фазы почечной недостаточности [11].

Лигирование нижней и верхней сегментальной артерии почки (классический способ моделирования ХБП) у крыс является кропотливым и длительным процессом, требующим привлечения высококвалифицированных сотрудников с навыками микрохирургии, что значительно затрудняет его выполнение на большом количестве животных, достаточным для проведения доклинического исследования. Данный способ индукции патологии нас не устроил по экономическим и гуманным соображениям, поскольку сопряжен с повышенным риском повреждения тканей почек и гибели животных. Цель нашего исследования – модифицировать классический метод 5/6 нефрэктомии для упрощения операции, следствием чего является повышение выживаемости и уменьшение боли и страдания животных. К задачам относилось определение критериев формирования данной патологии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

В качестве тест-системы использовали самцов крыс Wistar в возрасте 8-12 недель (250-350 г), полученных из питомника АО НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ». Самцы крыс были выбраны как наиболее часто используемые лабораторные животные для моделирования ХБП [8]. Животные содержались в контролируемых условиях окружающей среды, в стандартных пластиковых клетках с решетчатыми крышками. Крыс разделили на две группы: группа контроля и группа патологии (n=10). В 1-й день эксперимента крысам из контрольной группы выполняли ложную операцию, крысам из группы патологии – 5/6 нефрэктомию модифицированным методом. Данное исследование было проведено на базе доклинического центра АО НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ» и одобрено для проведения на заседании биоэтической комиссии № 1.56/22 от «28» декабря 2022 г. Степень тяжести процедур предварительно была определена как тяжелая.

Индукция патологии проводилась хирургически методом 5/6 нефрэктомии [12, 13, 14], модифицированным с целью упрощения процедуры и повышения выживаемости животных. В ходе операции проводилась правосторонняя нефрэктомия и лигирование сосудистого пучка левой почки на 45 минут с последующей реперфузией. Стороны были выбраны неслучайно: согласно нашему опыту, доступ к воротам левой почки более удобен для хирурга, что позволяет быстрее и аккуратнее наложить лигатуру. Хирургическое вмешательство проводили с соблюдением правил асептики и антисептики.

Животные вводились в глубокий наркоз посредством внутривенного введения растворенной в физиологическом растворе (1:1) комбинации агониста центральных альфа-2-адренорецепторов (МНН: Ксилазин) и комплексного анестетика (МНН: Тилетамин + Золазепам) в

дозах 25 мг/кг и 5 мг/кг соответственно. С целью сохранения внутривенного доступа в латеральной вене хвоста оставляли внутривенный катетер 26G для дополнительной инъекции анестетика при необходимости.

Для выполнения 5/6 нефрэктомии животное укладывали в стернальное положение. Выполняли парамедиальный разрез кожи спины длиной 3-5 см вдоль позвоночного столба на 1-1,5 см ниже последнего ребра. Обеспечивали доступ к левой почке: отступив 1-2 см от позвоночного столба, ножницами проводили разрез мышц с левой стороны длиной 1,5-3 см. Аккуратно извлекали левую почку и очищали ворота органа от жировой ткани. Накладывали двойной узел стерильной хирургической нитью «Поликон» (размер 4) на сосудистый пучок, не захватывая расположенный более каудально мочеточник. Для упрощения последующего развязывания перед наложением лигатуры под узел подкладывали стерильную толстую нить контрастного цвета. Затем начинали отсчет 45 минут, погружали почку обратно в ретроперитонеальное пространство и приступали к правосторонней нефрэктомии. Для этого осуществляли второй разрез мышц, аналогичный первому, но с правой стороны. После очистки органа от жировой ткани на сосудистый пучок и мочеточник ближе к воротам почки накладывали сосудистый атравматический зажим. Ниже зажима накладывали прошивную лигатуру (хирургический шелк, размер USP 2/0), выше зажима отрезали правую почку. Убедившись в отсутствии кровотечения, ушивали мышечный слой простым узловатым швом. По истечении 45 минут повторно извлекали левую почку (рисунок 1), снимали наложенные узлы и возвращали орган на место. Аналогичным образом проводили ушивание мышц слева. Убедившись в чистоте раны, ушивали кожу простым узловатым швом, обрабатывали швы антибактериальным спреем. Животным из группы контроля осуществляли только разрез мышц слева и справа с последующим ушиванием, без извлечения почек (ложная операция).

Рисунок 1 – Левая почка крысы после 45-минутного лигирования сосудистого пучка. Цвет почки изменен, нижняя треть и часть средней трети почки имеют более светлый цвет – участок ишемии.

В рамках постоперационной терапии животным давали курс антибактериального препарата (МНН: Тилозин) в дозе 10 мг/кг подкожно 2 раза в день в течение 5 дней; а также обезболивающего препарата (МНН: Трамадол) в дозе 12,5 мг/кг внутримышечно 1 раз в день в течение 3 дней. Первое введение препаратов осуществляли перед операцией. Первые 10 дней после операции животные содержались в стандартных клетках индивидуально, корм в виде гранул размещали на полу клетки, поскольку прооперированные животные испытывали трудности с потреблением его из решетчатого углубления. Степень тяжести процедур по факту выполнения операции определена как умеренная.

Все клинические показатели регистрировали на четырех временных точках: до индукции патологии (фон), на 14-й день, 37-й день и 84-й день эксперимента. У

крыс отбирали кровь для биохимического анализа, измеряли артериальное давление неинвазивным методом при помощи аппарата «Систола» (ООО «Нейроботикс», Россия). Для выполнения общего и биохимического анализа мочи и оценки суточного диуреза животных помещали в метаболические клетки на 24 ч, предварительно обеспечивая водную нагрузку путем однократного внутрижелудочного введения питьевой воды в объеме 1 мл/100 г массы тела. В крови и моче определяли уровень общего белка, креатинина, мочевины, натрия, кальция, активность аспартатаминотрансферазы (АСТ), аланинаминотрансферазы (АЛТ), лактатдегидрогеназы (ЛДГ), щелочной фосфатазы (ЩФ), гамма-глутамил транспептидазы (ГГТ) [15]. Расчет клиренса креатинина (СКФ) выполняли по следующей формуле:

$$\text{СКФ (мл/мин)} = \frac{\text{Креатинин}_{\text{моча}}\text{(мкмоль/л)} \times 50 \times \text{Суточный диурез (мл)}}{\text{Креатинин}_{\text{кровь}}\text{(мкмоль/л)} \times 1440 \text{ мин}}$$

где 50 – степень разведения, 1440 минут = 24 часа.

На 85-й день проводили эвтаназию в два этапа: помещение в CO_2-камеру, проверка отсутствия рефлексов и затем удаление жизненно важных органов. Для патоморфологического исследования изготавливали срезы тканей почек по общепринятой методике [16]. Выполняли окраску гематоксилином и эозином, трихромом по Массону и иммуногистохимическими наборами. Количественную оценку выраженности экспрессии белков CD68 и Caspase-3 проводили путём анализа 5 полей зрения при увеличении 400. Для CD68 считали количество положительно окрашенных клеток в поле зрения. Для Caspase-3 считали индекс апоптоза эпителия канальцев как частное количества положительно окрашенных эпителиальных клеток и общего количества эпителиальных клеток в поле зрения.

Данные были проверены на соответствие закону нормального распределения с помощью критерия Шапиро-Уилка. При соответствии закону нормального распределения рассчитывались среднее значение (M) и стандартная ошибка среднего (SEM), внутри- и межгрупповые сравнения проводили при помощи критерия Стьюдента. В случае несоответствия нормальному распределению для выборки определяли медиану (Me) и квартильный размах (Q1; Q3), внутри- и межгрупповые сравнения выполняли при помощи критерия Манна-Уитни. Результаты статистической обработки вместе со значением n (количество наблюдений) представлены в таблицах.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Пери- и постоперационная смертность животных отсутствовала. По результатам клинико-лабораторных исследований было выявлено только два информативных показателя: клиренс креатинина и артериальное давление. Остальные параметры не различались клинически значимо между группами. Из всех животных, подвергнутых 5/6 нефрэктомии, развитие ХБП отмечали у 70% крыс: у остальных животных не отмечали снижение СКФ и повышение АД. Клиренс креатинина в обеих группах после операции на 15-й день статистически значимо снизилась относительно фоновых значений (таблица 1). Уменьшение СКФ у ложно оперированных животных является проявлением острого постоперационного периода и обусловлено индивидуальной чувствительностью крыс. У контрольных животных уже на 37-й день клиренс креатинина вернулся к норме, в то время как в группе патологии данный показатель оставался статистически значимо пониженным по сравнению с исходным уровнем и ложно-оперированными крысами. Восстановление СКФ у подвергнутых нефрэктомии животных было зарегистрировано на 85-й день эксперимента, что свидетельствует о наступлении компенсаторной фазы заболевания.

При анализе изменений систолического (САД) и диастолического (ДАД) артериального давления животных с нефрэктомией были отмечены периоды формирования патологии и адаптации. На 15-й и 37-й дни наблюдали статистически значимое повышение САД и ДАД относительно исходных значений и показателей кон-

трольной группы (таблица 2), что было вызвано нарушением функции почек. На 83-й день наблюдали результат адаптации органа к дефициту нефронов: показания САД и ДАД приблизились к фоновым измерениям.

Во время вскрытия крыс, подвергнутых 5/6 нефрэктомии, наблюдали увеличенную почку с патологическими очагами в ней (рисунок 2), ее утолщенная, помутнённая капсула имела спайки с различными органами брюшной полости.

Таблица 1 – Средняя скорость клубочковой фильтрации в экспериментальных группах, M±SEM, мл/мин

Группа	N	фон	15-й	37-й	85-й
Контрольная (ложная операция)	10	1,08±0,12	0,63±0,08^{A}	1,06±0,19	1,76±0,18^{A}
Патология	7	1,15±0,13	0,55±0,14^{A}	0,51±0,14^{A,B}	1,14±0,13^{B}

Примечания:

A – Статистически значимые отличия от фоновых значений в соответствующей группе (критерий Стъюдента для зависимых данных, p<0,05);

B – Статистически значимые отличия от контрольной группы в соответствующий день (критерий Стъюдента для независимых данных, p<0,05).

Таблица 2 – Среднее артериальное давление в экспериментальных группах, M±SEM, мм рт. ст.

День эксперимента	Контрольная группа (n=10)		Группа патологии (n=7)	
	САД	ДАД	САД	ДАД
фон	102±2,9	86±2,9	108±5,4	96,3±6,8
15-й	104±4,5	87±4,4	134±10,9 ^{A,B}	110±6,8 ^{B}
37-й	107±3,1	91±2,8	133±4,4 ^{A,B}	112±3,1 ^{A,B}
83-й	100±3,2	86±2,9	119±5,7 ^{B}	99±4,7 ^{B}

Примечания:

A – Статистически значимые отличия от фоновых значений в соответствующей группе (критерий Стъюдента для зависимых данных, p<0,05);

B – Статистически значимые отличия от контрольной группы в соответствующий день (критерий Стъюдента для независимых данных, p<0,05).

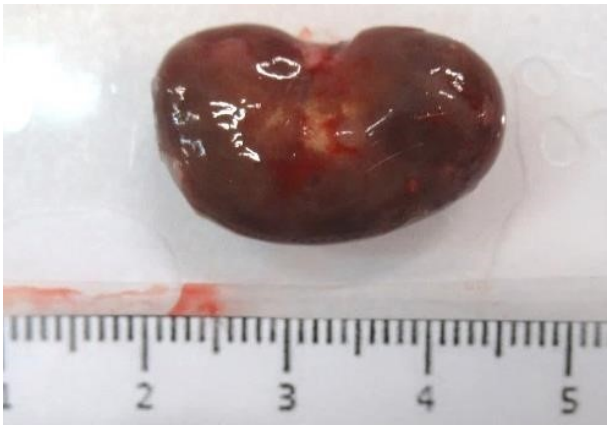


Рисунок 2 – Эвисцерированная левая почка крысы группы патологии: патологический очаг желтого цвета.

При исследовании срезов наблюдали очаговые инфильтраты гемосидерофагов, что указывает на наличие у этих животных давних кровоизлияний [17]. Кроме того, у животных группы патологии отмечали дегенерацию эпителия проксимальных и дистальных почечных канальцев. При микроскопическом исследовании срезов, окрашенных по Массону, в группе с моделированием патологии положительно окрашивались соединительнотканные волокна стромы и участков фиброза, свидетельствующие о хроническом течении патологического процесса, в отличие от контрольной группы, в которой наблюдали окрашивание только элементов стромы.

При микроскопическом исследовании срезов, окрашенных на CD68, отмечали положительную мембранную и цитоплазматическую окраску некоторых лимфоидных клеток, инфильтрирующих области фиброза и паренхимы почек. В обеих группах обнаруживались единично расположенные CD68+ клетки между канальцев и периваскулярно, а в группе патологии дополнительно наблюдали скопления CD68+ клеток в областях фиброза. При микроскопическом исследовании срезов, окрашенных на Caspase-3, регистрировали положительную мембранную и цитоплазматическую окраску эпителиальных клеток канальцев в обеих группах крыс, которая была более выражена в группе патологии (рисунок 3).

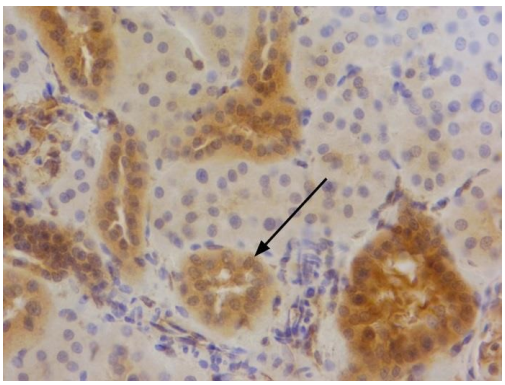


Рисунок 3 – Срез почки крысы из группы патологии: эпителиальные клетки почечных канальцев в состоянии апоптоза (стрелка). Окраска на Caspase-3. Увеличение 400.

Таблица 3 – Показатели иммуногистохимического анализа тканей почек (5 стекол/животное)

Группа	N	Caspase-3 (индекс апоптоза), M±SEM	CD68+, Me (Q1;Q3)
Контрольная (ложная операция)	50	29,6±1,89	1 (0;3)
Патология	35	40,4±2,47[A]	5 (3;10) [A]

Примечание – А – Статистически значимые отличия от контрольной группы (критерий Стьюдента для независимых данных, критерий Манна-Уитни, $p<0,05$).

У животных, подвергнутых 5/6 нефрэктомии, отмечали статистически значимое увеличение экспрессии CD68 и индекса апоптоза (Caspase-3) в сравнении с контрольной группой (таблица 3). Наблюдаемое изменение совпадает с литературными данными, которые объясняют его как результат оксидативного стресса, вызванного 45-минутной ишемией с последующей реперфузией почки на фоне односторонней нефрэктомии, а также инфильтрации макрофагов [10, 11].

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

В ходе проведенного исследования была успешно сформирована хроническая болезнь почек у крыс Wistar хирургиче-

ским модифицированным методом 5/6 нефрэктомии. Выбор правосторонней нефрэктомии и упрощение операции до лигирования сосудистого пучка целиком вместо отдельных ветвей почечной артерии позволило значительно упростить операцию и снизить риски повреждения органа, что особенно актуально в условиях проведения научно-исследовательской работы с большим количеством животных. Измерение артериального давления и клиренса креатинина позволило оценить прогрессирование патологии: к концу эксперимента артериальная гипертензия была частично обратима, снижение СКФ – полностью обратимо, что свидетельствует о высоком компенсаторном потенциале у данного вида животных. В результате гистологического и иммуногистохимического исследований срезов почек были обнаружены участки апоптоза эпителия канальцев и фиброза со скоплениями CD68+ макрофагов – изменения, характерные для ХБП. Таким образом, к критериям формирования ХБП у крыс модифицированным методом 5/6 нефрэктомии можно отнести: снижение СКФ, повышение АД, дегенерация эпителия почечных канальцев и образование фиброза, которые выявляются гистологической или иммуногистохимической окраской (CD68, Caspase-3).

INDUCING OF CHRONIC KIDNEY DISEASE IN RATS USING THE MODIFIED 5/6 NEPHRECTOMY

Matichina A.A. – Research Scientist of the Department of Specific Pharmacology and Pharmacodynamics (ORCID: 0000-0002-2996-0748); **Karanina V.D.** * – Research Scientist of the Department of Specific Pharmacology and Pharmacodynamics (ORCID: 0000-0001-9536-9676); **Ustenko Zh.Yu.** – Candidate of Sciences in Veterinary, Deputy Head of Department of Histology and Pathomorphology (ORCID: 0000-0003-1299-0200); **Miroshnikov M.V.** – Candidate of Sciences in Medicine, Head of the Laboratory Diagnostics Department (ORCID: 0000-0002-9828-3242); **Matichin A.A. –** Head of the Department of Specific Pharmacology and Pharmacodynamics (ORCID: 0000-0001-7478-4942)

RMC «HOME OF PHARMACY»

* karanina.vd@doclinika.ru

ABSTRACT

Chronic kidney disease (CKD) is a wide spread human illness defined as long-lasting abnormalities of kidney structure or function due to fibrosis and destruction of the normal architecture of the kidney. Pathophysiology of this process is not completely understood; thus, development of prophylactics, early detection and therapy of initial stage are complicated. Therefore, inducing of CKD in local research centers is a relevant objective for Russian pharmacology. 5/6 nephrectomy in rats is recommended by many scientists as "gold standard"' for this pathology. In this study CKD was successfully induced in Wistar rats using 5/6 nephrectomy, modified to meet the requirements of a large preclinical center. Two animal groups (control and pathology) underwent a complex of clinical diagnostic tests and pathological examination, so the CKD criteria could be specified. Elevated blood pressure and decreased glomerular filtration rate enabled assessment of the disease progress in experimental animals. At the end of the study these symptoms were partly reversible revealing prominent adaptability of rat kidney. In order to confirm pathology formation, we performed histological (hematoxylin-eosin, Masson's trichrome) and immonohistochemical (CD68, Caspase-3) staining of kidney sections. During pathomorphological study we found alterations specific for CKD: apoptosis of tubule epithelium and fibrosis area crowded by CD68+ macrophages. Thus, we identified antemortem and postmortem criteria of CKD induced by modified 5/6 nephrectomy in rats in Russian research center.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. KDIGO 2024 Clinical Practice Guideline for the Evaluation and Management of Chronic Kidney Disease

2. Hill N.R., Fatoba S.T., Oke J.L. et al. Global Prevalence of Chronic Kidney Dis-

ease – A Systematic Review and Meta-Analysis // PLoS ONE. – 2016. – Vol. 11, No 7. – P. e0158765.
3. Vaidya S.R., Aeddula N.R. Chronic Renal Failure. [Updated 2022 Oct 24]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 Jan-. URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK535404/ (дата обращения 05.2024 г.)
4. Jivishov E., Nahar L., Sarker S. D. Nephroprotective natural products // Annual Reports in Medicinal Chemistry. – 2020. – Vol. 55, Chapter 8. – p. 251-271.
5. Хроническая болезнь почек (ХБП) // Клинические рекомендации. – 2021. – 233 с. – URL: https://rusnephrology.org/wp-content/uploads/2020/12/CKD_final.pdf (дата обращения 05.2024 г.)
6. Заморский И. И. и др. Влияние пептидов на морфофункциональное состояние почек у старых крыс // Успехи геронтологии. – 2018. – Т. 31. – №. 4. – С. 498-504.
7. Принципы выбора животных для научных исследований. Сообщение 1. Выбор модельных организмов на основании филогенетических связей / М. Н. Макарова, А. А. Матичин, А. А. Матичина, В. Г. Макаров // Лабораторные животные для научных исследований. – 2022. – № 2. – С. 58-70.
8. Liang Jianqing, Liu Youhua Animal Models of Kidney Disease: Challenges and Perspectives // Kidney360. – 4(10). – p. 1479-1493.
9. Adam R.J., Williams A.C., Kriegel A.J. Comparison of the surgical resection and infarct 5/6 nephrectomy rat models of chronic kidney disease // Am J Physiol Renal Physiol. – 2022. – 322(6). – F639–F654.
10. Uddin M.J. et al. Pharmacotherapy against oxidative stress in chronic kidney disease: Promising small molecule natural products targeting nrf2-ho-1 signaling // Antioxidants. – 2021. – Vol. 10, No. 2. – P. 258.
11. Cantero-Navarro E. et al. Role of macrophages and related cytokines in kidney disease // Frontiers in medicine. – 2021. – Vol. 8. – P. 1037.
12. Rigalli, A., & Di Loreto, V. (Eds.). (2009). Experimental Surgical Models in the Laboratory Rat (1st ed.). CRC Press.
13. Yang H. C., Zuo Y., Fogo A. B. Models of chronic kidney disease //Drug Discovery Today: Disease Models. – 2010. – Vol. 7, No 1-2. – P. 13–19.
14. Conn, P. M. (Ed.). Animal models for the study of human disease. Academic Press. – 2017. – P. 393.
15. Мирошников М. В. и др. Комплексная оценка функционального состояния мочевыделительной системы в доклинических исследованиях. Часть 1. Инструментальные и лабораторные методы оценки (обзор) //Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. – 2024. – Т. 14. – №. 3. – С. 283-294.
16. Мужикян А.А., Макарова М.Н., Гущин Я.А. Особенности гистологической обработки органов и тканей лабораторных животных // Международный вестник ветеринарии. – 2014. – № 2. – С.103-109.
17. Del Bigio M.R., Yan H.J., Buist R., Peeling J. Experimental Intracerebral Hemorrhage in Rats. Magnetic Resonance Imaging and Histopathological Correlates // Stroke. – 1996. – Vol. 7, No 12. – P. 2312–23129.

REFERENCES

1. KDIGO 2024 Clinical Practice Guideline for the Evaluation and Management of Chronic Kidney Disease
2. Hill N.R., Fatoba S.T., Oke J.L. et al. Global Prevalence of Chronic Kidney Disease – A Systematic Review and Meta-Analysis // PLoS ONE. – 2016. – Vol. 11, No 7. – P. e0158765.
3. Vaidya S.R., Aeddula N.R. Chronic Renal Failure. [Updated 2022 Oct 24]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 Jan-. URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK535404/ (accessed on 05.2024)
4. Jivishov E., Nahar L., Sarker S. D. Nephroprotective natural products // Annual Reports in Medicinal Chemistry. – 2020. – Vol. 55, Chapter 8. – p. 251-271.
5. Chronic Kidney Disease (CKD) // Clinical recommendations. – 2021. – 233 p. – URL: https://rusnephrology.org/wp-content/uploads/2020/12/CKD_final.pdf (accessed

on 05.2024) (In Russ.)
6. Zamorsky I. I. et al. Effect of peptides on morphofunctional state of kidneys in old rats // Advances in Gerontology. – 2018. – V. 31. – No. 4. – p. 498-504. (In Russ.)
7. Principy` vy`bora zhivotny`x dlya nauchny`x issledovanij. Soobshhenie 1. Vy`bor model`ny`x organizmov na osnovanii filogeneticheskix svyazej / M. N. Makarova, A. A. Matichin, A. A. Matichina, V. G. Makarov // Laboratorny`e zhivotny`e dlya nauchny`x issledovanij. – 2022. – № 2. – C. 58-70. (In Russ.)
8. Liang Jianqing, Liu Youhua Animal Models of Kidney Disease: Challenges and Perspectives // Kidney360. – 4(10). – p. 1479-1493.
9. Adam R.J., Williams A.C., Kriegel A.J. Comparison of the surgical resection and infarct 5/6 nephrectomy rat models of chronic kidney disease // Am J Physiol Renal Physiol. – 2022. – 322(6). – F639–F654.
10. Uddin M.J. et al. Pharmacotherapy against oxidative stress in chronic kidney disease: Promising small molecule natural products targeting nrf2-ho-1 signaling // Antioxidants. – 2021. – Vol. 10, No. 2. – P. 258.
11. Cantero-Navarro E. et al. Role of macrophages and related cytokines in kidney disease // Frontiers in medicine. – 2021. – Vol. 8. – P. 1037.
12. Rigalli, A., & Di Loreto, V. (Eds.). (2009). Experimental Surgical Models in the Laboratory Rat (1st ed.). CRC Press.
13. Yang H. C., Zuo Y., Fogo A. B. Models of chronic kidney disease //Drug Discovery Today: Disease Models. – 2010. – Vol. 7, No 1-2. – P. 13–19.
14. Conn, P. M. (Ed.). Animal models for the study of human disease. Academic Press. – 2017. – P. 393.
15. Miroshnikov M. V. i dr. Kompleksnaya ocenka funkcional`nogo sostoyaniya mochevy`delitel`noj sistemy` v doklinicheskix issledovaniyax. Chast` 1. Instrumental`ny`e i laboratorny`e metody` ocenki (obzor) // Vedomosti Nauchnogo centra e`kspertizy` sredstv medicinskogo primeneniya. – 2024. – T. 14. – №. 3. – C. 283-294. (In Russ.)
16. Muzhikyan A.A., Makarova M.N., Gushhin Ya.A. Osobennosti gistologicheskoj obrabotki organov i tkanej laboratorny`x zhivotny`x // Mezhdunarodny`j vestnik veterinarii. – 2014. – № 2. – C.103-109. (In Russ.)
17. Del Bigio M.R., Yan H.J., Buist R., Peeling J. Experimental Intracerebral Hemorrhage in Rats. Magnetic Resonance Imaging and Histopathological Correlates // Stroke. – 1996. – Vol. 7, No 12. – P. 2312–23129.

УДК: 616.248-085:576.362:636.1
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.4.374

ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПРИМЕНЕНИЯ КОНДИЦИОНИРОВАННОЙ СРЕДЫ ИЗ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК ПРИ СИНДРОМЕ АСТМЫ ЛОШАДЕЙ

Романова О.В. [1*]– канд. ветеринар. наук, доц., интерн (ORCID 0000-0002-0750 -8654); **Крячко О.В**.[2] – д-р ветеринар. наук, проф., зав. каф. патологической физиологии (ORCID 0000-0002-8996-8522); **Довгий А.И.** [3] **–** канд. биол. наук, ген. директор (ORCID 0000-00019510-7078)

[1] ФГБОУ ВО «Донской агротехнологический университет»
[2] ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины»
[3] ООО «Т-хелпер КТ»

[*]vetsova@mail.ru

***Ключевые слова**: астма, лошади, секретом МСК.*
***Key words**: asthma, horses, secretom MSC.*

Поступила: 01.11.2024 **Принята к публикации: 02.12.2024**
Опубликована онлайн:16.12.2024

РЕФЕРАТ

Современная медицинская и ветеринарная практика всё больше ориентируется на использование органосберегающих и генномолекулярных технологий, способствующих восстановлению утраченных функций. В этом контексте клеточные технологии, включая создание рекомбинантных хемокинов и моноклональных антител, играют важную роль в таргетной терапии серьезных заболеваний. Клеточно-регенеративная медицина находит свое применение в заживлении кожных и мышечных структур, особенно у лошадей. В данной работе рассматривается возможность применения секретома мезенхимальных стромальных клеток (МСК) для лечения воспалительных заболеваний бронхолегочной системы у лошадей, страдающих астмой. Исследование проводилось на основе ретроспективного анализа наблюдений за 91 лошадью, у которых были зафиксированы признаки астмы (EAS). 70 из этих лошадей получали секретом МСК (препарат Репарин-хелпер). В краткосрочных наблюдениях принимали участие как кобылы, так и мерины в возрасте 10-21 года. Секретом вводился внутрибронхиально, ингаляционно и внутривенно. Эффективность лечения оценивалась по изменению клинического состояния и возможным побочным реакциям. Анализ результатов краткосрочных наблюдений показал, что у большинства пациентов, получавших секретом МСК, не наблюдалось негативных реакций. Клиническая эффективность препарата была различной в зависимости от способа введения: интратрахеальный метод не показал улучшений, в то время как ингаляции и внутривенные введения приводили к положительным результатам. У

лошадей с тяжелой астмой наблюдалась высокая степень переносимости физических нагрузок на фоне применения препарата, что подтверждает его эффективность. Лошади, получавшие секретом МСК длительно, демонстрировали устойчивую ремиссию на протяжении 6-12 месяцев. Среди 70 случаев применения секретома МСК, результаты показали наиболее положительные эффекты у лошадей с тяжелой астмой. Более 20% из них успешно получали дополнительную терапию на протяжении двух лет, демонстрируя продолжительные периоды ремиссии. Исследование подтверждает потенциал применения секретома МСК в ветеринарной практике, и полученные данные могут быть полезны и для гуманной медицины.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODDUCTION

В медицинской и ветеринарной практике особого внимания всегда заслуживали препараты и методы, способные качественно влиять на восстановление утраченных функций. И на сегодняшний день предпочтение отдается максимально органосберегающим методикам, воздействиям не столько на макроуровне, сколько на генно-молекулярном. Современные клеточные технологии уже широко внедрены в практику: рекомбинантные хемокины, моноклональные антитела, клеточные и субклеточные энзимы и пр. Всё это позволяет проводить таргетную терапию сложных заболеваний, осуществлять качественную паракринную регуляцию воспалительного процесса (1, 2).

Существует достаточный опыт применения препаратов клеточно-регенеративной медицины в практике деликатного заживления кожных ран, сухожильно-связочных структур, роговицы глаза у лошадей. Это реальная клиническая практика, свидетельствующая об эффективности средств регенеративной медицины (3). В то же время по разным причинам потенциал клеточных технологий в клинической практике используется недостаточно. В частности, в данной работе мы рассмотрим вопрос о возможности применения секретома мезенхимальных стромальных клеток при воспалительных заболеваниях бронхолегочной системы у лошадей.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Проведено ретроспективное лонгитюдное – более 15 лет - наблюдение за 91 лошадью, с признаками астмы лошадей (EAS), 70 лошадей в разное время и разными способами получали секретом МСК (на примере препарата Репарин-хелпер).

В краткосрочных наблюдениях (менее одного года) участвовали лошади, мерины и кобылы, в возрасте 10-21 года, прошедшие процедуру бронхоскопии с отбором БАЛЖ. Это случайная выборка пациентов с подтвержденным хроническим воспалительным заболеванием воздухоносных путей стажем не менее 2 лет.

Секретом вводился внутрибронхиально, ингаляционно, подкожно и внутривенно. Внутритрахеальное введение секретома осуществляли в небольшом количестве физиологического раствора по общепринятой методике 3 введения с интервалом 3-5 дней. Ингаляционное введение секретома проводили с помощью компрессорных ингаляторов медицинского назначения, смешивая 5 мл секретома с небольшим количеством физиологического раствора. Ингаляции рекомендовали однократно в сутки не менее 3 дней подряд. Внутривенное введение секретома 5мл с 5 мл физраствора струйно одно- или двукратно, некоторым лошадям повторяли через месяц. В дальнейшем проводили оценку степени эффективности препарата по изменению клинического состояния лошади и аускультативной картины, оценивали возможные побочные реакции. Обработку результатов проводили общепринятыми методами статистического анализа.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

В краткосрочных наблюдениях у животных в БАЛЖ цитологическая картина в наибольшей степени соответствовала нейтрофилии (активному воспалению).

В результате коротких наблюдений за пациентами, получавших секретом МСК в течение 2-3 месяцев не выявили ни одного случая негативных реакций на вве-

дение препарата, что коррелирует с литературными данными. Клиническая эффективность показала следующие результаты: при интратрахеальном ведении видимых улучшений - 0 из 6, ингаляционном – 6 из 10, внутривенном - 4 из 4. Здесь сразу отметим, что состояние лошадей, страдающих астмой, может резко изменяться как в сторону улучшения, так и в сторону угрожающего жизни бронхоспазма на фоне средовых факторов в пределах одних суток. Поэтому выводы о влиянии препарата могут быть преждевременными. Продолжительность ремиссии (в том числе, безстероидный период) включили в оценку состояния лошадей. Минимальный срок ремиссии при применении секретома составил 1 месяц (однократное внутривенное введение) и максимальный – 1 год. Когда мы говорим о 12-ти месяцах ремиссии, то подразумеваем незначительные эпизоды ухудшения дыхания и применение негормональной поддерживающей терапии. Острая необходимость применения стероидных гормонов для снятия жизнеугрожающего бронхоспазма каждый раз возвращала нас к началу наблюдений с изменением способа введения препарата. Необходимо отметить, что владельцы тех лошадей, которым вводили секретом МСК в область сухожильно-связочного аппарата конечностей, сообщали о значительном облегчении обструктивного синдрома у своих питомцев. В этих случаях ремиссия часто сохранялась 6-12 месяцев. Это очень интересное независимое наблюдение. Таких лошадей порядка 19-ти голов, но все с солидным стажем астмы – 5-10 лет. На момент написания статьи не все лошади этой группы оставались под наблюдением, но, известно, что сезонные обострения астмы проходили значительно легче.

Анализируя неудачные попытки интратрахеального введения секретома МСК, мы пришли к выводу, что обструкция дыхательных путей вязкой контаминированной слизью является губительным препятствием для кондиционированной среды и самих клеток. Нескольким лошадям после проведения бронхоскопии и получения БАЛ вводили посредством эндоскопа секретом МСК в количестве 5 мл в каждый магистральный бронх. Улучшение клинической картины наблюдали в течение 2- 6 недель. К моменту написания статьи мы можем оценить уже двухлетний опыт клинических наблюдений за применением секретома МСК разными способами у лошадей, страдающих астмой (таблица 1.).

Таблица 1 – Продолжительность ремиссии у лошадей с тяжелой (sEAS) и легкой астмой (mEAS) при разных способах применения секретома МСК (n=70)

Способ введения Секретома МСК	**Продолжительность ремиссии, мес/% случаев***	
	sEAS(n=14)	**mEAS(n=56)**
Подкожно в области сухожильно-связочного аппарата	4-6 (7,14)	1-6(1,7)
Подкожно в области шеи (одно- двукратно)	6(14,3)	0 (100)
Сочетанно: внутривенная инъекция + ингаляционно 2 ингаляции с интервалом 2 недели	6(14,3)	2 (10,7)
Интрабронхиально эндоскопически однократно	12(28,6)	3-6(37,5)
Ингаляционно 1 раз в 2 недели после санации бронхов 4 процедуры	12(85,7)	2 (82,1)

Примечание: Процент эффективности случаев рассчитан от числа животных, которым применяли препарат только указанным способом.

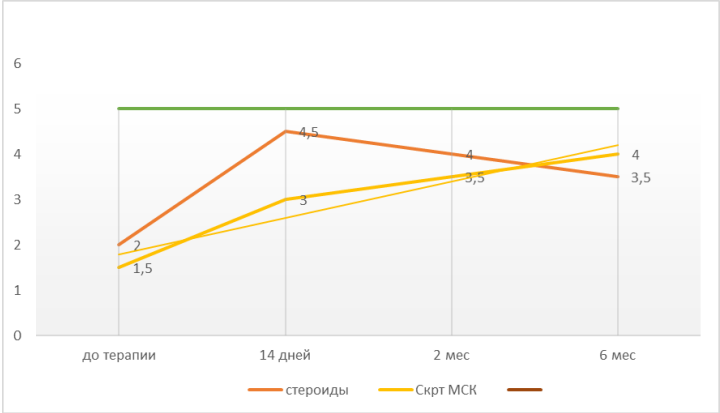


Рисунок 1 – Переносимость физических нагрузок у лошадей-астматиков в динамике симптоматической терапии с применением секретома МСК (скртМСК) и стероидов (n=10) в течение 6 месяцев наблюдений.

Из данных таблицы видно, что наибольшую эффективность секретом МСК продемонстрировал в группе лошадей с тяжелой астмой, и неустойчивый незначительный эффект – при астме легкого течения. Эти результаты не могут быть оценены с высокой степенью достоверности, так как владельцы лошадей зачастую были не готовы проводить дополнительные эндоскопические процедуры и(или) инъекции при отсутствии мгновенного улучшения. Тем не менее полученные данные в ходе дальнейших наблюдений за 14-ю лошадьми с астмой тяжелого течения, показали очень обнадеживающие результаты.

В частности, те лошади, которые получали препарат одно-или двукратно интрабронхиально после качественной санации, демонстрировали легкие приступы астмы в период сезонного обострения по сравнению с подобными пациентами, но, например, с установленной легкой астмой. 8 лошадей из 14 с астмой тяжелого течения не получали препарат интрабронхиально в начале терапии, но ингалировались секретомом МСК (5 мл на введение) в период ремиссии с интервалом 2 недели от 4-х до 8-ми раз. Важно, что многим пациентам мы назначали такие ингаляции на фоне симптоматического лечения нестероидными бронхолитиками и терапевтический эффект, по наблюдениям конвладельцев, оказывался высоким.

Пожалуй, ключевым моментом эффективности секретома МСК можно считать возможность нести физические нагрузки на фоне применения препарата. Напомним, что первым и наиважнейшим клиническим маркером астмы лошадей является именно непереносимость физических нагрузок лошадью. Степень переносимости физических нагрузок в наших наблюдениях оценивали по 5-балльной шкале, где 0 - полная невозможность движения шагом без одышки, 5 – высокая степень физической подготовки с возможностью участия в соревнованиях.

Лошади, которые продолжили получать секретом МСК ингаляционно, находясь на симптоматическом лечении, отличались способностью переносить физические нагрузки практически на уровне клинически здоровых лошадей. При этом наблюдали линейность процесса в случае применения секретома и, наоборот, - некий случайный порядок при стероидной терапии. Пожалуй, это наиболее важный эффект, который нам хотелось бы получить.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

На сегодняшний день мы наблюдаем более 70 случаев применения секретома МСК лошадям с воспалительными заболеваниями воздухоносных путей (астмой легкой, средней и тяжелой степени). Са-

мыми информативными результатами среди этого числа этого мы можем считать улучшение клинического состояния лошадей-астматиков тяжелого течения с сохранением периода ремиссии более 12 месяцев. 20 процентов - 14 голов из 70 - успешно получают дополнительную терапию секретомом МСК уже на протяжении 2-х лет с оценкой клинического состояния, учетом продолжительности периода ремиссии и выраженности признаков астматических проявлений. Напомним, что лошади этой группы – астматики тяжелого течения. Период ремиссии – от 6 до 12 месяцев, в зависимости от способа и кратности применения; проявления сезонных обострений – преимущественно легкая форма; способность переносить физические нагрузки - выше средней. Данные, полученные на лошадях с легкой и средней степенью астмы пока неустойчивы – клинический эффект не удается наблюдать на протяжении длительного периода времени. Возможно, это связано с методом применения и дозой препарата и с субъективными факторами: в большинстве случаев владельцы таких пациентов обращаются к врачу в период обострений, когда даже стероидная терапия оказывается неэффективной. Пациенты с тяжелой степенью ремоделирования дыхательных путей в принципе отличались отсутствием ответа на любую показанную в таких случаях терапию.

Наши предварительные наблюдения в сочетании с данными экспериментальных исследований свидетельствуют в пользу продолжения применения секретома МСК в практике лечения астмы лошадей (3). Результаты таких исследований, несомненно, будут востребованы в медицине человека.

PATHOGENETIC ASPECTS OF THE USE OF CONDITIONED MEDIUM FROM STROMAL STEM CELLS IN EQUINE ASTHMA SYNDROME

Romanova O.V.[1] – Cand. Vet. Sci., Ass. Professor, Intern (ORCID 0000-0002-0750-8654); **Kriyachko O.V.**[2] – Dr. Vet. Sci., Professor, Head of the Department of Pathophysiology (ORCID 0000-0002-8996-8522); **Dovgiy A.I.** [3] – Cand. Biol. Sci., General Director (ORCID 0000-00019510-7078)

[1]Don Agrotechnological University

[2]St. Petersburg State University of Veterinary Medicine

[3]T-helper KT LLC

[*]vetsova@mail.ru

ABSTRACT

Modern medical and veterinary practice is increasingly focused on the use of organ-sparing and genetically molecular technologies that help restore lost functions. In this context, cellular technologies, including the creation of recombinant chemokines and monoclonal antibodies, play an important role in the targeted therapy of serious diseases. Cellular regenerative medicine finds its application in the healing of skin and muscle structures, especially in horses. In this paper, the possibility of using the secretome of mesenchymal stromal cells (MSCs) for the treatment of inflammatory diseases of the bronchopulmonary system in horses suffering from asthma is considered. The study was conducted on the basis of a retrospective analysis of observations of 91 horses that had signs of asthma (EAS). 70 of these horses were treated with the secret of MSC (the drug Reparin helper). Both mares and geldings aged 10-21 years took part in short-term observations. The secret was administered intrabronchially, inhaled and intravenously. The effectiveness of the treatment was assessed by changes in the clinical condition and possible adverse reactions. Analysis of the results of short-term observations showed that the majority of patients treated with secret MSC had no negative reactions. The clinical efficacy of the drug varied depending on the method of administration: the intratracheal method showed no improvement, while inhalation and intravenous administration led to positive results. Horses with severe asthma had a high degree of exercise tolerance against the background of the drug, which confirms its effectiveness. Horses that received the secret of MSC for a long time showed stable remission for 6-12

months. Among the 70 cases of the use of the MSC secretome, the results showed the most positive effects in horses with severe asthma. More than 20% of them successfully received additional therapy for two years, demonstrating long periods of remission. The study confirms the potential of using the MSC secretome in veterinary practice, and the data obtained may be useful for humane medicine.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1.Крячко, О. В. Влияние ронколейкина на гематологические показатели у лошадей при дерматите / О. В. Крячко, О. В. Романова // Ветеринария. – 2007. – № 6. – С. 45 -48. – EDN HZYVWF.

2. Романова, О. В. Влияние сухого солевого аэрозоля на функциональную активность нейтрофилов лошадей при хронических обструктивных болезнях легких / О. В. Романова, О. В. Крячко, А. В. Червинская // Международный вестник ветеринарии. – 2015. – № 1. – С. 61-64. – EDN TRLMZF.

3.Adamič N, Prpar Mihevc S, Blagus R, Kramarič P, Krapež U, Majdič G, Viel L, Hoffman AM, Bienzle D, Vengust M. Effect of intrabronchial administration of autologous adipose-derived mesenchymal stem cells on severe equine asthma. Stem Cell Res Ther. 2022 Jan 21; 13(1):23. doi: 10.1186/ s13287-022-02704-7. PMID: 35063028; PMCID: PMC8777441.

4. Robins TJ, Bedenice D, Mazan M. A Longitudinal Analysis of Equine Asthma Presentation and Response to Treatment Using Lung Function Testing and BAL Cytology Analysis in Combination with Owner Perception. Animals (Basel). 2023 Nov 1;13 (21):3387. doi: 10.3390/ani13213387. PMID: 37958142

5. Wang MY, Zhou TY, Zhang ZD, Liu HY, Zheng ZY, Xie HQ. Current therapeutic strategies for respiratory diseases using mesenchymal stem cells. MedComm (2020). 2021 Sep 2;2(3):351-380. doi: 10.1002/ mco2.74. PMID: 34766151; PMCID: PMC8554668.

REFERENCES

Kryachko, O. V. The influence of ronkoleikin on hematological parameters in horses with dermatitis / O. V. Kryachko, O. V. Romanova // Veterinary medicine. - 2007. – No. 6. – pp. 45-48. – EDN HZYVWF.

Romanova, O. V. The effect of dry salt aerosol on the functional activity of equine neutrophils in chronic obstructive pulmonary diseases / O. V. Romanova, O. V. Kryachko, A.V. Chervinskaya // International Bulletin of Veterinary Medicine. - 2015. – No. 1. – pp. 61-64. – EDN TRLMZF.

Adamič N, Prpar Mihevc S, Blagus R, Kramarič P, Krapež U, Majdič G, Viel L, Hoffman AM, Bienzle D, Vengust M. Effect of intrabronchial administration of autologous adipose-derived mesenchymal stem cells on severe equine asthma. Stem Cell Res Ther. 2022 Jan 21;13(1):23. doi: 10.1186/s13287-022-02704-7. PMID: 35063028; PMCID: PMC8777441.

Robins TJ, Bedenice D, Mazan M. A Longitudinal Analysis of Equine Asthma Presentation and Response to Treatment Using Lung Function Testing and BAL Cytology Analysis in Combination with Owner Perception. Animals (Basel). 2023 Nov 1;13(21):3387. doi: 10.3390/ani13213387. PMID: 37958142.

Wang MY, Zhou TY, Zhang ZD, Liu HY, Zheng ZY, Xie HQ. Current therapeutic strategies for respiratory diseases using mesenchymal stem cells. MedComm (2020). 2021 Sep 2;2(3):351-380. doi: 10.1002/ mco2.74. PMID: 34766151; PMCID: PMC8554668.

УДК: 611.718.4:617.3:599.742.13
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.4.380

АНАТОМО-ТОПОГРАФИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ ДОСТУПА К КОСТЯМ ТАЗА ПУТЕМ ПРОВЕДЕНИЯ ОСТЕОТОМИИ БОЛЬШОГО ВЕРТЕЛА БЕДРЕННОЙ КОСТИ У СОБАК

Стратонов А.С. – канд. ветеринар. наук, доц. каф. анатомии животных (ORCID 0009-0007-2976-4820); **Щипакин М.В.** – д-р ветеринар. наук, проф., зав. каф. анатомии животных (ORCID 0000-0002-2960-3222).

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины»

* vetdoc@my.com

Ключевые слова: *тазобедренный сустав, перелом, собака, остеосинтез, дисплазия, большой вертел, бедренная кость.*

Key words: *hip joint, fracture, dog, osteosynthesis, dysplasia, large trochanter, femur.*

Поступила: 16.10.2024 **Принята к публикации: 02.12.2024**
Опубликована онлайн:16.12.2024

РЕФЕРАТ

Довольно часто ветеринарный врач в повседневной практике сталкивается с необходимостью доступа к костям таза при хирургическом вмешательстве различных патологий данной области у собак и кошек. Регулярно в ветеринарные клиники Санкт-Петербурга поступают собаки с тяжелыми травмами таза, полученными в результате ДТП, падений с высоты или при других обстоятельствах. Очень часто на рентгенографии выявляют переломы тела подвздошной кости, внутрисуставные переломы суставной впадины таза различной сложности и локализации, переломы впадинной ветви седалищной кости. Также у молодых животных распространены случаи нарушения развития (дисплазия) тазобедренных суставов, требующие коррекции углов в тазовых костях путем их остеотомии. Цель исследования – изучить и дать анатомо-топографическое обоснование доступа к костям таза путем проведения остеотомии большого вертела бедренной кости при выполнении остеосинтеза переломов тела лонной кости, внутрисуставных переломов суставной впадины таза, ацетабулярной ветви седалищной кости, седалищной ости, сочетанных переломов перечисленных структур. Работа над исследованием проводилась на материально-технической базе сети ветеринарных клиник «ТрастВет» и на кафедре анатомии животных ФГБОУ ВО СПбГУВМ. В результате нашего исследования мы убедились, что выполнение доступа через остеотомию большого вертела бедренной кости позволяет в значительной степени атравматично для ягодичных мышц, грушевидной мышцы, мышц ротаторов, а также для сосудов и нервов найти подход к области тазобедренного сустава, тела подвздошной кости, впадинной ветви седалищной кости. Данный доступ обеспечивает наибольший комфорт, удобство и безопасность при манипуляциях в операционной ране с объектами хирурги-

ческого лечения. Консолидация линии остеотомии во всех случаях завершалась через 3-5 недель. Ни в одном случае не развилось таких осложнений как: несостоятельность металлоконструкции и последующий диастаз большого вертела бедренной кости, контрактура мышц ягодичной или заднебедренной групп, неврологический дефицит, кровотечение, образование сером и других осложнений.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Довольно часто ветеринарный врач в повседневной практике сталкивается с необходимостью доступа к костям таза при хирургическом вмешательстве различных патологий данной области у собак и кошек. Регулярно в ветеринарные клиники Санкт-Петербурга поступают собаки с тяжелыми травмами таза, полученными в результате ДТП, падений с высоты или при других обстоятельствах. Очень часто на рентгенографии выявляют переломы тела подвздошной кости, внутрисуставные переломы суставной впадины таза различной сложности и локализации, переломы впадинной ветви седалищной кости. Также у молодых животных распространены случаи нарушения развития (дисплазия) тазобедренных суставов, требующие коррекции углов в тазовых костях путем их остеотомии.

Методы лечения перечисленных патологий требуют максимальной точности совершаемых действий ветеринарным хирургом. Так, для остеосинтеза репозиционируемых ацетабулярных переломов важна точная анатомическая репозиция отломков. Для лечения дисплазии тазобедренного сустава методами остеотомии необходима правильная локализация и направление линий остеотомии. В свою очередь особенностью данной области является большая концентрация крупных мышц, близкое расположение седалищного нерва, обильное кровоснабжение из-за наличия крупных артерий и вен. Это может создавать трудности при выполнении данного доступа. Неправильная техника или неоптимальный выбор доступа приводит к усилению травматизации, повышению риска повреждения магистральных сосудов и нервов с необратимыми и тяжелыми последствиями.

Таким образом, требования к доступу включают в себя следующие параметры: хорошая визуализация области хирургического вмешательства; минимальная травматизация мышечной ткани; сохранность магистральных артерий, вен и нервов; высокая скорость выполнения самого оперативного доступа. На наш взгляд, доступ через остеотомию большого вертела бедренной кости лучше остальных соответствует всем перечисленным требованиям. Цель исследования – изучить и дать анатомо-топографическое обоснование доступа к костям таза путем проведения остеотомии большого вертела бедренной кости при выполнении остеосинтеза переломов тела лонной кости, внутрисуставных переломов суставной впадины таза, ацетабулярной ветви седалищной кости, седалищной ости, сочетанных переломов перечисленных структур.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Работа над исследованием проводилась на материально-технической базе сети ветеринарных клиник «ТрастВет» и на кафедре анатомии животных ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины». Для исследования были отобраны собаки мелких, средних и крупных пород в количестве десяти особей. Возраст пациентов составил от одного года до восьми лет. Среди исследуемых собак две интактные суки в возрасте от года до полутора лет, одна кастрированная сука семилетнего возраста, семеро интактных кобелей в возрасте от двух до шести лет. Средний вес на момент исследования составлял от 5-ти до 52-х кг.

Основными симптомами при обращении на прием были отсутствие сознания, инспираторная одышка, вынужденная лежачая поза (1 собака), односторонняя хромота на тазовую конечность висячего типа (2 собаки), вынужденная сидячая поза, отсутствие опоры на обе тазовые конечности (2 собаки), хромота на одну из тазовых конечностей опорного типа (2

собаки), примеси крови в моче (1 собака), поверхностные раны разной степени тяжести, кровотечения низкой интенсивности, преимущественно поверхностные (2 собаки).

Из анамнеза жизни следует: 1) питание – коммерческие рационы премиум класса для собак мелких, средних и крупных пород (2 суки), ветеринарная диета при ожирении и избыточном весе у одного пациента и семеро пациентов, о рационе которых не удалось узнать информацию; 2) заболевания эндокринной системы, хронические болезни, аллергия, инфекционные заболевания отсутствуют; 3) ранее перенесенные операции были у двух сук (овариоэктомия в возрасте до года); 4) вакцинация проводилась ежегодно, обработки от экто- и эндопаразитов – ежеквартально.

При первичном поступлении в ветеринарную клинику пациентам проводили тщательный физикальный осмотр, включающий в себя: оценку сознания; позы; дыхания; цвета, влажности, целостности слизистых и кожных покровов; термометрию; аускультацию грудной клетки; пальпацию. Также стабильным пациентам в сознании и без признаков дыхательной недостаточности были проведены УЗИ A-Fast и T-Fast, а также рентгенография грудной клетки, обзорная рентгенография позвоночного столба, брюшной полости, костей таза.

На основании проведенных исследований осуществлялся триаж пациентов с последующим обязательным их размещением в ОРиИТ для обезболивания, седации и стабилизации состояния при необходимости. В одном случае пациент был без сознания и с диагностированными рентгенологически признаками пневмоторакса.

При первичном неврологическом и ортопедическом осмотре признаков неврологического дефицита тазовых конечностей не было выявлено. Определялась выраженная острая боль в месте локализации травмы, отечность мягких тканей, гематомы, изменений скелетотопии и синтопии основных анатомических структур области таза, нарушение симметрии. Через четверо суток после стабилизации состояния у собаки, поступившей без сознания и с пневмотораксом были проведены рентгенологические исследования под седацией и выявлены рентген-признаки перелома тела подвздошной кости таза. Еще у троих пациентов выявлены переломы тел подвздошных костей таза билатерально, лонной кости и тел седалищных костей таза билатерально или унилатерально. У одного пациента выявили гемилатерально перелом тела подвздошной кости, вывих тазобедренного сустава (ТБС), диафизарный перелом бедренной кости, проксимальный перелом Salter-Harris тип 2 большеберцовой кости голени на контралатеральной конечности. У остальных пациентов при проведении рентгенографии под седацией были выявлены переломы тела лонной кости или поперечные переломы краниоцентральной области суставной впадины или сочетания этих переломов.

Каждому из десяти пациентов провели остеосинтез переломов пластинами и кортикальными винтами BlueSao или Balf после стабилизации состояния.

Работа над техникой проведения доступа выполнялась на кафедре анатомии животных ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины» на кадаверном материале.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Во всех случаях остеосинтеза при околосуставных и внутрисуставных переломах тазовых костей, мы выполняли доступ к ним путем остеотомии большого вертела бедренной кости. Для этого хирургическим скальпелем осуществляется разрез кожи в вертикальном направлении (дорсовентрально) от уровня подвздошного гребня, проводя скальпель в проекции большого вертела приблизительно до уровня средней трети бедренной кости. Далее скальпелем или ножницами Метценбаума рассекают ягодичную фасцию, межмышечную фасцию между двуглавой мышцей бедра и поверхностной ягодичной мышцей, разъединяя таким образом,

эти две мышцы между собой. После разделения этих мышц их аккуратно отодвигают интраоперационно при помощи атравматичных ранорасширителей по типу Гельпи, следя за тем, чтобы не повредить седалищный нерв и каудальные ягодичную артерию и вену, располагающиеся под ними. Затем выделяют и пересекают дистальное сухожилие поверхностной ягодичной мышцы и отводят мышцу дорсально, для обнажения и хорошей визуализации большого вертела бедренной кости. При необходимости хирургическими ножницами рассекают соединение между напрягателем широкой фасции бедра и поверхностной ягодичной мышцами.

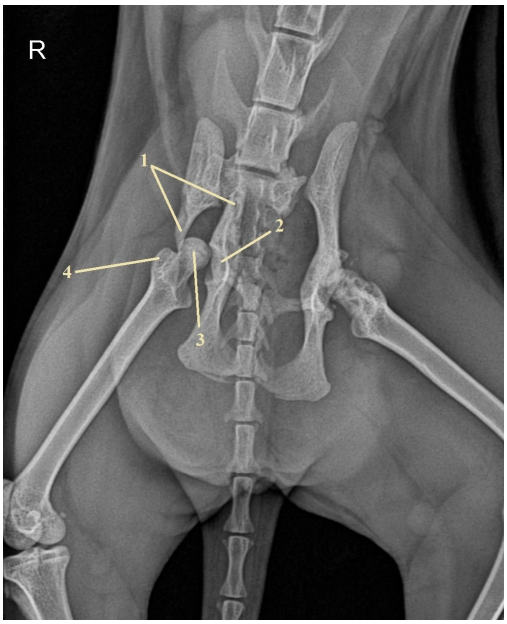


Рисунок 1 – Рентгенологическое исследование костей таза в вентродорсальной проекции при планировании остеосинтеза перелома тела правой подвздошной кости: 1 – тело подвздошной кости. Косой перелом тела правой подвздошной кости. длинная линия перелома; 2 – суставная впадина тазовой кости справа без повреждений; 3 – головка и шейка бедренной кости ПТК в вывихнутом положении (краниодорсальный травматический вывих ТБС); 4 – большой вертел бедренной кости ПТК.

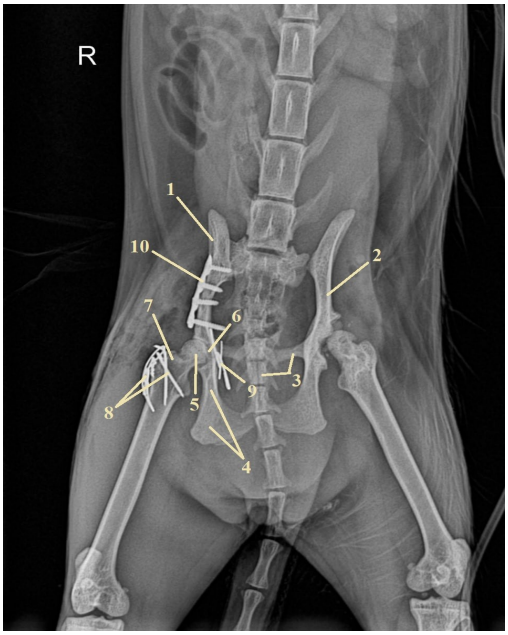


Рисунок 2 – Послеоперационная рентгенологическая оценка стабилизации отломка правой подвздошной кости таза: 1 – крыло подвздошной кости; 2 – тело интактной контрлатеральной подвздошной кости; 3 – краниальная (впадинная) и каудальная (шовная) ветви лонной кости с контрлатеральной стороны; 4 – тело и впадинная ветвь седалищной кости; 5 – головка бедренной кости в анатомическом положении; 6 – суставная впадина тазовой кости; 7 – большой вертел зафиксирован в анатомическом положении после его остеотомии в процессе формирования хирургического доступа; 8 – серкляж, зафиксированный методом tension-band для создания динамической компрессии по линии остеотомии большого вертела и спицы Киршнера, фиксирующие большой вертел в анатомическом положении после остеотомии; 9 – якорь для фиксации искусственной связки головки бедренной кости; 10 – металлоконструкция, фиксирующая отломки подвздошной кости после их анатомической репозиции.

Следующим этапом является непосредственно сама остеотомия большого вертела бедренной кости. Она выполняется специальной медицинской осциллирующей пилой в основании большого вертела бедренной кости. Линия остеотомии должна быть направлена от основания вертела дорсомедиально под углом 45°. Перед тем, как начать остеотомию необходимо защитить седалищный нерв и крупные кровеносные сосуды, отодвинув их от пильного полотна атравматичными инструментами (ретрактор Хоманна). Подносить пилу к бедренной кости необходимо на максимальных оборотах, чтобы избежать избыточной вибрации и соскальзывания полотна. После того, как линия намечена на кортикальном слое кости, приступают к активной фазе остеотомии, во время которой критически важно орошать полотно физиологическим раствором во избежание перегрева костной ткани и возможного последующего ее некроза. После отсечения большого вертела бедренной кости его вместе со средней, глубокой ягодичными и грушевидной мышцами отводят дорсально, обнажая тело подвздошной, ветвь седалищной костей и тазобедренный сустав. При необходимости проводят артротомию тазобедренного сустава с последующим ушиванием капсулы. После завершения хирургического лечения перелома кости или костей таза или вывиха ТБС вертел возвращают в анатомическое положение и производят его фиксацию двумя спицами Киршнера проведенными через его вершину перпендикулярно линии остеотомии и параллельно друг другу. Диаметр спиц, используемых во время проведения данной манипуляции, подбирают исходя из размеров собаки, как правило их диаметр варьирует от 0,8 мм до 1,8 мм. Дополнительно создают динамическую компрессию методом tension-band. Для этого на 1,5-2,0 см дистальнее основания большого вертела в диафизе бедренной кости высверливают костный канал диаметром от 1,5 до 2,0 мм в краниокаудальном направлении. Через него проводят серкляжную проволоку диаметром от 0,8 мм до 1,0 мм, далее ее заводят за выступающие из вертела спицы и плотно, равномерно затягивают. Спицы над большим вертелом загибают в направлении к поверхности кости, обрезают и продвигают максимально плотно к кости иглодержателем Гегара. Накладывают межфасциальные швы, ушивают послойно глубокую и поверхностную фасции, подкожно-жировую клетчатку, кожу простыми прерывистыми и непрерывными швами из рассасывающихся шовных материалов.

Согласно данным международных исследований известно, что для лечения всех внутрисуставных репонируемых переломов критически важна их точная анатомическая репозиция и жесткая, стабильная фиксация. Также важно максимально сохранить кровоснабжение кости в процессе выполнения любого остеосинтеза, минимально травмируя надкостницу и мягкие ткани. Еще одним важным условием для успешной консолидации перелома является оптимальный выбор металлоконструкции и стабильный остеосинтез. Соблюдение всех этих условий приведет к состоятельности операции и раннему восстановлению функции конечности, что также важно для быстрой и качественной консолидации перелома. Во многом соблюдение описанных этапов зависит от оперативного доступа.

Во всех десяти клинических случаях скорость выполнения доступа была достаточно высокая и как правило не превышала пяти-семи минут. Требования к инструментам и оборудованию стандартные при данном доступе. У каждого исследуемого животного достигалась наилучшая визуализация объекта хирургического вмешательства при околосуставных переломах подвздошной и седалищной костей, ацетабулярных переломах. Также хорошо визуализировались седалищный нерв, каудальные ягодичные артерия и вена.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

В результате нашего исследования мы убедились, что выполнение доступа через остеотомию большого вертела бедренной кости позволяет в значительной степени

атравматично для ягодичных мышц, грушевидной мышцы, мышц ротаторов, а также для сосудов и нервов найти подход к области тазобедренного сустава, тела подвздошной кости, впадинной ветви седалищной кости. Данный доступ обеспечивает наибольший комфорт, удобство и безопасность при манипуляциях в операционной ране с объектами хирургического лечения. Консолидация линии остеотомии во всех случаях завершалась через 3-5 недель. Ни в одном случае не развилось таких осложнений как: несостоятельность металлоконструкции и последующий диастаз большого вертела бедренной кости, контрактура мышц ягодичной или заднебедренной групп, неврологический дефицит, кровотечение, образование сером и других осложнений.

ANATOMICAL AND TOPOGRAPHIC JUSTIFICATION OF ACCESS TO THE PELVIC BONES BY OSTEOTOMY OF THE LARGE TROCHANTER OF THE FEMUR IN DOGS

Stratonov A.S. – Candidate of Doctor of Sciences, Associate Professor of the Department of Animal Anatomy (ORCID 0009-0007-2976-4820); **Shchipakin M.V.** – Doctor of Veterinary Sciences, Professor of the Department of Animal Anatomy (ORCID 0000-0002-2960-3222).

St. Petersburg State University of Veterinary Medicine

* vetdoc@my.com

ABSTRACT

Quite often, a veterinarian in daily practice is faced with the need for access to the pelvic bones during surgical intervention of various pathologies of this area in dogs and cats. Dogs with severe pelvic injuries received as a result of an accident, falls from a height or under other circumstances are regularly admitted to veterinary clinics in St. Petersburg. Very often, radiography reveals fractures of the iliac body, intra-articular fractures of the articular cavity of the pelvis of varying complexity and localization, fractures of the concave branch of the sciatic bone. Also, in young animals, cases of developmental disorders (dysplasia) of the hip joints are common, requiring correction of angles in the pelvic bones by osteotomy. The purpose of the study is to study and provide anatomical and topographic justification for access to pelvic bones by osteotomy of the great trochanter of the femur during osteosynthesis of fractures of the body of the pubis, intra–articular fractures of the articular cavity of the pelvis, acetabular branch of the sciatic bone, sciatic spine, combined fractures of the listed structures. The work on the study was carried out on the material and technical base of the network of veterinary clinics "TrustVet" and at the Department of Animal Anatomy of the Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education. As a result of our research, we were convinced that performing access through osteotomy of the great trochanter of the femur allows us to significantly atraumatic for the gluteal muscles, piriformis muscles, rotator muscles, as well as for vessels and nerves to find an approach to the hip joint, the iliac body, the hollow branch of the sciatic bone. This access provides the greatest comfort, convenience and safety when manipulating surgical treatment objects in an operating wound. Consolidation of the osteotomy line was completed in all cases after 3-5 weeks. In no case did such complications develop as: failure of the metal structure and subsequent diastasis of the great trochanter of the femur, contracture of the muscles of the gluteal or posterior femoral groups, neurological deficiency, bleeding, formation of seromas and other complications.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1.Ретроградная рентгеноконтрастная венография дистальных отделов конечностей у собак в норме и при патологии / А. А. Стекольников, А. В. Бокарев, М. А. Нарусбаева, О. Н. Суворов // Российский ветеринарный журнал. Мелкие домашние и дикие животные. – 2009. – № 1. – С. 23-24.

2.Способ количественного измерения степени нарушения опорной функции конечности (хромоты) у собак / Е. В. Титова, В. Е. Горохов, А. А. Стекольников,

А. В. Бокарев // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. – 2021. – № 2. – С. 66-68. – DOI 10.17238/issn2072-6023.2021.2.66.
3.Рентгенологические стадии асептического некроза головки бедра у собак / В. Е. Горохов, А. В. Бокарев, А. А. Стекольников, Р. С. Катаргин // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. – 2022. – № 2(208). – С. 59-65. – DOI 10.53083/1996-4277-2022-208-2-59-65.
4.Самошкин, И. Б. Реконструктивно-восстановительная хирургия опорно-двигательного аппарата у собак: руководство для ветеринарных врачей / И. Б. Самошкин, Н. А. Слесаренко. – Москва: Советский спорт, 2008. – С. 140-142.
5.Разъединение и соединение тканей при хирургических операциях у животных / В. А. Ермолаев, В. Н. Виденин, Б. С. Семенов, А. Ю. Нечаев. – Ульяновск: Ульяновский государственный аграрный университет им. П.А. Столыпина, 2021. – 98 с.
6.Семенов, Б. С. Анализ лечения оскольчатых переломов трубчатых костей конечностей у кошек и собак / Б. С. Семенов, Т. Ш. Кузнецова, Е. А. Коняева // Нормативно-правовое регулирование в ветеринарии. – 2023. – № 2. – С. 67-72. – DOI 10.52419/issn2782-6252.2023.2.67.
7.Ягников, С. А. Стабильно-функциональный остеосинтез в травматологии, ортопедии и онкоортопедии собак / Ягников С. А. – Москва: Зоомедлит, 2010. – 48 с.
8.Рыбалкин, С. М. Анатомо-топографическое обоснование различных доступов к проксимальному эпифизу большеберцовой кости / С. М. Рыбалкин, М. В. Щипакин, С. И. Мельников // Международный вестник ветеринарии. – 2024. – № 1. – С. 224-232. – DOI 10.52419/issn2072-2419.2024.1.224.
9.Морфологические особенности строения бедра и голени у собак пород бассет-хаунд и далматин в сравнительном аспекте / С.В. Вирунен, М.В. Щипакин, А.В. Прусаков и др. // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. – 2016. – № 1. – С. 175-178.
10.Поплавская К.Д. Рентгеноанатомия свободного отдела тазовой конечности щенков / К.Д. Поплавская, Д.С. Былинская // Знания молодых для развития ветеринарной медицины и АПК страны: материалы международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых, Санкт-Петербург, 19–20 ноября 2019 года. СПб.: Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины, 2019. – С. 229-231.
11.Артерии тазовой конечности йоркширского терьера / А. В. Прусаков, Н. В. Зеленевский, М. В. Щипакин [и др.] // Международный вестник ветеринарии. – 2019. – № 2. – С. 145-151.
12.Артериальное кровоснабжение свободной тазовой конечности немецкой овчарки / Д. С. Былинская, А. В. Прусаков, Н. В. Зеленевский [и др.] // Иппология и ветеринария. – 2019. – № 2(32). – С. 106-110.
13.Щипакин, М. В. Морфометрия бедренной, большеберцовой и малоберцовой костей выдры обыкновенной / М. В. Щипакин, Д. В. Васильев // Актуальные проблемы интенсивного развития животноводства : сборник трудов по материалам международной научно-практической конференции, посвященной 90-летию со дня рождения доктора биологических наук, профессора, Заслуженного работника Высшей школы РФ, Почётного работника высшего профессионального образования РФ, Почётного профессора Брянской ГСХА, Почётного гражданина Брянской области Егора Павловича Ващекина, Брянск, 24 января 2023 года. – Брянск: Брянский государственный аграрный университет, 2023. – С. 351-354.
14.Щипакин, М. В. Закономерности развития костей периферического скелета собаки в пренатальный период онтогенеза / М. В. Щипакин, Н. В. Зеленевский // Иппология и ветеринария. – 2012. – № 1 (3). – С. 92-93.

REFERENCES

1. Retrograde radiopaque venography of distal extremities in dogs in normal and

pathological conditions / A. A. Stekolnikov, A.V. Bokarev, M. A. Narusbaeva, O. N. Suvorov // Russian Veterinary Journal. Small domestic and wild animals. - 2009. – No. 1. – pp. 23-24.
2. A method for quantifying the degree of violation of the supporting function of a limb (lameness) in dogs / E. V. Titova, V. E. Gorokhov, A. A. Stekolnikov, A.V. Bokarev // Issues of regulatory regulation in veterinary medicine. - 2021. – No. 2. – pp. 66-68. – DOI 10.17238/issn2072-6023.2021.2.66.
3. Radiological stages of aseptic necrosis of the femoral head in dogs / V. E. Gorokhov, A.V. Bokarev, A. A. Stekolnikov, R. S. Katargin // Bulletin of the Altai State Agrarian University. – 2022. – № 2(208). – Pp. 59-65. – DOI 10.53083/1996-4277-2022-208-2-59-65.
4. Samoshkin, I. B. Reconstructive surgery of the musculoskeletal system in dogs: a guide for veterinarians / I. B. Samoshkin, N. A. Slesarenko. – Moscow: Soviet Sport, 2008. – pp. 140-142.
5. Separation and connection of tissues during surgical operations in animals / V. A. Ermolaev, V. N. Videnin, B. S. Semenov, A. Yu. Nechaev. Ulyanovsk: Ulyanovsk State Agrarian University named after P.A. Stolypin, 2021. – 98 p.
6. Semenov, B. S. Analysis of treatment of comminuted fractures of tubular bones of extremities in cats and dogs / B. S. Semenov, T. S. Kuznetsova, E. A. Konyaeva // Regulatory and legal regulation in veterinary medicine. - 2023. – No. 2. – pp. 67-72. – DOI 10.52419/issn2782-6252.2023.2.67.
7. Yagnikov, S. A. Stable functional osteosynthesis in traumatology, orthopedics and oncoortopedia of dogs / Yagnikov S. A. – Moscow: Zoomedlit, 2010. – 48 p.
8. Rybalkin, S. M. Anatomical and topographic substantiation of various accesses to the proximal epiphysis of the tibia / S. M. Rybalkin, M. V. Shchipakin, S. I. Melnikov // International Bulletin of Veterinary Medicine. - 2024. – No. 1. – pp. 224-232. – DOI 10.52419/issn2072-2419.2024.1.224.
9. Morphological features of the structure of the thigh and shin in Bassethound and Dalmatian dogs in a comparative aspect / S.V. Virunen, M.V. Shchipakin, A.V. Prusakov et al. // Issues of regulatory regulation in veterinary medicine. - 2016. – No. 1. – pp. 175-178.
10. Poplavskaya K.D. Roentgenoanatomy of the free pelvic limb of puppies / K.D. Poplavskaya, D.S. Bylinskaya // Knowledge of the young for the development of veterinary medicine and the agro-industrial complex of the country: materials of the international scientific conference of students, postgraduates and young scientists, St. Petersburg, November 19-20, 2019. St. Petersburg: St. Petersburg State Academy of Veterinary Medicine medicine, 2019. – pp. 229-231.
11. Arteries of the pelvic limb of the Yorkshire Terrier / A.V. Prusakov, N. V. Zelenevsky, M. V. Shchipakin [et al.] // International Bulletin of Veterinary Medicine. – 2019. – No. 2. – pp. 145-151.
12. Arterial blood supply to the free pelvic limb of the German Shepherd / D. S. Bylinskaya, A.V. Prusakov, N. V. Zelenevsky [et al.] // Hippology and veterinary medicine. – 2019. – № 2(32). – Pp. 106-110.
13. Shchipakin, M. V. Morphometry of the femoral, tibial and fibular bones of the common otter / M. V. Shchipakin, D. V. Vasiliev // Actual problems of intensive development of animal husbandry : a collection of works based on the materials of the international scientific and practical conference dedicated to the 90th anniversary of the birth of Doctor of Biological Sciences, Professor, Honored Worker of Higher Education of the Russian Federation, Honorary Worker of Higher Professional Education of the Russian Federation, Honorary Professor of the Bryansk State Agricultural Academy, Honorary Citizen of the Bryansk region Egor Pavlovich Vashchekin, Bryansk, January 24, 2023. Bryansk: Bryansk State Agrarian University, 2023. – pp. 351-354.
14. Shchipakin, M. V. Patterns of bone development of the peripheral skeleton of a dog in the prenatal period of ontogenesis / M. V. Shchipakin, N. V. Zelenevsky // Hippology and veterinary medicine. – 2012. – № 1(3). – Pp. 92-93.

УДК: 619+617.528:636.7
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.4.388

ПАТОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ АЛЬВЕОЛЯРНОГО ОТРОСТКА ЧЕЛЮСТНЫХ КОСТЕЙ У СОБАК ПРИ ОЛИГОДЕНТИИ

Фролов В.В.[1] – д-р биол. наук, проф. каф. болезни животных и ветеринарно-санитарной экспертизы; **Егунова А.В.**[1] – канд. биол. наук, доц. каф. болезни животных и ветеринарно-санитарной экспертизы; **Новиков Я.И.**[1] – асп. каф. болезни животных и ветеринарно-санитарной экспертизы; **Иванцов В.А.**[2]* – канд. биол. наук, доц. каф. анатомии и гистологии животных им. профессора А.Ф. Климова;

[1] ФГБОУ ВО Вавиловский университет
[2] ФГБОУ ВО МГАВМиБ – МВА имени К.И. Скрябина

* ivancov@mgavm.ru

Ключевые слова: *зубочелюстная система, одонтон, зубной ряд, ветеринарная стоматология, экстирпация зубов, зубные альвеолы, губчатое костное вещество, альвеолярный отросток, собаки.*

Keywords: *dento-mandibular system, odontone, dentition, veterinary dentistry, tooth extirpation, dental alveoli, cancellous bone substance, alveolar process, dogs.*

Поступила: 20.11.2024

Принята к публикации: 02.12.2024
Опубликована онлайн:16.12.2024

РЕФЕРАТ

В статье представлены особенности патологического процесса, протекающего в зубных альвеолах челюстных костей у собак-мезоцефалов старшей возрастной группы (10-15 лет), подвергавшихся прижизненному удалению зубов. Исследование проводились на базе кафедры болезней животных и ветеринарно-санитарной экспертизы ФГБОУ ВО Вавиловского университета и кафедре анатомии и гистологии животных имени профессора А.Ф. Климова ФГБОУ ВО МГАВМиБ – МВА имени К.И. Скрябина. Объектом исследования являлись собаки с мезоцефалической формой головы (n=15) в возрасте 10-15 лет. Материалом для исследования служили верхние и нижние челюсти. Использовали метод анатомического препарирования с целью получения скелета головы для выполнения дальнейшей краниоскопии, включающей в себя оценку состояния альвеолярного отростка на обеих челюстей. На основании результатов исследования установлено, что вне зависимости от локализации челюстной кости все патологические процессы в ее зубных альвеолах имели одинаковый характер течения. Выявлено, что структурные изменения при утрате зубов в первую очередь характеризовались заполнением полости лунки губчатым костным веществом, которое разрасталось из межпластинчатого пространства челюстных костей. Вследствие заполнения полости альвеолы, губчатая кость замещала собой вестибулярную компактную костную пластину альвеолярного отростка на обеих челюстных костях. Полученные данные являются базовыми при совершенствовании классических и разработке новых методов дифференциальной диагностики и методов экстирпации в стоматологии мелких домашних животных.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Одонтон – сегмент, являющийся структурно-функциональной единицей зубочелюстной системы, по анатомической характеристике подразделяющийся на зубной орган и пародонт (опорно-удерживающая система зуба) [3,4]. В состав пародонта входит цемент корня зуба, десна, зубная связка (периодонт) и стенка альвеолы [2,7,8,10,13].

Зубная лунка (альвеола) является анатомической составляющей альвеолярного отростка челюстных костей. В ее строении выделяют костные компактные пластины и пространство, заполненное губчатым костным веществом. Более тонкая пластина в виде удлиненного ложа окружает собой корень зуба и тем самым обозначается как собственно альвеолярная кость. Другая пластина по краям, снаружи покрывает зубную лунку и альвеолярный отросток с плавным переходом на тело челюстной кости [7,10,13].

Количество зубных альвеол у собак соответствует пропорционально количеству корней, однако встречаются случаи изменения их численности, заключающиеся в наличии различных аномалий корневой системы, таких как: добавочные корни, полиодонтия и видоизменение формы верхушки корня. Но, наиболее распространенной причиной изменения указанного соотношения является экстирпация зубов по лечебным показаниям [6-12,14].

По данным доступной литературы известно, что после удаления зубов наблюдается атрофия ее зубной лунки, которая приводит к плавному истончению стенок альвеолярного отростка. Участок челюстной кости, который лишен зубного органа за счет патологического процесса альвеолярной кости со временем уменьшается в объеме [9,10,12,14].

Исходя из вышеизложенного, целью нашего исследования являлось – установить особенности патологического процесса в зубных альвеолах челюстных костей у собак-мезоцефалов старшей возрастной группы (10-15 лет), подвергавшихся прижизненной экстирпации зубов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Исследование проводились на базе кафедры болезней животных и ветеринарно-санитарной экспертизы ФГБОУ ВО Вавиловского университета и кафедре анатомии и гистологии животных имени профессора А.Ф. Климова ФГБОУ ВО МГАВМиБ – МВА имени К.И. Скрябина. Объектом исследования являлись собаки с мезоцефалическим морфотипом головы (n=20) в возрасте 10-15 лет. Материалом для исследования служил скелет головы (верхняя и нижняя челюсть).

Использовали методы: анатомического препарирования с целью получения скелета головы для выполнения дальнейшей краниоскопии, включающей в себя оценку состояния альвеолярного отростка на обеих челюстях.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

По результатам краниоскопического исследования установлено, что состояние зубных лунок и альвеолярного отростка у изученных нами собак имели своеобразные патологические изменения в случае утраты зубов.

По специфическим анатомическим изменениям их можно подразделить на две группы:

- группа со специфическими структурными перестройками, вызванными прижизненной потерей одного зуба;

- группа со специфическими структурными перестройками, вызванными прижизненной потерей нескольких зубов с одной аркады (рисунок 1).

Состояние всех пустых зубных альвеол выглядели одинаково. У них отсутствовали вестибулярные и язычные кортикальные пластины. На ½ длины были утрачены межзубные перегородки. Вся полость зубной альвеолы характеризовалась заполнением костным губчатым веществом, рост которого осуществлялся из межпластинчатого пространства.

Губчатое вещество на всех челюстных костях заполняло собой не только всю полость зубной альвеолы, но и обрамляло стенки всех утраченных костных пластин. По этой причине эти участки альвеоляр-

ного отростка из гладкой и ровной поверхности приобретали шероховатую и рельефную (рисунок 2).

Структурная перестройка костной ткани зубной лунки характеризуется локальным изменением рельефности всего альвеолярного отростка челюстных костей у изученных животных. Она выражалась в следующем: граница выступала по сегментарной плоскости лицевого отдела черепа, проведенной по подглазничному отверстию. До этой линии вся вестибулярная поверхность беззубых альвеолярных отростков имела вогнутую поверхность. Далее в дистальном направлении они имели выпуклую поверхность.

По нашему мнению, такие региональные различия в вестибулярной поверхности верхнего альвеолярного отростка связаны особенностями распределения биомеханической нагрузки на зубы и архитектоникой челюстных костей. Если фронтальные зубы и первые премоляры предназначены для удержания и фиксации корма или предметов, то жевательная группа (премоляры и моляры) необходимы для механической обработки корма [7,10]. Для осуществления этих функций в зубном ряду, челюстные кости с альвеолярными отростками имеют своеобразную архитектонику: там, где необходима минимальная сила – костная ткань тонкая, а стенки альвеолярного отростка вытянутые, в то время как в местах применения максимальной силы смыкания челюстей – кость плотная, а стенки альвеолярного отростка короткие. Кроме того, сила, создаваемая сжатием нижней челюсти, воздействовала не только на сохранившиеся зубы, но и на лишенные зубов участки десны и костные перестроечные компоненты. Данная механическая сила выдавливала и одновременно стимулировала рост костного губчатого вещества за границей зубной лунки в сторону исчезнувшей вестибулярной пластины альвеолярного отростка. Кроме того, такую конструкцию альвеолярного отростка верхнечелюстной кости, можно рассматривать, как компенсаторный механизм, позволяющий поддерживать его устойчивость к механическому воздействию.

В зубных лунках без зубов можно было условно выделить границы, которые определяются по линии прекращения роста губчатой ткани челюстей и возобновлению вестибулярной и язычной костной пластины альвеолярной кости. По сравнению с размерами и формами аналогичных альвеол, содержащих зубы на других черепах, следует отметить, что у первоначально отмеченных зубных лунок размер и форма были на 15–20 % больше. По краям лунок без зубов разросшаяся губчатая ткань выходила за их топические границы таким образом, что проникала на поверхность пластины соседних альвеол, имеющих зубы (рисунок 2).

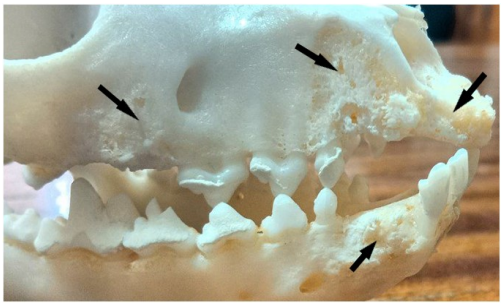


Рисунок 1 – Альвеолярный отросток верхней и нижней челюсти собаки (12 лет). Макропрепарат. Стрелками указаны очаги перестройки костной ткани.

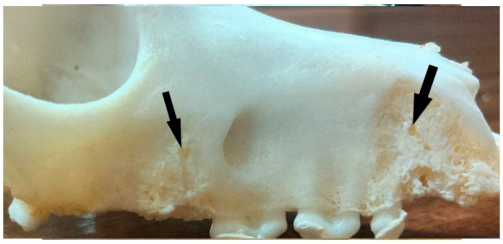


Рисунок 2 – Альвеолярный отросток верхней челюсти собаки (12 лет). Макропрепарат. Стрелками указаны зубные альвеолы с прижизненной потерей клыка и 1-ого моляра на правой зубной аркаде.

Рисунок 3 – Альвеолярный отросток челюстей собаки (13 лет) при утрате зубов. Макропрепарат.

При прижизненной утрате зубов всего ряда отмечается несколько другая патологическая картина на альвеолярном отростке (рисунок 3). На всем протяжении альвеолярного отростка, отсутствовала вестибулярная кортикальная пластина. Ее анатомическое место занимало разросшиеся губчатое вещество, рост которого осуществлялся из полости альвеолы. За счет сохранившихся межзубных перегородок альвеолярного отростка без зубов на верхней челюсти принимал волнообразную форму (рисунок 3). На нижнечелюстной кости аркада с отсутствующими зубами имела более ровную поверхность со значительно плотной стенкой, по сравнению с аналогичной снабженной зубами.

Прижизненная потеря всех зубов влияет не только на форму и строение альвеолярных отростков, но и на структуру челюстных костей. В первую очередь это характеризуется уменьшением длины и ширины указанных костей, сокращение которых составляла до 15 %, в сравнении челюстными костями снабженными зубами. Такие патологические изменения приводят к тому, что контуры лицевого отдела черепа собак приобретают несколько конусовидный внешний вид.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

1. Установлено, что вне зависимости от локализации челюстной кости все патологические процессы в ее зубных альвеолах имели одинаковый характер течения.

2. Структурные перестройки при утрате зубов в первую очередь характеризовались заполнением полости лунки губчатым костным веществом, которое разрасталось из межпластинчатого пространства челюстных костей.

3. Вследствие заполнения полости альвеолы, губчатая кость замещала собой вестибулярную компактную костную пластину альвеолярного отростка на обеих челюстях.

4. Полученные данные являются базовыми при совершенствовании классических и разработке новых методов дифференциальной диагностики и методов экстирпации в ветеринарной стоматологии.

PATHOLOGIC CHANGES IN THE ALVEOLAR PROCESS OF JAW BONES IN DOGS WITH OLIGODENTIA

Frolov V.V.[1] – Doctor of Biological Sciences, Professor of the Department of Animal Disease and Veterinary Sanitary Expertise; **Egunova A.V.**[1] – Candidate of Biological Sciences, Associate Professor of the Department of Animal Disease and Veterinary Sanitary Expertise; **Novikov Y.I.**[1] - PhD student of the Department of Animal Diseases and Veterinary and Sanitary Expertise; **Ivantsov V.A.**[2] * – Candidate of Biological Sciences, Associate Professor of the Department of Anatomy and Histology of Animals named after Prof. A.F. Klimov

[1] Saratov State University of Genetics, Biotechnology and Engineering by N.I. Vavilov

[2] Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology – MVA by K. I. Skryabin

* ivancov@mgavm.ru

ABSTRACT

The article presents the peculiarities of the pathological process occurring in the dental alveoli of jaw bones in mesocephalic dogs of the older age group (10-15 years old) subjected to lifetime tooth extraction. The study was conducted on the basis of the Department of Animal Diseases and Veterinary

Sanitary Examination of Saratov State University of Genetics, Biotechnology and Engineering by N.I. Vavilov and the Department of Anatomy and Histology of Animals named after Prof. A.F. Klimov of Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology – MVA by K. I. Skryabin. The object of the study were dogs with mesocephalic head shape (n=15) at the age of -15 years. Upper and lower jaws served as the material for the study. The method of anatomical dissection was used in order to obtain the head skeleton for further cranioscopy, which included evaluation of the alveolar process on both jaws. Based on the results of the study, it was found that regardless of the localization of the jawbone, all pathological processes in its dental alveoli had the same character of course. It was revealed that the structural changes in tooth loss were primarily characterized by filling of the cavity with spongy bone substance, which grew out of the interplate space of the jaw bones. Due to the filling of the alveolar cavity, the cancellous bone replaced the vestibular compact bone plate of the alveolar process on both jawbones. The obtained data are basic for improvement of classical and development of new methods of differential diagnostics and methods of extirpation in dentistry of small pets.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1.Иванцов В.А. Морфометрическая характеристика зубных рядов у средних пород собак-долихоцефалов / В.А. Иванцов, В.В. Фролов // Ветеринарная морфология и патология. - 2023. -№ 2. - С. 58-62.

2.Микроморфологическая характеристика твердых тканей зуба у собак различных возрастных групп / Я.И. Новиков, В.В. Фролов и др. // Ветеринария, зоотехния и биотехнология. - 2023. - № 12. – Т. 1. - С. 45-53.

3.Окушко В.Р. К физиологии одонтона / В.Р. Окушко // Международные обзоры: клиническая практика и здоровье. – 2014. – № 4(10). – С. 94-97.

4.Окушко В.Р. Биомеханические и гидравлические процессы в прорезывании зубов / В.Р. Окушко, Т.А. Чепендюк // Актуальные вопросы антропологии. – 2016. – № 11. – С. 409-419.

5.Слесаренко Н.А. Морфометрическая характеристика зубных рядов мелких домашних животных в зависимости от морфотипа головы / Н.А. Слесаренко, М.А. Абельцева, В.А. Иванцов // Иппология и ветеринария. - 2021. - № 4 (42). - С. 256-263.

6.Слесаренко Н.А. Аномалии развития корневой системы зубов у собак различных морфотипов / Н.А. Слесаренко, В.А. Иванцов // Сборник трудов VII всероссийской межвузовской конференции по ветеринарной. Москва, 2017. – С. 42-48.

7.Слесаренко Н.А. Клиническая анатомия зубного органа собаки / Н.А. Слесаренко, В.А. Иванцов – Москва: ООО НПО «Сельскохозяйственные технологии», 2021. – 114 с.

8.Фролов В.В. Комплексный анализ заболеваний пародонта у собак / В.В. Фролов, А.В. Егунова // Российский ветеринарный журнал. - 2017. - № 2. - С. 36-41.

9.Фролов В.В. Атрофия альвеолярных отростков у собак / В.В. Фролов // Ветеринарная медицина. Современные проблемы и перспективы развития. Материалы VI Всероссийской научно-практической конференции 2006 г. Саратов, 2006. - С. 346-348.

10.Фролов В.В. Дентиция и генерации зубов у собак / В.В. Фролов -М.: ИКЦ «Колос-С», 2020. - 255 с.

11.Фролов В.В. Снижение сжатия челюстей у собак как один из факторов образования одонтогенных отложений / В.В. Фролов // Актуальные проблемы ветеринарии в современных условиях. Материалы международной научно-практической конференции, посвященной 60-летию ГНУ краснодарского НИВИ 2006г. Краснодар,2006. - С. 318-319.

12.Brooke A. Nemec. Veterinary Periodontology / Brooke A. Nemec. - Wiley-Blackwell, 2013 – 358 p.

13.Nanci A. Ten Cates Oral Histology / A. Nanci - Elsevier, 2018 – 824 p.

14.Veterinary Dentistry: A Team Approach / Steven E. Holmstrom – Saunders An imprint

for Elsevier Inc., 2013. – 434 p.

REFERENCES

1.Ivantsov V.A. Morphometric characterization of tooth rows in medium-sized breeds of dolichocephalic dogs / V.A. Ivantsov, V.V. Frolov // Veterinary morphology and pathology. Frolov // Veterinary morphology and pathology. - 2023. -№ 2. - P. 58-62.

2.Micromorphological characterization of dental hard tissues in dogs of different age groups / Ya.I. Novikov, V.V. Frolov et al. // Veterinary, zootechnics and biotechnology. - 2023. - № 12. - V. 1. - P. 45-53.

3.Okushko, V.R. Toward the physiology of odontone / V.R. Okushko // International reviews: clinical practice and health. - 2014. - № 4(10). - P. 94-97.

4.Okushko, V.R. Biomechanical and hydraulic processes in teething / V.R. Okushko, T.A. Chependyuk // Actual issues of anthropology. - 2016. - № 11. - P. 409-419.

5.Slesarenko, N.A. Morphometric characterization of the tooth rows of small domestic animals depending on the head morphotype / N.A. Slesarenko, M.A. Abeltseva, V.A. Ivantsov // Hippology and Veterinary Medicine. - 2021. - № 4 (42). - P. 256-263.

6.Slesarenko, N.A. Anomalies of development of the root system of teeth in dogs of different morphotypes / N.A. Slesarenko, V.A. Ivantsov // Proceedings of the VII All-Russian interuniversity conference on veterinary. Moscow, 2017. - P. 42-48.

7.Slesarenko, N.A. Clinical anatomy of the dental organ of the dog / N.A. Slesarenko, V.A. Ivantsov - Moscow: LLC NPO "Agricultural Technologies", 2021. - 114 p.

8.Frolov V.V. Complex analysis of periodontal diseases in dogs / V.V. Frolov, A.V. Egunova // Russian Veterinary Journal. - 2017. - № 2. - P. 36-41.

9.Frolov V.V. Atrophy of alveolar processes in dogs / V.V. Frolov. Frolov // Veterinary medicine. Modern problems and prospects of development. Proceedings of the VI All-Russian Scientific and Practical Conference 2006. Saratov, 2006. - P. 346-348.

10.Frolov V.V. Dentition and generation of teeth in dogs / V.V. Frolov -M.: ICC "Kolos-S", 2020. - 255 p.

11.Frolov V.V. Reduction of jaw compression in dogs as one of the factors of odontogenic deposits formation / V.V. Frolov. Frolov // Actual problems of veterinary medicine in modern conditions. Proceedings of the international scientific-practical conference devoted to the 60th anniversary of GNU Krasnodar NIVI 2006. Krasnodar, 2006. - P. 318-319.

12.Brooke A. Nemec. Veterinary Periodontology / Brooke A. Nemec. - Wiley-Blackwell, 2013 – 358 p.

13.Nanci A. Ten Cates Oral Histology / A. Nanci - Elsevier, 2018 – 824 p.

14.Veterinary Dentistry: A Team Approach / Steven E. Holmstrom – Saunders An imprint for Elsevier Inc., 2013. – 434 p.

УДК: 636.5: 611.73.013
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.4.394

ВАРИАБЕЛЬНОСТЬ МИКРОСТРУКТУРЫ ЧЕТЫРЕХГЛАВОЙ МЫШЦЫ БЕДРА ЦЫПЛЯТ-БРОЙЛЕРОВ КРОССА «КОББ-500» НА ФОНЕ ПРИМЕНЕНИЯ КОРМОВЫХ ДОБАВОК

Степанишин В.В.* – канд. биол. наук, доц., доц. каф. анатомии и гистологии животных имени профессора А.Ф. Климова; **Позябин С.В**. – д-р ветеринар. наук, проф., зав. каф. ветеринарной хирургии; **Борхунова Е.Н.** – д-р биол. наук, доц., зав. каф. анатомии и гистологии животных имени профессора А.Ф. Климова

ФГБОУ ВО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА имени К. И. Скрябина»

**stepanishin.victor@yandex.ru*

Ключевые слова: *четырехглавая мышцы бедра, бройлеры, кросс Кобб-500, морфология, микроморфометрия, пробиотик, пребиотик, сорбент.*

Key words: *quadriceps femoris muscle, broilers, Cobb-500 cross, morphology, micromorphometry, probiotic, prebiotic, sorbent.*

Поступила: 19.11.2024 **Принята к публикации: 02.12.2024**
Опубликована онлайн:16.12.2024

РЕФЕРАТ

В условиях эксперимента изучали на основании методов световой и трансмиссионной электронной микроскопии и микроморфометрии изучали влияние разных кормовых добавок (пребиотик, пробиотик, сорбент) на строение прямой головки четырехглавой мышцы бедра цыплят-бройлеров мясного кросса «Кобб-500» (возраст 35 суток). Цыплят подразделяли на четыре группы. В контрольной группе цыплята получали основной рационе, а в трех опытных группах к нему добавляли пребиотик, пробиотик, сорбент отечественного производства. При светооптических исследованиях определяли соотношение мышечных волокон и соединительнотканного компонента в структуре мышцы, размерные показатели мышечных волокон и их пучков, толщину эндомизия и перимизия, степень васкуляризации мышцы. На ультраструктурном уровне оценивали толщину и плотность упаковки миофибрилл, а также степень развития митохондриального аппарата мышечных волокон. Показано, что введение пробиотика сопровождалось уплотнением структуры мышцы за счет уменьшения представительства соединительнотканного компонента, увеличением количества мышечных волокон большого диаметра, лучшим развитием митохондриальной сети в мышечных волокнах. Применение пребиотика приводило активизацией метаболических процессов в мышечных волокнах на фоне увеличения суммарной площади митохондрий, увеличением представительство больших волокон в структуре мышечных пучков, однако структура мышцы при этом была рыхлой за счет значительного представительства соединительнотканного компонента мышцы. При использовании сорбента структура мышцы характеризовалось увеличением представительства соединительной ткани (больше, чем в других группах), что приводило к рыхлой упаковке мышечных волокон в пучках, а также преобладанием мышечных волокон ма-

лого и среднего диаметра в структуре, что сопровождалось незначительным увеличением суммарной площади митохондрий. Полученные данные свидетельствуют о неодинаковом влиянии кормовых добавок на тканевый метаболизм, что приодит к изменению структуры четырехглавой мышцы цыплят-бройлеров экспериментальных групп. Полученные данные целесообразно учитывать при составлении рационов в промышленном птицеводстве.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

В Указе Президента Российской Федерации от 28.02.2024 № 145 "О Стратегии научно-технологического развития Российской Федерации" введено понятие технологического суверенитета как способности государства создавать и применять критически важные наукоемкие технологии и иметь возможность организовать на их основе производство в стратегически значимых отраслях, а также говорится о вступлении в новый этап развития в условиях санкционного давления. Развитие птицеводства в России является одним из наиболее важных направлений для обеспечения продовольственной безопасности страны, при этом производство бройлеров еще в 2019 году, на 97-98% зависело от импортного племенного материала, при том, что уровень самообеспеченности мясом птицы России составил более 100%. Птицеводство обеспечивает значительный вклад в продовольственное снабжение населения, удовлетворяя растущий спрос на белок и другие питательные вещества. В условиях глобальных вызовов, таких как изменение климата и рост населения, необходимо внедрение инновационных технологий и методов управления производством. [1, 5, 8, 10, 12, 14, 16, 20]

В условиях интенсивного производства, предприятия по птицеводству стремятся внедрять современные технологии в области содержания, кормления и переработки птицы [3, 13, 17, 18]. В бройлерном птицеводстве особое значение имеет использование высокопродуктивных пород, которые позволяют полностью задействовать их генетический потенциал. [4, 6, 7, 19].

Современные подходы к птицеводству включают оптимизацию селекции, улучшение кормления и использование современных технологий для мониторинга здоровья птицы. Совершенствование подходов к увеличению продуктивного потенциала цыплят-бройлеров, в том числе за счет оптимизации рациона кормления кур, должно основываться на научно обоснованных критериях оценки влияния различных кормовых добавок на их физиологическое состояние и продуктивные качества [9, 11, 15]. Особый интерес представляет изучение влияния кормовых добавок на рост и развитие скелетной мускулатуры бройлеров, так как быстрый рост мышц в непродолжительный постэмбриональный период сопряжен с повышенной нагрузкой на системы организма животного [2, 22, 23, 24].

В этой связи исследование применения отечественных кормовых добавок в рационе цыплят-бройлеров и их комплексная оценка с учетом характеристики структуры скелетных мышц представляют собой весьма важную область научных изысканий.

Цель исследования – изучить гистологические и ультраструктурные изменения, возникающие в структуре четырехглавой мышцы бедра цыплят-бройлеров кросса «Кобб-500» при использовании кормовых добавок (пребиотика, пробиотика и сорбента) отечественного производства.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

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. Петровско-

го". Соержание птиц и манипуляции с ними проводили в соответствии с ГОСТ 34088 — 2017 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила содержания и ухода за сельскохозяйственными животными» и Рекомендация Коллегии Евразийской экономической комиссии от 14.11.2023 N 33 О Руководстве по работе с лабораторными (экспериментальными) животными при проведении доклинических (неклинических) исследований.

Объектом исследования служили цыплята-бройлеры кросса «Кобб-500» в возрасте 35 суток клеточного содержания. Параметры микроклимата, условия содержания, плотность посадки, фронт кормления и поения соответствовали нормам ФНЦ «ВНИТИП» РАН (2013). Цыплят подразделяли на 4 группы (по 25 птиц в каждой): «Контроль», «Пребиотик», «Пробиотик», «Сорбент». В группе «Контроль» цыплята-бройлеры получали полнорационный комбикорм согласно периоду выращивания. На протяжении всего периода выращивания к полнорационному комбикорму птице группы «Пребиотик» - пребиотика «Ньюмит» в дозировке 0,5 г/кг, птице группы «Пробиотик» добавляли пробиотик «Бифидонол» в дозировке 0,5 г/кг корма, птице группы «Сорбент» - добавку «Сорбент Эко» в дозировке 2 г/кг.

Для гистологических исследований сразу после убоя отбирали фрагменты прямой головки четырехглавой мышцы бедра, которые фиксировали в 10%-м растворе нейтрального формалина в течение 24-х часов. После промывки в проточной образцы мышц обезвоживали в дегидратирующем растворе «Изопреп» и заливали в парафин по общепринятой методике. Изготовление гистологических срезов осуществляли с помощью микротома 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 ImageScope 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 значении $p \leq 0,05$.

Для исследования методом трансмиссионной электронной микроскопии образцы прямой головки четырехглавой мышцы бедра размером 2 мм^3 фиксировали 2,5 -% раствором глутарового альдегида на фосфатном буфере (pH 7,4), дофиксировали в 1-% растворе тетраоксида осмия (OsO_4), обезвоживали в этаноле по общепринятой схеме, в процессе обезвоживания контрастировали 1-% уранилацетатом на 70-% этаноле и проводили заливку в смесь эпон–аралдит по стандартной методике (Dey, 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 увеличении ×14000 (площадь поля зрения 100 мкм^2) 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 обработ-

ку 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 (α) 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

При сравнительной оценке живой массы цыплят-бройлеров кросса Кобб-500 установлено, что после использования кормовых добавок изучаемый показатель возрастал в группе «Пребиотик» в среднем на 170 г, оставался без изменений в группе «Пробиотик» и достоверно, в среднем на 445 г, увеличивался в группе «Сорбент» (таблица 1).

При сравнительной оценке веса грудных мышц на кости у цыплят-бройлеров кросса Кобб-500 установлено, что по сравнению с контрольными образцами изучаемый показатель возрастал в группе «Пребиотик» в среднем на 109 г, оставался без изменений в группе «Пробиотик» и достоверно, в среднем на 279 г, увеличивался в группе «Сорбент» (таблица 2).

При микроскопических исследованиях в группе «Контроль» отмечено рыхлое расположение мышечных волокон в составе пучков, что связано со значительным развитием эндомизия и перимизия. На площади среза преобладают красные мышечные волокна, белые волокна единичны. Красные мышечные волокна имеют неодинаковую толщину (таблица 3): видны большие, средние и малые волокна, с преобладанием средних и малых, продолжающих рост.

В структуре эндомизия и перимизия визуализируются главным образом аморфный компонент и пучки коллагеновых волокон, лишь в некоторых прослойках перимизия определяется белая жировая ткань. Мышечная ткань хорошо васкуляризована (таблица 3).

Таблица 1 – Живая масса цыплят-бройлеров кросса Кобб-500 на 35-е сутки, г Me (Q_1÷Q_3)

Показатель	Группы			
	«Контроль» n=25	«Пребиотик» n=25	«Пробиотик» n=25	«Сорбент» n=25
Живая масса, г	2610 (2465÷2712)	2780 (2645÷2930)	2412 (2070÷2755)	3055 (3035÷3075)

Таблица 2 – Характеристика мышц бедра на кости у цыплят-бройлеров кросса Кобб-500 по весовым показателям, г, Me (Q_1÷Q_3)

Показатель	Группы			
	Контроль n=25	«Пребиотик» n=25	«Пробиотик» n=25	«Сорбент» n=25
Вес грудки на кости, г	550 (524÷566)	659 (604÷715)	564 (409÷698)	829* (812÷846)

*Примечание для таблицы 1, 2: ***** Статистически значимые отличия групп «Пребиотик», «Пробиотик», «Сорбент» от контрольной группы ($p \leq 0,05$).*

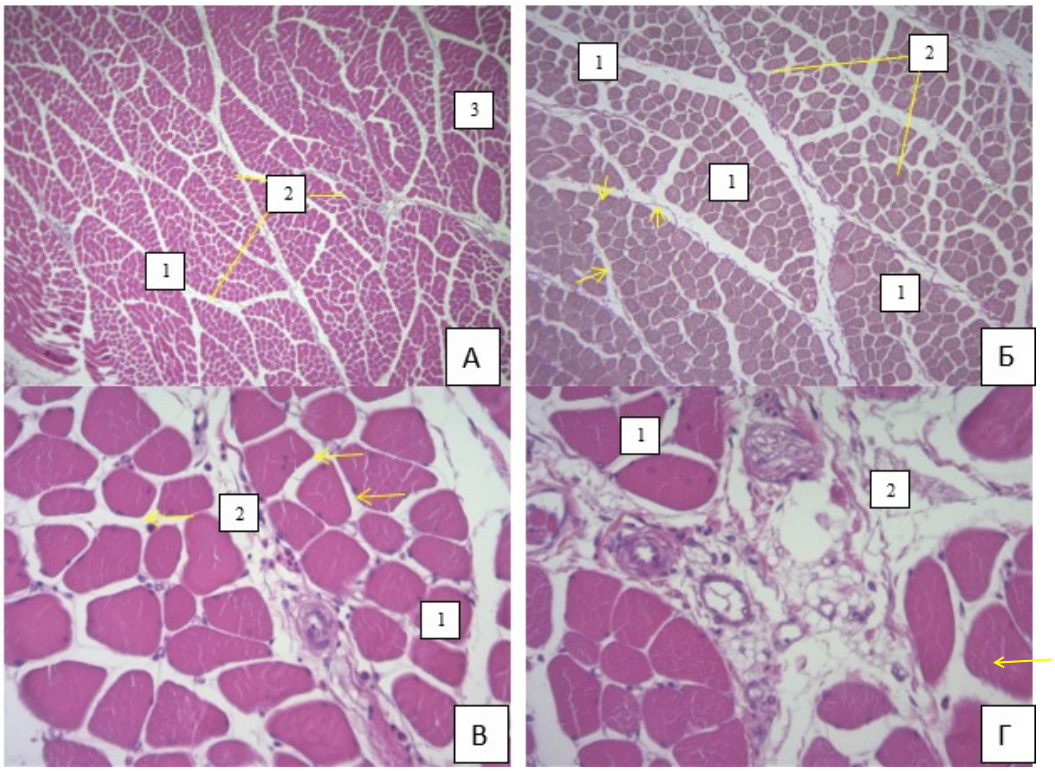


Рисунок 1 – Микроструктура мышцы четырехглавой мышцы бедра цыпленка-бройлера кросса Кобб-500. Группа «Контроль». Поперечный срез.
А – общий вид: мышечные волокна и пучки 1 и 2 порядков (1) в структуре волокна упакованы рыхло в связи с сильным развитием эндомизия и перимизия (2). Гематоксилин и эозин, х40. Б – мышечные волокна (1) рыхло упакованы, перимизий (2) и эндомизий (стрелки) хорошо выражен, содержит пучки коллагеновых волокон (окрашены фуксинофильно, в красный цвет). Ван-Гизон, х100.В – мышечные волокна (1) имеют разный диаметр, много волокон среднего и небольшого диаметра, эндомизий (стрелки) и перимизий (2) хорошо развиты. Гематоксилин и эозин, х400. Г – в перимизии (2) наблюдается белая жировая ткань, виден сосудисто-нервный пучок. 1 – мышечные волокна. Гематоксилин и эозин, х400.

В группе «Пребиотик» микроструктура четырехглавой мышцы бедра сходна с контрольными образцами из-за рыхлого расположения мышечных волокон в пучках. При этом обращает на себя внимание увеличение количества волокон большой толщины в поле зрения по сравнению с контролем, в то время как размерные характеристики мышечных волокон большой, средней и малой толщины, а также их пучков не отличаются от контрольных значений (таблица 3). По сравнению с контрольными образцами немного увеличивается количество белых мышечных волокон (0-2 в поле зрения при увеличении в 400 раз). Что касается соединительнотканного компонента, то толщина эндомизия возрастает по сравнению с контролем, тогда как толщина перимизия не отличается от контрольных образцов. Увеличение представительства соединительнотканного компонента за счет эндомизия приводит к изменению соотношения мышечных волокон и соединитель-

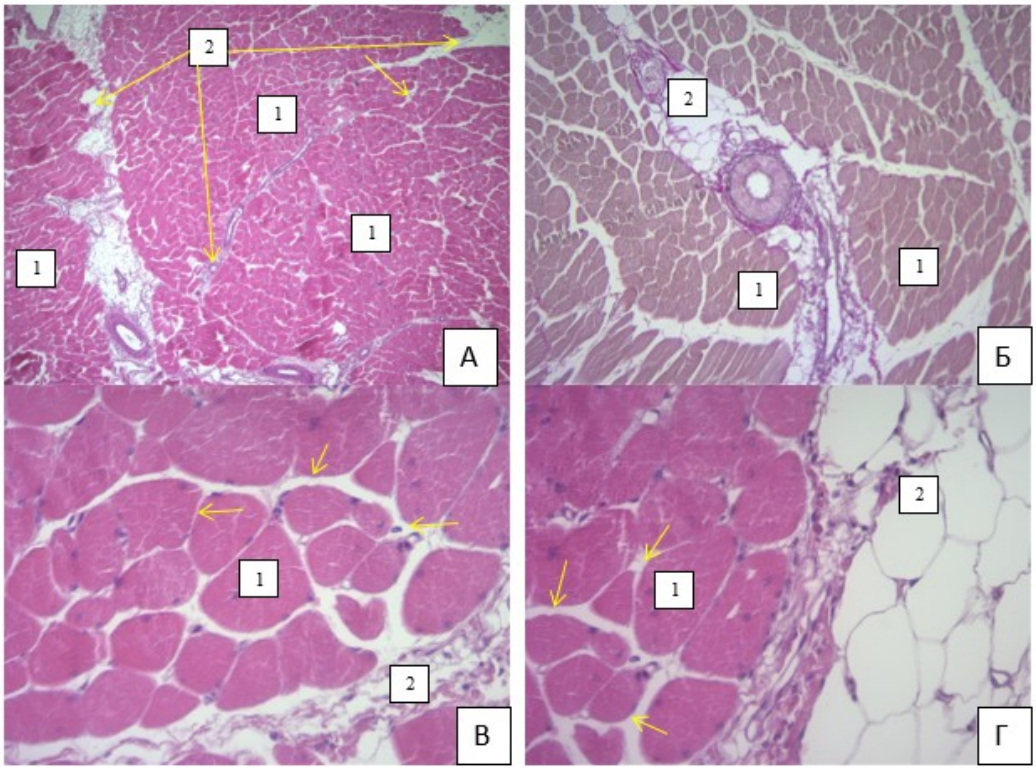


Рисунок 2 – Микроструктура четырехглавой мышцы бедра цыпленка-бройлера кросса Кобб-500. Группа «Пребиотик». Поперечный срез.
А – общий вид: мышечные волокна в пучках (1) расположены плотнее, чем в контроле из -за тонкого эндомизия. Перимизий (2) сильно развит. Гематоксилин и эозин, х40.
Б – среди пучков мышечных волокон 2 порядка (1) виден хорошо развитый перимизий, одна прослойка (2) содержащит белую жировую ткань (2). В – мышечные волокна (1) расположены плотно, визуализируется больше, чем в контроле, волокон большого диаметра. Эндомизий (стрелки) тонкий, перимизий (2) сформирован соединительной тканью, в которой видны аморфный компонент и пучки коллагеновых волокон. Гематоксилин и эозин, х400. Г – 1 – мышечные волокна разной площади, расположены рыхло (эндомизий показан стрелками), 2 – перимизий содержит белую жировую ткань. Гематоксилин и эозин, х400.

ной ткани до 72:28% (в контроле этот показатель составляет 79:21%). По количеству гемокапилляров в поле зрения данная группа немного уступает контрольным образцам (таблица 3).

В группе «Пробиотик» обращает на себя внимание более плотное, по сравнению с другими группами, расположение пучков мышечных волокон. Это обусловлено умеренным развитием эндомизия и равномерной толщиной перимизия, в котором чаще всего в большем или меньшем количестве находятся адипоциты. На площади среза определяются единичные более мощные прослойки перимизия, которые содержат большое количество белой жировой ткани. При этом соотношение мышечных волокон и соединительной ткани на площади среза составляет 80:20%, то есть плотность расположения мышечных волокон и их пучков больше, чем в других исследуемых группах кросса Кобб-500. Количество белых мышечных волокон возрастает по сравнению с

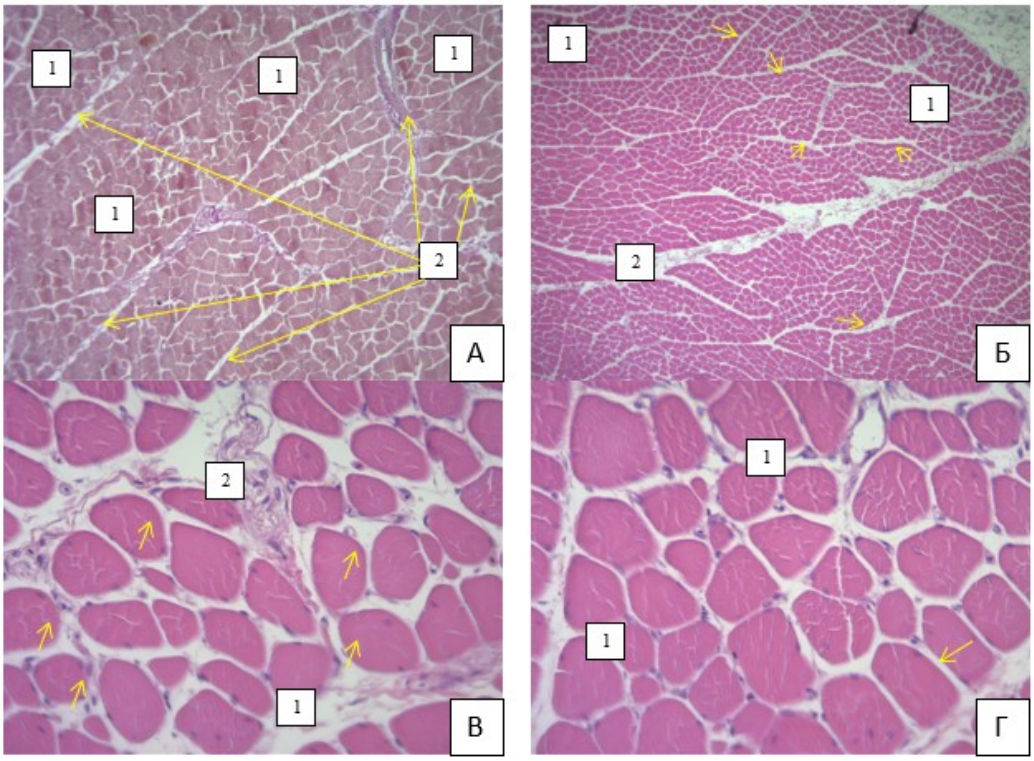


Рисунок 3 – Микроструктура четырехглавой мышцы бедра цыпленка-бройлера кросса Кобб-500. Группа «Пробиотик». Поперечный срез.
А – общий вид: мышечные волокна и пучки 1 и 2 порядков (1) в структуре волокна упакованы плотнее, чем в предыдущих группах. 2 – перимизий формирует прослойки равномерной толщины, эндомизий умеренно развит. Ван-Гизон, х100. Б – более развитая прослойка перимизия (2), содержащая жировую ткань. 1 – мышечные пучки и разделяющий их перимизий, расположенные перифо-кально, развиты равномерно, оформлены монотонно. Гематоксилин и эозин, х40. В – мышечные волокна (1) имеют разную площадь, разделены хорошо развитым эндомизием (стрелки 2 – перимизий содержит хорошо развитые пучки коллагеновых волокон. Гематоксилин и эозин, х400. Г – в поле зрения преобладают мышечные волокна большой площади.
Гематоксилин и эозин, х400.

контролем и составляет 1-2 в поле зрения при увеличении в 400 раз. Среди красных мышечных волокон, как и в группах «Контроль» и «Пребиотик», различаются волокна большого, среднего и малого диаметра, размерные характеристики волокон и их пучков сходны с таковыми в других группах. При этом в структуре пучков возрастает количество больших волокон. В данной группе выявлено большее, чем в других, количество гемокапилляров - 17 (16÷19) в поле зрения при увеличении в 400 раз.

В группе «Сорбент» выявлено наиболее рыхлое, по сравнению с другими группами, расположение мышечных волокон в пучках, а также рыхлая упаковка мышечных волокон в структуре мышцы. Это связано с большим, по сравнению с другими группами исследования кросса Кобб-500, развитием эндомизия и перимизия, причем соотношение мышечных волокон и соединительной ткани в поле

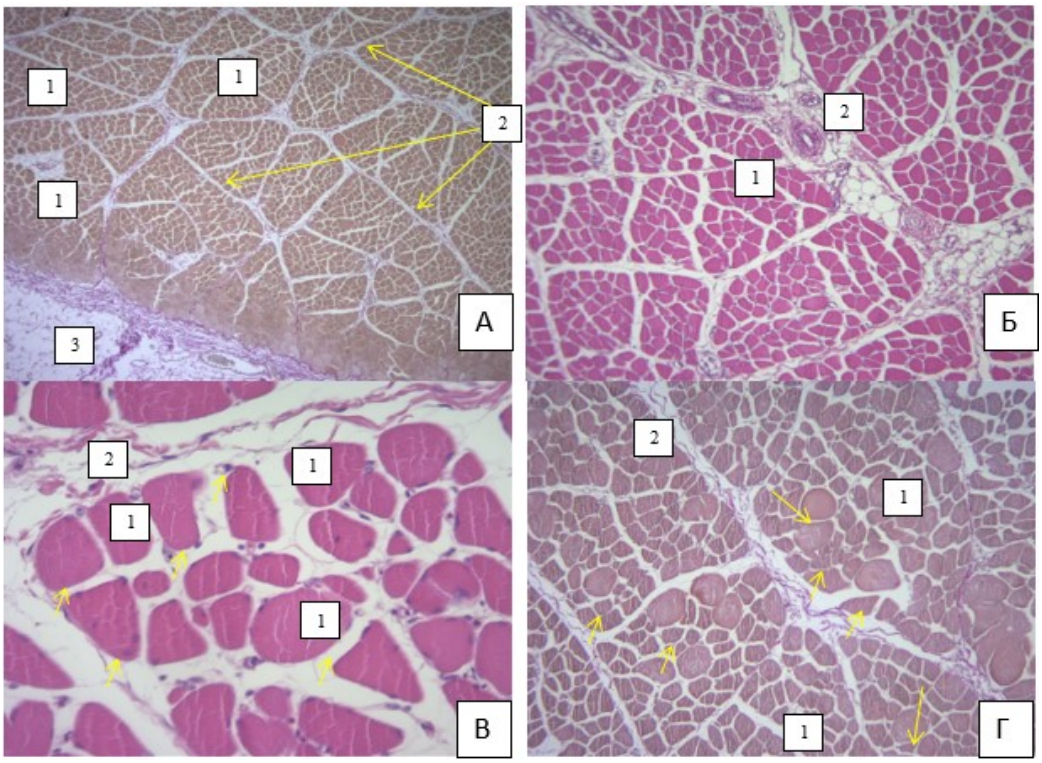


Рисунок 4 – Микроструктура четырехглавой мышцы бедра цыпленка-бройлера кросса Кобб-500. Группа «Сорбент». Поперечный срез.
А – общий вид: мышечные волокна и пучки 1 и 2 порядков (1) в структуре волокна расположены более рыхло, чем в остальных группах; эндомизий (2), перимизий (3) и эпимизий (4) отличаются значительным развитием и содержат белую жировую ткань. Ван-Гизон, х40. Б – мышечные волокна (красного цвета) разделены толстыми прослойками эндомизия (1), 2 – перимизий содержит дольки белой жировой ткани. Гематоксилин и эозин, х100. В – мышечные волокна (1) имеют разный диаметр, разделены хорошо развитым эндомизием (стрелки), в перимизии (2) визуализируется рыхлая соединительная ткань. Гематоксилин и эозин, х400. Г – белых мышечных волокон (стрелки) больше, чем в контроле. 1 – пучки мышечных волокон, 2 - перимизий, стрелками показаны белые мышечные волокна. Ван-Гизон, х200.

зрения составляет 83:17% (таблица 3). В структуре мышцы встречаются прослойки перимизия большой толщины, содержащие белую жировую ткань. При исследовании в мышечных пучках определяются главным образом волокна среднего и малого диаметра, представительство волокон большого диаметра невелико, что может указывать на меньшие темпы роста изучаемой мышцы по сравнению с другими экспериментальными группами. В структуре мышечных пучков преобладают красные мышечные волокна, количество белых волокон больше, чем в контрольных образцах. Размерные характеристики мышечных волокон и их пучков схожи с другими исследованными группами. Эпимизий и перимизий сильно развиты и содержат большое количество белой жировой ткани. Количество гемокапилляров в поле зрения соответствует значениям группы «Пребиотик» и уступает группам «Контроль» и «Пробиотик».

Таблица 3 – Характеристика четырехглавой мышцы бедра 35-ти суточных цыплят-бройлеров кросса Кобб-500 по морфометрическим критериям, Me (Q_1÷Q_3)

Показатель	Группа			
	Контроль	Пребиотик	Пробиотик	Сорбент
Толщина мышечных волокон (на продольном срезе), мкм				
большие	44,2 (38,1÷48,2)	42,6 (35,3÷50,3)	44,8 (42,6÷54,3)	44,6 (40,1÷48,6)
средние	23,2 (19,3÷28,1)	27,2 (24,4÷33,2)	30,2 (27,3÷33,2)	29,4 (24,3÷34,3)
малые	13,3 (11,0÷16,1)	13,7 (10,5÷16,6)	14,6 (13,5÷21,4)	13,4 (10,5÷17,7)
Толщина пучков мышечных волокон 1 порядка, мкм	74,5 (55,9÷124,2)	88 (77,4÷112)	74,4 (55,1÷95,7)	121 (93÷168)
Толщина пучков мышечных волокон 2 порядка, мкм	222,0 (158,2÷283,8)	240 (184÷307)	239 (199÷290)	334 (186÷433)
Площадь пучков мышечных волокон 1 порядка, мкм^2	25 500 (16 700÷30 700)	42 600 (27 200÷51 100)	52 100 (31 800÷62 000)	64 200 (46 700÷82 200)
Площадь пучков мышечных волокон 2 порядка, мкм^2	215 000 (176 000÷252 000)	233 000 (200 000÷279 000)	221 000 (166 000÷274 000)	278 000 (273 000÷328 000)
Толщина эндомизия, мкм	7,4 (5,8÷10,3)	9,6 (6,6÷12,2)	8,9 (5,1÷11,5)	8,2 (4,3÷11,2)
Толщина перимизия, мкм	58,4 (38,3÷83,4)	58,3 (37,2÷82,4)	51,6 (31,4÷82,2)	45,2 (35,7÷53,5) и 224 (186÷258)
Кол-во гемокапилляров в поле зрения при х400	14 (12÷19)	11 (10÷13)	17 (16÷19)	10 (8÷12)
Соотношение мышечная ткань: соединительная ткань на площади среза, %	79:21	72:28	80:20	83:17*

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

При исследовании методом образцов мышечной ткани методом трансмиссионной электронной микроскопии (рис.5) в четырехглавой мышце бедра кур кросса Кобб-500 отмечены выраженные изменения состояния митохондриальной сети в опытных образцах по сравнению с контрольными (тсбл.4), что, очевидно, связано с применением кормовых добавок.

Так, общая площадь митохондрий и количество межфибриллярных митохондрий возрастали во всех группах. При этом наибольшее увеличение этих показателей отмечено в группе «Пробиотик», в меньшей степени они возрастали в группе «Пребиотик» и минимальное увеличение показателей митохондриальной сети выявлено в группе «Сорбент».

Анализ состояния миофибрилл позволили выявить небольшие изменения по

сравнению с контрольными образцами только в группе «Пребиотик»: так, здесь происходило уменьшение плотности расположения миофибрилл при увеличении их толщины. В группах «Пробиотик» и «Сорбент» размерные характеристики и плотность упаковки миофибрилл в мышечном волокне не отличались от контрольных значений.

Таблица 4 – Морфометрическая характеристика митохондрий и микрофибрилл в мышечных волокнах четырехглавой мышцы бедра 35-суточных цыплят-бройлеров кросса Кобб-500 при различных рационах кормления

Группа	Площадь митохондрий в поле зрения, мкм^2	Кол-во митохондрий в поле зрения, шт	Средняя площадь митохондрии, мкм^2	Плотность миофибрилл на 100 мкм^2, шт	Средняя толщина миофибрилл, мкм
«Контроль»	0,765±0,256	1,57±0,79	0,487±0,292	13,38±1,85	0,735±0,073
«Пребиотик»	1,833±0,504 *	5,57±2,23 **	0,329±0,138	9,80±1,81 **	1,038±0,202 ***
«Пробиотик»	2,246±1,129 **	7,80±5,22 **	0,288±0,225 *	13,38±2,13	0,889±0,164
«Сорбент»	1,320±0,979	2,67±1,03	0,495±0,333	12,25±1,49	0,843±0,042

*Статистически значимые отличия групп «Пребиотик», «Пробиотик», «Сорбент» от контрольной группы *(P≤0,05); **(P≤0,005); ***(P≤0,0005).*

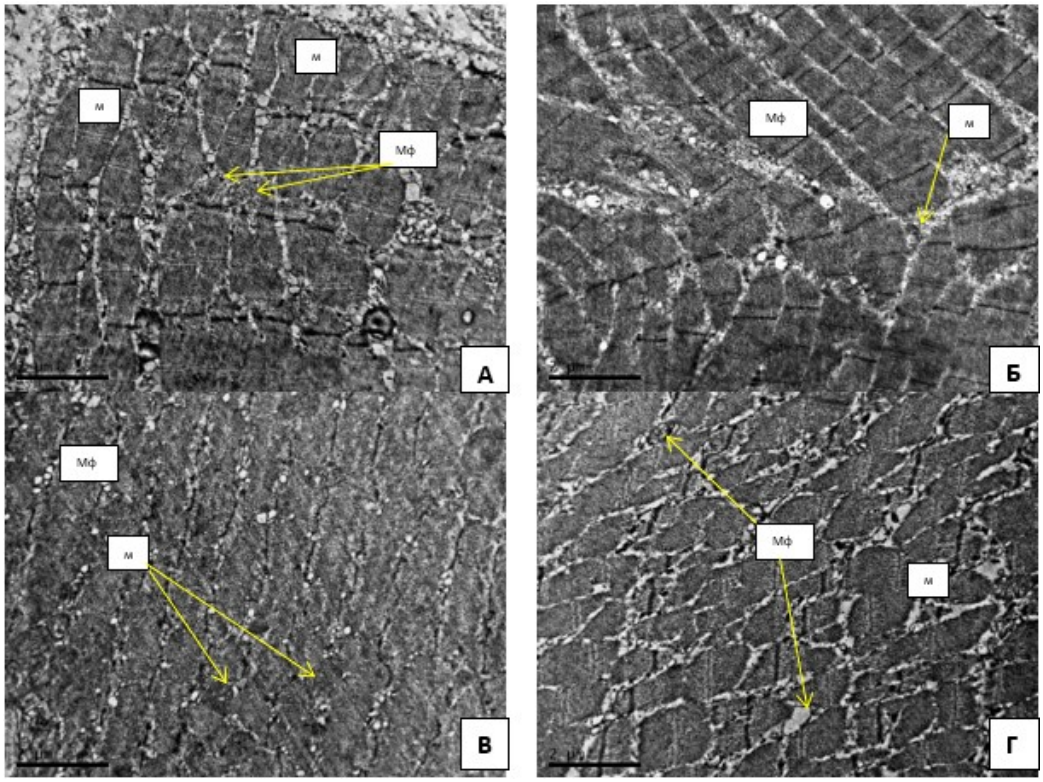


Рисунок 5 – Ультраструктура четырехглавой мышцы бедра кур кросса Кобб-500: А – группа «Контроль»; Б – группа «Пробиотик»; В – группа «Пребиотик»; Г – группа «Сорбент». ТЭМ, ×14000.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

На основании проведенных исследований получены данные о положительном влиянии кормовых добавок (пребиотик, пробиотик, сорбент) на показатели живой массы и весовые характеристики мышц бедра (таблицы 1,2) цыплят- бройлеров кросса Кобб-500/

При микроскопических исследованиях показано, что введение в рацион пробиотика сопровождалось уменьшением представительства соединительнотканного компонента мышцы, в первую очередь, - уменьшением толщины эндомизия. Это приводило к более плотному расположению мышечных волокон в структуре пучка, при этом перимизий был представлен прослойками рыхлой соединительной умеренной и в то же время равномерной толщины, которая содержала белую жировую ткань. В структуре пучка возрастало представительство мышечных волокон большой толщины, что можно объяснить усилением ростовых процессов в мышце на фоне активизации тканевого метаболизма. Подтверждением тому служат результаты ультрамикроскопических исследований, которые свидетельствуют о лучшем, по сравнению с контролем и другими группами, развитии митохондриальной сети в мышечных волокнах.

Введение в рацион пребиотика сопровождалось активизацией метаболических процессов в мышечных волокнах, на что указывало увеличение суммарной площади митохондрий, их количества, выраженного, однако, менее, чем в группе «Пробиотик». На этом фоне также увеличением представительство больших волокон в структуре мышечных пучков, однако структура мышцы при этом была рыхлой, как и вконтрольной группе, за счет значительного представительства соединительнотканного компонента мышцы.

При использовании сорбента структура мышцы характеризовалось увеличением представительства соединительной ткани по сравнению с контрольной и другими опытными группами. Это и обусловливало наиболее рыхлую, по сравнению с другими группами, упаковку мышечных волокон в пучках. Перимизий содержал, как правило белую жировую ткань. Примечательно, что в пучках мышечных волокон были многочисленны волокна малой и средней толщины, что придает данной группе сходство с контрольными образцами и в то же время указывает на меньшую активность тканевого метаболизма и роста мышцы по сравнению с группами «Пробиотик» и «Пребиотик». Это предположение подтверждается существенно меньшим, по сравнению с группами «Пробиотик» и «Пребиотик», увеличением количества митохондрий и их суммарной площади митохондрий по сравнению с контролем. Такой эффект может быть связан с тем, что постоянное добавление сорбента в рацион приводит к ухудшению всасываемости и усвояемости не только токсинов, но и питательных веществ рациона, что приводит к формированию скелетной мышцы рыхлой структуры.

Результаты проведенных исследований показывают, что использованные в эксперименте кормовые добавки неодинаково влияют на тканевый метаболизм, что проявляется изменением морфологических показателей четырехглавой мышцы цыплят-бройлеров экспериментальных групп. Полученные данные целесообразно учитывать при составлении рационов в промышленном птицеводстве. Они также могут применяться в качестве морфологических критериев при оценке качества мяса птицы в ходе товароведческой и ветеринарно-санитарной экспертизы.

VARIABILITY OF MICROSTRUCTURE OF QUADRICEPS FEMORIS MUSCLE OF BROILER CHICKENS CROSS “COBB-500” ON THE BACKGROUND OF FEED ADDITIVES APPLICATION

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

ment. anatomy and histology of animals named after Professor A.F. Klimov

Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology – M.I. Skryabin MBA

* stepanishin.victor@yandex.ru

ABSTRACT

Under experimental conditions, the effect of different feed additives (prebiotic, probiotic, sorbent) on the structure of the rectus head of quadriceps femoris muscle of broiler chickens of meat cross “Cobb-500” (age 35 days) was studied on the basis of light and transmission electron microscopy and micromorphometry methods. The chickens were divided into four groups. In the control group chickens received the basic diet, and in three experimental groups prebiotic, probiotic, sorbent of domestic production was added to it. Light-optical studies determined the ratio of muscle fibers and connective tissue component in the muscle structure, dimensional indices of muscle fibers and their bundles, thickness of endomysium and perimysium, the degree of vascularization of the muscle. At the ultrastructural level, the thickness and packing density of myofibrils, as well as the degree of development of the mitochondrial apparatus of muscle fibers were assessed. It was shown that probiotic administration was accompanied by compaction of muscle structure due to a decrease in the representation of connective tissue component, an increase in the number of large-diameter muscle fibers, and better development of mitochondrial network in muscle fibers. Application of prebiotic resulted in activation of metabolic processes in muscle fibers against the background of increase in the total area of mitochondria, increase in the representation of large fibers in the structure of muscle bundles, but the muscle structure was loose due to significant representation of connective tissue component of muscle. When sorbent was used, the muscle structure was characterized by an increase in the representation of connective tissue (more than in other groups), which led to lose packing of muscle fibers in bundles, as well as the predominance of muscle fibers of small and medium diameter in the structure, which was accompanied by an insignificant increase in the total area of mitochondria. The obtained data indicate a different effect of feed additives on tissue metabolism, which leads to changes in the structure of quadriceps muscle of broiler chickens of experimental groups. The obtained data should be taken into account when formulating diets in industrial poultry farming.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1.Азарян, Е. М. Стратегические ориентиры импортозамещения на рынке мяса птицы / Е. М. Азарян, А. В. Иванченко // Финансовые рынки и банки. – 2024. – № 2. – С. 266-268.

2.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.

3.Векторы социально-экономического развития России: современные вызовы и возможности: монография / С.Н. Басуева, Н.П. Дебердиева, А.В. Минаков [и др.]. - Чебоксары: ИД "Среда", 2024. - 180 с.

4.Влияние пробиотика «Бацелл-М®» на уровень экспрессии генов у бройлеров кросса «Кобб 500» на фоне вакцинации против инфекционного бронхита / И. О. Крутов, А. В. Голубцов, Н. А. Стрельников [и др.] // Птица и птицепродукты. – 2024. – № 3. – С. 17-21. – DOI 10.30975/2073-4999-2024-26-3-17-21.

5.Воронцова, Е. В. Птицеводство России: состояние и проблемы отрасли в современных экономических условиях / Е. В. Воронцова, А. В. Буяров // Теория и практика инновационных технологий в АПК: Материалы национальной научно-практической конференции, Воронеж, 15 –19 апреля 2024 года. – Воронеж: Воронежский государственный аграрный университет им. Императора Петра I, 2024. – С. 55-61.

6.Газзаева, М. С. Экспертиза качества

готовой продукции из мяса птицы / М. С. Газзаева // Цифровизация сельского хозяйства: актуальные проблемы внедрения современных технологий в АПК горных и предгорных территорий РСО-Алания: Материалы Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, Владикавказ, 15 марта 2024 года. – Владикавказ: Горский государственный аграрный университет, 2024. – С. 173-176.

7.Матасов, А. А. Выращивание цыплят-бройлеров с использованием полнорационных комбикормов различных производителей / А. А. Матасов, К. К. Есмагамбетов // Современные задачи и перспективные направления инновационного развития аграрной науки : Сборник статей по материалам Международной научно-практической конференции, посвященной 300-летию Российской академии наук, Курган, 25 апреля 2024 года. – Курган: Курганский государственный университет, 2024. – С. 43-46.

8.Маринченко, Т. Е. Конкурентоспособность отечественного кросса "Смена 9" / Т. Е. Маринченко // Актуальные вопросы и инновации в животноводстве : Материалы всероссийской научно-практической конференции, посвящённой 100-летию со дня рождения профессора С.Г. Леушина, 300-летию Российской академии наук и 90-летию создания Оренбургского научно -исследовательского института молочно-мясного скотоводства в системе Наркомата зерновых и животноводческих совхозов СССР, Оренбург, 22–23 мая 2024 года. – Оренбург: Федеральное государственное бюджетное научное учреждение "Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий Российской академии наук", 2024. – С. 81-85.

9.Мясное птицеводство: текущие реалии рынка и его перспективы / Е. В. Щеглов, С. В. Никитенко, А. Ю. Журавлев [и др.] // Интернаука. – 2024. – № 23-2(340). – С. 17-20.

10.Назар, М. М. Проблемы и перспективы развития птицеводства в России / М. М. Назар // Russian Journal of Management. – 2024. – Т. 12, № 1. – С. 186-193. – DOI 10.29039/2409-6024-2024-12-1-186-193.

11.Промышленное птицеводство 2024 - инновации, устойчивость, эффективность // Эффективное животноводство. – 2024. – № 5(195). – С. 21.

12.Отечественный рынок мяса птицы и пищевых яиц, в контексте обеспечения продовольственной безопасности / Б. О. Хашир, В. Е. Левичев, Н. М. Сурай [и др.] // Инновации и инвестиции. – 2024. – № 3. – С. 250-254.

13.Сизова, Е. А. Формирование антибиотикорезистентности в условиях интенсивного птицеводства / Е. А. Сизова, К. С. Нечитайло // Птицеводство. – 2024. – № 5. – С. 57-62. – DOI 10.33845/0033-3239-2024-73-5-57-62.

14.Солдатова Л.И., Фадеева Г.В. Оценка состояния отрасли птицеводства и применение методов экономико-математического моделирования в снижении себестоимости продукции / Л.И. Солдатова, Г.В. Фадеева // Экономика и предпринимательство. - №12. - 2021. - С. 1276-1280.

15.Технологические аспекты повышения эффективности бройлерного птицеводства / В. С. Буяров, И. В. Комоликова, А. В. Буяров, В. В. Меднова // Биология в сельском хозяйстве. – 2024. – № 2(43). – С. 37-41.

16.Федеральная служба государственной статистики (Росстат). (2024). Доступно на: http://www.gks.ru.

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

18.Хохлова, А. П. Современное птицеводство в России: состояние, проблемы и развитие / А. П. Хохлова, Н. А. Маслова // Вызовы и инновационные решения в аграрной науке: Материалы XXVIII Международной научно-производственной конференции, Майский, 10–11 июня 2024 года. – Майский: ФГБОУ ВО Белгородский ГАУ, 2024. – С. 137-138.

19.Швагер, О. В. Влияние пробиотика «СУБ-про» на товарные и санитарные показатели мяса цыплят-бройлеров / О. В. Швагер // Теория и практика современной

аграрной науки: Сборник VII национальной (всероссийской) научной конференции с международным участием, Новосибирск, 26 февраля 2024 года. – Новосибирск: ИЦ НГАУ "Золотой колос", 2024. – С. 605-607.
20.Akhmet, Zh. T. Comparative analysis of antibiotics in broiler meat using different methods / Zh. T. Akhmet, G. N. Zhaksylykova, A. D. Serikbayeva // Вестник Алматинского технологического университета. – 2024. – No. 1. – P. 5-11. – DOI 10.48184/2304-568X-2024-1-5-11.
21.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
22.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.
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.Azaryan, E. M. Strategic benchmarks of import substitution in the poultry meat market / E. M. Azaryan, A. V. Ivanchenko // Financial markets and banks. - 2024. - No 2. - pp. 266-268.
2.Borkhunova E. N. Features of microorganisms of the superficial pectoral muscle in chickens of meat and egg directions of productivity / E. N. Borkhunova, G. V. Kondratov, V. V. Stepanishin // Veterinariya, Zootekhniya i Biotekhnologiya, 2020, No. 12. – pp. 29-35. – DOI: 10.26155/vet.zoo.bio.202012004.
3.Vectors of socio-economic development of Russia: modern challenges and opportunities: a monograph / S.N. Basueva, N.P. Deberdieva, A.V. Minakov [et al.]. - Cheboksary: ID “Sreda”, 2024. - 180 p.
4.Effect of probiotic “Bacell-M®” on the level of gene expression in broilers cross “Cobb 500” on the background of vaccination against infectious bronchitis / I. O. Krutov, A. V. Golubtsov, N. A. Strelnikov [et al.] // Poultry and poultry products, 2024. - No. 3. - pp. 17-21. - DOI 10.30975/2073-4999-2024-26-3-17-21.
5.Vorontsova, E. V. Poultry farming in Russia: the state and problems of the industry in modern economic conditions / E. V. Vorontsova, A. V. Buyarov // Theory and practice of innovative technologies in agroindustrial complex: Proceedings of the national scientific-practical conference, Voronezh, April 15-19, 2024. - Voronezh: Voronezh State Agrarian University named after Peter the Great. Emperor Peter I, 2024. - pp. 55-61.
6.Gazzaeva, M. S. Expertise of the quality of finished poultry meat products / M. S. Gazzaeva // Digitalization of agriculture: actual problems of the introduction of modern technologies in the agro-industrial complex of mountainous and foothill areas of RSO-Alania: Proceedings of the All-Russian scientific-practical conference with international participation, Vladikavkaz, March 15, 2024. - Vladikavkaz: Gorsky State Agrarian University, 2024. - pp. 173-176.
7.Matasov, A. A. Growing broiler chickens with the use of complete mixed fodders of different manufacturers / A. A. Matasov, K. K. Esmagambetov // Modern tasks and promising directions of innovative development of agrarian science: Collection of articles on the materials of the International Scientific and Practical Conference dedicated to the 300th anniversary of the Russian Academy of Sciences, Kurgan, April 25, 2024. - Kurgan: Kurgan State University, 2024. - pp. 43-46.
8.Marinchenko, T. E. Competitiveness of domestic cross “Change 9” / T. E. Marinchenko // Actual issues and innovations in animal breeding : Proceedings of the All-Russian scientific and practical conference

dedicated to the 100th anniversary of the birth of Professor S. G. Leushin, the 300th anniversary of the Russian Academy of Sciences and the 90th anniversary of the establishment of the Orenburg Research Institute of dairy and beef cattle breeding in the system of the People's Commissariat of grain and livestock state farms of the USSR, Orenburg, May 22-23, 2024. - Orenburg: Federal State Budgetary Scientific Institution "Federal Scientific Center of Biological Systems and Agrotechnologies of the Russian Academy of Sciences", 2024. - pp. 81-85.
9.Meat poultry farming: current market realities and its prospects / E. V. Scheglov, S. V. Nikitenko, A. Yu. Zhuravlev [et al.] // Internauka. - № 23-2(340). - pp. 17-20.
10.Nazar, M. M. Problems and prospects for the development of poultry farming in Russia / M. M. Nazar // Russian Journal of Management. - 2024. - T. 12, № 1. - pp. 186-193.
11.Industrial poultry farming 2024 - innovation, sustainability, efficiency // Effective livestock farming. - 2024. - № 5(195). - C. 21.
12.Domestic market of poultry meat and edible eggs, in the context of ensuring food security / B. O. Hashir, V. E. Levichev, N. M. Surai [et al.] // Innovations and Investments. - 2024. - № 3. - pp 250-254. - EDN NILZGM.
13.Sizova, E. A. Formation of antibiotic resistance in conditions of intensive poultry farming / E. A. Sizova, K. S. Nechitaylo // Poultry farming. - 2024. - № 5. - pp 57-62. - DOI 10.33845/0033-3239-2024-73-5-57-62.
14.Soldatova, L.I.; Fadeeva, G.V. Evaluation of the state of the poultry industry and the use of economic and mathematical modeling methods in reducing the cost of production / L.I. Soldatova, G.V. Fadeeva // Economics and Entrepreneurship. - №12. - 2021.- pp. 1276-1280.
15.Technological aspects of increasing the efficiency of broiler poultry farming / V. S. Buyarov, I. V. Komolikova, A. V. Buyarov, V. V. Mednova // Biology in Agriculture. - 2024. - № 2(43). - pp 37-41.
16.Federal State Statistics Service (Rosstat). (2024). Available at: http://www.gks.ru.
17.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.
18.Khokhlova, A. P. Modern poultry farming in Russia: state, problems and development / A. P. Khokhlova, N. A. Maslova // Challenges and innovative solutions in agrarian science: Proceedings of the XXVIII International Scientific and Production Conference, Maisky, June 10-11, 2024. - Mayskiy: FGBOU VO Belgorod GAU, 2024. - pp. 137-138.
19.Shvager, O. V. Influence of probiotic "SUB-pro" on marketable and sanitary indicators of broiler chicken meat / O. V. Shvager // Theory and practice of modern agrarian science: Collection of VII national (all-Russian) scientific conference with international participation, Novosibirsk, February 26, 2024. - Novosibirsk: IC NSAU "Golden Spike", 2024. - pp. 605-607.
20.Akhmet, Zh. T. Comparative analysis of antibiotics in broiler meat using different methods / Zh. T. Akhmet, G. N. Zhaksylykova, A. D. Serikbayeva // Bulletin of Almaty Technological University, 2024. – No. 1. – P. 5-11.
21.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
22.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.
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.

УДК: 636.39.034, 637.07
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.4.409

ДИНАМИКА АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТИ КОЗЬЕГО МОЛОКА ВО ВЗАИМОСВЯЗИ С МОЛОЧНОЙ ПРОДУКТИВНОСТЬЮ

Зайцев С.Ю.* – д-р биол. наук, проф., вед. науч. сотр. гр. аналитической биохимии (ORCID 0000-0003-1533-8680); **Савина А.А.** – науч. сотр. гр. аналитической биохимии (ORCID 0000-0003-0257-1643); **Воронина О.А.** – канд. биол. наук, ст. науч. сотр. гр. аналитической биохимии (ORCID 0000-0002-6774-4288); **Девяткин В.А.** – канд. с-х. наук, ст. науч. сотр. отд. физиологии и биохимии с-х животных (ORCID 0000-0002-2362-029)

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Федеральный исследовательский центр животноводства - ВИЖ
имени академика Л.К. Эрнста»

*s.y.zaitsev@mail.ru

Ключевые слова: *молоко коз, суточный удой, удой за вечер и утро, антиоксидантные показатели, корреляции*

Key words: *goat milk, daily milk yield, milk yield in the evening and morning, antioxidant indicators, phenotypic correlations*

Финансирование: *Работа выполнена при финансовой поддержке фундаментальных научных исследований Минобрнауки РФ в рамках выполнения государственного задания (рег. номер ЕГИСУ 124020200032-4 темы НИР на 2024 г.).*

Поступила: 06.09.2024 **Принята к публикации: 02.12.2024**
Опубликована онлайн:16.12.2024

РЕФЕРАТ

Козоводство в России одна из активно развивающихся отраслей животноводства. Целью данной работы стало изучение ряда параметров антиоксидантной активности козьего молока. Были получены и исследованы основные показатели молока от 48 голов коз (КФХ «Былинкино», Московская область). Наивысшее среднее значение (23,5 мг/л) суммарной концентрации водорастворимых антиоксидантов (СКВА) было отмечено у самых высокоудойных коз (группа 3), что на 25,0% (4,7 мг/л) и 48,7% (7,7 мг/л) выше, чем в группах 2 и 1, соответственно. В группе 2 среднее значение СКВА (18,8 мг/л) было достоверно меньше, чем в группе 3, но больше почти на 19,0%, чем в контрольной группе 1 (у самых малоудойных коз). При исследовании корреляционных взаимосвязей установлено, для группы 1, общее количество сильных и очень сильных корреляций между основными показателями молока коз значительно больше, чем в группах 2 и 3. Так, в группе 1 наблюдаются очень сильные положительные корреляции между СКВА и жиром, лактозой и другими, а также умеренные положительные корреляции - между СКВА и показателями общего и истинного белка. Отрицательные сильные (умеренные) корреляции на уровне обнаружены между СКВА и утренним (суточным) удоем. Послед-

ние отрицательные корреляции свидетельствуют о невозможности организма синтезировать биологически-активные вещества в тех объёмах, которые дают высокие значения СКВА и необходимы для поддержания антиоксидантной активности козьего молока на достаточном уровне для группы 1.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Козоводство в России одна из активно развивающихся отраслей животноводства [1]. Во многом это связано с уникальной питательной ценностью козьего молока [2,3,4], высокой маржинальностью бизнеса и повышением спроса на так называемые «функциональные продукты» [5,2]. Одна из заявленных характеристик «функциональности» продуктов козоводства, связана непосредственно с их антиоксидантной активностью [6], по-видимому, небольшие без оснований активные пептиды могут быть ответственны за большую часть ингибирующей антиоксидантной активности козьего молока [5,6,7]. Другая часть активности, позволяющей улавливать и нейтрализовать свободные радикалы – обусловлена низкомолекулярными соединениями флавоноидами, фосфатами, молочными олигосахаридами и т.д. Более подробное описание классификации антиоксидантов молока дано в работе [8]. Поскольку технология воспроизводства в козоводстве позволяет манипулировать репродуктивной функцией самок коз, а селекция направлена на увеличение молочной продуктивности [9], авторы задались вопросом о влиянии количества получаемого молока коз на его антиоксидантные свойства и связанные с этим «функциональные» качества молока. Отдельные методы позволяют определить суммарное содержание антиоксидантов и позволяют дать интегральную оценку общего состояния антиоксидантной системы, что фиксируется при переносе атома водорода или электрона [8,10]. Ранее выполненные работы, при установлении антиоксидантной активности молока методом кулонометрического титрования [11], покали высокую антиоксидантная активность козьего молока (6,51 – 17,00 кКл/л), в сравнении с коровьим молоком. Однако в дальнейшей работе было показано, что вариабельность получаемых результатов достаточно высокая 4,87-14,99 г/л [12] а при пастеризации образцов их антиоксидантная активность несколько повышается. Использование метода амперометрического детектирования позволяет получить результаты по группе с более приемлемым коэффициентом вариации (как правило, менее 30%) [4]. Ранее, при изучении сезонной динамики изменения суммарной активности водорастворимых антиоксидантов в козьем молоке на протяжении года нами было установлено плавное снижение данного показателя от весны (24,69 мг/г) к осени (17,73 мг/г) [4]. В настоящем исследовании мы продолжаем изучение суммарной антиоксидантной активности при помощи амперометрического детектирования **с целью** установить закономерности влияния уровня удоя на антиоксидантную систему молока. Дополнительно, как нами исследованы каталаза и церулоплазмин, как важные ферменты этой системы [13].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Молоко было получено весной 2024 года во время контрольной дойки от коз альпийской породы (n=48, Московская область). Выборка сформирована из клинически здоровых коз по принципу аналогов. Среднюю пробу молока получали согласно ГОСТ 26809.1. Ведущим параметром при формировании групп стал суточный удой, согласно цели исследования. 1 группа: удой до 1 литра, n = 8; 2 группа: удой 1-2 литра, n = 24; 3 группа: удой 2-3 литра, n = 16.

Все исследования выполнены в лабораториях ФГБНУ ФИЦ ВИЖ им. Л.К. Эрнста. Суммарную концентрацию водорастворимых антиоксидантов (СКВА) измеряли методом амперометрического детектирования на проточной инжекционной системе «Цвет-Яуза 01-АА» (НПО «Химавтоматика») с использованием в качестве стандарта галловой кислоты, подробная процедура измерения описана

в работе [14]. Каталазу (КАТ) определяли методом перманганатометрии, церулоплазмин (ЦП) по изменению оптической плотности в присутствии п-фенилендиамин дигидрохлорида, что подробно описано в работе [15].

Статистические расчеты выполнены в программе MS EXCEL через надстройку «Анализ данных» при помощи функции описательная статистика, что подробно описано в работах [13-15]. Сравнительный анализ для групп друг с другом выполнен по методу Манна-Уитни, расчет корреляций по Пирсону.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Авторами были проанализированы полученные показатели СКВА, церулоплазмина, каталазы и удоя молока коз статистическими методами и полученные основные данные представлены ниже в таблице 1.

Таблица 1 – Статистические результаты анализа величин удоев и СКВА молока для коз группы 1 с разным количеством удоя

Показатели	M	±m	Мин	Макс	КВ
Группа 1 (0,65-1 л)					
Вечерний удой, кг	0,386	0,069	0,30	0,49	7,97
Утренний удой, кг	0,408	0,055	0,37	0,49	6,02
Суточный удой, кг	0,794	0,120	0,67	0,98	6,78
СКВА, мг/л	15,8	2,7	12,9	19,3	7,59
Каталаза, ед	2,96	0,72	1,66	4,15	8,45
ЦП, мг/л	0,602	0,078	0,508	0,762	4,49
Группа 2 (1-2 л)					
Вечерний удой, кг	0,685	0,143	0,500	0,980	4,25
Утренний удой, кг	0,733	0,135	0,550	1,000	3,75
Суточный удой, кг	1,419	0,276	1,050	1,980	3,97
СКВА, мг/л	18,8	5,6	11,8	30	5,85
Каталаза, ед	2,24	0,49	1,25	2,91	6,70
ЦП, мг/л	0,593	0,039	0,54	0,659	2,02
Группа 3 (2-3 л)					
Вечерний удой, кг	1,161	0,211	1,000	1,700	4,54
Утренний удой, кг	1,180	0,152	1,000	1,470	3,23
Суточный удой, кг	2,341	0,335	2,000	2,872	3,57
СКВА, мг/л	23,50	6,90	10,10	30,20	7,23
Каталаза, ед	2,23	0,73	1,66	3,73	11,66
ЦП, мг/л	0,535	0,064	0,423	0,632	4,30

Примечание: М – среднее значение, ±m – стандартное отклонение, Мин – минимум, Макс – максимум, КВ – коэффициент вариации.

Наивысшее среднее значение СКВА (23,5 ± 0,26 мг/л) было отмечено у самых высокоудойных коз (группа 3), что на 25,0% и 48,7% выше, чем в группах 2 и 1, соответственно (таблица 1). В группе 2 среднее значение СКВА (18,8 ± 1,1 мг/л) было достоверно меньше, чем в группе 3, но больше почти на 19,0%, чем в контрольной группе 1 (у самых малоудойных коз).

Важно, что средние значения утреннего и суточного удоя (1,181 ± 0,038 и 2,343 ± 0,083 л) у группы 3 были на 61,1% и 65,1% выше, чем в группе 2 и на 190% и 195% выше, чем в группе 1, соответственно. В группе 2 средние значения утреннего и суточного удоя (0,733 ± 0,028 и 1,419 ± 0,056 л) были достоверно больше на

79,7% и на 78,7%, чем в контрольной группе 1, соответственно. Неудивительно, что при разных абсолютных значения утреннего и суточного удоя по группам, все относительные значения (т.е. их увеличения в %) близки в общей тенденции.

Таким образом, с увеличением удоя среднее значение СКВА значительно и достоверно увеличивается. Например, в группе с удоем 2-3 л. средние значения утреннего (1,181±0,038 л) и суточного (2,343±0,083 л) удоя были достоверно больше на 2/3 относительно второй (0,733± 0,тогда как средние значения СКВА были выше на 1/4 а в третьей группе относительно первой - средние значения утреннего и суточного удоя были достоверно больше почти в 2 раза, тогда как средние значения СКВА были выше на 1/2. Такое нелинейное увеличение средних значений СКВА относительно значений удоя (как утреннего, так и суточного) свидетельствует о невозможности организма синтезировать биологически-активные вещества в тех объёмах, которые необходимы для поддержания антиоксидантной активности (АОА) молока на высочайшем уровне для самых высокоудойных коз (группа 3).

Каталазное число в группе 2 (с величиной удоя в диапазоне 1-2 л/сут.) на 24,3% меньше, чем данное значение в группе 1 с наименьшим удоем (0,65-1 л/сут), т.е. имеет противоположную тенденцию изменения значений в группах 2 и 1 по сравнению с увеличением значений СКВА (таблица 1). При расчёте достоверности по критерию Манна Уитни $U_{эмп}$ = 13,5 и попадает в область между 0,05 и 0,01. Это "зона неопределённости": мы уже можем отклонить гипотезу о незначительности различий между выборками 0 и принять гипотезу Н1 с вероятностью 95%. Значение каталазного числа в группе 3 (коз с удоем 2-3 литра) уменьшалось по сравнению с таковым в группе 2 всего на 0,45%, т.е. это отличие не значимо. С другой стороны, значение каталазного числа в этой же группе 3 на 24,7% меньше, чем данное значение в группе 1 с наименьшим удоем (0,65-1 л/сут), что является значимым (таблица 1).

Таким образом, с увеличением удоя среднее значение каталазного числа вначале заметно уменьшается, а потом остается приблизительно на том же уровне. Такая неоднозначная тенденция изменения значений каталазного числа относительно значений удоя (как утреннего, так и суточного) подтверждает наш тезис о затруднении организма синтезировать пропорциональное количество каталазы для поддержания значений каталазного числа молока на исходном уровне (группа 1).

Активность ЦП в группе 2 только на 1,5% меньше, чем данное значение в группе 1, что не является значимым отличием (таблица 1). Напротив, уменьшение активности ЦП в группе 3 на 11,1% и 9,9% меньше, чем данное значение в группах 1 и 2, что является достаточно значимым (таблица 1). Таким образом, с существенным увеличением удоя (от 2 к 3 группе) уменьшение активности ЦП становится все более заметной и подтверждает общую тенденцию, отмеченную выше (группа 1).

Следующим этапом явился расчёт корреляций между антиоксидантами, утренним удоем и биохимическими показателями молока для коз по каждой из трех групп, где 0,75-1,0 – очень сильная; 0,5-0,74 – сильная; 0,25-0,49 – умеренная; < 0,25 – слабая (табл. 2).

В случае молока, полученного от коз, дающих до литра в сутки (группа 1), общее количество сильных и очень сильных корреляций между основными показателями молока коз значительно больше, чем в других группах. Так, в этой группе 1 наблюдаются очень сильные положительные корреляции между СКВА и жиром (0,50), лактозой (0,99), СОМО (0,56), СВ (0,59), точкой замерзания (0,79), pH (0,62), а также умеренные положительные корреляции - между СКВА и показателями белков: как общим (0,26), так и истинным (0,25) белком. Все это является положительным и понятным трендом, который соответствует данным по молоку коров, полученным нами ранее [4]. Отри-

цательные сильные (умеренные) корреляции на уровне -0,51 (-0,36) обнаружены между СКВА и утренним (суточным) удоем. Последние отрицательные корреляции свидетельствуют о невозможности организма синтезировать биологически-активные вещества в тех объёмах, которые дают высокие значения СКВА и необходимы для поддержания АОА молока на достаточном уровне для группы 1. Интересно, что для второй группы коз (с удоем 1-2 литра) отмечены отрицательные умеренные корреляции у СКВА с СОМО (-0,36) , а также - между СКВА и показателями белков: как общим (-0,32), так и истинным (-0,35) белком. Для группы 3 (коз с удоем 2-3 литра) корреляции СКВА с белком так же отрицательные, как и во второй группе, однако значение сместилось в категорию сильной для истинного и общего белка (-0,59 и -0,56), а корреляция с СОМО так же умеренная отрицательная (-0,46), такая же как с точкой замерзания (-0,40). Чем ниже удой животного, тем более отрицательная связь наблюдается со СКВА (1 гр: -0,51; 2 гр: -0,04; 3 гр: 0,14). Для первой группы наблюдаются сильные отрицательные корреляции каталазы с утренним, вечерним и суточным удоем: -0,84, -0,75, -0,80 и сильные положительные корреляции между каталазой и показателями СОМО (0,49), СВ (0,33), а также очень сильные положительные корреляции между каталазой и массовой долей белка (0,56). Напротив, для этой же группы 1 наблюдается умеренные и слабая положительные корреляции ЦП с вечерним, утренним и суточным удоем: 0,33, 0,12, 0,25 для первой группы, но сильная корреляция между ЦП и СОМО (0,53). Кроме того, наблюдается сильная положительная корреляция между ЦП и массовой долей белка (0,64). Так же умеренная корреляция наблюдается между ЦП и жиром (0,41), СВ (0,46) и pH (-0,29).

Таблица 2 – Корреляции между утренним удоем и антиоксидантаными индикаторами (Кат, ЦП, СКВА) с биохимическими показателями молока коз

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Группа 1												
2	0,92	1,00	0,97	-0,26	-0,47	-0,57	-0,59	-0,46	0,50	-0,30	-0,84	0,12
11	-0,75	-0,84	-0,80	0,16	0,56	0,16	0,49	0,33	-0,23	-0,13	1,00	0,04
12	0,33	0,12	0,25	0,41	0,64	0,09	0,53	0,46	0,22	-0,29	0,04	1,00
13	-0,22	-0,51	-0,36	0,50	0,26	0,99	0,56	0,59	0,79	0,62	-0,42	-0,37
Группа 2												
2	0,99	1,00	1,00	0,11	-0,58	-0,28	-0,65	-0,11	-0,43	-0,19	-0,24	-0,22
11	-0,28	-0,24	-0,26	0,14	0,15	0,48	0,40	0,25	-0,12	0,71	1,00	-0,32
12	-0,23	-0,22	-0,23	0,19	0,14	0,05	0,14	0,20	-0,02	-0,30	-0,32	1,00
13	0,01	-0,04	-0,01	0,07	-0,32	-0,03	-0,36	-0,06	-0,14	0,17	-0,41	-0,20
Группа 3												
2	0,92	1,00	0,98	-0,62	0,19	0,22	0,26	-0,55	-0,11	-0,08	-0,15	-0,48
11	-0,24	-0,15	-0,20	-0,08	-0,54	0,41	-0,22	-0,13	0,39	-0,25	1,00	0,10
12	-0,36	-0,48	-0,42	0,71	0,14	-0,07	0,06	0,73	0,62	-0,52	0,10	1,00
13	-0,01	0,14	0,05	0,10	-0,56	-0,18	-0,46	-0,14	-0,40	0,06	-0,67	-0,60

Примечание: 1 – вечерний удой, 2 – утренний удой, 3 – суточный удой, 4 – массовая доля жира, 5 – массовая доля белка, 6 – лактоза, 7 – сухой обезжиренный молочный остаток, 8 – сухое вещество, 9 – точка замерзания, 10 – pH, 11 – каталаза, 12 – церулоплазмин, 13 – суммарное количество водорастворимых антиоксидантов.

Во второй группе отмечаются умеренные корреляции для лактозы (0,48), СОМО (0,40) и СВ (0,25) с каталазой, а также сильная корреляция для каталазы и pH (0,71). Церулоплазмин в этой группе имеет умеренную корреляцию с pH (0,30). Для третьей группы, в которой уровень удоя зарегистрирован в диапазоне 1-2 литра, обнаружены, как и в первой группе, сильные корреляции каталазы с белком (-0,55), лактозой (0,44), точкой замерзания (0,39) и pH (-0,25) а также наблюдаются сильные корреляции для ЦП и жира (0,71), умеренные корреляционные взаимодействия для ЦП и утреннего удоя (-0,48), точки замерзания (0,62), pH (0,52). Сильные корреляции между ЦП жиром и СВ.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Согласно поставленной цели, мы выявили тенденцию к увеличению антиоксидантной активности молока с увеличением удоев. Главным образом это подтверждается показателем суммарного количества водорастворимых антиоксидантов, как общей интегральной величины, позволяющей судить об этом в целом. Данный показатель в группе 3 превосходит значения в группах 1 и 2 на 7,7 мг/л и 4,7 мг/л соответственно. В случае группы 1, общее количество сильных и очень сильных корреляций между основными показателями молока коз значительно больше, чем в группах 2 и 3. Это является положительным трендом, который соответствует данным по молоку коров, полученным нами ранее. Отдельные отрицательные корреляции свидетельствуют о невозможности организма синтезировать биологически-активные вещества в тех объёмах, которые дают высокие значения СКВА и необходимы для поддержания антиоксидантной активности молока на достаточном уровне. Именно поэтому необходимо продолжить исследование значений СКВА и их корреляций с основными показателями молока коз на большем поголовье, что стоит в планах авторов.

DYNAMICS OF ANTIOXIDANT ACTIVITY OF GOAT MILK IN RELATION TO MILK PRODUCTIVITY

Zaytsev S.Yu. * – Doctor of Biological Sciences, Leading Researcher, analytical biochemistry groups (ORCID 0000-0003-1533-8680), **Savina A.A.** – Researcher, analytical biochemistry groups (ORCID 0000-0003-0257-1643), **Voronina O.A.** - Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher analytical biochemistry groups (ORCID 0000-0002-6774-4288), **Devyatkin V.A. –** Candidate of Agricultural Sciences, Senior Researcher, Department of Physiology and Biochemistry of Farm Animals (ORCID 0000-0002-2362-029)

Federal Research Center for Animal Husbandry named after Academy Member L.K. Ernst

*s.y.zaitsev@mail.ru

Financing: *The work was carried out with the financial support of the fundamental scientific research program of the Ministry of Education and Science of the Russian Federation as part of the state assignment (EGISU reg. number 124020200032-4 research topic for 2024).*

ABSTRACT

Goat breeding in Russia is one of the rapidly developing branches of animal husbandry. The aim of this work was to study a number of parameters of the antioxidant activity of goat milk. The main parameters of milk from 48 goats (“Bylinkino” peasant farm, Moscow region) were obtained and studied. The highest average value (23.5 mg/l) of total concentration of water-soluble antioxidants (TAWSA) was noted in the highest-yielding goats (group 3), which is 25.0% and 48.7% higher than in groups 2 and 1, respectively. In group 2, the average value of TAWSA (18.8 mg/l) was significantly lower than in group 3, but almost 19.0% higher than in the control group 1 (in the lowest-yielding goats). In case of group 1, the total number of strong and very strong correlations between the main indicators of goat milk is significantly higher than in groups 2 and 3. Thus, in group 1, very strong

positive correlations are observed between TAWSA and fat, lactose, etc., as well as moderate positive correlations - between TAWSA and indicators of total and true protein. Negative strong (moderate) correlations at the level were found between TAWSA and morning (daily) milk yield. The latter negative correlations indicate the inability of the organism to synthesize biologically active substances in the volumes that give high TAWSA values and are necessary to maintain the antioxidant activity of goat milk at a sufficient level for group 1.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Мирошина Т. А., Чалова Н. А. Состояние молочного козоводства в России и мире (обзор) //Вестник Красноярского государственного аграрного университета. – 2022. – №. 10 (187). – С. 123-130. – DOI 10.36718/1819-4036-2022-10-123-130
2. Лодыгин А. Д., Куликова И. К., Михайлов И. Ю. Состав и свойства козьего молока как сырья для производства функциональных продуктов //Современная наука и инновации. – 2023. – №. 3. – С. 126-140. – DOI 10.37493/2307-910X.2023.3.12
3. Макеева Р.К., Тлевлесова Д.А., Гиноян Л.Л. др. Технология производства десертов на основе козьего молока //Вестник Университета Шакарима. Серия технические науки. – 2024. – Т. 1. – №. 2 (14). – С. 288-298. – DOI 10.53360/2788-7995-2024-2(14)-35
4. Voronina O.A., Zaitsev S.Y., Savina A.A. et al. Seasonal changes in the antioxidant activity and biochemical parameters of goat milk //Animals. – 2023. – Т. 13. – №. 10. – С. 1706. – DOI 10.3390/ani13101706
5. Dachler M. Zusammenfassende Darstellung der globalen Nahrungsmittelproduktion und-versorgung //Welternährung: Status quo und Ausblick zur globalen Ernährungslage. – Berlin, Heidelberg : Springer Berlin Heidelberg, 2023. – С. 365-368. – DOI 10.1007/978-3-662-66904-4_17
6. Moreno-Montoro M. et al. Antioxidant, ACE-inhibitory and antimicrobial activity of fermented goat milk: activity and physicochemical property relationship of the peptide components //Food & function. – 2017. – Т. 8. – №. 8. – С. 2783-2791. – DOI 10.1039/c7fo00666g.
7. Савина А. А., Воронина О. А., Зайцев С. Ю. Активность каталазы в молоке и ее корреляции с молочной продуктивностью коров в зависимости от срока лактации // Аграрная наука. – 2024. – Т. 1. – №. 8. – С. 118-123. – DOI 10.32634/0869-8155-2024-385-8-118-123
8. Донская Г. А. Антиоксидантные свойства молока и молочных продуктов: обзор //Пищевая промышленность. – 2020. – №. 12. – С. 86-91. – DOI 10.24411/0235-2486-2020-10150
9. Айбазов А. М. М., Мамонтова Т. В., Губаханов М. А. Вспомогательные репродуктивные технологии в воспроизводстве мелкого рогатого скота (обзор) // Сельскохозяйственный журнал. – 2022. – №. 2 (15). – С. 29-36. – DOI 10.25930/2687-1254/004.2.15.2022
10. Лебедева С.Н., Жамсаранова С.Д., Чукаев С.А., Дымшеева Л.Д. Оценка рациона питания и антиоксидантной активности биологических жидкостей организма студентов //Вопросы питания. – 2018. – Т. 87. – №. 1. – С. 35-43. – DOI 10.24411/0042-8833-2018-10004.
11. Балакирева Ю. В., Ахмадуллина Ф. Ю., Лапин А. А. Изучение антиоксидантной емкости коровьего и козьего молока //Вестник Казанского технологического университета. – 2009. – №. 1. – С. 56-59. Режим доступа: https://cyberleninka.ru/article/n/izuchenie-antioksidantnoy-emkosti-koroviego-i-koziego-moloka
12. Щербакова Ю.В., Зиганшин Д.Д., Пашина А.С., Ахмадуллина Ф.Ю. Щербакова Ю. В. и др. Влияние режима пастеризации на каталазную активность молока // Вестник Казанского технологического университета. – 2014. – Т. 17. – №. 16. – С. 173-174. Режим доступа: https://cyberleninka.ru/article/n/vliyanie-rezhima-pasterizatsii-na-katalaznuyu-aktivnost-moloka
13. Савина А. А., Воронина О. А., Зайцев С. Ю. Сезонные закономерности изменения антиоксидантных и микроэлементных параметров молока коров черно-пестрой породы //Аграрная наука Евро-

Северо-Востока. – 2023. – Т. 24. – №. 5. – С. 858-867. – DOI 10.30766/2072-9081.2023.24.5.858-867
14. Савина А. А., Воронина О. А., Боголюбова Н. В. и др. Амперометрическое детектирование антиоксидантной активности модельных и биологических жидкостей //Вестник Московского университета. Серия 2. Химия. – 2020. – Т. 61. – №. 6. – С. 429-437. Режим доступа: https://elibrary.ru/item.asp?id=43083726 EDN: GYQHRE
15. Савина А. А., Воронина О. А., Зайцев С. Ю. Сезонные закономерности изменения антиоксидантных и микроэлементных параметров молока коров черно-пестрой породы //Аграрная наука Евро-Северо-Востока. – 2023. – Т. 24. – №. 5. – С. 858-867. – DOI 10.30766/2072-9081.2023.24.5.858-867

REFERENCES

1. Miroshina, T.A. Dairy goat breeding state in Russia and in the world (review) / Chalova N.A., Miroshina T.A. // Vestnik Krasnoyarskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta / Bulliten KrasSAU. 2022:(10): 123–130. – DOI 10.36718/1819-4036-2022-10-123-130. (In Russ.).
2. Lodygin, A.D. The goat milk composition and properties as a raw material for functional foods manufacturing / Kulikova I.K., Mikhailov I.Yu. Lodygin A.D. // Sovremennaya nauka i innovatsii / Modern Science and Innovations. 2023:(3):126-140. – DOI 10.37493/2307-910X.2023.3.12 (In Russ.)
3. Makeeva, R.K. Technology for the production of desserts based on goat milk / Tlevlesova D.A., Ginoyan L.L., Abraimov N.T., Sansyzbaev B.S., Makeeva R.K. // Vestnik Universiteta Shakarima. Seriya tekhnicheskiye nauki / Bulletin of Shakarim University. Technical Sciences. 2024:1(2 (14)):288-298. – DOI 10.53360/2788-7995-2024-2(14)-35 (In Russ.)
4. Voronina, O.A. Seasonal Changes in the Antioxidant Activity and Biochemical Parameters of Goat Milk / Zaitsev S.Y., Savina A.A., Rykov R.A., Kolesnik N.S., Voronina O.A. // Animals. 2023:13(10):1706. – DOI 10.3390/ani13101706.
5. Dachler M. Tierproduktion. In: Welternährung / Dachler M. // Springer Spektrum, Berlin, Heidelberg: 2023. – DOI 10.1007/978-3-662-66904-4_17
6. Moreno-Montoro M., Olalla-Herrera M., Rufián-Henares J.Á., Martínez R.G., Miralles B., Bergillos T., Navarro-Alarcón M., Jauregi P. Antioxidant, ACE-inhibitory and antimicrobial activity of fermented goat milk: activity and physicochemical property relationship of the peptide components. Food Funct. 2017:8(8):2783-2791. – DOI 10.1039/c7fo00666g.
7. Savina, A.A. Catalase activity in milk and its correlation with milk productivity of cows depending on the duration of lactation / Voronina O.A., Zaitsev S.Yu., Savina A.A. // Agrarian science. 2024:1(8):118-123. – DOI 10.32634/0869-8155-2024-385-8-118-123 (In Russ.)
8. Donskaya, G.A. Antioxidant properties of milk and dairy products: review / Donskaya G.A. // Food industry. 2020:12:86–91. – DOI 10.24411/0235-2486-2020-10150 (In Russ.)
9. Aibazov, A.-M. Assisted reproductive technologies in reproduction of small cattle (Review) / Mamontova T., Gubakhanov M., Aibazov A.-M. // Agricultural Journal. 2022:15(2):29-36. – DOI 10.25930/2687-1254/004.2.15.2022 (In Russ.)
10. Lebedeva, S.N. Assesment of the nutrition and antioxidant activity of biologicalliquids in students / Zhamsaranova S.D., Chukaev S.A., Dymsheeva L.D., Lebedeva S.N. // Problems of Nutrition. 2018:87(1):35–43.– DOI 10.24411/0042-8833-2018-10004. (In Russ.)
11. Balakireva, Yu.V. The study of the antioxidant capacity of cow's and goat's milk / Akhmadullina F.Yu., Lapin A.A., Balakireva Yu.V. // Bulletin of the Kazan Technological University.2009:(1):56-59. URL: https://cyberleninka.ru/article/n/izuchenie-antioksidantnoy-emkosti-koroviego-i-koziego-moloka (In Russ.)
12. Shcherbakova, Yu.V. Influence of pasteurization regime on catalase activity of milk / Ziganshin D.D., Pashina A.S., Akhmadullina F.Yu., Shcherbakova Yu.V. // Bulletin of the Kazan Technological Univer-

sity 2014:(1):173-174. URL: https://cyberleninka.ru/article/n/vliyanie-rezhima-pasterizatsii-na-katalaznuyu-aktivnost-moloka
13. Savina, A.A. Seasonal patterns of changes in antioxidant and microelement parameters of milk from black-and-white cows / Voronina D.A., Zaitsev S.Yu., Savina A.A. // Agricultural Science Euro-North-East.2023:24(5):858-867. – DOI 10.30766/2072-9081.2023.24.5.858-867 (In Russ.)
14. Savina, A.A. Amperometric detection of antioxidant activity of model and biological fluids / Voronina O.A., Bogolyubova N.V., Zaitsev S.Yu., Savina A.A. // Moscow University Chemistry Bulletin. Serial number 2: Chemistry.2020:75(6):340–346.. URL: https://elibrary.ru/item.asp?id=43083726 EDN: GYQHRE (In Russ.)
15. Savina, A.A. Seasonal patterns of changes in antioxidant and microelement parameters of milk from black-and-white cows / Voronina O.A., Zaitsev S.Yu. Savina A.A. // Agricultural Science Euro-North-East. 2023:24(5):858-867. – DOI: 10.30766/2072-9081.2023.24.5.858-867 (In Russ.)

УДК: 57.024
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.4.418

КОРРЕЛЯЦИИ МЕЖДУ ПАРАМЕТРАМИ СТРУКТУРНОЙ ОРГАНИЗАЦИИ СОМАТОСЕНСОРНОЙ КОРЫ И ПРОСТРАНСТВЕННОГО ОБУЧЕНИЯ У КРЫС С РАЗЛИЧИЯМИ В ФУНКЦИОНИРОВАНИИ ДОФАМИНЕРГИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ

Ахмадиев П.А. *[1] – преп. каф. физиологи и спортивной медицины (ORCID 0000-0002-6716-1058); **Ласточкин А.А.**[2] – студент бакалавриата каф. биологии и экологии (ORCID 0009-0002-3040-5781); **Тазетдинов А.М.** [2] – канд. биол. наук, ст. преп. каф. генетики и фундаментальной медицины (ORCID 0000-0002-5825-4295); **Тахирова З.Р.** [2] – канд. биол. наук, доц. каф. генетики и фундаментальной медицины (ORCID 0000-0003-3609-1971); **Хисматуллина З.Р.** [2] – д-р биол. наук, проф. каф. биологии и экологии (ORCID 0000-0002-3209-5265); **Хуснутдинова Э.К.** [2,3] – д-р биол. наук, проф., зав. каф. генетики и фундаментальной медицины (ORCID 0000-0003-2987-3334)

[1] Башкирский университет физической культуры (филал) ФГБОУ ВО «Уральский государственный университет физической культуры»
[2] ФГБОУ ВО «Уфимский университет науки и технологий»
[3] Институт биохимии и генетики – обособленное структурное подразделение ФГБНУ Уфимский федеральный исследовательский центр Российской академии наук

*pavelakhmadiev@yandex.ru

Ключевые слова: *трансгенные животные, дофамин, транспортер дофамина, крысы DAT-HET, соматосенсорная кора*

Key word: *transgenic animals, dopamine, dopamine transporter, DAT-HET rats, somatosensory cortex*

Финансирование: *исследование поддержано мегагрантом Правительства РБ (Договор №1 от 02.12.2022), государственным заданием Министерства науки и высшего образования РФ № 075-03-2024-123/1 (соглашение от 15.02.2024).*

Поступила: 22.09.2024 **Принята к публикации: 02.12.2024**
Опубликована онлайн:16.12.2024

РЕФЕРАТ

Результаты одного из недавних исследований биоэлектрической активности соматосенсорной коры головного мозга крыс говорят в пользу вовлеченности данной структуры в процессы пространственного ориентирования. Авторами было показано, что характер биоэлектрической активности может изменяться в зависимости от точки пространства, в которой находится животное. При этом неисследованным оставался участок первичной соматосенсорной коры, который содержит репрезентации вибрисс – Баррел-кортекс. Ранее нами проводились исследования способности крыс к пространственному обучению, у некоторых из этих животных затем изучалась структурная организация головного мозга. Таким образом, целью настоящей работы является поиск возможных корреляций между параметрами,

характеризующими поведение крыс при пространственном обучении, и данными, полученными при гистоморфологических иследованиях соматосенсорной коры головного мозга этих крыс. Объектом исследования служат данные, полученные в результате тестирования в восьмирукавном радиальном лабиринте и при морфометрических исследованиях соматосенсорной коры головного мозга крыс линий Wistar и DAT-HET. Исходя из результатов анализа, нами было сделано предположение, что успешность в пространственном обучении прямо связана с количеством нейронов в слое 4. В слое 5 такая роль отводится, прежде всего, глии. Различия между группами животных здесь количественные. Качественные различия наблюдались в отношении слоев 2/3 и 6. Так, для крыс линии Wistar характерны прямые корреляции поведенческих показателей с количеством нейронов в первом из вышеуказанных слоев, а в слое 6 - с плотностью распределения глии. В то же время, у крыс линии DAT-HET такие корреляции отсутствуют.

ВВЕДЕНИЕ/INTRODUCTION

Среди участков коры головного мозга человека и других млекопитающих выделяют соматосенсорную область, отвечающую, главным образом, за проприоцепцию, ноцицепцию и тактильную чувствительность. Первичная соматосенсорная кора крыс содержит участок, являющийся репрезентацией их усов – вибрисс, – играющих важную роль в восприятии окружающей среды. В литературе для обозначения данной структуры используется термин «Баррел-кортекс». Существуют данные [3], говорящие в пользу того, что соматосенсорная кора, помимо прочего, вовлечена в процессы пространственного ориентирования – было показано, что характер биоэлектрической активности может изменяться в зависимости от точки пространства, в которой находится грызун. Однако при этом авторы отмечают, что электроды, посредством которых проводилась регистрация сигнала, находились вне баррел-кортекса.

Открытие вовлеченности соматосенсорной коры в процессы, связанные с ориентированием в пространстве, побудило нас сопоставить друг с другом уже имеющиеся в нашем распоряжении данные, полученные в ходе ранее проведенных нами исследований. Так, помимо прочего, нами изучался процесс пространственного обучения грызунов в восьмирукавном радиальном лабиринте. Мозг некоторых животных из этого числа, после выведения их из эксперимента, служил, в свою очередь, объектом исследования структурной организации соматосенсорной коры. Корреляционный анализ между морфометрическими показателями и параметрами, характеризующими поведение животных в лабиринте, мог бы стать отправной точкой для других, более узконаправленных экспериментов в той области.

В вышеупомянутых нами экспериментах изучались особенности крыс линии DAT-HET. Эти животные являются гетерозиготными носителями искусственной делеции в гене SLC6A3 [1]. Продуктом данного гена является транспортер дофамина, который, в свою очередь, осуществляет обратный захват одноименного нейромедиатора в пресинаптическое окончание [2]. Наличие данных, полученных в ходе исследования крыс линии DAT-HET, также может способствовать лучшему пониманию возможной роли дофамина в навигационной системе соматосенсорной коры.

Несмотря на то, что в соматосенсорной области коры головного мозга крыс цитоархитектонически различают шесть слоев, необходимо помнить о ряде особенностей. Во-первых, не существует четкой границы между слоями 2 и 3 [4], поэтому их часто рассматривают как один слой 2/3. Однако с точки зрения функции здесь можно выделить три зоны, неразличимые морфологически. Подобным образом слой 5 подразделяется на слои 5А и 5Б, а слой 6 – на слои 6А и 6Б. При этом существуют предположения, что и внутри этих «подслоев» существует некоторая функциональная гетерогенность [5]. Поэтому, основываясь на анализе гистологических срезов, окрашенных с использованием выбранной методики, не представ-

ляется корректной интерпретация результатов в контексте функционального значения каждого из отдельно взятых слоев. Скорее, речь идет о первоначальной, грубой оценке, которая может быть ориентиром для последующих работ.

Таким образом, целью данного исследования является изучение возможных взаимосвязей между структурной организацией баррел-кортекса крыс и их поведением в восьмирукавном радиальном лабиринте.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Объектом исследования служат данные крыс линий Wistar (n=9) и DAT-HET (n=6), полученные в результате тестирования в восьмирукавном радиальном лабиринте и при морфометрических исследованиях соматосенсорной коры головного мозга этих животных.

Тестирование в восьмирукавном радиальном лабиринте длилось 15 дней. 3 из них отводилось на привыкание животного к устройству. В последующие 12 дней реализовывался протокол, состоящий из четырех последовательных стадий: 1) помещение крысы в центральную часть установки приблизительно на 30 секунд, все двери при этом закрыты; 2) предоставление доступа в 4 рукава, имеющие пищевое подкрепление; 3) помещение в центральную часть устройства, все рукава при этом заблокированы. Длительность задержки – 1,5 минуты; 4) предоставление доступа ко всем восьми рукавам, при этом пищевое подкрепление имеют только те, что являлись заблокированными на этапе тренировки.

Регистрировалось количество входов в рукава, на основании которого рассчитывался памяти (БП):

$$БП = \frac{n_{пр} - n_{ош}}{n_{пр} + n_{ош}}$$

где $n_{пр}$ – количество «правильных» входов в рукава, $n_{ош}$– количество «ошибочных» входов.

Животные наркотизировались при помощи инъекционного внутрибрюшинного введения хлоралгидрата, затем производилась декапитация с последующим извлечением головного мозга.

Для извлечения мозга череп предварительно освобождался от мягких тканей. Затем бранша ножницы вводилась в большое затылочное отверстие, и делался надрез для раздробления затылочной кости. После вышеуказанных процедур при использовании хирургического и анатомического пинцетов удалялись небольшие фрагменты покровных костей черепа. Затем мозг отделялся с базальной поверхности путем отсечения элементов оболочек мозга. Также с помощью скальпеля рассекались I-VIII пары черепно–мозговых нервов. После извлечения головной мозг помещался в забуференный формалин по Лилли.

Следующим этапом явилось изготовление гистологических препаратов, включающее в себя промывку в проточной воде, обезвоживание, уплотнение, заливку в парафин, приготовление срезов на микротоме. После наклеивания срезов на стекло производилась окраска крезиловым фиолетовым и заключение срезов в канадский бальзам.

Посредством использования светового микроскопа, электронного окуляра и программы LevenhukLite производился анализ плотности распределения нейронов и глиоцитов на площади 0,01 мм^2. При подсчете клеток нами не ставилась цель дифференцировать различные типы нейронов и глиоцитов, однако, исходя из особенностей локализации, можно говорить об отсутствии эпендимоцитов в выборке. Нейроглиальный индекс рассчитывался как количественное отношение плотности распределения клеток глии к таковой нейронов.

Анализ данных проводился с помощью программы Statistica 12 (StatSoft, USA). Для исследования взаимосвязи между морфометрическими и поведенческими параметрами нами рассчитывался коэффициент корреляции Пирсона. Результат считался статистически значимым при $p \leq 0,05$. В качестве основных анализируемых параметров, характеризующих поведение грызунов в восьмирукавном радиальном лабиринте, нами бы-

ли рассчитаны индексы. В тех случаях, когда крыса совершает лишь один ошибочный вход в рукав, БП принимает значение «0,6». Так, нами было вычислено отношение всех экспериментальных сессий, при которых БП равнялся 0,6 и выше, к общему количеству сессий. Этот индекс мы обозначили как $БП_{0,6+}$. Аналогичным образом были рассчитаны индексы $БП_{0,3+}$ и $БП_{отр}$. Первый представляет собой отношение всех сессий, в которые было сделано не более 2 ошибок, к общему количеству сессий, второй – количество сессий, в которые были получены отрицательные значения. Помимо индексов, с данными, полученными на каждом из участков гистологического среза площадью 0,01 мм^2, был соотнесен БП, рассчитанный для каждой из крыс, и отражающий поведение животного в каждый конкретный день. Однако непостоянное наличие корреляций и разная их направленность вносит немалый субъективный компонент в интерпретацию результатов и делает данный тип анализа, скорее, вспомогательным.

РЕЗУЛЬТАТЫ/RESULTS

В слое 2/3 у крыс линии Wistar существует умеренная положительная корреляция плотности распределения нейронов с индексами $БП_{0,6+}$и $БП_{0,3+}$. У крыс линии DAT-HET отсутствует корреляция значений данного параметра как с индексами, так и с баллами памяти в каждый из дней эксперимента.

У крыс линии DAT-HETсуществует умеренная прямая корреляция между количеством нейронов в слое №4 и индексами $БП_{0,6+}$и $БП_{0,3+}$. У крыс линии Wistar корреляция вышеуказанных индексов с нейронами данного слоя отсутствует, однако их количество имеет обратную умеренную корреляцию с $БП_{отр}$., как и у трансгенных животных. Поэтому по параметру «Плотность распределения нейронов» между группами прослеживается определенное сходство.

Нейроглиальный индекс в слое №4 у DAT-HETотрицательно коррелирует с $БП_{0,6+}$ и $БП_{0,3+}$, а с $БП_{отр}$– положительно. У крыс линии Wistar, напротив, была выявлена умеренная положительная корреляция значений нейроглиального индекса с $БП_{0,3+}$, и корреляция плотности распределения глии с $БП_{0,6+}$и $БП_{0,3+}$, в первом случае – умеренная, во втором – сильная.

Разница в количестве нейронов на единицу площади в этом слое, в сравнении с другими, является наиболее выраженной (29,40±2,13 у DAT-HET и 36,70±2,60 у Wistar). Отсюда может быть сделано предположение о том, что нейроглиальный индекс отражает выраженность глиоза, подкрепляя гипотезу о значении данного слоя, а именно количества нейронов здесь, в процессах пространственного обучения.

В слое №5 не было обнаружено никаких корреляций с индексами среди крыс линии Wistar, хотя при анализе по дням наблюдалась умеренная положительная корреляция в 5 случаях с плотностью распределения сателлитной глии. Все эти дни приходились на вторую неделю, т.е. на поздний этап эксперимента. У крыс DAT-HET присутствует умеренная положительная взаимосвязь плотности распределения глии с $БП_{0,6+}$ и $БП_{0,3+}$, таким же образом данный параметр коррелирует с БП в восьми из двенадцати дней эксперимента.

Таким образом, для слоя 5 в обеих группах не было выявлено корреляций между количеством нейронов и индексами, отражающими успешность пространственного обучения. При этом, в той или иной степени, у крыс обеих линий существует взаимосвязь с количеством глии, что позволяет предположить наличие количественных, но не качественных различий.

В слое 6 не было обнаружено корреляций для крыс линии DAT-HET. У крыс линии Wistar была выявлена умеренная положительная корреляция плотности распределения нейронов с индексами $БП_{0,6+}$ и $БП_{0,3+}$, сателлитной глии – с индексом $БП_{0,6+}$, глии в целом – с $БП_{0,3+}$.

Если рассматривать исследуемую область соматосенсорной коры в целом, то можно обратить внимание на то, что для каждой из групп животных в слоях 4 и 5

характерны одни и те же тенденции, различия здесь будут, скорее, количественными. В то же самое время, различия в слоях 2/3 и 6 с большей вероятностью можно назвать качественными. Так, опираясь на данные наших предыдущих исследований, в первом из вышеупомянутых отсутствуют статистически значимые различия в распределении нейронов глии, нейроглиального индекса между группами, при этом характер корреляций различен.

ВЫВОДЫ/CONCLUSIONS

Обнаружено достаточно большое количество корреляций между морфометрическими параметрами и показателями, характеризующими пространственное обучение крыс в восьмирукавном радиальном лабиринте.

Сделано предположение, что успешность в пространственном обучении прямо связана с количеством нейронов в слое 4. В слое 5 такая роль отводится, прежде всего, глии. В случае с этими слоями, различия между линиями крыс, скорее, количественные.

Слои 2/3 и 6 могут быть вовлечены в процессы пространственного обучения по -разному в зависимости от линии животных. Так, для крыс линии Wistar характерны прямые корреляции поведенческих показателей с количеством нейронов в первом из вышеуказанных слоев, а в слое 6 - с плотностью распределения глии. В то же время, у крыс линии DAT-HET такие корреляции отсутствуют.

CORRELATIONS BETWEEN STRUCTURAL ORGANIZATION PARAMETERS OF THE SOMATOSENSORY CORTEX AND SPATIAL LEARNING CAPABILITIES IN RATS RESPECTING DOPAMINERGIC TRANSMISSION DIFFERENCES

Akhmadiev P.A. *[1] – lecturer, Department of Physiology and Sports Medicine (ORCID 0000-0002-6716-1058); **Lastochkin A.A.** [2] – undergraduate student, Department of Biology and Ecology (ORCID 0009-0002-3040-5781); **TazetdinovA.M.** [1] – PhD, senior lecturer, Department of Genetics and Fundamental Medicine(ORCID 0000-0002-5825-4295); **Takhirova Z.R.** [1] – PhD, associate professor, Department of Genetics and Fundamental Medicine (ORCID 0000-0003-3609-1971); **Khismatullina Z.R.** [2] – Grand PhD, professor of the Department of Biology and Ecology (ORCID0000-0002-3209-5265); **Khusnutdinova E.K.** [2,3]– Grand PhD, professor, head of the Department of Genetics and Fundamental Medicine **(**ORCID 0000-0003-2987-3334)

[1]Bashkir Institute of Physical Education (branch) of the Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education “Ural State University of Physical Education”

[2]Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education “Ufa University of Science and Technology”

[3]Institute of Biochemistry and Genetics – a separate structural division of the Federal State Budgetary Scientific Institution Ufa Federal Research Center of the Russian Academy of Sciences, Ufa

Funding: *the research was supported by a mega-grant from the Government of the Republic of Belarus (Agreement No. 1 dated 02.12.2022), state assignment of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation No. 075-03-2024-123/1 (agreement dated 15.02.2024).*

*pavelakhmadiev@yandex.ru

ABSTRACT

The results of a recent study of the bioelectrical activity of the somatosensory cortex of the rat brain indicate the involvement of this structure in spatial orientation processes. The authors showed that the nature of the bioelectrical activity can change depending on the point in space where the animal is located. At the same time, the area of the primary somatosensory cortex, which contains the representations of the whiskers - the barrel cortex - remained unexplored. Previously, we conducted studies of the ability of rats to spatial learning, and then studied the structural organization of the brain in some of these animals. Thus, the goal of this work is to search for possible correlations between

the parameters characterizing the behavior of rats during spatial learning and the data obtained in histomorphological studies of the somatosensory cortex of these rats. The object of the study is the data obtained as a result of testing in an eight-arm radial maze and in morphometric studies of the somatosensory cortex of the Wistar and DAT-HET rats. Based on the results of the analysis, we made the assumption that success in spatial learning is directly related to the number of neurons in layer 4. In layer 5, this role is assigned primarily to glia. The differences between the groups of animals here are quantitative. Qualitative differences were observed in relation to layers 2/3 and 6. Thus, Wistar rats are characterized by direct correlations of behavioral indicators with the number of neurons in the first of the above layers, and in layer 6 - with the density of glia distribution. At the same time, such correlations are absent in DAT-HET rats

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Гайнетдинов, А. Р. Поведенческие изменения у крыс-гетерозигот по нокауту гена дофаминового транспортера dat / А. Р. Гайнетдинов, З. С. Фесенко, З. Р. Хисматуллина // Биомедицина. – 2020. – № 1. С. 82–88. – DOI 10.33647/2074-5982-16-1-82-88. Режим доступа: https://elibrary.ru/item.asp?id=42577533

2. Jaber, M. Jones S., Giros B., Caron M. G. The dopamine transporter: a crucial component regulating dopamine transmission / M. Jaber, S. Jones, B. Giros, M. G. Caron // Movement disorders: official journal of the Movement Disorder Society. – 1997 – Т. 12 – №5 – С. 629-633. – DOI 10.1002/mds.870120502. Режим доступа: https://movementdisorders.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/mds.870120502

3. Long, X. Zhang S. J. A novel somatosensory spatial navigation system outside the hippocampal formation/ X. Long, S. J. Zhang // Cell research. – 2021 – Т. 31 – №6 – С. 649-663. – DOI 10.1038/s41422-020-00448-8. Режим доступа: https://www.nature.com/articles/s41422-020-00448-8

4. Paxinos, G. (ed.) The rat nervous system / G. Paxinos. – Кембридж: издательство «Academic press», 2004. – 1052 с. Режим доступа: https://www.sciencedirect.com/book/9780125476386/the-rat-nervous-system

5. Staiger, J.F. Neuronal circuits in barrel cortex for whisker sensory perception / J.F. Staiger, C. C. H. Petersen // Physiological reviews. –2021 – Т.101 – №1. – С. 353-415. DOI 10.1152/physrev.00019.2019. Режим доступа: https://journals.physiology.org/doi/full/10.1152/physrev.00019.2019

REFERENCES

1. Gainetdinov, A.R. Povedencheskie izmeneniya u krys-geterozigot po nokautu gena dofaminovogo transportera dat / A.R. Gainetdinov, Z.S. Fesenko, Z.R. Khismatullina // Biomeditsina. 2020:1:82–88. – DOI 10.33647/2074-5982-16-1-82-88 URL: https://elibrary.ru/item.asp?id=42577533 (In Russ.)

2. Jaber, M. Jones S., Giros B., Caron M. G. The dopamine transporter: a crucial component regulating dopamine transmission / M. Jaber, S. Jones, B. Giros, M. G. Caron // Movement disorders: official journal of the Movement Disorder Society. 1997:12(5):629-633. – DOI 10.1002/mds.870120502 URL: https://movementdisorders.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/mds.870120502

3. Long, X. Zhang S. J. A novel somatosensory spatial navigation system outside the hippocampal formation/ X. Long, S. J. Zhang // Cell research. – 2021:31(6):649-663. – DOI 10.1038/s41422-020-00448-8. URL: https://www.nature.com/articles/s41422-020-00448-8

4. Paxinos, G. (ed.) The rat nervous system / G. Paxinos. – Cambridge: publishing house «Academic press», 2004:1052. URL: https://www.sciencedirect.com/book/9780125476386/the-rat-nervous-system

5.Staiger, J.F. Neuronal circuits in barrel cortex for whisker sensory perception / J.F. Staiger, C. C. H. Petersen // Physiological reviews. 2021:101(1):353-415.

АКУШЕРСТВО, ГИНЕКОЛОГИЯ

УДК: 576.08:636.4
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.4.424

ГОРМОНАЛЬНЫЙ ПРОФИЛЬ ЖИДКОСТИ ФОЛЛИКУЛОВ РАЗНОГО ДИАМЕТРА В СВЯЗИ С ПОКАЗАТЕЛЯМИ ЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ И СОДЕРЖАНИЕМ ЛИПИДОВ В КЛЕТКАХ ГРАНУЛЕЗЫ SUS *SCROFA DOMESTICUS*

Кузьмина Т.И.* – д-р биол. наук, проф., глав. науч. сотрудник, зав. лабораторией биологии развития (ORCID 0000-0002-4218-6080); **Притужалова А.О.** – мл. науч. сотр. лаборатории биологии развития, (ORCID 0000-0002-2865-9582); **Курочкин А.А.** – мл. науч. сотр. лаборатории биологии развития (ORCID 0000-0003-4430-4770); **Баранова Е.И.** – лаборант-исследователь лаборатории биологии развития (ORCID 0009-0004-1980-9333).

Всероссийский научно-исследовательский институт генетики и разведения сельскохозяйственных животных – филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр животноводства – ВИЖ имени академика Л. К. Эрнста»

** prof.kouzmina@mail.ru*

Ключевые слова: *фолликулогенез, гормоны, клетки гранулезы, Sus scrofa domesticus, липидные капли.*

Keywords: *hormones, folliculogenesis, granulosa cells, Sus scrofa domesticus, lipid droplets.*

Финансирование*: Работа поддержана Российским научным фондом проект №22-16-00084.*

Поступила: 21.10.2024 **Принята к публикации: 02.12.2024**
Опубликована онлайн:16.12.2024

РЕФЕРАТ

Моделирование систем дозревания ооцитов сельскохозяйственных животных основывается на имеющихся сведениях о составе фолликулярной жидкости (ФЖ), однако, данные гормонального статуса жидкости фолликулов свиней в связи с жизнеспособностью и функциональным состоянием липидома клеток гранулезы (КГ) в динамике фолликулогенеза отсутствуют. Нами был проанализирован гормональный профиль (ЛГ, ФСГ, Т3, Т4, кортизол) жидкости антральных фолликулов свиней и получены данные о влиянии этих гормонов на жизнеспособность и содержание липидов (липидных капель-ЛК) КГ свиней

в фолликулах разного диаметра (ø <3 мм, ø 3-5 мм и ø>5 мм). Обнаружена обратная корреляция между долей КГ с высокой интенсивностью флуоресценции комплекса липидная капля – NileRed (ИФNileRed/ЛК - маркер содержания липидных капель) и концентрацией кортизола в динамике фолликулогенеза (-0.830, p<0.05), а также обратная корреляция между содержанием кортизола и долей жизнеспособных клеток (-0.995, p<0.05). Прямая корреляция выявлена между уровнем содержания, как Т3, так и Т4 с ИФNileRed/ЛК (0.901, 0.946, p<0.05) в КГ, что, вероятно, предполагает накопление энергетического субстрата в цитозоле. Отсутствовали достоверные корреляционные значения в содержании ЛГ в ФЖ и долей КГ, имеющих высокую интенсивность ИФNileRed/ЛК. Высокий уровень корреляции в концентрации Т3, Т4 в ФЖ и кортизола с показателями липидного содержания в КГ, свидетельствует о значительном влиянии этих гормонов на энергетический запас и жизнеспособность КГ в процессе фолликулогенеза и позволяет рассматривать их в качестве потенциальных кандидатов для углубленного изучения механизмов нарушения метаболизма, провоцирующих аномалии в развитии потомства, полученного при экстракорпоральном созревании и оплодотворении женских гамет, а также для моделирования состава сред для формирования зрелой яйцеклетки *Sus scrofa domesticus in vitro*.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Совершенствование клеточных репродуктивных технологий, таких как получение нативных (ЭКО) и реконструированных эмбрионов (клонирование, трансгенез), решение проблем бесплодия у человека и животных, создание высокопродуктивных особей в животноводстве основывается на познании интрафолликулярных механизмов формирования женской гаметы. Моделирование систем дозревания ооцитов свиней основывается на имеющихся сведениях о составе ФЖ. Однако, в настоящее время отсутствуют данные о гормональном статусе ФЖ растущего ооцита в связи с показателями жизнеспособности и функциональным состоянием липидома структурных компонентов антральных овариальных фолликулов в динамике фолликулогенеза. Отягощающий LOS-синдром у потомства, в том числе у вида *Sus scrofa domesticus*, полученного с использованием вспомогательных репродуктивных технологий, исследователи связывают с нарушением условий созревания ооцитов *in vitro*, прежде всего, с неадекватностью состава культуральных сред, используемых в технологии ЭКО. Синдром повышенного веса сопровождается нарушением липидного метаболизма, гормонального статуса особей. Многие исследования в области репродуктивных технологий сельскохозяйственных животных направлены на поиск биомаркеров, детерминирующих компетентность к созреванию и оплодотворению донорских ооцитов. В качестве биомаркеров рассматриваются клетки гранулезы (КГ), клетки кумулюса (КК), ФЖ, содержащая продукты секреции КК, КГ и частично экссудат плазмы крови [1, 2, 3, 4]. Гормоны ФЖ выступают как ингибиторы или стимуляторы пролиферативной активности в КГ, их жизнеспособности, метаболизма, синтеза стероидов, а также играют коммуникативную роль в передаче сигналов [5, 6]. Итогом коммуникации продуктов секреции и компонентов ФЖ являются блок реинициации мейотического созревания ооцита или активация этапов фолликулогенеза с последующим рекрутированием популяции фолликулов. Исследования влияния гормонов на функциональный статус и жизнеспособность КГ свиней в основном акцентированы на содержании гормонов в сыворотке крови или суммарного аспирата жидкости пула фолликулов, а полученные результаты носят противоречивый характер [7, 8, 9]. При этом не стандартизируются фазы эстрального цикла и размер фолликулов [10, 3, 9]. Основное внимание уделяется таким ключевым гормонам, как фолликулостимулирующий (ФСГ) и лютеинизирующий гормоны (ЛГ) [11, 12, 13, 14]. Исследования влияния таких гормонов, как кортизол, трийодтиронин (Т3) и тироксин (Т4) на показатели жизнеспособ-

ности и функциональной активности КГ в зависимости от диаметра фолликулов немногочисленны, и, в основном, выполнены на женщинах, в программах вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) [15, 16]. Информация о содержании вышеуказанных гормонов в жидкости из свиных фолликулов разного диаметра и их влиянии на функциональную активность КГ отсутствуют.

Глюкокортикоиды (к которым относится кортизол) входят в группу гормонов, продуцирующихся в организме как реакция на стресс. У стрессированных мышей выработка кортизола негативно влияет на качество ооцитов [17]. Культивирование клеток гранулезы с кортизолом вызывает их гибель, что, априори, указывает на его негативное воздействие на фолликулогенез, вызывая атретические процессы, тогда как ФСГ, напротив, предотвращает вызванную кортизолом регрессию фолликулов у свиней [18]. Stimson et al. показали, что кортизол взаимодействует с гормончувствительной липазой в клетках кумулюса и ооцитах, способствуя расщеплению триглицеридов для образования холестерина с последующим синтезом стероидных гормонов [19]. Гормоны щитовидной железы (Т4) и его производные (Т3) также оказывают влияние на фолликулогенез. Показано, что Т3 снижает апоптотические процессы в КГ человека [20]. Чувствительность КГ к Т3 в десятки раз превышает эффект его предшественника (эффект наблюдался при 10 нМ и 100 нМ, тогда как у Т4 значительный эффект достигался только при 100 нМ) [20]. В связи с вышеизложенным возникает необходимость углубления знаний об участии этих гормонов в механизмах фолликулогенеза, о содержании их в растущих фолликулах и об особенностях воздействии на функциональный статус, метаболизм и жизнеспособность КГ.

Цель настоящего исследования – проанализировать гормональный профиль (ЛГ, ФСГ, Т3, Т4, кортизол) жидкости антральных овариальных фолликулов свиней в связи с показателем жизнеспособности и энергетическим потенциалом (интенсивность флуоресценции липидных капель) КГ в зависимости от диаметра растущих фолликулов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

В эксперименте использовали ФЖ свиней, отобранную из *post mortem* яичников половозрелых свинок породы ландрас (6 мес.) в фолликулярной фазе эстрального цикла, полученных на Тосненском мясокомбинате (Ленинградская область). ФЖ аспирировали из «здоровых» фолликулов, с высоким тургором и обширной васкуляризацией, ранжированных в соответствии с диаметром: менее 3 мм; 3-5 мм и более 5 мм. Аспирированную ФЖ центрифугировали при 1200 об/мин., осадок отбирали в центрифужные пробирки и хранили при - 70°С. Полученный осадок (КГ), ресуспендировали в стерильном фосфатно-солевом буфере (PBS) и подвергали анализу на жизнеспособность с помощью флуорохрома пропидия йодид (PI). КГ дважды отмывали в PBS буфере, с осаждением клеток при 1200 об. / мин. в течение 7 мин. Клетки анализировали сразу после добавления красителя PI к исследуемым образцам до конечной концентрации 5 мкг/мл. Для определения интенсивности флуоресценции комплекса Nile Red/липидная капля (ИФNileRed/ЛК) в КГ применяли краситель Nile Red, который визуализирует нейтральные липиды (триглицериды, диапазон флуоресценции 580 нм–596 нм) и полярные липиды (фосфолипидные бислои, диапазон флуоресценции 597 нм – 620 нм) [21]. После отмывки в PBS КГ ресуспендировали и фиксировали в 1% параформальдегиде при комнатной температуре в течение 10 мин. Фиксированные клетки дважды промывали PBS и добавляли Nile Red (Sigma-Aldrich) до рабочей концентрации 10 мкМ, инкубировали при комнатной температуре в течение 10 мин в темноте. Окрашенные клетки дважды промывали и ресуспендировали в PBS буфере. Nile Red является липофильным красителем и специфично связывается с внутриклеточными липид-

ными каплями, образуя с ними комплекс Nile Red/липидная капля. В результате наблюдаются клетки с высокой и низкой интенсивностью флуоресценции Nile Red, в зависимости от степени содержания липидов в цитоплазме. В связи с этим популяцию исследуемых клеток ранжировали на группы с высокой и низкой интенсивностью комплекса Nile Red/ липидная капля. Образцы анализировали на проточном цитометре CytoFLEX (Beckman Coulter Life Sciences, USA). Иммуноферментный анализ проводили с применением наборов для определения ЛГ, ФСГ, Т3, Т4 свиней (Cloud-Cloune Corp., Hubei, China) и кортизола СтероидИФА-кортизол (ООО «Компания Алкор Био», Россия).

Результаты обрабатывали с помощью программы Sigma Stat. Все использованные в исследовании реагенты, за исключением обозначенных, производства фирмы Sigma-Aldrich. Пластиковая лабораторная посуда фирмы BD Falcon™. Достоверность различия сравниваемых средних значений оценивали с помощью критерия x^2 при двух уровнях значимости: P <0.05, P <0.01, P <0.001.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

В процессе роста фолликулов происходит углубление апоптотических процессов в КГ (4% клеток на стадии апоптоза в фолликулах <3 мм против 11% в фолликулах 5-8 мм соответственно, p<0.05, Рис.1.). На начальной стадии фолликулогенеза в КГ наблюдается тенденция к накоплению запаса ЛК, (увеличение доли клеток с высокой интенсивностью ИФNileRed/ЛК на 10 %, p<0.05).

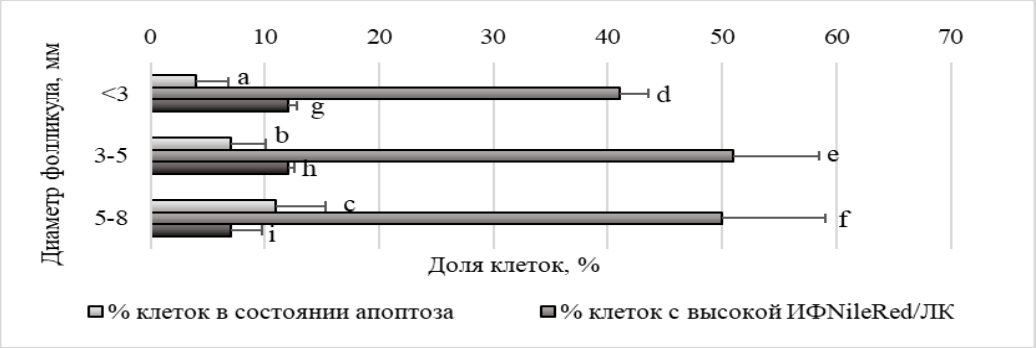


Рисунок 1 – Апоптотические процессы и показатели функционирования липидома (Интенсивность флуоресценции комплекса Nile Red/липидная капля- ИФNileRed/ЛК) в клетках гранулезы Sus scrofa domesticus в фолликулах разного диаметра. $^{a:c;d:e;\ d:f}$ *- p<0.05.*

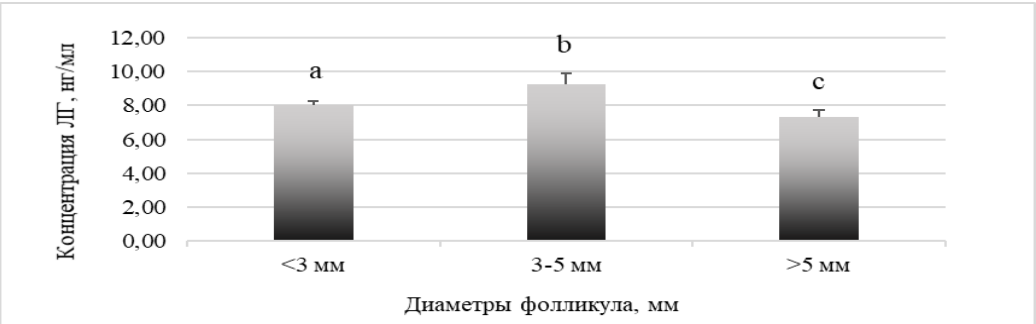


Рисунок 2 – Концентрация лютеинизирующего гормона (ЛГ) в фолликулярной жидкости свиней, аспирированной из фолликулов разного диаметра. $^{b:c}$ *- p<0.05.*

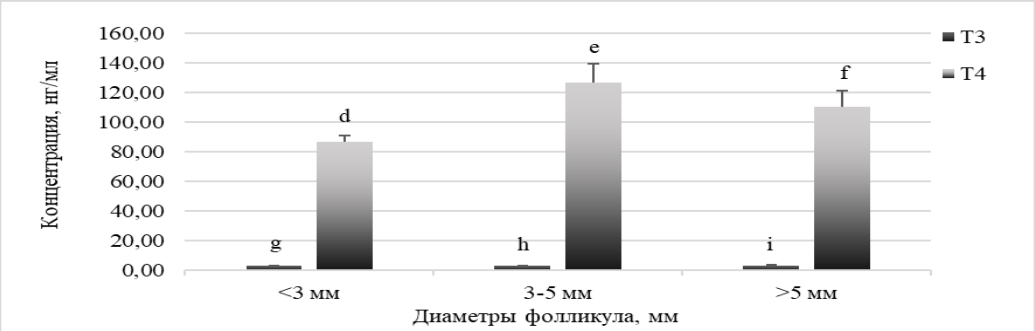


Рисунок 3 – Концентрация трийодтиронина (Т3) и тироксина (Т4) в ФЖ свиней, аспирированной из фолликулов разного диаметра. $^{d:e}$ *- p<0.01;* $^{g:d;\ h:e;\ i:f}$ *- p<0.001.*

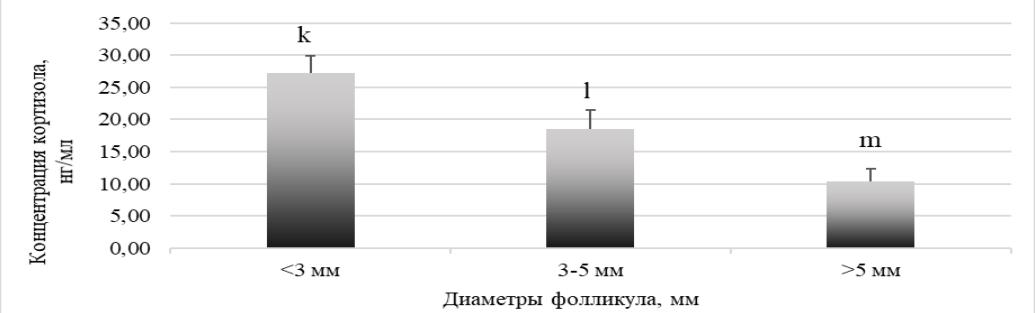


Рисунок 4 – Концентрация кортизола в ФЖ свиней, аспирированной из фолликулов разного диаметра. $^{k:l;\ l:m}$ *- p<0.05;* $^{k:m}$ *- p<0.001.*

Концентрация ЛГ – один из определяющих факторов формирования фолликулов самок, результаты о его концентрации в фолликулах разного диаметра свиней противоречивы и немногочисленны [22]. Согласно наших данных, (Рис. 2.). значительное снижение уровня содержания ЛГ (на 1.93 нг/мл) обнаружено в жидкости фолликулов ø >5 мм (7.32 нг/мл) по сравнению с его концентрацией в жидкости из фолликулов ø 3-5 мм (p<0.05).

Анализ концентрации Т3 и Т4 выявил отличия в показателях уровня содержания в фолликулах разного диаметра (Рис. 3.). Так, содержание Т4 в фолликулах ø <3 мм, 3-5 мм и ø >5 мм составило 86.63 нг/мл, 126.48 нг/мл и 110.16 нг/мл, соответственно. Обнаружены значительные различия (на 39.85 нг/мл, p<0.01) в уровне содержания Т4 между фолликулами ø <3 мм и ø 3-5 мм. Достоверных различий в содержание Т3 в фолликулах вышеуказанных диаметров (3.10 нг/мл, 3.30 нг/мл и 3.41 нг/мл) не выявлено. Значимые различия обнаружены в содержании Т4 и Т3 из фолликулов одинаковых диаметров: ø <3 мм на 83.53 нг/мл (p<0.001), ø 3-5 мм на 123.18 нг/мл (p<0.001), ø >5 мм на 106.75 нг/мл (p<0.001).

Показатели уровня кортизола в ФЖ свиней, могут косвенно указывать на качество ооцита [23]. В нашем исследовании содержание кортизола в ФЖ снижалось по мере роста фолликулов (Рис. 4).

В ФЖ из фолликулов ø <3 мм, уровень кортизола составило 27.20 нг/ мл, тогда как в фолликулах ø 3-5 мм был ниже на 8.7 нг/мл (p<0.05). Самая низкая концентрация данного гормона обнаружена в фолликулах ø >5 мм (10.4 нг/мл), и достоверно отличалась от содержания в жидкости из фолликулов ø <3 мм и ø 3-5 мм (на 16.8 и 8.08 нг/ мл соответственно, p<0.001; p<0.05).

ФСГ, как и ЛГ ингибируют апоптотические процессы в КГ [24]. В наших ис-

следованиях показатели содержания ФСГ в ФЖ (ИФА) тестировались сверх пороговых значений применяемого набора и колебались в следующих пределах: ø <3 мм – свыше 200 нг/мл; ø 3-5 мм – от 175.3 до 200 нг/мл и выше; ø >5 мм – 135.6 до 200 нг/мл, что позволяет предполагать тенденцию к снижению уровня ФСГ по мере роста фолликулов. В Таблице 1 приведены данные корреляционного анализа между уровнем гормонов, жизнеспособностью и функциональной активностью липидома КГ свиней.

Таблица 1 – Корреляционный анализ исследуемых значений

	ЛГ	Т3	Т4	Кортизол
Доля клеток в состоянии апоптоза	-0.444*	0.969*	0.519*	-0.995*
Доля клеток гранулезы с высокой интенсивностью флуоресценции комплекса NileRed/ липидная капля	0.234	0.901*	0.946*	-0.830*
Доля КГ с низкой интенсивностью флуоресценции комплекса NileRed/липидная капля	0.784	-0.771*	-0.104	0.885

*Достоверность * $p<0.05$.*

Формирование условий для роста и созревания ооцита во многом определяется сложной системой коммуникаций функциональной активности соматических клеток фолликула и его гормонального статуса. Известно, что использование КГ в системе кокультивирования женских гамет *in vitro* способствует повышению выхода ооцитов, компетентных к дальнейшему оплодотворению [25]. Как показывают данные ряда исследователей уровни гормонов опосредуют как липидный метаболизм, так и функциональную активность КГ (синтез стероидных гормонов) [26, 27, 28, 29, 30]. Знание реализации эффектов гормонов на КГ необходимо для создания адекватных процессам *in vivo* условий *in vitro* и моделирования состава культуральных сред. Результаты наших исследований впервые формируют представление о содержании ЛГ, ФСГ, Т3, Т4, кортизола в фолликулах разного диаметра у свиней и характера их влияния на апоптотические процессы и липидом КГ. Содержание липидов в КГ является источником стероидных гормонов, вовлеченных в процесс реинициации мейоза ооцитов [31]. Simerman et al. выявили обратную корреляцию содержания липидов в КГ с содержанием кортизола в ФЖ и снижение уровня апоптоза в КГ лошадей в ответ на воздействие кортизола [33]. Наши данные, свидетельствующие об обратной корреляции между КГ, имеющими высокую интенсивность ИФNileRed/ ЛК и содержанием кортизола в динамике фолликулогенеза (-0.830, $p<0.05$), а также об обратной корреляции между содержанием кортизола и долей жизнеспособных клеток (-0.995, $p<0.05$) согласуются с результатами исследований других авторов [32, 33]. C. Verga Falzacappa et al. обнаружили рост фолликулов у крыс под воздействием Т3 в различных концентрациях, а также показали его прямое и значительное воздействие на стероидогенез КГ [34]. Также, по данным Liu et al. был выявлен синергический эффект Т3 на экспрессию гена CYP51, синтезируемый фермент которого превращает ланостерин в холестерин, и, таким образом, способствует продуцированию субстрата для стероидных гормонов в клетках гранулезы мышей [35]. Эти данные частично согласуются с результатами наших исследований, показавших высокую прямую корреляцию (0.901, $p<0.05$) между уровнем Т3 в ФЖ и ИФNileRed/ЛК в КГ, что, как предполагается, способствует, накоплению энергетического субстрата в цитозо-

ле. Тенденция к росту содержания Т3 в фолликулах диаметром 3-5 мм, возможно, указывает на селекцию доминантных фолликулов из общего пула. L. J. Spicer et al. в экспериментах на клетках теки и гранулезы показали, что добавление в среду Т4 совместно с другими гормонами (ФСГ, ЛГ, инсулин) влияет на выработку ароматазы и прогестерона в исследуемых клетках, что предполагает стимулирующий эффект тироксина в КГ и текальных клетках [36]. В наших исследованиях показана прямая корреляция между содержанием Т4 в ФЖ и (0.946, $p<0.05$) ИФNileRed/ЛК в КГ. По данным Paes V. M. et al. при культивировании *in vitro* преантральных фолликулов коз Т4 способствует увеличению экспрессии фактора роста и дифференцировки 9 (GDF-9), а также, в присутствии ФСГ увеличивает долю созревших ооцитов [37]. Схожие данные о влиянии Т3 и Т4 на пролиферативную активность и жизнеспособность КГ из фолликулов ø 1-5 мм у коров были получены Монтвилла и др., однако, в их исследованиях не выявлено эффектов этих гормонов на секрецию эстрадиола-17β или прогестерона [38]. В наших экспериментах отмечено значительное повышение содержание тироксина в жидкости фолликулов ø 3-5 мм в сравнении с фолликулами ø <3 мм, при этом, выявлена высокая прямая корреляция между долей клеток с высоким содержанием ИФNileRed/ЛК в фолликулах разного диаметра и уровнем Т3 и Т4 (0.901, 0.946, $p<0.05$), что, возможно, связано с видовыми различиями в механизмах фолликулогенеза моно- и полиплодных животных.

ФСГ и ЛГ – гормоны, определяющие функцию яичников, формирование доминантного фолликула и зрелого ооцита [21]. Noguchi et al. показали, что концентрации ФСГ в фолликулярной фазе обратно пропорциональны содержанию ингибина А, с большей выработкой этого гормона крупными фолликулами, у приближающихся к течке свиней [39]. В наших исследованиях обнаружена тенденция к снижению содержания ФСГ по мере роста фолликулов. По данным других авторов, количество рецепторов к ЛГ увеличивалось в фолликулах размером ø 2–6 мм, а затем снижалось [40]. Наши данные показывают тенденцию к повышению содержания ЛГ в фолликулах ø 3-5мм и достоверное снижение в фолликулах ø 5мм. Britt et al. показано, что введение эстрогена вызывает выброс ЛГ, но, первоначально, отмечено временное снижение ЛГ, что, как считается, важно для того, чтобы гипофиз мог накапливать запасы ЛГ для всплеска концентрации через 24–48 часов [41]. В наших экспериментах, показано понижение концентрации ЛГ в фолликулах ø > 5 мм в сравнении с фолликулами ø 3-5мм. Результаты исследования Sekar N. et al. показавших отсутствие влияния ЛГ на накопление различных ферментов и слабое воздействие на стимулирование трансляции мРНК белков, отвечающих за метаболизм липопротеинов низкой плотности и холестерина, частично подтверждают наши данные об отсутствии корреляции между ИФNileRed/ЛК в КГ и уровнем ЛГ, что предполагает иные пути реализации эффектов ЛГ на КГ [42].

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Полученные данные впервые формируют представление о влиянии Т3, Т4, кортизол, ЛГ и ФСГ на энергетический запас и жизнеспособность клеток гранулезы свиней в фолликулах разного диаметра (ø <3, ø 3-5 и ø >5 мм). Концентрация ЛГ имела тенденцию к повышению по мере роста фолликулов от ø менее 3 мм и до ø 3-5 мм, достоверно снижаясь в фолликулах больше 5 мм (8.04 нг/мл, 9.25 нг/мл и 7.32 нг/мл, соответственно). Содержание Т4 в фолликулах ø <3 мм, ø 3-5 мм и ø >5 мм составило 86.63 нг/мл, 126.48 нг/мл и 110.16 нг/мл, что имело значительные различия в уровне содержания Т4 между фолликулами ø <3 мм и ø 3-5 мм на 39.85 нг/мл ($p<0.01$). Концентрация Т3 в фолликулах вышеуказанных диаметров достигала 3.10 нг/мл, 3.30 нг/мл и 3.41 нг/мл, достоверных различий в показателях не обнаружено. Разница между содержанием вышеуказанных гормонов (Т3 и Т4) в фолликулах одинакового диа-

метра существенно отличалась: в фолликулах ø <3 мм на 83.53 нг/мл ($p<0.001$), в фолликулах ø 3-5 мм на 123.18 нг/мл ($p<0.001$), в фолликулах ø >5 мм на 106.75 нг/мл ($p<0.001$). Содержание кортизола в жидкости фолликулов ø <3 мм, составило: 27.20 нг/ мл: ø 3-5 мм – 18.48 нг/мл, ø >5 мм 10.4 нг/мл. Анализ содержания ФСГ в ФЖ выявил результаты сверх пороговых значений применяемого набора и колебался в пределах: ø <3 мм – свыше 200 нг/мл; ø 3-5 мм – от 175.3 нг/мл до 200 нг/мл и выше; ø >5 мм – 135.6 нг/мл до 200 нг/мл, обнаружив тенденцию к снижению уровня содержания гормона по мере роста фолликулов. Выявлены высокие корреляционные значения в содержании Т3, Т4 и кортизола с функциональной активностью липидома (комплекса ИФNileRed/ЛК), что свидетельствует о значительном влиянии этих гормонов на энергетический запас и жизнеспособность КГ в процессе формирования фолликулов и позволяет рассматривать их в качестве потенциальных кандидатов для углубленного изучения механизмов нарушения метаболизма, провоцирующих аномалии в развитии потомства, полученного при экстракорпоральном созревании и оплодотворении, а также для моделирования состава сред в технологии экстракорпорального созревания донорских ооцитов свиней.

HORMONAL PROFILE OF FOLLICLE FLUID OF DIFFERENT DIAMETERS IN RELATION TO VIABILITY AND LIPID CONTENT IN GRANULOSA CELLS OF SUS SCROFA DOMESTICUS

Kuzmina T.I.* – Doctor of Biological Sciences, Professor, Chief Researcher, Head of the Laboratory of Developmental Biology (ORCID 0000-0002-4218-6080); **Prituzhalova A.O. –** Junior Researcher, Laboratory of Developmental Biology (ORCID 0000-0002-2865-9582); **Kurochkin A.A.** – Junior Researcher, Laboratory of Developmental Biology (ORCID0000-0003-4430-4770); **Baranova E.I.** – laboratory research assistant Laboratory of Developmental Biology (ORCID 0009-0004-1980-9333).

Russian Research Institute of Farm Animal Genetics and Breeding – Branch of the L.K. Ernst Federal Science Center for Animal Husbandry

**prof.kouzmina@mail.ru*

Funding: *The work was supported by the Russian scientific foundation project No. 22-16-00084.*

ABSTRACT

Modeling of oocyte maturation systems in farm animals is based on the available information on the composition of follicular fluid (FF), however, there are no data on the hormonal status of porcine follicular fluid in relation to the viability and functional state of the lipidome in granulosa cells (GCs) in the dynamics of folliculogenesis. We analyzed the hormonal profile (LH, FSH, T3, T4, cortisol) of porcine antral follicle fluid and obtained data on the effect of these hormones on the viability and lipid content (lipid droplets-LDs) of porcine GCs in follicles of different diameters (ø <3 mm, ø 3-5 mm and ø>5 mm). An inverse correlation was found between the proportion of GCs with high fluorescence intensity of the lipid droplet complex – NileRed (IFNileRed/LD - a marker of lipid droplets content) and the concentration of cortisol in the dynamics of folliculogenesis (-0.830, $p<0.05$), as well as an inverse correlation between the cortisol content and the proportion of viable cells (-0.995, $p<0.05$). A direct correlation was found between the content of both T3 and T4 with IFNileRed/LD (0.901, 0.946, $p<0.05$) in GCs, which probably suggests accumulation of the energy substrate in the cytosol. There were no reliable correlation values in the content of LH in the FF and the proportion of GCs with high IFNileRed/LD intensity. The high level of correlation in the concentration of T3, T4 in the FF and cortisol with the lipid's content in the GCs indicates a significant influence of these hormones on the energy reserve and viability of the GCs during folliculogenesis and allows us to consider them as potential candidates for an in-depth study of the mechanisms of metabolic

disorders that provoke abnormalities in the development of offspring obtained at *in vitro* maturation and fertilization of female gametes, as well as for modeling the composition of the media for the formation of a mature porcine ovum *in vitro*.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Tabatabaei, S. Biochemical composition of blood plasma and follicular fluid in relation to follicular size in buffalo / Tabatabaei, S. and Mamoei, M. // Comparative clinical pathology. – 2011. – Vol. 20. – P. 441-445. DOI: 10.1007/s00580-010-1014-5.
2. Carpintero, N. L. Follicular steroid hormones as markers of oocyte quality and oocyte development potential / Carpintero, N. L., Suárez, O. A., Mangas, C. C., Varea, C. G., Rioja, R. G. // Journal of human reproductive sciences. –2014. –Vol. 7. –P. 187-193. DOI:10.4103/0974-1208.142479.
3. Kayanja, M. Markers of oocyte quality to enhance human IVF outcomes: a bibliographic review / Kayanja, M., Tiri, M., Muyigo, M., Rujumba, D., Brian, N., Francis, K. // Open journal of internal medicine. – 2024. – Vol. 14. – P. 102-121. DOI: 10.4236/ojim.2024.141010.
4. Uyar, A. Cumulus and granulosa cell markers of oocyte and embryo quality / Uyar, A., Torrealday, S., Seli, E. // Fertility and sterility. – 2013. – Vol. 99. – P. 979-997. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2013.01.129
5. Hassanein, E.M. Gonadotropin-releasing hormone (GnRH) and its agonists in bovine reproduction I: structure, biosynthesis, physiological effects, and its role in estrous synchronization / Hassanein, E.M., Szelényi, Z.; Szenci, O. // Animals. – 2024. – Vol. 14. – № 10. DOI: 10.3390/ani14101473.
6. Lamb, G.C. Reproductive Endocrinology and Hormonal Control of the Estrous Cycle / Lamb, G.C., Smith, M.F., Perry, G.A., Atkins, J.A., Risley, M.E., Busch, D.C., Patterson, D.J. // The Bovine Practitioner. – 2010. – Vol. 44. – № 1. –P. 18-26. DOI:10.21423/bovine-vol44no1p18-26.
7. Costermans, N. Follicular fluid steroid profile in sows: relationship to follicle size and oocyte quality / Costermans, N., Soede, N., Tricht, F., Blokland, M., Kemp, B., Keijer, J., Teerds K. // Biology of reproduction. – 2020. – Vol. 102. – P. 740-749. DOI: 10.1093/biolre/ioz217.
8. Gregoraszczuk, E.L. In vitro effect of triiodothyronine on the cyclic amp, progesterone and testosterone level in porcine theca, granulosa and luteal cells / Gregoraszczuk, E.L., Galas, J. // Endocrine regulations. –1998. –Vol. 32. –P. 93-98.
9. Osteen K. G. Follicular fluid modulation of functional LH receptor induction in pig granulosa cells / Osteen K. G., Anderson L. D., Reichert L. E., Channing C. P. // Journal of reproduction and fertility. – 1985. – Vol. 74. – P. 407-418. DOI: 10.1530/jrf.0.0740407.
10. Naskar S. Steroid and metabolic hormonal profile of porcine serum vis-à-vis ovarian follicular fluid / Naskar S., Borah S., Vashi Y., Thomas R., Sarma D. K., Goswami J., Dhara S. K. // Veterinary World. – 2016. – Vol 9. – P. 1320-1323. DOI: 10.14202/vetworld.2016.1320-1323.
11. Sirotkin A. V. FSH, oxytocin and IGF-I regulate the expression of sirtuin 1 in porcine ovarian granulosa cells / Sirotkin A. V., Dekanová P., Harrath A. // Physiologycal research. – 2020. – Vol.69. – P. 461-466. DOI: 10.33549/physiolres.934424.
12. Guthrie, H. D. Changes in plasma estrogen, luteinizing hormone, follicle-stimulating hormone and 13,14-dihydro-15-keto-prostaglandin F2 alpha during blockade of luteolysis in pigs after human chorionic gonadotropin treatment / Guthrie, H. D., Bolt, D. J. // Journal of animal science. – 1983. – Vol. 57. – P. 993-1000. DOI:10.2527/jas1983.574993x.
13. Breen, S. M. The impact of dose of FSH (Folltropin) containing LH (Lutropin) on follicular development, estrus and ovulation responses in prepubertal gilts / Breen, S. M., Knox, R. V. // Animal Reproduction Science. –2012. –Vol. 132. –P. 193-200. DOI: 10.1016/j.anireprosci.2012.05.013.
14. Lavoie, H. A. 123 Physiological regulation of ovarian follicle growth and maturation in the pig / Lavoie, H. A. // Journal of animal science. –2018. –Vol. 96. –P. 342–343. DOI: 10.1093/jas/sky404.754.
15. Rosales M. Thyroid hormones in ovarian

follicular fluid: Association with oocyte retrieval in women undergoing assisted fertilization procedures / Mónica Rosales, Myriam Nuñez, Andrea Abdala, Viviana Mesch, Gabriela Mendeluk // JBRA assisted reproduction. –2020. –Vol. 24. –P 245-249. DOI: 10.5935/1518-0557.20200004

16. Cedíková, M. Comparison of prolactin, free T3 and free T4 levels in the follicular fluid of infertile women and healthy fertile oocyte donors / Cedíková, M, Babuška, V, Rajdl, D., Zech, N.H., Kališ, V., Králíčková, M. // Ceska Gynekologie. –2012. –Vol. 77. – P. 471-476.

17. Kala, M. Role of cortisol and superoxide dismutase in psychological stress induced anovulation / Kala, M., Nivsarkar, M. // General and comparative endocrinology. –2016. –Vol. 225. –P. 117–124. DOI: 10.1016/j.ygcen.2015.09.010.

18. Nakanishi T. Cortisol induces follicle regression, while FSH prevents cortisol-induced follicle regression in pigs / Nakanishi T., Okamoto A., Ikeda M., Tate S., Sumita M., Kawamoto R., Tonai S., Lee J.Y., Shimada M., Yamashita Y. // Molecular Human Reproduction. –2021. –Vol. 27. DOI: 10.1093/molehr/gaab038.

19. Stimson, R. H. Acute physiological effects of glucocorticoids on fuel metabolism in humans are permissive but not direct / Stimson, R. H., Anderson, A. J., Ramage, L. E., Macfarlane, D. P., de Beaux, A. C., Mole, D. J, Andrew, R., Walker, B. R. // Diabetes, obesity and metabolism. – 2017. –Vol. 19. –P. 883-891. DOI: 10.1111/dom.12899.

20. Paolo V. Thyroid hormones T3 and T4 regulate human luteinized granulosa cells, counteracting apoptosis and promoting cell survival / Paolo V., Mangialardo C., Zacà C., Barberi M., Sereni E., Borini A., Centanni M., Coticchio G., Verga-Falzacappa C., Canipari R. // Journal of endocrinological investigation. –2020. –Vol. 43. –P. 821-831. DOI: 10.1007/s40618-019-01169-5.

21. Liu J. Growth and the initiation of steroidogenesis in porcine follicles are associated with unique patterns of gene expression for individual components of the ovarian insulin-like growth factor system / Liu J., Koenigsfeld A. T., Cantley T. C., Boyd C. K., Kobayashi Y., Lucy M. C.// Biology of Reproduction. –2000. –Vol. 63. –P. 942–952. DOI: 10.1095/biolreprod63.3.942

22. Filicori, M. The role of luteinizing hormone in folliculogenesis and ovulation induction / Filicori, M. // Fertility and sterility. –1999. –Vol. 71. –P. 405-414. DOI: 10.1016/s0015-0282(98)00482-8.

23. Costermans, N. G. J., Soede, N. M., Tricht, F., Blokland, M., Kemp, B., Keijer, J., & Teerds, K. J. Follicular fluid steroid profile in sows: relationship to follicle size and oocyte quality / Costermans, N. G. J., Soede, N. M., Tricht, F., Blokland, M., Kemp, B., Keijer, J., Teerds, K. J. // Biology of Reproduction. –2019. –Vol. 102. –P. 740-749. DOI: 10.1093/biolre/ioz217.

24. Lin, P. Effects of follicular size and FSH on granulosa cell apoptosis and atresia in porcine antral follicles / Lin, P., & Rui, R. // Molecular reproduction and development. –2010. –Vol. 77. – P. 670–678. DOI: 10.1002/mrd.21202.

25. Кузьмина Т. И. Роль наночастиц высокодисперсного кремнезема в реализации эффектов гранулезы на компетентность к созреванию и оплодотворению ооцитов Sus scrofa domesticus / Кузьмина Т.И., Чистякова И.В., Притужалова А.О., Татарская Д.Н. // Вавиловский журнал генетики и селекции. –2022. –Vol 26. –P. 234-239. DOI 10.18699/VJGB-22-30.

26. Zhang K-H. Follicle stimulating hormone controls granulosa cell glutamine synthesis to regulate ovulation / Zhang K-H., Zhang F-F., Zhang Z-L., Fang K-F., Sun W-X, Kong N., Wu M., Liu H-O, Liu Y., Li Z., Cai Q-Q., Wang Y., Wei Q-W., Lin P-C, Lin Y., Xu W., Xu C-J, Yuan Y-Y., Zhao S-M. // Protein & cell. –2024. –Vol. 15. –P. 512–529. DOI: 10.1093/procel/pwad065.

27. Liao, B. Effects of androgen excess-related metabolic disturbances on granulosa cell function and follicular development / Liao, B., Qi, X., Yun, C., Qiao, J., Pang, Y. // Frontiers in endocrinology (Lausanne). –2022. –Vol. 13. DOI: 10.3389/fendo.2022.815968.

28. Morimoto A. Granulosa cell metabolism at ovulation correlates with oocyte com-

petence and is disrupted by obesity and aging / Morimoto A., Rose R. D., Smith K. M., Dinh D. T., Umehara T., Winstanley Y. E., Shibahara H., Russell D. L., Robker R. L. // Human Reproduction. –2024. –Vol. 39. –P. 2053–2066. DOI: 10.1093/humrep/deae154.
29. Arroyo A. Luteinizing Hormone Action in Human Oocyte Maturation and Quality: Signaling Pathways, Regulation, and Clinical Impact / Arroyo A., Kim B., Yeh J. // Reproductive Sciences. –2020. –Vol. 27. –P. 1223-1252. DOI: 10.1007/s43032-019-00137-x.
30. He, H. Effects of prolactin on the proliferation and hormone secretion of ovine granulosa cells in vitro / He, H., Su, X., Yang, H., Zhang, Y., Duan, C., Yang, R., Xie, F., Liu, Y., Liu, W. // Animal Bioscience. – 2024. –Vol. 37. –P. 1712-1725. DOI: 10.5713/ab.23.0448.
31. Downs S. Fatty acid oxidation and meiotic resumption in mouse oocytes / Downs S., Mosey J., Klinge J. // Molecular reproduction and development. –2009. –Vol. 76. – P. 844-853. DOI: 10.1002/mrd.21047.
32. Simerman A. A. Intrafollicular cortisol levels inversely correlate with cumulus cell lipid content as a possible energy source during oocyte meiotic resumption in women undergoing ovarian stimulation for in vitro fertilization / Simerman A. A., Hill D. L., Grogan T. R., Elashoff D., Clarke N. J., Goldstein E. H., Manrriquez A. N., Chazenbalk G. D., Dumesic D. A. // Fertility and sterility. –2015. –Vol. 103. – P. 249-57. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2014.09.034.
33. Effects of cortisol on granulosa cell function during follicle maturation in the horse / Abbasi K., Bollwein S., Kowalewski M. P., Scarlet D. // Journal of equine veterinary science. –2023. –Vol. 125. DOI: 10.1016/j.jevs.2023.104685.
34. Arnold A. Primary hyperparathyroidism: molecular genetic insights and clinical implications / Arnold A. // Endocrine abstracts. –2017. DOI: 10.1530/endoabs.50.PL1.
35. Liu, J. Role of CYP51 in the Regulation of T3 and FSH-Induced Steroidogenesis in Female Mice / Liu, J., Tian, Y., Ding, Y., Heng, D., Xu, K., Liu, W., Zhang, C. // Endocrinology. –2017. –Vol. 158. –P. 3974-3987. DOI: 10.1210/en.2017-00249.
36. Spicer L. J. Effects of thyroid hormones on bovine granulosa and thecal cell function in vitro: dependence on insulin and gonadotropins / Spicer L. J., Alonso J., Chamberlain C. S. // Journal of dairy science. –2001. – Vol. 84. –P. 1069-1076. DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(01)74567-5.
37. Paes V. M. Role of thyroid hormones (triiodothyronine and thyroxine) in the regulation of mammalian folliculogenesis / Paes V. M., Vieira L. A., Figueiredo J. R. // Revista portuguesa de ciencian veterinarias. – 2017. –Vol. 112. –P. 23-31. DOI: 10.1159/000123900.
38. Монтвила Е.К. Влияние тиреоидных гормонов in vitro на функциональное состояние клеток гранулезы коров / Монтвила Е.К., Митяшова О.С., Лебедева И.Ю. // Генетика и разведение животных. – 2022. –№ 4. –С. 42-48. DOI:10.31043/2410-2733-2022-4-42-48.
39. Noguchi, M. 2010. Peripheral concentrations of inhibin A, ovarian steroids, and gonadotropins associated with follicular development throughout the estrous cycle of the sow / Noguchi, M., K. Yoshioka, S. Itoh, C. Suzuki, S. Arai, Y. Wada, Y. Hasegawa, and H. Kaneko. // Reproduction. –Vol. 139. –P. 153-161. DOI: 10.1530/REP-09-0018.
40. Liu, J. Growth and the initiation of steroidogenesis in porcine follicles are associated with unique patterns of gene expression for individual components of the ovarian insulin-like growth factor system / Liu, J., Koenigsfeld, A., Cantley, T., Boyd, C., Kobayashi, Y., Lucy, M. // Biology of reproduction. –2000. –Vol. 63. –P. 942–952. DOI: 10.1095/biolreprod63.3.942.
41. Britt, J. H. Roles of estradiol and gonadotropin-releasing hormone in controlling negative and positive feedback associated with the luteinizing hormone surge in ovariectomized pigs / Britt, J. H., Esbenshade, K. L., Ziecik, A. J. // Biology of reproduction. – 1991. –Vol. 45. –P. 478–485. DOI: 10.1095/biolreprod45.3.478.
42. Sekar N. Mechanisms underlying the steroidogenic synergy of insulin and luteinizing hormone in porcine granulosa cells:

joint amplification of pivotal sterol-regulatory genes encoding the low-density lipoprotein (LDL) receptor, steroidogenic acute regulatory (stAR) protein and cytochrome P450 side-chain cleavage (P450scc) enzyme / Sekar N., Garmey J. C., Veldhuis J. D. // Molecular and cellular endocrinology. –2000. –Vol. 159. –25-35. DOI: 10.1016/s0303-7207(99)00203-8

REFERENCES

1.Tabatabaei, S. Biochemical composition of blood plasma and follicular fluid in relation to follicular size in buffalo / Tabatabaei, S. and Mamoei, M. // Comparative clinical pathology. – 2011. –Vol. 20. –P. 441-445.

2.Carpintero, N. L. Follicular steroid hormones as markers of oocyte quality and oocyte development potential / Carpintero, N. L., Suárez, O. A., Mangas, C. C., Varea, C. G., Rioja, R. G. // Journal of human reproductive sciences. –2014. –Vol. 7. –P. 187-193.

3.Kayanja, M. Markers of oocyte quality to enhance human IVF outcomes: a bibliographic review / Kayanja, M., Tiri, M., Muyigo, M., Rujumba, D., Brian, N., Francis, K. // Open journal of internal medicine. –2024. –Vol. 14. –P. 102-121.

4.Uyar, A. Cumulus and granulosa cell markers of oocyte and embryo quality / Uyar, A., Torrealday, S., Seli, E. // Fertility and sterility. –2013. –Vol. 99. – P. 979-997.

5.Hassanein, E.M. Gonadotropin-releasing hormone (GnRH) and its agonists in bovine reproduction I: structure, biosynthesis, physiological effects, and its role in estrous synchronization / Hassanein, E.M., Szelényi, Z.; Szenci, O. // Animals. –2024. –Vol. 14. –№ 10.

6.Lamb, G.C. Reproductive Endocrinology and Hormonal Control of the Estrous Cycle / Lamb, G.C., Smith, M.F., Perry, G.A., Atkins, J.A., Risley, M.E., Busch, D.C., Patterson, D.J. // The Bovine Practitioner. –2010. –Vol. 44. –№ 1. –P. 18-26.

7.Costermans, N. Follicular fluid steroid profile in sows: relationship to follicle size and oocyte quality / Costermans, N., Soede, N., Tricht, F., Blokland, M., Kemp, B., Keijer, J., Teerds K. // Biology of reproduction. –2020. –Vol. 102. –P. 740-749.

8.Gregoraszczuk, E.L. In vitro effect of triiodothyronine on the cyclic amp, progesterone and testosterone level in porcine theca, granulosa and luteal cells / Gregoraszczuk, E.L., Galas, J. // Endocrine regulations. –1998. –Vol. 32. –P. 93-98.

9.Osteen K. G. Follicular fluid modulation of functional LH receptor induction in pig granulosa cells / Osteen K. G., Anderson L. D., Reichert L. E., Channing C. P. // Journal of reproduction and fertility. –1985. –Vol. 74. – P. 407-418.

10.Naskar S. Steroid and metabolic hormonal profile of porcine serum vis-à-vis ovarian follicular fluid / Naskar S., Borah S., Vashi Y., Thomas R., Sarma D. K., Goswami J., Dhara S. K. // Veterinary World. –2016. –Vol 9. –P. 1320-1323.

11.Sirotkin A. V. FSH, oxytocin and IGF-I regulate the expression of sirtuin 1 in porcine ovarian granulosa cells / Sirotkin A. V., Dekanová P., Harrath A. // Physiologycal research. –2020. –Vol.69. – P. 461-466.

12. Guthrie, H. D. Changes in plasma estrogen, luteinizing hormone, follicle-stimulating hormone and 13,14-dihydro-15-keto-prostaglandin F2 alpha during blockade of luteolysis in pigs after human chorionic gonadotropin treatment / Guthrie, H. D., Bolt, D. J. // Journal of animal science. –1983. –Vol. 57. – P. 993-1000.

13.Breen, S. M. The impact of dose of FSH (Folltropin) containing LH (Lutropin) on follicular development, estrus and ovulation responses in prepubertal gilts / Breen, S. M., Knox, R. V. // Animal Reproduction Science. –2012. –Vol. 132. –P. 193-200.

14.Lavoie, H. A. 123 Physiological regulation of ovarian follicle growth and maturation in the pig / Lavoie, H. A. // Journal of animal science. –2018. –Vol. 96. –P. 342–343.

15.Rosales M. Thyroid hormones in ovarian follicular fluid: Association with oocyte retrieval in women undergoing assisted fertilization procedures / Mónica Rosales, Myriam Nuñez, Andrea Abdala, Viviana Mesch, Gabriela Mendeluk // JBRA assisted reproduction. –2020. –Vol. 24. –P 245-249.

16.Cedíková, M. Comparison of prolactin,

free T3 and free T4 levels in the follicular fluid of infertile women and healthy fertile oocyte donors / Cedíková, M, Babuška, V, Rajdl, D., Zech, N.H., Kališ, V., Králíčková, M. // Ceska Gynekologie. –2012. –Vol. 77. – P. 471-476.

17.Kala, M. Role of cortisol and superoxide dismutase in psychological stress induced anovulation / Kala, M., Nivsarkar, M. // General and comparative endocrinology. – 2016. –Vol. 225. –P. 117–124.

18.Nakanishi T. Cortisol induces follicle regression, while FSH prevents cortisol-induced follicle regression in pigs / Nakanishi T., Okamoto A., Ikeda M., Tate S., Sumita M., Kawamoto R., Tonai S., Lee J.Y., Shimada M., Yamashita Y. // Molecular Human Reproduction. –2021. –Vol. 27.

19.Stimson, R. H. Acute physiological effects of glucocorticoids on fuel metabolism in humans are permissive but not direct / Stimson, R. H., Anderson, A. J., Ramage, L. E., Macfarlane, D. P., de Beaux, A. C., Mole, D. J, Andrew, R., Walker, B. R. // Diabetes, obesity and metabolism. –2017. – Vol. 19. –P. 883-891.

20.Paolo V. Thyroid hormones T3 and T4 regulate human luteinized granulosa cells, counteracting apoptosis and promoting cell survival / Paolo V., Mangialardo C., Zacà C., Barberi M., Sereni E., Borini A., Centanni M., Coticchio G., Verga-Falzacappa C., Canipari R. // Journal of endocrinological investigation. –2020. –Vol. 43. –P. 821-831.

21.Liu J. Growth and the initiation of steroidogenesis in porcine follicles are associated with unique patterns of gene expression for individual components of the ovarian insulin-like growth factor system / Liu J., Koenigsfeld A. T., Cantley T. C., Boyd C. K., Kobayashi Y., Lucy M. C.// Biology of Reproduction. –2000. –Vol. 63. –P. 942–952.

22.Marco F. The role of luteinizing hormone in folliculogenesis and ovulation induction / Marco F. // Fertility and sterility. –1999. – Vol. 71. –P. 405-414.

23.Costermans, N. G. J., Soede, N. M., Tricht, F., Blokland, M., Kemp, B., Keijer, J., & Teerds, K. J. Follicular fluid steroid profile in sows: relationship to follicle size and oocyte quality / Costermans, N. G. J., Soede, N. M., Tricht, F., Blokland, M., Kemp, B., Keijer, J., Teerds, K. J. // Biology of Reproduction. –2019. –Vol. 102. –P. 740-749.

24.Lin, P. Effects of follicular size and FSH on granulosa cell apoptosis and atresia in porcine antral follicles / Lin, P., & Rui, R. // Molecular reproduction and development. – 2010. –Vol. 77. – P. 670–678.

25.Kuzmina, T.I. The role of highly dispersed silica nanoparticles in the realization of the effects of granulosa on the maturation and fertilization competence of Sus scrofa domesticus oocytes / Kuzmina, T.I., Chistyakova, I.V., Prituzhalova, A.O., Tatarskaya, D.N. // Vavilov journal of genetics and breeding. –2022. –Vol 26. –P. 234-239. (In Russ.)

26.Zhang K-H. Follicle stimulating hormone controls granulosa cell glutamine synthesis to regulate ovulation / Zhang K-H., Zhang F-F., Zhang Z-L., Fang K-F., Sun W-X, Kong N., Wu M., Liu H-O, Liu Y., Li Z., Cai Q-Q., Wang Y., Wei Q-W., Lin P-C, Lin Y., Xu W., Xu C-J, Yuan Y-Y., Zhao S-M. // Protein & cell. –2024. –Vol. 15. –P. 512–529.

27.Liao, B. Effects of androgen excess-related metabolic disturbances on granulosa cell function and follicular development / Liao, B., Qi, X., Yun, C., Qiao, J., Pang, Y. // Frontiers in endocrinology (Lausanne). –2022. –Vol. 13.

28.Morimoto A. Granulosa cell metabolism at ovulation correlates with oocyte competence and is disrupted by obesity and aging / Morimoto A., Rose R. D., Smith K. M., Dinh D. T., Umehara T., Winstanley Y. E., Shibahara H., Russell D. L., Robker R. L. // Human Reproduction. –2024. –Vol. 39. –P. 2053–2066.

29.Arroyo A. Luteinizing Hormone Action in Human Oocyte Maturation and Quality: Signaling Pathways, Regulation, and Clinical Impact / Arroyo A., Kim B., Yeh J. // Reproductive Sciences. –2020. –Vol. 27. – P. 1223-1252.

30.He, H. Effects of prolactin on the proliferation and hormone secretion of ovine granulosa cells in vitro / He, H., Su, X., Yang,

H., Zhang, Y., Duan, C., Yang, R., Xie, F., Liu, Y., Liu, W. // Animal Bioscience. – 2024. –Vol. 37. –P. 1712-1725.
31.Downs S. Fatty acid oxidation and meiotic resumption in mouse oocytes / Downs S., Mosey J., Klinge J. // Molecular reproduction and development. –2009. –Vol. 76. –P. 844-853.
32.Simerman A. A. Intrafollicular cortisol levels inversely correlate with cumulus cell lipid content as a possible energy source during oocyte meiotic resumption in women undergoing ovarian stimulation for in vitro fertilization / Simerman A. A., Hill D. L., Grogan T. R., Elashoff D., Clarke N. J., Goldstein E. H., Manrriquez A. N., Chazenbalk G. D., Dumesic D. A. // Fertility and sterility. –2015. –Vol. 103. – P. 249-57.
33.Effects of cortisol on granulosa cell function during follicle maturation in the horse / Abbasi K., Bollwein S., Kowalewski M. P., Scarlet D. // Journal of equine veterinary science. –2023. –Vol. 125.
34.Arnold A. Primary hyperparathyroidism: molecular genetic insights and clinical implications / Arnold A. // Endocrine abstracts. – 2017.
35.Liu, J. Role of CYP51 in the Regulation of T3 and FSH-Induced Steroidogenesis in Female Mice / Liu, J., Tian, Y., Ding, Y., Heng, D., Xu, K., Liu, W., Zhang, C. // Endocrinology. –2017. –Vol. 158. –P. 3974-3987.
36.Spicer L. J. Effects of thyroid hormones on bovine granulosa and thecal cell function in vitro: dependence on insulin and gonadotropins / Spicer L. J., Alonso J., Chamberlain C. S. // Journal of dairy science. –2001. – Vol. 84. –P. 1069-1076.
37.Paes V. M. Role of thyroid hormones (triiodothyronine and thyroxine) in the regulation of mammalian folliculogenesis / Paes V. M., Vieira L. A., Figueiredo J. R. // Revista portuguesa de ciencian veterinarias. – 2017. –Vol. 112. –P. 23-31.
38.Montvila, E., Effects of thyroid hormones on the functional state of bovine granulosa cells in vitro // Montvila, E., Mityashova, O., Lebedeva, I. Genetics and breeding of animals. – 2022. – Vol. (4). – P. 42-48. (In Russ.)
39.Noguchi, M. 2010. Peripheral concentrations of inhibin A, ovarian steroids, and gonadotropins associated with follicular development throughout the estrous cycle of the sow / Noguchi, M., K. Yoshioka, S. Itoh, C. Suzuki, S. Arai, Y. Wada, Y. Hasegawa, and H. Kaneko. // Reproduction. –Vol. 139. –P. 153-161.
40.Liu, J. Growth and the initiation of steroidogenesis in porcine follicles are associated with unique patterns of gene expression for individual components of the ovarian insulin-like growth factor system / Liu, J., Koenigsfeld, A., Cantley, T., Boyd, C., Kobayashi, Y., Lucy, M. // Biology of reproduction. –2000. –Vol. 63. –P. 942–952.
41.Britt, J. H. Roles of estradiol and gonadotropin-releasing hormone in controlling negative and positive feedback associated with the luteinizing hormone surge in ovariectomized pigs / Britt, J. H., Esbenshade, K. L., Ziecik, A. J. // Biology of reproduction. – 1991. –Vol. 45. –P. 478–485.
42.Sekar N. Mechanisms underlying the steroidogenic synergy of insulin and luteinizing hormone in porcine granulosa cells: joint amplification of pivotal sterol-regulatory genes encoding the low-density lipoprotein (LDL) receptor, steroidogenic acute regulatory (stAR) protein and cytochrome P450 side-chain cleavage (P450scc) enzyme / Sekar N., Garmey J. C., Veldhuis J. D. // Molecular and cellular endocrinology. –2000. –Vol. 159. –25-35.

УДК: 636.082.12:636.32/.38.082.13
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.4.438

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ТАРГЕТНОГО СЕКВЕНИРОВАНИЯ ДЛЯ ГЕНОТИПИРОВАНИЯ ОВЕЦ ПОРОДЫ МАНЫЧСКИЙ МЕРИНОС

Криворучко А.Ю.[1,2] **–** д-р биол. наук, гл. науч. сотр. (ORCID 0000-0003-4536-1814); **Каниболоцкая А.А.*** **–** канд. биол. наук, ст. науч. сотр. (ORCID 0000-0003-3003-4175); **Скорых Л.Н. –** д-р биол. наук, гл. науч. сотр. (ORCID 0000-0002-6090-4453); **Сафарян Е.Ю.**[1,2] **–** канд. биол. наук, науч. сотр. (ORCID 0000-0002-2049-842X); **Криворучко О.Н. –** аспирант (ORCID 0009-0005-2051-007X).

ФГБНУ «Северо-Кавказский Федеральный научный аграрный центр»,
ФГАОУ ВО «Северо-Кавказский федеральный университет»

*dorohin.2012@inbox.ru

Ключевые слова: *панель локусов, секвенирование, AgriSeq, SNP, генотип, частота встречаемости, овцы, манычский меринос*

Keywords: *locus panel, sequencing, AgriSeq, SNP, genotype, frequency of occurrence, sheep, Manych merino*

Благодарности: работа выполнена при поддержке Минобрнауки РФ в рамках Государственного задания ФГБНУ «Северо-Кавказский Федеральный научный аграрный центр» (тема № FNMU-2022-0009).

Поступила: 21.10.2024 **Принята к публикации: 02.12.2024**
Опубликована онлайн:16.12.2024

РЕФЕРАТ

Основное применение генетических данных – оценка достоверности происхождения, поскольку ошибки в родословных негативно влияют на темпы генетического прироста. Изначально, оценка родословной племенного поголовья скота осуществлялась с помощью различных ДНК-технологий: от групп крови, затем с использованием микросателлитных маркеров, однако, сейчас все больше изучается возможность использования на практике однонуклеотидных полиморфизмов (SNP), из-за их возможности повысить точность проводимых генетических исследований. Одной из таких систем генотипирования являются панели AgriSeq (технология таргетного секвенирования), которые позволяют анализировать конкретные участки генома (локусы), ассоциированные с множеством признаков у животных. Цель работы: изучить эффективность выявления и распространенности локусов из предложенного набора SNP при обследовании новых поколений овец породы манычский меринос. Материалом для исследования послужили данные таргетного секвенирования геномов овец российских пород по сформированному набору локусов с целью выявления однонуклеотидных полиморфизмов. Объектом исследования являлись бараны 2021 года рождения в возрасте 12 месяцев (отбор образцов ДНК проводился в 2022 году) породы манычский меринос. Предложенная нами панель локусов, модифицированная после валидации на следующем поколении животных, содержит 389 замен, пригодные для генотипирования секвенированием и 242 полиморфизмов, ассоциированных

с мясной продуктивностью животных. Полученные в результате исследований показатели частоты встречаемости замен в группе выбранных животных позволяют сделать заключение, что выбранные нами полиморфизмы находятся в локусах, не подверженных существенным перестройкам в течение нескольких поколений и могут быть информативны в течение достаточно длительного времени. Проведенный анализ позволяет сделать заключение, что после модификации набора локусов панель для генотипирования секвенированием у манычского мериноса показала высокую эффективность выявления всех вариантов генотипов.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Обычная оценка достоверности происхождения у многих видов животных, в том числе у крупного и мелкого рогатого скота, лошадей, свиней и даже голубей в настоящее время выполняется с помощью генотипирования по микросателлитным маркерам (короткие тандемные повторы (STR) [1;2;3]. Такой метод тестирования позволяет высокодостоверно определить потомков и родителей, за счет того, что микросателлитные локусы высокополиморфны и очень редко изменяются при передаче наследственной информации. Метод хорошо валидирован практически на всех видах сельскохозяйственных животных, достаточно дешевый при массовом использовании, но имеет свои ограничения, связанные с ограниченным перечнем одновременно оцениваемых локусов [4].

Переход на SNP для проверки и идентификации достоверности происхождения сельскохозяйственных животных вызвал большой интерес [1;5] и осуществляется для многих видов животных. SNP хорошо подходят для использования в качестве генетических маркеров по нескольким причинам. SNP в изобилии встречаются в геноме, как правило, стабильны в процессе эволюции и имеют низкую частоту мутаций [6]. Совершенствование технологий секвенирования нового поколения позволили добиться существенного удешевления стоимости платформ для генотипирования, что способствует роботизированной автоматизации, и может повысить эффективность и точность тестирования без дополнительных затрат. Одним из важных преимуществ генотипирования SNP по сравнению с STR-маркерами является то, что панели для оценки достоверности происхождения можно комбинировать с маркерами генетических аномалий и продуктивных признаков для создания более эффективных и надежных платформ генотипирования [7].

Для генотипирования секвенированием в практическом животноводстве, в том числе у крупного рогатого скота и свиней, имеется ряд геномных панелей и специализированного программного обеспечения для автоматизации пробоподготовки и учета результатов после получения данных по прочтениям геномных библиотек. Одной из таких систем являются панели AgriSeq (технология таргетного секвенирования), которые позволяют анализировать конкретные участки генома (локусы), ассоциированные с хозяйственно ценными признаками, генетическими аномалиями и достоверностью происхождения, без необходимости секвенирования всего генома целиком [8]. Это существенно упрощает выявление маркеров и ускоряет интерпретацию полученных данных. Однако, в овцеводстве такой метод еще не нашел широко распространения за счет того, что необходимо было провести предварительный отбор локусов, пригодных для генотипирования секвенированием, позволяющих проводить одновременную оценку достоверности происхождения и хозяйственно полезных признаков, для дальнейшего использования в селекционной работе. Ранее нами была разработана панель локусов для генотипирования секвенированием овец породы джалгинский меринос на основе данных, полученных при помощи ДНК-биочипов Illumina и проведенного полногеномного поиска ассоциаций. В результате был получен набор из 765 локусов, включающий как наиболее распространенные варианты 352 SNP полиморфиз-

мов для оценки достоверности происхождения, так и 413 SNP, достоверно связанных с параметрами мясной продуктивности. Поиск которых осуществлялся с использованием международных баз геномных данных [9, 10, 11]. Цель настоящего исследования заключается в том, чтобы изучить эффективность выявления и распространенности локусов из предложенного набора SNP при обследовании новых поколений овец породы манычский меринос.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS Исследования проводились на базе лабораторий ФГАОУ ВО «Северо-Кавказский федеральный университет», Всероссийского научно-исследовательского института овцеводства и козоводства (ВНИИОК) – филиала ФГБНУ «Северо-Кавказский Федеральный научный аграрный центр» и ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный аграрный университет». Материалом для исследования послужили данные таргетного секвенирования геномов овец российских пород по сформированному набору локусов с целью выявления однонуклеотидных полиморфизмов.

Объектом исследования на первом этапе генотипирования секвенированием являлись бараны 2021 года рождения в возрасте 12 месяцев (отбор образцов ДНК проводился в 2022 году) породы манычский меринос. Всего было генотипировано 55 баранов. Выбранные животные принадлежали не менее, чем к трем неродственным селекционным линиям, внутри линий степень родства не превышала 50% по отцу. Животные содержались в одинаковых оптимальных условиях в племенных хозяйствах Ставропольского края. Все животные были клинически здоровы и получали полноценный смешанный рацион.

Объектом исследования второго этапа генотипирования секвенированием по модифицированному набору локусов стали годовалые бараны породы манычский меринос 2022 года рождения (отбор образцов ДНК выполнен в 2023 году). Количество образцов составило 55 единиц. Критерии отбора были те же, что и на предыдущем этапе исследования.

Генотипирование секвенированием осуществлялось в два этапа. На первом этапе генотипировали животных 2021 года рождения, был проведен анализ частоты встречаемости SNP в изучаемых локусах генома и сделаны выводы о дальнейшем использовании отдельных полиморфизмов для генотипирования секвенированием в рамках предложенной панели. Сравнение частоты встречаемости для оценки стабильности выявления отдельных SNP в целях генотипирования животных проводилось с ранее полученными данными, полученными путем генотипирования на чипах Ovine Infinium HD BeadChip 600K (Illumina Inc. CA, США). После этого для дальнейшего исследования на панели локусов были исключены замены, показавшие снижение частоты встречаемости хотя бы одного из генотипов – дикого гомозиготного, гетерозиготного или мутантного гомозиготного. Доработанная панель локусов использовалась для генотипирования животных 2022 года рождения, на втором этапе эксперимента. Для выявленных полиморфизмов в образцах ДНК баранов следующего поколения также была проведена оценка частоты встречаемости генотипов и сделан окончательный вывод о возможности их использования для дальнейшей практической работы в области молекулярно-генетической экспертизы.

Подготовка образцов ДНК и генотипирование секвенированием нового поколения

Геномную ДНК выделяли из образцов цельной крови, взятой в асептических условиях из яремной вены, с помощью набора Pure Link Genomic DNA MiniKit (Invitrogen Life Technologies, США) в соответствии с протоколом производителя. Количественный показатель содержания ДНК в выделенной пробе определяли с использованием NanoDrop OneC (ThermoFisher, США). Подготовку библиотек ДНК проводили с использованием праймеров и реагентов, подобранных на основании нашей заявки для кастомиза-

ции панели локусов в среде AgriSeq, в соответствии с рекомендациями производителя (Thermo Fisher Scientific, США). Генотипирование секвенированием выполняли с использованием высокопроизводительного секвенатора Ion GeneStudio S5 (Thermo Fisher Scientific, США) в соответствии с протоколом производителя. Первичную обработку результатов генотипирования проводили с помощью программного обеспечения Torrent SuiteTM и Ion ReporterTM (Thermo Fisher Scientific, США).

Контроль качества генотипирования. Контроль качества генотипирования проводился с использованием программного обеспечения Torrent SuiteTM и PLINK V.1.07. Длина 97% прямых и обратных ридов находилась в пределах 150-152 п.н. Для 64 % прямых ридов и 58 % обратных ридов было зарегистрировано не менее, чем 36-кратное прочтение. Количество прочтений с кратностью меньше 30 составило около 2 %. Содержание GC в среднем составило 44,6 %, при диапазоне для большинства ридов в пределах от 18 до 75 %. В дальнейшую обработку данных были включены образцы с показателем количества выявленных однонуклеотидных полиморфизмов больше 0.95 (Call Rate). Из анализа были исключены однонуклеотидные полиморфизмы с частотой минорных аллелей (MAF - Minor Allele Frequency) меньше 0,01, частотой потерянных генотипов (missing genotype) больше 0,1. В качестве порогового значения по критерию Харди-Вайнберга (Hardy–Weinberg equilibrium) использовалось значение p=0,00001.

Генетический и статистический анализ. Анализ частоты встречаемости SNP по результатам генотипирования секвенирование проводили с использованием электронных таблиц Excel 2021 (Microsoft, США). Отдельно изучались частоты встречаемости полиморфизмов, используемых для подтверждения достоверности происхождения и замен, связанных с продуктивными качествами животных в каждой из исследуемых пород. Визуализацию и построение графиков производили с применением пакета статистической обработки в Excel 2021 (Microsoft, США). Анализируемые полиморфизмы были представлены биаллельными SNP, аллелям присвоены обозначения A и B, в соответствии с проведенным нами первичным анализом и картированием на геном по наименованиям на чипе Ovine Infinium HD BeadChip 600K (Illumina Inc. CA, США). Для картирования и номенклатурного наименования SNP использовали сборку генома Ovis_Aries_3.1. Для изучения биологических функций всех аннотированных генов и связанных с ними признаков мы использовали базы данных NCBI Gene (RRID: SCR_002473), Ensembl release version 110 (RRID: SCR_002344; [11]) и UniProt (RRID: SCR_002380; [12]).

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Генотипирование секвенированием выполнялось по набору локусов, включающему 242 полиморфизма, влияющих на продуктивные качества у манычского мериноса и 515 замен, используемых для подтверждения достоверности происхождения. Кроме этого, для генотипирования использовались общие для всех пород полиморфизмы.

Результаты генотипирования секвенированием по локусам, используемым для подтверждения достоверности происхождения, показали, что средняя частота встречаемости диких гомозиготных генотипов была близкой к оптимальному значению и составляла 0,275 (таблица 1).

Диапазон значений частоты встречаемости диких гомозигот у манычского мериноса находился в пределах от 0,221 до 0,354. При анализе распределения диких гомозиготных генотипов по количеству в зависимости от частоты встречаемости было обнаружено, что наибольшее количество замен имело частоту около 0,243 (рисунок 1).

Меньше всего полиморфизмов имело частоту встречаемости возле верхней границы диапазона – около 0,35. Гетерозиготные генотипы по изучаемым заменам у манычского мериноса показали среднюю частоту встречаемости на 25 %

Таблица 1 – Параметры генотипируемых для подтверждения достоверности происхождения SNP у баранов породы манычский меринос

Показатель	Среднее	Ошибка среднего	Минимальное значение	Максимальное значение
Частота встречаемости диких гомозигот	0,275	0,034	0,221	0,354
Частота встречаемости гетерозигот	0,382	0,042	0,312	0,465
Частота встречаемости мутантных гомозигот	0,354	0,039	0,261	0,471
Частота дикого аллеля	0,59	0,07	0,28	0,71
Частота мутантого аллеля	0,41	0,06	0,29	0,72

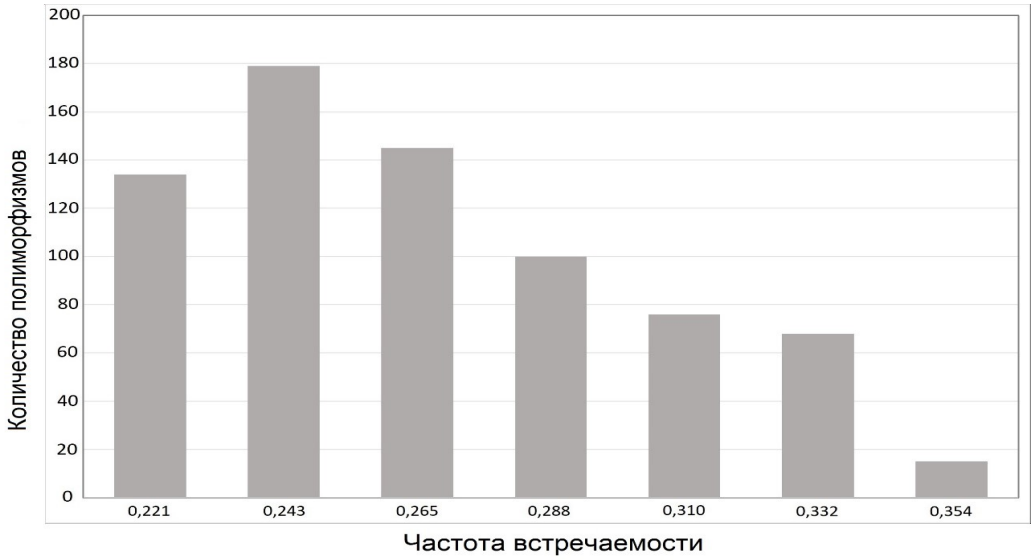


Рисунок 1 – Количество SNP с разной частотой встречаемости у баранов породы манычский меринос. Дикие гомозиготные генотипы.

больше оптимального значения, она составила 0,38. При этом, только замены у нижней границы диапазона частот встречаемости обнаруживали показатели, приближающиеся к оптимуму – около 0,31. Максимальные значения частоты встречаемости были на 50 % больше необходимых, доходя до 0,47. Наибольшее число полиморфизмов в гетерозиготном варианте имели частоту встречаемости около 0,414 (рисунок 2). Меньше всего замен мы выявили у верхней границы диапазона 0,465.

Мутантные гомозиготные варианты полиморфизмов из нашего набора локусов для генотипирования секвенированием имели среднюю частоту встречаемости 0,354. Это не так сильно, как у гетерозиготных вариантов, но все же отличалось от оптимального показателя для генотипирования. Разброс индивидуальных частот встречаемости полиморфизмов был выше, чем у гетерозигот. Минимальный показатель составил 0,26, а максимальный – 0,47. Больше всего замен имели частоту встречаемости мутантных го-

мозиготных генотипов около 0,296 и 0,331 (рисунок 3). Наименьшее число полиморфизмов имело частоту встречаемости в пределах 0,436–0,471.

Средние показатели частоты встречаемости дикого и мутантного аллелей в исследуемой популяции были близкими по значению, что указывает на удовлетворительное для генотипирования по выбранным локусам распределение аллелей у животных по вариантам изучаемых SNP (таблица 1).

При генотипировании секвенированием по локусам, ассоциированным с мясной продуктивностью у манычских мериносов, было обнаружено, что средняя частота встречаемости диких гомозиготных генотипов была близка к оптимальному параметру для генотипирования и составляла 0,331 (таблица 2).

Минимальный показатель частоты встречаемости этих генотипов составлял 0,206, а максимальная зафиксированная частота встречаемости была 0,47. Наибольшее число замен, имеющих дикий гомозиготный генотип, показывали частоту встречаемости около 0,25 (рисунок 4).

Меньше всего полиморфизмов имели частоту встречаемости у верхней границы диапазона в 0,47. Гетерозиготные варианты исследуемых замен показали среднюю частоту встречаемости, близкую к параметрам диких гомозигот. Она составила 0,316 при разбросе показателей для индивидуальных полиморфизмов от 0,197 до 0,411. Анализ распределения замен по количеству в зависимости от частоты встречаемости выявил наибольшее число замен с частотой встречаемости около 0,304, а наименьшее – 0,197 и 0,375 (рисунок 5).

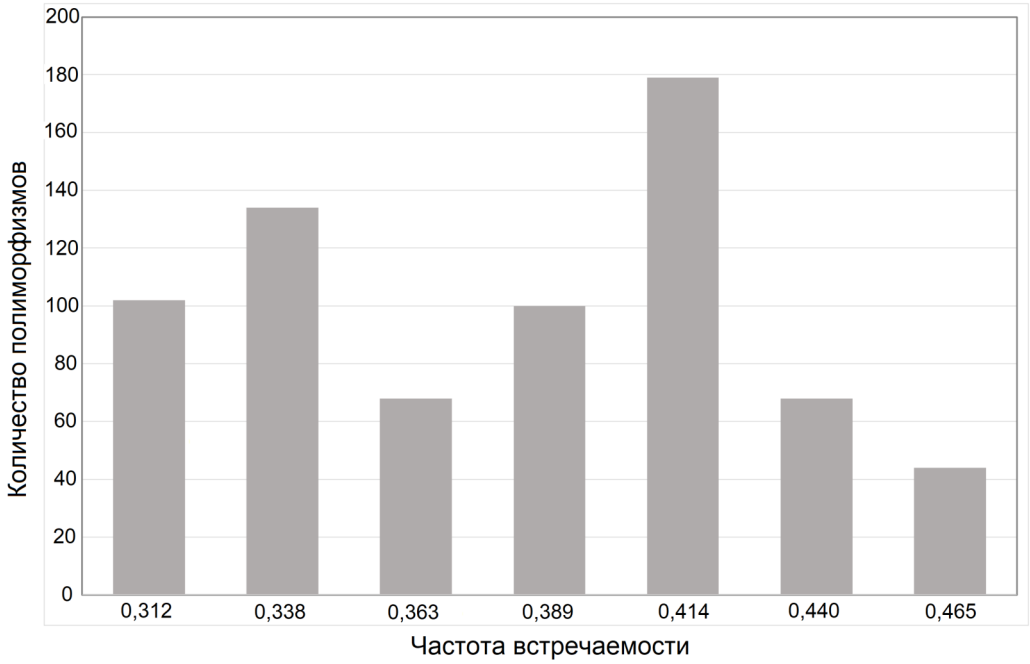


Рисунок 2 – Количество SNP с разной частотой встречаемости у баранов породы манычский меринос. Гетерозиготные генотипы.

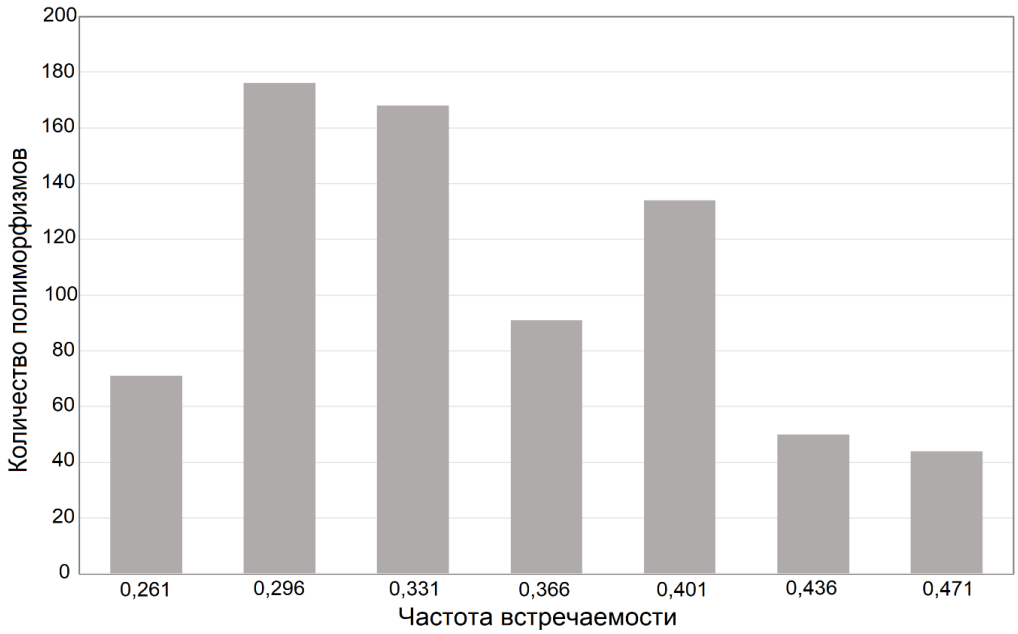


Рисунок 3 – Количество SNP с разной частотой встречаемости у баранов породы манычский меринос. Мутантные гомозиготные генотипы.

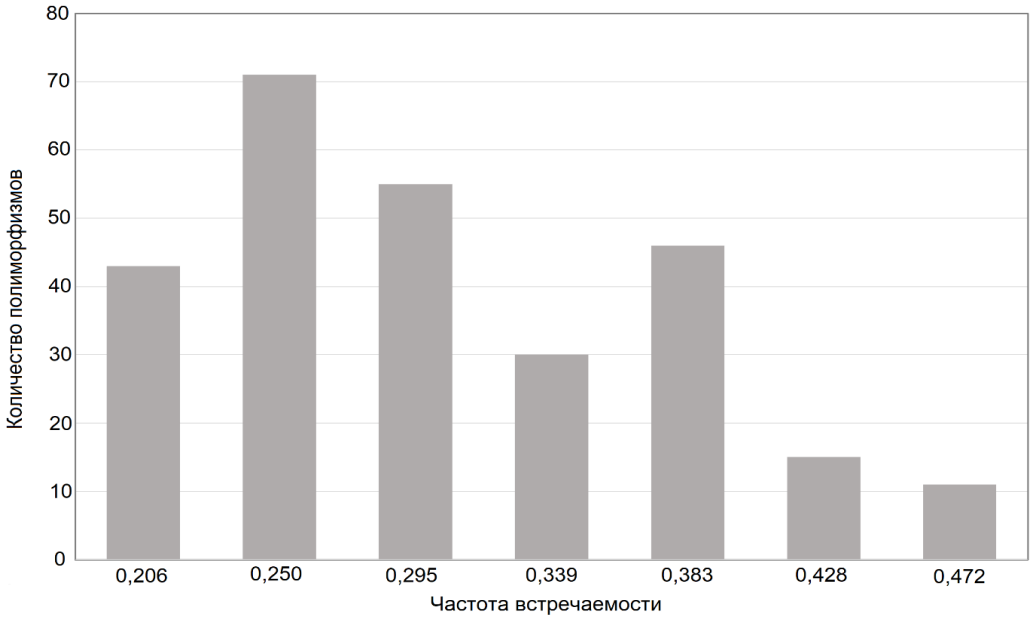


Рисунок 4 – Количество связанных с мясной продуктивностью SNP с разной частотой встречаемости у баранов породы манычский меринос. Дикие гомозиготные генотипы.

Таблица 2 – Параметры генотипируемых для оценки мясной продуктивности SNP у баранов породы манычский меринос

Показатель	Среднее	Ошибка среднего	Минимальное значение	Максимальное значение
Частота встречаемости диких гомозигот	0,331	0,021	0,206	0,472
Частота встречаемости гетерозигот	0,316	0,043	0,197	0,411
Частота встречаемости мутантных гомозигот	0,248	0,051	0,072	0,351
Частота дикого аллеля	0,418	0,07	0,24	0,71
Частота мутантого аллеля	0,582	0,09	0,29	0,76

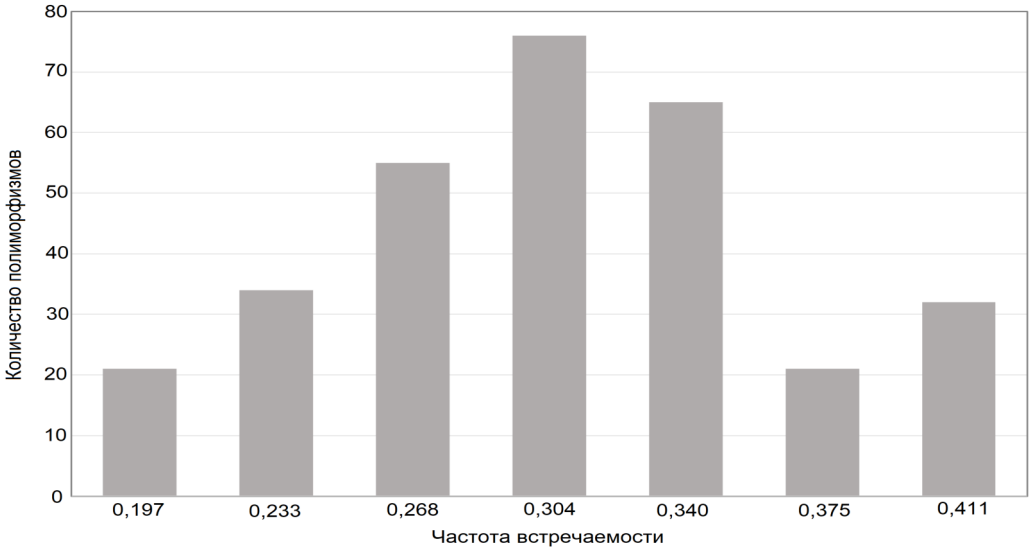


Рисунок 5 – Количество связанных с мясной продуктивностью SNP с разной частотой встречаемости у баранов породы манычский меринос. Гетерозиготные генотипы.

Таблица 3 – Изменение частоты встречаемости SNP у баранов породы манычский меринос по сравнению с данными генотипирования на ДНК-биочипах

Показатель	Среднее	Ошибка среднего	Минимальное значение	Максимальное значение
Изменение частоты встречаемости диких гомозигот, %	9,214	0,62	1,921	21,618
Изменение частоты встречаемости гетерозигот, %	11,433	1,02	0,911	22,149
Изменение частоты встречаемости мутантных гомозигот, %	12,306	1,55	0,381	41,074

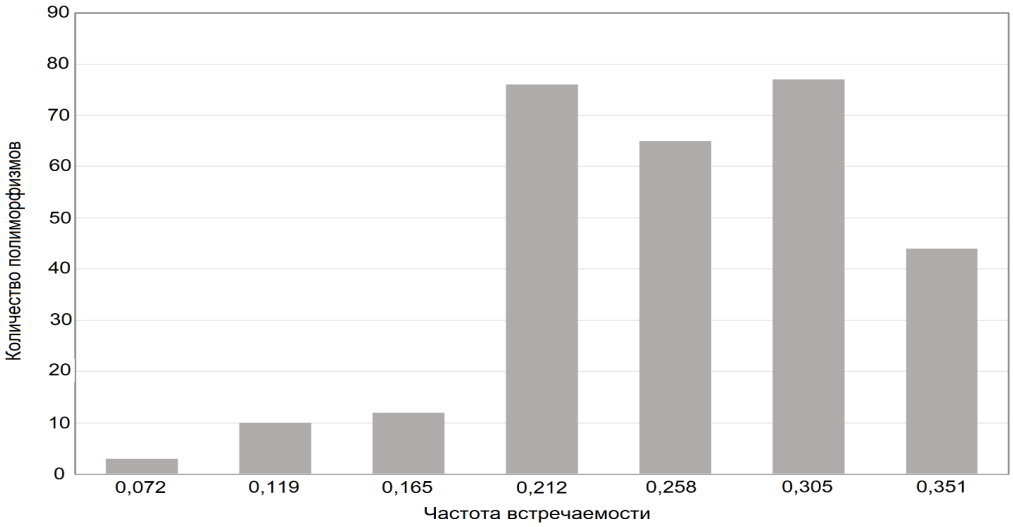


Рисунок 6 – Количество связанных с мясной продуктивностью SNP с разной частотой встречаемости у баранов породы манычский меринос. Мутантные гомозиготные генотипы.

Средняя частота встречаемости мутантных гомозигот в нашем исследовании была относительно низкой и составляла 0,248. При этом был зафиксирован достаточной большой разброс в показателях для отдельных замен. Минимальным значением было 0,072, а максимум находился на уровне 0,35. Больше всего у манычского мериноса мутантных гомозиготных генотипов было обнаружено с частотой встречаемости около 0,212 и 0,305 (рисунок 6). Минимальное количество полиморфизмов выявлялись у нижней границы диапазона с частотой 0,07 и 0,12.

Изучение различий в частоте встречаемости полиморфизмов при генотипировании секвенированием и предшествующим генотипированием с использованием ДНК-биочипов показало, что дикие гомозиготные варианты замен в среднем поменяли частоту встречаемости на 9% (таблица 3).

У отдельных полиморфизмов этот показатель составлял от 1,9 % до 21,6 %. Почти такое же изменение частоты встречаемости в среднем показали и гетерозиготные варианты изучаемых замен. Оно составило в среднем 11,4 % с изменениями от 0,9 % (почти полное отсутствие изменения частоты встречаемости) до 22 % у показавших максимум изменений. Аналогичный порядок изменений частоты встречаемости показали и мутантные гомозиготы. В среднем этот показатель составил 12,3 % и изменялся у отдельных замен от 0,38 % до 41,1 %.

Полученные результаты по изменению частоты встречаемости SNP могут связаны с продолжающейся селекционной работой в породе и дрейфом генов, который за несколько лет, прошедших после получения нами данных с ДНК-биочипов, привел к некоторому изменению частоты встречаемости выбранных нами для генотипирования локусов.

Корректировка перечня локусов для генотипирования секвенированием у овец породы манычский меринос и валидация новой панели у поколения 2022 года рождения.

Дальнейшее редактирование набора локусов в составе панели генотипирования секвенированием для манычских мериносов затронуло только замены, используемые для оценки достоверности происхождения. Это связано с рядом причин, во-первых, SNP, ассоциированные с продуктивными признаками у животных

встречаются с дисбалансом частоты минорных и главных аллелей, что допустимо в маркерной селекции, где закрепление одной из аллелей с большой частотой встречаемости является основной целью. Это позволяет использовать разработанную нами панель в селекционно–племенной работе для контроля маркеров продуктивных признаков.

Редактирование локусов для панели генотипирования включается в себя этап отбора полиморфизмов, имеющих наименьшую и наивысшую частоту встречаемости гомо- или гетерозиготного генотипа среди всех образцов и их исключению из дальнейшей работы, для оставшихся замен отобрать все с частотой встречаемости около 0,3 являющейся оптимальным уровнем для каждого из вариантов генотипов полиморфизма. В таком случае, каждый вариант генотипа по конкретной замене встречается приблизительно одинаково часто и исключены случаи, когда будет обнаруживаться только один вариант замены, так как тогда генотипирование с целью подтверждения достоверности происхождения по этой замене будет невозможно. В результате проведенного редактирования панели было исключено 126 локусов для генотипирования секвенированием овец породы манычский меринос. Для дальнейшей работы использовалось 389 замены.

Изучение результатов генотипирования секвенированием после модификации набора локусов показало, что средние частоты встречаемости всех генотипов были близки к оптимальным значениям для оценки генотипа животных (таблица 4).

Так, дикие гомозиготные варианты замен имели среднюю частоту встречаемости 0,298, то есть практически 0,3 – показатель, являющийся наиболее соответствующим требованиям по частоте встречаемости генотипов. Минимальное и максимальное значение частот встречаемости полиморфизмов с изучаемым вариантом генотипа составило 0,261 и 0,332, что также не сильно отличается от среднего параметра по выборке. Гетерозиготные генотипы имели среднюю частоту встречаемости 0,35 при минимальных значениях на уровне 0,32 и максимуме при 0,398. Эти параметры укладываются в показатели для гетерозиготных генотипов, используемых при выборе замен для генотипирования еще на этапе изучения данных с ДНК-биочипов. Параметры средней частоты встречаемости мутантных гомозиготных вариантов замен у манычских мериносов находились на уровне 0,308 – оптимального уровня для оценки качества генотипирования по набору замен. Минимальная частота встречаемости для замен в этой группе составляла 0,27, а максимальная – 0,37.

Изучение различий в частоте встречаемости полиморфизмов у баранов породы манычский меринос по сравнению с данными генотипирования прошлого поколения показало, что дикие гомозиготные варианты замен в среднем поменяли частоту встречаемости на 7 % (таблица 5).

Таблица 4 – Параметры генотипируемых для подтверждения достоверности происхождения SNP у баранов породы манычский меринос 2022 г.р.

Показатель	Среднее	Ошибка среднего	Минимальное значение	Максимальное значение
Частота встречаемости диких гомозигот	0,298	0,024	0,261	0,332
Частота встречаемости гетерозигот	0,346	0,037	0,318	0,398
Частота встречаемости мутантных гомозигот	0,308	0,024	0,273	0,371
Частота дикого аллеля	0,57	0,08	0,35	0,69
Частота мутантого аллеля	0,43	0,04	0,31	0,65

Таблица 5 – Изменение частоты встречаемости SNP у баранов породы манычский меринос по сравнению с данными генотипирования поколения 2021 г.р.

Показатель	Среднее	Ошибка среднего	Минимальное значение	Максимальное значение
Изменение частоты встречаемости диких гомозигот, %	7,13	0,51	1,154	14,451
Изменение частоты встречаемости гетерозигот, %	8,91	1,13	1,228	19,731
Изменение частоты встречаемости мутантных гомозигот, %	11,94	1,32	0,451	31,349

Таблица 6 – Параметры генотипируемых для оценки мясной продуктивности SNP у баранов породы манычский меринос 2022 г.р.

Показатель	Среднее	Ошибка среднего	Минимальное значение	Максимальное значение
Частота встречаемости диких гомозигот	0,304	0,016	0,239	0,417
Частота встречаемости гетерозигот	0,341	0,032	0,227	0,384
Частота встречаемости мутантных гомозигот	0,287	0,044	0,162	0,369
Частота дикого аллеля	0,43	0,07	0,29	0,68
Частота мутантого аллеля	0,57	0,09	0,32	0,71

У отдельных полиморфизмов этот показатель составлял от 1,1 % до 14,4 %. Изменение частоты встречаемости гетерозигот в среднем составило 8,91 % с изменениями от 1,2 % до 19 % у показавших максимум изменений. Частота встречаемости мутантных гомозигот составила почти 12 % и изменялась от 0,45 до 31 %.

Анализ показателей генотипирования по полиморфизмам, связанным с показателями мясной продуктивности у манычских мериносов 2022 года рождения, показал, что средняя частота встречаемости замен с диким гомозиготным генотипом составила 0,3, что не отличается от показателей генотипирования на предыдущем этапе исследования (табл. 6).

Средняя частота встречаемости гетерозиготных генотипов по заменам увеличилась с 0,316 до 0,341. Диапазон между минимальной и максимальной частотой встречаемости снизился незначительно с 0,214 до 0,207. Мутантные гомозиготы встречались практически с той же частотой, что и у животных 2021 года рождения, с небольшим снижением с 0,279 до 0,207. Средняя частота каждого из аллелей также почти не изменилась, они встречались почти с одинаковой частотой около 0,5. Минимальные и максимальные показатели частоты аллелей также были похожи на результаты для животных на предыдущем этапе генотипирования.

Ранее, с использованием данных ДНК-биочипов высокой плотности нами ранее была подготовлена панель локусов, применимых при генотипировании манычских мериносов. Выбранные полиморфизмы разделили на группы: в первую отобрали замены, достоверно не ассоциированные с продуктивными признаками, но встречающиеся с примерно равной частотой гомо- и гетерозиготных генотипов, равномерно распределенные по хромосомам, а во вторую группу полиморфизмы имеющую связь с хозяйственно полезными признаками. Такие генотипы возможно использовать при определении достоверности происхождения животных, так как по их наличию у обоих родителей,

можно сделать вывод о формировании генотипа у потомка. Полиморфизмы второй группы выявили самостоятельно в ходе предыдущих исследований на основе полногеномного поиска ассоциаций с использованием тех же ДНК-биочипов.

Настоящее исследование было посвящено оценке результатов генотипирования манычских мериносов с использованием выбранной панели локусов для оценки изменения их частоты встречаемости, по сравнению с полученными нами ранее данными на ДНК-биочипах. Необходимо было установить, какие из полиморфизмов обнаруживаются у животных следующего поколения с требуемой частотой для качественного генотипирования, а какие утратили необходимую информативность в связи со снижением встречаемости одного из аллелей и дисбалансом частот выявляемых генотипов. Это касалось прежде всего замен из группы, применимой для подтверждения достоверности происхождения. Порог средней частоты встречаемости 0,3 в выборке животных был выбран не случайно, что соответствует рекомендациям Tortereau et al. (2017) [12].

Установили, что выявленные в 2021 году полиморфизмы для подтверждения достоверности происхождения свою информативность в 2022 году в большинстве своем не утратили, т.е. после корректировки было убрано всего лишь 24,5 % перечня локусов. Это более, чем в три раза превышает показатель, считающийся достаточным для достоверной оценки родства [13]. Несмотря на то, что такое количество полиморфизмов можно посчитать избыточным при массовом генотипировании, это оставляет некоторый запас для их исключения в следующих поколениях, если информативность перечня локусов продолжит снижаться в случае закрепления аллелей в породе.

На втором этапе исследований модифицированная панель локусов показала, что у особей, обследованных в 2023 году, частота выявляемых замен находится в достаточных пределах для получения достоверных результатов оценки родства у животных. Проведенный анализ позволяет сделать заключение, что после модификации набора локусов панель для генотипирования секвенированием у манычского мериноса показала высокую эффективность выявления всех вариантов генотипов.

Оценка частоты встречаемости полиморфизмов, имеющих достоверную связь с показателями мясной продуктивности, между группами животных 2021 и 2022 года рождения показала, что большинство замен почти не различаются по частоте встречаемости между поколениями. Объяснить это можно тем, что целенаправленной маркерной селекции в хозяйстве не проводилось, поэтому частота встречаемости остается в практически одинаковых пределах.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Предложенная нами панель локусов, модифицированная после валидации на следующем поколении животных, содержит 389 замен, пригодные для генотипирования секвенированием и 242 полиморфизмов, ассоциированных с мясной продуктивностью животных. Полученные в результате исследований показатели частоты встречаемости замен в группе выбранных животных позволяют сделать заключение, что выбранные нами полиморфизмы находятся в локусах, не подверженных существенным перестройкам в течение нескольких поколений и могут быть информативны в течение достаточно длительного времени. Использование разработанной нами панели позволит реализовать не только официальные требования действующего законодательства РФ по определению достоверности происхождения в племенных хозяйствах, так и быть использоваться в селекционно-племенных программах, направленных на увеличение продуктивности породы манычский меринос.

THE USE OF TARGETED SEQUENCING FOR GENOTYPING SHEEP OF THE MANYCH MERINO BREED

Krivoruchko A.Yu. – Doctor of Biological Sciences, Chief Researcher (ORCID 0000-0003-4536-1814); **Kanibolotskaya**

A.A. – PhD, Senior Researcher (ORCID 0000-0003-3003-4175); **Skorykh L.N.** – Doctor of Biological Sciences, Chief Researcher (ORCID 0000-0002-6090-4453); **Safaryan E.Yu.** – Candidate of Biological Sciences, Researcher (ORCID 0000-0002-2049-842X); **Krivoruchko O. N.** – postgraduate student (ORCID 0009-0005-2051-007X).

[1] North Caucasus Federal Scientific Agrarian Center

[2] North Caucasus Federal University

*dorohin.2012@inbox.ru

Acknowledgements: *the work was supported by the Ministry of Education and Science of the Russian Federation under the State Assignment of the FGBNU "North Caucasus Federal Scientific Agrarian Center" (theme No. FNMU-2022-0009).*

ABSTRACT

The main use of genetic data is to assess the reliability of origin, since errors in pedigrees negatively affect the rate of genetic growth. Initially, the assessment of the pedigree of breeding livestock was carried out using various DNA technologies: from blood groups, then using microsatellite markers, however, now the possibility of using single nucleotide polymorphisms (SNP) in practice is being increasingly studied, due to their ability to increase the accuracy of genetic research. One of such genotyping systems is AgriSeq panels (targeted sequencing technology), which allow analyzing specific regions of the genome (loci) associated with a variety of traits in animals. The purpose of the work: to study the effectiveness of identifying and prevalence of loci from the proposed set of SNPs in the examination of new generations of sheep of the Manych Merino breed. The material for the study was data from targeted sequencing of the genomes of Russian sheep breeds according to the formed set of loci in order to identify single-nucleotide polymorphisms. The object of the study was sheep born in 2021 at the age of 12 months (DNA sampling was carried out in 2022) of the Manych merino breed. The proposed locus panel, modified after validation on the next generation of animals, contains 389 substitutions suitable for genotyping by sequencing and 242 polymorphisms associated with animal meat productivity. The indicators of the frequency of occurrence of substitutions in the group of selected animals obtained as a result of research allow us to conclude that the polymorphisms, we have selected are located in loci that are not subject to significant rearrangements for several generations and can be informative for quite a long time. The analysis allows us to conclude that after modification of the set of loci, the panel for genotyping by sequencing in the Manych merino showed high efficiency in identifying all variants of genotypes.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1.Selection and use of SNP markers for animal identification and paternity analysis in US beef cattle / M.P. Heaton [et al.] // Mammalian genome. – 2002. – Т. 13. – С. 272-281. – DOI: https://doi.org/10.1007/s00335-001-2146-3. Режим доступа: https://link.springer.com/article/10.1007/s00335-001-2146-3

2.Van de Goor, L. H. P. Population studies of 17 equine STR for forensic and phylogenetic analysis / L.H.P. Van de Goor, W.A. Van Haeringen, J.A. Lenstra //Animal genetics. – 2011. – Т. 42. – №. 6. – С. 627-633. – DOI: https://doi.org/10.1111/j.1365-2052.2011.02194.x. Режим доступа: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-2052.2011.02194.x

3.de Groot, M. An evaluation of the International Society for Animal Genetics recommended parentage and identification panel for the domestic pigeon (Columba livia domestica) / M. de Groot, W.A. van Haeringen //Animal genetics. – 2017. – Т. 48. – №. 4. – С. 431-435. – DOI: https://doi.org/10.1111/age.12555. Режим доступа: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/age.12555

4.Al-Atiyat, R. M. The power of 28 microsatellite markers for parentage testing in sheep / R.M. Al-Atiyat //Electronic Journal of Biotechnology. – 2015. – Т. 18. – №. 2. –

С. 116-121. – DOI: https://doi.org/10.1016/j.ejbt.2015.01.001.
5.Wu X. L. et al. Evaluation of genotyping concordance for commercial bovine SNP arrays using quality-assurance samples / X.L. Wu [et al.] //Animal genetics. – 2019. – Т. 50. – №. 4. – С. 367-371. – DOI: https://doi.org/10.1111/age.12800. Режим доступа: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0717345815000184?via%3Dihub
6.Development of a new AgriSeq 4K mid-density SNP genotyping panel and its utility in pearl millet breeding / J. Semalaiyappan [et al.] //Frontiers in plant science. – 2023. – Т. 13. – С. 1068883. – DOI: https://doi.org/10.3389/fpls.2022.1068883
7.Standardization of a SNP panel for parentage verification and identification in the domestic cat (Felis silvestris catus) / M. de Groot [et al.] //Animal genetics. – 2021. – Т. 52. – №. 5. – С. 675-682. – DOI: https://doi.org/10.1111/age.13100 . Режим доступа: https://www.frontiersin.org/journals/plant-science/articles/10.3389/fpls.2022.1068883/full
8.Modular automation solution for genotyping by sequencing for animal breeding / R.C.A. Willis [et al.] //Proc. W. Cong. Gen. App. Livest. Prod. – 2018. – Т. 11. – С. 313. Режим доступа: https://assets.thermofisher.com/TFS-Assets/GSD/Reference-Materials/modular-automation-solution-targeted-genotyping-by-sequencing-animal-breeding-slide-presentation.pdf
9.A genome-wide SNPs searching using the Illumina BeadChip in Jalgin Merino sheep breed / A. Krivoruchko [et al.] // Bulgarian Journal of Agricultural Science. – 2024. – Т. 30. № 1. – С. 3–10.
10.Ensembl 2022 / F. Cunningham [et.al.] // Nucleic acids research. – 2022. – Т. 50. – №. D1. – С. D988-D995. – DOI: https://doi.org/10.1093/nar/gkab1049. Режим доступа: https://academic.oup.com/nar/article/50/D1/D988/6430486
11.UniProt: the universal protein knowledgebase in 2023 / The UniProt Consortium //Nucleic acids research. – 2023. – Т. 51. – №. D1. – С. D523-D531. – DOI: https://doi.org/10.1093/nar/gkac1052. Режим доступа: https://academic.oup.com/nar/article/51/D1/D523/6835362
12.Development of a SNP panel dedicated to parentage assignment in French sheep populations / F. Tortereau [et al.] //BMC genetics. – 2017. – Т. 18. – С. 1-11. – DOI: https://doi.org/10.1186/s12863-017-0518-2. Режим доступа: https://bmcgenomdata.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12863-017-0518-2
13.SNP data quality control in a national beef and dairy cattle system and highly accurate SNP based parentage verification and identification / M.C. McClure [et al.] // Frontiers in Genetics. – 2018. – Т. 9. – С. 84. – DOI: 10.3389/fgene.2018.00084. Режим доступа: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29599798/

REFERENCES

1.Selection and use of SNP markers for animal identification and paternity analysis in US beef cattle / M.P. Heaton [et al.] // Mammalian genome. 2002:13:272-281. – DOI: https://doi.org/10.1007/s00335-001-2146-3. URL: https://link.springer.com/article/10.1007/s00335-001-2146-3
2.Van de Goor, L.H.P. Population studies of 17 equine STR for forensic and phylogenetic analysis / L.H.P. Van de Goor, W.A. Van Haeringen, J.A. Lenstra //Animal genetics. 2011:42(6):627-633. – DOI: https://doi.org/10.1111/j.1365-2052.2011.02194.x. URL: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-2052.2011.02194.x
3.de Groot, M. An evaluation of the International Society for Animal Genetics recommended parentage and identification panel for the domestic pigeon (Columba livia domestica) / M. de Groot, W.A. van Haeringen //Animal genetics. 2017:48 (4):431-435. – DOI: https://doi.org/10.1111/age.12555. URL: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/age.12555
4.Al-Atiyat, R.M. The power of 28 microsatellite markers for parentage testing in sheep / R.M. Al-Atiyat //Electronic Journal of Biotechnology. 2015:18(2):116-121. – DOI: https://doi.org/10.1016/j.ejbt.2015.01.001.
5.Wu, X. L. et al. Evaluation of genotyping

concordance for commercial bovine SNP arrays using quality-assurance samples / X.L. Wu [et al.] //Animal genetics. 2019:50:4:367-371. – DOI: https://doi.org/10.1111/age.12800. URL: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0717345815000184?via%3Dihub

6.Development of a new AgriSeq 4K mid-density SNP genotyping panel and its utility in pearl millet breeding / J. Semalaiyappan [et al.] //Frontiers in plant science.2023:13:1068883. – DOI: https://doi.org/10.3389/fpls.2022.1068883

7.Standardization of a SNP panel for parentage verification and identification in the domestic cat (Felis silvestris catus) / M. de Groot [et al.] //Animal genetics.2021:52 (5):675-682. – DOI: https://doi.org/10.1111/age.13100 . URL: https://www.frontiersin.org/journals/plant-science/articles/10.3389/fpls.2022.1068883/full

8.Modular automation solution for genotyping by sequencing for animal breeding / R.C.A. Willis [et al.] //Proc. W. Cong. Gen. App. Livest. Prod.:2018:11:313. URL: https://assets.thermofisher.com/TFS-Assets/GSD/Reference-Materials/modular-automation-solution-targeted-genotyping-by-sequencing-animal-breeding-slide-presentation.pdf

9.A genome-wide SNPs searching using the Illumina BeadChip in Jalgin Merino sheep breed / A. Krivoruchko [et al.] // Bulgarian Journal of Agricultural Scienceю 2024:30 (1):3–10.

10.Ensembl 2022 / F. Cunningham [et.al.] // Nucleic acids research. 2022:50(D1):D988-D995. – DOI: https://doi.org/10.1093/nar/gkab1049. URL: https://academic.oup.com/nar/article/50/D1/D988/6430486

11.UniProt: the universal protein knowledgebase in 2023 / The UniProt Consortium //Nucleic acids research. 2023:51 (D1):D523-D531. – DOI: https://doi.org/10.1093/nar/gkac1052. URL: https://academic.oup.com/nar/article/51/D1/D523/6835362

12.Development of a SNP panel dedicated to parentage assignment in French sheep populations / F. Tortereau [et al.] //BMC genetics.2017:18:1-11. – DOI: https://doi.org/10.1186/s12863-017-0518-2. URL: https://bmcgenomdata.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12863-017-0518-2

13.SNP data quality control in a national beef and dairy cattle system and highly accurate SNP based parentage verification and identification / M.C. McClure [et al.] // Frontiers in Genetics. 2018:9:84. – DOI: 10.3389/fgene.2018.00084. URL: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29599798/

УДК: 575.116.4: 575.2
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.4.453

ПОЛИМОРФИЗМЫ ГЕНА *FSHR* У САМОК СЕВЕРНОГО ОЛЕНЯ (*RANGIFER TARANDUS)*

Крутикова А.А.[1,2*] – канд. биол. наук, доц. каф. генетических и репродуктивных биотехнологий (ORCID 0000-0003-2561-145x); **Беликова А.О.**[1] – асп., преп. каф. генетических и репродуктивных биотехнологий (ORCID 0009-0006-9173-6129); **Пегливанян Г.К.**[2] – мл. науч. сотр. лаб. молекулярной генетики (ORCID 0000-0001-5194-4851); **Никиткина Е.В.**[2] – канд. биол. наук, вед. науч. сотр. лаб. биологии развития (ORCID 0000-0002-8496-5277); **Мусидрай А.А.**[3] – канд. биол. наук, вед. науч. сотр. отд. жив-ва и рац. природопользования Арктики (0000-0002-0079-9938)

[1]ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины»;
[2]Всероссийский научно-исследовательский институт генетики и разведения сельскохозяйственных животных – филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр животноводства – ВИЖ имени академика Л. К. Эрнста»;
[3]ФГБУН «Санкт-Петербургский Федеральный исследовательский центр РАН»,

[*] anntim2575@mail.ru

Ключевые слова: *репродуктивные функции, олени, FSHR, SNP.*
Key words: *reproductive functions, reindeer, FSHR, SNP.*
Финансирование: *Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 22-16-00085, https://rscf.ru/project/22-16-00085/*

Поступила: 11.11.2024 **Принята к публикации: 02.12.2024**
Опубликована онлайн:16.12.2024

РЕФЕРАТ

Оленеводство является важной отраслью животноводства в России, особенно в северных регионах страны, где климатические условия не всегда позволяют успешно разводить другой вид скота. Наиболее перспективный вариант проведения селекционного процесса – геномная селекция представляет собой метод, основанный на анализе генетических данных о животных с целью выбора особей с определенными генетическими характеристиками и высоким племенным потенциалом для последующего разведения. Путем селекции по геномным данным можно повысить эффективность программ разведения, сократить время на получение желаемых результатов и улучшить качество потомства. Необходимым этапом становления геномной селекции является процесс поиска и отбора генов, ассоциированных с наиболее значимыми хозяйственно полезными признаками продуктивных животных. Кроме генов, влияющих на продуктивные качества, в селекции учитывают гены воспроизводительной функции животных. Так, ген *FSHR* (Follicle-

Stimulating Hormone Receptor) кодирует белок, который является рецептором для фолликулостимулирующего гормона (FSH), оказывающего разностороннее влияние на функционирование репродуктивной системы самцов и самок млекопитающих. Изучение гена *FSHR* имеет важное значение для понимания механизмов регуляции репродуктивной системы и поиска новых генетических маркеров, связанных с репродуктивными функциями у разных видов животных, в том числе северных оленей. Целью исследования являлось изучение полиморфизма гена *FSHR* у самок северного оленя Ямало-Ненецкого автономного округа Российской Федерации. Были исследованы образцы ДНК 43 самок северных оленей (*Rangifer tarandus*), принадлежащих к одному стаду. Нами был секвенирован участок гена *FSHR* длиной 2208 п.н., содержащий экзон 5. При исследовании участка нами было обнаружено два однонуклеотидных полиморфизма: G28578A и G29110A. Первый полиморфизм располагался во втором нуклеотиде кодона и вел к замене серина на аспарагин в аминокислотной последовательности белка. Второй полиморфизм был синонимичным и не приводил к изменению строения белка.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Оленеводство – стратегически значимая отрасль животноводства в России, обеспечивающая население регионов Крайнего Севера ценными продуктами животноводства. Олени являются ценным источником мяса, молока, шерсти и других продуктов, которые играют значительную роль в питании и экономике северных народов, используются как для внутреннего потребления, так и для экспорта. Помимо этого, оленеводство способствует сохранению биоразнообразия и традиционной культуры коренных народов, которые тесно связаны с этой отраслью животноводства, а также способствует развитию туризма и созданию рабочих мест в удаленных сельских районах севера [1-3].

Геномная селекция в животноводстве представляет собой метод, основанный на анализе генетических данных о животных с целью выбора особей с определенными высокоценными генетическими характеристиками для последующего разведения. Таким образом, геномная селекция представляет собой современный метод улучшения генетического потенциала животных путем анализа и отбора определенных генетических маркеров, ассоциированных со значимыми продуктивными и репродуктивными качествами. Одним из основных преимуществ геномной селекции является возможность ускорения процесса селекции, что позволяет сократить время и ресурсы, необходимые для развития новых пород или улучшения существующих. Путем селекции по геномным данным можно повысить эффективность программ разведения, сократить время на получение желаемых результатов и улучшить качество потомства.

Ген *FSHR* (Follicle-Stimulating Hormone Receptor) кодирует белок, который является рецептором для фолликулостимулирующего гормона (ФСГ). *FSHR* является членом семейства рецепторов гормонов, связанных с G-белком, и участвует в регуляции различных процессов в семенниках и яичниках. Ранее у различных видов животных уже были описаны мутации в гене *FSHR*, которые приводили как к повышению, так и снижению активности белка-рецептора, причем отмечалось, что наибольшее фенотипическое влияние изменения в последовательности гена оказывали именно на женский организм. Мутации, повышающие активность белка, придают рецептору фолликулостимулирующего гормона более высокую чувствительность к ФСГ, делая его конститутивно активным даже при отсутствии лиганда. Инактивирующие мутации снижают функцию рецептора вплоть до полного блокирования. Инактивирующие мутации *FSHR* могут приводить к снижению фертильности и преждевременному истощению яичников, тогда как активирующие мутации могут предрасполагать к синдрому гиперстимуляции яичников [4-7]. Изучение гена *FSHR* имеет важное значение для понима-

ния механизмов регуляции работы репродуктивной системы и поиска новых генетических маркеров, связанных с репродуктивными функциями у разных видов животных, в том числе северных оленей.

Целью исследования являлось изучение полиморфизма гена *FSHR* у самок северного оленя Ямало-Ненецкого автономного округа Российской Федерации.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Были исследованы образцы ДНК 43 самок северных оленей (*Rangifer tarandus*), принадлежащих к одному стаду частного оленеводческого хозяйства в Ямало-Ненецком автономном округе. Кровь для выделения ДНК и измерения уровней половых гормонов (ФСГ, лютеинизирующий гормон (ЛГ), эстрадиол, прогестерон) отбиралась из яремной вены животных.

Гормональный статус важенок определяли с применением иммуноферментного анализа на ИФА-спектрофотометре FlexA-200 «Allsheng» (КНР) при помощи коммерческих наборов «Алкор-Био» (Россия) (эстрадиол и прогестерон) и Cloud-Clone Corp. (КНР) (ЛГ).

Выделение ДНК производилось с помощью фенольного метода согласно стандартной методике с применением протеинкиназы К. Затем исследуемый участок гена FSHR был амплифицирован в реакционной смеси объемом 10 мкл, состоящей из 2 мкл 5х буфера для Taq (с содержанием 15Мм Mg2+), 0,2 мкл Taq-полимеразы («Сибэнзим», Новосибирск), 1,2 мкл смеси dNTP (2,5 мМ), 0,2 мкл каждого из праймеров, а также 0,2 мкл выделенной ДНК-матрицы и 6 мкл деионизированной воды. Последовательность праймеров, использованных для амплификации:

FSHR-F: 5`-AAC ATG GCT CCA TGC TGT GA-3`

FSHR-R: 5`-GGG GTA GGA AGG GAA ACA GC-3`

Подбор праймеров был осуществлен с помощью приложения Primer-BLAST международной базы данных NCBI (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/). Для подбора праймеров была использована референсная последовательность генома белохвостого оленя (*Odocoileus virginianus texanus*), в связи с её более высоким качеством относительно находящихся в данный момент в свободном доступе сборок генома северного оленя [5].

Таким образом, амплифицированный участок состоял из 2381 пары нуклеотидов и включал в себя последовательность 5-го экзон гена *FSHR*. Полученный фрагмент затем был секвенирован, для приготовления библиотек ДНК применяли набор «Rapid Sequencing Kit», для нанопорового секвенирования использовали прибор MinION (Oxford Nanopore Technologies, Великобритания). Последовательности прочтений определяли с помощью программы MinKNOW (Oxford Nanopore Technologies, Великобритания). Выравнивание прочтений секвенатора на референсную последовательность осуществляли с помощью программы Minimap2 (v.2.24). Последующий поиск однонуклеотидных полиморфизмов в фрагменте гена *FSHR* был осуществлён с помощью программы longshot (v. 1.0.0), с порогом фильтрации в 500 прочтений на SNP.

Частота встречаемости генотипов в исследованной выборке животных вычислялась по формуле:

$p = n/N$,

где p – частота определенного генотипа, n – число животных, обладающих данным генотипом, N – общее число животных.

Частота аллелей определялась по следующей формуле формуле:

$pA = (2nAA + nAB): 2N$,

где pA – частота аллеля A, n – число носителей определенного генотипа, N – суммарное число аллелей.

Ожидаемое число обладателей того или иного генотипа в исследуемой группе животных рассчитывали по закону Харди -Вайнберга. Сравнение наблюдаемых частот генотипов с частотой ожидаемых проводили с помощью критерия хи-квадрат (таблица 1). Критическое значение для отвержения нулевой гипотезы

принимали равным 0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Нами был секвенирован участок *FSHR* длиной 2208 п.н., содержащий пятый интрон гена у важенок полуострова Ямал. При исследовании участка нами было обнаружено два однонуклеотидных полиморфизма: G29110A и G28578A. Первый полиморфизм был синонимичным и не приводил к изменению строения белка. Второй полиморфизм располагался во втором нуклеотиде кодона и вел к замене серина на аспарагин в аминокислотной последовательности белка. Серин является нейтральной незаряженной аминокислотой, способной образовывать водородные связи, а аспарагин – отрицательно заряженная аминокислота, взаимодействующая с другими аминокислотами в полипептидной цепи благодаря образованию ионных связей. Такое изменение взаимодействия внутри полипептида может приводить к нарушению пространственной третичной и четвертичной структур белка, что является критичным для белка-рецептора, в данном случае рецептора фолликулостимулирующего гормона, который взаимодействует с ФСГ по принципу «ключ-замок». Нарушение пространственно-структурного соответствия рецептора и действующего вещества может приводить снижению эффекта работы полового гормона, что в свою очередь значительно повлияет на репродуктивную функцию.

Таблица 1 – Полиморфизмы в пятом экзоне гена *FSHR* у важенок

Генотип	n	Частота генотипов, %		Частота аллелей	P_{HW*}
		наблюдаемая	ожидаемая		
Генотип по полиморфизму A28578G					
GG	39	91	90,9	G – 0,95	0,75
GA	4	9	8,87	A – 0,05	
Генотип по полиморфизму A29110G					
GG	36	84	84,38	G – 0,92	0,56
GA	7	16	14,95	A – 0,08	

*Примечания: *P_{HW} – p-value для соответствия наблюдаемого распределения генотипов ожидаемому согласно равновесию Харди-Вайнберга.*

Следует отметить, что нуклеотидная последовательность исследованного участка гена *FSHR* характеризовалась довольно высокой степенью консервативности, что может указывать либо на генетическую однородность исследованной популяции, либо на давление отбора.

Наша гипотеза предполагала, что возможное изменение структуры белка – рецептора фолликулостимулирующего гормона запустит компенсаторные механизмы репродуктивной системы, что приведет к изменению уровня других половых гормонов, в том числе и ФСГ. Однако, не было обнаружено статистически достоверной связи между уровнями половых гормонов (ЛГ, ФСГ, эстрадиол, прогестерон) в крови важенок и присутствием выявленного в ходе проведенных исследований нуклеотидного полиморфизма. Это указывает на необходимость дальнейшего исследования влияния обнаруженных нуклеотидных замен на репродуктивные показатели важенок, а также иные биохимические и морфологические изменения, связанные с состоянием репродуктивной системы самок северных оленей на разных этапах эстрального цикла.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Нами были описаны новые, не встречавшийся раннее в литературе полиморфизмы в пятом экзоне гена *FSHR*, один из которых менял аминокислотную последовательность белка, приводя к замене S>N, а другой был синонимичным. Замена

аминокислотной последовательности в белке-гормоне не привела к изменению гормонального статуса по таким половым гормонам как ЛГ, ФСГ, эстрадиол, прогестерон у важенок. Необходимо изучение влияния выявленных вариантов генетического полиморфизма, особенно не синонимичного варианта, в рецепторе фолликулостимулирующего гормона непосредственно на уровень репродуктивной функции у важенок, а именно способность вхождения в состояние половой охоты, смещение сроков половой охоты, уровень проявления половой охоты и способность к оплодотворению.

FSHR GENE POLYMORPHISM IN FEMALE REINDEER (RANGIFER TARANDUS)

Krutikova A.A.[1,2]* – PhD of Biological Sciences, Ass. Prof. of Dep. of Genetic and Reproductive Biotechnology (ORCID 0000-0003-2561-145X); **Belikova A.O.**[1] – PhD-student, teacher of Dep. of Genetic and Reproductive Biotechnology (ORCID 0009-0006-9173-6129); **Peglivanian G.K.**[2] – Junior Researcher, Laboratory of Molecular Genetics (ORCID 0000-0001-5194-4851); **Nikitkina E.V.**[2] – PhD of Biological Sciences, Leading Researcher, Laboratory of Developmental Biology (ORCID 0000-0002-8496-5277); **Musidray A.A.**[3] – PhD of Biological Sciences, Leading Researcher, Department of Animal Husbandry and Environmental Management of the Arctic (ORCID 0000-0002-0079-9938)

[1]St. Petersburg State University of Veterinary Medicine

[2] Russian Research Institute of Farm Animal Genetics and Breeding — Branch of the L.K. Ernst Federal Research Center for Animal Husbandry;

3 St. Petersburg Federal Research Center Russian Academy of Sciences

* anntim2575@mail.ru

Financing: *The study was supported by the grant of the Russian Science Foundation No. 22-16-00085, https://rscf.ru/project/22-16-00085/*

ABSTRACT

Reindeer herding is an important branch of animal husbandry in Russia, especially in the northern regions of the country. Genomic selection is a method based on the analysis of genetic data on animals in order to select individuals with certain genetic characteristics for breeding. By genetic selecting, it is possible to increase the efficiency of breeding programs, reduce the time to obtain the desired results and improve the quality of the offspring. The *FSHR* (Follicle-Stimulating Hormone Receptor) gene encodes a protein that is a receptor for follicle-stimulating hormone (FSH). Studying the *FSHR* gene is important for understanding the mechanisms of regulation of the reproductive system and searching for new genetic markers associated with reproductive functions in different animal species, including reindeer. The aim of the study was to study the polymorphism of the *FSHR* gene in female reindeer of the Yamalo-Nenets Autonomous Okrug of the Russian Federation. DNA samples from 43 reindeer females (*Rangifer tarandus*) belonging to the same herd were analyzed. We sequenced a 2208 bp *FSHR* region containing the fifth intron of the gene in females from the Yamal Peninsula. During the study of the region, we found two single-nucleotide polymorphisms: G28578A and G29110A. The first polymorphism was located in the second nucleotide of the codon and led to the replacement of serine with asparagine in the amino acid sequence of the protein. The second polymorphism was synonymous and did not lead to a change in the structure of the protein.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1.Лайшев К.А. Результаты комплексных исследований по созданию племенного оленеводства на полярном урале (итоги работы и перспективы) / К.А. Лайшев, А.А. Южаков, А.А. Юдин, С.В. Коковкина, Т.В. Тарабукина // Научный вестник Ямало-Ненецкого автономного округа. – 2019. – № 1 (102). – С. 21-30. Режим доступа: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=37262479

2.Лайшев К. А. Проблемы профилактики

бруцеллеза северных оленей и пути их решения / К. А. Лайшев, В. А. Забродин, А. В. Прокудин, Н. В. Винокуров, Е. С. Слепцов // Генетика и разведение животных. – 2018. – № 1. – С. 37-45. doi: 10.31043/2410-2733-2018-1-37-45

3.Брызгалов Г. Я. Биометрические характеристики живой массы в популяциях северных оленей восточной Арктики и Субарктики / Г. Я. Брызгалов, Л. С. Игнатович // Генетика и разведение животных. – 2023. – № 3. – С. 39-46. doi: 10.31043/2410-2733-2023-3-39-46.

4.Bhartiya D., Patel H. An overview of FSH-FSHR biology and explaining the existing conundrums. Journal of ovarian research. 2021; 14(1): 144.

5.Abeygunawardana DI, Ranasinghe RMSBK, De Silva SNT, Deshapriya RMC, Gamika PA, Rajapakse J. Effect of LHCGR and FSHR gene polymorphisms on fertility traits and milk yield of cross-bred dairy cows in Sri Lanka. Anim Biotechnol. 2023 Nov;34(5):1719-1726.

6.Sharifiyazdi H, Mirzaei A, Ghanaatian Z. Characterization of polymorphism in the FSH receptor gene and its impact on some reproductive indices in dairy cows. Anim Reprod Sci. 2018 Jan;188:45-50.

7.Weldenegodguad M., Pokharel K., Ming Y., Honkatukia M., Peippo J., Reilas T, Røed K.H., Kantanen J. Sequencing of reindeer (Rangifer tarandus) genomes: Insights into evolution, domestication, and adaptation. 2019. Proc. of the 37th International Conference on Animal Genetics. Spain (Lleida). 42.

REFERENCES

1.Laishev K.A. Results of comprehensive research on the creation of breeding reindeer herding in the Polar Urals (results of work and prospects) / K.A. Laishev, A.A. Yuzhakov, A.A. Yudin, S.V. Kokovkina, T.V. Tarabukina // Scientific Bulletin of the Yamalo-Nenets Autonomous Okrug. 2019:1 (102): 21-30. URL: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=37262479 (In Russ.)

2.Laishev K. A. Problems of brucellosis prevention in reindeer and ways to solve them / K. A. Laishev, V. A. Zabrodin, A. V. Prokudin, N. V. Vinokurov, E. S. Sleptsov // Genetics and animal breeding. – 2018. – № 1. – P. 37-45. doi: 10.31043/2410-2733-2018-1-37-45.

3.Bryzgalov G. Ya. Biometric characteristics of live weight in reindeer populations of the eastern Arctic and Subarctic / G. Ya. Bryzgalov, L. S. Ignatovich // Genetics and animal breeding. – 2023. – № 3. – P. 39-46. doi: 10.31043/2410-2733-2023-3-39-46.

4. Bhartiya D., Patel H. An overview of FSH-FSHR biology and explaining the existing conundrums. Journal of ovarian research. 2021; 14(1): 144.

5.Abeygunawardana DI, Ranasinghe RMSBK, De Silva SNT, Deshapriya RMC, Gamika PA, Rajapakse J. Effect of LHCGR and FSHR gene polymorphisms on fertility traits and milk yield of cross-bred dairy cows in Sri Lanka. Anim Biotechnol. 2023 Nov;34(5):1719-1726.

6.Sharifiyazdi H, Mirzaei A, Ghanaatian Z. Characterization of polymorphism in the FSH receptor gene and its impact on some reproductive indices in dairy cows. Anim Reprod Sci. 2018 Jan;188:45-50.

7.Weldenegodguad M., Pokharel K., Ming Y., Honkatukia M., Peippo J., Reilas T, Røed K.H., Kantanen J. Sequencing of reindeer (Rangifer tarandus) genomes: Insights into evolution, domestication, and adaptation. 2019. Proc. of the 37th International Conference on Animal Genetics. Spain (Lleida). 42.

УДК: 577.171.52
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.4.459

КОНЦЕНТРАЦИЯ СТЕРОИДНЫХ И ГОНАДОТРОПНЫХ ГОРМОНОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ САМОК СЕВЕРНЫХ ОЛЕНЕЙ В ПОЗДНЕСТЕЛЬНЫЙ И РАННИЙ ПОСЛЕРОДОВОЙ ПЕРИОДЫ

Крутикова А.А.[1*] – канд. биол. наук, ст. науч. сотр. лаб. молекулярной генетики (ORCID 0000-0003-2561-145X)**; Ширяев Г.В**.[1] – канд. с.-х. наук, ученый секретарь (ORCID 0000-0002-4698-3917); **Никиткина Е.В.**[1] – канд. биол. наук, вед. науч. сотр. лаб. биологии развития (ORCID 0000-0002-8496-5277)**; Пегливанян Г.К.**[1] – мл. науч. сотр. лаб. молекулярной генетики (ORCID 0000-0001-5194-4851)**; Мусидрай А.А.**[2] – канд. биол. наук, вед. науч. сотр. отд. жив-ва и рац. природопользования Арктики (ORCID 0000-0002-0079-9938)**; Никитин Г.С.**[3] – канд. ветеринар. наук, доц., доц. каф. генетических и репродуктивных биотехнологий.

[1] Всероссийский научно-исследовательский институт генетики и разведения сельскохозяйственных животных – филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр животноводства – ВИЖ имени академика Л. К. Эрнста»;
[2]ФГБУН «Санкт-Петербургский Федеральный исследовательский центр РАН»,
[3]ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины»

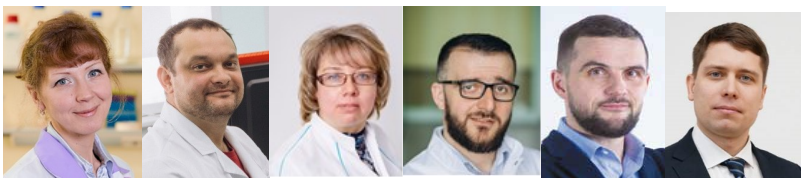
[*]anntim2575@mail.ru

Ключевые слова: *репродуктивная функция, фолликулостимулирующий гормон, лютеинизирующий гормон, прогестерон, эстрадиол, тестостерон, северные олени (Rangifer tarandus).*

Key words: *reproductive function, follicle stimulating hormone, luteinizing hormone, progesterone, estradiol, testosterone, reindeer (Rangifer tarandus).*

Финансирование: *Исследования проведены при поддержке Российского Научного Фонда (грант № 22-16-00085).*

Поступила: 11.11.2024 **Принята к публикации: 02.12.2024**
Опубликована онлайн:16.12.2024



РЕФЕРАТ

Несмотря на то, что северные олени (*Rangifer tarandus*) являются важным промысловым видом для обеспечения питания населения в сложных для проживания условиях, в настоящее время они до сих пор являются малоизученными ввиду сложности проведения научно-исследовательских работ. Особенно это касается физиологических особенностей, связанных с размножением, пробелы в которых осложняют внедрение современных вспо-

могательных репродуктивных технологий. Глубокие знания об эндогенной гормональной регуляции в различные физиологические периоды самок северных оленей могли бы позволить заниматься управлением репродуктивной функции. Работа посвящена анализу концентраций стероидных гормонов 17β – эстрадиола и прогестерона, а также гонадотропинов – фолликулостимулирующего и лютеинизирующего гормонов важенок в период размножения.

Объектом исследований были самки (важенки) северных оленей (n=31). Место содержания – оленеводческое хозяйство на севере Западной Сибири, на территории Ямало-Ненецкого автономного округа России. Общая выборка была разделена на две группы – 1 группа (n=16) не отелившиеся и 2 группа (n=15) – отелившиеся важенки. Уровень гормонов в сыворотке крови выявляли методом иммуноферментного анализа. Результаты исследований показывают, что в группе важенок в позднестельный период концентрации эстрадиола и прогестерона была достоверно выше ($p<0,01$), по сравнению с группой важенок после отела. При этом можно отметить тенденцию повышения фолликулостимулирующего гормона после отела. Отрицательная корреляция зафиксирована в случае прогестерона и лютеинизирующего гормона в группе важенок в раннеотельном периоде ($r=-0,735$, $p<0,01$). Положительная корреляционная связь отмечена между фолликулостимулирующим и лютеинизирующим гормонами ($r=0,811$, $p<0,01$). В группе животных в позднестельном периоде обнаружена положительная корреляционная связь между прогестероном и эстрадиолом ($r=0,641$, $p<0,01$). Полученные результаты позволяют предположить, что у самок северных оленей возобновление половой цикличности происходит по схожему гормональному сценарию, при котором уровень стероидных гормонов после отела снижается, а концентрация гонадотропных гормонов напротив постепенно возрастает с более высокой динамикой ФСГ, в сравнении с ЛГ.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Несмотря на то, что северные олени (*Rangifer tarandus*) являются важным промысловым видом для обеспечения питания населения в сложных для проживания условиях, в настоящее время они до сих пор являются малоизученными ввиду сложности проведения научно-исследовательских работ [1-3]. Особенно это касается физиологических особенностей, связанных с размножением, пробелы в которых осложняют внедрение современных вспомогательных репродуктивных технологий [4, 5]. При этом глубокие знания об эндогенной гормональной регуляции в различные физиологические периоды самок северных оленей могли бы позволить целенаправленно управлять реализацией репродуктивной функции с помощью синтетических гормональных препаратов.

Влияние стероидных и гонадотропных гормонов на различные физиологические и биохимические процессы в организме животных неоспорим. Данные гормоны прочно вошли в качестве биомаркеров в воспроизводство животных всех видов. Эстрадиол, являющийся главным эстрогеном, способен через каскад гормональных взаимодействий влиять на синтез и секрецию гонадотропинов – фолликулостимулирующего (ФСГ) и лютеинизирующего (ЛГ) гормонов, влияющих на рост и развитие фолликулов, овуляторные процессы и последующее функционирование желтого тела, продуцирующего в больших концентрациях прогестерон. В ходе дальнейшего гестационного периода ведущую роль играют половые стероиды, синтез и секрецию которых осуществляют не только яичники и надпочечники, но и плацента с фетоплацентарным комплексом (ФПК) [6]. При этом в мировой литературе можно встретить крайне недостаточно информации об эндогенной гормональной регуляции в ходе реализации репродуктивной функции применительно к самкам северных оленей [7-9].

В связи с этим целью наших исследований является изучение концентрации стероидных и гонадотропных гормонов в сыворотке крови самок северных оленей

в позднестельный и ранний послеродовой периоды.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Объектом исследований были самки (важенки) северных оленей. Место содержания – оленеводческое хозяйство на севере Западной Сибири, на территории Ямало-Ненецкого автономного округа России. Образцы сыворотки крови отбирали весной 3 мая 2023 года в период массового отела животных. Общая выборка составила 31 животное, из которой сформировали две группы: 1-ая группа – отелившиеся самки, 16 голов; 2-ая группа – не отелившиеся, 15 голов. Условия их содержания и кормления соответствовали зооветеринарным требованиям.

Кровь отбирали в вакуумные пробирки с активатором свертывания из яремной вены. После отделения сыворотки её сливали в криопробирки и замораживали. Хранение проводилось при -75^{0}С.

ФСК и ЛГ определяли с использованием наборов для *Bos Taurus* для иммуноферментного анализа сыворотки крови Cloud-Clone Corp, КНР; прогестерона и эстрадиола – «Алкор-Био», Россия. Исследования проводили на микропланшетном ридере AMR-100 (КНР). Полученные данные обрабатывали с помощью программы IBM SPSS Statistics V26 (США) с применением непараметрического метода Манна-Уитни. Корреляционный анализ проводили с использованием коэффициента Спирмена.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Исходя из анализа литературных данных «гормоны беременности» эстрадиол и прогестерон обладают различными функциями в позднестельный и раннеродовой периоды. Эстрадиол – один из важнейших стероидов, на базе которых строится большинство физиологических процессов, связанных с воспроизводством – в позднестельный период при нормально протекающей беременности непрерывно увеличивается вплоть до родов, обеспечивая активный рост матки и подготавливая организм к родам. Эстрадиол вырабатывается яичниками, а во время беременности еще и плацентой [10]. Прогестерон, являясь также одним из основных «гормонов беременности» главным образом продуцируется желтым телом, которое образуется после овуляции. В ходе беременности в определенный момент также и сформировавшаяся плацента начинает синтезировать и секретировать прогестерон.

Воздействие гонадотропных гормонов в период гестации несколько неоднозначен. В случае ФСГ в классическом понимании сама система данного гликопротеинового гормона с его рецептором ФСГ/FSHR при состоявшейся овуляции в дальнейших физиологических процессах не участвует. Во время беременности сывороточные концентрации ФСГ довольно низкие из-за ингибирующего воздействия повышенных концентраций эстрогена и прогестерона на гипоталамус и гонадотропы гипофиза. Само наличие пусть и невысоких концентраций в крови в период беременности вызывает вопрос о потенциальных источниках ФСГ при функционировании FSHR плаценты и миометрия. Кроме того, была продемонстрирована внеяичниковая экспрессия мРНК, кодирующих α -субъединицу гликопротеинового гормона и β- субъединицу ФСГ, что позволяет предположить, что эти новые аспекты внеяичниковой сигнализации ФСГ/FSHR во время беременности могут быть опосредованы локально синтезированным ФСГ [11]. Интересно, что недавнее исследование по выявлению генетическими методами новых белков, связанных со сроками родов у людей, демонстрирует сильную связь с некоторыми SNP гена *FSHR*, что можно воспринимать как интересный для дальнейшего изучения парадокс [12, 13].

Что касается ЛГ – концентрация данного гликопротеинового гормона в ходе гестации также снижается за счет формирования специального органа – хориона, продуцирующего с первых недель беременности хорионический гонадотропин (ХГЧ), оказывающего на организм такое же влияние, как и лютеинизирующий гормон. ХГЧ поддерживает функциональную

активность желтого тела, сохраняя высокие концентрацию эстрадиола в крови. Стоит отметить, что при беременности уровни ФСГ и ЛГ в сравнении с концентрациями в ходе полового цикла всегда понижены.

Результаты изучения концентрации стероидных и гонадотропных гормонов представлены – в таблице 1. Из данных таблицы видно, что уровень половых гормонов у важенок, находящихся в позднестельном периоде, уровень эстрадиола и прогестерона достоверно выше в сравнении с отелившимися животными ($p<0,001$). Это согласуется с данными исследований Ropstad E. и др. (2005), в котором у беременных важенок концентрация прогестерона в плазме увеличивалась по сравнению с базальными концентрациями через 21–30 дней после предполагаемого дня зачатия и достигала пика во время отела. При этом средняя концентрация прогестерона в плазме достигала пика дважды во время беременности: примерно за 24 и за три недели до отела [10]. Схожие данные получили исследователи Shipka M. P. и др. (2007), согласно которым концентрации прогестерона после оплодотворения неуклонно росли после зачатия и оставались повышенными в течение всей беременности, при этом средние концентрации существенно не менялись с 4 по 28 неделю беременности. В случае эстрадиола также концентрации оставались на одном уровне до 24 недели беременности, повышаясь по мере снижения прогестерона непосредственно перед родами [14, 15].

В некоторых научно-исследовательских работах показаны различия в уровнях гонадотропинов перед и после естественного завершения беременности. В исследованиях Bubenik G. A. и др. (1997) сезонные колебания ФСГ были минимальными у беременных важенок. При этом, показано, что уровень ФСГ после отела начинает расти быстрее в сравнении с ЛГ [16]. Наши данные также продемонстрировали эту динамику: ЛГ в группе отелившихся животных был на 12,8% выше, тогда как ФСГ – на 28,6% в сравнении с животными в период поздней стельности. Результаты корреляционного анализа представлены на рисунках 1 и 2.

Таблица 1 – Содержание стероидных и гонадотропных гормонов в сыворотке крови самок северных оленей

Группы	Гормоны			
	Эстрадиол, пг/мл	**Прогестерон, нмоль/л**	**Лютеинизирующий гормон, пг/мл**	**Фолликулостимулирующий гормон, пг/мл**
Группа 1	127,57±5,13	33,27±0,89	753,40±25,75	138,10±17,00
Группа 2	97,51±7,29	2,50±0,53	849,90±54,25	177,57±5,96
Асимп. знач.	0,001	0,001	0,580	0,65

Отрицательная корреляция зафиксирована в случае прогестерона и лютеинизирующего гормона в группе важенок в раннеотельном периоде ($r=-0,735$, $p<0,01$). Этот результат частично согласуется с тем, что прогестерон оказывает ингибирующее воздействие на гонадотропные гормоны (рис. 1). Положительная корреляционная связь отмечена между фолликулостимулирующим и лютеинизирующим гормонами ($r=0,811$, $p<0,01$) (рис. 2), что может означать, что важенки после отела постепенно начали возобновлять половую цикличность. В группе животных в позднестельном периоде обнаружена положительная корреляционная связь между прогестероном и эстрадиолом ($r=0,641$, $p<0,01$) (рис. 3), что также согласуется общепринятыми представлениями о гормональном профиле животных перед отелом.

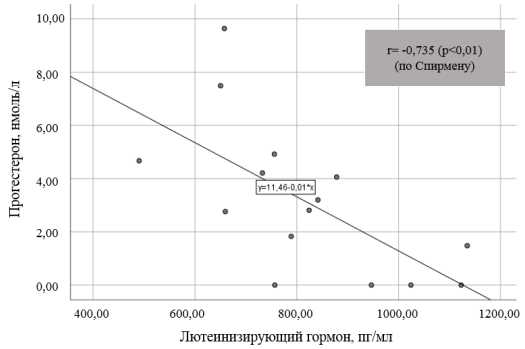


Рисунок 1 – Взаимосвязь уровня прогестерона и лютеинизирующего гормона в группе важенок в раннеотельном периоде.

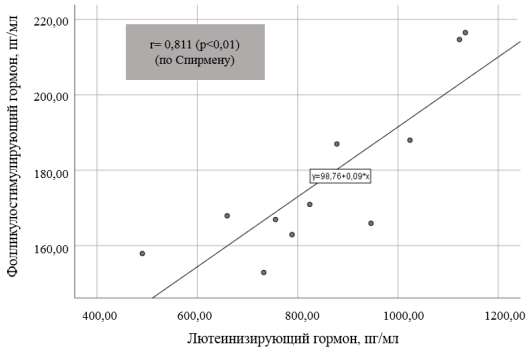


Рисунок 2 – Взаимосвязь уровня фолликулостимулирующего и лютеинизирующего гормонов в группе важенок в раннеотельном периоде

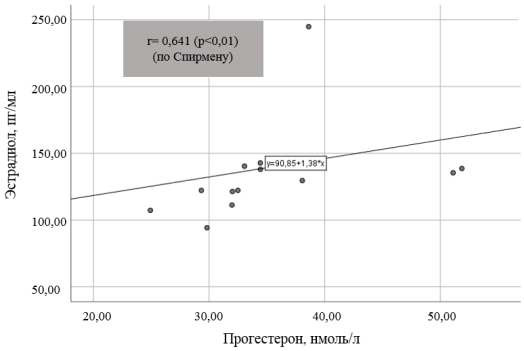


Рисунок 3 – Взаимосвязь уровня эстрадиола и прогестерона в группе важенок в позднестельном периоде.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Результаты исследований показывают, что в группе важенок в позднестельный период концентрация эстрадиола и прогестерона была достоверно выше ($p<0,01$), по сравнению с группой важенок после отела. При этом можно отметить тенденцию повышения фолликулостимулирующего гормона после отела. Полученные результаты позволяют предположить, что у самок северных оленей возобновление половой цикличности происходит по схожему гормональному сценарию, при котором уровень стероидных гормонов после отела снижается, а концентрация гонадотропных гормонов напротив постепенно возрастает с более высокой динамикой ФСГ, в сравнении с ЛГ.

CONCENTRATION OF STEROID AND GONADOTROPIC HORMONES IN THE BLOOD SERUM OF FEMALE REINDEER IN THE LATE PREMAILING AND EARLY POSTPARTUM PERIODS

Krutikova A.A.[1,*] – PhD of Biological

Sciences, Senior Researcher, Laboratory of Molecular Genetics (ORCID 0000-0003-2561-145X); **Shiriaev G.V.**[1] – PhD of Agricultural Sciences, Senior Researcher, Biochemistry Group (ORCID 0000-0002-4698-3917); **Nikitkina E.V.**[1] – PhD of Biological Sciences, Leading Researcher, Laboratory of Developmental Biology (ORCID 0000-0002-8496-5277); **Peglivanian G.K.**[1] – Junior Researcher, Laboratory of Molecular Genetics (ORCID 0000-0001-5194-4851); **Musidray A.A.**[2] – PhD of Biological Sciences, Leading Researcher, Department of Animal Husbandry and Environmental Management of the Arctic (ORCID 0000-0002-0079-9938)**; Nikitin G.S.**[3] – PhD of Veterinary Sciences, Associate Professor of the Department of Genetic and Reproductive Biotechnologies (ORCID 0000-0002-2080-2970)

[1] Russian Research Institute of Farm Animal Genetics and Breeding — Branch of the L.K. Ernst Federal Research Center for Animal Husbandry;

[2] St. Petersburg Federal Research Center Russian Academy of Sciences,

[3] St. Petersburg State University of Veterinary Medicine

[*]anntim2575@mail.ru

ABSTRACT

Despite the fact that reindeer (Rangifer tarandus) are an important commercial species for providing food for the population in difficult living conditions, they are currently poorly studied due to the complexity of conducting research. This is especially true for physiological characteristics associated with reproduction, the gaps in which complicate the implementation of modern assisted reproductive technologies. Deep knowledge of endogenous hormonal regulation in different physiological periods of female reindeer could allow us to manage the reproductive function. The work is devoted to the analysis of concentrations of steroid hormones 17β - estradiol and progesterone, as well as gonadotropins - follicle-stimulating and luteinizing hormones of females during the breeding season. The object of the study were female (female) reindeer (n = 31). The habitat is a reindeer farm in the north of Western Siberia, in the Yamalo-Nenets Autonomous Okrug of Russia. The total sample was divided into two groups: group 1 (n=16) did not calve and group 2 (n=15) did. The hormone levels in the blood serum were determined using enzyme immunoassay. The results of the studies show that in the group of does in the late calving period, the concentrations of estradiol and progesterone were significantly higher ($p<0.01$) compared to the group of does after calving. At the same time, a tendency towards an increase in follicle-stimulating hormone can be noted after calving. A negative correlation was recorded in the case of progesterone and luteinizing hormone in the group of does in the early calving period ($r=-0.735$, $p<0.01$). A positive correlation was found between follicle-stimulating and luteinizing hormones ($r=0.811$, $p<0.01$). In the group of animals in the late calving period, a positive correlation was found between progesterone and estradiol ($r=0.641$, $p<0.01$). The results obtained suggest that in female reindeer, the resumption of sexual cycles occurs according to a similar hormonal scenario, in which the level of steroid hormones decreases after calving, and the concentration of gonadotropic hormones, on the contrary, gradually increases with higher FSH dynamics, compared to LH.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Лайшев К. А. Проблемы профилактики бруцеллеза северных оленей и пути их решения / К. А. Лайшев, В. А. Забродин, А. В. Прокудин, Н. В. Винокуров, Е. С. Слепцов // Генетика и разведение животных. – 2018. – № 1. – С. 37-45. doi: 10.31043/2410-2733-2018-1-37-45

2. Брызгалов Г. Я. Биометрические характеристики живой массы в популяциях северных оленей восточной Арктики и Субарктики / Г. Я. Брызгалов, Л. С. Игнатович // Генетика и разведение животных. – 2023. – № 3. – С. 39-46. doi: 10.31043/2410-2733-2023-3-39-46.

3. Брызгалов Г. Я. Олени крайнего северо-востока России: корякский экотип (*Rangifer Tarandus L.*) / Г. Я. Брызгалов, Л. С. Игнатович // Генетика и разведение

животных. – 2023. – № 4. – С. 31-38. Doi: 10.31043/2410-2733-2023-4-31-38.
4. Никиткина Е. В. Оценка качества спермы северных оленей (*Rangifer Tarandus*) с помощью CASA / Е. В. Никиткина, К. В. Племяшов, А. А. Крутикова, С. В. Тимофеева, Г. В. Ширяев, А. А. Мусидрай, В. В. Гончаров, О. К. Сергеева // Ветеринария. – 2018. – № 7. – С. 14-17.
5. Никиткина Е. В. Репродуктивные технологии в оленеводстве: проблемы и перспективы использования (обзор) / Е. В. Никиткина, В. В. Гончаров, А. А. Крутикова, О. К. Сергеева, А. А. Мусидрай, К. В. Племяшов // Генетика и разведение животных. – 2017. – № 1. – С. 9-14.
6. Flood P. F. Ovarian and placental production of progesterone and oestradiol during pregnancy in reindeer / P. F. Flood, N. J. Tyler et al. //Animal Reproduction Science. – 2005. – № 85 (1-2). – P. 147–162. doi:10.1016/j.anireprosci.2004.03/
7. Baksi S. N. Plasma calcemic hormones in mature female reindeer, *Rangifer Tarandus* / S. N. Baksi, J. W. Newbrey // Gen Comp Endocrinol. – 1988. – № 69(2). – P. 262-266, doi: 10.1016/0016-6480(88)90014-7.
8. Trondrud L. M. Stress responses to repeated captures in a wild ungulate / L. M. Trondrud, C. Ugland, E. Ropstad, L. E. Loe, S. Albon, A. Stien, A. L. Evans, P. M. Thorsby, V. Veiberg, R. J. Irvine, G. Pigeon // Sci. Rep. – 2022. – № 12(1). – P. 16289. doi: 10.1038/s41598-022-20270-z.
9. Федоров В. И. Особенности течения родов у северных домашних оленей в условиях северо-востока России (Якутия) / В. И. Федоров, Т. В. Ипполитова, Е. С. Слепцов, К. В. Племяшов / Генетика и разведение животных. – 2021. – № 1. – С. 23-28. doi: 10.31043/2410-2733-2021-1-23-28.
10. Ropstad E. Endocrinology of pregnancy and early pregnancy detection by reproductive hormones in reindeer (*Rangifer tarandus tarandus*) / E. Ropstad, V. Veiberg et al. // Theriogenology. – 2005. – № 63(6). – P. 1775–1788. doi:10.1016/j.theriogenology.2004
11. Stilley J. A. W. FSH Actions and Pregnancy: Looking Beyond Ovarian FSH Receptors / J. A. W. Stilley, D. L. Segaloff // Endocrinology. – 2018. – № 159(12). – P. 4033–4042. doi:10.1210/en.2018-00497.
12. Plunkett J. An evolutionary genomic approach to identify genes involved in human birth timing / J. Plunkett, S. Doniger, G. Orabona et al. // PLoS Genet. – 2011. – № 7 (4):e1001365.
13. Chun S. Fine-mapping an association of FSHR with preterm birth in a Finnish population / S. Chun, J. Plunkett, K. Teramo, L. J. Muglia, J. C. Fay // PLoS One. – 2013. – №8 (10):e78032.
14. Shipka M. P. Steroid hormone secretion during the ovulatory cycle and pregnancy in farmed Alaskan reindeer1 / M. P. Shipka, J. E. Rowell, M. C. Sousa // Journal of Animal Science. – 2007. – № 85(4). – 944–951. doi:10.2527/jas.2006-589.
15. Bubenik G. A. Seasonal Levels of Reproductive Hormones and Their Relationship to the Antler Cycle of Male and Female Reindeer (*Rangifer tarandus*) / G. A. Bubenik, D. Schams et al. // Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology. – 1997. – №116 (2). – P. 269–277. doi: 10.1016/s0305-0491(97)00183-1.
16. Crowe M. Resumption of Ovarian Cyclicity in Post-partum Beef and Dairy Cows / M. Crowe // Reproduction in Domestic Animals. – 2008. – № 43. – P. 20–28. doi:10.1111/j.1439-0531.2008.01210.x.

REFERENCES

1. Laishev K. A. Problems of brucellosis prevention in reindeer and ways to solve them / K. A. Laishev, V. A. Zabrodin, A. V. Prokudin, N. V. Vinokurov, E. S. Sleptsov // Genetics and animal breeding. – 2018. – № 1. – P. 37-45. doi: 10.31043/2410-2733-2018-1-37-45.
2. Bryzgalov G. Ya. Biometric characteristics of live weight in reindeer populations of the eastern Arctic and Subarctic / G. Ya. Bryzgalov, L. S. Ignatovich // Genetics and animal breeding. – 2023. – № 3. – P. 39-46. doi: 10.31043/2410-2733-2023-3-39-46.
3. Bryzgalov G. Ya. Reindeer of the extreme Northeast of Russia: the Koryak ecotype (*Rangifer Tarandus L.*) / G. Ya. Bryzgalov,

L. S. Ignatovich // Genetics and animal breeding. – 2023. – № 4. – P. 31-38. doi: 10.31043/2410-2733-2023-4-31-38.
4. Nikitkina E. V. Evaluation of reindeer sperm quality (rangifer tarandus) using CASA / E. V. Nikitkina, K. V. Plemyashov, A. A. Krutikova, S. V. Timofeeva, G. V. Shiryaev, A. A. Musidrai, V. V. Goncharov, O. K. Sergeeva // Veterinary science. – 2018. – № 7. – P. 14-17.
5. Nikitkina E. V. Reproductive technologies in reindeer herding: problems and prospects of use (review) / E. V. Nikitkina, V. V. Goncharov, A. A. Krutikova, O. K. Sergeeva, A. A. Musidrai, K. V. Plemyashov // Genetics and animal breeding. – 2017. – № 1. – P. 9-14.
6. Flood P. F. Ovarian and placental production of progesterone and oestradiol during pregnancy in reindeer / P. F. Flood, N. J. Tyler et al. //Animal Reproduction Science. – 2005. – № 85 (1-2). – P. 147–162. doi:10.1016/j.anireprosci.2004.03/
7. Baksi S. N. Plasma calcemic hormones in mature female reindeer, *Rangifer tarandus* / S. N. Baksi, J. W. Newbrey // Gen Comp Endocrinol. – 1988. – № 69(2). – P. 262-266, doi: 10.1016/0016-6480(88)90014-7.
8. Trondrud L. M. Stress responses to repeated captures in a wild ungulate / L. M. Trondrud, C. Ugland, E. Ropstad, L. E. Loe, S. Albon, A. Stien, A. L. Evans, P. M. Thorsby, V. Veiberg, R. J. Irvine, G. Pigeon // Sci Rep. – 2022. – № 12(1). – P. 16289. doi: 10.1038/s41598-022-20270-z.
9. Fedorov V. I. Peculiarities of the course of labor in northern domestic reindeer in the conditions of the north-east of Russia (Yakutia) / V. I. Fedorov, T. V. Ippolitova, E. S. Sleptsov, K. V. Plemyashov / Genetics and breeding of animals. – 2021. – № 1. – P. 23-28. doi: 10.31043/2410-2733-2021-1-23-28.
10. Ropstad E. Endocrinology of pregnancy and early pregnancy detection by reproductive hormones in reindeer (*Rangifer tarandus tarandus*) / E. Ropstad, V. Veiberg et al. // Theriogenology. – 2005. – № 63(6). – P. 1775–1788. doi:10.1016/j.theriogenology.2004
11. Stilley J. A. W. FSH Actions and Pregnancy: Looking Beyond Ovarian FSH Receptors / J. A. W. Stilley, D. L. Segaloff // Endocrinology. – 2018. – № 159(12). – P. 4033–4042. doi:10.1210/en.2018-00497.
12. Plunkett J. An evolutionary genomic approach to identify genes involved in human birth timing / J. Plunkett, S. Doniger, G. Orabona et al. // PLoS Genet. – 2011. – № 7 (4):e1001365.
13. Chun S. Fine-mapping an association of FSHR with preterm birth in a Finnish population / S. Chun, J. Plunkett, K. Teramo, L. J. Muglia, J. C. Fay // PLoS One. – 2013. – №8 (10):e78032.
14. Shipka M. P. Steroid hormone secretion during the ovulatory cycle and pregnancy in farmed Alaskan reindeer1 / M. P. Shipka, J. E. Rowell, M. C. Sousa // Journal of Animal Science. – 2007. – № 85(4). – 944–951. doi:10.2527/jas.2006-589.
15. Bubenik G. A. Seasonal Levels of Reproductive Hormones and Their Relationship to the Antler Cycle of Male and Female Reindeer (*Rangifer tarandus*) / G. A. Bubenik, D. Schams et al. // Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology. – 1997. – №116 (2). – P. 269–277. doi: 10.1016/s0305-0491(97)00183-1.
16. Crowe M. Resumption of Ovarian Cyclicity in Post-partum Beef and Dairy Cows / M. Crowe // Reproduction in Domestic Animals. – 2008. – № 43. – P. 20–28. doi:10.1111/j.1439-0531.2008.01210.x.

УДК: 636.082.451
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.4.467

ОСОБЕННОСТИ ГОРМОНАЛЬНОГО ФОНА САМОК СЕВЕРНОГО ОЛЕНЯ (*RANGIFER TARANDUS*) НА РАЗНЫХ СТАДИЯХ ПОЛОВОГО ЦИКЛА

Крутикова А.А.[1,2 *] – канд. биол. наук, доц. каф. генетических и репродуктивных биотехнологий, ст. науч. сотр. лаб. молекулярной генетики (ORCID 0000-0003-2561-145x); **Беликова А.О.**[1] – асп., преп. каф. генетических и репродуктивных биотехнологий (ORCID 0009-0006-9173-6129); **Пегливанян Г.К.**[2] – мл. науч. сотр. лаб. молекулярной генетики (ORCID 0000-0001-5194-4851); **Ширяев Г.В**.[2] – канд. с.-х. наук, ученый секретарь (ORCID 0000-0002-4698-3917); **Никиткина Е.В.**[2] – канд. биол. наук, вед. науч. сотр. лаб. биологии развития (ORCID 0000-0002-8496-5277); **Мусидрай А.А.**[3] – канд. биол. наук, вед. науч. сотр. отд. жив-ва и рац. природопользования Арктики (0000-0002-0079-9938)**; Богданова С.С.**[2] **–** мл. науч. сотр. лаб. биологии развития

[1] ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины»;
[2] Всероссийский научно-исследовательский институт генетики и разведения сельскохозяйственных животных – филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр животноводства – ВИЖ имени академика Л. К. Эрнста»;
[3] ФГБУН «Санкт-Петербургский Федеральный исследовательский центр РАН»

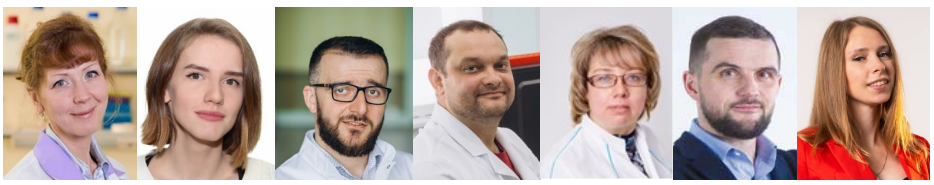
[*] anntim2575@mail.ru

Ключевые слова: *репродуктивные функции, олени, эстрадиол, прогестерон, ФСГ, ЛГ.*

Key words: *reproductive functions, reindeer, estradiol, progesterone, FSH, LH.*

Финансирование: *Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 22-16-00085, https://rscf.ru/project/22-16-00085/*

Поступила: 08.10.2024 **Принята к публикации: 02.12.2024**
Опубликована онлайн:16.12.2024



РЕФЕРАТ

Северные олени (*Rangifer tarandus*) являются полициклическим видом животных с ограниченным сезоном размножения. Хотя основной сезон полового возбуждения у оленей приходится на осень, начало этого периода варьируется даже внутри одной географической территории, что обусловлено кормовыми факторами, связанными с упи-

танностью животных, а также температурными, световыми и другими климатическими условиями. Поэтому глубокое понимание половых циклов самок оленей является важным условием для управления репродуктивными процессами, в том числе с помощью вспомогательных репродуктивных технологий. Измерение уровней половых гормонов является критически важным аспектом в практике искусственного осеменения животных, поскольку гормональный статус оказывает значительное влияние на репродуктивные функции. Целью нашего исследования является изучение концентрации половых гормонов: эстрадиола, прогестерона, лютеинизирующего гормона (ЛГ) – в крови важенок в летний и осенний периоды. Объектом исследования выступили клинически здоровые самки домашнего северного оленя в количестве трёх голов (n=3), содержащиеся на территории ВНИИ генетики и разведения животных (Санкт-Петербург, г. Пушкин). Кровь для оценки гормонального статуса животных брали в период с июня по октябрь, промежуток времени между заборами крови составлял 1 неделю, кровь брали в одно и то же время, перед кормлением, в один и тот же день недели. Уровень половых гормонов определялся с помощью иммуноферментного анализа. Исходя из изменений уровней ЛГ и прогестерона, протекание половых циклов у исследованных животных пришелся на период с июля по конец октября. Динамика изменения уровня ЛГ в начале полового сезона отличалась у всех трёх животных. У всех животных циклические подъемы прогестерона наблюдались в среднем каждые 14 дней с началом полового сезона. Все исследованные гормоны у важенок продемонстрировали умеренную и слабую достоверные корреляции.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Северные олени (*Rangifer tarandus*) являются полициклическим видом животных с ограниченным сезоном размножения. Половые циклы у самок наступают в определённые временные промежутки. Эструс у самок оленей может быть кратковременным и проявляется в виде поведения, характерного для охоты, включая вокализацию и активное привлечение самцов. Если оплодотворение не произошло в течение первого полового цикла, самки способны к повторным эструсам через определенные интервалы времени, что обеспечивает возможность оплодотворения несколько раз в течение сезона размножения. Хотя основной сезон половой охоты у оленей приходится на осень, начало этого периода варьируется даже внутри одной географической территории, что обусловлено кормовыми факторами, связанными с упитанностью животных, а также температурными, световыми и другими климатическими условиями [1-4]. Поэтому глубокое понимание регуляции половых циклов самок оленей с помощью изменений гормонального статуса является актуальным и значимым для управления репродуктивными процессами, в том числе с помощью вспомогательных репродуктивных технологий для оптимизации селекционного процесса с целью увеличения продуктивности популяций.

Измерение уровня половых гормонов является критически важным аспектом для глубокого понимания репродуктивных процессов и использования полученных знаний в практике искусственного осеменения животных, поскольку гормональный статус играет решающую регуляторную роль в воспроизводительной функции высших млекопитающих, в том числе, северных оленей, у которых она наименее изучена из всех продуктивных животных. Определение концентраций таких гормонов, как эстрогены, прогестерон и лютеинизирующий гормон (ЛГ), позволяет оценить оптимальные временные рамки для проведения осеменения, что существенно увеличивает вероятность успешного оплодотворения.

Кроме того, мониторинг гормонального фона помогает выявить возможные патологии репродуктивной системы, что позволяет принимать меры по коррекции и улучшению фертильности. Использование гормонального мониторинга в сочетании с современными методами осеменения способствует повышению эффектив-

ности репродукции, улучшению генетического потенциала поголовья и увеличению продуктивности сельскохозяйственных животных. Таким образом, оценка уровней половых гормонов является необходимым условием для успешного внедрения и развития программ искусственного осеменения в животноводстве, в том числе в оленеводстве.

Целью нашего исследования является изучение концентрации половых гормонов: эстрадиола, прогестерона, ЛГ – в крови важенок в летний и осенний периоды.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Исследование проводилось на базе Всероссийского научно-исследовательского института генетики и разведения сельскохозяйственных животных – филиала Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр животноводства – ВИЖ имени академика Л. К. Эрнста» (ВНИИГРЖ). Объектом исследования выступили клинически здоровые самки домашнего северного оленя в количестве трёх голов (n=3), содержащиеся на территории ВНИИГРЖ (г. Пушкин). На момент начала взятия образцов животные стельными не были. Возраст важенок составлял 4-5 лет. Условия кормления и содержания животных соответствовали зоотехническим нормам.

Кровь для оценки гормонального статуса животных брали из яремной вены утром до кормления в совокупности 20 раз в период с июня по октябрь, промежуток времени между заборами крови составлял в среднем 1 неделю. Уровень половых гормонов определялся с помощью иммуноферментного анализа, применяя коммерческие наборы реагентов. Определение уровней прогестерона и эстрадиола в крови животных производили с помощью наборов компании «Алкор-Био» (Россия) «СтероидИФА-прогестерон» и «СтероидИФА-эстрадиол», методика определения соответствовала приложенным к наборам инструкциям. Определение уровня ЛГ в крови животных на разных стадиях полового цикла проводили с помощью набора «ELISA Kit for Luteinizing Hormone (LH)» от Cloud-Clone Corp. (КНР) согласно заводской инструкции.

Статистическая обработка результатов измерения уровня гормонов проводилась в среде разработки RStudio на языке программирования R. Для оценки достоверности отличий в концентрациях уровней гормонов между животными на разных этапах полового цикла применялся тест Манна-Уитни. Коэффициент корреляции Спирмена был использован для подсчета взаимосвязи между уровнями отдельных гормонов. Уровень статической значимости был установлен на 0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Нами была проведена оценка гормонального статуса самок северного оленя в летний и осенний периоды, результаты измерений отображены на графиках ниже (Рис.1, Рис.2).

Исходя из изменений уровней ЛГ и прогестерона, было определено, что период протекания половых циклов у исследованных животных пришелся на период с июля по конец октября, что несколько шире границ, описанных для важенок, содержащихся на территории северных регионов [5-7], что может объясняться разницей в климатических условиях и уровнях упитанности животных.

Наблюдались достоверные отличия в уровнях половых гормонов отдельных животных, что может указывать на отсутствие синхронности протекания половых циклов между исследованными важенками в экспериментальных условиях, а также на возможные индивидуальные отличия в функционировании половой системы животных.

У всех трёх животных были обнаружены отличия в динамике изменения уровня ЛГ в летнем периоде. Так, у одного из животных было обнаружено плавное нарастание ЛГ в плазме крови от июля к августу, которому сопутствовало появление отдельных пиков прогестерона, указывающих на формирование жел-

тых тел. У другого животного резкое повышение уровня ЛГ в середине июля повлекло за собой поддержание стабильно высокого уровня данного гормона, сопровождающееся, судя по кривой, описывающей уровень прогестерона, формированием желтых тел. У третьего животного первый подъем уровня лютеинизирующего гормона пришёлся на начало июля, но не повлёк за собой повышения прогестерона, что указывает на отсутствие образования желтого тела, что произошло только после второго пика, пришедшего на август. Полученные результаты показывают, что окончание периода анэструса и вход в период гона у самок северного оленя характеризуется асинхронностью формирования гормонального статуса по основным половым гормонам, регулирующим протекание половых циклов у самок млекопитающих. При этом наблюдались индивидуальные различия на стадии становления гормонального статуса.

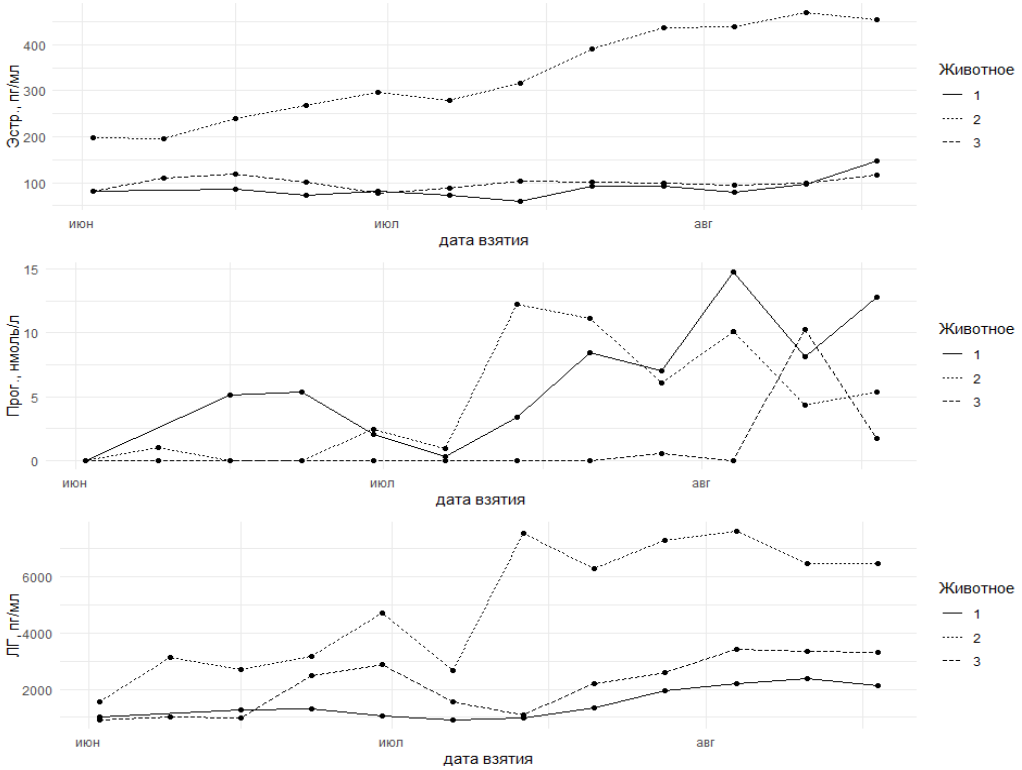


Рисунок 1 – График, демонстрирующих уровень половых гормонов трёх важенок в летний период.

У всех животных циклические подъемы прогестерона наблюдались в среднем каждые 14 дней с началом полового сезона. Уровень этого гормона у всех животных находился в рамках от 0 до 19 нмоль/л.

У животных уровни всех половых гормонов были положительно скоррелированы, так умеренная положительная корреляция наблюдалась между уровнями ЛГ и прогестерона (r = 0,34, p-value = 0,006), ЛГ и эстрадиола (r = 0,49, p-value = 0,0005), слабая положительная корреляция - между уровнями прогестерона и эстрадиола (r = 0,26, p-value = 0,038).

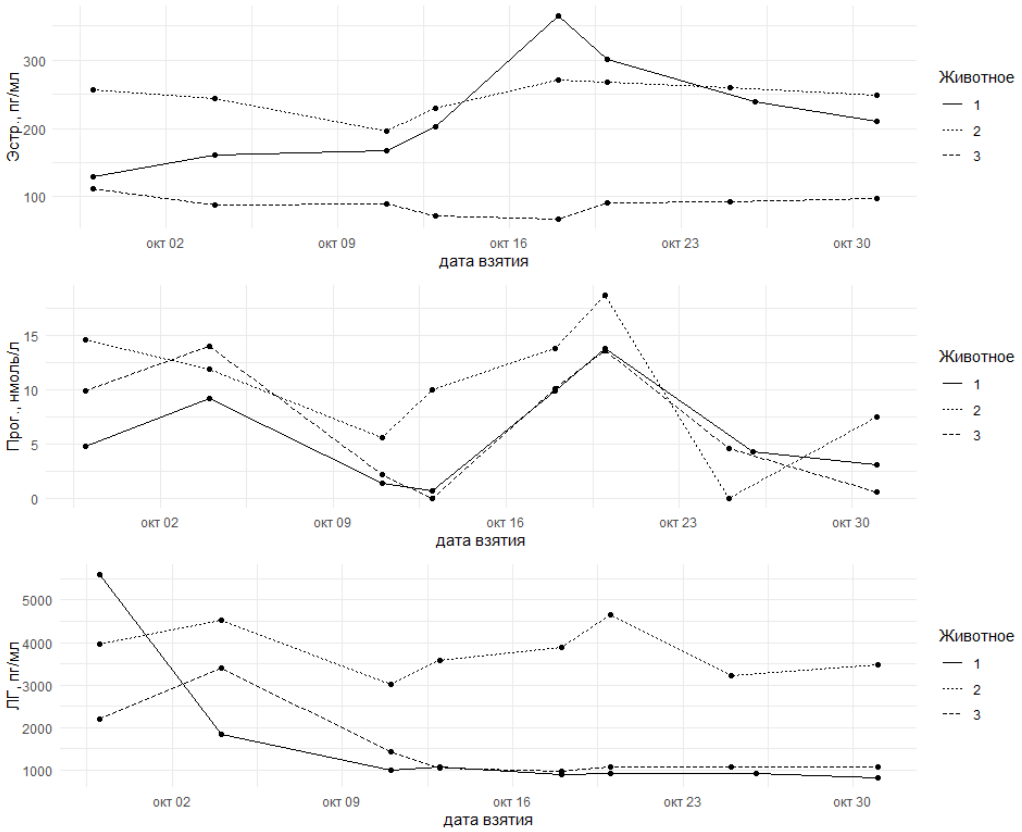


Рисунок 2 – График, демонстрирующих уровень половых гормонов трёх важенок в осенний период.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Таким образом, нами было проведено исследование уровня трёх половых гормонов: ЛГ, эстрадиола и прогестерона – в плазме крови важенок в летний и осенний периоды, содержащихся на территории г.Пушкин. Протекание половых циклов у исследованных животных пришелся на период с июля по конец октября. Динамика изменения уровня ЛГ в начале полового сезона отличалась у всех трёх животных. У всех животных циклические подъемы прогестерона наблюдались в среднем каждые 14 дней с началом полового сезона. Все исследованные гормоны у важенок продемонстрировали умеренную и слабую достоверные корреляции. Процесс формирования гормонального статуса периода половой охоты характеризовался асинхронностью и имел индивидуальные различия.

FEATURES OF THE LEVELS OF SEX HORMONES IN FEMALE REINDEER (RANGIFER TARANDUS) AT DIFFERENT STAGES OF THE ESTROUS CYCLE

Krutikova A.A.[1]*** –** PhD of Biological Sciences, Ass. Prof. of Dep. of Genetic and Reproductive Biotechnology (ORCID 0000-0003-2561-145X); **Belikova A.O.**[2] **–** PhD-student, teacher of Dep. of Genetic and Reproductive Biotechnology (ORCID 0009-0006-9173-6129); **Peglivanian G.K.**[1] – Junior Researcher, Laboratory of Molecular Genetics (ORCID 0000-0001-5194-4851); **Shiriaev G.V.**[1] – PhD of Agricultural Sciences, Senior Researcher, Biochemistry

Group (ORCID 0000-0002-4698-3917); **Nikitkina E.V.**[1] – PhD of Biological Sciences, Leading Researcher, Laboratory of Developmental Biology (ORCID 0000-0002-8496-5277); **Musidray A.A.**[3] – PhD of Biological Sciences, Leading Researcher, Department of Animal Husbandry and Environmental Management of the Arctic (ORCID 0000-0002-0079-9938)**; Bogdanova S.S.**[1] – Junior Researcher, Laboratory of Developmental Biology

[1] Russian Research Institute of Farm Animal Genetics and Breeding — Branch of the L.K. Ernst Federal Research Center for Animal Husbandry;

[2] St. Petersburg State University of Veterinary Medicine

[3] St. Petersburg Federal Research Center Russian Academy of Sciences,

[*] anntim2575@mail.ru

Financing: *The study was supported by the grant of the Russian Science Foundation No. 22-16-00085, https://rscf.ru/project/22-16-00085/*

ABSTRACT

Reindeer (*Rangifer tarandus*) are a polycyclic animal species with a limited breeding season. Although the main reproductive season for reindeer occurs in autumn, the onset of this period varies even within one geographical area, which is due to feeding factors related to the fatness of animals, as well as temperature, light and other climatic conditions. Therefore, a thorough understanding of the female reindeer reproductive cycles is important for managing reproductive processes, including through assisted reproductive technologies, and increasing the productivity of populations. Hormone levels is a critical aspect in the practice of artificial insemination of animals, since hormonal status has a significant impact on reproductive functions. The aim of our study is to study the hormones concentration: estradiol, progesterone, luteinizing hormone (LH) - in the blood of female reindeer in summer and autumn. The object of the study were clinically healthy female domestic reindeer (n = 3), that live in Pushkin. Blood was taken from June to October, the time interval between blood sampling was on average 1 week. The level of hormones was determined using enzyme immunoassay. Based on changes in LH and progesterone levels, the estrus cycles in the studied animals occurred from July to late October. The dynamics of changes in LH levels at the beginning of the rut season differed in all three animals. In all animals, cyclic increases in progesterone were observed on average every 14 days with the onset of the rut season. All the studied hormones in reindeer female demonstrated moderate and weak reliable correlations.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Федоров, В.И. Особенности полового цикла северных домашних оленей эвенской породы на Северо-Востоке России / В.И. Федоров, Е.С. Слепцов, Н.В. Винокуров, И.И. Григорьев, Н.Н. Григорьева // Ветеринария и кормление. – 2020. – №3. – С. 50-52 – DOI 10.30917/ATT-VK-1814-9588-2020-3-14. Режим доступа: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=43024614

2. Федоров В. И. Особенности течения родов у северных домашних оленей в условиях северо-востока России (Якутия) / В. И. Федоров, Т. В. Ипполитова, Е. С. Слепцов, К. В. Племяшов / Генетика и разведение животных. – 2021. – № 1. – С. 23-28. doi: 10.31043/2410-2733-2021-1-23-28.

3. Слепцов, Е.С. Изучение сроков отела и гона домашних северных оленей в различных зонах Республики Саха (Якутия) / Е.С. Слепцов, Н.В.Винокуров, В.И. Федоров // Аграрный вестник Урала. – 2019. – №8 (187). – С. 45-49. – DOI 10.32417/article_5d908d29e28568.13770453. Режим доступа: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=40829414

4. Никиткина, Е.В. Стимуляция половой охоты у северных оленей эвенкийской и ненецкой пород / Е.В. Никиткина, В.В. Гончаров // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. – 2014. – №3. – С. 134-137. Режим доступа: https://www.elibrary.ru/item.asp?

id=22149099
5.Никиткина Е. В. Репродуктивные технологии в оленеводстве: проблемы и перспективы использования (обзор) / Е. В. Никиткина, В. В. Гончаров, А. А. Крутикова, О. К. Сергеева, А. А. Мусидрай, К. В. Племяшов // Генетика и раз-ведение животных. – 2017. – № 1. – С. 9-14.
6.Bubenik GA, Schams D, White RJ, Rowell J, Blake J, Bartos L. Seasonal levels of reproductive hormones and their relationship to the antler cycle of male and female reindeer (Rangifer tarandus). Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol. 1997 Feb;116 (2):269-77. doi: 10.1016/s0305-0491(97) 00183-1.
7.Ropstad E, Forsberg M, Sire JE, Kindahl H, Nilsen T, Pedersen O, Edqvist LE. Plasma concentrations of progesterone, oestradiol, LH and 15-ketodihydro-PGF2 alpha in Norwegian semi-domestic reindeer (Rangifer tarandus tarandus) during their first reproductive season. J Reprod Fertil. 1995.Nov;105(2):307-14. doi: 10.1530/ jrf.0.1050307.

REFERENCES

1.Fedorov V.I. Osobennosti polovogo cikla severnyh domashnih olenej evenskoj porody na Severo-Vostoke Rossii [Features of the sexual cycle of northern domestic reindeer of the Even breed in the North-East of Russia] / V.I. Fedorov, E.S. Sleptsov, N.V. Vinokurov, I.I. Grigoriev, N.N. Grigorieva // Veterinaria i kormlenie [Veterinary and feeding], 2020, no. 3, pp. 50-52. DOI 10.30917/ATT-VK-1814-9588-2020-3-14.
2.Fedorov V. I. Peculiarities of the course of labor in northern domestic reindeer in the conditions of the north-east of Russia (Yakutia) / V. I. Fedorov, T. V. Ippolito-va, E. S. Sleptsov, K. V. Plemyashov / Genetics and breeding of animals. – 2021. – № 1. – P. 23-28. doi: 10.31043/2410-2733-2021-1-23-28.
3.Sleptsov E.S. Izuchenie srokov otela i gona domashnih severnyh olenej v razlichnyh zonah Respubliki Saha (Yakutiya) [Study of the timing of calving and rutting of domestic reindeer in various zones of the Republic of Sakha (Yakutia)] / E.S. Sleptsov, N.V. Vinokurov, V.I. Fedorov // Agrarnyj vestnik Urala [Agrarian Bulletin of the Urals], 2019, no. 8(187), pp. 45-49. DOI 10.32417/
article_5d908d29e28568.13770453.
4.Nikitkina E.V. Ctimulyaciya polovoj ohoty u severnyh olenej evenkijskoj i neneckoj porod [Stimulation of heat in reindeer of the Evenki and Nenets breeds] / E.V. Nikitkina, V.V. Goncharov // Voprosy normativno-pravovogo regulirovaniya v veterinarii [Issues of legal regulation in veterinary medicine], 2014, no. 3, pp. 134-137.
5.Nikitkina E. V. Reproductive technologies in reindeer herding: problems and pro-spects of use (review) / E. V. Nikitkina, V. V. Goncharov, A. A. Krutikova, O. K. Sergeeva, A. A. Musidrai, K. V. Plemyashov // Genetics and animal breeding. – 2017. – № 1. – P. 9-14.
6.Bubenik GA, Schams D, White RJ, Rowell J, Blake J, Bartos L. Seasonal levels of reproductive hormones and their relationship to the antler cycle of male and female reindeer (Rangifer tarandus). Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol. 1997 Feb;116 (2):269-77. doi: 10.1016/s0305-0491(97) 00183-1.
7.Ropstad E, Forsberg M, Sire JE, Kindahl H, Nilsen T, Pedersen O, Edqvist LE. Plasma concentrations of progesterone, oestradiol, LH and 15-ketodihydro-PGF2 alpha in Norwegian semi-domestic reindeer (Rangifer tarandus tarandus) during their first reproductive season. J Reprod Fertil. 1995.Nov;105(2):307-14. doi: 10.1530/ jrf.0.1050307.

УДК: 577.171.52
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.4.474

СРАВНЕНИЕ УРОВНЕЙ ПОЛОВЫХ ГОРМОНОВ У САМОК СЕВЕРНОГО ОЛЕНЯ ПРИ АНЭСТРУСЕ И В ПЕРИОД ГОНА

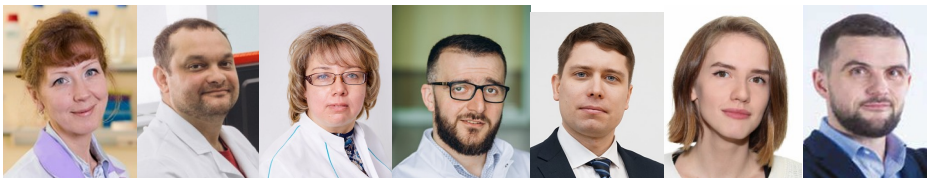
Крутикова А.А.[1 *] – канд. биол. наук, ст. науч. сотр. лаб. молекулярной генетики (ORCID 0000-0003-2561-145X); **Ширяев Г.В.**[1] – канд. с.-х. наук, ученый секретарь (ORCID 0000-0002-4698-3917); **Никиткина Е.В.**[1] – канд. биол. наук, вед. науч. сотр. лаб. биологии развития (ORCID 0000-0002-8496-5277); **Пегливанян Г.К.**[1] – мл. науч. сотр. лаб. молекулярной генетики (ORCID 0000-0001-5194-4851); **Беликова А.О.**[3] – асп., преп. каф. генетических и репродуктивных биотехнологий (ORCID 0009-0006-9173-6129); **Мусидрай А.А.**[2] – канд. биол. наук, вед. науч. сотр. отд. жив-ва и рац. природопользования Арктики (0000-0002-0079-9938); **Никитин Г.С.**[3] – канд. ветеринар. наук, доц. каф. генетических и репродуктивных биотехнологий

[1] Всероссийский научно-исследовательский институт генетики и разведения сельскохозяйственных животных – филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр животноводства – ВИЖ имени академика Л. К. Эрнста»;
[2] ФГБУН «Санкт-Петербургский Федеральный исследовательский центр РАН»,
[3] ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины»

[*]anntim2575@mail.ru

Ключевые слова: *репродуктивная система, домашний северный олень, эстрадиол, прогестерон, лютеинизирующий гормон.*
Key words: *reproductive system, domestic reindeer, estradiol, progesterone, luteinizing hormone.*
Финансирование: *Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 22-16-00085, https://rscf.ru/project/22-16-00085/*

Поступила: 08.11.2024 **Принята к публикации: 02.12.2024**
Опубликована онлайн:16.12.2024



РЕФЕРАТ

Оленеводство является исторически закрепившейся основной отраслью животноводства северных регионов Российской Федерации. Несмотря на активное разведение домашнего северного оленя в пределах северных широт нашей страны, особенности

биологических процессов данного вида животных остаются не до конца изученными. Особую важность имеет подробное рассмотрение физиологии репродуктивной системы, актуальное в свете перспектив внедрения вспомогательных репродуктивных технологий в практику оленеводства с целью интенсификации селекционного процесса. Вспомогательные репродуктивные технологии в оленеводстве на данный момент не имеют применения даже в племенных стадах в связи с низкой степенью разработанности, хотя их внедрение способно значительно снизить временные и финансовые затраты на селекционно-племенную работу, проводимую с целью совершенствования продуктивных качеств пород домашнего северного оленя. У млекопитающих половой процесс находится под сложным соподчиненным контролем нейрогуморальных механизмов, в основе которых лежит изменение гормонального статуса, то есть уровней и соотношений половых гормонов животного в соответствии с физиологическим циклом. Северный олень является самым малоизученным продуктивным сельскохозяйственным животным с точки зрения репродукции. Актуальным направлением на данный момент является изучение работы гормональной регуляции репродуктивных процессов у важенок (самок северного оленя) в разных физиологических состояниях, таких как анэструс, гон, стельность, послеотельный период. Нами была исследована концентрация половых гормонов: эстрадиола, прогестерона и лютеинизирующего гормона (ЛГ) в крови важенок перед гоном (раннелетний, раннеосенний и в начале гона). Уровни половых гормонов определяли при помощи иммуноферментного анализа. В ходе исследования был определен уровень половых гормонов у физиологически здоровых самок домашнего северного оленя в раннелетний и раннеосенний периоды и в начале гона. Были получены результаты, показывающие статистически достоверное понижение концентрации прогестерона и эстрадиола. Зафиксировано снижение ЛГ в теплый период с повышением к периоду гона.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Оленеводство является исторически закрепившейся основной отраслью животноводства северных регионов Российской Федерации, которая представляет собой немаловажный источник пищевой продукции для населения, проживающего на территориях со специфическими климатическими условиями, где затруднительно ведение иных форм хозяйства [1-3]. Кроме биологически полноценного мяса, от домашнего северного оленя (*Rangifer tarandus*) получают кожевенное, меховое сырье и панты. Коренные народы арктических регионов зачастую используют данный вид животных для передвижения по рельефу тундры, обеспечивая мобильность оленеводческого стойбища. Перспективно оленеводство в средней полосе России. Будучи скороспелыми и неприхотливыми к условиям содержания животными, северные олени также наносят меньший вред пастбищам, чем крупный рогатый скот, потребляя сравнительно меньший объем кормов. Таким образом, разведение данных животных на территории европейской части России может стать экономически выгодным и экологически благоприятным дополнением основных отраслей животноводства.

Несмотря на активное разведение домашнего северного оленя в пределах северных широт нашей страны, особенности биологических процессов данного вида животных остаются не до конца изученными. В частности, особую важность имеет подробное рассмотрение физиологии репродуктивной системы, актуальное в свете перспектив развития вспомогательных репродуктивных технологий, направленных на значительную интенсификацию селекции. Как правило, в оленеводстве практикуется стадная нерегулируемая случка, в которую зачастую запускаются молодые непроверенные самцы и самки [4], что в значительной степени затрудняет процесс селекции и улучшения отечественных пород оленя. Вспомогательные репродуктивные технологии в оленеводстве на данный момент не имеют применения в связи с низкой степенью их разработанности, хотя внедрение прото-

колов искусственного осеменения и эмбриотрансфера способно значительно снизить временные и финансовые затраты, осложняющие селекционный процесс в оленеводстве, например, на завоз племенных хоров из отдаленных регионов и рисками, связанными с их акклиматизацией [5].

Разработка и применение вспомогательных репродуктивных технологий требует глубокого знания физиологических изменений состояний репродуктивной системы животного во время полового цикла, стельности и послеродового периода. У млекопитающих все обозначенные процессы находятся под сложным контролем нейрогуморальных механизмов, в основе которых лежит изменение уровней половых гормонов. Данные биологически активные вещества оказывают всеобъемлющее влияние на репродуктивную систему самки, а нарушения в их обмене ведут к утрате воспроизводительных функций.

Таким образом, целью нашего исследования является изучение концентрации половых гормонов: эстрадиола, прогестерона и ЛГ в крови важенок в предотельный период.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Исследование было проведено на базе Всероссийского научно-исследовательского института генетики и разведения сельскохозяйственных животных – филиала Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр животноводства – ВИЖ имени академика Л. К. Эрнста». Объектом для исследования стали клинически здоровые самки домашнего северного оленя частного оленеводческого хозяйства, находящегося в Республике Бурятия. Забор крови у важенок для исследований проводили летом (1-ая группа; 06.06.2022; n=20); ранней осенью (2-ая группа; 17.09.2022; n=10) и в начале гона (3-я группа; 20.10.2022; n=11). Возраст важенок составлял 5–6 лет. Условия содержания и кормления были одинаковы для всех животных обоих групп. Кровь для исследования собиралась из яремной вены в специализированные вакуумные пробирки с коагулянтом, затем кровь центрифугировали (3000 об/мин, 10 минут), сыворотку отбирали в криопробирки, замораживали при – 20^0C, хранили до проведения анализа в морозильной камере при – 80^0C.

Уровень половых гормонов определяли при помощи иммуноферментного анализа на ИФА-спектрофотометре FlexA-200 «Allsheng» (КНР). Для определения уровня эстрадиола и прогестерона использовали наборы «Алкор-Био» (Россия). Для измерения концентрации ЛГ применяли наборы Cloud-Clone Corp. (КНР).

Полученные данные обрабатывали с помощью программы IBM SPSS Statistics V26 (США) с применением непараметрических методов Краскела-Уоллиса и Манна-Уитни. Нормальность распределения данных оценивалась путем проведения теста Box plot. Уровень статической достоверности различий был установлен на 0,05 и 0,001.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Нами был определен уровень половых гормонов в крови самок северного оленя в предотельный период и вскоре после отёла. Результаты представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Содержание половых гормонов в сыворотке крови самок северных оленей

Показатель	1-ая группа	2-ая группа	3-ья группа
Эстрадиол, пг/мл	132,77±15,83	185,16±42,42[b]	89,79±17,39[b]
Прогестерон, нмоль/л	4,22±0,35[a]	9,89±2,38[a]	14,93±5,22
ЛГ, пг/мл	17301,25±1771,56[ad]	1416,84±67,86[ac]	6968,17±1128,75[cd]

Примечания: [a, b] $p<0,05$; [c, d] $p<0,001$.

Данные таблицы 1 демонстрируют, что эндокринные регулирующие процессы в организме важенок северных оленей на протяжении нескольких месяцев претерпевают изменения. Рассмотрены три интересных с физиологической точки зрения периоды – раннелетний, в котором происходит постепенное замедление метаболических процессов; раннеосенний, к которому постепенно организм самок оленей начинает метаболически «пробуждаться», и период гон, в который происходит спаривание животных.

Северные олени являются животными, которые относятся к группе видов, подверженных фотопериодизму – в период короткого светового дня самки начинают активно циклировать, что проявляется половой охотой с конца сентября до начала ноября. В условиях короткого светового дня шишковидной железой (эпифизом) начинает активнее вырабатываться мелатонин, способный напрямую воздействовать на мозговую кору наподчечников, повышая уровень стероидных гормонов. Помимо шишковидной железы, мелатонин также производят и депонируют яичники, костный мозг, энтерохромаффинные клетки ЖКТ, но плазменную концентрацию формируют главным образом эпифиз. У различных видов млекопитающих мелатонин способен регулировать репродуктивную функцию через активацию рецепторов гипоталамо-гипофизарной области, которая, как известно, управляет активностью гонад посредством выработки гонадотропных гормонов, а также через регуляцию секреции эстрогенов яичниками [6, 7]. Кроме того, наличие рецепторов к мелатонину в клетках антральных фолликулов и желтого тела в яичниках [8] также предполагает прямое регулирующее действие этого гормона на функцию яичников. Наличие рецепторов мелатонина в ЦНС и половых железах, а также рецепторов к эстрогенам в эпифизе, отражают сложную двустороннюю взаимосвязь между секрецией мелатонина и эстрогенов. К примеру, в лютеоцитах человека экспрессируются две формы рецепторов к мелатонину. В этих клетках мелатонин модулирует экспрессию рецепторов ЛГ и гонадотропин-рилизинг гормона. В эксперименте с культивированными гранулезными человеческими клетками мелатонин снижает ЛГ- и ФСГ-стимулированную секрецию эстрадиола, что свидетельствует в пользу возможного подавления функции яичников данным гормоном [8].

Учитывая эти литературные данные, можно убедиться, что ранним летом, когда начинается метаболическое «торможение» репродуктивной функции уровни гормонов находятся еще на довольно высоком уровне. В дальнейшем происходит их снижение. Ранней осенью происходит возобновление цикличности, что можно увидеть по концентрации стероидных гормонов.

Во второй и третьей группах животных наблюдаются статистически достоверные отличия в уровнях эстрадиола ($p<0,05$) и ЛГ ($p<0,001$). Обращает на себя внимание концентрация ЛГ, которая в ранний летний период была более чем в 10 раз выше в сравнении с ранним осенним периодом и в 2,5 раза выше в сравнении с животными в период начала гона. Данный гликопротеид вырабатывается аденогипофизом и участвует в процессе восстановления половых органов самок в послеотельном периоде. Ранее было установлено, что у копытных при недостаточном выделении в кровь ЛГ происходит задержка инволюции матки и возобновления функций яичников [5]. Также это может быть объяснено и снижением действия мелатонина в теплый период. Концентрации эстрадиола и ЛГ повышена в крови животных в летний период и снижена у животных второй группы. В раннелетний период наблюдается уменьшение концентрации прогестерона, что согласуется с литературными данными [4]. Стоит отметить, что концентрации половых гормонов важенок в начале гона говорят о том, что животные ранее возобновили половой цикл и находятся в состоянии функционирующего желтого тела.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

В ходе исследования был определен

уровень половых гормонов у физиологически здоровых самок домашнего северного оленя в раннелетний и раннеосенний периоды и в начале гона. Были получены результаты, показывающие статистически достоверное понижение концентрации прогестерона и эстрадиола. Зафиксировано снижение ЛГ в теплый период с повышением к периоду гона.

COMPARISON OF SEX HORMONES LEVELS IN FEMALE REINDEER DURING ANESTRUS AND THE BREEDING PERIOD

Krutikova A.A.[1, *] – PhD of Biological Sciences, Senior Researcher, Laboratory of Molecular Genetics (ORCID 0000-0003-2561-145X); **Shiriaev G.V.**[1] – PhD of Agricultural Sciences, Senior Researcher, Biochemistry Group (ORCID 0000-0002-4698-3917); **Nikitkina E.V.**[1] – PhD of Biological Sciences, Leading Researcher, Laboratory of Developmental Biology (ORCID 0000-0002-8496-5277); **Peglivanian G.K.**[1] – Junior Researcher, Laboratory of Molecular Genetics (ORCID 0000-0001-5194-4851); **Belikova A.O.**[3] **–** PhD-student, teacher of Dep. of Genetic and Reproductive Biotechnology (ORCID 0009-0006-9173-6129); **Musidray A.A.**[2] – PhD of Biological Sciences, Leading Researcher, Department of Animal Husbandry and Environmental Management of the Arctic (ORCID 0000-0002-0079-9938)**; Nikitin G.S.**[3] – PhD of Veterinary Sciences, Associate Professor of the Department of Genetic and Reproductive Biotechnologies (ORCID 0000-0002-2080-2970)

[1] Russian Research Institute of Farm Animal Genetics and Breeding — Branch of the L.K. Ernst Federal Research Center for Animal Husbandry;

[2] St. Petersburg Federal Research Center Russian Academy of Sciences,

[3] St. Petersburg State University of Veterinary Medicine

[*]anntim2575@mail.ru

Funding: *The research was carried out at the expense of a grant from the Russian Science Foundation No. 22-16-00085, https://rscf.ru/project/22-16-00085/*

ABSTRACT

Reindeer husbandry is a historically established main branch of animal husbandry in the northern regions of the Russian Federation. Despite the active of domestic reindeer breeding within the northern latitudes of our country, the features of the biological processes of this animal species remain incompletely understood. The importance is a detailed study the reproductive system physiology, which is relevant in light of the prospects for introducing assisted reproductive technologies into reindeer husbandry practice in order to intensify the selection process. Assisted reproductive technologies in reindeer husbandry are currently not used even in breeding herds due to the low level of development, although their introduction can significantly reduce the time and financial costs of selection and breeding work carried out to improve the productive qualities of domestic reindeer breeds. In mammals, the sexual process is under the complex subordinate control of neurohumoral mechanisms, which are based on changes in hormonal status, that is, the levels and ratios of the hormones in accordance with the physiological cycle. Reindeer are the least studied productive farm animals in terms of reproduction. The current trend is to study the hormonal regulation of reproductive processes in female reindeer in different physiological states, such as anestrus, rut, pregnancy, and the post-calving period. We studied the concentration of estradiol, progesterone, and luteinizing hormone (LH) in the blood of female reindeer before the rut (early summer, early autumn, and at the beginning of the rut). The levels of hormones were determined using enzyme immunoassay. The study determined the level hormones in physiologically healthy female domestic reindeer in the early summer and early autumn periods and at the beginning of the rut. The results obtained showed a statistically significant decrease in the concentration of progesterone and estradiol. A decrease in LH was recorded in the warm period with an increase towards the breeding period.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1.Никиткина Е. В. Репродуктивные технологии в оленеводстве: проблемы и перспективы использования (обзор) / Е. В. Никиткина, В. В. Гончаров, А. А. Крутикова, О. К. Сергеева, А. А. Мусидрай, К. В. Племяшов // Генетика и разведение животных. – 2017. – № 1. – С. 9-14.

2.Федоров В. И. Особенности течения родов у северных домашних оленей в условиях северо-востока России (Якутия) / В. И. Федоров, Т. В. Ипполитова, Е. С. Слепцов, К. В. Племяшов / Генетика и разведение животных. – 2021. – № 1. – С. 23-28. doi: 10.31043/2410-2733-2021-1-23-28.

3.Брызгалов Г. Я. Олени крайнего северо-востока России: корякский экотип (Rangifer Tarandus L.) / Г. Я. Брызгалов, Л. С. Игнатович // Генетика и разведение животных. – 2023. – № 4. – С. 31-38. Doi: 10.31043/2410-2733-2023-4-31-38.

4.Лайшев К. А. Ветеринарные и зоотехнические проблемы воспроизводства в северном оленеводстве и пути их решения / К. А. Лайшев, А. М. Самандас, А. В. Прокудин, Т. М. Романенко, В. В. Гончаров, Т. В. Мухамадеева // Достижения науки и техники АПК. – 2013. – № 11. – С. 42-44.

5.Гончаров В. В. К вопросу об искусственном осеменении и криоконсервации спермы северных оленей / В.В. Гончаров, Е.В. Никиткина // Генетика и разведение животных. – 2016. – №2. – С. 3-7.

6.Gorgun F. M. et al. Effects of melatonin on plasma S-nitrosoglutathione and, glutathione in streptozotocin-treated rats / F. M. Gorgun, E. Kokoglu, M. K. Gumustas et al. // J. Toxicol. Environ. Health A. – 2004. – № 67 (13). – P. 979-86.

7.Guney M. Regression of endometrial explants in a rat model of endometriosis treated with melatonin / M. Guney, B. Oral, N. Karahan, T. Mungan // Fertil. Steril. – 2008. – № 89. – P. 934-942.

8. Gupta S. Role of oxidative stress inendometriosis / S. Gupta, A. Agarwal, N. Krajcir, J. Alvarez // G. Reprod. – 2006. – № 13. – P. 126-134.

REFERENCES

1.Nikitkina E. V. Reproductive technologies in reindeer herding: problems and prospects of use (review) / E. V. Nikitkina, V. V. Goncharov, A. A. Krutikova, O. K. Sergeeva, A. A. Musidrai, K. V. Plemyashov // Genetics and animal breeding. - 2017. - No. 1. - P. 9-14.

2.Fedorov V. I. Features of the course of labor in northern domestic reindeer in the conditions of the north-east of Russia (Yakutia) / V. I. Fedorov, T. V. Ippolitova, E. S. Sleptsov, K. V. Plemyashov / Genetics and animal breeding. - 2021. - No. 1. - P. 23-28. doi: 10.31043/2410-2733-2021-1-23-28.

3.Bryzgalov G. Ya. Reindeer of the extreme north-east of Russia: the Koryak ecotype (Rangifer Tarandus L.) / G. Ya. Bryzgalov, L. S. Ignatovich // Genetics and animal breeding. - 2023. - No. 4. - P. 31-38. Doi: 10.31043/2410-2733-2023-4-31-38.

4.Laishev K. A. Veterinary and zootechnical problems of reproduction in reindeer herding and ways of their solution / K. A. Laishev, A. M. Samandas, A. V. Prokudin, T. M. Romanenko, V. V. Goncharov, T. V. Mukhamadeeva // Achievements of science and technology of the agro-industrial complex. - 2013. - No. 11. - P. 42-44.

5.Goncharov V. V. On the issue of artificial insemination and cryopreservation of reindeer sperm / V. V. Goncharov, E. V. Nikitkina // Genetics and animal breeding. - 2016. - No. 2. - P. 3-7.

6.Gorgun F. M. et al. Effects of melatonin on plasma S-nitrosoglutathione and glutathione in streptozotocin-treated rats / F. M. Gorgun, E. Kokoglu, M. K. Gumustas et al. // J. Toxicol. Environ. Health A. – 2004. – No. 67 (13). – P. 979-86.

7.Guney M. Regression of endometrial explants in a rat model of endometriosis treated with melatonin / M. Guney, B. Oral, N. Karahan, T. Mungan // Fertil. Steril. – 2008. – No. 89. – P. 934-942.

8.Gupta S. Role of oxidative stress inendometriosis / S. Gupta, A. Agarwal, N. Krajcir, J. Alvarez // G. Reprod. – 2006. – No. 13. – P. 126-134.

УДК: 575.162
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.4.480

КАНДИДАТНЫЕ ГЕНЫ СВЯЗАННЫЕ С КАЧЕСТВОМ СПЕРМЫ ЖЕРЕБЦОВ

Щербаков Ю.С. – канд. биол. наук, лаборатория молекулярной генетики (ORCID 0000-0001-6434-6287); **Никиткина Е.В.**[*] – канд. биол. наук, лаборатория биологии развития (ORCID 0000-0002-8496-5277); **Дементьева Н.В.** – канд. биол. наук, лаборатория молекулярной генетики (ORCID 0000-0003-0210-9344)

Всероссийский научно-исследовательский институт генетики и разведения сельскохозяйственных животных – филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр животноводства – ВИЖ имени академика Л. К. Эрнста»

[*]nikitkinae@mail.ru

***Ключевые слова**: Equuscaballus, жеребцы, SNP, секвенирование, сперма*
***Keywords:** Equus caballus, stallions, SNP, sequencing, sperm*
***Финансирование:** Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки, проект № 124020200114-7*

Поступила:11.11.2024 **Принята к публикации: 02.12.2024**
Опубликована онлайн:16.12.2024

РЕФЕРАТ

Определение генетических замен, влияющих на плодовитость мужских особей привлекает внимание многих исследователей. Однако, в настоящее время в России недостаточно внимания уделяется изучению и использованию полученных генетических данных, связанных с качеством спермы животных. В результате GWAS анализа в 2022 год были определены маркерные однонуклеотидные полиморфизмы и предложены кандидатные гены *GRM8, FSHR, INHA, IMMP1L*. Была поставлена задача секвенировать кандидатные локусы, для выявления полиморфизмов, определяющих формирование признаков, связанных с качеством спермы для разработки программ маркерной селекции и геномного редактирования. В результате проведенного исследования был обнаружен ряд однонуклеотидных полиморфизмов в генах *GRM8, FSHR, INHA, IMMP1L*. После проведенного анализа было обнаружено влияние обнаруженных SNP в гене GRM8 на качество спермы у жеребцов различных пород.Также на основании полученных SNP расположенных в гене *GRM8* была построена дендрограмма. В результате анализа полученной дендрограммы выборка жеребцов разделилась на 2 основные ветви. Сперма жеребцов левой ветви превосходила (была лучше) жеребцов правой по таким показателям как объем, концентрация, общая подвижность, стимуляции дыхательной активности 2,4 ДНФ при оценке после получения и криоконсервации (на 3,28 мл, на 9,62 млн/мл, на 3,6%, на 0,16 и 0,46 соответственно). Однако особи правой ветви превосходят образцы особей другой ветви по показателям прогрессивная подвижность свежей спермы, прогрессивная подвижность после оттаивания (на 18,44% и на 1,54% соответственно). Получены новые знания о генетическом полиморфизме экзонных областей генов *GRM8, FSHR, INHA, IMMP1L* у жеребцов различных пород (арабская, ганноверская, тракененская, французская рысистая, советская тяжеловозная и ахалтекинская).

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

В ходе процесса формирования промышленных популяций сельскохозяйственных животных, генетическое разнообразие определяет наилучшую приспособленность к используемой технологии разведения. У некоторых видов животных долгое время применялась естественная случка. Искусственное осеменение охлажденной спермой у жеребцов важно для повышения эффективности воспроизводства. Фенотипическая изменчивость свежей и охлажденной спермы важна для отбора производителей. Важно отметить, что качество спермы и криоустойчивость спермы жеребцов имеют высокую индивидуальную изменчивость, которая зависит как от экологических, так и от генетических факторов. На сегодняшний день в коневодстве широко используется искусственное осеменение, а процедура замораживания не всегда экономически обоснована, поэтому высокое качество охлажденной спермы имеет важное значение [1-4].

Определение генетических замен, влияющих на плодовитость мужских особей привлекает внимание многих исследователей. Обнаружено много локусов, играющих важную роль у лошадей [5-6], крупного рогатого скота [7-8], птицы [9]. Однако, в настоящее время в России недостаточно внимания уделяется изучению и использованию полученных генетических данных, связанных с качеством спермы животных.

В результате GWAS анализа, проведенного нами в 2022 году, были определены маркерные однонуклеотидные полиморфизмы и предложены кандидатные гены *GRM8, FSHR, INHA, IMMP1L*. Была поставлена задача секвенировать кандидатные локусы, для выявления полиморфизмов, определяющих формирование признаков, связанных с качеством спермы для разработки программ маркерной селекции и геномного редактирования.

Цель исследования – проведение поиска полиморфизмов в регуляторных и кодирующих регионах кандидатных генов, связанных с показателями качества спермы у жеребцов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Материалом для исследования явились образцы ДНК, выделенные из спермы жеребцов (n= 28).

Оценка подвижности спермы была проведена глазомерно и с помощью специализированной компьютерной программы CASA, морфология набором Diff-Quick и CASA, целостность мембран – флуоресцентным методом с красителями этидиум бромид или пропидиумиодит и CASA, дыхательную активность – полярографическим методом, с помощью тестирующего вещества – 2,4 динитрофенол (2,4 ДНФ). Собранный биологический материал (сперма) был оценен по качеству до и после замораживания каждого эякулята.

Определенные в результате GWAS-анализа локусы были прогенотипированы с использованием метода таргетного секвенирования по Сэнгеру. Подбор праймеров для анализа с помощью ПЦР и для дальнейшего секвенирования проводился с помощью онлайн-инструмента BLAST в рабочем пространстве международной базы генетических данных NCBI (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/). ПЦР проводили на ThermalCycler T100 (Bio-Rad, США). Протокол проведения ПЦР включал в себя: амплификацию методом ПЦР на амплификаторе ThermalCycler T100 (Bio-Rad, США) в следующем режиме: 95°C– 3 мин., 40 циклов 95°C – 30 сек., 60°C – 20 сек., 72°C - 20 сек и финальная элонгация 72°C – 4 минуты. ПЦР-продукт проверяли в камере горизонтального электрофореза в 1,8% агарозном геле в буфере 0,5xTBE.

Пробоподготовка амплифицированных фрагментов включала в себя ферментативную очистку с помощью коммерческого набора реагентов ExoSAP-IT (TermoFisher, USA), который обеспечивает простой способ ферментативной очистки реакции ПЦР в один этап. Затем проводили пресеквенирующую ПЦР с меченными нуклеотидами и коммерческим набором KitBigDye® Terminator v3.1 Se-

quencingStandardKit (AppliedBiosystems) либо Российскими аналогами фирмы Синтол согласно протоколу производителя. Секвенирование по Сенгеру было проведено на генетическом анализаторе AppliedBiosystems 3500 GeneticAnalyzer (ThermoFisher, USA), количество покрытий составило по 2 в каждую сторону. Для выравнивания нуклеотидных последовательностей использовался программный пакет MEGA X (https://www megasoftware.net). Построение дендрограммы также осуществлялось в программе мега X, методом «Сети-Соседей». Выравнивание проводилось на референсный геном EquCab3.0. Биометрическая обработка данных будет выполнена с помощью программы MicrosoftExcel. Анализ PCA (анализ главных компонент) был проведен с использованием программы Plink 1.9, визуализация полученных результатов была проведена с использованием библиотеки R ggplot2. Статистический анализ проводили в программе IBM SPSS Statistics 19.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

В результате проведенного поиска insilico были подобранны специфичные три пары праймеров к кодирующим участкам генов обнаруженные ранее в результате GWAS анализа (Таблица 1).

В результате секвенирования было обнаружено 29 SNP в кодирующих областях исследуемых генов (GRM8 – 4 SNP, FSHR – 23 SNP, INHA 2 SNP, IMMP1L).

На основании полученных SNP было сделан PCA анализ (рисунок 1 и 2).

В результате анализа PCA, два жеребца по первой компоненте отделились от основного кластера, одна особь советской тяжеловозной и один жеребец породы французской рысистой. Однако по качеству спермы данные жеребцы не выделялись.

Также на основании полученных SNP расположенных в гене GRM8 была построена дендрограмма (Рисунок 3).

Фенотипические показатели спермы жеребцов представлены в таблице 2.

Таблица 1 – Последовательности олигонуклеотидных праймеров для гена

Название	Праймеры	Длина фрагмента п.н.	Температура отжига ºС
GRM8	F: GGTCGATCGCATAAAGCATGG R: TTCTGCTACAGGGCTGACTTC	504	60
FSHR	F: ACGTGACTACAGTTAAGCCCC R: GTGTGCATCAGCCTCTGGTAT	510	60
INHA	F: ATCGGTGAAGCCACTTCAGG R: CAGCTTCCCGCCAGATACAT	540	60
IMMP1L	F: ATTAACAGGGCTTTTTGTGCCC R: TAACCACGTAGTGAAAGGAGACA	686	60

Таблица 2 – Распределение фенотипических показателей спермы жеребцов по двум ветвям дендрограммы

Показатель	Левая Ветвь	Правая ветвь
Объём, мл	48±15,13	44,72±6,03
Концентрация, млн/мл	213,67±50,53	204,05±18,34
Прогрессивная подвижность, %	32,67±9,06	51,11±4,24
Прогрессивная подвижность после оттаивания, %	24,86±10,06	26,40±4,75
Общая подвижность после оттаивания, %	43,78±19,10	40,18±6,76
Стимуляция 2,4 ДНФ	2,3±0,21	2,14±0,12
Стимуляция 2,4 ДНФ после оттаивания	1,88±0,30	1,42±0,13

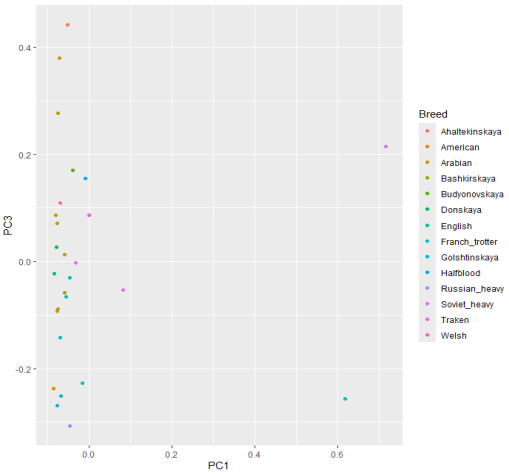


Рисунок 1 – График анализа главных компонент исследуемых жеребцов (Первая и третья компоненты).

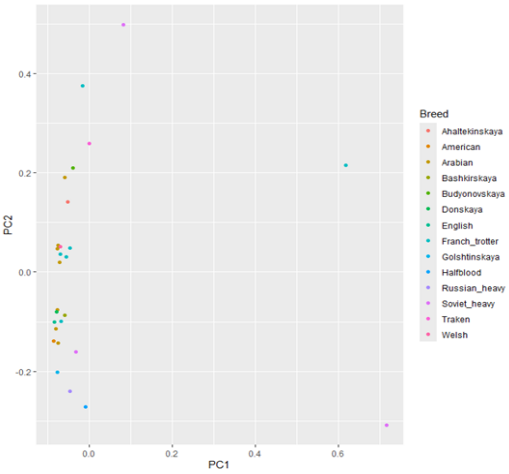


Рисунок 2 – График анализа главных компонент исследуемых жеребцов (Первая и вторая компоненты).

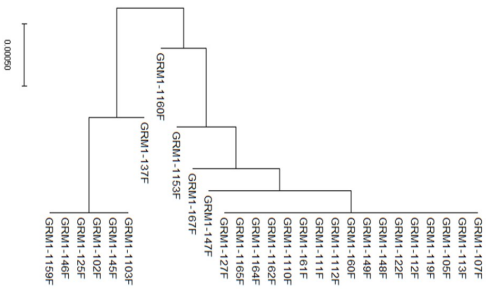


Рисунок 3 – Дендрограмма «Сети-Соседей» построенная на основании SNP обнаруженных в гене GRM8.

В результате анализа полученной дендрограммы выборка жеребцов разделилась на 2 основные ветви. Сперма жеребцов левой ветви имела лучшие показатели по таким показателям как объем, концентрация сперматозоидов в эякуляте, общая подвижность, стимуляции дыхательной активности 2,4 ДНФ свежей спермы и после криоконсервации (на 3,28 мл, на 9,62 млн/мл, на 3,6%, на 0,16 и 0,46 соответственно). Однако особи правой ветви превосходят особей другой ветви по показателям прогрессивная подвижность свежей спермы, прогрессивная подвижность после оттаивания (на 18,44% и на 1,54% соответственно). По остальным SNP в других генах дендрограмму не удалось построить т.к. различия по тем SNP жеребцы были минимальными.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

В результате проведенного исследования было выявлено, что 4 выявленных SNP в гене *GRM8* оказывают влияние на качество спермы у жеребцов. Кроме того, были исследованы гены *FSHR, INHA, IMMP1L* о которых были получены новые знания о однонуклеотидных полиморфизмах. Полученные данные могут быть использованы в селекции при отборе производителей с хорошим сперматогенезом или криорезистентностью спермы. При выборе производителя и способа случки или искусственного осеменения охлажденной или криоконсервированной спермой может учитываться генотип.

CANDIDATE GENES ASSOCIATED WITH STALLION SPERM QUALITY

Shcherbakov Yu.S. – Ph.D. biological sciences,laboratory of molecular genetics (ORCHID 0000-0001-6434-6287)**; Nikitkina E.V**.* – Ph.D. biological sciences, laboratory of developmental biology (ORCHID 0000-0002-8496-5277); **Dementieva N.V.** – Ph.D. biological sciences, laboratory of molecular genetics (ORCHID 0000-0003-0210-9344)

Russian Research Institute of Farm Animal Genetics and Breeding — Branch of the L.K. Ernst Federal Research Center for Animal Husbandry

*nikitkinae@mail.ru

Funding: *The work was carried out with the financial support of the Ministry of Education and Science, project No. 124020200114-7*

ABSTRACT

The identification of genetic substitutions affecting the malefertility attracts the attention of many researchers. However, in Russia, insufficient attention is currently paid to the study and use of the obtained genetic data related to the quality of animal sperm. As a result of GWAS analysis in 2022, marker single nucleotide polymorphisms were identified and candidate genes *GRM8, FSHR, INHA, IMMP1L* were proposed. The task was to sequence candidate loci to identify polymorphisms that determine the formation of traits associated with sperm quality for the development of marker selection and genome editing programs. As a result of the study, a number of single nucleotide polymorphisms were found in the *GRM8, FSHR, INHA, IMMP1L* genes. After the analysis, the effect of the detected SNPs in the *GRM8* gene on sperm quality in stallions of various breeds was discovered. Also, based on the obtained SNPs located in the *GRM8* gene, a dendrogram was constructed. As a result of the analysis of the obtained dendrogram, the stallion sample was divided into 2 main branches. Stallions of the left branch are superior to stallions of the right in terms of volume, sperm concentration, total motility, stimulation of respiratory activity 2.4 DNF of fresh sperm and after cryopreservation (by 3.28 ml, by 9.62 million/ml, by 3.6%, by 0.16 and 0.46, respectively). However, individuals of the right branch are superior to individuals of the other branch in terms of progressive motility of fresh sperm, progressive motility after thawing (by 18.44% and by 1.54%, respectively). New knowledge was obtained about the genetic polymorphism of exonic regions of the *GRM8, FSHR, INHA, IMMP1L* genes in stallions of different breeds.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1.Loomis P.R. Commercial semen freezing: individual male variation in cryosurvival and the response of stallion sperm to customized freezing protocols /P.R. Loomis, J.K Graham //AnimReprod Sci. - 2008. - №105. - C. 119–128. doi: 10.1016/ j.anireprosci.2007.11.010.

2.Hoffmann N.Optimal concentrations of cryoprotective agents for semen from stallions that are classified ‘good’ or ‘poor’ for freezing / N. Hoffmann, H. Oldenhof, C. Morandini, K. Rohn, H. Sieme // AnimReprod Sci. - 2011. - №125 - C. 112–118. doi: 10.1016/j.anireprosci.2011.03.001

3.Gottschalk M.Genome-wide association study for semen quality traits in German Warmblood stallions / M. Gottschalk, J. Metzger, G. Martinsson, H. Sieme, O. Distl //AnimReprod Sci. - 2016.- №171. - C. 81–86. doi: 10.1016/ j.anireprosci.2016.06.002.

4.Atroshchenko M.M.Reproductive Characteristics of Thawed Stallion Sperm / M.M. Atroshchenko, E. Arkhangelskaya, D.A. Isaev, S.B. Stavitsky, A.M. Zaitsev, V.V. Kalaschnikov, S. Leonov, A.N. Osipov// Animals (Basel). - 2019. -№ 9(12). – C.1099. doi: 10.3390/ani9121099.

5.Schrimpf R.Screening of whole genome sequences identified high-impact variants for stallion fertility./ R.Schrimpf, M. Gottschalk, J. Metzger, G. Martinsson, H. Sieme, O.Distl //BMC Genomics. - 2016. - №.1. - C. 288. doi: 10.1186/s12864-016-2608-3.

6.Schrimpf R.Implication of FKBP6 for male fertility in horses / R. Schrimpf, J. Metzger, G. Martinsson, H. Sieme, O.Distl//

ReprodDomest Anim. - 2015. - № 50(2). - С.195-199. doi: 10.1111/rda.12467.
7.Gao Q.Association of TNP2 gene polymorphisms of the bta-miR-154 target site with the semen quality traits of Chinese Holstein bulls/ Q. Gao, Z. Ju, Y. Zhang, J. Huang, X. Zhang, C. Qi, J. Li J, J. Zhong, G. Li, C. Wang // PLoS One. - 2014. - №. 9(1) – С. e84355. doi: 10.1371/ journal.pone.0084355.
8. Zhang S.The g.-165 T>C Rather than Methylation Is Associated with Semen Motility in Chinese Holstein Bulls by Regulating the Transcriptional Activity of the HI-BADH Gene/S. Zhang, Y. Zhang Y, C. Yang, Z. Ju, X. Wang, Q. Jiang, Y. Sun, J. Huang, J. Zhong, C. Wang // PLoS One. - 2015. - С. 10(7). – С. e0127670. doi: 10.1371/journal.pone.0127670.
9.Sarabia Fragoso J. Relationships between fertility and some parameters in male broiler breeders (body and testicular weight, histology and immunohistochemistry of testes, spermatogenesis and hormonal levels) / J. Sarabia Fragoso J, M. Pizarro Díaz, J.C. Abad Moreno, P. Casanovas Infesta, A. Rodriguez-Bertos, K. Barger //ReprodDomest Anim. - 2013. - №. 48(2). - С. 345-52. doi: 10.1111/j.1439-0531.2012.02161.x.

REFERENSES

1.Loomis P.R.Commercial semen freezing: individual male variation in cryosurvival and the response of stallion sperm to customized freezing protocols /P.R. Loomis ,J.K Graham //AnimReprod Sci.2008:105:119–128. doi: 10.1016/j.anireprosci.2007.11.010.
2.Hoffmann N.Optimal concentrations of cryoprotective agents for semen from stallions that are classified ‘good’ or ‘poor’ for freezing / N. Hoffmann, H. Oldenhof, C. Morandini, K. Rohn, H. Sieme // AnimReprod Sci.2011:125:112–118. doi: 10.1016/j.anireprosci.2011.03.001.
3.Gottschalk M.Genome-wide association study for semen quality traits in German Warmblood stallions / M. Gottschalk, J. Metzger, G. Martinsson, H. Sieme, O. Distl //AnimReprod Sci.2016: 171:81–86. doi: 10.1016/j.anireprosci.2016.06.002.
4.Atroshchenko M.M.Reproductive Characteristics of Thawed Stallion Sperm / M.M. Atroshchenko, E. Arkhangelskaya, D.A. Isaev, S.B. Stavitsky, A.M. Zaitsev, V.V. Kalaschnikov, S. Leonov, A.N. Osipov// Animals (Basel).2019:9(12):1099. doi: 10.3390/ani9121099.
5.Schrimpf R.Screening of whole genome sequences identified high-impact variants for stallion fertility./ R.Schrimpf, M. Gottschalk, J. Metzger, G. Martinsson, H. Sieme, O.Distl //BMC Genomics. - 2016. - №.1. - С. 288. doi: 10.1186/s12864-016-2608-3.
6.Schrimpf R.Implication of FKBP6 for male fertility in horses / R. Schrimpf, J. Metzger, G. Martinsson, H. Sieme, O.Distl// ReprodDomest Anim. 2015:50(2):195-199. doi: 10.1111/rda.12467.
7.Gao Q.Association of TNP2 gene polymorphisms of the bta-miR-154 target site with the semen quality traits of Chinese Holstein bulls/ Q. Gao, Z. Ju, Y. Zhang, J. Huang, X. Zhang, C. Qi, J. Li J, J. Zhong, G. Li, C. Wang // PLoS One.2014: 9(1):e84355. doi: 10.1371/journal.pone.0084355.
8. Zhang S.The g.-165 T>C Rather than Methylation Is Associated with Semen Motility in Chinese Holstein Bulls by Regulating the Transcriptional Activity of the HI-BADH Gene/S. Zhang, Y. Zhang Y, C. Yang, Z. Ju, X. Wang, Q. Jiang, Y. Sun, J. Huang, J. Zhong, C. Wang // PLoS One.2015:10(7):e0127670. doi: 10.1371/ journal.pone.0127670.
9.Sarabia Fragoso J. Relationships between fertility and some parameters in male broiler breeders (body and testicular weight, histology and immunohistochemistry of testes, spermatogenesis and hormonal levels) / J. Sarabia Fragoso J, M. Pizarro Díaz, J.C. Abad Moreno, P. Casanovas Infesta, A. Rodriguez-Bertos, K. Barger //ReprodDomest Anim. 2013:48(2):345-52. doi: 10.1111/ j.1439-0531.2012.02161.x.

УДК:576.362:636.2.082.453.52
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.4.486

ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ ПРОИЗВОДНОГО МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК КАК СПОСОБА ПОВЫШЕНИЯ КАЧЕСТВА СПЕРМЫ БЫКОВ-ПРОИЗВОДИТЕЛЕЙ

Корочкина Е.А. [1]* – д-р ветеринар. наук, доц. каф. генетических и репродуктивных биотехнологий (ORCID0000-0002-7011-4594); **Трифонова А.В.** [2] – канд. биол. наук, директор по науке, **Никитин В.В.** [1] – асс. каф. генетических и репродуктивных биотехнологий; **Главацкая Д.Е.** [1] – асп.; **Пушкина В.С.** [1] – асп.

[1] ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины»
[2] ООО «Стэмреновацио»

*e.kora@mail.ru

Ключевые слова: *качество спермы, быки-производители, производные мезенхимальных стволовых клеток.*
Key words: *spermquality, breedingbulls, components of mesenchymalstemcell.*

Поступила: 08.11.2024 **Принята к публикации: 02.12.2024**
Опубликована онлайн:16.12.2024

РЕФЕРАТ

Целью настоящего исследования явилось изучение влияния производного мезенхимальных стволовых клеток (лизата) из жировой ткани (ЖТ) и костного мозга (КМ) быков на качество нативной спермы.Всего было взято 10 образцов. Каждый образец был разделен на аликвоты (после центрифугирования (7 min 600 об/min) и удаления семенной плазмы) в соответствии следующим группам: контрольная (сперматозоиды $7x10^{10}$кл/мл + буфер PBS 100 мкл), первая опытная (сперматозоиды $7x10^{10}$кл/мл + лизат МСК КМ $2x10^{8}$кл/мл), вторая опытная (сперматозоиды $7x10^{10}$кл/мл + лизат МСК ЖТ $2x10^{8}$кл/мл). Была проведена четырехэтапная оценка качества спермы: 0, 2 и 4 часов инкубации при температуре 37°С. Согласно результатам проведенных исследований, достоверное снижение количества нормальных форм сперматозоидов было зарегистрировано при оценке 4-х часовой инкубации спермы. При этом, разница значений в контрольной и первой опытной группах составила 1,3 раза ($p<0,05$ для обеих групп), во второй опытной – 1,4 раза ($p<0,05$) по сравнению с данными 0 часов инкубации. Было зарегистрировано наибольшее количество морфологически нормальных форм сперматозоидов в первой опытной группе, при инкубации сперматозоидов с продуктами секреции МСК из костного мозга. Было получено статистически значимое сокращение количества прогрессивно двигающихся сперматозоидов спустя 2 и 4 часа инкубации по сравнению с данными, полученными при оценке двигательной активности в 0 часов инкубации. Так, разница значений в контрольной группе составила 1,4 (2 и 4 часа,$p<0,01$), в первой опытной

группе – 1,1 ($p<0,05$) и 1,4 ($p<0,01$), во второй опытной группе – 1,2($p<0,05$) и 1,6 ($p<0,05$) раз 2 и 4 часа соответственно. Наибольшее количество прогрессивно двигающихся сперматозоидов было зарегистрировано при взаимодействии половых клеток быка с лизатом МСК в течение двух часов инкубации, полученных из костного мозга и составило 74,75±2,39%.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Производство высококачественного семени быков является одним из ключевых факторов успешной реализации плана племенной работы в животноводстве. Многочисленными исследованиями установлен широкий спектр факторов, влияющих на качество спермы производителей, основными из которых являются генетика, сезон года, температура окружающей среды, режим эксплуатации производителя, его возраст, особенности кормления и многие другие[1-5]. Научно-практикующими специалистами разработаны различные способы коррекции негативного влияния вышеперечисленных факторов, а также методы повышения качественных показателей спермы. Это две группы, направленные на воздействие на организм производителей с помощью экзогенноговведения препаратов и, непосредственно, воздействие на сперму, а именно - применение сред/добавок/ коллоидного центрифугирования и др. [6]. Принимая во внимание огромное количество полученных результатов, проблема сохранности оплодотворяющей способности сперматозоидов остается актуальной. Довольно интересным и малоизученным направлением является технологии регенеративной медицины, главным образом мезенхимальные стволовые клетки (МСК). Многочисленные исследования продемонстрировали потенциальную роль МСК в различных биологических процессах, таких как участие в регенерации клеток и изменении клеточного фенотипа. Кроме того, установлено, что МСК регулируют механизмы восстановления, происходящие на клеточном уровне за счет секретома или высвобождения различных факторов, главным образом – белков. Qamar A.Y. с соавтор. (2020) в своих исследованиях, направленных на изучение жизнеспособности спермы собак после оттаивания при разбавлении средами, содержащими МСК из жировой ткани указывает на положительный эффект МСК, в частности – высокая сохранность целостности плазматической и акросомальной мембран сперматозоидов после оттаивания. Авторы предполагают, что возможной причиной улучшения целостности является такие белки как аннексин, дисферлин, фибронектин, участвующие в процессе регенерации клетки [7]. Значение аннексинов – участие в экзоцитозе, эндоцитозе, агрегации; фибронектина – регуляция клеточных процессов, а также поддержание и восстановление поврежденной ткани. Что касается дисферлина, то данный трансмембранный кальций-связывающий белок принимает участие в репарации сарколеммы и внутриклеточных везикулярных систем после повреждений, регуляции эндо-и экзоцитоза и воспаления [8]. Учитывая вышеизложенные факты, МСК и их производные (кондиционированная среда и лизат) обладают высоким потенциалом в аспекте регенерации клеток. В связи с этим, целью настоящего исследования явилось изучение влияниепроизводного мезенхимальных стволовых клеток (лизат) из жировой ткани (ЖТ) и костного мозга (КМ) быков на качество нативной спермы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALSANDMETHODS

Исследования были проведены в научно-исследовательскойлаборатории кафедры генетических и репродуктивных биотехнологий ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины», а также в отделе разработки клеточных биотехнологий ООО «Стэмреновацио».Было проведено взятие спермы половозрелых быков (n=2)голштинской породы в возрасте 14-15 месяцев с помощью искусственной вагины модели IMV (Франция) согласно

ГОСТ32222–2013 [9]. Быки содержатся в виварии на базе ФГБОУ ВО СПбГУВМ. Всего было взято 10 образцов. Каждый образец был разделен на аликвоты (после центрифугирования (7 min600 об/min) и удаления семенной плазмы) в соответствии следующим группам: контрольная (сперматозоиды $7x10^{f0}$кл/мл + буфер PBS 100 мкл), первая опытная (сперматозоиды $7x10^{10}$кл/мл + лизат МСК КМ $2x10^{8}$кл/мл), вторая опытная (сперматозоиды $7x10^{10}$кл/мл + лизат МСК ЖТ $2x10^{8}$кл/мл). Концентрация образцов была достигнута с помощью математического подсчета с учетом исходного объема. Была проведена трехэтапная оценка качества спермы: 0, 2 и 4 часов инкубации при температуре 37°С. Сравнение значений производилось на каждом этапе инкубации (0, 2 и 4 часа) внутри каждой группы. При этом достовернымисчитались различия при $p \leq 0,05$ и $p \leq 0,01$.

Исследование спермы проводилось с помощью микроскопа Levenhuk MED 45T. Для подсчета концентрации сперматозоидов использовалась камера Горяева [10]. Оценка подвижности сперматозоидов проводилась с помощью камеры Маклера (увеличение X100, разведение образцов 1:100) с учетом следующих показателей подвижности: прогрессивно двигающиеся, непрогрессивно двигающиеся и неподвижныесперматозоиды. Оценка морфологии проводилась по методу Крюгера (200 сперматозоидов в каждом образце), при этом для окрашивания мазков был использован набор SpermBlue (Microptic)с предварительной фиксацией мазков (фиксатор: 10 минут, краситель: 18 минут) и последующей микроскопией (увеличение с использованием объектива x1000, иммерсионное масло).За основу был взят протокол использования МСК и их производных для баранов и козлов-производителей [11-12].

Жировую ткань (ЖТ) и костный мозг (КМ) получали после убоя быков голштинской породы (n=5) в племенном хозяйстве Выборгского района Ленинградской области. Клетки деконсервировалии культивировали в среде αMEM + 10 % FBS. Начиная с 3-го пассажа после размораживания, их использовали в работе.

Для приготовления лизата МСК отделяли от подложки, отмывали от ростовой среды и суспендировали в PBS с концентрацией $2x10^{8}$кл/мл. Затем суспензию аликвотировали и фасовали в пробирки Эппендорфа. Лизат получали методом криодеструкции путем двукратного быстрого погружения в жидкий азот (-196°С) и медленного оттаивания при комнатной температуре. Полученный таким образом лизат содержал высвобожденные внутриклеточные белково-пептидные компоненты МСК и фрагменты клеточных мембран.

Статистическая обработка данных была проведена при помощи программы Stattech и MedCalc с вычислением показателей вариационного ряда и t-критерий Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Результаты влияния производного МСК - лизата из жировой ткани и костного мозга быков на качественные показатели сперматозоидов в процессе четырехчасовой инкубации отражены на рисунках 1 -2.

При анализе результатов оценки морфологии сперматозоидов быка в процессе четырехчасовой инкубации нужно отметить, что достоверная разница значений, главным образом, отмечалась среди значений морфологическинормальных форм половых клеток (рис.1).

Согласно данным рисунка 1, достоверное снижение количества нормальных форм сперматозоидов была зарегистрировано при оценке 4-х часовой инкубации спермы. Так, разница значений в контрольной и первой опытной группахсоставила 1,3 раза ($p<0,05$ для обеих групп), во второй опытной – 1,4 раза ($p<0,05$) по сравнению с данными 0 часов инкубации. Нужно отметить тенденцию к незначительному увеличению количества нормальных форм сперматозоидов по завершению второго часа инкубации спермы с лизатом МСК, полученных из жировой ткани и костного мозга (разница недосто-

верна).Можно предположить, что причиной данной закономерности является паракринная функция МСК, в частности секреция факторов роста фибробластов (bFGF), фактора роста кератиноцитов (KGF), стромального фактора-1 (SDF-1), моноцитарного хемотаксического белка - 1 (MCP-1), инсулиноподобного фактора роста-1 (IGF-1), интерлейкина-8 (IL-8) и сосудистого эндотелиального фактора роста (VEGF). Данные белки принимают участие в регенеративном процессе, подавляя апоптоз [7]. Было зарегистрировано наибольшее количество морфологически нормальных форм сперматозоидов в первой опытной группе, при инкубации сперматозоидов с лизатом МСК из костного мозга. Динамика прогрессивно двигающихся сперматозоидов отражена на рисунке 2.

При анализе данных рисунка 2, статистически значимые изменения значений отмечались внутри каждой группы, в частности сокращение количества прогрессивно двигающихся сперматозоидов, 2 и 4 часа инкубации по сравнению с данными, полученные при оценке двигательной активности в 0 часов инкубации. Так, разница значений в контрольной группе составила 1,4 (2 и 4 часа,$p<0,01$), в первой опытной группе – 1,1 ($p<0,05$) и 1,4 ($p<0,01$), во второй опытной группе – 1,2 ($p<0,05$) и 1,6 ($p<0,05$) раз 2 и 4 часа соответственно. Наибольшее количество прогрессивно двигающихся сперматозоидов было зарегистрировано при взаимодействии половых клеток быка с лизатом МСК в течение двух часов инкубации, полученных из костного мозга, и составило 74,75±2,39%.

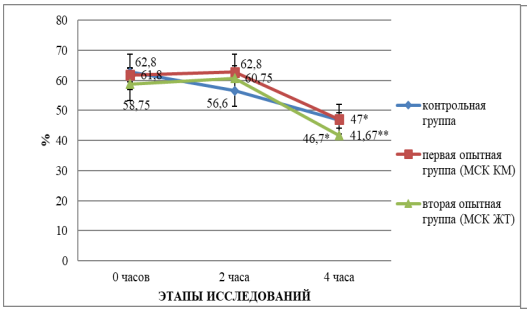


*Рисунок 1 – Динамика количества морфологически нормальных форм сперматозоидов быковв процессе четырехчасовой инкубации с компонентом МСК - лизатом (M±m, n=5). Примечание: * - p<0,05, ** - p≤0,01 (достоверно по сравнению с результатами 0 часов инкубации спермы).*

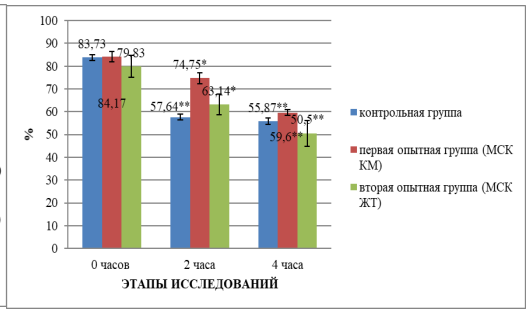


*Рисунок 2 – Динамика прогрессивно двигающихся сперматозоидов быков в процессе четырехчасовой инкубации с компонентом МСК – лизатом (M±m, n=10). Примечание: * - p<0,05, ** - p≤0,01 (достоверно по сравнению с результатами 0 часов инкубации спермы).*

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Таким образом, проведенные исследования указывают на положительное влияние производного МСК – лизата из костного мозга быков, содержащего высвобожденные внутриклеточные белково-пептидные компоненты МСК и фрагменты клеточных мембран, на морфологическую структуру и подвижность сперматозоидов в процессе четырехчасовой инкубации. Принимая во внимание время переживаемости сперматозоидов в половых путях самки, смешивание лизата, полученного из костного мозга со спермой быков способствует более длительному сохранению жизнеспособности и увеличению двигательной активности сперматозоидов при проведении искусственного осеменения, что положительно отразится на его результативности. Было установле-

но выраженное сохранение прогрессивной подвижности сперматозоидов при смешивании с лизатом МСК, полученным из костного мозга в процессе двухчасовой инкубации с разницей значений в контроле, равной 18,88%, что может указывать на высокую вероятность успешного искусственного осеменения. Однако для изучения механизма положительного влияния производного МСК на качественные показатели спермы быков необходимо продолжить исследования.

PROSPECTS FOR USING COMPONENT MESENCHYMAL STEM CELLS AS A WAY TO IMPROVE THE QUALITY OF BULLS' SPERM

Korochkina E.A. [1]* – phD. In Veterinary science, Associate Professor, Department of Genetic and Reproductive Technologies; **Trifonova A.V.** [2] – phD in biological science, the director of science; **Nikitin V.V.** [1] – Assistant, Department of Genetic and Reproductive Technologies; **Glavatskay D.** [1] – phD student, **Pushkina V.S.** [1] – phD student

[1] St. Petersburg state academy of veterinary medicine

[2] LLC "Scientific Center for Cytogenetic Testing"

*e.kora@mail.ru

ABSTRACT

The aim of this study was to investigate the effect of mesenchymal stem cell derivative (lysate) from adipose tissue (AT) and bone marrow (BM) of bulls on the quality of native sperm. A total of 10 samples were taken. Each sample was divided into aliquots (after centrifugation (7 min 600 rpm) and removal of seminal plasma) according to the following groups: control (sperm 7x1010 cells/ml + PBS buffer 100 μl), the first experimental (sperm 7x1010 cells/ml + BM MSC lysate 2x108 cells/ml), the second experimental (sperm 7x1010 cells/ml + AT MSC lysate 2x108 cells/ml).A four-stage assessment of sperm quality was carried out: 0, 2 and 4 hours of incubation at a temperature of 37°C.According to the results of the studies, a reliable decrease in the number of normal spermatozoa was recorded when assessing 4-hour sperm incubation.At the same time, the difference in values in the control and first experimental groups was 1.3 times ($p < 0.05$ for both groups), in the second experimental - 1.4 times ($p < 0.05$) compared with the data of 0 hours of incubation.The highest number of morphologically normal spermatozoa was recorded in the first experimental group, when incubating spermatozoa with bone marrow MSC secretion products.A statistically significant decrease in the number of progressively moving spermatozoa was obtained after 2 and 4 hours of incubation compared with the data obtained when assessing motility at 0 hours of incubation.Thus, the difference in values in the control group was 1.4 (2 and 4 hours, $p<0.01$), in the first experimental group - 1.1 ($p<0.05$) and 1.4 ($p<0.01$), in the second experimental group - 1.2 ($p<0.05$) and 1.6 ($p<0.05$) times 2 and 4 hours, respectively.The highest number of progressively moving spermatozoa was recorded during the interaction of bovine germ cells with the MSC lysate during two hours of incubation, obtained from the bone marrow and amounted to 74.75±2.39%.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1.Fuerst-WaltlB. Effects of age and environmental factors on semen production and semen quality of Austrian Simmental bulls / B. Fuerst-Waltl, H. Schwarzenbacher, Ch. Perner, J. Sölkner//Animal Reproduction Science. - Volume 95. - Issues 1–2. – 2006. –P. 27-37.

2. Hürland M. The use of machine learning methods to predict sperm quality in Holstein bulls / M. Hürland, D.A. Kuhlgatz, C. Kuhlgatz, J.H. Osmers, M. Jung, M. Schulze // Theriogenology. - 2023. - Feb;197:16-25. doi: 10.1016/ j.theriogenology.2022.11.032.

3. Llamas-Luceño N. High temperature-humidity index compromises sperm quality and fertility of Holstein bulls in temperate climates / N. Llamas-Luceño, M. Hostens, E. Mullaart, M. Broekhuijse, P. Lonergan, A. Van Soom// Journal of Dairy Science, - Volume 103. - Issue 10.- 2020. – P. 9502-

9514.
4. Losano JD. A. Characterization of bioenergetic and kinematic plasticity of bovine sperm reveals novel and dynamic temporal traits / A. Losano JD.., CL. Souders, CJ. Martyniuk, BW. Daigneault // Reproduction. 2023;166(2):135-147. http:// doi.org/10.1530/REP-23-0095. PMid:37252841.
5. Kowalczyk A. The role of environmental optimization for storing bulls' sperm cells / A. Kowalczyk, M. Kuczaj, E. Czerniawska-Piątkowska // SystBiolReprod Med. – 2020. - Oct;66(5):300-310. doi: 10.1080/19396368.2020.1795432. Epub 2020 Aug 18. PMID: 32808820.
6. Корочкина, Е. А. Способы повышения качества спермопродукции самцов-производителей (обзор) / Е. А. Корочкина, К. Э. Молоденкова // Вестник АГАТУ. – 2024. – № 1(13). – С. 1-8.
7. Qamar AY, Fang X, Bang S, Shin ST, Cho J. The effect of astaxanthin supplementation on the post-thaw quality of dog semen. ReprodDomest Anim. 2020 Sep;55(9):1163-1171 (doi: 10.1111/rda.13758).
8. Захаров, А.С. Биохимическиеипатофизиологическиеаспектыдисферлин-ассоциированныхмышечныхдистрофий / А.С. Захаров, Н.В. Короткова, Н.Д. Мжаванадзе, А.А. Никифоров // Наукамолодых – EruditioJuvenium. -2021. - №1. - С.157-168.
9.ГОСТ 32222–2013.Средства воспроизводства. Сперма. Методы отбора проб. – Введен 2015-01-27. – М.: Стандарт информ, 2018. – 10 с.
10.Баженова, Н. Б. Оценка качественных показателей спермы животных: учебно-методическое пособие / Н. Б. Баженова, К. В. Племяшов, Е. А. Корочкина. – Санкт-Петербург: Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины, 2023. – 25 с.
11.Корочкина, Е.А. Влияние компонентов мезенхимальных стволовых клеток козлов на качественные показатели сперматозоидов / Е. А. Корочкина, А. В. Трифонова, Е. Ю. Финагеев [и др.] // Ветеринария и кормление. – 2024. – № 2. – С. 40-44. – DOI 10.30917/ATT-VK-1814-9588-2024-2-9.
12.Корочкина, Е.А. Влияние МСК из жировой ткани и костного мозга баранов на качественные показатели их сперматозоидов / Е. А. Корочкина, Е. Ю. Финагеев, Д. Е. Главацкая [и др.] // Ветеринария. – 2024. – № 1. – С. 37-41. – DOI 10.30896/0042-4846.2024.27.1.37-41.

REFERENCES

Fuerst-Waltl B. Effects of age and environmental factors on semen production and semen quality of Austrian Simmental bulls / B. Fuerst-Waltl, H. Schwarzenbacher, Ch. Perner, J. Sölkner//Animal Reproduction Science. - Volume 95. - Issues 1–2. – 2006. –P. 27-37.
Hürland M. The use of machine learning methods to predict sperm quality in Holstein bulls / M. Hürland, D.A. Kuhlgatz, C. Kuhlgatz, J.H. Osmers, M. Jung, M. Schulze // Theriogenology.- 2023. - Feb;197:16-25. doi: 10.1016/ j.theriogenology.2022.11.032.
Llamas-Luceño N. High temperature-humidity index compromises sperm quality and fertility of Holstein bulls in temperate climates / N. Llamas-Luceño, M. Hostens, E. Mullaart, M. Broekhuijse, P. Lonergan, A. Van Soom// Journal of Dairy Science, - Volume 103. - Issue 10.- 2020. – P. 9502-9514.
Losano JD. A. Characterization of bioenergetic and kinematic plasticity of bovine sperm reveals novel and dynamic temporal traits / A. Losano JD.., CL. Souders, CJ. Martyniuk, BW. Daigneault // Reproduction. 2023;166(2):135-147. http://doi.org/10.1530/ REP-23-0095. PMid:37252841.
Kowalczyk A. The role of environmental optimization for storing bulls' sperm cells / A. Kowalczyk, M. Kuczaj, E. Czerniawska-Piątkowska // SystBiolReprod Med. – 2020. - Oct;66(5):300-310. doi: 10.1080/19396368.2020.1795432. Epub 2020 Aug 18. PMID: 32808820.
Korochkina, E. A. Methods for improving the quality of sperm production in male breeders (review) / E. A. Korochkina, K. E. Molodenkova // Bulletin of AGATU. - 2024.

- No. 1 (13). - P. 1-8.
Qamar AY, Fang X, Bang S, Shin ST, Cho J. The effect of astaxanthin supplementation on the post-thaw quality of dog semen. ReprodDomest Anim. 2020 Sep;55(9):1163-1171 (doi: 10.1111/rda.13758).
Zakharov, A.S. Biochemical and pathophysiological aspects of dysferlin-associated muscular dystrophies / A.S. Zakharov, N.V. Korotkova, N.D. Mzhavanadze, A.A. Nikiforov // Science of the Young - EruditioJuvenium. - 2021. - No. 1. - P.157-168.
GOST 32222–2013.Sredstva vosproizvodstva. Sperma. Metodyotbora prob. – M.: Standart inform. 2018. 10 s.
Bazhenova N. B., PlemyashovK. V., KorochkinaE. A. Otsenkakachestvennykhpokazateleyspermyzhivotnykh. Sankt-Peterburg: Sankt-Peterburgskiygosudarstvennyyuniversitetveterinarnoymeditsiny, 2023. 25 s.
Korochkina, E.A. Effect of components of goat mesenchymal stem cells on the qualitative parameters of spermatozoa / E. A. Korochkina, A. V. Trifonova, E. Yu. Finageev [et al.] // Veterinary Science and Feeding. - 2024. - No. 2. - P. 40-44. - DOI 10.30917 / ATT-VK-1814-9588-2024-2-9.
Korochkina, E.A. Effect of MSCs from adipose tissue and bone marrow of rams on their qualitative parameters / E. A. Korochkina, E. Yu. Finageev, D. E. Glavatskaya [et al.] // Veterinary Science. - 2024. - No. 1. - P. 37-41. – DOI 10.30896/0042-4846.2024.27.1.37-41.

УДК: 576.362:636.39.082.453.53
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.4.493

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ПОСЛЕ КРИОКОНСЕРВАЦИИ СПЕРМЫ КОЗЛОВ-ПРОИЗВОДИТЕЛЕЙ

Корочкина Е.А. [1]* – д-р ветеринар. наук, доц. каф. генетических и репродуктивных биотехнологий (ORCID0000-0002-7011-4594); **Трифонова А.В.** [2] – канд. биол. наук, директор по науке; **Финагеев Е.Ю.** [1] – канд. ветеринар. наук, асс. каф. генетических и репродуктивных биотехнологий; **Главацкая Д.Е.** [1] – асп.; **Пушкина В.С.** [1] – асп.

[1] ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины»
[2] ООО «Научный центр цитогенетического тестирования»

*e.kora@mail.ru

Ключевые слова: *сперма, козлы-производители, мезенхимальные стволовые клетки, криоконсервация.*
Keywords: *sperm, breeding goats, mesenchymal stem cell, cryopreservation*
Финансирование: *Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 23-26-00157, https://rscf.ru/project/23-26-00157/*

Поступила: 08.11.2024 **Принята к публикации: 02.12.2024**
Опубликована онлайн:16.12.2024

РЕФЕРАТ

Целью исследований явилось установление эффективности использования мезенхимальных стволовых клеток из жировой ткани и костного мозга козлов после криоконсервации спермы. Результаты четырехчасовой инкубации образцов спермы после оттаивания указывают на наличие достоверной разницы значений при инкубации с мезенхимальными стволовыми клетками (МСК) из жировой ткани/костного мозга и без них (среда OptiXcell). Так, в процессе четырехчасовой инкубации спермы после оттаивания, статистически значимое сокращение количества нормальных сперматозоидов отмечалось во всех исследуемых группах. При этом разница значений в контрольной группе составила 1,3 ($p<0,01$, 2 часа) и 1,4 ($p<0,01$, 4 часа) раза; первой опытной группе – 1,1($p<0,01$, 4 часа) раз; второй опытной группе – 1,1($p<0,01$, 2 часа) и 1,3 ($p<0,01$, 4 часа) раз по сравнению с результатами 0 часов инкубации. Образцы контрольной и первой опытной групп имели одинаковую динамику достоверных изменений двигательной активности сперматозоидов при четырехчасовой инкубации после оттаивания – статистически значимое снижение количества прогрессивно двигающихся сперматозоидов в 1,6 раз ($p<0,05$ – контрольная группа, $p<0,01$ – первая опытная группа), и, напротив, достоверное увеличение количества непрогрессивно двигающихся сперматозоидов в 1,3 раза ($p<0,05$ для обеих групп). Выраженная двигательная активность наблюдалась у сперматозоидов первой опытной группы по завершению 4-х часовой инкубации, равная 21,45±4,58 %. Наибольшее количество жизнеспособных сперматозоидов было зарегистрировано в первой опытной группе при 4-х часовой

инкубации образцов с МСК, полученного из костного мозга – 37,13±2,21%, наибольшее количество сперматозоидов с интактными акросомами - во второй опытной группе (МСК ЖТ). Таким образом, можно предположить, что МСК оказывает регенеративный эффект на структуру сперматозоидов после криоконсервации. Для раскрытия механизма воздействия МСК на структуру сперматозоидов необходимо продолжить исследования.

ВВЕДЕНИЕ/INTRODUCTION

В настоящее время, в условиях активного импортозамещения, сельское хозяйство вносит существенный вклад в экономическое развитие страны. Животноводство обеспечивает продовольственную безопасность и доступность продуктов питания для всех слоев населения.

Роль козоводства, как отрасли продуктивного животноводства, достаточно велика (получение молока, мяса, пуха, шерсти и кожи). Козий пух - тончайший вид волокна животноводческого происхождения –отличается хорошими прядильными свойствами и валикоспособностью, легкостью, эластичностью, относительной прочностью и малой теплопроводностью [5]. Кроме того, при правильном разведении, козы способствуют сохранению экосистем и могут быть использованы в качестве экологическогоинструмента для контроля вредных сорняков, сокращения случаев лесных пожаров, улучшения пастбищных угодий и среды обитания дикихживотных [4].

Разведение коз считается одним из наиболее высокорентабельных. Козы неприхотливы к уходу и условиям содержания, способны адаптироваться в различных природно-климатических условиях, обладают высокой резистентностью, относительно скороспелы, многоплодны. Ввиду биологической особенности, козы, переваривающие до 67% клетчатки, могут пастись на территориях, непригодных для других видов сельскохозяйственных животных. Несмотря на очевидные преимущества данной животноводческой отрасли, огромным сдерживающим фактором ее развития является использование естественного осеменения, что образует проблему хронического дефицита высокоценных козлов-производителей, способных стойко передавать свои продуктивные качества потомству. Учитывая низкую криорезистеность сперматозоидов козлов, актуальным является разработка и применение реабилитационных сред для улучшения качественных показателей репродуктивных клеток после оттаивания.

Целью исследований явилось установление эффективности использования мезенхимальных стволовых клеток из жировой ткани и костного мозга козлов после криоконсервации спермы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Исследования были проведены в лаборатории кафедры генетических и репродуктивных биотехнологий ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины», а также в отделе разработки клеточных биотехнологий ООО «НС-Рабиес». Было проведено взятие спермы половозрелых козлов зааненской и альпийской пород в возрасте 1-2,5 лет (n=10) с помощью искусственной вагины модели IMV (Франция) согласно ГОСТ32222–2013 [2].

Исследование спермы проводилось с помощью микроскопа Levenhuk MED 45T. Для подсчета концентрации сперматозоидов использовалась камера Горяева [1].

Оценка подвижности сперматозоидов проводилась с использованием программы Аргус-CASAи камеры Маклера (увеличение 10Х10). При этом полученные образцы были разведены в соотношении 1:100. При оценке подвижности учитывалось количество прогрессивно двигающихся, непрогрессивно двигающихся и неподвижныхсперматозоидов. Оценка морфологии проводилась по методу Крюгера (200 сперматозоидов в каждом образце), при этом для окрашивания мазков был использован набор SpermBlue (Microptic)с предварительной фиксацией мазков (фиксатор: 10 минут, краситель:

18 минут) и последующей микроскопией (увеличение с использованием объектива 100х10, иммерсионное масло). Оценка жизнеспособности проводилась по методике BrightVit(Microptic, 200 сперматозоидов в каждом образце).Оценку целостности акросомы проводили согласно методике FluoAcro(Microptic) (100 сперматозоидов в каждом образце).

Жировую ткань (ЖТ) и костный мозг (КМ) получали после убоя козлов зааненской и чешской пород (n=3) в крестьянско-фермерском хозяйстве Волховского района Ленинградской области. ЖТ (2 $см^3$) вырезали подкожно и помещали в стерильную пробирку с 10 мл транспортировочной среды (буферный раствор, содержащий 100 ед/мл пенициллина и 100 мкг/мл стрептомицина, Gibco, США). КМ (3 $см^3$) брали из бедренной кости иглой для аспирации костного мозга и переносили в стерильную пробирку с гепарином. Пробирки с биоматериалом доставляли в лабораторию при 4 – 8 ^{0}С в течение 3 часов.

В лаборатории биотехнологии научного центра ООО «ЦитоГенТест» пробы обрабатывали. Жировую ткань в условиях ламинарного бокса промывали буфером PBS, измельчали при помощи микроножниц и инкубировали 45 мин при 37 ^{0}С в 0,075%-ном растворе коллагеназы (тип 2) (ПанЭко, Россия) при постоянном помешивании. Полученную суспензию фильтровали, центрифугировали, полученный осадок разводили средой αMEM + 10 % FBS и высевали в культуральные флаконы площадью 25 $см^2$. Через 24 ч среду заменяли и удаляли неприкрепленные клетки. Монослой МСК ЖТ формировался к 10 суткам после выделения.

КМ разбавляли 1:1 стерильным раствором PBS, центрифугировали, полученный осадок еще два раза промывали описанным способом. Затем к осадку добавляли среду αMEM + 10 % FBS и высевали в культуральные флаконы площадью 25 $см^2$. Через 24 часа среду заменяли и удаляли неприкрепленные клетки. Спустя 48 часов процедуру повторили. Монослой МСК КМ формировался к 10 суткам после выделения.

Сперму разбавляли в соотношении 1:4 (разбавитель OptiXcell (IMV, Франция)), далее - охлаждали при температуре + 4°С в течение двух часов для стабилизации взаимодействия между спермой и средой [5]. После чего производили ручную упаковку разбавленной спермы при помощи микропипетки (Minitube)и пайет объемом 0,25 мл при температуре + 4°С. Протокол заморозки образцов спермы состоял из двух этапов: 1 - соломинки помещали в гоблеты и далее - стаканы выдерживали 7 мин на уровне 4 см над жидким азотом; 2 - полное погружение в жидкий азот для дальнейшего хранения [6, 7].Оттаивание спермы производилось притемпературе+37°С в течение 30 секунд [8].

Экспериментальная работа включала в себя следующие этапы: после оттаивания спермы было сформировано три группы (n=5 в каждой): контрольная (сперматозоиды $7x10^{10}$кл/мл + разбавитель OptiXcell (IMV, Франция), общий объем 100 мкл, pH – 5,8), первая опытная (сперматозоиды $7x10^{10}$кл/мл + разбавитель OptiXcell (IMV, Франция)+МСК КМ $2x10^8$кл/мл, pH – 5,3), вторая опытная (сперматозоиды $7x10^{10}$кл/мл + разбавитель OptiXcell (IMV, Франция) + МСК ЖТ $2x10^8$кл/мл, pH – 5,4). С целью установления степени переживаемости сперматозоидов после оттаиваниябыла проведена шестичасовая инкубация спермы в средах, содержащих OptiXcell и мезенхимальныестромальные клетки при температуре 38°С с оценкой качественных показателей каждые два часа после оттаивания (0, 2, 4, 6 часов). С целью установления эффективности данного протокола работы спермы козлов-производителей после криоконсервации с МСК, была проведена одна серия эксперимента.

Статистическая обработка данных была проведена при помощи программы Stattech и MedCalc с вычислением показателей вариационного ряда и t-критерий Стьюдента. Сравнение значений производилось на каждом этапе инкубации внутри группы. При этом достоверными считались различия при $p \leq 0,01$ и $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ/RESULTS

Согласно микроскопической оценке качества спермы козлов, проведенной после ее взятия и охлаждения, были получены следующие результаты: количество прогрессивно двигающихся сперматозоидов – 81,77±2,18 % и 81,23±1,78%, количество сперматозоидов без дефектов – 77,63±0,81% и 66,63±1,93%, количество жизнеспособных сперматозоидов – 75,25±1,77 % и 67,25±2,16% соответственно.

Результаты влияния мезенхимальных стволовых клеток из жировой ткани и костного мозга козлов на морфофункциональные характеристики сперматозоидов после криоконсервации отражены на рисунках 1-4.

Согласно протоколу исследований, включенных в план 2024 года (дизайн эксперимента № 2, грант Российского научного фонда № 23-26-00157, https://rscf.ru/project/23-26-00157/), целью работы было проведение микроскопического исследования спермы козлов после оттаивания в процессе шестичасовой инкубации. Проведенные исследования указывают на переживаемость сперматозоидов козлов после оттаивания в течение четырех часов. Результаты исследований после шестичасовой инкубации указывают на тотальную потерю жизнеспособности.

Согласно результатам оценки морфологии сперматозоидов, отраженных на рисунке 1, процесс криоконсервации спермы козлов негативно отражается на морфологической структуре половых гамет, при этом отмечается сокращение количества нормальных сперматозоидов на 19,5%-25,4%. В процессе глубокой заморозки наблюдается значительное поражение хвостовой части сперматозоидов козлов – увеличение дефектов хвоста на 15,12% - 21,74 % по сравнению с результатами исследований нативных образцов спермы.

В процессе четырехчасовой инкубации спермы после оттаивания, статистически значимое сокращение количества нормальных сперматозоидов отмечалось во всех исследуемых группах. При этом разница значений в контрольной группе составила 1,3 ($p<0,01$,2 часа) и 1,4 ($p<0,01$, 4 часа) раза; первой опытной группе – 1,1($p<0,01$, 4 часа) раз; второй опытной группе – 1,1($p<0,01$, 2 часа) и 1,3 ($p<0,01$, 4 часа) раз по сравнению с результатами 0 часов инкубации. Было зарегистрировано статистически значимое увеличение количества дефектов шейки и хвостовой части сперматозоидов в контрольной и второй опытной группах. Так, в контрольной группе разница значений составила 1,3-1,5 раз ($p<0,01$) при анализе дефектов шейки и 1,2 ($p<0,05$) - 1,4 ($p<0,01$) раз при анализе дефектов хвостовой части сперматозоидов. Что касается разницы значений среди патологических форм сперматозоидов при икубации образцов с МСК их жировой ткани, то было зафиксировано достоверное увеличение половых клеток с дефектами шейки на 2-й и 4-й час инкубации в 1,4 ($p<0,05$) -1,6 ($p<0,01$) раз, а также достоверное увеличение сперматозоидов с дефектами хвоста на 4-й час инкубации в 1,2 раза ($p<0,01$). Таким образом, анализ полученных данных указывает на наибольшую сохранность морфологически нормальных сперматозоидов при их инкубации с МСК из костного мозга и жировой ткани. Кроме того, наиболее выраженное поражение хвостовой части отмечалось у сперматозоидов контрольной группы (разбавитель OptiXcell), чего нельзя сказать о результатах, полученных при анализе патологических форм образцов опытных групп, у которых наибольшей зоной поражения была шейка сперматозоида.

Результаты оценки подвижности сперматозоидов отражены на рисунке 2. Согласно полученным данным, образцы контрольной и первой опытной групп имели одинаковую динамику достоверных изменений двигательной активности сперматозоидов при четырехчасовой инкубации после оттаивания – статистически значимое снижение количества сперматозоидов с прогрессивным движением в 1,6 раз ($p<0,05$ – контрольная группа, $p<0,01$ – первая опытная группа), и,

напротив, достоверное увеличение количества сперматозоидов с непрогрессивным движением в 1,3 раза ($p<0,05$ для обеих групп).

Результаты оценки двигательной активности сперматозоидов по завершению 4-х часовой инкубации указывают на значительную разницу значений между группами. В частности, наибольшая подвижность отмечалось у сперматозоидов первой опытной группы – 21,45±4,58 %. Кроме того, достоверная разница значений данного показателя в результате 4-х часовой инкубации по сравнению с данными 0 часов после оттаивания была следующей: контрольная группа – 3,7 ($p<0,01$), первая опытная группа – 2,0 ($p<0,01$), вторая опытная группа – 3,0 ($p<0,01$). Наименьшая разница количества сперматозоидов с непрогрессивным движением при внутригрупповой оценке в результате 4-х часовой инкубации после оттаивания отмечалась у второй опытной группе – 1,3 раза ($p<0,01$). Таким образом, инкубация спермы козлов-производителей с МСК из костного мозга и жировой ткани оказывает положительное действие на двигательную активность сперматозоидов. Результаты оценки жизнеспособности сперматозоидов отражены на рисунке 3.

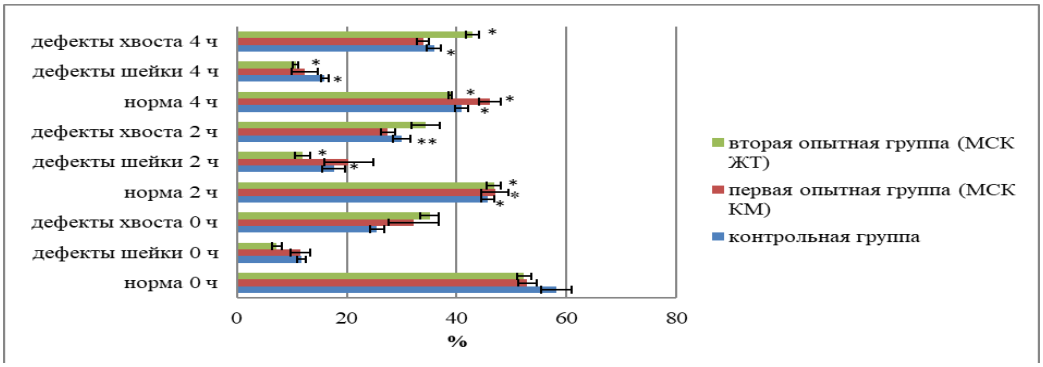


*Рисунок 1 – Результаты оценки морфологии сперматозоидов козлов после оттаивания в процессе четырехчасовой инкубации с МСК (M±m, n=10). Примечание: * - p<0,01, ** - p≤0,05 (достоверно по сравнению с результатами 0 часов инкубации спермы).*

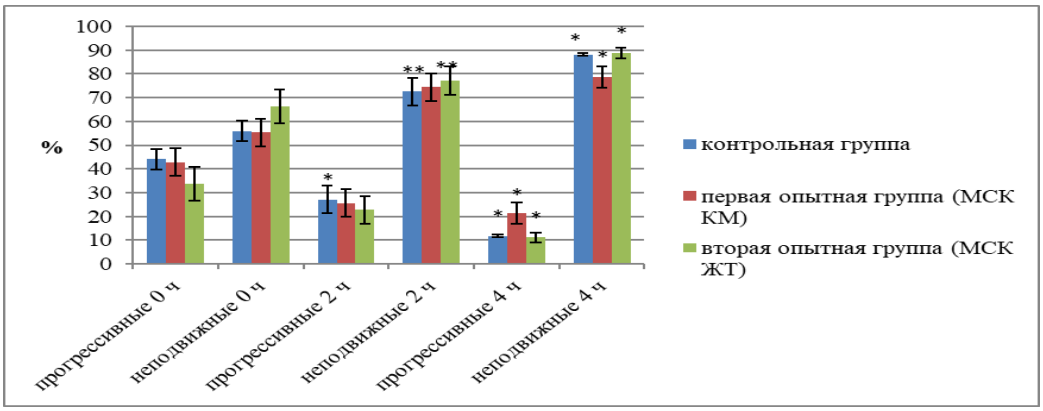


*Рисунок 2 – Динамика подвижности сперматозоидов козлов после оттаивания в процессе четырехчасовой инкубации с МСК (M±m, n=10). Примечание: * - p<0,01, ** - p≤0,05 (достоверно по сравнению с результатами 0 часов инкубации спермы).*

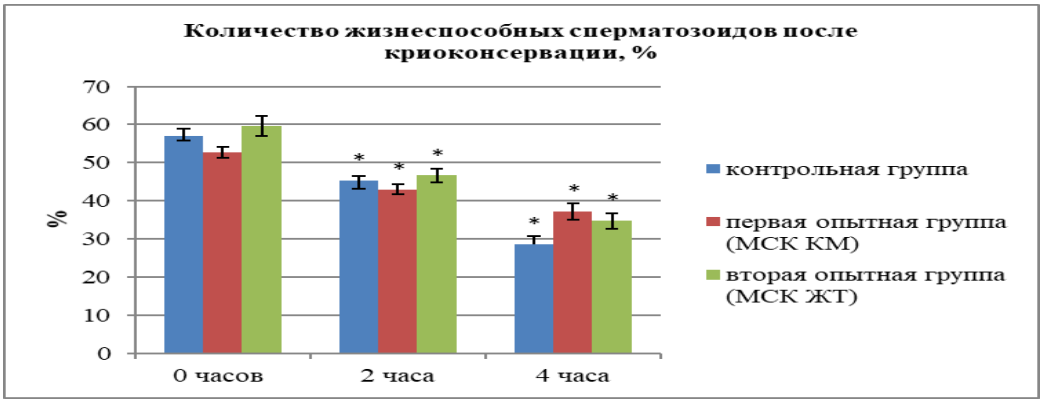


*Рисунок 3 – Результаты оценки жизнеспособности сперматозоидов козлов после оттаивания в процессе четырехчасовой инкубации с МСК (M±m, n=10). Примечание: * - p<0,01, ** - p≤0,05 (достоверно по сравнению с результатами 0 часов инкубации спермы).*

Согласно данным рисунка 3, статистически значимое сокращение количества жизнеспособных сперматозоидов козлов в результате 4-х часовой инкубации отмечалось во всех исследуемых группах, однако, наиболее выраженные изменения отмечались в контрольной группе с разницей значений, равной 1, 9 раза (p<0,01). Наибольшее количество жизнеспособных сперматозоидов было зарегистрировано в первой опытной группе при 4-х часовой инкубации образцов с МСК, полученных из костного мозга – 37,13±2,21%.

Что касается оценки акросомальной целостности, то наибольшее количество сперматозоидов с интактными акросомами было зарегистрировано во второй опытной группе (МСК ЖТ). Вместе с тем, была зарегистрирована характерная тенденция сокращения количества сперматозоидов с инктактными акросомами при внутригрупповом сравнении преимущественно в контрольной и второй опытных группах со следующей достоверной разницей значений: 2 часа инкубации – 1,4 и 1,3 раза (p<0,01), 4 часа инкубации – 1,6 раза (p<0,01). Что касается первой опытной группы, то разница значений между 0, 2 и 0, 4 часов инкубации была следующей – 1,2 и 1,5 раз (p<0,01).

Таким образом, можно предположить, что МСК оказывает регенеративный эффект на структуру сперматозоидов после криоконсервации и обладает протекторным действием. Полученные данные согласуются с ранее проведенными исследованиями при инкубации спермы баранов-производителей (после оттаивания) с МСК из КМ и ЖТ, и полученными результатами [3] и определяют перспективность дальнейших исследований, в том числе и с целью раскрытия механизма воздействия МСК на структуру сперматозоидов.

ВЫВОДЫ/CONCLUSION

Проведенные нами исследования и полученные результаты указывают на возможность применения МСК из жировой ткани и костного мозга в качестве среды/средового компонента для регенерации сперматозоидов козлов после оттаивания. Стоит отметить, что получение результата достигается после определенной пролонгированной инкубации спермы с мезенхимальными стволовыми клетками. Также наиболее выраженный эффект отмечается при инкубации с МСК из костного мозга. Полученные результаты единогласно подтверждают изложенный факт. Так, при инкубации спермы козлов после оттаивания с МСК из костного мозга в течение 2-4 часов наблюдается:

сохранение морфологически нормальных сперматозоидов, при этом их количество на 4-й час инкубации составляет

46,00±1,98%;

сохранение двигательной активности на 4-й час инкубации, равной 21,45±4,58% с достоверной наименьшей разницей между значениями внутри группы – 2,0 раза ((p<0,01);

сперматозоиды козлов сохраняют жизнеспособность с течение 4-х часов инкубации, непосредственно после оттаивания образцов. При этом наибольшее количество жизнеспособных сперматозоидов отмечается при инкубации спермы с МСК из КМ (37,13±2,21%).

EFFICIENCY OF MSC USING AFTER GOAT SPERM CRYOPRESERVATION

Korochkina E.A. [1]* – phD. In Veterinary science, Associate Professor, Department of Genetic and Reproductive Technologies; **Trifonova A.V.** [2] – phD in biological science, the director of science; **Finageev E.Y.** [1] –phD, In Veterinary science, Assistant, Department of Genetic and Reproductive Technologies, **Glavatskay D.E.** [1] – phD student, **Pushkina V.S.** [1] – phD student

[1]St. Petersburg state academy of veterinary medicine

[2]LLC "Scientific Center for Cytogenetic Testing"

*e.kora@mail.ru

Financing: *The research was carried out at the expense of a grant from the Russian Science Foundation No. 23-26-00157, https://rscf.ru/project/23-26-00157/*

ABSTRACT

The aim of the study was to establish the efficiency of using mesenchymal stem cells from adipose tissue and bone marrow of goats after sperm cryopreservation. The results of four-hour incubation of sperm samples after thawing indicate a reliable difference in the values during incubation with mesenchymal stem cells (MSCs) from adipose tissue/bone marrow and without them (OptiXcell medium). Thus, during four-hour incubation of sperm after thawing, a statistically significant decrease in the number of normal spermatozoa was noted in all study groups. At the same time, the difference in values in the control group was 1.3 (p<0.01, 2 hours) and 1.4 (p<0.01, 4 hours) times; the first experimental group - 1.1 (p<0.01, 4 hours) times; the second experimental group – 1.1 (p < 0.01, 2 hours) and 1.3 (p < 0.01, 4 hours) times compared to the results of 0 hours of incubation. Samples of the control and first experimental groups had the same dynamics of reliable changes in sperm motility during four-hour incubation after thawing – a statistically significant decrease in the number of progressively moving sperm by 1.6 times (p < 0.05 – control group, p < 0.01 – first experimental group), and, on the contrary, a reliable increase in the number of non-progressively moving sperm by 1.3 times (p < 0.05 for both groups). Pronounced motility activity was observed in the sperm of the first experimental group upon completion of 4-hour incubation, equal to 21.45 ± 4.58%. The highest number of viable spermatozoa was registered in the first experimental group with 4-hour incubation of samples with MSC obtained from bone marrow - 37.13±2.21%, the highest number of spermatozoa with intact acrosomes - in the second experimental group (MSC AT). Thus, it can be assumed that MSC has a regenerative effect on the structure of spermatozoa after cryopreservation. To reveal the mechanism of the effect of MSC on the structure of spermatozoa, it is necessary to continue research.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Баженова, Н. Б. Оценка качественных показателей спермы животных: учебно-методическое пособие / Н. Б. Баженова, К. В. Племяшов, Е. А. Корочкина. – Санкт-Петербург: Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины, 2023. – 25 с.

2. ГОСТ 32222–2013.Средства воспроизводства. Сперма. Методы отбора проб. – Веден 2015-01-27. – М.: Стандарт информ, 2018. – 10 с.

3. Корочкина, Е. А. Влияние мезенхимальных стромальных клеток на качество спермы баранов после криоконсервации /

Е. А. Корочкина, В. С. Пушкина // Ветеринария и кормление. – 2024. – № 4. – С. 55-59. – DOI 10.30917/ATT-VK-1814-9588-2024-4-10.
4. Мирошина, Т. А. Перспективы молочного козоводства / Т. А. Мирошина // Проблемы интенсивного развития животноводства и их решение: материалы международной научно-практической конференции, Брянск, 25–26 марта 2021 года. – Брянск: Брянский государственный аграрный университет, 2021. – С. 529-532.
5. Тощев, В.К. Экстерьерные особенности коз белой русской породы и их помесей с зааненскими козлами /В.К. Тощев, Е.В. Царегородцева, Г.Н.Мустафина // Мосоловские чтения. - Йошкар-Ола, 2006. - Вып.8. - С.247-249.
6. Goat Semen Cryopreservation Protocol. // National Animal GermplasmProgram. - 2016. (5)
7. Xu, B. Evaluation of lipidomic change in goat sperm after cryopreservation / Xu B, Wang R, Wang Z, et al. // Frontiers in veterinary science. - 2022.-Vol. 9.- P 1-11. (9)
8. Zhang, W. Beneficial effect of proline supplementation on goat spermatozoa quality during cryopreservation / Zhang Weijing, Lingjiang Min, Yajing Li, et al.// Animals. - 2022. - Vol. 12(19). -P. 1-13.(10)

REFERENCES

1. Bazhenova N. B., Plemyashov K. V., Korochkina E. A. Otsenkakachestvennykhpokazateleyspermyzhivotnykh. Sankt-Peterburg: Sankt-Peterburgskiygosudarstvennyyuniversitetveterinarnoymeditsiny, 2023. 25 s.
2. GOST 32222–2013.Sredstva vosproizvodstva. Sperma. Metodyotbora prob. – M.: Standart inform. 2018. 10 s.
3. Korochkina, E. A. Influence of mesenchymal stromal cells on the quality of ram sperm after cryopreservation / E. A. Korochkina, V. S. Pushkina // Veterinary science and feeding. - 2024. - No. 4. - P. 55-59. - DOI 10.30917 / ATT-VK-1814-9588-2024-4-10.
4. Miroshina, T. A. Prospects for Dairy Goat Breeding / T. A. Miroshina // Problems of Intensive Development of Animal Husbandry and Their Solution: Proceedings of the International Scientific and Practical Conference, Bryansk, March 25–26, 2021. – Bryansk: Bryansk State Agrarian University, 2021. – Pp. 529–532.
5. Toshchev, V. K. Exterior Features of White Russian Goats and Their Crosses with Saanen Goats / V. K. Toshchev, E. V. Tsaregorodtseva, G. N. Mustafina // Mosolov Readings. – Yoshkar-Ola, 2006. – Issue 8. – Pp. 247–249.
6. Goat Semen Cryopreservation Protocol. // National Animal GermplasmProgram. - 2016. (5)
7. Xu, B. Evaluation of lipidomic change in goat sperm after cryopreservation / Xu B, Wang R, Wang Z, et al. // Frontiers in veterinary science. - 2022.-Vol. 9.- P 1-11. (9)
8. Zhang, W. Beneficial effect of proline supplementation on goat spermatozoa quality during cryopreservation / Zhang Weijing, Lingjiang Min, Yajing Li, et al.// Animals. - 2022. - Vol. 12(19). -P. 1-13.(10)

УДК: 636.01/5:636.5:636.082:636.018
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.4.501

ПРАКТИЧЕСКОЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МОДЕЛИ ХОРИОАЛЛАНТОИСНОЙ МЕМБРАНЫ (ХАМ) ПРИ СОЗДАНИИ КРИОБАНКА ГЕНЕРАТИВНЫХ КЛЕТОК САМОК *GALLUS GALLUS DOMECTICUS*

Станишевская О.И. – д-р биол. наук, гл. науч. сотр., зав. лабораторией генетики, разведения и сохранения генетических ресурсов сельскохозяйственных птиц (ORCID 0000-0001-9504-3916); **Силюкова Ю.Л.** – мл. науч. сотр. лаборатории генетики, разведения и сохранения генетических ресурсов сельскохозяйственных птиц (ORCID 0000-0003-1905-6373); **Мирзакаева И.И.** – лаборант-исследователь лаборатории генетики, разведения и сохранения генетических ресурсов сельскохозяйственных птиц

Всероссийский научно-исследовательский институт генетики и разведения сельскохозяйственных животных – филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр животноводства – ВИЖ имени академика Л. К. Эрнста»

*olgastan@list.ru

Ключевые слова: *хориоаллантоисная мембрана кур, эмбрионы, гонады, яичники кур, трансплантация.*

Key words: *chicken chorioallantoic membrane, embryos, gonads, chicken ovaries, transplantation*

Финансирование: *Настоящее исследование проведено по теме НИР 124020200127-7 «Изучение молекулярно-биологических основ формирования воспроизводительных функций и совершенствование биотехнологий, направленных на повышение и эффективное использование репродуктивного потенциала сельскохозяйственных животных»*

Поступила: 08.10.2024 **Принята к публикации: 02.12.2024**
Опубликована онлайн:16.12.2024

РЕФЕРАТ

Одним из перспективных направлений сохранения женских репродуктивных клеток класса птиц *(Aves)* является использование эмбриональных тканей репродуктивных органов и клеток. Оценка эффективности методов замораживания тканей женских репродуктивных органов птиц должна основываться на простоте и доступности. Модель хориоаллантоисной мембраны кур (ХАМ) может быть доступным эффективным подходом при оценке качества заморожено/оттаянных тканей яичников птиц для последующей ортотопной трансплантации. Целью исследования было определить возраст эмбрионов кур для получения дифференцированных по полу гонад и провести оценку жизнеспособности трансплантированных эмбриональных женских гонад на хориоаллантоисной мембране по их неоваскуляризации в мезенхиме для использования в дальнейшем данных методов скрининга при криоконсервации эмбриональных женских гамет кур. Для получения эмбриональных женских гонад использовали оплодотворенные яйца кур поро-

ды русская белая после инкубации в течение 9-и суток – 10 шт., и в течение 17-и суток – 10 шт. (в 3х повторностях). Количество васкуляризированных донорских гонад после трансплантации на ХАМ реципиента от эмбрионов в возрасте 9-и суток составило 75,0% от общего числа трансплантатов; от эмбрионов в возрасте 17-и суток этот показатель составил 63,6%. Представленные данные предназначены для практической оценки модели трансплантации ткани эмбриональных яичников доноров с использованием ХАМ реципиента с целью последующего ее использования при оценке эффективности протокола витрификации эмбриональных тканей гонад кур, а также в протоколе получения гонадных зародышевых клеток (GGCs) из эмбриональных тканей яичников кур от 9-суточных эмбрионов и трансплантации тканей эмбриональных яичников от 17-суточных эмбрионов.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Современные методы сохранения генетических ресурсов сельскохозяйственных птиц, в отличие от млекопитающих, включают в себя возможности сохранения только мужской части популяции генофондных пород. Сохранение женского генома класса *Aves*, в настоящее время, остается на уровне разработки и апробации методов.

Однако, для сохранения редких и исчезающих генофондных пород сельскохозяйственных птиц, находящихся на грани исчезновения, необходимо использовать весь спектр знаний и методов, чтобы обеспечить поддержание генетического разнообразия и использовать возможность его восстановления.

Последние достижения в области криоконсервации и технологии восстановления пород домашней птицы с помощью спермы, стволовых клеток, соматических клеток и гонад открывают перспективы для создания биобанков, хотя каждое из них имеет четкие различия и ограничения с точки зрения практичности, осуществимости, эффективности и стоимости [1]

Одним из перспективных направлений сохранения женских репродуктивных клеток класса *Aves* является использования эмбриональных тканей репродуктивных органов и клеток. Использование совокупности методов и протоколов криоконсервации тканей яичников кур и хирургической трансплантации может способствовать сохранению женских зародышевых клеток. Существующие протоколы медленного и быстрого замораживания тканей репродуктивных органов необходимо верифицировать с использованием доступных методов оценки жизнеспособности сохраняемых тканей репродуктивных органов самок птиц [2,3], однако эффективность овариэктомии донорских яичников реципиентам не позволила получить 100% потомство от донора из-за неполного удаления функциональной ткани яичников реципиента [1]. В 2007 годы Y. Song и F. G. Silverside представили результаты проведенного исследования, в котором яичники суточных цыплят были пересажены цыплятам-реципиентам аналогичного возраста, и после достижения половой зрелости пересаженная ткань яичника полноценно функционировала [4].

Наиболее простой системой скрининга жизнеспособности будущих трансплантатов женских эмбриональных гонад кур является хориоаллантоисная мембрана куриного эмбриона (ХАМ) с высокой степенью васкуляризации [5]. Хориоаллантоисная мембрана эмбрионов кур обеспечивает через непрерывную систему кровообращения функции дыхания, транспорта кальция из яичной скорлупы, кислотно-щелочной гомеостаз и реабсорбцию воды и др. [6].

Целью нашего исследования было определить возраст эмбрионов кур для получения дифференцированных по полу гонад и провести оценку жизнеспособности трансплантинованных эмбриональных женских гонад на хориоаллантоисной мембране по их неоваскуляризации в мезенхиме для использования в дальнейшем данных методов скрининга при криоконсервации эмбриональных жен-

ских гамет кур.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Для получения эмбриональных женских гонад использовали оплодотворенные яйца кур породы фавероль и русская белая после инкубации в течение 9-и суток – 10 шт., и в течение 17-и суток – 10 шт. Инкубацию яиц проводили в стандартном режиме при температуре 37,5ºС и относительной влажности 63-65%. Закладку яиц для инкубации проводили так, чтобы гонады необходимого возраста были получены одновременно. Эмбриональные женские гонады отделяли с использованием микрохирургических ножниц и переносили в питательную среду Дюльбекко на 1-1,5 ч, после чего проводили трансплантацию на ХАМ. Опыт проведен в 3х повторностях.

Для получения ХАМ использовали оплодотворенные яйца кур породы русская белая (10 шт.). На 3 сутки инкубации проводили подготовку хориоаллантоисной мембраны по следующему протоколу: яйца обрабатывали 70% этиловым спиртом, затем, минимально травмируя яйцо, острым концом скальпеля делали отверстие в скорлупе на остром конце яйца и отбирали стерильным шприцом 2,0 мл белка для увеличения просвета между ХАМ и подскролупной оболочкой для предотвращения ее сращивания с сосудами аллантоиса. Далее, для доступа к хориоаллантоисной мембране на боковой части яйца выпиливали окно размером 15х10 мм, не повреждая подскорлупную мембрану (рис.1). Окно закрывали медицинским пластырем на тканевой основе и продолжали инкубацию до 10-и суток.

Трансплантацию донорских эмбриональных гонад на ХАМ проводили следующим образом: вскрывали подскорлупную мембрану, на поверхности хориоаллантоисной мембраны размещали силиконовое кольцо, изготовленное из медицинской силиконовой трубки с внутренним диаметром 5 мм, предварительно антисептически обработанное. В центр силиконового кольца с помощью микрохирургических щипцов помещали извлеченные эмбриональные женские гонады, полученные от эмбрионов после 9-и и 17-и суток инкубации. Закрывали окно на поверхности яйца пластырем и продолжали инкубацию еще в течение 5 суток.

Степень неоваскуляризации эмбриональных женских гонад на ХАМ на 5й день инкубирования оценивали визуально с использованием стереоскопического микроскопа МСП-2 при увеличении х60, а также путем оценки гистологических препаратов.

Для гистологического исследования брали женские эмбриональные гонады кур на 9-й и 17-й день инкубации, а также донорские ткани эмбриональных гонад после инкубации на ХАМ реципиента на 5й день инкубирования. Образцы фиксировали в растворе Буэна. Фиксированные образцы заливали парафином, делали серийные срезы на микротоме толщиной 4 мкм, окрашивали гематоксилином/эозином и анализировали под микроскопом (увеличение х200, ×400 Motic, Китай).

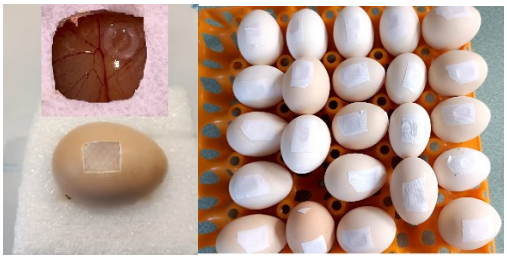


Рисунок 1 – Подготовка эмбрионов-реципиентов.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Поскольку определено, что дифференциация гонад в семенники или яичники завершает третью критическую фазу – 8-и суток инкубации [7,8], в нашей работе извлечение гонад осуществляли на 9-и сутки инкубации после критической фазы для полной визуальной достоверности гонадной дифференцировки (рис. 2). 17-е сутки инкубации для получения эмбриональных гонад (рис. 3) были выбраны по следующим причинам: во-первых, данный возраст эмбриона позволяет оценить развитие фолликулов гистологическим

методом, во-вторых, данный период развития эмбрионов характеризуется спадом уровня альфа-фетопротеина, который предохраняет эмбрион от развития иммунологического конфликта [9] и снижает влияние материнского организма, что может, по нашему мнению, способствовать успешной ксенотрансплантации на ХАМ. Гонады эмбрионов более старшего возраста становятся менее пригодны для целей ортотрансплатации из-за возможного иммунного конфликта между донорским яичником и эмбрионом-реципиентом. Из данных проведенных экспериментов следует, что количество полученных эмбриональных женских гонад, пригодных для последующего замораживания, составило 32-35% от общего числа оцененных эмбрионов в зависимости от возраста (табл. 1, рис. 2-3).

В свою очередь, количество эмбрионов, оцененных по развитию ХАМ, и пригодных в качестве реципиентов составило не более 40% (рис. 5 и рис. 6). Эмбрионы различались по развитию кровеносной системы и толщине сосудов ХАМ. Для успешной приживляемости донорских тканей гонад необходимо размещать фрагмент ткани в наиболее васкуляризированной зоне ХАМ. Количество васкуляризированных донорских гонад от эмбрионов в возрасте 9-и суток составило 75,0% от общего числа трансплантатов; от эмбрионов в возрасте 17-и суток этот показатель составил 63,6%.

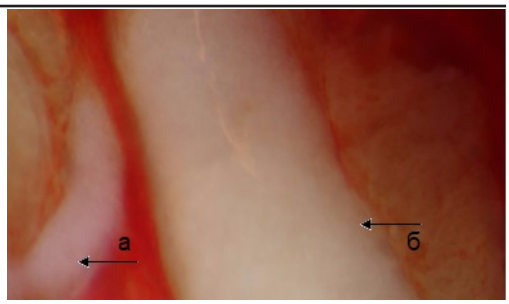


Рисунок 3 – Дифференцированные по полу эмбриональные гонады кур (17 суток инкубации). а) редуцированная правая гонада; б) левый увеличенный яичник.

Результаты трансплантации фрагментов донорских тканей эмбриональных гонад на ХАМ оценивали визуально на стереомикроскопе по наличию мелкой сосудистой сетки (неоваскуляризации) по покровному эпителию фрагментов тканей донорских эмбриональных яичников (рис. 4-6). Оценку развития эмбриональных гонад и фолликул проводили на срезах гистологических препаратов, на рисунках 7 и 8 представлены изменения размеров гонад и размеров и количества фолликулов в зависимости от возраста эмбрионов. В возрасте эмбриона 17 суток отмечено существенное снижение числа оогоний, что соответствует нормальному развитию генеративных клеток в эмбриональный период.

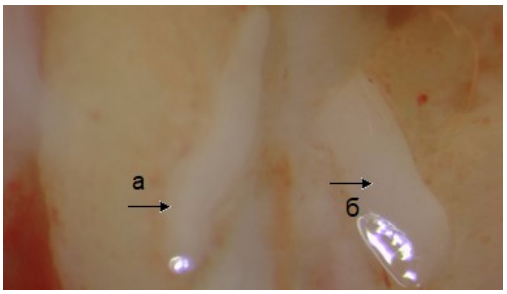


Рисунок 2 – Дифференцированные по полу эмбриональные гонады кур (9 суток инкубации). а) правая гонада (начальная стадия дегенерации); б) левый увеличенный яичник.

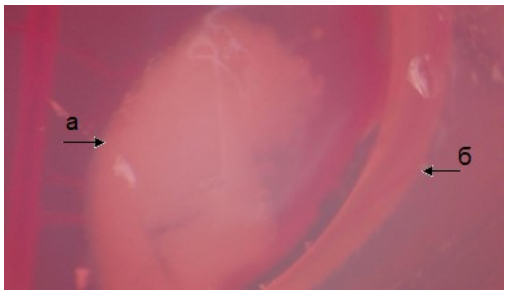


Рисунок 4 – Эмбриональный яичник кур на ХАМ перед инкубацией: а) фрагмент эмбриональной гонады: б) силиконовое кольцо.

Таблица 1 – Показатели приживаемости эмбриональных гонад кур (яичников) на хорионаллантоисной мембране

Показатель	Всего оценено эмбрионов, шт.	Кол-во яичников, полученных для трансплантации, шт.	Кол-во гонад трансплантированных на ХАМ, шт.	Кол-во васкуляризированных донорских гонад, шт.
- эмбрионов в возрасте 9-и суток	28 (12♀)	9 (32,1%)	8	6 (75,0%)
- эмбрионов в возрасте 17-и суток	34 (12♀)	12 (35,3%)	11	7 (63,6%)

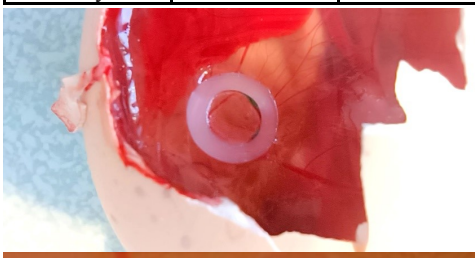


Рисунок 5 – Фото развития ХАМ с размещенной эмбриональной гонадой после инкубации в течение 5-и суток.

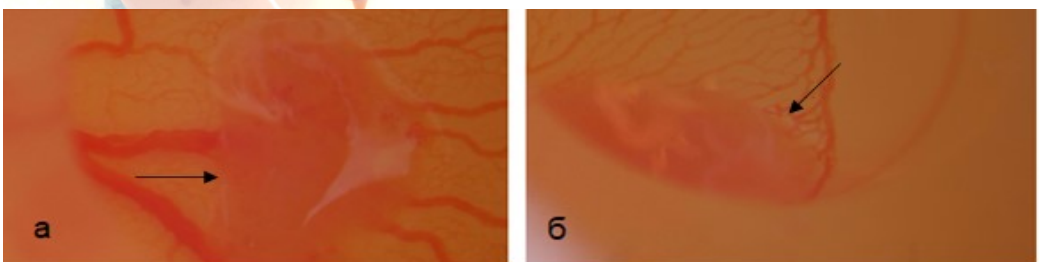


Рисунок 6 – Изображение фрагментов донорских эмбриональных гонад с васкуляризацией по покровному эпителию после 5-и суток инкубации на ХАМ (увеличение х20) полученных от эмбрионов: а) трансплантированный яичник 9-суточного эмбриона; б) трансплантированный яичник 17-суточного эмбриона.

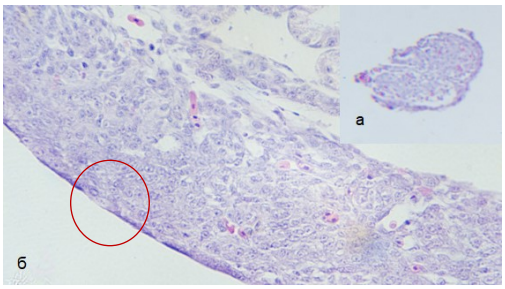


Рисунок 7 – Снимок фрагмента гистологического препарата эмбрионального яичника (9 суток) – генеративная фаза развития первичных гонадных половых клеток: а) увеличение х100, б) увеличение х400.

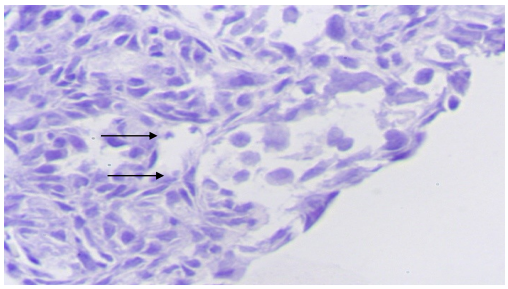


Рисунок 8 – Снимок фрагмента гистологического препарата эмбрионального яичника (17 суток) – обозначены первичные фолликулы (увеличение х400).

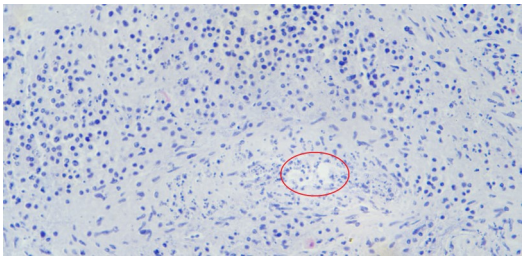


Рисунок 9 – Фрагмент изображения гистологического среза трансплантированного эмбрионального яичника (9 суток) после инкубации на ХАМ в течение 5 суток: выделен фрагмент неоваскуляризации ткани яичника.

Оценка неоваскуляризации гистологического среза трансплатированного донорского яичника после инкубации в течение 5 суток на ХАМ показала различие по количеству мелких сосудов, которое составило у эмбрионов в возрасте 9-и суток 2-3 шт. в поле зрения, у эмбрионов в возрасте 17-и суток – 1-2 шт. в поле зрения (рис. 9).

Полученные результаты показывают, что возможно эффективное использование эмбриональных гонад кур генофондных пород в возрасте 9-и и 17-и суток инкубации, для последующего их хранения *in vitro*, ввиду возможности их успешной последующей трансплантации курам-реципиентам.

Хориоаллантоисная мембрана может служить моделью для тестирования биосовместимости эмбриональных тканей гонад кур для различных пород для последующей ксенотрансплантации наиболее подходящим породам-реципиентам. Также представленная модель оценки жизнеспособности эмбриональных гонад кур может использоваться для определения необходимого количества женских гонад при хранении *in vitro* при установлении прогнозируемого уровня приживляемости транплантируемых репродуктивных органов на основе модели ХАМ.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Эффективность методов витрификации эмбриональных гонад кур и низкотемпературного хранения *in vitro* требует дальнейшей разработки и апробации. Кроме того, не выяснена эффективность трансплантации донорских эмбриональных репродуктивных органов живым реципиентам и возможность получения от них потомства.

Проведенное исследование позволяет оценить преимущество *модели* ХАМ *реципиента* при оценке качества трансплантируемого *донорского* репродуктивного материала при создании криобанка *гермоплазмы самок сельскохозяйственных* птиц. Несомненно, что сохранение генеративных клеток самок птиц в условиях низкотемпературного хранения затребует проведения значительного количества исследований по разработке и оценке методов замораживания репродуктивных клеток, их трансплантации в виде тканей или при использовании *гонадных зародышевых клеток (*GGCs*)*, извлеченных из гонад на ранней половой дифференциации. *В настоящий момент исследования в данном* направление ведутся многими научными лабораториями мира.

PRACTICAL USE OF THE CHORIOALLANTOIC MEMBRANE (CAM) MODEL IN THE CREATION OF A CRYOBANK OF GENERATIVE CELLS OF FEMALE GALLUS GALLUS DOMECTICUS

Stanishevskaya O.I. – Doctor (Biology), Chief, head. laboratory of Genetics, breeding and conservation of genetic resources of farm birds (ORCID 0000-0001-9504-3916), **Silyukova Y.L.** – PhD (Biology), researcher laboratories of genetics, breeding and conservation of genetic resources of farm birds (ORCID 0000-0003-1905-6373)? **Mirzakaeva I.I.** – laboratory assistant researcher at the Laboratory of Genetics, breeding and conservation of genetic resources of farm birds

The All-Russian Scientific Research Institute of Genetics and Breeding of Farm Animals is a branch of the Federal State Budgetary Scientific Institution "Federal Research Center for Animal Husbandry – VIZ named after Academician L. K. Ernst"

*olgastan@list.ru

Funding: *This study was conducted under the research topic 124020200127-7 "Study of the molecular biological foundations of the formation of reproductive functions and improvement of biotechnologies aimed at increasing and effectively using the reproductive potential of farm animals*"

ABSTRACT

One of the promising areas for preserving female reproductive cells of the Aves class is the use of embryonic tissues of reproductive organs and cells. Evaluation of the effectiveness of freezing methods for female reproductive organs of birds should be based on simplicity and availability. The chicken chorioallantoic membrane (CAM) model can be an accessible and effective approach to assessing the quality of frozen/thawed avian ovarian tissues for subsequent orthotopic transplantation. The aim of the study was to determine the age of chicken embryos for obtaining sex-differentiated gonads and to evaluate the viability of transplanted embryonic female gonads on the chorioallantoic membrane by their neovascularization in the mesenchyme for further use of these screening methods in cryopreservation of embryonic female gametes of chickens. To obtain embryonic female gonads, fertilized eggs of Russian White chickens were used after incubation for 9 days - 10 pcs, and for 17 days - 10 pcs (in 3 replicates). The number of vascularized donor gonads after transplantation to the recipient's CAM from 9-day-old embryos was 75.0% of the total number of transplants; from 17-day-old embryos it was 63.6%. The presented data are intended for practical evaluation of the model of transplantation of donor embryonic ovarian tissue using the recipient's CAM for the purpose of its subsequent use in assessing the effectiveness of the vitrification protocol for embryonic gonadal tissues of chickens, as well as in the protocol for obtaining gonadal germ cells (GGCs) from embryonic ovarian tissues of chickens from 9-day-old embryos and transplantation of embryonic ovarian tissues from 17-day-old embryos.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Sun, Y. Poultry genetic heritage cryopreservation and reconstruction: advancement and future challenges / Sun Y., Li, Y., Zong, Y. et al // J Animal Sci Biotechnol. 2022. – Vol. 13. – P. 115. doi:10.1186/s40104-022-00768-2

2. Song, Y. Offspring produced from orthotopic transplantation of chicken ovaries / Song Y., Silversides F.G. // Poult Sci. 2007. – Vol. 86(1). – P. 107-111. doi: 10.1093/ps/86.1.107.

3. Fujihara, M. Cryopreservation Competence of Chicken Oocytes as a Model of Endangered Wild Birds: Effects of Storage Time and Temperature on the Ovarian Follicle Survival / Fujihara M., Shiraishi J.-i., Onuma M., et al. // Animals. 2022. – Vol. 12. P. 1434. doi:10.3390/ani12111434

4. Song, Y. The Technique of Orthotopic Ovarian Transplantation in the Chicken / Song Y., Silversides F. // – Poultry science. – 2006. – Vol. 85 – P. 1104-1006. Doi: 10.1093/ps/85.6.1104

5. Hossay, C. The Chick Chorioallantoic Membrane (CAM) Model as a Tool to Study Ovarian Tissue Transplantation / Hossay C., Cacciottola L., Storder S., et al. // J Vis Exp. 2023. – Vol. 23(196). doi: 10.3791/64867.

6. Pink, D. Parseghian MH. High efficacy vasopermeability drug candidates identified by screening in an ex ovo chorioallantoic membrane model / Pink D., Luhrs K.A., Zhou L., et. al. // Sci Rep. 2015. – Vol. 29 (5). – P. 15756. doi: 10.1038/srep15756.

7. Хохлов, Р. Ю. Особенности морфологической дифференцировки яичника кур в онтогенезе / Р. Ю. Хохлов // Нива Поволжья. – 2009. – № 2(11). – С. 94-98.;

8. Хохлов, Р. Ю. Морфогенез яичника куриного эмбриона в зародышевом периоде эмбрионального онтогенеза / Р. Ю. Хохлов, С. И. Кузнецов // Международный вестник ветеринарии. 2022. – № 4. – С. 353-356. – DOI 10.52419/issn2072-2419.2022.4.353.)

9. Альфа-фетопротеин / В. А. Черешнев [и др.] ; Рос. акад. наук, Ур. отд-ние, Ин-т иммунологии и физиологии УрО РАН,

Перм. гос. мед. акад. МЗ РФ, ЗАО "Ин-т новых мед. технологий" ; [отв. ред. Н. Н. Кеворков]. – Екатеринбург: УрО РАН, 2004. – 375 с.

REFERENCES

1. Sun, Y. Poultry genetic heritage cryopreservation and reconstruction: advancement and future challenges / Sun Y., Li, Y., Zong, Y. et al // J Animal Sci Biotechnol. 2022. – Vol. 13. – P. 115. doi:10.1186/s40104-022-00768-

2. Song, Y. Offspring produced from orthotopic transplantation of chicken ovaries / Song Y., Silversides F.G. // Poult Sci. 2007. – Vol. 86(1). – P. 107-111. doi: 10.1093/ps/86.1.107.

3. Fujihara, M. Cryopreservation Competence of Chicken Oocytes as a Model of Endangered Wild Birds: Effects of Storage Time and Temperature on the Ovarian Follicle Survival / Fujihara M., Shiraishi J.-i., Onuma M., et al. // Animals. 2022. – Vol. 12. P. 1434. doi:10.3390/ani12111434

4. Song, Y. The Technique of Orthotopic Ovarian Transplantation in the Chicken / Song Y., Silversides F. // – Poultry science. – 2006. – Vol. 85 – P. 1104-1006. Doi: 10.1093/ps/85.6.1104

5. Hossay, C. The Chick Chorioallantoic Membrane (CAM) Model as a Tool to Study Ovarian Tissue Transplantation / Hossay C., Cacciottola L., Storder S., et al. // J Vis Exp. 2023. – Vol. 23(196). doi: 10.3791/64867.

6. Pink, D. Parseghian MH. High efficacy vasopermeability drug candidates identified by screening in an ex ovo chorioallantoic membrane model / Pink D., Luhrs K.A., Zhou L., et. al. // Sci Rep. 2015. – Vol. 29 (5). – P. 15756. doi: 10.1038/srep15756.

7. Hohlov, R. Yu. Osobennosti morfologicheskoj differencirovki yaichnika kur v ontogeneze / R. Yu. Hohlov // Niva Povolzh'ya. – 2009. – № 2(11). – S. 94-98.;

8. Khokhlov R.Y., Kuznetsov S.I. Morphogenesis of the ovary of a chicken embryo in the germinal period of embryonic ontogenesis. International Journal of Veterinary Medicine. 2022;(4):353-356. (In doi.org/10.52419/issn2072-2419.2022.4.353

9. Al'fa-fetoprotein / V. A. Chereshnev [i dr.] ; Ros. akad. nauk, Ur. otd-nie, In-t immunologii i fiziologii UrO RAN, Perm. gos. med. akad. MZ RF, ZAO \"In-t novyh med. tekhnologij\" ; [otv. red. N. N. Kevorkov]. – Ekaterinburg: UrO RAN, 2004. – 375 s.

УДК: 636.082.2:636.034
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.4.509

ИЗУЧЕНИЕ НЕГАТИВНОГО ВЛИЯНИЯ ТЕПЛОВОГО СТРЕССА НА ПОКАЗАТЕЛИ МОЛОЧНОЙ ПРОДУКТИВНОСТИ КОРОВ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ СПОСОБАХ СОДЕРЖАНИЯ

Муханина Е.Н. – канд. биол. наук, ст. науч. сотр. (ORCID 0000-0001-9299-2104); **Шакиров Ш.К.** – д-р. с.-х. наук, проф., гл. науч. сотр. (ORCID 0000-0002-3362-0463); **Сафина Н.Ю.*** – канд. биол. наук, ст. науч. сотр. (ORCID 0000-0003-1184-3188); **Гайнутдинова Э.Р.** – асп., науч. сотр. (ORCID 0000-0002-2970-1500)

Татарский научно-исследовательский институт сельского хозяйства
ФИЦ КазНЦ РАН

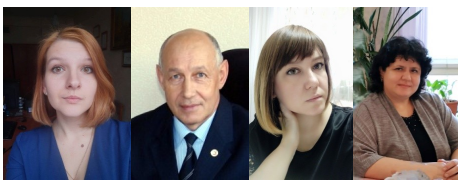
*natysafina@gmail.com

Ключевые слова: тепловой стресс, температурно-влажностный индекс, молочный скот, продуктивность, удой, жир, система содержания

Key words: heat stress, temperature and humidity index, dairy cattle, productivity, yield, fat, keeping system

Финансирование: *Статья является частью исследования «Создание в сельхозпредприятиях с различными системами содержания, технологиями кормления и продуктивностью крупного рогатого скота устойчивой и сбалансированной кормовой базы и сырьевого конвейера для производства высококачественных объемистых кормов, в том числе из нетрадиционных засухоустойчивых кормовых культур (сортов и гибридов суданковой травы, сорго и сорго-суданковых гибридов) с применением новых комплексных биоконсервантов, адаптированных к местным биосистемам и обладающих фунгицидными и бактерицидными свойствами в условиях потепления климата на территории Республики Татарстан», и подготовлена за счет предоставления из бюджета Республики Татарстан гранта на государственную поддержку научных исследований и разработок в области агропромышленного комплекса бюджетным и автономным учреждениям в 2024 году (Договор от 25 марта 2024 г. № 32-24-нир).*

Поступила: 16.10.2024 **Принята к публикации: 02.12.2024**
Опубликована онлайн:16.12.2024



РЕФЕРАТ

Серьезную проблему для скотоводства в теплый период года представляет угроза теплового стресса у животных, которое несет ощутимые экономические потери для всей отрасли, при этом оказывая негативное влияние на продуктивность дойных коров, а также состав вырабатываемого молока. В качестве индикатора теплового стресса у молочных коров избрали ежедневный мониторинг температуры и влажности специальными электронными датчиками в животноводческих помещениях и дальнейший расчет температурно-влажностного индекса (ТВИ), после чего была установлена связь между микроклиматом фермы и финан-

совыми убытками. В качестве экспериментальных сельхозпредприятий были выбраны четыре фермы с различными системами содержания стада, системами вентиляции, способами доения и утилизации навоза. Наименьшие потери молока зафиксированы на мегаферме с беспривязным содержанием, роботизированным доением и инновационной автоматической вентиляционной системой. Наибольшие убытки, вследствие влияния теплового шока на молочных коров, понесла ферма с привязным содержанием, доением в молокопровод и необорудованная системой вентиляции. При этом показатель содержания массовой доли жира в молоке оставался относительно стабильным, спад отмечался лишь в после случаев резких скачков температурно-влажностного индекса в животноводческом помещении. Чаще всего такие скачки, и последующий спад продуктивности, приходились на вторую половину июня и первую половину июля 2024 года. Стабилизация как температурно-влажностного режима на фермах, так и снижение негативного воздействия теплового стресса пришлись на конец августа и первую половину сентября. В среднем за весь сезон удалось зарегистрировать 57 дней с критическими показателями температурно-влажностного индекса.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Тепловой стресс, вызванный повышенной температурой окружающей среды, является одной из самых больших проблем, с которыми сталкивается животноводство при интенсификации производства и в условиях изменяющего климата. Его последствия оказывают негативное воздействие на физиологию, благополучие и продуктивность животных, что отражается на экономике животноводческой отрасли, принося финансовый ущерб [1]. Прямые последствия изменения климата могут быть обусловлены, прежде всего, повышением температуры, а также частотой и интенсивностью волн тепла. В зависимости от интенсивности и продолжительности тепловой стресс может повлиять на здоровье скота, инициируя нарушения обмена веществ, окислительный стресс и подавление иммунитета, вызывая инфекции и смерть [2]. Во время теплового стресса температура тела животного повышается, в результате чего кровь отливает от желудочно-кишечного тракта к поверхности кожи, чтобы увеличить отдачу тепла. При этом уменьшается поступление кислорода (гипоксия) и питание энтероцитов (эпителиальные клетки), выстилающих слизистую оболочку кишечника. В итоге происходит ослабление и разрушение структуры белков плотных контактов эпителия, которые связывают энтероциты между собой, и патогенные микроорганизмы и их токсины проникают в кровоток, вызывая развитие синдрома дырявого кишечника [3].

Тепловой стресс отрицательно влияет на производство молока и его состав у крупного рогатого скота, особенно у высокопродуктивных животных с высокой генетической ценностью [4, 5], которые эндогенно производят больше тепла и, следовательно, более чувствительны к высокой температуре окружающей среды. С другой стороны, дойные коровы также способны увеличивать теплоотдачу за счет увеличения транспирации воды в организме и активности дыхания [6, 7].

Необходимость разработки стратегий по смягчению воздействия и последствий теплого стресса является задачей, требующей незамедлительного решения. На сегодняшний день существует три типа стратегий, которые могут быть применены в животноводстве: физическое изменение окружающей среды, пищевые вмешательства и генетический отбор на устойчивость к жаре (термотолерантность).

Для учета механизмов теплового потока (температура окружающей среды, относительная влажность, солнечная радиация, скорость ветра, осадки) были разработаны индексы, которые используются для определения пороговых значений, после которых начинается тепловой стресс [8, 9]. ТВИ (температурно-влажностный индекс) – это надежный индикатор окружающей среды, который сочетает в себе температуру и относительную влажность для измерения тепло-

вого комфорта или дискомфорта животных. ТВИ используется в качестве полезного инструмента для измерения реакции продуктивности скота в зависимости от климата и считается ориентировочным показателем «суммы внешних по отношению к животному сил, которые смещают температуру тела от его заданного значения» [10, 11].

Цель исследования – изучить негативное влияние теплового стресса на показатели молочной продуктивности коров при различных способах содержания.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Исследования влияния теплового стресса на молочный скот проводились в СХПК «Племенной завод им. Ленина» Атнинского района и в ООО «СХП «Северный» Арского района Республики Татарстан на полновозрастных (2 и 3 лактации) коровах голштинской породы.

Две группы дойных коров ООО «СХП «Северный» (n=323) и одна группа СХПК «Племенной завод им. Ленина» (n=435) содержатся в типовых 4-х рядных коровниках с привязным содержанием, где внедрена система круглогодового однотипного содержания и кормления. В качестве подстилочного материала используют измельченную солому, навоз убирают посредством скребкового транспортера ТСН с погрузкой на транспортную тележку.

Доение коров 2-х разовое, проводится в молокопровод с автоматизированной программой управления стада (учета молока) DeLaval DelPro™ 3.5 (Швеция).

Четвертая группа животных СХПК «Племенной завод им. Ленина» (n=648) содержится беспривязным способом в условиях современного животноводческого комплекса. В хозяйстве практикуется система круглогодового однотипного содержания и кормления животных. Подстилочным материалом выступают древесные опилки, удаление навоза из открытых проходов проводят при помощи дельта-скреперной системы навозоудаления, после чего сбрасывают его в накопительный бункер, и в дальнейшем в лагуну.

Для коров, содержащихся беспривязным способом организованно 4-х разовое доение – процесс полностью роботизирован, используется оборудование и программное обеспечение фирмы «Lely» (Нидерланды). Для смягчения воздействия негативного влияния теплового стресса на коров в каждой из фермы оборудована система вентиляции. На ферме Арского района (д. Ильдус) и на ферме Атнинского района с привязным содержанием обустроена система приточно-вытяжной вентиляции, которая осуществляется разгонным вентиляторами. В животноводческом помещении д. Нуса Арского района устроена лишь естественная вентиляции, без использования каких-либо механических вентиляторов. В помещении для коров, содержащихся беспривязным способ, установлены циклонно-штормовые вентиляторы с высокой нагнетательной способностью и дефлекторами, создающими ламинарный поток, управляется автоматически, создавая комфортный микроклимат, в зависимости от температуры и влажности окружающей среды (страна-производитель Канада).

Ежедневная регистрация температуры (ºС) и относительной влажности φ (%) внутри животноводческих помещений осуществлялась ежедневно датчиками «Mi Temperature And Humidity Monitor 2» (Xiaomi, Китай) в течение теплого периода года (июнь-сентябрь 2024 г.). В дальнейшем зафиксированные показатели использовались для расчета температурно-влажностного индекса [9].

$ТВИ = (0{,}8 \times Тс) + [(ОВ / 100) \times (Тс – 14{,}4)] + 46{,}4$, где

ТВИ – температурно-влажностный индекс, Тс – температура сухого термометра, ºС, ОВ – относительная влажность воздуха, %.

За оптимальное значение температурно-влажностного индекса принималось ТВИ ≤ 66 в соответствии с классификацией теплового стресса по степени тяжести [12]. Обработку и анализ собранных данных по среднесуточному удою, массовой доле жира и индексу ТВИ проводили по

стандартным программам вариационной статистики на ПК, расположенном в отделе физиологии, биохимии, генетики и питания животных ТатНИИСХ ФИЦ КазНЦ РАН.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

По результатам обработанных и проанализированных климатических показателей, и выявления их связей с молочной продуктивностью и качественным составом молока, массовой долей жира, в частности, были построены ниже представленные графические материалы. Фиолетовым цветом в графиках обозначена средняя массовая доля жира в молоке, голубым – уровень среднесуточной молочной продуктивности, красным – среднесуточное значение температурно-влажностного индекса в животноводческих помещениях, в которых проводились измерения метеорологических показателей. На рисунке 1 отображена установленная взаимосвязь между зафиксированным температурно-влажностным индексом и продуктивностью коров СХПК «Племенной завод им. Ленина», которых содержат беспривязным методом. У этой группы животных средний удой в течение лактации составляет 32,0 кг/сут., содержание МДЖ – 3,5 %.

В ходе эксперимента отмечено, что в те дни, когда температурно-влажностный индекс не превышал оптимального показателя, либо был незначительно повышен, удой и массовая доля жира в молоке коров относительно стабильны. Только первой декаде июля произошел резкий скачок температуры и влажности в коровниках, за которым последовал значимый спад продуктивности и жира в молоке. Он наблюдался еще несколько дней после нормализации погодных условий. За время проведения эксперимента количество дней, когда ТВИ был выше оптимальной отметки 66, составило 57 дня. Суммарная потеря молока у животных, содержащихся беспривязным способом, за весь сезон, вследствие теплового стресса, составила 9164 кг молока или 341542,28 руб. (при цене молока – 37,27 руб. за 1 кг).

У коров привязного способа содержания со средним удоем 25,5 кг/сут. и МДЖ – 3,6 % отмечаются два периода резкого падения молочной продуктивности – во второй декаде июня и наиболее затяжной в первой половине июля, которые наступили вслед за подъемом ТВИ (рис. 2).

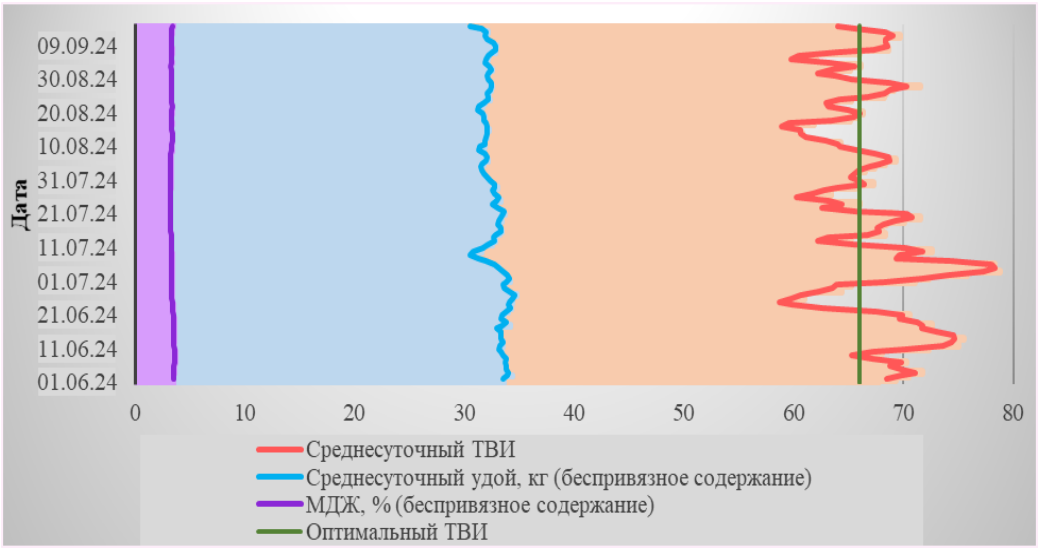


Рисунок 1 – Воздействие метеорологических показателей на продуктивность и качество молока коров, содержащихся беспривязным способом (СХПК «Племенной завод им. Ленина»).

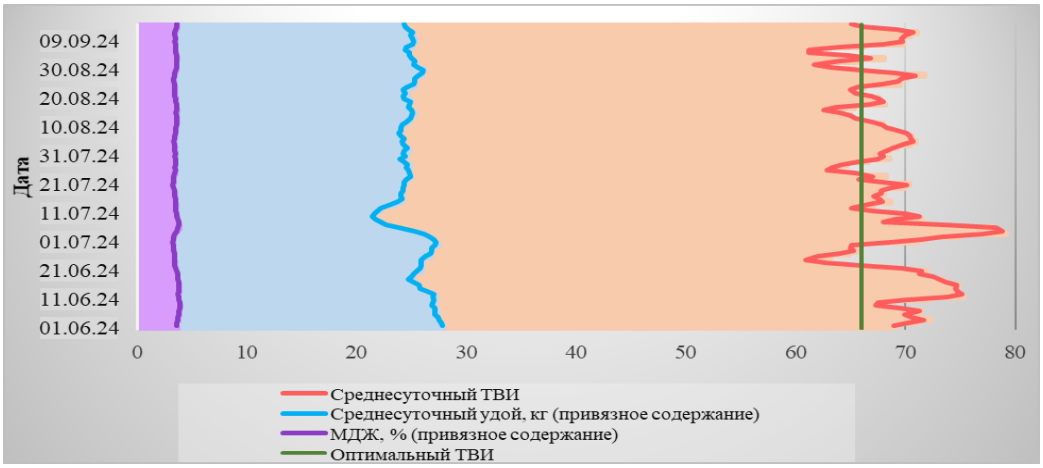


Рисунок 2 – Воздействие метеорологических показателей на продуктивность и качество молока коров, содержащихся привязным способом (СХПК «Племенной завод им. Ленина»).

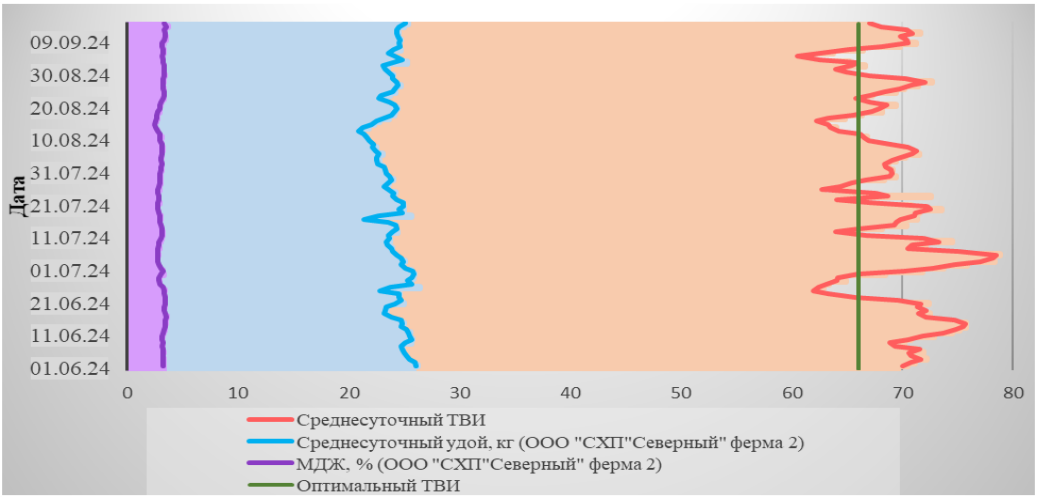


Рисунок 3 – Воздействие метеорологических показателей на продуктивность и качество молока коров, содержащихся привязным способом (ООО «СХП «Северный» д. Ильдус).

Видны и пики наращивания объема продуктивности и содержания массовой доли жира молока в моменты более благоприятных метеорологических условий. Критических дней на ферме, из-за неудовлетворительного микроклимата, насчитывается 74, что влечет за собой и большие потери молока, в сравнении с фермой беспривязного содержания, таким образом, всего за сезон потери молока составили 10709 кг или 399124,43 руб. (цена 1 кг молока аналогичная).

На ферме с привязным содержанием, расположенной в Арском районе Республики Татарстан, за время проведения опыта, отмечаются три достаточно продолжительных периода спада молочной продуктивности, которые наблюдаются после пиков роста температурно-влажностного индекса (рис. 3). У этих

животных удой в среднем по поголовью составляет 27,0 кг/сут. за лактацию и МДЖ – 3,2 %.

При этом самое длительное падение продуктивности произошло как раз после резкого скачка температуры и влажности во внешней среде, здесь же виден заметный спад массовой доли жира в молоке. Общее количество жарких дней в условиях данной ферме составило 56, они повлекли за собой потерю молока в 15049 кг, или 605739,87 руб. (при цене за 1 кг молока 40,25 руб.).

На представленном рисунке 4 заметны резкие спады и скачки молочной продуктивности, ассоциированные со схожими пиками ТВИ. Средняя продуктивность этих коров установлена на уровне 25,0 кг/сут., а МДЖ составляет 2,9 %.

Наиболее значимые снижения молочной продуктивности замечены во второй половине июне и второй декаде июле, которые следуют за подъемом. На протяжении августа продуктивность остается на низком уровне, начиная идти на увеличение лишь с началом сентября, после спада температурно-влажностного фона. Повышение массовой доли жира в молоке наблюдается лишь в первой половине июля. Таким образом, в условиях данного животноводческого помещения было зафиксировано 57 критических дней, потери молока составили за теплый сезон 17018 кг или 685022,74 руб. (стоимость 1 кг молока – 40,25 руб.).

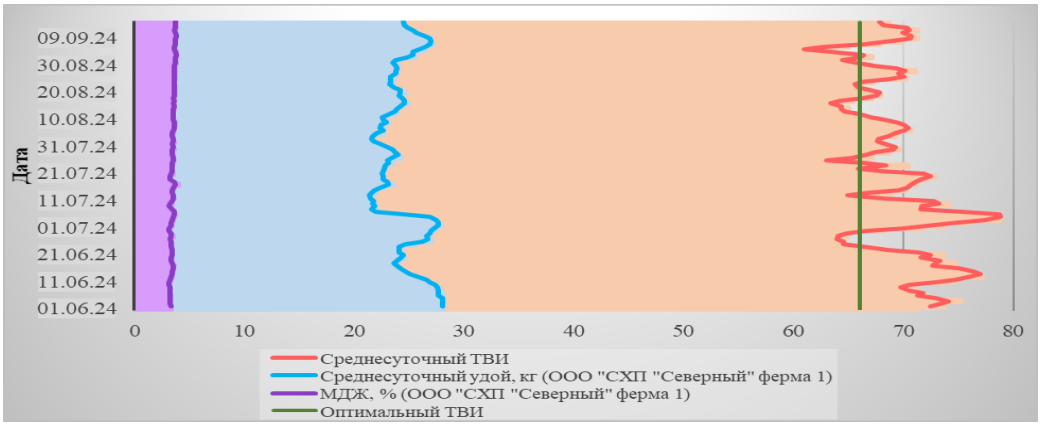


Рисунок 4 – Воздействие метеорологических показателей на продуктивность и качество молока коров, содержащихся привязным способом (ООО «СХП «Северный» д. Нуса).

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

При проведении эксперимента была выявлена взаимосвязь между молочной продуктивностью и массовой долей жира в молоке у коров и температурно-влажностным индексом, зарегистрированным метеорологическими приборами, в помещениях для содержания животных. Потери молока за сезон, соответственно, и экономические потери, во многом зависели от способа содержания животных (при беспривязном способе убытки меньше), от установленных в коровниках систем вентиляции. Наибольший ущерб от воздействия теплового стресса понесли сельскохозяйственные предприятия, которые не оборудовали на фермах вентиляционные системы, благоприятно влияющие на микроклимат, либо имеющие устаревшие модели вентиляторов, не выполняющие свои задачи по поддержанию комфортных условий для крупного рогатого скота.

При составлении селекционного плана рекомендуется принимать во внимание важность введения в стадо животных, генетически устойчивых к воздействию теплового стресса, и вести племенную

работу на увеличение доли термотолерантых животных в отечественных популяциях в условиях перемены климатических условий. Кроме того, при этих обстоятельствах важно использовать правильно подобранные высококачественные корма и специальные кормовые добавки, снижающие производство в организме метаболического тепла, а также скорректировать режимы кормления при свободном доступе к воде и другие мероприятия по снижению негативных последствий воздействия теплового стресса.

STUDY OF THE NEGATIVE EFFECT OF HEAT STRESS ON DAIRY PRODUCTIVITY OF COWS UNDER DIFFERENT HOUSING METHODS

Mukhanina E.N. – Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher (ORCID 0000-0001-9299-2104); **Shakirov Sh.K.** – Doctor of Agricultural Sciences, Professor, Chief Researcher (ORCID 0000-0002-3362-0463); **Safina N.Yu. *** – Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher (ORCID 0000-0003-1184-3188); **Gainutdinova E.R.** – Graduate student, Researcher (ORCID 0000-0002-2970-1500)

Tatar Scientific Research Institute of Agriculture "Kazan Scientific Center of Russia Academy of Sciences"

*natysafina@gmail.com

Financing: *The article is part of the research project titled "Development of a sustainable and balanced feed base and raw material conveyor for the production of high-quality bulk feeds in agricultural enterprises with various livestock management systems, feeding technologies, and cattle productivity. This includes the utilization of unconventional drought-resistant forage crops (varieties and hybrids of Sudan grass, sorghum, and sorghum-Sudan hybrids) and the application of new complex biopreservatives adapted to local ecosystems and possessing fungicidal and bactericidal properties under the conditions of climate warming in the Republic of Tatarstan." The research was funded through a grant provided by the Republic of Tatarstan's budget for state support of scientific research and development in the agro-industrial sector to budgetary and autonomous institutions in 2024 (Agreement dated March 25, 2024, No. 32-24-NIR).*

ABSTRACT

A serious problem for cattle breeding in the warm season is the threat of heat stress in animals, which causes significant economic losses for the entire industry, while having a negative impact on the productivity of dairy cows, as well as the composition of the milk produced. Daily monitoring of temperature and humidity by special electronic sensors in livestock premises and further calculation of the temperature and humidity index (THI) were chosen as an indicator of thermal stress in dairy cows, after which a link was established between the microclimate of the farm and financial losses. Four farms with different herd management systems, ventilation systems, milking methods and manure disposal were selected as experimental agricultural enterprises. The lowest milk losses were recorded at a megafarm with loose maintenance, robotic milking and an innovative automatic ventilation system. The greatest losses, due to the effect of heat shock on dairy cows, were incurred by a farm with tethered housing, milking in a milk pipeline and not equipped with a ventilation system. At the same time, the indicator of the content of the mass fraction of fat in milk remained relatively stable, the decline was noted only after cases of sharp jumps in the temperature and humidity index in the livestock premises. Most often, such jumps, and the subsequent decline in productivity, occurred in the second half of June and the first half of July 2024. Stabilization of both the temperature and humidity conditions on farms and reduction of the negative effects of heat stress occurred at the end of August and the first half of September. On average, 57 days with critical indicators of the temperature and humidity index were registered for the entire season.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Worku D. Candidate genes associated with heat stress and breeding strategies to relieve its effects in dairy cattle: a deeper insight into the genetic architecture and immune response to heat stress / D. Worku, J. Hussen, G. De Matteis et al. // Front. Vet. Sci. – 2023. – Vol. 10. – Art. 1151241. doi: 10.3389/fvets.2023.1151241
2. Lacetera N. Impact of climate change on animal health and welfare / N. Lacetera // Animal Frontiers. – 2019. – Vol. 9(1). – P. 26–31. doi: 10.1093/af/vfy030
3. Ларсон К., Гусева О. Последствия теплового стресса у животных / К. Ларсон, О. Гусева // Животноводство России. – 2021. – № 7. – С. 50-51.
4. Загидуллин Л.Р. Оценка коров голштинской породы по гену белка теплового шока / Л.Р. Загидуллин, Р.Р. Хисамов, Р.Р. Шайдуллин и др. // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. – 2024. – Т. 257, № 1. – С. 78-83. – DOI 10.31588/2413_4201_1883_1_257_78.
5. Efimova I.O. Assessment on milk productivity and milk quality in cattle with different genotypes by HSP70.1 gene / I.O. Efimova, L.R. Zagidullin, R.R. Khisamov et al. // IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. 2020. 604. 012016. doi: 10.1088/1755-1315/604/1/012016
6. Сафина Н.Ю. Динамика молочной продуктивности и качественного состава молока коров различных генотипов гена HSP70.1 на фоне теплового воздействия / Н.Ю. Сафина, Е.Н. Муханина, Э.Р. Гайнутдинова, Ш.К. Шакиров // Молодые ученые в решении актуальных проблем науки: материалы XIII Международной научно-практической конференции. Владикавказ: изд-во «Веста», 2023. – С. 239-242.
7. Современные технологии в кормопроизводстве и животноводстве, проблемы и пути их решения (500 вопросов и ответов) : справочник / Ш.К. Шакиров, О.Л. Шайтанов, М.А. Сушенцова и др. – 4-е издание, доработанное и дополненное – Казань: Изд-во АН РТ, 2023. – 416 с.
8. Крупин Е.О. Оценка теплового стресса у крупного рогатого скота с использованием анализа метеорологических величин / Е.О. Крупин // Российская сельскохозяйственная наука. 2020. № 3. С. 53-56. doi: 10.31857/S2500262720030138
9. Mader T.L. Environmental factors influencing heat stress in feedlot cattle / T.L. Mader, M.S. Davis, & T. Brown-Brandl // Journal of Animal Science. – 2006. – Vol. 84(3). – P. 712-719. DOI: 10.2527/2006.843712x
10. Муханина Е.Н. Изменения молочной продуктивности коров в зависимости от температуры и влажности / Е.Н. Муханина, Н.Ю. Сафина, Э.Р. Гайнутдинова, Ш.К. Шакиров // Молодые ученые в решении актуальных проблем науки: материалы XIII Международной научно-практической конференции. Владикавказ: изд-во «Веста», 2023. – С. 230-234.
11. Dikmen S., Hansen P.J. Is the temperature-humidity index the best indicator of heat stress in lactating dairy cows in a subtropical environment? / S. Dikmen, P.J. Hansen // J Dairy Sci. – 2009. – Vol. 92. P. 109–116. doi: 10.3168/jds.2008-1370
12. Burgos Z.R., Collier R.J. Feeding strategies for high producing dairy cows during periods of elevated heat and humidity / Z.R. Burgos., R.J. Collier. – Tri-State Dairy Nutrition Conference, 2011. – P. 111-126.

REFERENCES:

1. Worku D., Hussen J., De Matteis G., Schusser B. and Alhussien M.N. Candidate genes associated with heat stress and breeding strategies to relieve its effects in dairy cattle: a deeper insight into the genetic architecture and immune response to heat stress. Front. Vet. Sci. 2023. 10:1151241. doi: 10.3389/fvets.2023.1151241.
2. Lacetera N. Impact of climate change on animal health and welfare. Animal Frontiers. 2019. 9(1):26–31. doi: 10.1093/af/vfy030.
3. Larson K., Guseva O. Consequences of thermal stress in animals. Animal Husbandry of Russia. 2021. 7:50-51.
4.Zagidullin L.R., Khisamov R.R., Shaidullin R.R., Ravilov R.Kh., Kayumov R.R. Evaluation of Holstein cows by the heat

shock protein gene. Scientific Notes Kazan Bauman State Academy of Veterinary Medicine. 2024. 257(1):78-83. DOI 10.31588/2413_4201_1883_1_257_78.
5.Efimova I.O., Zagidullin L.R., Khisamov R.R., Akhmetov T.M., Shaidullin R.R., Tyulkin S.V. and Gilmanov Kh.Kh. Assessment on milk productivity and milk quality in cattle with different genotypes by HSP70.1 gene // IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. 2020. 604. 012016. doi: 10.1088/1755-1315/604/1/012016.
6.Safina N.Y., Mukhanina E.N., Gainutdinova E.R., Shakirov Sh.K. Dynamics of milk productivity and qualitative composition of cow milk of various genotypes of the HSP70.1 gene on the background of heat effects. Young scientists in solving urgent problems of science: materials of the XIII International Scientific and Practical Conference. Vladikavkaz: Vesta publishing house. 2023. 239-242.
7.Shakirov Sh.K., Shaitanov O.L., Sushentsova M.A., Kalaida M.L., Krupin E.O., Safina N.Yu., Zinnatova F.F., Fattakhova Z.F., Ibatullina R.P., Munkov A.N., Mikhailova R.I., Akhmetzyanova F.K., Khairullin D.D., Hashimov R.I., Mukhanina E.N., Bikchantaev I.T., Chevtaeva N.D., Gainutdinova E.R. Modern technologies in feed production and animal husbandry, problems and solutions (500 questions and answers) : Guide. 2023. 416 p. ISBN 978-5-9690-1188-5.
8.Krupin E.O. Evaluation of heat stress at cattle using analysis of meteorological values. Russian Agricultural Sciences. 2020. 3:53-56. DOI 10.31857/S2500262720030138.
9.Mader T.L., Davis M.S., & Brown-Brandl T. Environmental factors influencing heat stress in feedlot cattle // Journal of Animal Science. 2006. 84(3): 712-719. DOI: 10.2527/2006.843712x.
10.Mukhanina E.N., Safina N.Y., Gainutdinova E.R., Shakirov Sh.K. Variations in dairy productivity of cows depending on temperature and humidity. Young scientists in solving urgent problems of science: materials of the XIII International Scientific and Practical Conference. Vladikavkaz: Vesta publishing house. 2023. 230-234.
11.Dikmen S., Hansen P.J. Is the temperature-humidity index the best indicator of heat stress in lactating dairy cows in a subtropical environment? J Dairy Sci. 2009. 92:109–16. doi: 10.3168/jds.2008-1370.
12.Burgos Z.R., Collier R.J. Feeding strategies for high producing dairy cows during periods of elevated heat and humidity. Tri-State Dairy Nutrition Conference. 2011. P. 111–126.

УДК: 636.034:636.082
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.4.518

ПОПУЛЯЦИОННО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА ПО ГЕНУ *MC4R* (РЕЦЕПТОР МЕЛАНОКОРТИНА 4)

Сафина Н.Ю.* – канд. биол. наук, ст. науч. сотр. (ORCID 0000-0003-1184-3188); **Крупин Е.О.** – д-р ветеринар. наук, вед. науч. сотр. (ORCID 0000-0002-8086-1788)

Татарский научно-исследовательский институт сельского хозяйства
ФИЦ КазНЦ РАН

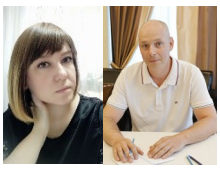
*natysafina@gmail.com

Ключевые слова: ген, аллель, гетерозиготность, биоразнообразие, полиморфизм, *MC4R*, рецептор меланокортина 4

Key words: gene, allele, heterozygosity, biodiversity, polymorphism, *MC4R*, melanocortin 4 receptor

Финансирование: *Статья подготовлена в рамках государственного задания: Эколого-генетические подходы к созданию и сохранению ресурсов растений и животных, расширению их адаптивного потенциала и биоразнообразия, разработка сберегающих агротехнологий с целью повышения устойчивости производства высококачественной продукции, достижения безопасности для здоровья человека и окружающей среды. Номер регистрации: 122011800138-7.*

Поступила: 16.10.2024 **Принята к публикации: 02.12.2024**
Опубликована онлайн:16.12.2024



РЕФЕРАТ

Целью работы являлось дать популяционно-генетическую характеристику крупного рогатого скота татарстанского типа холмогорской породы Республики Татарстан по гену *MC4R* (рецептор меланокортина 4). В результате проведенного генотипирования методом ПЦР-ПДРФ по локусу гена *MC4R* - *HpySE526I* установлено 2 аллеля и 3 генотипа. Частота встречаемости аллелей: С – 0,434 и G – 0,566; генотипов СС – 20,9; CG – 45,0 и GG – 34.1%. Тест хи-квадрат (χ^2) показал, что изучаемая популяция находится в генетическом равновесии. Отрицательный коэффициент Селендера (D) указывает на аутбридинг у популяции. Мониторинг работ по изучению полиморфизма гена 1069C>G (Leu286Val) указывает на значительную вариабельность соотношения полиморфных форм гена *MC4R* в различных популяция крупного рогатого скота в зависимости от его географической и породной принадлежности. В среднем по всем рассматриваемым породам крупного рогатого скота мировых популяций соотношение аллелей гена *MC4R* – 0,537 и 0,463 для аллеля С и G соответственно. Соотношение генотипов СС, CG и GG гена *MC4R* по всем анализируемым популяциям крупного рогатого скота в среднем составило 32,5; 42,3 и 25,2 %. Анализ, проведенный с использованием данных зарубежных ученых, и результатов, полученных в нашем исследовании, характеризует мировые популяции крупного рогатого скота как генетически биоразнообразные, обладающие генетическим полиморфизмом по гену *MC4R* с высокой степенью гетерозиготности. Исследование выполнено в рамках государственного задания, регистрационный номер 122011800138-7.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Генетическое разнообразие является одним из важнейших биологических богатств страны и необходимо для удовлетворения не только текущих, но и будущих потребностей в молоке и мясе различных видов скота. Генетическое сохранение пород животных требует надлежащего учета и предоставления информации о структуре популяции, а также о ресурсах генетического разнообразия среди разных пород животных и между ними. Изучение генетического разнообразия среди различных пород животных имеет решающее значение для генетического улучшения и устойчивого сохранения и понимания эволюции, так же адаптации к изменяющимся условиям окружающей среды [1, 2].

Рецептор меланокортина-4 (MC4R) представляет собой полипептид, секретируемый вентромедиальным ядром гипоталамуса млекопитающих, принадлежит к самому маленькому семейству рецепторов, связанных с G-белком (GPCR), которое имеет семитрансмембранную α-спираль [3, 4]. Его преобладающая экспрессия наблюдалась в центральной нервной системе, включая кору головного мозга, таламус, гипоталамус, ствол мозга и хорду [5]. MC4R принадлежит к суперсемейству GPCR и активирует аденилаткиназу, что приводит к увеличению внутриклеточных уровней цАМФ [6].

Ген рецептора меланокортина состоит из пяти членов (MC1R, MC2R, MC3R, MC4R и MC5R), которые участвуют в нескольких сигнальных путях, включая циклический аденозинмонофосфат, митоген-активируемую протеинкиназу, протеинкиназу С и янус-киназу – активатор транскрипции (JAK/STA) [7], и играют ключевую роль в пигментации, пищевом поведении, энергетическом балансе, стероидогенезе и половом поведении [8].

Ген MC4R – это единица наследования признака, которая получает стимуляцию от альфа-меланоцитстимулирующего гормона (α-MSH), гормона в паравентрикулярном ядре гипоталамуса, благодаря которому сокращается потребление пищи/корма и возникает чувство насыщения. Ген MC4R регулирует потребление пищи/корма путем интеграции сигнала агониста (сытости), обеспечиваемого α-MSH, и сигнала антагониста (орексигенности), обеспечиваемого белком, родственным агути (AgRP) [9, 10]. Кроме того, исследования показывают, что MC4R подавляет потребление той пищи/корма, потребление которой стимулирует AgRP [8]. Ген *MC4R* выполняет функцию адренокортикотропного гормона и α-β- и γ-MSH, играющего важную роль в энергетическом гомеостазе и соматическом росте, или выполняет функцию рецептора в гептапептидном ядре [9]. Он также взаимодействует с нейропептидом Y, регулируя расход энергии и гомеостаз глюкозы в гипоталамусе, тем самым влияя на массу тела и потребление пищи/корма млекопитающими [11]. У мышей с нокаутом *MC4R* уровень секреции инсулина и потребление корма повышались, что вызывало у мышей синдром ожирения агути [12]. Более того, было хорошо изучено участие MC4R в регуляции деятельности внутренних органов и их чувствительности к инсулину за счет регулирования синтеза и мобилизации жира [13]. Молекулярные механизмы, связанные с сигнальными путями MC4R, способствуют регуляции аппетита посредством лептина, питания и энергетического гомеостаза [14].

Ген *MC4R* был отнесен к теломерной области *BTA 24*. Он представляет собой безинтронный ген с транскриптом размером 1808 п.н. (GenBank accession No. NC_007325), содержащим одну кодирующую область длиной 999 п.н. [15, 16].

Более 70 типов мутаций MC4R у людей, мышей, кроликов, коз, овец, свиней и крупного рогатого скота вызывают снижение функции MC4R вплоть до полной потери аппетита [6]. Кроме того, полиморфизмы гена *MC4R* влияют на живую массу, отложение внутримышечного жира и вкусовые качества мяса (мраморность или внутримышечный жир, нежность, цвет мяса и жира) что может повысить мясную продуктивность круп-

ного рогатого скота [18-20].

Изучение ассоциаций генов-кандидатов является шагом к познанию генетической основы продуктивных признаков и по сравнению с другими геномными подходами потенциально более легко и эффективно реализуется в селекционных проектах. Полиморфизм гена *MC4R* и его ассоциации с продуктивностью и племенными качествами широко изучен у свиней различной селекции [21-24].

В этом исследовании мы идентифицировали полиморфизм гена *MC4R* g.1069 C>G (рис. 1), который представляет собой миссенс-мутацию, локализованную в области 1 экзона (NW_001494269.2), заменяющую Leu на Val в положении, идентичном аминокислоте 286 бычьего белка рецептора меланокортина-4, у татарстанского типа холмогорской породы Республики Татарстан, и дали популяционно-генетическую характеристику различным популяциям.

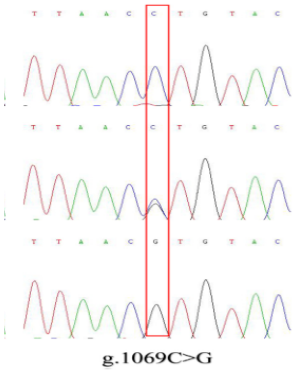


Рисунок 1 – Анализ участка цепи ДНК с SNP C1069G гена MC4R (Liu G. et al., 2020) [17].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Лабораторная часть эксперимента выполнялась в отделе физиологии, биохимии, генетики и питания животных ТатНИИСХ ФИЦ КазНЦ РАН. Объектом исследования служил биологический материал, полученный от 91 гол. коров татарстанского типа холмогорской породы СХПК «имени Вахитова» Кукморского района Республики Татарстан. Геномную ДНК экстрагировали из цельной крови посредством набора «АмплиСенс» ДНК-Сорб В, производимого ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора (Россия). Используя полученный материал, методом ПЦР-ПДРФ выявляли изучаемый однонуклеотидный полиморфизм C1069G (Leu286Val) гена *MC4R*. В реакционной смеси использовали праймеры F: 5' TGACTCGGTGATCTGTAGC 3' и R: 5' TTCACTCCATGCCCTACA 3 (Евроген, Россия), разработанные H. Liu и др. (2009) [19] и стандартный набор реагентов (СибЭнзим, Россия). Амплификацию проводили на оборудовании «Thermal Cycler 100» (BIO RAD, США) в отделе физиологии, биохимии, генетики и питания животных ТатНИИСХ ФИЦ КазНЦ РАН при оптимизированном температурно-временном протоколе, включающем следующие этапы:

предварительная денатурация – при температуре 94 °С 5 мин.;

35 циклов для накопления продукта: денатурация – 94 °С 60 сек., отжиг – 55 °С 60 сек., элонгация – 72 °С 60 сек.;

заключительная элонгация – 72 °С 10 мин.

В своем эксперименте H. Liu с соав. использовали для гидролиза ПЦР-продукта длиной 741 п.о. эндонуклеазу *TaiI*, имеющую сайт узнавания ACGT↓ [19], получая в результате конечной реакции фрагменты 258, 483 и 741 п.о. В условиях импортозамещения мы использовали рестриктазу *HpySE526I* (СибЭнзим, Россия), распознающую олигонуклеотидную последовательность A↓CGT. Рестрикцию ампликонов длиной 741 п.о. проводили при температуре 37 °С в течение 16 ч. Разделение продуктов ПДРФ проводилось горизонтальным электрофорезом в 2 % агарозном геле в присутствии этидиума бромида в 1×TBE буфере. Регистрация результатов ПЦР-ПДРФ-анализа осуществлялась с использованием системы гель-документирования Gel Doc XR (BioRad, США).

Частоту отдельных аллелей определя-

ли по формуле Е.К. Меркурьевой (1970), расчеты встречаемости генотипов производили по биометрическим формулам согласно рекомендациям Е.К. Меркурьевой и Г.Н. Шангина-Березовского (1983). Так же тестировали генетическое равновесие в популяции согласно закону Харди -Вайнберга, вариабельность наблюдаемого и ожидаемого распределения проверяли по методу критерия хи-квадрат (χ^2). Оценку избытка гетерозигот в опытном поголовье проводили с использование коэффициент Селендера (D).

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

В результате проведенного анализа ДНК методом ПЦР-ПДРФ крупного рогатого скота татарстанского типа холмогорской породы СХПК «имени Вахитова» Кукморского района Республики Татарстан выявлены следующие п.о., сочетание которых идентифицирует животных, как носителей того или иного генотипа: 481, 260 п.о. – CC; 741, 481, 260 п.о. – GC; 741 п.о. – GG. Частота встречаемости генотипов CC, CG и GG гена *MC4R* в исследуемой популяции составила 20,9; 45,0 и 31,4 % соответственно (табл. 1).

Распределение аллелей было следующим: C – 0,434 и G – 0,566. Наблюдаемая гетерозиготность находилась на уровне 0,451 в то время, как ожидаемая была выше – 0,491. Тестирование критерия хи-квадрат (χ^2) локуса гена *MC4R* g.1069 C>G показал, что изучаемая популяция находится в генетическом равновесии по исследуемому полиморфизму, так как полученный результат был намного ниже критического значения. Отрицательный коэффициент Селендера указывает на аутбридинг у популяции.

Таблица 1 – Распределение аллелей, генотипов и параметры разнообразия популяции по гену *MC4R*

SNP	Генотипы, % (n)			Аллели		H_o	H_e	D	χ^2
	CC	*CG*	*GG*	*C*	*G*				
1069C > G	20,9(19)	45,0(41)	34,1(31)	0,434	0,566	0,451	0,491	-0,083	0,63

$\chi^2 < \chi^2_{крит\ (0,05)}$ ($\chi^2_{крит} = 5,99$), H_o – наблюдаемая гетерозиготность, H_e – ожидаемая гетерозиготность, D – коэффициент Селендера.

Анализ работ по изучению полиморфизма g.1069 C>G указывает на значительную вариабельность соотношения полиморфных форм гена *MC4R* в различных популяция крупного рогатого скота в зависимости от его географической и породной принадлежности (табл. 2; рис. 2).

Генетическое биоразнообразие популяций крупного рогатого скота различных пород по гену *MC4R* весьма вариативно. Ученые разных стран, проводившие исследования полиморфизма гена *MC4R*, описывают результаты, имеющие большой разброс в данных по распределению частоты встречаемости аллелей C и G. Значения для аллеля C, приближенные к тем, что получили мы в своем исследовании, установлены в китайских популяциях симментальской породы и Jixi – 0,418 и 0,400 соответственно [25], и у скота Hanwoo в Корее – 0,404 [14]. Значительный перевес в сторону аллеля C отмечен в стадах пород East Anatolian Red, Zavot и голштинской помесной в Турции – до 0,639-0,828 [7], а также в китайских популяциях Jinnan – 0,625 [25]; Anxi, [19] Qinchuan [17] и Nanyang [26] – 0,775; 0,709 и 0,937 соответственно. В среднем по всем рассматриваемым породам крупного рогатого скота мировых популяций соотношение аллелей гена *MC4R* – 0,537 и 0,463 для аллеля C и G соответственно, что составляет разницу менее 14,0 %.

Изучаемый индонезийский скот Pasudan и Ongole [27, 28], корейский черный скот [18], а также популяции пород Ангус [19, 25], Juxi, Nanyang и Xianan [19] в Китае имели преимущественно в своем генотипе аллель G – от 0,615 до 0,710. В остальных популяциях наблюдается незначительный сдвиг (на 0,025-0,191) в сторону аллеля C гена *MC4R*.

Таблица 2 – Аллельный полиморфизм (g.1069 C>G) гена *MC4R* в мировых популяциях крупного рогатого скота

Порода скота	Аллели		Автор, год (страна)
	C	G	
Симментал	0,418	0,582	M. Huang et al., 2010 (Китай)
Ангус	0,361	0,639	
Шароле	0,596	0,405	
Лимузин	0,550	0,450	
Juxi	0,400	0,600	
Jinnan	0,625	0,375	
Qinchuan	0,567	0,434	
Qinchuan	0,550	0,450	H. Liu et al., 2009 (Китай)
Juxi	0,385	0,615	
Nanyang	0,290	0,710	
Xianan	0,365	0,635	
Jiaxian Red	0,585	0,415	
Ангус	0,330	0,670	
Anxi	0,775	0,225	
Qinchuan	0,709	0,292	G. Liu et al., 2020 (Китай)
Nanyang	0,937	0,064	C. Zhang et al., 2006 (Китай)
Korean Brown	0,533	0,468	Y. Lee et al., 2013 (Корея)
Korean Brindle	0,514	0,487	
Korean Black	0,357	0,643	
Hanwoo	0,404	0,597	J. Seong et al., 2012 (Корея)
Ангус	0,774	0,227	
Ongole Cattle	0,315	0,685	D. Maharani et al., 2018 (Индонезия)
Pasundan	0,340	0,660	A. Fadholly et al., 2024 (Индонезия)
Turkish Grey Steppe	0,572	0,429	S. Ardicli et al., 2023 (Турция)
East Anatolian Red	0,639	0,361	
Zavot	0,778	0,222	
Голштин помесный	0,828	0,172	

Проведенный мониторинг работ указывает на то, что генетическая структура популяций скота холмогорской породы татарстанского типа в Республики Татарстан, Nanyang [19], Симментал и Ангус [25] в Китае и Hanwoo в Корее [14] схожа. В этих стадах максимальное число особей являются носителями гетерозиготного генотипа CG – от 42,1 до 52,0 %, вторые по численности имеют генотип GG (34,9-45,0 %) и от 3,0 до 19,3 % поголовья представлено гомозиготным CC-типом.

Большое количество работ указывают на преобладание гомозиготного аллеля C в локусе гена *MC4R* - *HpySE526I* у крупного рогатого скота 9 пород различного направления продуктивности и ареала обитания [7, 14, 19, 25]. В исследовании Y. Lee et al. (2013) не установлены животные с генотипом CC [18].

Шесть изученных популяций отличались тем, что в своем генотипе имели гомозиготную комбинацию аллея G гена *MC4R*. Численность групп животных с генотипом GG в этих популяциях варьировала от 44,0 до 52,0 % – в породах Jixi [19, 25], Xianan и Ангус [19], Ongole Cattle [28] и Pasudan [27].

Соотношение генотипов CC, CG и GG гена *MC4R* по всем анализируемым популяциям крупного рогатого скота в среднем составило 32,5; 42,3 и 25,2 %, что свидетельствует о высокой частоте наблюдаемой гетерозиготности.

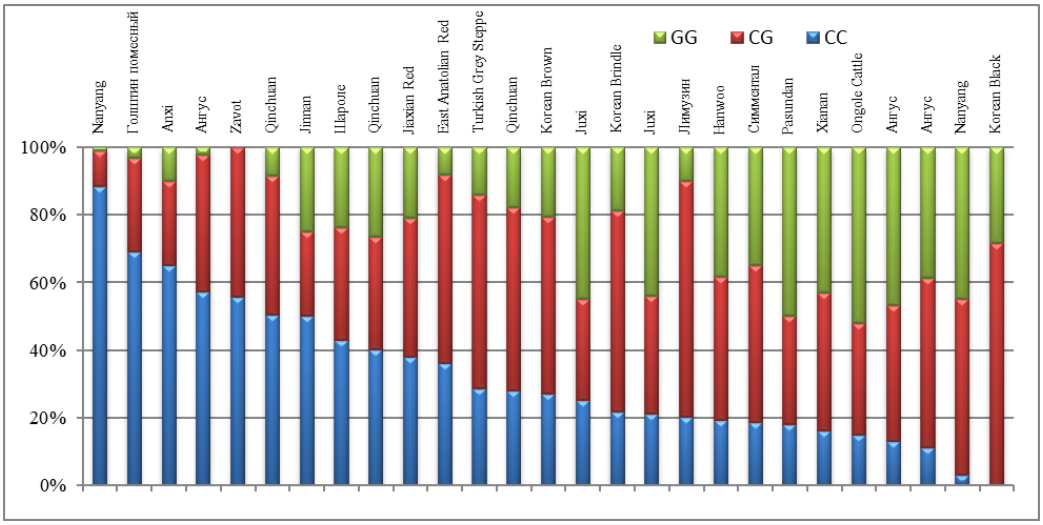


Рисунок 2 – Генетическая структура мировых популяций различных пород крупного рогатого скота по гену MC4R, %.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Анализ, проведенный с использованием данных зарубежных ученых, и результатов, полученных в нашем исследовании, характеризует мировые популяции крупного рогатого скота как генетически биоразнообразные, обладающие генетическим полиморфизмом по гену *MC4R* с высокой степенью гетерозиготности.

POPULATION-GENETIC CHARACTERISTICS OF CATTLE BY THE MC4R (MELANOCORTIN 4 RECEPTOR) GENE

Safina N.Yu. * – Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher (ORCID 0000-0003-1184-3188), **Krupin E.O.** – Doctor of Veterinarian Sciences, Leading Researcher (ORCID 0000-0002-8086-1788)

Tatar Scientific Research Institute of Agriculture "Kazan Scientific Center of Russia Academy of Sciences"

*natysafina@gmail.com

Financing: *This research was supported by the Ecological and genetic approaches to the creation and conservation of plant and animal resources, the expansion of their adaptive potential and biodiversity, the development of conservation agrotechnologies to increase the sustainability of high-quality products, achieve safety for human health and the environment. FASO Russia project. Registration number: 122011800138-7.*

ABSTRACT

The aim of the work was to provide a population genetic characteristic of the Kholmogorsky breed of the Tatarstan type of the Republic of Tatarstan for the *MC4R* gene (melanocortin 4 receptor). As a result of genotyping by the PCR-RFLP method for the *MC4R - HpySE526I* gene locus, 2 alleles and 3 genotypes were identified. The frequency of alleles: C - 0.434 and G - 0.566; and frequency of genotypes: CC - 20.9, CG - 45.0 and GG - 34.1%. The chi-square test (χ^2) showed that the studied population the Hardy–Weinberg genetic equilibrium is not disturbed. A negative Selender coefficient (D) indicates outbreeding in the population. Monitoring of works on studying the polymorphism of the gene 1069C>G (Leu286Val) shows a significant variability in the ratio of polymorphic forms of the *MC4R* gene in different cattle populations depending on their geographic and breed affiliation. On average, for all the considered cattle breeds of the world populations, the

frequency of alleles of the *MC4R* gene is 0.537 and 0.463 for the allele C and G, respectively. The ratio of the CC, CG and GG genotypes of the *MC4R* gene for all analyzed cattle populations averaged 32.5, 42.3 and 25.2%. The analysis carried out using the data of foreign scientists and the results obtained in our study characterizes the world populations of cattle as genetically biodiverse, possessing genetic polymorphism for the *MC4R* gene with a high degree of heterozygosity**.** This research was supported by FASO Russia project, registration number 122011800138-7.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1.Safina N. Dairy productivity of Holstein cattle with different genotypes of the paraoxonase-1 (PON1) gene / N. Safina, Sh. Shakirov, E. Gaynutdinova et al. // E3S Web of Conferences. – 2021. Vol. 282. – P. 02007. DOI 10.1051/e3sconf/202128202007

2.Safina N.Polymorphism of the glutathioneperoxidase-1 gene (GPX-1 g. 189 T/C) and biochemical parameters of the blood serum of Holstein cattle / N. Safina, Sh. Shakirov, E. Gaynutdinova et al. // E3S web of conferences. – 2023. – Vol. 462. – P. 01018. DOI 10.1051/e3sconf/202346201018

3.Gantz I. Molecular cloning, expression, and gene localization of a fourth melanocortin receptor / I. Gantz, H. Miwa, Y. Konda et al. // J. Biol. Chem. – 1993. – Vol. 268 (20). – P. 15174–15179.

4.Ju S.H. Understanding melanocortin-4 receptor control of neuronal circuits: toward novel therapeutics for obesity syndrome / S.H. Ju, G.-B. Cho, J.-W. Sohn et al. // Pharmacol. Res. – 2018. – Vol. 129. – P. 10–19. DOI: 10.1016/j.phrs.2018.01.004

5.Cone R.D. Anatomy and regulation of the central melanocortin system / R.D. Cone // Nat. Neurosci. – 2005. – Vol. 8. – P. 571–578. DOI 10.1038/nn1455

6.Tao Y.-X. The melanocortin-4 receptor: physiology, pharmacology, and pathophysiology / Y.-X. Tao // Endocr. Rev. – 2010. – Vol. 31(4). – P. 506–543. DOI: 10.1210/er.2009-0037

7.Ardicli S., Alpay F. The effects of MC4R and CACNA2D1 gene polymorphisms on carcass traits and marbling score in Turkish native cattle breeds and their crossbreds with the Holstein-Friesians / S. Ardicli, F. Alpay // Genetika. – 2023. – Vol. 55(2). – P. 655-672 DOI 10.2298/GENSR2302655A

8.Lubrano-Berthelier C. The human MC4R promoter: characterization and role in obesity / C. Lubrano-Berthelier, M. Cavazos, C. Le Stunff et al. // Diabetes. – 2003. – Vol. 52 (12). – P. 2996–3000. DOI: 10.2337/diabetes.52.12.2996

9.Prihandini P.W., Maharani D. Melanocortin-4 Receptor (MC4R) Gene as the Main Gene for Rapid Growth Selection in Beef Cattle / P.W. Prihandini, D. Maharani // WARTAZOA. – 2019. – Vol. 29(2). – P. 085-096 DOI 10.14334/wartazoa.v29i2.1955

10.Zhang, Y. α-Melanocyte-stimulating hormone prevents glutamate excitotoxicity in developing chicken retina via MC4R-mediated down-regulation of microRNA-19 / Y. Zhang, Q. Bo, W. Wu et al. // Sci. Rep. – 2015. – Vol. 5. – P. 15812. https://doi.org/10.1038/srep15812

11.Liu G.L. Molecular screening of MC4R gene and association with fat traits in pig resource family / G.L. Liu, S.W. Jiang, Y.Z. Xiong et al. // Yi Chuan Xue Bao, Chinese. – 2002. – Vol. 29(6). – P. 497–501.

12.Marie L.S. A metabolic defect promotes obesity in mice lacking melanocortin-4 receptors / L.S. Marie, G.I. Miura, D.J. Marsh et al. // Proc. Natl. Acad. Sci. – 2000. – Vol. 97(22). – P. 12339–12344. doi: 10.1073/pnas.220409497

13.Haupt A. Impact of variation near MC4R on whole-body fat distribution, liver fat, and weight loss / A. Haupt, C. Thamer, M. Heni et al. // Obesity. – 2009. – Vol. 17(10). – P. 1942–1945. DOI: 10.1038/oby.2009.233

14.Seong J. Identification and analysis of MC4R polymorphisms and their association with economic traits of Korean cattle (Hanwoo) / J. Seong, D.S. Suh, K.D. Park et al. // Mol Biol Rep. – 2012. – Vol. 39(4). – P. 3597-3601. DOI: 10.1007/s11033-011-1133-3

15.Haegeman A. Bovine melanocortin receptor 4: cdna sequence, polymorphisms and mapping / A. Haegeman, F. Coopman, K.

Jacobs et al. // Anim Genet. – 2001. – Vol. 32(4). – P. 189–192.
16. Thue T.D. A SNP in the cattle MC4R gene is used to map MC4R to BTA 24 / T.D. Thue, S.M. Schmutz, F.C. Buchanan // Anim Genet. – 2001. – Vol. 32(6). – P. 390–391. DOI: 10.1046/j.1365-2052.2001.0781b.x
17. Liu G. The genetic polymorphisms of melanocortin-4 receptor gene are associated with carcass quality traits in a Chinese indigenous beef cattle breed / G. Liu, S. Raza, L. Zhou et al. // Research in Veterinary Science. – 2020. – Vol. 132. – P. 202-206. DOI 10.1016/j.rvsc.2020.06.011.
18. Lee Y. A C1069G SNP of the MC4R gene and its association with economic traits in Korean native cattle (brown, brindle, and black) / Y. Lee, S. Park, H. Kim et al. // Electronic Journal of Biotechnology, North America. – 2013. – Vol. 16(5). DOI: 10.2225/vol16-issue5-fulltext-5
19. Liu H. Association of MC4R gene variants with carcass and meat quality traits in Qinchuan cattle / H. Liu, W. Tian, L. Zan et al. // African Journal of Biotechnology. – 2009. – Vol. 8(15). – P. 3666-3671. DOI: 10.5897/AJB09.406
20. Polini B. Prevalence of mutations in LEP, LEPR, and MC4R genes in individuals with severe obesity / B. Polini, P.E. Maltese, I.D. Ciondolo // Genet. Mol. Res. – 2016. – Vol. 15(3). – P. 201-209. DOI: 10.4238/gmr.15038718
21. Бальников А.А. Возможности маркерной селекции при оценке мясооткормочной продуктивности свиней / А.А. Бальников, Ю.С. Казутова, Е.С. Гридюшко и др. // Наше сельское хозяйство. – 2022. – № 4(276). – С. 74-82.
22. Курносова О.В. ДНК-маркеры продуктивности свиноматок / О.В. Курносова, Г.В. Максимов, А.Г. Максимов // Свиноводство. – 2019. – № 3. – С. 45-48.
23. Мельникова Е.Е. Влияние генотипов по IGF2, CCKAR и MC4R на фенотипические показатели и племенную ценность свиней по хозяйственно полезным признакам / Е.Е. Мельникова, Н.В. Бардуков, М.С. Форнара и др. // Сельскохозяйственная биология. – 2018. – Т. 53, № 4. – С. 723-734. – DOI 10.15389/agrobiology.2018.4.723rus.
24. Сердюк Г.Н. Полиморфизм генарецептора меланокортина MC4R у свиней различных пород / Г.Н. Сердюк // Генетика и разведение животных. – 2018. – № 3. – С. 27-31. DOI 10.31043/2410-2733-2018-3-27-31.
25. Huang M. Polymorphisms in MC4R gene and correlations with economic traits in cattle / M. Huang, X. Gao, J.Y. Li et al. // Mol Biol Rep. – 2010. – Vol. 37. – P. 3941–3944. DOI 10.1007/s11033-010-0051-0
26. Zhang C.L. Association of a missense mutation of the MC4R gene with growth traits in cattle (Brief report) / C.L. Zhang, H. Chen, Y.H. Wang et al. // Arch. Anim. Breed. – 2006. – Vol. 49(5). – P. 515-516. https://doi.org/10.5194/aab-49-515-2006
27. Fadholly A. Profile of Melanocortin-4 Receptor and Myogenic Factor 5 Genes in Pasundan Beef Cattle / A. Fadholly, E. Margawati, A. Ibrahim et al. // Pakistan J. Zool. – 2024. – P. 1-6. DOI 10.17582/journal.pjz/20230310070334
28. Maharani D. Identification of MC4R gene and its association with body weight and body size in Kebumen Ongole Grade cattle / D. Maharani, A. Fathoni, S. Sumadi et al. // Journal of the Indonesian Tropical Animal Agriculture. – 2018. – Vol. 43(2). – P. 87-93. https://doi.org/10.14710/jitaa.43.2.87-93

REFERENCES

1. Safina N., Shakirov Sh., Gaynutdinova E., Fattakhova Z. Dairy productivity of Holstein cattle with different genotypes of the paraoxonase-1 (PON1) gene // E3S Web of Conferences. 2021. 282:02007. DOI 10.1051/e3sconf/202128202007
2. Safina N., Shakirov Sh., Gaynutdinova E., Mukhanina E., Shayakhmetova L., Bagavieva E., Fattakhova Z., Akhmetov T., Zagidullin L., Haertdinov R. Polymorphism of the glutathioneperoxidase-1 gene (GPX-1 g. 189 T/C) and biochemical parameters of the blood serum of Holstein cattle // E3S web of conferences. 2023. 462:01018. DOI 10.1051/e3sconf/202346201018
3. Gantz I., Miwa H., Konda Y., Shimoto Y., Tashiro T., Watson S.J., DelValle J., Yama-

da T. Molecular cloning, expression, and gene localization of a fourth melanocortin receptor // J. Biol. Chem. 1993. 268 (20):15174–15179.
4. Ju S.H., Cho G.-B., Sohn J.-W. Understanding melanocortin-4 receptor control of neuronal circuits: toward novel therapeutics for obesity syndrome // Pharmacol. Res. 2018. 129:10–19. DOI: 10.1016/ j.phrs.2018.01.004
5. Cone R.D. Anatomy and regulation of the central melanocortin system // Nat. Neurosci. 2005. 8:571–578. DOI 10.1038/nn1455
6. Tao Y.-X. The melanocortin-4 receptor: physiology, pharmacology, and pathophysiology // Endocr. Rev. 2010. 31(4):506–543. DOI: 10.1210/er.2009-0037
7. Ardicli S., Alpay F. The effects of MC4R and CACNA2D1 gene polymorphisms on carcass traits and marbling score in Turkish native cattle breeds and their crossbreds with the Holstein-Friesians // Genetika. 2023. 55 (2):655-672 DOI 10.2298/GENSR2302655A
8. Lubrano-Berthelier C., Cavazos M., Le Stunff C., Haas K., Shapiro A., Zhang S., Bougneres P., Vaisse C. The human MC4R promoter: characterization and role in obesity // Diabetes. 2003. 52(12):2996–3000. DOI: 10.2337/diabetes.52.12.2996
9. Prihandini P.W., Maharani D. Melanocortin-4 Receptor (MC4R) Gene as the Main Gene for Rapid Growth Selection in Beef Cattle // WARTAZOA. 2019. 29(2):085-096 DOI 10.14334/wartazoa. v29i2.1955
10. Zhang Y., Bo Q., Wu W., Xu C., Yu G., Ma S., Yang Q., Cao Y., Han Q., Ru Y. α-Melanocyte-stimulating hormone prevents glutamate excitotoxicity in developing chicken retina via MC4R-mediated down-regulation of microRNA-19 // Sci. Rep. 2015. 5:15812. https://doi.org/10.1038/ srep15812
11. Liu G.L., Jiang S.W., Xiong Y.Z., Zheng R., Qu Y.C. Molecular screening of MC4R gene and association with fat traits in pig resource family // Yi Chuan Xue Bao, Chinese. 2002. 29(6):497–501.
12. Marie L.S., Miura G.I., Marsh D.J., Yagaloff K., Palmiter R.D. A metabolic defect promotes obesity in mice lacking melanocortin-4 receptors // Proc. Natl. Acad. Sci. 2000. 97(22):12339–12344. doi: 10.1073/ pnas.220409497
13. Haupt A., Thamer C., Heni M., Tschritter O., Machann J., Schick F., Machicao F., Häring H., Staiger H., Fritsche A. Impact of variation near MC4R on whole-body fat distribution, liver fat, and weight loss // Obesity. 2009. 17(10):1942–1945. DOI: 10.1038/oby.2009.233
14. Seong J., Suh D.S., Park K.D., Lee H.K., Kong H.S. Identification and analysis of MC4R polymorphisms and their association with economic traits of Korean cattle (Hanwoo) // Mol Biol Rep. 2012. 39(4):3597 -3601. DOI: 10.1007/s11033-011-1133-3
15. Haegeman A., Coopman F., Jacobs K., Mattheeuws M., van Zeveren A., Peelman L. Bovine melanocortin receptor 4: cdna sequence, polymorphisms and mapping // Anim Genet. 2001. 32(4):189–192.
16. Thue T.D., Schmutz S.M., Buchanan F.C. A SNP in the cattle MC4R gene is used to map MC4R to BTA 24 // Anim Genet. 2001. 32(6):390–391. DOI: 10.1046/j.1365-2052.2001.0781b.x
17. Liu G., Raza S., Zhou L., El-Aziz A., Sabek A., Shoorei H., Amjadi M., Gui L. The genetic polymorphisms of melanocortin-4 receptor gene are associated with carcass quality traits in a Chinese indigenous beef cattle breed // Research in Veterinary Science. 2020. 132:202-206. DOI 10.1016/ j.rvsc.2020.06.011.
18. Lee Y., Park S., Kim H., Lee S., Kim J., Lee H., Jeong D., Lee S. A C1069G SNP of the MC4R gene and its association with economic traits in Korean native cattle (brown, brindle, and black) // Electronic Journal of Biotechnology, North America. 2013. 16(5): DOI: 10.2225/vol16-issue5-fulltext-5
19.Liu H., Tian W., Zan L., Wang H., Cui H. Association of MC4R gene variants with carcass and meat quality traits in Qinchuan cattle // African Journal of Biotechnology. 2009. 8(15):3666-3671. DOI: 10.5897/ AJB09.406
20.Polini B., Maltese P.E., Ciondolo I.D. Prevalence of mutations in LEP, LEPR, and MC4R genes in individuals with severe obesity // Genet. Mol. Res. 2016. 15(3):201-209. DOI: 10.4238/gmr.15038718

21.Balnikov A.A., Kazutova Yu.S., Gridyushko E.S., Mikhailova M.E., Romanishko E.L. Possibilities of marker selection in assessing the meat-fattening productivity of pigs // Our agriculture. 2022. 4(276): 74-82.
22.Kurnosova O.V., Maksimov G.V., Maksimova A.G. DNA markers of sow productivity // Pigbreeding. 2019. 3:45-48.
23.Melnikova E.E., Bardukov N.V., Fornara M.S., Kostyunina O.V., Sermyagin A.A., Zaitsev A.M., Zinovieva N.A. Effects of genotypes for IGF2, CCKAR and MC4R on the phenotypic estimations and breeding values for productive traits in pigs // Agricultural Biology. 2018. 53(4):723-734. DOI 10.15389/agrobiology.2018.4.723rus.
24.Serdyuk G. Polymorphism of the MC4R melanocortin receptor gene in pigs of various breeds // Genetics and breeding of animals. 2018. 3:27-31. DOI 10.31043/2410-2733-2018-3-27-31.
25.Huang M., Gao X., Li J.Y., Ren H.Y., Chen J.B., Xu S.Z. Polymorphisms in MC4R gene and correlations with economic traits in cattle // Mol Biol Rep. 2010. 37:3941–3944. DOI 10.1007/s11033-010-0051-0
26.Zhang C.L., Chen H., Wang Y.H., Lan X.Y., Zhang L., Zhang A.L., Zhang R.F. Association of a missense mutation of the MC4R gene with growth traits in cattle (Brief report) // Arch. Anim. Breed. 2006. 49 (5):515-516. https://doi.org/10.5194/aab-49-515-2006
27.Fadholly A., Margawati E., Ibrahim A., Putra W. Profile of Melanocortin-4 Receptor and Myogenic Factor 5 Genes in Pasundan Beef Cattle // Pakistan J. Zool. 2024. 1-6. DOI 10.17582/journal.pjz/20230310070334
28.Maharani D., Fathoni A., Sumadi S., Hartatik T., and Khusnudin M., Identification of MC4R gene and its association with body weight and body size in Kebumen Ongole Grade cattle // Journal of the Indonesian Tropical Animal Agriculture. 2018. 43(2):87 -93. https://doi.org/10.14710/jitaa.43.2.87-93

УДК: 636.52/.58/.082.233:637.4.04:591.436
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.4.528

КОНЦЕНТРАЦИИ ЭСТРАДИОЛА, ЭСТРОНА, ЭСТРИОЛА В СЫВОРОТКЕ КРОВИ КУР С РАЗЛИЧНОЙ МАССОЙ ЖЕЛТКА ЯИЦ

Перинек О.Ю. – канд. биол. наук, ст. науч. сотр. лаб. генетики, разведения и сохранения генетических ресурсов с/х птиц (ORCID 0000-0002-8953-7511); **Ширяев Г.В.** [*] – канд. с/х. наук, ученый секретарь (ORCID 0000-0002-4698-3917)

Всероссийский научно-исследовательский институт генетики и разведения сельскохозяйственных животных – филиал ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр животноводства – ВИЖ имени академика Л.К. Эрнста»

[*] e-mail: GS-2027@yandex.ru

Ключевые слова: *пушкинская порода кур, масса яичного желтка, овуляторный цикл, эстрадиол, эстриол, эстрон, соотношение эстрогенов, фолликул.*

Key words: *Pushkin breed of chickens, mass of egg yolk, ovulatory cycle, estradiol, estriol, estrone, estrogen ratio, follicl.*

Финансирование: *Материалы подготовлены в рамках выполнения научных исследований Министерства науки и высшего образования РФ по теме № 124020200029 -4*

Поступила:11.11.2024 **Принята к публикации: 02.12.2024**
Опубликована онлайн:16.12.2024

РЕФЕРАТ

Получены данные, биологически подтверждающие целесообразность селекции кур по величине желтка яиц для повышения их пищевой и биотехнологической ценности, в желтках яиц кур III группы (с массой желтка M+0,5σ) наблюдали преобладание над I группой (с массой желтка M-0,5σ) и II (с массой желтка M±0,3σ): триглицеридов – на 24,0% ($p<0,001$) и 12,4%, холестерина – на 37,2% ($p<0,01$) и 13,5% и общего белка – на 22,8% ($p<0,01$) и 5,2%, соответственно. Установлено, что концентрации эстрадиола, эстриола и эстрона в течение 6 часов исследуемого периода овуляторного цикла кур изменяются. Колебания 3-х гормонов в I и III группах не совпадают, во II – совпадают в двух периодах: за 1-0 час до снесения яйца – спад и 1-2 ч – после снесения яйца – подъем. У кур I и II групп изменения отдельных концентраций эстрогенов подвержены частым колебаниям – спадам и подъемам, а у кур III группы уровни гормонов показали постепенные снижения и подъемы. Преобладающим эстрогенным гормоном в сыворотке крови кур 3-х групп в исследованных периодах овуляторного цикла является эстриол ($p<0,001$), концентрация которого составляет в среднем за весь период 1,77…2,30 нмоль/л, тогда как эстрадиола – 1,30…1,47 нмоль/л и эстрона – 0,18…0,23 нмоль/л. Процент отдельных гормонов в сумме эстрогенов по исследуемым периодам имеет разные тенденции, так в среднем за весь период для I группы характерен следующий процент эстрадиола, эстриола и эстрона в сумме эстрогенов: 37,2%, 58,2% и 4,6%, соответственно, для II группы – 39,4%, 53,6% и 7,0%, а для III группы – 36,8%, 57,6% и

5,6%. Следовательно, соотношения эстрогенов в группах кур по периодам овуляторного цикла различны. Полученные различия в концентрациях эстрогенов по периодам, а, следовательно, процента отдельных гормонов к сумме эстрогенов и их соотношений между собой, связаны с различиями в синтезе данных гормонов фолликулярными оболочками ооцитов у кур 3-х исследуемых групп, что сказывается на содержании овогенных веществ желтка в крови, а в дальнейшем на массе желтка яиц кур. Также в организме кур путем изменения концентраций эстрогенов и, следовательно, их соотношений, являющихся исполнительными механизмами в регуляции репродуктивной функции у кур в общей цепи гипоталамус-гипофиз-яичник, происходит в процессе овуляторного цикла переключение синтетических систем, обеспечивающих помимо образования овогенных веществ желтка, формирование белка и минеральных компонентов скорлупы.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

В настоящее время интенсивная селекция на увеличение яичной продуктивности кур, массы яиц и конверсии корма привела к изменению баланса компонентов содержимого яиц. Вследствие этого доля желтка в яйце снизилась с 29–31% до 23–25%, что неблагоприятно отражается на показателях воспроизводства и качестве выведенного молодняка, а также на пищевой ценности яиц и качестве сырья для промышленности, так как яичный желток является богатым источником для экстракции специфических веществ, например, ферментов, гормонов, антител и др. [1].

Известно, что у кур образование веществ желтка происходит в печени с наступлением половой зрелости и одним из ключевых факторов регуляции этого процесса являются эстрогены [2]. Эстрогены стимулируют развитие яйцевода и синтез в нем белков, регулируют метаболизм кальция для формирования скорлупы яйца [3-5].

К эстрогенам, которые выделяются кортикальными интерстициальными клетками ткани яичника относятся: эстрадиол, эстриол, эстрон. Эстрогены относятся к стероидным гормонам и несмотря на широкое разнообразие стероидов, пути их синтеза на многих этапах являются общими. Для всех стероидных гормонов предшественником является холестерин. Образование стероидных гормонов происходит путем изменения боковых групп холестерина, что обеспечивается соответствующими ферментами клеток эндокринных желез. Схематический путь биосинтеза важных репродуктивных стероидных гормонов с указанием ферментов, необходимых для их синтеза представлен на рисунке 1.

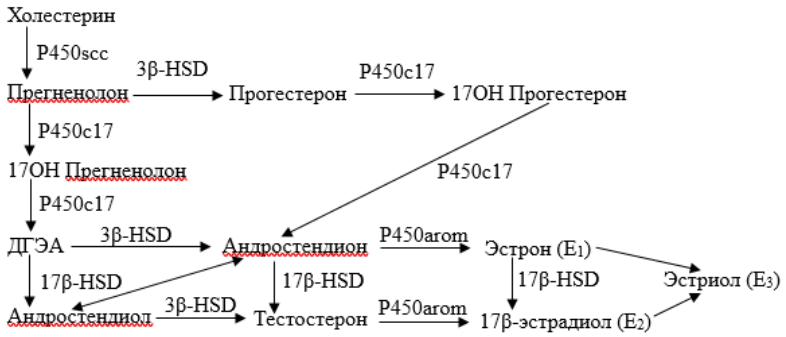


Рисунок 1 – Схематический путь биосинтеза важных репродуктивных стероидных гормонов с указанием ферментов, необходимых для их синтеза (3β-HSD - 3β-гидроксистероид дегидрогеназы; P450c17 – P450 17α-гидроксистероид дегидрогеназа; 17β-HSD-17β – гидроксистероид дегидрогеназы; P450arom – ароматаза цитохрома). (на основе [6])

Эстрон (E_1), важный эстроген, синтезируется из предшественника – андростендиона, может преобразовываться в эстрадиол (E_2), эстрадиол синтезируется путем преобразования тестостерона под действием ароматазы, а они оба – в эстриол (E_3) [6]. Эти половые гормоны тесно связаны между собой и взаимодействуют друг с другом. Поэтому не только E_2, но также E_1 и E_3 могут вносить вклад в инактивацию синтетических систем, обеспечивающих интенсивность образования вителлогенного материала печенью, и переносом его в развивающие фолликулы.

Учитывая, что эстрогены биохимически тесно связаны между собой и в своем действии оказывают существенное влияние на обменные процессы в репродуктивных органах кур, мы поставили цель изучить, как изменяются концентрации эстрадиола, эстриола и эстрона в крови кур в период овуляторного цикла в зависимости от размера желтка яиц.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Исследования проведены в условиях ЦКП ВНИИГРЖ «Генетическая коллекция редких и исчезающих пород кур» [7] на курах пушкинской породы (мясояичного направления продуктивности) в возрасте 36 недель и их яйцах для определения в желтках триглицеридов, холестерина и общего белка. Куры содержались в индивидуальных клетках при световом режиме 14 часов света:8 часов темноты. Поение – ниппельное, температура в птичнике и кормление – согласно нормам, принятым в ЦКП ВНИИГРЖ «Генетическая коллекция редких и исчезающих пород кур». Перед опытом в течение 7 дней яйца 96 голов кур 30-недельного возраста оценивали по массе яйца, желтка, белка, скорлупы – с помощью электронных весов *Mertech M-ER 122ACF(JR)* с точностью до 0,01 г. Массу белка находили по разнице между массой яйца, желтка и скорлупы. Учет и оценка яиц были индивидуальными – от каждой курицы исследовали не менее 3-х последовательно снесенных яиц на следующий день после сбора. По полученным индивидуальным данным оценки кур по качественным характеристикам яиц, по продуктивности, отобрали 35 голов и сформировали 3 группы кур с массой желтка яиц: M-0,5σ (9 гол.), M±0,3σ (14 гол.) и M+0,5σ (12 гол.).

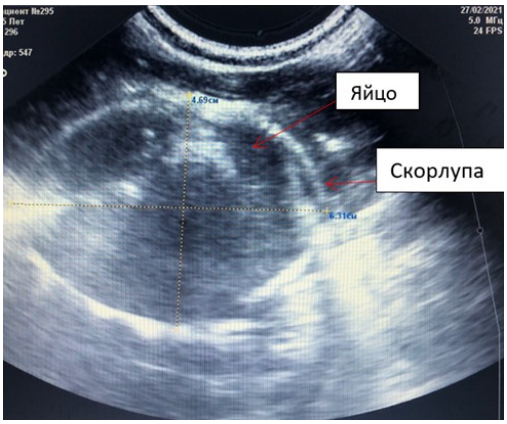


Рисунок 2 – Эхограмма яйца при УЗ- сканировании яйцевода кур (скорлуповый отдел).

Рисунок 3 – Установленный периферический венозный катетер.

В связи с ранее полученными нами данными для определения эстрогенов использовали наиболее стабильный период – за 2 часа до снесения яйца [8, 9], а также в течение 4 часов после снесения. За один день до взятий крови у исследуемой группы кур проводили фиксацию времени снесения яиц, УЗ-сканирование яйцевода, что позволило выявить нахож-

дение яйца в яйцеводе, стадию его формирования (рис. 2). Кур, откладывающих яйца после 14:00, на следующий день не брали, т.к. овуляция у них происходила только на следующее утро. Учет данных факторов позволил сформировать из общей исследуемой группы кур часть, исследуемую для взятий крови на следующий день, с таким расчетом, что после снесения формировавшего яйца у нее будет последующая овуляция. Для подтверждения произошедшей овуляции проводили УЗИ и фиксацию снесенного яйца. Для УЗ-сканирования яичника и яйцевода кур использован ультразвуковой переносной аппарат «Раскан» ЭТС-Д-05П (г. Санкт-Петербург). Время снесения яиц контролировали и фиксировали в течение светового дня.

Взятие крови осуществлялось с утра и в течение дня натощак с дальнейшей фиксацией времени снесения данного яйца. Для взятия проб крови курам катетеризировали лучевую вену, в соответствии с нашей методикой [10, рис. 3]. Образцы крови брали с интервалом в 1 ч, начиная за 2 ч до предполагаемого времени снесения яиц и заканчивая через 4 ч после снесения яиц. Образцы крови от каждой курицы отбирались индивидуально с использованием 3 мл вакуумных пробирок с активатором свертывания. Сыворотку отделяли центрифугированием при 3000 об/мин 10 мин, хранили в морозильной камере при -87°С до проведения анализов. Эстрадиол, эстриол и эстрон измеряли методом иммуноферментного анализа с использованием планшетного спектрофотометра FlexA-200 (Китай) и наборов фирмы Хема (Россия).

Морфометрический и биохимический анализ яиц и желтков проводили индивидуально, т.е. от каждой исследуемой курицы оценивали снесенное яйцо. Исследование проводили на следующий день после снесения яйца. Содержание триглицеридов, холестерина и общего белка в желтке яиц определяли энзиматическим колориметрическим методом с набором реагентов фирмы АО «Витал Девелопмент Корпорэйшн» (г. Санкт-Петербург).

Полученные данные обрабатывали общепринятыми методами вариационной статистики с использованием компьютерной программы Microsoft Excel. Достоверность определяли с применением критерия Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Ранее нами была изучена и доказана эффективность селекции кур на повышение величины желтка яиц [11] (табл. 1).

Согласно полученным данным за четыре поколения отбора произошло увеличение массы желтка на +8,4% ($p<0,001$) и доли желтка на +10,1% ($p<0,001$).

Таблица 1 – Средние значения массы яиц и их компонентов у селекционируемой группы кур пушкинской породы по величине желтка в поколениях F_1, F_2, F_3 и F_4 (возраст кур 42 недели)

Показатели		Поколение отбора				Изменения F_1… F_4, %
		F_1	F_2	F_3	F_4	
Масса, г	яйца	66,0±0,2	64,7±0,2	65,1±0,3	64,6±0,2	-2,2
	желтка	17,5±0,05[a]	17,7±0,07	18,5±0,1	**19,1±0,07[b]**	**+8,4**
	белка	42,2±0,2	40,6±0,2	40,3±0,2	38,5±0,2	-9,6
	скорлупы	6,3±0,03[a]	6,4±0,04	6,3±0,05	7,0±0,04[b]	+10,0
Доля желтка в яйце, %		26,6±0,08[a]	27,4±0,1	28,4±0,1	**29,6±0,1[b]**	**+10,1**

[a, b] – $p<0,001$; по F_1 – оценено 138 гол. кур и 740 шт. яиц; F_2 – 78 гол. и 343 шт.; F_3 – 58 гол. и343 шт.; F_4 – 96 гол. и 284 шт.

Таблица 2 – Морфометрическая и биохимическая характеристика яиц кур пушкинской породы в 36-недельном возрасте (Mean±SEM)

Показатели	Группы кур по массе яичного желтка		
	I M-0,5σ (n=9 гол.)	II M±0,3σ (n=14 гол.)	III M+0,5σ (n=12 гол.)
Живая масса, г	2,33±0,12	2,50±0,10	2,50±0,09
Яйценоскость за 3,5 мес., шт.	68±3	65±2	67±2
Масса яйца, г	59,2±1,8[e]	62,8±0,8	64,5±0,8[f]
Масса желтка, г	15,5±0,2[a]	17,2±0,09[b, a]	18,9±0,2[b]
Масса белка, г	37,7±1,5	39,4±0,7	39,3±0,7
Доля желтка в яйце, %	26,3±0,6[a]	27,4±0,3	29,3±0,4[b]
Белок/желток	2,43±0,09[c]	2,29±0,04[c]	2,08±0,04[d]
Масса скорлупы, г	6,0±0,3	6,2±0,1	6,4±0,1
Триглицериды в желтке, г	3,79±0,25[e]	4,18±0,17	4,70±0,26[f]
Холестерин в желтке, г	0,43±0,03[c, e]	0,52±0,03[f]	0,59±0,04[d]
Общий белок в желтке, г	3,11±0,18[c, e]	3,63±0,18[f]	3,82±0,07[d]

a, b – p<0,01; c, d – p<0,05; e, f – p<0,001.

У половозрелых кур большое количество жирных кислот, триглицеридов и холестерина, синтезируется в печени и собирается в липопротеины, такие как липопротеины очень низкой плотности (VLDL), вителлогенин (VTG), функции которых в основном связаны с транспортом триглицеридов, фосфолипидов и холестерина. VLDL и VTG проходят через базальную мембрану и через промежутки между гранулезными клетками к плазматической мембране ооцита, транспортируются через нее [12] и локализуются в сферах желтка, где происходит протеолитический процессинг катепсином D до фосвитина, липовителлина, триглицеридов, холестерина и фосфолипидов [13]. Средние морфометрические характеристики яиц, биохимические показатели желтка и продуктивность кур представлены в таблице 2.

Изучение биохимического состава желтка яиц у 3-х исследуемых групп кур показало, что вне зависимости от массы яйца и массы желтка, % сухого вещества находится на одном уровне – 52,4… 52,9%, но наблюдается преобладание в желтках яиц кур III группы (с массой желтка M+0,5σ) над I группой (с массой желтка M-0,5σ) и II (с массой желтка M±0,3σ): триглицеридов – на 24,0% (p<0,001) и 12,4%, холестерина – на 37,2% (p<0,01) и 13,5% и общего белка – на 22,8% (p<0,01) и 5,2% соответственно. Также у кур II группы по сравнению с I достоверно выше содержание в желтках яиц холестерина и общего белка на 20,9% (p<0,001) и 16,7% (p<0,001). Полученные данные биологически подтверждают целесообразность селекции кур по величине желтка яиц для повышения их пищевой и биотехнологической ценности.

В таблицах 3, 4 и 5 представлена концентрация эстрогенов в сыворотке крови 3-х исследуемых групп кур в конце овуляторного цикла – за 2 часа до снесения яйца, и в начале следующего цикла – в течение 4 часов после снесения яйца. Концентрации отдельных эстрогенных гормонов в течение 6 часов исследуемого периода овуляторного цикла изменяются, периодически нарастая и спадая, при этом колебания 3-х гормонов в I и III группах не совпадают, во II – совпадают в двух периодах: за 1-0 час до снесения яйца –

спад и 1-2 ч – после снесения яйца – подъем. При этом у кур I и II групп изменения отдельных концентраций эстрогенов подвержены частым колебаниям – спадам и подъемам, а у кур III группы уровни гормонов показали постепенные снижения и повышения. Куры I группы демонстрируют частые колебания в уровнях эстрогена, эстрона (разница не достоверна), эстриола – достоверна между периодами за 1-0 ч до снесения яйца – 2,37±0,23 нмоль/л и через 2-3 ч после снесения 1,89±0,11 нмоль/л ($p<0,05$).

Таблица 3 – Концентрация эстрадиола в крови кур (Mean±SEM)

Группа кур	Концентрация эстрадиола, нмоль/л						
	Временные периоды взятия крови, ч						Средняя за 6 ч
	за … ч до снесения яйца		после снесения яйца через … ч				
	2-1	1-0	0-1	1-2	2-3	3-4	
I	1,74±0,40	1,38±0,21	1,69±0,36[a]	1,50±0,23	1,14±0,11	1,82±0,79	1,47±0,11
II	**1,41±0,19[a]**	1,28±0,19	**0,92±0,04[b]**	1,47±0,31	1,51±0,33	1,18±0,22	1,30±0,09
III	**1,53±0,20[a]**	1,39±0,24	1,28±0,13[a]	1,26±0,22	**0,98±0,10**	1,30±0,17	1,31±0,08

[a, b] – $p<0,05$.

Таблица 4 – Концентрация эстриола в крови кур (Mean±SEM)

Группа кур	Концентрация эстриола, нмоль/л						
	Временные периоды взятия крови						Средняя за 6 ч
	за … ч до снесения яйца		после снесения яйца через … ч				
	2-1	1-0	0-1	1-2	2-3	3-4	
I	1,89±0,45	**2,37±0,23[a]**	2,10±0,45	2,35±0,29	**1,89±0,11**	2,95±0,49[a]	2,30±0,15
II	1,90±0,22	1,73±0,15[b]	1,71±0,17	1,98±0,25	1,62±0,21	1,71±0,13[b]	1,77±0,08
III	1,81±0,24	2,11±0,36	2,05±0,25	2,12±0,27	2,20±0,23	2,04±0,24	2,05±0,11

[a, b] – $p<0,05$.

Таблица 5 – Концентрация эстрона в крови кур (Mean±SEM)

Группа кур	Концентрация эстрона, нмоль/л						
	Временные периоды взятия крови						Средняя за 6 ч
	за … ч до снесения яйца		после снесения яйца через … ч				
	2-1	1-0	0-1	1-2	2-3	3-4	
I	0,25±0,16	0,14±0,04	0,22±0,08	0,14±0,05	0,22±0,05	0,13±0,05	0,18±0,03
II	**0,26±0,04[b]**	**0,13±0,02[a]**	0,18±0,04	**0,31±0,06**	**0,30±0,05[b]**	**0,24±0,05[b]**	0,23±0,02
III	0,24±0,06	0,16±0,02	0,20±0,05	0,18±0,03	0,25±0,05	0,16±0,02	0,20±0,02

[a, b] – $p<0,05$.

Циркулирующий в крови кур II группы эстрадиол имел тенденцию к резкому снижению в период с 2-1 ч до снесения яйца – 1,41±0,19 нмоль/л, до 0-1 ч после снесения яйца – 0,92±0,04 нмоль/л ($p<0,05$), в дальнейшем к его повышению – 1,47±0,31…1,51±0,33 нмоль/л и снижению к 3-4 ч после снесения яйца – 1,18±0,22 нмоль/л. Концентрация эстриола у кур II группы в исследуемом периоде имела частые незначительные колебания, а уровень эстрона показал резкое снижение в период с 2-1 ч и 1-0 ч до снесения яйца – с 0,26±0,04 нмоль/л до 0,13±0,02 нмоль/л ($p<0,01$), а к 1-2 ч после снесения яйца – к повышению – 0,31±0,06 нмоль/л ($p<0,01$), и далее – к 3-4 ч после снесения яйца, к незначительному снижению – 0,24±0,05 нмоль/л.

Уровень эстрадиола в сыворотке крови кур III группы показал его постепенное линейное снижение на протяжении иссле-

дуемого периода – за 2-1 ч до снесения яйца 1,53±0,20 нмоль/л и через 2-3 ч после снесения – 0,98±0,10 нмоль/л ($p<0,05$), затем через 3-4 часа после снесения яйца началось его повышение – 1,30±0,17. Концентрации эстриола и эстрона имели тенденцию к незначительным плавным колебаниям.

Обращает на себя внимание то, что преобладающим эстрогенным гормоном в сыворотке крови кур 3-х групп в исследованных периодах овуляторного цикла является эстриол ($p<0,001$), концентрация которого составляет в среднем за весь период 1,77…2,30 нмоль/л, тогда как эстрадиола – 1,30…1,47 нмоль/л и эстрона – 0,18…0,23 нмоль/л. Процент отдельных гормонов в сумме эстрогенов по исследуемым периодам имеет разные тенденции, так в среднем за весь период для I группы характерен следующий процент эстрадиола, эстриола и эстрона в сумме эстрогенов: 37,2%, 58,2% и 4,6% соответственно, для II группы – 39,4%, 53,6% и 7,0%, а для III группы – 36,8%, 57,6% и 5,6%. Следовательно, соотношения эстрогенов в группах кур по периодам овуляторного цикла различны. В таблице 6 представлены соотношения эстрогенов за весь период исследования. Соотношения циркулирующих гормонов в крови кур за исследуемый период следующие: эстра-эстриол у кур I группы выше II и III групп в 1,1 раза, эстрадиол/эстрон превалирует в I группе над II и III в 1,8 раза ($p<0,05$) и 1,5 раза соответственно, эстриол/эстрон выше в I и III группах над II в 1,6 раза ($p<0,05$) и 1,5 раза ($p<0,05$) соответственно.

Таблица 6 – Соотношение эстрогенов в крови кур

Группа кур	Соотношение эстрогенов		
	эстрадиол/эстриол	эстрадиол/эстрон	эстриол/эстрон
I	0,76±0,08	**14,71±2,93[a]**	**16,60±2,55[a]**
II	0,76±0,05	**8,32±1,17[b]**	**10,30±0,98[b]**
III	0,83±0,06	9,96±0,95	**15,03±2,00[a]**

[a, b] – $p<0,05$.

Полученные различия в концентрациях эстрогенов по периодам, а, следовательно, процента отдельных гормонов к сумме эстрогенов и их соотношений между собой, возможно связаны с различиями в синтезе данных гормонов фолликулярными оболочками ооцитов у кур 3-х исследуемых групп, что сказывается на содержании пластических элементов желтка в крови, а в дальнейшем и на массе желтка яиц кур. Исследователями установлено, что концентрация предшественников желтка (вителлогенина, липопротеинов) в сыворотке крови кур тесно связана с эстрогенной активностью фолликулярных оболочек развивающихся ооцитов [14]. Также ученые, рассматривая непосредственно взаимодействие эстрогенов между собой, отметили, что в организме между отдельными эстрогенами существует конкуренция за связывание с рецепторным белком. Так, например, предварительно введенный эстриол уменьшает количество связанного с белками эстрадиола [15]. Из этого следует, что эстрогенные гормоны влияя на многие участки обмена веществ выступают между собой как антагонисты или агонисты, то есть организм, по-видимому, изменяя их соотношение, может в какой-то мере регулировать те или иные процессы, связанные с формированием яйца во время овуляторного цикла.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Изучение биохимического состава яичного желтка у кур 3-х исследуемых групп показало преобладание в желтках яиц кур III группы (с массой желтка M+0,5σ) над I группой (с массой желтка M-0,5σ) и II (с массой желтка M±0,3σ): триглицеридов – на 24,0% ($p<0,001$) и 12,4%, холестерина – на 37,2% ($p<0,01$) и 13,5% и общего белка – на 22,8% ($p<0,01$) и 5,2% соответственно. Полученные дан-

ные биологически подтверждают целесообразность селекции кур по величине желтка яиц для повышения их пищевой и биотехнологической ценности.

При изучении концентрации эстрогенных гормонов в течение 6 часов исследуемого периода овуляторного цикла кур установили, что они изменяются, периодически нарастая и спадая, при этом колебания 3-х гормонов в I и III группах не совпадают, во II – совпадают в двух периодах: за 1-0 час до снесения яйца – спад и 1-2 ч – после снесения яйца – подъем. У кур I и II групп изменения отдельных концентраций эстрогенов подвержены частым колебаниям – спадам и подъемам, а у кур III группы уровни гормонов показали постепенные снижения и повышения. Преобладающим эстрогенным гормоном в сыворотке крови кур 3-х групп в исследованных периодах овуляторного цикла является эстриол ($p<0,001$), концентрация которого составляет в среднем за весь период 1,77…2,30 нмоль/л, тогда как эстрадиола – 1,30…1,47 нмоль/л и эстрона – 0,18…0,23 нмоль/л.

Процент отдельных гормонов в сумме эстрогенов по исследуемым периодам имеет разные тенденции, так в среднем за весь период для I группы характерен следующий процент эстрадиола, эстриола и эстрона в сумме эстрогенов: 37,2%, 58,2% и 4,6% соответственно, для II группы – 39,4%, 53,6% и 7,0%, а для III группы – 36,8%, 57,6% и 5,6%. Следовательно, соотношения эстрогенов в группах кур по периодам овуляторного цикла различны.

Полученные различия в концентрациях эстрогенов по периодам, а, следовательно, процента отдельных гормонов к сумме эстрогенов и их соотношений между собой, связаны с различиями в синтезе данных гормонов фолликулярными оболочками ооцитов у кур 3-х исследуемых групп, что сказывается на содержании овогенных веществ желтка в крови, а в дальнейшем на массе желтка яиц кур. Также в организме кур путем изменения концентраций эстрогенов и, следовательно, их соотношений, являющихся исполнительными механизмами в регуляции репродуктивной функции у кур в общей цепи гипоталамус-гипофиз-яичник, происходит в процессе овуляторного цикла переключение синтетических систем, обеспечивающих помимо образования овогенных веществ желтка, формирование белка и минеральных компонентов скорлупы.

CONCENTRATIONS OF ESTRADIOL, ESTRONE, ESTRIOL IN THE BLOOD SERUM OF CHICKENS WITH DIFFERENT EGG YOLK WEIGHTS

Perinek O. Yu. – Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher, Laboratory of Genetics, Breeding and Conservation of Genetic Resources of Agricultural Poultry (ORCID 0000-0002-8953-7511); **Shiryaev G.V.**[*] – Candidate of Agricultural Sciences Senior Researcher, Scientific Secretary (ORCID 0000-0002-4698-3917).

Russian Research Institute of Farm Animal Genetics and Breeding – Branch of FSBSI «Federal Research Center for Animal Husbandry named after Academy Member L.K. Ernst»

[*] GS-2027@yandex.ru

ABSTRACT

The obtained data biologically confirm the feasibility of breeding chickens by the size of the egg yolk to increase their nutritional and biotechnological value. In the yolks of eggs of chickens of group III (with a yolk weight of M+0.5σ), the prevalence of triglycerides over group I (with a yolk weight of M-0.5σ) and II (with a yolk weight of M±0.3σ) was observed: by 24.0% ($p<0.001$) and 12.4%, cholesterol by 37.2% ($p<0.01$) and 13.5% and total protein by 22.8% ($p<0.01$) and 5.2%, respectively. It was established that the concentrations of estradiol, estriol and estrone change during the 6-hour period of the ovulatory cycle of chickens under study. The fluctuations of the 3 hormones in groups I and III do not coincide, in group II they coincide in two periods: 1-0 hours before laying an egg - a decline and 1-2 hours after laying an egg - an increase. In hens of groups I and II, changes

in individual estrogen concentrations are subject to frequent fluctuations - declines and increases, and in hens of group III, hormone levels showed gradual decreases and increases. The predominant estrogen hormone in the blood serum of hens of the 3 groups in the studied periods of the ovulatory cycle is estriol ($p < 0.001$), the concentration of which is on average 1.77 ... 2.30 nmol / l for the entire period, while estradiol is 1.30 ... 1.47 nmol / l and estrone is 0.18 ... 0.23 nmol / l. The percentage of individual hormones in the sum of estrogens in the studied periods has different trends, so on average for the entire period for Group I the following percentage of estradiol, estriol and estrone in the sum of estrogens is characteristic: 37.2%, 58.2% and 4.6%, respectively, for Group II - 39.4%, 53.6% and 7.0%, and for Group III - 36.8%, 57.6% and 5.6%. Consequently, the ratios of estrogens in the groups of hens by periods of the ovulatory cycle are different. The obtained differences in the concentrations of estrogens by periods, and, consequently, the percentage of individual hormones to the sum of estrogens and their ratios to each other, are associated with differences in the synthesis of these hormones by the follicular membranes of oocytes in hens of the 3 studied groups, which affects the content of ovogenic substances of the yolk in the blood, and subsequently on the weight of the yolk of hens' eggs. Also, in the body of chickens, by changing the concentrations of estrogens and, consequently, their ratios, which are the executive mechanisms in the regulation of reproductive function in chickens in the general chain hypothalamus-pituitary-ovary, a switching of synthetic systems occurs during the ovulatory cycle, which ensure, in addition to the formation of ovogenic substances of the yolk, the formation of protein and mineral components of the shell.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Станишевская О. И. Диаметр желтка куриных яиц как селекционный критерий для повышения их пищевой и энергетической ценности / Е. С. Федорова, О. И. Станишевская // Генетика и разведение животных. – 2015. - № 1. – С. 21-26

2. Перинек О. Ю. Эстрогенный профиль крови в овуляторном цикле кур / О. Ю. Перинек // Генетика и разведение животных. – 2024. - № 2. – С. 12-19.

3. Shen X. Chicken oocyte growth: Receptor -mediated yolk deposition / X. Shen, E. Steyrer, H. Retzek, E. J. Sanders, W. J. Schneider // Cell Tissue Res. – 1993. – № 272. – P. 459–471. doi: 10.1007/ BF00318552

4. Retzek H. Molecular cloning and functional characterization of chicken cathepsin D, a key enzyme for yolk formation / H. Retzek, E. Steyrer, E. J. Sanders, J. Nimpf, W. J. Schneider // DNA Cell Biol. –1992. – № 11 (9). – P. 661–672. doi: 10.1089/ dna.1992.11.661

5. Hansen K. K. Estrogen receptor-α populations change with age in commercial laying hens / K. K. Hansen, R. J. Kittok, G. Sarath, C. F. Toombs, N. Caceres, M. M. Beck // Poult. Sci. – 2003. – №82. – P. 1624-1629. doi: 10.1093/ps/82.10.1624.

6. Джафаров М. Х., Зайцев С. Ю., Максимов В. И. Стероиды: строение, получение, свойства и биологическое значение, применение в медицине и ветеринарии: Учебное пособие / под ред. Проф. В. И. Максимов. – СПб.: Издательство Лань, 2010. – 288.

7. ЦКП ВНИИГРЖ «Генетическая коллекция редких и исчезающих пород кур» [Электронный ресурс] // https:// vniigen.ru/ckp-geneticheskaya-kollekciya-redkix-i-ischezayushhix-porod-kur/ (дата обращения 14.06.2024 г.).

8. Перинек О. Ю. Прогнозирование величины желтка яиц у кур мясо-яичной породы на основе уровня эстрадиола в сыворотке крови / О.Ю. Перинек, Г.В. Ширяев // Птица и птицепродукты. 2022. № 4. С. 28-31. DOI 10.30975/2073-4999-2022-24-4-28-31.

9. Перинек О. Ю. Влияние концентрации эстрадиола и вителлогенина в сыворотке крови кур мясо-яичной породы на яичную продуктивность / О. Ю. Перинек, Г. В. Ширяев // Генетика и разведение животных. – 2021. - № 4. – С. 114-120.

10.Перинек О. Ю. Применение перифери-

ческого венозного катетера у кур / О. Ю. Перинек, Г. В. Ширяев, А. Е. Рябова // Нормативно-правовое регулирование в ветеринарии. – 2023. – № 4. – С. 115-118. doi: 10.52419/issn2782-6252.2023.4.115
11. Перинек, О.Ю. Эффективность селекции кур на повышение массы и доли желтка в яйце / О.Ю. Перинек // Птицеводство. – 2023 – №4. – С. 13-18. doi: 10.33845/0033-3239-2023-72-4-13-18
12.Bluhm C. K. Serum levels of luteinizing hormone (LH), prolactin, estradiol, and progesterone in laying and nonlaying canvasback ducks (Aythya valisineria) / C. K. Bluhm, R. E. Phillips, W. H. Burke // General and Comparative Endocrinology. – 2003. – №52 (1). – P. 1-16. doi: 10.1016/0016-6480(83)90152-1
13. Zilli, M. Molecular mechanisms of endocrine resistance and their implication in the therapy of breast cancer. / M. Zilli, A. Grassadonia, N. Tinari, A. Di Giacobbe, S. Gildetti, J. Giampietro, S. Iacobelli // Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Reviews on Cancer. – 2009. – № 1795 (1). – P. 62–81. doi:10.1016/j.bbcan.2008.08.003
14. Циновый В. И. Вителлогенез и гуморальная регуляция метаболизма в репродуктивных органах кур: диссертация ... доктора биологических наук: 03.00.13. - Харьков, 1982. - 436 с.
15. Brecher P. I. Competation between estradiol for and organ receptor proteins / P. I. Brecher, H. H. Wotir // Steroids. – 1967. – № 9 (4). – P. 431-442. doi: 10.1016/0039-128x(67)90030-x/

REFERENCES

1. Stanishevskaya O. I. The diameter of the yolk of chicken eggs as a selection criterion for increasing their nutritional and energy value / E. S. Fedorova, O. I. Stanishevskaya // Genetics and animal breeding. - 2015. - No. 1. - P. 21-26
2. Perinek O. Yu. Estrogen profile of blood in the ovulatory cycle of chickens / O. Yu. Perinek // Genetics and animal breeding. - 2024. - No. 2. - P. 12-19.
3. Shen X. Chicken oocyte growth: Receptor -mediated yolk deposition / X. Shen, E. Steyrer, H. Retzek, E. J. Sanders, W. J. Schneider // Cell Tissue Res. – 1993. – No. 272. – P. 459–471. doi: 10.1007/ BF00318552
4. Retzek H. Molecular cloning and functional characterization of chicken cathepsin D, a key enzyme for yolk formation / H. Retzek, E. Steyrer, E. J. Sanders, J. Nimpf, W. J. Schneider // DNA Cell Biol. –1992. – No. 11 (9). – P. 661–672. doi: 10.1089/ dna.1992.11.661
5. Hansen K. K. Estrogen receptor-α populations change with age in commercial laying hens / K. K. Hansen, R. J. Kittok, G. Sarath, C. F. Toombs, N. Caceres, M. M. Beck // Poult. Sci. - 2003. - №82. - P. 1624-1629. doi: 10.1093/ps/82.10.1624.
6. Dzhafarov M. Kh., Zaitsev S. Yu., Maksimov V. I. Steroids: structure, production, properties and biological significance, application in medicine and veterinary science: Textbook / edited by Prof. V. I. Maksimov. – SPb.: Lan Publishing House, 2010. – 288.
7. Collective Collection Center of the All-Russian Research Institute of Poultry Farming “Genetic Collection of Rare and Endangered Chicken Breeds” [Electronic resource] // https://vniigen.ru/ckp-geneticheskaya-kollekciya-redkix-i-ischezayushhix-porod-kur/ (accessed on June 14, 2024).
8. Perinek O. Yu. Prediction of the size of egg yolk in meat and egg breed chickens based on the level of estradiol in the blood serum / O. Yu. Perinek, G.V. Shiryaev // Bird and poultry products. 2022. No. 4. pp. 28-31. DOI 10.30975/2073-4999-2022-24-4-28-31.
9. Perinek O. Yu. Effect of estradiol and vitellogenin concentration in the blood serum of meat-and-egg breed chickens on egg productivity / O. Yu. Perinek, G. V. Shiryaev // Genetics and animal breeding. - 2021. - No. 4. - P. 114-120.
10. Perinek O. Yu. Use of a peripheral venous catheter in chickens / O. Yu. Perinek, G. V. Shiryaev, A. E. Ryabova // Normative and legal regulation in veterinary medicine. - 2023. - No. 4. - P. 115-118. doi: 10.52419/ issn2782-6252.2023.4.115
11. Perinek, O. Yu. Efficiency of breeding chickens to increase the weight and propor-

tion of yolk in eggs / O. Yu. Perinek // Poultry farming. - 2023 - No. 4. - P. 13-18. doi: 10.33845/0033-3239-2023-72-4-13-18
12. Bluhm C. K. Serum levels of luteinizing hormone (LH), prolactin, estradiol, and progesterone in laying and nonlaying canvasback ducks (Aythya valisineria) / C. K. Bluhm, R. E. Phillips, W. H. Burke // General and Comparative Endocrinology. - 2003. - No. 52 (1). - P. 1-16. doi: 10.1016/0016-6480(83)90152-1
13. Zilli, M. Molecular mechanisms of endocrine resistance and their implication in the therapy of breast cancer. / M. Zilli, A. Grassadonia, N. Tinari, A. Di Giacobbe, S. Gildetti, J. Giampietro, S. Iacobelli // Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Reviews on Cancer. – 2009. – № 1795 (1). – P. 62–81. doi:10.1016/j.bbcan.2008.08.003
14. Tsinovy V. I. Vitellogenesis and humoral regulation of metabolism in the reproductive organs of chickens: dissertation ... doctor of biological sciences: 03.00.13. - Kharkov, 1982. - 436 p.
15. Brecher P. I. Competence between estradiol for and organ receptor proteins / P. I. Brecher, H. H. Wotir // Steroids. – 1967. – No. 9 (4). – P. 431-442. doi: 10.1016/0039-128x(67)90030-x/

УДК: 636.082.453.53
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.4.539

ПЕРЕЖИВАЕМОСТЬ СПЕРМЫ ЖЕРЕБЦОВ В РАЗНЫХ РАЗБАВИТЕЛЯХ ПРИ ОХЛАЖДЕНИИ ДО 4-5^0 С

Никиткина Е.В.[*] – канд. биол. наук., лаборатория биологии развития (ORCHID 0000-0002-8496-5277)

Всероссийский научно-исследовательский институт генетики и разведения сельскохозяйственных животных – филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр животноводства – ВИЖ имени академика Л. К. Эрнста»

[*] nikitkinae@mail.ru

***Ключевые слова**: сперма, жеребцы, разбавители, прогрессивная подвижность, акросомы*

***Keywords:** semen, stallions, extenders, progressive motility, acrosomes*

***Финансирование:** Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки, проект № 124020200127-7*

Поступила:11.11.2024 **Принята к публикации: 02.12.2024**
Опубликована онлайн:16.12.2024

РЕФЕРАТ

60 процентов искусственных осеменений лошадей в мире проводится с использованием охлажденной спермы, так как ее оплодотворяющая способность выше, чем криоконсервированной (источники). Однако, время хранения охлажденной спермы ограничено несколькими часами (источники). Использование разбавителей продлевает сохранность биологической полноценности спермы в охлажденном виде (источники). В проведенном исследовании оценивалась переживаемость и морфология охлажденной спермы жеребцов при использовании 4 разбавителей: ЛХЦЖ, рекомендованного ВНИИ коневодства; Кении, применяемый за рубежом; разбавитель для охлаждения спермы ВНИИГРЖ; опытный, на основе ТРИС и фруктозы. В результате обнаружена достоверная разница показателей общей и прогрессивной подвижности спермы, разбавленной опытной и остальными средами при хранении 24, 48 ($P<0,05$) и 72 часа ($P<0,01$). После хранения в течении 72 часов сперма, разбавленная опытным разбавителем, имела общую подвижность в среднем выше 50%, а прогрессивную 48,2±3,67%, (тогда как ГОСТ имеет следующие показатели: XXXXXX), что позволяет использовать ее для искусственного осеменения. Оценка морфологии сперматозоидов показала сохранность спермиев при хранении 72 часов охлажденном виде при использовании 4-х разбавителей. Результаты исследования показали, что возможно сохранение показателей качества спермы необходимых для искусственного осеменения с применением существующих разбавителей в течении 48 часов, а при разбавлении опытным разбавителем в течении 72 часов.

ВВЕДЕНИЕ/ INTRODUCTION

В настоящее время наиболее популярным методом сохранения спермы в скотоводстве, кроме КРС является охлаждение [1,2]. Хотя разбавители для охлаждения спермы используются на протяжении многих лет, возможность улучшить их качественные показатели еще не исчерпаны. Различными исследователями предпринято множество попыток изменения состава разбавителей, которые привели к улучшениям [1], однако срок хранения охлажденной спермы остается намного меньше, чем у криоконсервированной спермы [2].

Несмотря на отсутствие популярности и неприятие репродуктивных технологий представителями конной индустрии, искусственные осеменение лошадей растет на протяжении последних двадцати пяти лет [3]. Примерно 60 процентов искусственных осеменений лошадей в мире проводится с использованием охлажденной спермы при температуре охлаждения (4-5 °C), но ее необходимо использовать в течение 24 часов, после чего качество спермиев ухудшается [3].

Разбавители спермы должны содержать компоненты, поддерживающие pH на уровне 6,8-7,2; компоненты, обеспечивающие энергию; антиоксиданты для снижения окислительного стресса; антибиотики для предотвращения контаминации [2,4-8]. Эти свойства поддерживают хранение и транспортировку спермы и позволяют использовать ее в искусственном осеменении. В настоящее время в разбавителях используют такие составляющие как: яичный желток, обезжиренное молоко и растительный источник энергии (соевый лецитин) [2,9].

Разбавители спермы на основе яичного желтка используются в лабораторных и полевых работах из-за доступной цены и удовлетворительных результатов [2]. Обезжиренное молоко и яичный желток используют как непроникающие криопротекторы для сохранения спермы млекопитающих [9,10].

Целью работы было провести оценку подвижности и морфологии спермы жеребцов при хранении в охлажденном виде при использовании разбавителей с различным составом.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Сперма получена при помощи кобыл в охоте и на фантоме с использованием искусственной вагины Hannover (Minitube, Германия). Эякулят у каждого жеребца собран не менее двух раз. Проанализировано 30 эякулятов 8 жеребцов в возрасте 5-15 лет. В анализ включены эякуляты с такими характеристиками: объем эякулята не менее 30 мл, концентрация сперматозоидов не менее 150 млн/мл, общая подвижность не менее 70%, прогрессивная подвижность не менее 60%. Для анализа влияния разбавителя на качество спермы при охлаждении каждый эякулят разделен на 4 части и каждая часть разведена разбавителем в пропорции 1:2. Использовано 4 разбавителя: Лактозо-хелато-цитрат-желточный (ЛХЦЖ); разбавитель ВНИИГРЖ (на основе сухого молока) [11]; Кенни (на основе сухого молока) и опытный (на основе ТРИС и фруктозы). Все 4 разбавителя содержат гентамицин (5 мг/100 мл) и 5% желтка куриного яйца.

Объем эякулята измерялся мерным стаканом. Концентрация клеток, общая и прогрессивная подвижность определена с помощью компьютерного анализатора качества спермы «Аргус-CASA» (ООО Аргуссофт, Россия) и микроскопа Motic BA 410 (Motic, Китай). Морфология оценивалась окраской Дифф-Квик (НПФ Аб-рис+, Россия) и «Аргус-CASA». Просмотрено не менее 200 клеток в каждом образце.

Статистический анализ проведен в программе IBM SPSS Statistics 19. Данные были проанализированы с помощью ANOVA. Результаты представлены как средние значения ± стандартная ошибка среднего. Все парные множественные сравнения между средними значениями проводились с помощью t-тестов. Различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ/RESULTS

Успех использования охлажденной спермы зависит от таких факторов как: температура хранения, состав разбавителя, количество спермиев в одной дозе осеменения, количества осеменений, времени осеменений и т.д. [3,8]. В своей работе основное внимание я уделила составу разбавителя.

Существует много разбавителей для хранения спермы жеребцов при плюсовых температурах, например, несколько коммерческих производства IMV (Франция), Minitube (Германия) и др. В данной работе проведена оценка подвижности спермиев в процессе хранения при 4-5°С с использованием 4 разбавителей. В качестве контроля выбран разбавитель ЛХЦЖ, рекомендованный ВНИИ коневодства для замораживания и охлаждения спермы жеребцов и разбавитель на основе сухого молока Kenney (Кенни), который используется европейскими и американскими репродуктологами. Также использовался разбавитель ВНИИГРЖ и новый разбавитель на основе ТРИС и фруктозы. Результаты подвижности сперматозоидов приведены в таблице 1.

Из таблицы видно, что сразу при разбавлении достоверных различий по общей и прогрессивной подвижности между разбавителями не наблюдалось. После 2-х часов хранения подвижность снизилась, обнаружена достоверная разница между спермой, разбавленной ЛХЦЖ и опытной средой ($P<0,05$). При хранении 24 и 48 часов достоверная разница обнаружена между опытным и остальными разбавителями, при хранении 72 часа достоверность разницы достигла уровня $P<0,01$. После хранения в течении 72 часов сперма, разбавленная опытным разбавителем, имела в среднем общую подвижность выше 50%, а прогрессивную 48,2±3,67%, что делает возможным использовать ее для искусственного осеменения. Анализ полученных результатов показал индивидуальные различия между жеребцами при хранении спермы в охлажденном виде при 4-5 ^{0}С. Так у двух жеребцов сперма, разбавленная всеми разбавителями, имела прогрессивную подвижность выше 20% после хранения в течении 72 часов и оказалась пригодна к осеменению. У одного жеребца прогрессивная подвижность спермы в разбавителях ЛХЦЖ, Кенни и ВНИИГРЖ была ниже 10% при хранении 48 часов и 20% при разбавлении опытной средой и хранении 72 часа.

Молоко и разбавители на основе молока практичны и эффективны для защиты сперматозоидов лошадей во время хранения перед искусственным осеменением [12]. Однако молоко представляет собой биологическую жидкость со сложным составом и содержит компоненты, которые могут быть как полезны так вредны для выживания спермиев. Среди протестированных фракций нативный фосфоказеинат (NPPC), состоящий из общих мицеллярных казеинов, и β-лактоглобулин, оказались защитными, в то время как α-лактальбумин, оказался вредным [13]. Из полученных результатов видно, что разбавители на основе молока уступали разбавителю на основе фруктозы по сохранению подвижности сперматозоидов при хранении в охлажденном виде. Потребление энергии отвечает за продолжение развития и функционирование клеток, и гаметы не исключение. Два метаболических пути – окислительное фосфорилирование и гликолиз производят аденозинтрифосфат (АТФ), который поставляет энергию для функций сперматозоидов [14,15]. Сахар, такой как фруктоза и глюкоза, считается источником энергии в сперматозоидах. Однако фруктоза предпочтительный сахар для поддержания функциональной целостности мембраны, адекватной подвижности сперматозоидов и тонизирующего эффекта после размораживания [16]. В последнее время большинство коммерческих разбавителей производятся на основе фруктозы. Разработанный мной разбавитель для спермы жеребцов на основе фруктозы и ТРИС показал более высокий результат общей и прогрессивной подвижности спермиев после хранения при 4-5°С в течении 72 часов.

Таблица 1 – Подвижность сперматозоидов жеребцов при хранении спермы в разбавителях при 4-5 ^{0}С

Время хранения, ч	Подвижность	Разбавитель			
		ЛХЦЖ	ВНИИГРЖ	Кенни	Опытный
0	Общая,%	79,3±2,54	79,3±2,54	79,3±2,54	79,3±2,54
	Прогрессивная,%	69,4±2,81	69,4±2,81	69,4±2,81	69,4±2,81
2	Общая,%	62,5±2,33^a	68,3±2,77	69,5±3,23	70,1±3,68^b
	Прогрессивная,%	50,8±3,21^a	62,5±6,55	63,3±5,57	68,9±2,88^b
24	Общая,%	43,4±3,98^a	55,3±2,45^a	41,6±4,23^a	67,6±3,11^b
	Прогрессивная,%	38,6±4,40^a	47,6±5,95^a	35,1±6,97^a	60,8±3,67^b
48	Общая,%	30,5±4,23^a	40,4±3,67^a	36,4±3,97^a	59,3±4,12^b
	Прогрессивная,%	25,7±6,21^a	34,0±4,71^a	25,2±4,00^a	51,3±3,33^b
72	Общая,%	17,8±4,23^c	20,1±3,67^c	18,6±3,46^c	52,5±4,23^d
	Прогрессивная,%	14,0±5,33^c	15,7±4,52^c	14,3±5,81^c	48,2±3,67^d

$^{ab}P<0,05$; $^{cd}P<0,01$

Таблица 2 – Морфология сперматозоидов жеребцов при хранении в спермы в разбавителях при 4-5 °С

Время хранения, ч	Показатели качества	Разбавитель			
		ЛХЦЖ	ВНИИ-ГРЖ	Кенни	Опытный
0	Набухшие акросомы,%	8,0±1,01	8,0±0,98	8,6±0,89	8,0±0,99
	Сморщенные акросомы,%	0,7±0,23	0,7±0,25	0,5±0,14	0,7±0,21
	Отсутствие акросом,%	1,5±0,40	0,6±0,33	0,9±0,42	0,9±0,31
	Патологические хвосты,%	28,8±3,88	27,0±2,83	29,7±3,46	27,4±2,76
2	Набухшие акросомы,%	9,8±1,50	9,7±1,20	8,4±1,65	8,1±2,11
	Сморщенные акросомы,%	0,9±0,37	0,8±0,29	0,5±0,18	0,7±3,23
	Отсутствие акросом,%	1,7±0,64	1,1±0,37	1,7±0,53	1,0±0,34
	Патологические хвосты,%	35,0±6,41	28,0±5,24	29,5±7,55	27,1±5,24
24	Набухшие акросомы,%	11,7±1,25	10,4±0,89	10,2±1,11	9,5±2,12
	Сморщенные акросомы,%	1,0±0,34	0,8±0,18	0,9±0,53	0,8±0,54
	Отсутствие акросом,%	2,0±0,37	1,1±0,27	1,7±0,11	1,0±0,31
	Патологические хвосты,%	36,7±5,30	28,6±3,11	36,7±3,77	27,6±3,76
48	Набухшие акросомы,%	12,7±1,68	10,5±1,42	10,3±1,45	9,9±1,61
	Сморщенные акросомы ,%	1,2±0,48	0,8±0,12	0,9±0,14	0,8±0,17
	Отсутствие акросом,%	2,1±0,58	1,1±0,46	1,7±0,16	1,0±0,18
	Патологические хвосты,%	36,2±4,57	32,6±3,29	43,3±4,30^a	28,9±3,76^b
72	Набухшие акросомы,%	13,6±1,99	11,3±1,47	13,6±2,93	10,0±1,81
	Сморщенные акросомы,%	1,2±0,49	0,8±0,38	0,9±0,69	0,8±0,19
	Отсутствие акросом,%	2,3±0,51	1,1±0,19	1,7±0,52	1,0±0,17
	Патологические хвосты,%	40,6±3,61^a	32,6±2,60	43,9±3,65^a	29,5±3,44^b

$^{ab}P<0,05$.

Известно, что оценка только прогрессивной подвижности не достаточна при оценке качества спермы [17]. Данные по морфологии сперматозоидов при хранении в охлажденном виде представлены в таблице 2.

При оценке морфологии сперматозоидов выделены такие повреждения клеток как: состояние акросомного чехлика – набухание, сморщивание и отсутствие; патологические хвосты. Нарушения в области шейки, отсутствие хвостов, обломанные или скрученные, двойные хвосты объединены в графу патологические хвосты. Нарушений в области головки сперматозоида было мало, они не учтены в этом исследовании.

Из данных таблицы видно, что в первые сутки хранения морфология сперматозоидов не изменялась. В течении 72 часов хранения выросло число клеток с набухшими акросомами с 8 до 10-13% при использовании всех разбавителей. Число клеток со сморщенными и отсутствующими акросомами не изменялось. Набухание акросом связано с холодовым шоком, одной из причин начала акросомной реакции. Но полученное в нашем исследовании число клеток с набухшей акросомой (10-13 %) при хранении спермы в охлажденном виде в течении 72 часов не мешает использовать сперму в искусственном осеменении. Искусственное осеменение кобыл такой спермой дало положительный результат (75 % оплодотворяемости). Наиболее заметно проходило увеличение числа клеток с патологическими хвостами, особенно при разбавлении средами ЛЦХЖ и Кенни и через 72 часа хранения наблюдались достоверные различия с опытным разбавителем.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Таким образом, наблюдалось влияние разбавителя на переживаемость спермы жеребцов при охлаждении до 4-5^{0}С. Более высокие показатели общей и прогрессивной подвижности спермиев при хранении в охлажденном виде в течении 72 ч были у спермы разбавленной опытной средой на основе ТРИС и фруктозы. Для увеличения периода сохранения подвижности спермиев, интактности акросом и снижения повреждений в области хвоста и шейки необходимо доработать состав разбавителя.

STALLION SPERM SURVIVAL IN VARIOUS EXTENDERS WHEN COOLING AT 4-5^{0}C

Nikitkina E.V.* – Ph.D. biological sciences, laboratory of developmental biology (ORCHID 0000-0002-8496-5277)

Russian Research Institute of Farm Animal Genetics and Breeding — Branch of the L.K. Ernst Federal Research Center for Animal Husbandry

* nikitkinae@mail.ru

Funding: *The work was carried out with the financial support of the Ministry of Education and Science, project No. 124020200127-7*

ABSTRACT

Most equine artificial insemination is now carried out using chilled semen, as its fertilizing capacity is higher than cryopreserved semen. However, the possibility of long-term storage of chilled sperm is limited. The use of extenders allows to prolong the preservation of the biological value of chilled sperm. In this study, the survival rate and morphology of chilled stallion sperm were assessed using different extenders. Four extenders were used: LHCZh, recommended by the All-Russian Research Institute of Horse Breeding, Kenny, widely used abroad, extender for cooling sperm of the All -Russian Research Institute of Farm Animal Genetics and Breeding, and an experimental extender based on TRIS and fructose. A reliable difference was observed in the total and progressive motility of sperm diluted with the experimental and other media during storage for 24, 48 ($P<0.05$) and 72 hours ($P<0.01$). After storage for 72 hours, sperm diluted with the experimental extender had an average total motility over 50% and a progressive motility 48.2±3.67%, which makes it possible to use it for artificial in-

semination. Evaluation of sperm morphology showed good preservation of cells during 72-hour storage at 4-5^{0}C when using all extenders. The results of this study showed preservation of sperm quality necessary for artificial insemination for 48 hours, and when diluted with the experimental extender for 72 hours.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1.Henry, A.M.S. Factors associated with successful homologous artificial insemination / A.M.S.Henry, O.E. Raphael, and A.M.M Carmen //Gynecol. Reprod. Health. - 2019. - № 3(2). – C. 1-5. www.scivisionpub.com/pdfs/factors-associated-to-successful-homologous-artificial-insemination-682.pdf

2.Bustani, G.S. Semen extenders: An evaluative overview of preservative mechanisms of semen and semen extenders / G.S. Bustani, F.H. Baiee // Veterinary World. – 2021. - № 14(5). – C.1220-1233. www.doi.org/10.14202/vetworld.2021.1220-1233

3.Kowalczyk, A. Factors Influencing the Popularity of Artificial Insemination of Mares in Europe / A. Kowalczyk, E. Czerniawska-Piątkowska, M. Kuczaj // Animals. - 2019. - №9. -C. 460. https://doi.org/10.3390/ani9070460

4.Liu, C.H. Effects of pH during liquid storage of goat semen on sperm viability and fertilizing potential / C.H. Liu, H.B Dong, D.L Ma, Y.W. Li, D. Han, M.J. Luo, J.H. Tan //Anim. Reprod. Sci. – 2016. - № 164 (1). – C. 47-56. https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2015.11.011

5.Mousavi, S.M. Comparison of two different antioxidants in a nano lecithin-based extender for bull sperm cryopreservation / S.M. Mousavi, A. Towhidi, M. Zhandi, G. Amoabediny, A. Mohammadi-Sangcheshmeh, M.Sharafi, S.M.H. Hussaini // Anim. Reprod. Sci. – 2019. - № 209(10). – C.106171. https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2019.106171

6.Mohamed, M.Y. Influence of adding different energy sources to the bull and ram spermatozoa exposed to different refrigerating times / M.Y. Mohamed, A.M. Abd El-Hafeez, A.M. Shaarawy // Egypt. J. Sheep Goats Sci. – 2019. - № 14(2). – C. 1-18

7.Schulze, M. Antibiotics and their alternatives in artificial breeding in livestock / M. Schulze, E. Nitsche-Melkus, B. Hensel, M. Jung, U. Jakop // Anim. Reprod. Sci. – 2020. - № 220(9). – C. 106284. https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2020.106284

8.Hameed, N. Effects of different extenders, storage temperatures, and antioxidant supplementation on chilled semen quality: a review / N. Hameed, S. Akhter, J.M.G. Souza-Fabjan, M. Zubair, M. Irfan-Ur-Rehman Khan // Trop Anim Health Prod. – 2024. - № 56(2). – C.85. doi: 10.1007/s11250-024-03930-2. PMID: 38386220.

9.Filho, I.C.B. Skim milk-egg yolk-based semen extender compensates for non-enzymatic antioxidant activity loss during equine semen cryopreservation / I.C.B. Filho, C.D. Pederzolli, A.M. Sgaravatti, R.M Gregory, C.S.D. Filho, M.I.M. Jobim, R.C. Mattos // Anim. Reprod. – 2018. - № 6(2). – C. 392-399.

10.Neuhauser, S. Comparison of the effects of five semen extenders on the quality of frozen-thawed equine epididymal sperm / S. Neuhauser, H. Bollwein, M. Siuda, J. Handler // J. Equine Vet. Sci. – 2019. - № 79(8). – C. 1-8. https://doi.org/10.1016/j.jevs.2019.05.002

11.Никиткина Е.В. Разбавитель (среда) ВНИИГРЖ для хранения спермы жеребцов при 4-5оС Патент на изобретение RU 2610554 C, 13.02.2017. Заявка № 2015149452 от 17.11.2015.

12.Batellier, F. Advances in cooled semen technology /F. Batellier, M. Vidament, J. Fauquant, G. Duchamp, G. Arnaud, J.M. Yvon, M. Magistrini // Animal Reproduction Science. – 2001. - № 68 (3–4). – C.181-190. https://doi.org/10.1016/S0378-4320(01)00155-5.

13.Batellier, F. Effect of milk fractions on survival of equine spermatozoa. / F. Batellier, M. Magistrini, J. Fauquant, E. Palmer // Theriogenology. – 1997. - № 48 (3). – C. 391-410. https://doi.org/10.1016/S0093-691X(97)00250-1.

14.du Plessis, S.S. Oxidative phosphorylation versus glycolysis: What fuel do sperma-

tozoa use? / S.S. du Plessis, A. Agarwal, G. Mohanty, M.Van der Linde // Asian J. Androl. – 2015. - №17(2). – С.230-235. doi: 10.4103/1008-682X.135123.
15.Nikitkina, E. Assessment of Semen Respiratory Activity of Domesticated Species before and after Cryopreservation: Boars, Bulls, Stallions, Reindeers and Roosters / E. Nikitkina, I. Shapiev, A. Musidray, A. Krutikova, K. Plemyashov, S. Bogdanova, V. Leibova, G. Shiryaev, J. Turlova // Vet. Sci. – 2022. - № 9. – С.513. https://doi.org/10.3390/vetsci9100513
16.Cantanhêde, L.F. Use of alternative extender added of fructose aiming the cryopreservation of boar semen / L.F. Cantanhêde, E.N. de Freitas, T.B. Barros, D.B. Guimarães, A.V. Dias, R. Toniolli // Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci. – 2018. - №55(1) – С.1-10. https://doi.org/10.11606/issn.1678-4456.bjvras.2018.115739
17.Атрощенко М.М., Калашников В.В., Брагина Е.Е., Зайцев А.М. Сравнительное изучение ультраструктуры сперматозоидов в эпидидимальной, эякулированной и криоконсервированной сперме жеребцов / М.М. Атрощенко, В.В. Калашников, Е.Е Брагина, А.М. Зайцев// Сельскохозяйственная биология. - 2017. - Т. 52. - № 2. - С. 274-281. https://doi.org/10.15389/agrobiology.2017.2.274rus

REFERENSES

1.Henry, A.M.S. Factors associated with successful homologous artificial insemination / A.M.S.Henry, O.E. Raphael, and A.M.M Carmen //Gynecol. Reprod. Health.2019: 3(2):1-5. www.scivisionpub.com/pdfs/factors-associated-to-successful-homologous-artificial-insemination-682.pdf
2.Bustani, G.S. Semen extenders: An evaluative overview of preservative mechanisms of semen and semen extenders / G.S. Bustani, F.H. Baiee // Veterinary World. 2021:14 (5):1220-1233. www.doi.org/10.14202/vetworld.2021.1220-1233
3.Kowalczyk, A. Factors Influencing the Popularity of Artificial Insemination of Mares in Europe / A. Kowalczyk, E. Czerniawska-Piątkowska, M. Kuczaj // Animals. 2019:9:460. https://doi.org/10.3390/ani9070460
4.Liu, C.H. Effects of pH during liquid storage of goat semen on sperm viability and fertilizing potential / C.H. Liu, H.B Dong, D.L Ma, Y.W. Li, D. Han, M.J. Luo, J.H. Tan //Anim. Reprod. Sci. 2016:164(1):47-56. https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2015.11.011
5.Mousavi, S.M. Comparison of two different antioxidants in a nano lecithin-based extender for bull sperm cryopreservation / S.M. Mousavi, A. Towhidi, M. Zhandi, G. Amoabediny, A. Mohammadi-Sangcheshmeh, M.Sharafi, S.M.H. Hussaini // Anim. Reprod. Sci. 2019:209 (10):106171. https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2019.106171
6.Mohamed, M.Y. Influence of adding different energy sources to the bull and ram spermatozoa exposed to different refrigerating times / M.Y. Mohamed, A.M. Abd El-Hafeez, A.M. Shaarawy // Egypt. J. Sheep Goats Sci. 2019:14(2):1-18
7.Schulze, M. Antibiotics and their alternatives in artificial breeding in livestock / M. Schulze, E. Nitsche-Melkus, B. Hensel, M. Jung, U. Jakop // Anim. Reprod. Sci.2020: 220(9):106284. https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2020.106284
8.Hameed, N. Effects of different extenders, storage temperatures, and antioxidant supplementation on chilled semen quality: a review / N. Hameed, S. Akhter, J.M.G. Souza-Fabjan, M. Zubair, M. Irfan-Ur-Rehman Khan // Trop Anim Health Prod. 2024:56 (2):85. doi: 10.1007/s11250-024-03930-2. PMID: 38386220.
9.Filho, I.C.B. Skim milk-egg yolk based semen extender compensates for non-enzymatic antioxidant activity loss during equine semen cryopreservation / I.C.B. Filho, C.D. Pederzolli, A.M. Sgaravatti, R.M Gregory, C.S.D. Filho, M.I.M. Jobim, R.C. Mattos // Anim. Reprod. 2018:6(2): 392-399.
10.Neuhauser, S. Comparison of the effects of five semen extenders on the quality of frozen-thawed equine epididymal sperm / S. Neuhauser, H. Bollwein, M. Siuda, J. Handler // J. Equine Vet. Sci. 2019:79(8):1-8. https://doi.org/10.1016/j.jevs.2019.05.002

11.Nikitkina E.V. Extender (medium) VNII-GRZH for storing stallion sperm at 4-5 °C Patent for invention RU 2610554 C, 13.02.2017. Application No. 2015149452 dated 17.11.2015.
12.Batellier, F. Advances in cooled semen technology /F. Batellier, M. Vidament, J. Fauquant, G. Duchamp, G. Arnaud, J.M. Yvon, M. Magistrini // Animal Reproduction Science. 2001:68 (3–4):181-190. https://doi.org/10.1016/S0378-4320(01)00155-5.
13.Batellier, F. Effect of milk fractions on survival of equine spermatozoa. / F. Batellier, M. Magistrini, J. Fauquant, E. Palmer // Theriogenology. 1997:48 (3):391-410. https://doi.org/10.1016/S0093-691X(97)00250-1.
14.du Plessis, S.S. Oxidative phosphorylation versus glycolysis: What fuel do spermatozoa use? / S.S. du Plessis, A. Agarwal, G. Mohanty, M.Van der Linde // Asian J. Androl. 2015:17(2):230-235. doi: 10.4103/1008-682X.135123.
15.Nikitkina, E. Assessment of Semen Respiratory Activity of Domesticated Species before and after Cryopreservation: Boars, Bulls, Stallions, Reindeers and Roosters / E. Nikitkina, I. Shapiev, A. Musidray, A. Krutikova, K. Plemyashov, S. Bogdanova, V. Leibova, G. Shiryaev, J. Turlova // Vet. Sci. 2022:9:513. https://doi.org/10.3390/vetsci9100513
16.Cantanhêde, L.F. Use of alternative extender added of fructose aiming the cryopreservation of boar semen / L.F. Cantanhêde, E.N. de Freitas, T.B. Barros, D.B. Guimarães, A.V. Dias, R. Toniolli // Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci. 2018:55:1-10. https://doi.org/10.11606/issn.1678-4456.bjvras.2018.115739
17. Atroschenko M.M., Kalashnikov V.V., Bragina E.E., Zaitsev A.M. Comparative study of sperm ultrastructure in epididymal, ejaculated and cryopreserved sperm of stallions / M.M. Atroschenko, V.V. Kalashnikov, E.E. Bragina, A.M. Zaitsev // Agricultural biology. 2017: 52:2:274-281. https://doi.org/10.15389/agrobiology.2017.2.274eng

ХИРУРГИЯ

УДК: 612.[111.7+115.1].014.462.5:615.276
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.4.547

ДИНАМИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ КОАГУЛЯЦИИ И КОНТРАКЦИИ ТРОМБОЦИТАРНО-ФИБРИНОВЫХ СГУСТКОВ, ПРИГОТОВЛЕННЫХ В ПРИСУТСТВИИ НЕСТЕРОЙДНЫХ И СТЕРОЙДНЫХ ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ПРЕПАРАТОВ

Бокарев А.В. – д-р ветеринар. наук, доц. кафедры общей, частной и оперативной хирургии (ORCID 0000-0002-4623-5388); **Минина А.О.** * – канд. ветеринар. наук, доц. кафедры общей, частной и оперативной хирургии (ORCID 0000-0002-4176-4053); **Пилипец Е.Я.** – асп. кафедры общей, частной и оперативной хирургии (ORCID 0000-0002-0735-523X); **Назаров А.Ю.** – асп. кафедры общей, частной и оперативной хирургии (ORCID 0009-0004-7331-0525).

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины»

*Bluzma-nast@yandex.ru

***Ключевые слова**: PRP-терапия, регенерация, воспаление, простогландины, циклооксигеназа, фосфолипаза-А2, нестероидные противовоспалительные препараты, стероидные противовоспалительные препараты, раневой процесс, тромбоксан-А2.*

***Keywords:** PRP therapy, regeneration, inflammation, prostaglandins, cyclooxygenase, phospholipase A2, nonsteroidal anti-inflammatory drugs, steroid anti-inflammatory drugs, wound treatment, thromboxane A2.*

Поступила: 12.11.2024 **Принята к публикации: 02.12.2024**
Опубликована онлайн:16.12.2024

РЕФЕРАТ

В статье представлены результаты исследования по влиянию некоторых стероидных и нестероидных противовоспалительных препаратов на скорость образования (коагуляции) и скорость ретракции (контракции) сгустков, приготовленных из безэритроцитарной плазмы, обогащенной тромбоцитами. Выяснено, что высокие концентрации противовоспалительных препаратов данных групп через селективное воздействие на метаболизм тромбоцитов по-разному изменяют скорость и интенсивность коагуляции и контракции сгустка. Нестероидный противовоспалительный препарат мелоксикам не изменяет время образования сгустка (коагуляции), но значительно ускоряет его контракцию. Высказано предположение, что ускорение начала и полного завершения

контракции обусловлено тем, что мелоксикам подавляет тромбоцитарную циклооксигеназу второго типа. Вследствие этого тромбоциты перестают вырабатывать простациклин, который является антагонистом активатора тромбоцитов тромбоксана-А2. Другой нестероидный противовоспалительный препарат кеторол, наоборот, значительно удлиняет время наступления коагуляции сгустка и полностью подавляет его контракцию. Что связано с тем, что данный препарат является сильным ингибитором циклооксигеназы первого типы. Соответственно, зависимый от этого фермента активатор тромбоцитов тромбоксан-А2 перестает синтезироваться. Стероидный противовоспалительный препарат дексаметазон, в сравнении с контролем, незначительно ускоряет и время наступления коагуляции, и время наступления контракции сгустка. Однако данный эффект имеет низкую статистическую достоверность. Полученные результаты являются косвенным свидетельством того, что, мелоксикам и дексаметазон не препятствуют активации тромбоцитов. И, следовательно, могут применяться параллельно с лечением плазмой, обогащенной тромбоцитами. Препарат кеторолак, наоборот, подавляет активацию тромбоцитов. И, следовательно, его применение параллельно с лечением тромбоцитарной плазмой может снизить ее терапевтический регенеративный эффект.

Сокращения, используемые в тексте: Ак – арахидоновая кислота, Гк – глюкокортикойды, Лк – лейкотриены, Лпк – липокартин, НПВС – нестероидные противовоспалительные препараты, Пг – простогландины, Пц – простациклин, СПВС – стероидные противовоспалительные препараты, Тр – тромбоциты, Тр-А2 – тромбоксан-А2, Флп-А2 – фосфолипаза-А2, Фр – факторы роста, ЦОГ-1 – циклооксигеназа первого типа, ЦОГ-2 – циклооксигеназа второго типа.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Одним из современных методов регенеративной медицины является введение плазмы, обогащенной тромбоцитами – (PRP – терапия). Из самого названия этого вида лечения ясно, что оно должно позитивно действовать на процессы регенерации [1]. Т.е., ускорять количественные и улучшать качественные параметры новообразованной ткани, которая возмещает тканевой дефицит, возникший вследствие травмы или иного заболевания [2]. Терапевтический механизм данного вида лечения заключается в том, что в а-гранулах (альфа гранулах) тромбоцитов (Тр) содержатся так называемые факторы роста (Фр), которые способны стимулировать к делению и дифференцировке те клетки организма, которые сохранили свой пролиферативный потенциал. В том числе фибробласты, эндотелиоциты, мезенхимальные стволовые клетки и др. [1]. Введение концентрата тромбоцитов, предварительно очищенного от других клеток крови, в зону патологического очага позволяет ускорить процесс регенерации и, более того, направить его в сторону реституции. Однако, следует заметить, что те клинические ситуации, при которых требуется позитивное воздействие на регенеративные механизмы организма, часто являются следствием воспалительной патологии. Либо протекают параллельно с ней. Поэтому такие заболевания лечатся комплексно. Среди лекарственных препаратов, входящих в этот комплекс, априори входят противовоспалительные и обезболивающие средства [3]. Большая часть таких лекарственных средств представлена нестероидными противовоспалительными препаратами (НПВС), являющиеся прямыми ингибиторами циклооксигеназ (ЦОГ) и стероидными противовоспалительными препаратами (СПВС), которые косвенно через синтез липокортина (Лпк) ингибируют фермент фосфолипазу-А2 (Флп-А2). В конечном итоге обе группы препаратов понижают в клетках мишенях синтез простогландинов (Пг) из арахидоновой кислоты (Ак). НПВС путем прямого подавления ферментативного превращения Ак в циклические эндопероксиды, являющиеся предшественниками Пг. А СПВС путем уменьшения в клетке мишени концентрации Ак как субстрата для ЦОГ и предшественника Пг [4, 5].

На сегодняшний день известно, что

многие лекарственные препараты из группы НПВС могут понижать функциональную активность Тр. Клинически это, проявляется в их патологическом эффекте индуцировать склонность к кровотечениям у пациентов с нормальным коагуляционным статусом крови [3, 4, 5]. А терапевтическое применение базируется на способности НПВС понижать склонность к тромбозу у пациентов с гиперкоагуляционным статусом [6]. Данные эффекты НПВС, в основном, обусловлены снижением образования Тр-А2. Т.е., того Пг, который является одним из сильнейших индукторов активации Тр, и действие которого визуально проявляется в их агрегации.

Однако такие фармакодинамические свойства НПВС, предположительно, могут входить в противоречие со свойствами Тр как клеток способных усиливать регенеративный эффект [3, 7, 8]. Проблема состоит в том, что Пг, в частности Тр-А2, как сказано выше, являются важными медиаторами активации Тр после чего те высвобождают а-гранулы с Фр в межклеточное пространство. Где у этих факторов появляется возможность проконтактировать с рецепторами на тех клетках, пролиферация которых обеспечивает процесс регенерации. И соответственно те лекарственные препараты, которые негативно влияют на синтез и высвобождение Пг в целом и Тр-А2 в частности, с высокой степенью достоверности могут оказывать и негативное действие и на способность Тр вызывать стимулирующее действие на процесс регенерации. Но, как уже было отмечено выше, механизмы негативного влияния на синтез Пг у НПВС и СПВС отличаются. Более того, так же имеются отличия и у препаратов, входящих в группу НПВС. Отличия последних заключаются в специфичности по отношению к двум изоформам циклооксигеназ – ЦОГ-1 и ЦОГ-2 [3, 8]. Исходя из выше сказанного, можно предположить, что влияние на регенеративный потенциал плазмы, обогащенной тромбоцитами у СПВС и НПВС разной специфичности по отношению к изоферментам ЦОГ так же будет отличаться.

Известно, что оба процесса и гемостаз, и способность Тр экскретировать Фр связаны с процессом агрегации Тр [1, 3, 9]. Поэтому можно предположить, что количественные и качественные параметры коагуляции и контракции сгустков, приготовленных из плазмы, обогащенной тромбоцитами в присутствии препаратов, относящихся к СПВС и НПВС будут находиться в корреляции со способностью Тр оказывать регенеративный эффект. И могут служить косвенными маркерами совместимости конкретных противовоспалительных препаратов с PRP терапией.

Цель исследования – сравнить степень влияния стероидных и нестероидных противовоспалительных препаратов на такие параметры цитратной плазмы, обогащенной тромбоцитами как скорость ее коагуляции и контракции сгустка после реактивации системы свертывания внесением раствора кальция.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Объектом исследования была плазма, полученная из крови крыс линии Вистар (n=40). Забор крови (по 1.0-2.0 мл от каждого животного) осуществляли из хвостовой вены. Манипуляции по взятию крови выполняли под севофлурановым наркозом. Взятую кровь помещали в пробирки с цитратом натрия. Подсчет клеточных элементов в крови и в тромбоцитарной плазме проводили на гематологическом анализаторе МЕК-6550. Плазму, обогащенную тромбоцитами, получали методом, адаптированным к малым объёмам крови [10]. Во всех опытах использовали концентрацию тромбоцитов в плазме 1.1-1.3 $\times$ 10^6 клеток/мкл. Далее плазму с тромбоцитами расфасовывали по 0.5 мл в пробирки типа Эппендорф. В опытные пробы добавляли дексаметазон, кеторол или мелоксикам. Использовали аптечные препараты, которые содержали действующего вещества: дексаметазон – 4мг/мл, мелоксикам – 10 мг/мл; кеторол – 30 мг/мл; Каждый препарат вносился в дозе 0.1 мл. Препараты вносили в дозах значи-

тельно выше терапевтических, чтобы полностью подавить соответствующие им метаболические пути активации тромбоцита и избежать явления «доза-эффект». В контрольные пробы вместо указанных препаратов вносили 0.1 мл 0.85% раствор хлорида натрия. Для реактивации процесса коагуляции, в каждую пробирку вносили по 0.025 мл 10% раствора кальция хлорида. После чего пробирки помешали в водяную баню при t-37.0 ^{0}C. В процессе культивирования пробирки извлекали каждые 15 секунд, фотографировали, визуально на глаз определяли разницу в размерах сгустка, а также определяли степень ретракции сгустка по методу Макферлейна. Статистическая обработка полученных данных проводилась с помощью персонального компьютера на программе BioStat Professional 2007.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Согласно полученными результатами исследования все три испытанных препарата: дексаметазон, кеторол и мелоксикам, с большей или меньшей силой, оказывают влияние на коагуляцию и/или контракцию сгустков, образующихся из цитратной тромбоцитарной плазмы после ее реактивации кальцием (Таблица 1, Рисунок1).

Таблица 1 - Динамика коагуляции и ретракции сгустка приготовленного из тромбоцитарной плазмы реактивированной в присутствии НПВС и СПВС

Вид препарата внесенного в тромбоцитарную плазму	Количество проведенных экспериментов	Время коагуляции (образования сгустка) (Секунд)	Время начала контракции сгустка (секунд)	Время 50% - ой контракции сгустка (секунд)	Время 100%-ой контракции сгустка (секунд)
Контроль (К)	N 10	73.6±25.03	230.0±15,28	558.0±77,29	795.0±48,07
Дексаметазон (Д)	N 10	44.0±13.08	207.2±23,79	502.0±65.79	781.0±37,18
Мелоксикам (М)	N 10	78.0±31.02	182.0±42,24	396.0±62,04	668.0±42,24
Кеторол (Кт)	N 10	758.0±107.02	-	-	-
Множественные сравнения - критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони					
коагуляция		М и Д: t= 1.46 P>0,05	М и К: t=? P>0,05	К и Д: t= ? P>0,05	Кт и Д: t= 30.67 Кт и К: t= 29.40 Кт и М: t=29.21 P<0,05
Контракция (начало)		М и К: t= 3.81 P<0,05	Д и К: t= 1.81 P>0,05		М и Д: t= 2.00 P>0,05
Контракция (50%)		М и Д: t= 2.94 P<0,05	М и К: t= 4.49 P<0,05		К и Д: t= 1.55 P>0,05
Контракция (100%)		М и Д: t= 5.30 P<0,05	М и К: t= 5.96 P<0,05		К и Д: t= 0,66 P>0,05

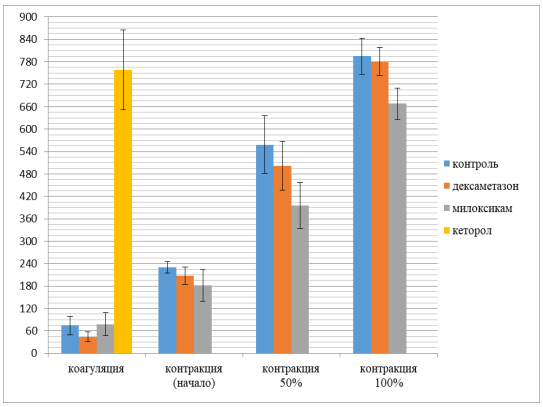


Рисунок 1 – Графическое отображение динамики коагуляции и контракции сгустков, приготовленных из плазмы, обогащенной тромбоцитами в присутствии нестероидных и стероидных противовоспалительных препаратов. По оси ординат время культивирования. Основные деления 60 секунд/1 минута. Промежуточные деления 15 секунд.

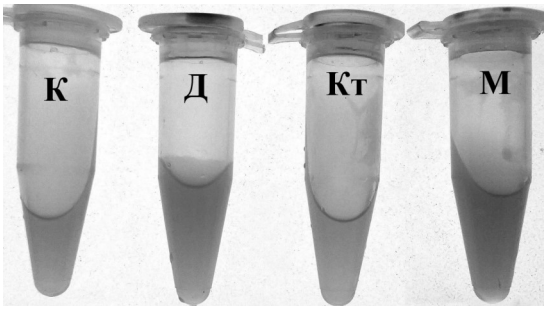


Рисунок 2 – Визуальный признак коагуляции в пробе, реактивированной цитратной тромбоцитарной плазмы, содержащей дексаметазон (Д). 44±13 секунд культивирования. В контрольной пробе (К) и в пробах содержащих кеторол (Кт) и мелоксикам (М) коагуляция отсутствует.

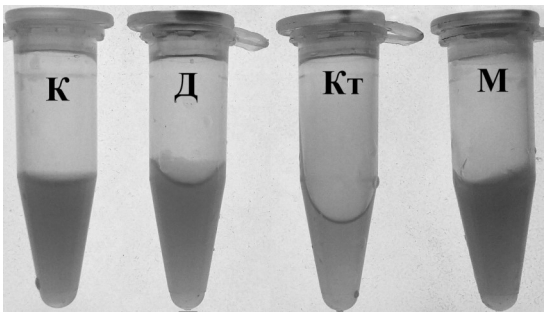


Рисунок 3 – Визуальный признак наступления коагуляции, реактивированной цитратной тромбоцитарной плазмы в контрольной пробе (К) и пробе, содержащей мелоксикам (М). 73 - 78 секунд после начала культивирования. В пробе содержащей кеторол (Кт) коагуляция отсутствует.

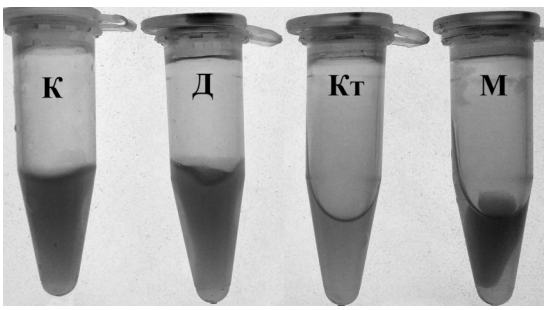


Рисунок 4 – Визуальный признак начала ретракции сгустков в реактивированной цитратной тромбоцитарной плазме в контрольной пробе (К) и пробе, содержащей дексаметазон (Д). В пробе, содержавшей мелоксикам (М) ретракция началась раньше и выражена более сильно. 207 - 230 секунд после начала культивирования. В пробе содержащей кеторол (Кт) коагуляция отсутствует.

Дексаметазон ускоряет наступление коагуляции (44.00±13.08 сек) в сравнении с контролем (73.60±25.03 сек) и мелоксикамом (78.0±31.02 сек) (Рисунок 2, Рисунок 3).

Хотя это ускорение имеет низкую степень достоверности (Таблица 1). Кеторол, наоборот, значительно замедляет наступление коагуляции, которая наступает только через 758.00±107.02 секунд, когда в контрольной пробе и пробах, содержащих дексаметазон и мелоксикам уже завершается процесс контракции сгустков (Рисунок 7, Таблица 1). В пробах, содержащих мелоксикам скорость наступления коагуляции практически не отличаются от контрольных (Таблица 1).

Контракция сгустка быстрее начинается в пробах, содержащих мелоксикам (182.0±42,24 сек), таблица 1. Ко времени, когда в контрольной пробе и пробе, содержащей дексаметазон контракции сгустков, еще только начинаются, 230.0±15,28 секунд и 207.2±23,79 секунд соответственно, в пробе, содержащей мелоксикам сгусток уже хорошо сформирован (Рисунок 4).

В течение последующего времени тенденция более быстрой контракции сгустка, в пробе, содержащей мелоксикам сохраняется. На момент 50% ретракции сгустков в контрольной пробе, в пробе, содержащей дексаметазон, в пробе, содержащей мелоксикам контракция сгустка почти достигает максимума (Рисунок 5).

А к времени 100% контракции сгустка, в пробе, содержащей мелоксикам (668.00±42.24 сек), контракция сгустков в контрольной пробе и в пробе, содержащей дексаметазон еще не завершилась (Рисунок 6). 100% контракция сгустков в контрольной пробе и в пробе, содержащей дексаметазон завершается только к 795.00±48.07 секунде и к 781.00±37.18 секунде соответственно (Рисунок 7). К этому моменту времени наступает коагуляция в пробе, содержащей кеторол. Но контракция сгустка в данной пробе не происходит. Согласно математическому подсчету данных и его графическому отображению дексаметазон ускоряет контракцию сгустка в сравнении с контролем (Рисунок 1). Однако статистический анализ показывает невысокую степень достоверности этого ускорения (Таблица 1).

*Подавление контракции и отсроченное временя наступления коагуляции в присутствии кеторола***.** Клинические противовоспалительный и обезболивающий эффекты кеторола обусловлены, как и всех НПВС, способностью подавлять активность ЦОГ. Однако его ингибирующее действие более, чем в семь раз выше в отношении ЦОГ-1, нежели, чем к ЦОГ-2. Учитывая, что в данном эксперименте были использованы очень высокие дозы кеторола, можно с уверенностью сказать, что на уровне тромбоцитарного метаболизма им был полностью заблокирован синтез Тр-А2. Вследствие чего контракция образовавшегося сгустка не имела место быть. Вопрос отсроченного наступления коагуляции активированной тромбоцитарной плазмы в присутствии кеторола требует дополнительного исследования. Не исключено, что кеторол способен негативно влиять на факторы каскада плазменного гемостаза. Проверка этого предположения в данном исследовании не проводилась.

*Ускорение контракции под действием мелоксикама***.** В условиях in vivo тромбический эффект Тр-А2, который синтезируется в Тр при участии фермента ЦОГ-1, нейтрализуется антитромбическим эффектом простациклина (Пц). Пц так же является простогландином (Пг-i2), который синтезируется клетками эндотелия кровеносных сосудов при участии ЦОГ-2. В здоровом организме баланс влияния Тр -А2 и Пц на тромбоциты регулирует систему гемостаза. Но те НПВС, которые являются селективными ингибиторами ЦОГ-2 (коксибы), в организме животных и человека избирательно подавляют синтез Пц эндотелиоцитами и поэтому могут приводить к тромбозам [4, 11]. Мелоксикам не является селективным ингибитором ЦОГ-2. Но, тем не менее, его специфичность к этому изоферменту в более, чем в 11 раз выше, чем к ЦОГ-1. В кон-

тексте обсуждаемого эксперимента следует отметить, что в условиях in vitro эндотелиальные клетки отсутствуют. Но мелоксикам имеющий более выраженную антиЦОГ-2, чем антиЦОГ-1 активность, тем не менее, достоверно ускоряет ретракцию сгустка в сравнении с контролем. Исходя из этого, *можно сделать вывод, что способность данного препарата ускорять ретракцию сгустка, приготовленного in vitro из тромбоцитарной плазмы, так же обусловлена подавлением ЦОГ-2.*

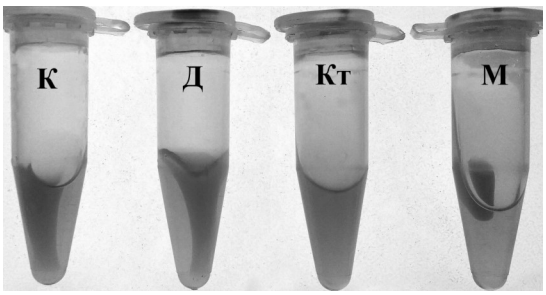


Рисунок 5 – Визуальный признак 50% ретракции сгустков реактивированной цитратной тромбоцитарной плазмы в контрольной пробе (К) и в пробе, содержащей дексаметазон (Д). В пробе, содержавшей мелоксикам (М) ретракция достигла почти 100%. 502 - 558 секунд после начала культивирования. В пробе содержащей кеторол (Кт) коагуляция отсутствует.

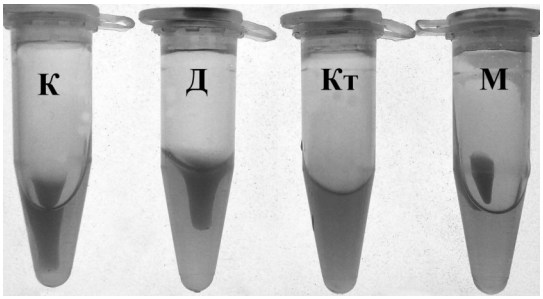


Рисунок 6 – Визуальный признак 100% ретракции сгустка реактивированной цитратной тромбоцитарной плазмы содержавшей мелоксикам (М). В контрольной пробе и пробе, содержащей дексаметазон ретракция сгустка еще не достигла максимума. 668.0±42 секунд после начала культивирования. В пробе содержащей кеторол (Кт) коагуляция отсутствует.

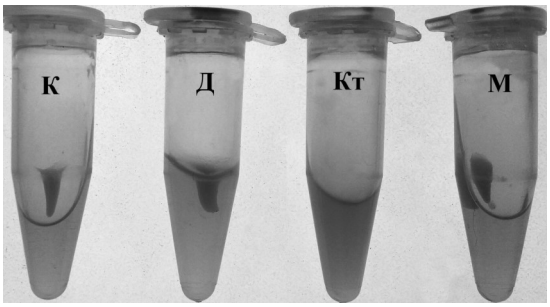


Рисунок 7 – Визуальный признак достижения 100% ретракции сгустка реактивированной цитратной тромбоцитарной плазмы в контрольной пробе (К) и в пробе, содержавшей дексаметазон (Д). 795±48 секунд после начала культивирования. В пробе содержащей кеторол (Кт) к этому времени произошла коагуляция, но признаки ретракции отсутствуют.

Но, как это следует из условий эксперимента, не в эндотелиальных клетках кровеносных сосудов, а в самих Тр. Вследствие чего Тр-А2 синтез, которого мелоксикамом подавляется в значительно в меньшей степени, мог более выраженно проявлять свои контракционный эффект [11]. То, что ускорение процесса ретракции под действием мелоксикама может быть обусловлено подавлением ЦОГ-2 именно в Тр косвенно подтверждается и другими исследованиями. В экспериментах на Тр человека установлено, что эти клетки, действительно содержат небольшое количество ЦОГ-2 [6, 12]. Более прямое подтверждение нашего вывода о том,

что ускорение контракции тромбоцитарного сгустка под действием мелоксикама может быть связано с подавлением активности ЦОГ-2 в Тр, наглядно демонстрируется на примере ЦОГ-2 дефицитных мышиных Тр, у которых наблюдается повышенная агрегация в ответ на агонисты [13].

Нейтральное или слабо позитивное действие дексаметазона на коагуляцию и контракцию тромбоцитарного сгустка. Известно, что СПВС обладают более сильным противовоспалительным действием, чем НПВС. В ядросодержащих клетках их противовоспалительный механизм действия опосредуется не через ингибирование ЦОГ, а через индукцию синтеза Лпк, который, в свою очередь, подавляет активность фермента Флп-А2. Тем самым СПВС препятствуют накоплению в клетке Ак, и, соответственно, снижают синтез не только Пг, но и лейкотриенов (Лк). Однако тромбоциты млекопитающих являются безъядерными «обломками» мегакариоцитов, и, соответственно, СПВС-индуцированный синтез de novo Лпк в них невозможен. В Тр имеется некоторое небольшое количество предсинтезированного Лпк. Но установлено, что на функциональные свойства Тр, в том числе на синтез Тр-А2, он не влияет [14]. Так же установлено, что несмотря на то, что мембранные рецепторы Тр способны связывать разные СПВС, именно дексаметазон (в отличии от преднизолона) не подавлял АДФ-индуцированную агрегацию Тр и не снижал в них количество Тр-А2 [15]. В представленном эксперименте in vitro это подтверждается тем, что дексаметазон практически не понизил ни скорости коагуляции, ни скорости ретракции сгустка, приготовленного из реактивированной цитратной плазмы, обогащенной тромбоцитами. Из всего вышесказанного закономерно сделать вывод, что несмотря на то, что использованный в эксперименте дексаметазон при системном применении и обладает более сильным, чем НПВС, противовоспалительным действием, *воздействуя на тромбоциты, он не подавляет их активацию и реализацию регенеративного потенциала.* Наблюдаемый хоть и слабовыраженный позитивный эффект дексаметазона на данный момент не имеет объяснения. Однако следует заметить, что влияние СПВС на внутриклеточный метаболизм имеет более сложный механизм, чем НПВС. Так же следует обратить внимание на то, что визуальные эффекты, наблюдаемые in vitro, включающие коагуляцию и контракцию могут варьировать в зависимости как от дозы СПВС и НПВС, так и от концентрации Тр в плазме [8, 9]. Эта сторона вопроса требует дополнительного исследования.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

1. Полученные результаты являются косвенным свидетельством того, что, мелоксикам и дексаметазон не препятствуют активации тромбоцитов. И, следовательно, могут применяться параллельно с лечением плазмой, обогащенной тромбоцитами.

2. Препарат кеторолак, наоборот, подавляет активацию тромбоцитов. И, следовательно, его применение параллельно с лечением тромбоцитарной плазмой может снизить ее терапевтический регенеративный эффект.

Возможные перспективы клинического использования полученных данных. В условиях клинического эксперимента следует проверить: 1 – возможность инъекции тромбоцитарной плазмы с добавлением мелоксикама вокруг раневого дефекта ускорять остановку кровотечения и в последующем снижать признаки воспалительной реакции; 2 – возможность инъекции или аппликаций тромбоцитарной плазмы с добавлением дексаметазона ослаблять признаки воспалительной реакции, не снижая процессов регенерации. Например, при лечении язвы роговицы; 3 – возможность использования сгустков без признаков ретракции сделанных на основе тромбоцитарной плазмы с добавлением кеторола как биоразлагаемых источников противовоспалительного лекарственного препарата пролонгированного действия. И одновременно как источников тромбоцитарных фак-

торов роста.

DYNAMIC CHARACTERISTICS OF COAGULATION AND CONTRACTION OF PLATELET-FIBRIN CLOTS PREPARED IN THE PRESENCE OF NONSTEROIDAL AND STEROIDAL ANTI-INFLAMMATORY DRUGS

Bokarev A.V. – Doctor of Veterinary Sciences, Associate Professor of the Department of General, Private and Operative Surgery (ORCID 0000-0002-4623-5388); **Minina A.O. * –** Candidate of Veterinary Sciences, Associate Professor of the Department of General, Private and Operative Surgery (ORCID 0000-0002-4176-4053); **Pilipets E. Ya. –** graduate student of the Department of General, Private and Operative Surgery (ORCID 0000-0002-0735-523X); **Nazarov A.Y. –** graduate student of the Department of General, Private and Operative Surgery (ORCID 0009-0004-7331-0525).

Federal State Budget Educational Institution of Higher Education "St. Petersburg State University of Veterinary Medicine"

*Bluzma-nast@yandex.ru

ABSTRACT

The article presents the results of a study on the effect of some steroidal and nonsteroidal anti-inflammatory drugs on the rate of formation (coagulation) and the rate of retraction (contraction) of clots prepared from erythrocyte-free plasma enriched with platelets. It was found that high concentrations of anti-inflammatory drugs of these groups, through selective effects on platelet metabolism, change the rate and intensity of coagulation and clot contractionin different ways. The nonsteroidal anti-inflammatory drug meloxicam does not change the time of clot formation (coagulation), but significantly accelerates its contraction. It is suggested that the acceleration of the onset and complete completion of contraction is due to the fact that meloxicam suppresses platelet cyclooxygenase of the second type. As a result, platelets stop producing prostacyclin, which is an antagonist of the platelet activator thromboxane-A2. Another nonsteroidal anti-inflammatory drug ketorol, on the contrary, significantly prolongs the onset of coagulation of the clot and completely suppresses its contraction. This is due to the fact that this drug is a strong inhibitor of cyclooxygenase of the first type. Accordingly, the platelet activator trom-boxan-A2, which is dependent on this enzyme, ceases to be synthesized. The steroidal anti-inflammatory drug dexamethasone, in comparison with the control, slightly accelerates both the time of onset of coagulation and the time of onset of clot contraception. However, this effect has low statistical validity. The results obtained are indirect evidence that meloxicam and dexamethasone do not prevent platelet activation. And, therefore, they can be used in parallel with the treatment of platelet-rich plasma. Ketorolac, on the contrary, suppresses platelet activation. And, consequently, its use in parallel with platelet plasma treatment can reduce its therapeutic regenerative effect.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Юшков, Б.Г. Тромбоциты и регенерация / Юшков Б.Г. // Бюллетень сибирской медицины. – 2021 – №20 (2). – С. 216–227.
2. Влияние бесклеточной и тромбоцитарной плазмы на заживление ожоговой раны у крыс / Свердлова М.В., Стекольников А.А., Минина А.О., Бокарев А.В. // Международный вестник ветеринарии. - 2022. - № 2. - С. 188-194.
3. Autologous Platelet-Rich Plasma Preparations: Influence of Nonsteroidal Anti-inflammatory Drugs on Platelet Function / Schippinger G., Prüller F., Divjak M., e.t.c. // The Orthopaedic Journal of Sports Medicine. – 2015. - Jun 23;3(6). – 2325967115588896.
4. Cyclooxygenases and platelet functions / Bruno A., Tacconelli S., Contursi A., e.t.c. // Adv Pharmacol. – 2023. - № 97. – P. 133-165.
5. Inhibition of prostaglandin E2 synthesis by SC-560 is independent of cyclooxygenase 1 inhibition / Brenneis C., Maier T.J., Schmidt R., e.t.c. // The FASEB Journal. – 2006. - Jul;20(9). – P. 1352-60.
6. Cyclooxygenase-2 in human platelets as a possible factor in aspirin resistance / Weber

A.A., Zimmermann K.C., Meyer-Kirchrath J., Schrör K. // The Lancet. Research Letters. 1999. - March 13 - V.353. – P. 900-901.
7. Влияние местных антисептиков и противовоспалительных средств на функциональную активность богатой тромбоцитами плазмы при комплексной терапии пародонтита / Орехова Л.Ю., Кудрявцева Т.В., Вавилова Т.В., Тачалов В.В. // Пародонтология. - 2008. - № 1 (46). - С. 61-64.
8. Влияние нестероидных и стероидных противовоспалительных препаратов на активацию тромбоцитов IN VITRO / Бокарев А.В., Минина А.О., Горохов В.Е. // Международный вестник ветеринарии. - 2023. - № 4. - С. 463-472.
9. Зависимость контракции (ретракции) сгустка от молекулярного и клеточного состава крови / Пешкова А.Д., Ложкин А.П., Фахтуллина Л.С., и др. // Казанский медицинский журнал. – 2016. - Том 97, №1. – С. 70 – 77.
10. Патент № 2789518 Российская Федерация, МПК A61K 35/19, A61K 35/16, G01N 33/49. Способ получения плазмы, обогащенной тромбоцитами, из малых объёмов крови: № 2022113042: заявл. 13.05.2022: опубл. 06.02.2023 / Стекольников А.А., Бокарев А.В., Горохов В.Е., Минина А.О., Свердлова М.В., Захаров А.Ю. – 5 с.
11. Patrono, C. Cardiovascular effects of cyclooxygenase-2 inhibitors: a mechanistic and clinical perspective / Patrono C. // Br J Clin Pharmacol. – 2016. - Oct; 82(4). – P. 957–964.
12. A small amount of cyclooxygenase 2 (COX2) is constitutively expressed in platelets / Hu Q., Cho M.S., Thiagarajan P.T., e.t.c. // Platelets. - 2017 - Jan;28(1). P. 99-102.
13. Abnormal megakaryopoiesis and platelet function in cyclooxygenase-2-deficient mice / Barbieri S.S., Petrucci G., Tarantino E., e.t.c. // Thrombosis and Haemostasis/ - 2015. - Nov 25;114(6). – P. 1218-29.
14. Virtual lack of annexins in human platelets argues against a role in phospholipase A2 regulation and platelet secretion / Ferrieres J., Simon M.F., Fauvel J., Chap H // J Lipid Mediat Cell Signal. – 1994. - Mar;9 (2). P. 155-65.
15. Ligand-specific glucocorticoid receptor activation in human platelets / Moraes L.A., Paul-Clark M.J., Rickman A., e.t.c. // Blood. – 2005. – Dec; 106(13). – P. 4167-75.

REFERENCES

1. Yushkov, B.G. Platelets and regeneration / Yushkov B.G. // Bulletin of Siberian medicine. – 2021 – №20 (2). – Pp. 216-227.
2. The effect of cell-free and platelet-free plasma on the healing of a burn wound in rats / Sverdlova M.V., Stekolnikov A.A., Minina A.O., Bokarev A.V. // International Bulletin of Veterinary Medicine. - 2022. - No. 2. - pp. 188-194.
3. Autologous Platelet-Rich Plasma Preparations: Influence of Nonsteroidal Anti-inflammatory Drugs on Platelet Function / Schippinger G., Prüller F., Divjak M., e.t.c. // The Orthopaedic Journal of Sports Medicine. – 2015. - Jun 23;3(6). – 2325967115588896.
4. Cyclooxygenases and platelet functions / Bruno A., Tacconelli S., Contursi A., e.t.c. // Adv Pharmacol. – 2023. - № 97. – P. 133-165.
5. Inhibition of prostaglandin E2 synthesis by SC-560 is independent of cyclooxygenase 1 inhibition / Brenneis C., Maier T.J., Schmidt R., e.t.c. // The FASEB Journal. – 2006. - Jul;20(9). – P. 1352-60.
6. Cyclooxygenase-2 in human platelets as a possible factor in aspirin resistance / Weber A.A., Zimmermann K.C., Meyer-Kirchrath J., Schrör K. // The Lancet. Research Letters. 1999. - March 13 - V.353. – P. 900-901.
7. The effect of local antiseptics and anti-inflammatory drugs on the functional activity of platelet-rich plasma in the complex therapy of periodontitis / Orekhova L.Yu., Kudryavtseva T.V., Vavilova T.V., Tachalov V.V. // Periodontology. - 2008. - № 1 (46). - Pp. 61-64.
8. The effect of nonsteroidal and steroid anti-inflammatory drugs on platelet activation IN VITRO / Bokarev A.V., Minina A.O., Gorokhov V.E. // International Bulletin of Veterinary Medicine. - 2023. - No. 4. - pp. 463-472.
9. Dependence of clot contraction

(retraction) on the molecular and cellular composition of blood / Peshkova A.D., Lozhkin A.P., Fakhtullina L.S., et al. // Kazan Medical Journal. – 2016. - Volume 97, No. 1. – pp. 70-77.
10. Patent No. 2789518 Russian Federation, IPC A61K 35/19, A61K 35/16, G01N 33/49. A method for obtaining platelet–enriched plasma from small volumes of blood: No. 2022113042: application 13.05.2022: publ. 06.02.2023 / Stekolnikov A.A., Bokarev A.V., Gorokhov V.E., Minina A.O., Sverdlova M.V., Zakharov A.Yu. - 5 p.
11. Patrono, C. Cardiovascular effects of cyclooxygenase-2 inhibitors: a mechanistic and clinical perspective / Patrono C. // Br J Clin Pharmacol. – 2016. - Oct; 82(4). – P. 957–964.
12. A small amount of cyclooxygenase 2 (COX2) is constitutively expressed in platelets / Hu Q., Cho M.S., Thiagarajan P.T., e.t.c. // Platelets. - 2017 - Jan;28(1). P. 99-102.
13. Abnormal megakaryopoiesis and platelet function in cyclooxygenase-2-deficient mice / Barbieri S.S., Petrucci G., Tarantino E., e.t.c. // Thrombosis and Haemostasis/ - 2015. - Nov 25;114(6). – P. 1218-29.
14. Virtual lack of annexins in human platelets argues against a role in phospholipase A2 regulation and platelet secrecy / Ferrieres J., Simon M.F., Fauvel J., Chap H // J Lipid Mediat Cell Signal. – 1994. - Mar;9(2). pp. 155-65.
15. Ligand-specific glucocorticoid receptor activation in human platelets / Moraes L.A., Paul-Clark M.J., Rickman A., e.t.c. // Blood. – 2005. – Dec; 106(13). – P. 4167-75.

УДК: 617.55-089.881-089.168.1-06:636.2
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.4.558

ПОСЛЕОПЕРАЦИОННЫЕ ОСЛОЖНЕНИЯ ПРИ АБОМАЗОПЕКСИИ У ВЫСОКОПРОДУКТИВНЫХ КОРОВ

Племяшов К.В. – д-р ветеринар. наук, проф., член-кор. РАН, зав. каф. генетических и репродуктивных биотехнологий (ORCID 0000-0002-3658-5886); **Семенов Б.С**.* – д-р ветеринар. наук, проф., проф. каф. общей, частной и оперативной хирургии (ORCID 0000-0003-0149-9360); **Кузнецова Т.Ш**. – канд. биол. наук, доц., доц. каф. генетических и репродуктивных биотехнологий (ORCID 0000-0002-8981-0696); **Хусаинова Г.С**. – студ. 5 курса ФВМ (ORCID 0000-0001-7830-7430); **Крутикова А.А**. – канд. биол. наук, доц. каф. генетических и репродуктивных биотехнологий (ORCID 0000-0003-2561-145x); **Беликова А.О**. – асп. каф. генетических и репродуктивных биотехнологий (ORCID 0009-0006-9173-6129); **Никонова Т.О.** – маг. 1 курса БЭК (ORCID 0009-0000-0776-7851)

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины»

*bsstepana@rambler.ru

Ключевые слова: крупный рогатый скот, смещение сычуга, послеоперационные осложнения.

Key words: *dairy cattle, displaced abomasum, postoperative complications*

Финансирование: *Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (соглашение № 22-16-00143 от 12.05.2022 г).*

Поступила: .10.2024 **Принята к публикации: 02.12.2024**
Опубликована онлайн:16.12.2024

РЕФЕРАТ

Смещение сычуга довольно частая патология, встречающаяся у коров в разные сроки после отёла. По данным отечественных авторов случаи смещения сычуга у коров на молочном комплексе регистрируются у 1,5-7% поголовья. Сведения о послеоперационных осложнениях в отечественной литературе при лечении смещения сычуга у молочных коров очень малочисленны и однотипны. Исследование проводилось в течение 4 лет на 163 коровах с установленным диагнозом левостороннее или правостороннее смещение сычуга, которым была проведена операция по репозиции и фиксации сычуга через разрез в области правой голодной ямки. Работа выполнена в одном из хозяйств Ленинградской области. Племенные животные голштинской породы отечественной селекции содержались беспривязно в условиях молочного комплекса. Общее поголовье дойного стада - 1200 голов. Средняя продуктивность за последние 4 года составила 11250 кг молока на корову в год. Клиническое наблюдение в течение 4-х лет за 163 коровами, прооперированных по причине смещения сычуга, на предмет развития возможных послеоперационных осложнений показало, что за указанный период времени послеоперационные осложнения установлены у 17 коров (10.42% от прооперированных животных). У 8-ми животных гной-

ные воспалительные осложнения диагностированы на 20-45 дни после выполнения операции. У 3-х коров диагностирован абсцесс на 7-10 дни после операции. Гематома установлена у одной коровы на 4 день после проведения операции. Повторное смещение сычуга среди 163-х коров за четыре года наблюдения было диагностировано у четырех животных (2,45%).

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Смещение сычуга – сравнительно часто встречающееся заболевание среди высокопродуктивных коров в молочных хозяйствах промышленного типа. По данным отечественных авторов случаи смещения сычуга у коров на молочном комплексе регистрируются у 1,5-7% поголовья. [5].

Это заболевание чаще проявляется в хозяйствах, которые используют современные технологии содержания высокопродуктивного крупного рогатого скота с хорошим генетическом потенциалом. Смещение сычуга наносит большой экономический ущерб за счет снижения молочной продуктивности, выбытия больных животных и затрат на лечение [1].

Согласно результатам проведенных нами исследований смещение сычуга довольно частая патология, встречающаяся у коров в разные сроки после отёла, при этом частота распространения левостороннего смещения сычуга составляет 92,5%, правостороннего - 7,5 % от всех больных животных. Это не противоречит данным и других исследователей.

Клинически заболевание проявляется преимущественно в первые 10 дней после отела. Пик заболеваемости приходится на зимние месяцы. В условиях современного животноводства для лечения коров при смещении сычуга чаще применяют оперативные способы [4].

Оценка клинических результатов оперативного лечения смещения сычуга путем его абомазопексии указывает на то, что использование метода с подшиванием пилорической части сычуга к боковой брюшной стенке в области операционной раны является эффективным [5].

При лечении смещения сычуга у молочных коров и другие авторы также отдают предпочтение хирургическим методам лечения. Данилкина О.П. утверждает, что наиболее эффективным методом лечения смещения сычуга является прокол, так как эта процедура не сопровождается серьезными осложнениями и ведет к более быстрому восстановлению продуктивности [3].

Некоторые авторы наряду с рекомендацией отдавать предпочтение хирургическим методам лечения, одновременно указывают и на возможность возникновения послеоперационных осложнений [2].

Сведения о послеоперационных осложнениях в отечественной литературе при лечении смещения сычуга у молочных коров очень малочисленны и однотипны. Описаны случаи развития отечностей у двух коров после проведения хирургической репозиции сычуга и диагностирование абсцесса у одного животного [2].

В иностранной литературе авторы отмечают, что послеоперационные осложнения при хирургической фиксации сычуга так же возможны, как и при любой хирургической манипуляции. Они сопровождаются развитием послеоперационной инфекции, формированием абсцессов и расхождением операционных краев ран. Подчеркивается, что эти осложнения очень редкие [8]. Другие авторы, как одно из послеоперационных осложнений при различных оперативных методах лечения смещения сычуга, указывают на воспалительную реакцию со стороны брюшины [9].

На процесс заживления операционной раны при хирургическом лечении смещения сычуга влияет множество различных факторов, таких как возраст животного, сопутствующие заболевания и тип хирургической процедуры. Температура окружающей среды также может повышать риск развития осложнений, но это лишь один параметр многофакторного процесса [7].

Нами проведена сравнительная оценка различных методов лечения левосторон-

него смещения сычуга у молочных коров. При анализе проведенной работы была поставлена **цель** изучить послеоперационные осложнения у коров после абомазопексии и частоту их возникновения.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Работа выполнена в одном из хозяйств Ленинградской области. Племенные животные голштинской породы отечественной селекции содержались беспривязно в условиях молочного комплекса. Общее поголовье дойного стада - 1200 голов. Средняя продуктивность за последние 4 года составила 11250 кг молока на корову в год.

Исследование проводилось в течении 4 лет на 163 коровах с установленным диагнозом левостороннее или правостороннее смещение сычуга, которым была проведена операция по репозиции и фиксации сычуга через разрез в области правой голодной ямки.

Нами отмечено, что клиническая картина при смещении сычуга аналогична симптомам нарушения работы других отделов желудочно-кишечного тракта, однако, помимо всего прочего, характеризуется резким снижением молочной продуктивности, повышением уровня кетоновых тел в крови, а также профузной диареей – что является специфическим признаком смещения сычуга, при отсутствии инфекционных и вирусных заболеваний желудочно-кишечного тракта.

Операцию по репозиции и фиксации сычуга проводили в стоящем положении животного под местной инфильтрационной анестезией с правой стороны в области голодной ямки, отступая от последнего ребра на 5-7 см каудальнее. Операция проводилась путём лапаротомии и заканчивалась наложением кожных швов с использованием шовного материала «Поликон №8» (рис 1). Во время операции животным в брюшную полость вводили раствор гентамицина сульфата 4% 100 мл, а также использовали суспензии «Прималакт» при ушивании слоев мышц, вводя суспензию между всеми слоями по 10 мл и под кожу в области операционной раны - 20 мл. После операции животным назначали курс системных антибиотиков («Амоксисан», «Амоксигард») и ежедневную местную обработку операционной раны в течении 3-5 дней (Алюминиум спрей, Чеми-спрей, Террамицин).

После операции животные содержались в покое на привязи, ежедневно проводился их клинический осмотр, при заметном угнетении животных в период восстановления проводили дополнительные лечебные мероприятия: внутривенное введение растворов Рингера-Локка, глюкозы, кальция в течении 3-5 дней, а также симптоматическую терапию. Клиническая эффективность данной схемы послеоперационного лечения в условиях хозяйства определялась общим состоянием животного и восстановлением продуктивности. Период восстановления продолжался 5-10 дней, а затем животное переводилось в общую секцию с беспривязным содержанием.

Рисунок 1 – Вид операционной раны у коровы сразу после проведения абомазопексии.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Коровы после клинического выздоровления содержались в обычных условиях согласно технологическому периоду для данного животного. За 163 прооперированными по поводу смещения сычуга коровами было установлено в течении 4-х лет клиническое наблюдение. Результаты исследования представлены в таблице 1.

При анализе полученных данных отмечаем, что у 5 животных на 1-2 дни после операции появились выраженные отеки в области операционной раны, которые выходили на 3-7 см за пределы операционного разреза. Возможными причинами возникновения отёка в области операционного поля у коров после фиксации сычуга могут быть нарушения правил асептики и антисептики при проведении операции, чрезмерное повреждение сосудов подкожно-жирового слоя в операционной области.

В ходе нашего исследования отеки у коров после операции встречались в 3,06% случаев. Лечение отека проводится при необходимости, если отек доставляет животному дискомфорт или если отёк не проходит в течение 3 дней. Лечение заключается в использовании местно-раздражающих противовоспалительных мазей (Камфорная мазь, "Мастисепт"), использовании дренажа при необходимости.

Указанные выше причины могут также спровоцировать возникновение других осложнений в области операционной раны: гематомы, абсцесса или гнойного воспаления. Развитие этих осложнений занимает больше времени, чем отёка. Дифференциация типа осложнения заключается в проведении пальпации и пункции, УЗИ.

Гематомы регистрировались у животных после операции значительно реже - менее чем в 0,61 % случаев, в то время как абсцессы встречались у коров после операции чаще: в первые две недели после операции в 1,84% случаев. Возникновение гнойных воспалений в области операционной раны спустя 1-2 месяца после проведения операции встречалось в 4,9% случаев и было связано с несвоевременным удалением шовного материала (длительного срока потери прочности и рассасывания), что является причиной отторжения организмом инородного предмета в области операционной раны - шовного материала, который к этому времени не успевает рассосаться.

При анализе полученных данных отмечаем, что наиболее часто диагностировались гнойные воспаления в области операционной раны.

При диагностировании гематомы использовали следующую схему лечения: в первые 1 – 2 дня для уменьшения кровоизлияния применяли холод, а через 4 – 5 суток при небольших гематомах применяли местно-раздражающие, согревающие мази. Если гематома не рассасывается, ее вскрывали, но не ранее 8 – 10 дня, т.е. после образования демаркационного вала. Осторожно, чтобы не сорвать тромб с сосуда, удаляли кровяные сгустки, проводили санацию полости гематомы хлоргексидином или перекисью водорода, обрабатывали раствором йода. Если гематома осложнилась нагноением, то ее лечили открытым способом, с местным применением антисептиков и общим курсом антибиотикотерапии.

Лечение абсцесса в области операционной раны у коров проводят путем вскрытия полости абсцесса скальпелем, извлечения гнойно-кровяных масс, санации полости при помощи шприца Жане перекисью водорода или хлоргексидином. При необходимости устанавливают дренаж. После промывания полость однократно обрабатывают раствором йода. Дальнейшее лечение заключается в предоставлении животному покоя, назначении системных антибиотиков («Амоксисан», «Амоксигард») и ежедневной обработке раны. Лечение гнойных воспалений в области операционной раны заключается в удалении остатков шовного материала, местной обработке раствором йода и использовании местных антибиотиков в течении 3-7 дней (Чеми-спрей, Террамицин).

За указанный период наблюдения у 4-х коров было диагностировано повторное смещение сычуга (таблица 2).

Диагностика и клинические проявления при повторном смещении сычуга полностью аналогичны клинической картине при смещении сычуга у коров в первый раз. Повторную абомазопексию проводили аналогично, но при проведении операции учитывали расположение предыдущего шва и новый операционный разрез выполняли каудальнее от предыдущего на 3-4 см (рисунок 2). Повторное смещение сычуга может возникнуть как в течение одной лактации, так и в двух лактациях подряд и даже спустя несколько лактаций после первого смещения сычуга (таблица 2).

У коровы № 571732 первое левостороннее смещение сычуга произошло на 3-й день после второго отела, повторное так же левостороннее смещение сычуга диагностировали также на 3-й день после третьего отела.

В исследуемом стаде повторное смещение сычуга регистрировалось редко: за 4 года из 163 коров с предыдущим диагнозом смещение сычуга повторное смещение было установлено у 4 коров, то есть в 2,45% случаев. У двух коров повторное смещение было диагностировано в течении одной лактации, у одной - в двух лактациях подряд, у одной – через две лактации (таблица 2).

Таблица 1 – Частота возникновения осложнений после абомазопексии в исследуемом стаде

Вид осложнения	Количество клинических случаев	Процентное соотношение к общему числу животных после абомазопексии
Отёк в области операционной раны	5	3,06%
Гематома в области операционной раны	1	0,61%
Абсцесс в области операционной раны	3	1,84%
Гнойные воспаления из-за несвоевременного удаления шовного материала	8	4,90%
Повторное смещение сычуга	4	2,45%
Итого:	21	12,86%

Таблица 2 – Коровы с установленным диагнозом повторное смещение сычуга

№ п\п	№ коровы	Дата и номер отёла	Дата диагностики смещения сычуга	Дата и номер следующего отёла	Дата повторного смещения
1	571732	01.06.20 (2й отёл)	04.06.20	30.08.21 (3й отёл)	02.09.21
2	525193	03.08.21 (3й отёл)	12.08.21	-----	05.01.22
3	566443	15.12.21 (3й отёл)	20.12.21	-----	28.08.24 (правостороннее смещение)
4	264958	22.03.23 (2й отёл)	28.03.23	-----	25.02.24

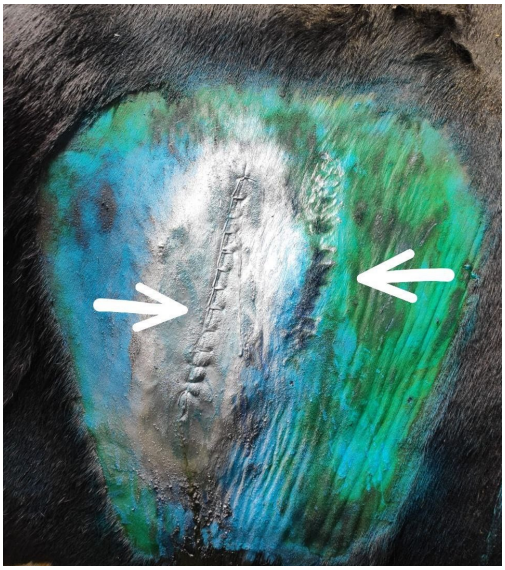


Рисунок 2 – Шов после проведения подшивания сычуга при повторном смещении сычуга. (Слева - новый шов, справа – старый)

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Проведено клиническое наблюдение в течение 4-х лет за 163 коровами, прооперированных по причине смещения сычуга, на предмет развития возможных послеоперационных осложнений. За указанный период времени послеоперационные осложнения установлены у 17 коров (10.42% от прооперированных животных). У 8-ми животных гнойные воспалительные осложнения диагностированы на 20-45 дни после выполнения операции. У 3-х коров диагностирован абсцесс на 7-10 дни после операции. Гематома установлена у одной коровы на 4 день после проведения операции. Повторное смещение сычуга среди 163-х коров за четыре года наблюдения было диагностировано у четырех животных (2,45%).

POSTOPERATIVE COMPLICATIONS IN ABOMAZOPEXY IN HIGHLY PRODUCTIVE COWS

Plemyashov K.V. – Dr. of Vet. Sci., Prof., Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Head of the Department of Genetic and Reproductive Biotechnologies (ORCID 0000-0002-3658-5886); **Semenov B.S.** [*] – Dr. of Vet. Sci., Prof. of the Dep. of General, Special and Operative Surgery (ORCID 0000-0003-0149-9360); **Kuznetsova T.Sh.** – PhD in Biol.Sci. Ass. Prof. of Dep. of Genetic and Reproductive Biotechnology (ORCID 0000-0002-8981-0696); **Khusainova G.S.** – 5th year student of Fac. of Vet. Med. (ORCID 0000-0001-7830-7430); **Krutikova A.A.** - PhD in Biol.Sci. Ass. Prof. of Dep. of Genetic and Reproductive Biotechnology (ORCID 0000-0003-2561-145x); **Belikova A.O.** – postgraduate student (ORCID 0009-0006-9173-6129); **Nikonova T.O.** – 1th year master's student of the Fac. of Biology (ORCID 0009-0000-0776-7851)

St. Petersburg State University of Veterinary Medicine

[*]bsstepana@rambler.ru

Financing: *The research was funded by Russian Science Foundation (grant number 22-16-00143, https://rscf.ru/project/22-16-00143/).*

ABSTRACT

Displaced abomasum in cattle is a fairly common pathology, which occurs at different times after calving cows. According to the domestic authors, displaced abomasum in cattle at the dairy farming occurs in 1.5-7% of the livestock. The domestic literature on treating displaced abomasum in dairy cattle provides limited and homogenous information on post-operative complications. The study was conducted for 4 years on 163 cows with a left-displaced abomasum or right-displaced abomasum that was repositioned and fixed in place with an incision in the right paralumbar fossa. The work took place on one of the farms in the Leningrad region. Native Holsteins of the domestic breed were kept untied in conditions of dairy complex. The total herd size is 1200 cows. Average cow milk production in the last 4 years was 11250 kg per year. During 4 years 163 cows with an operated displaced abomasum were clinically observed for the development of possible postoperative complica-

tions. The observation showed that 17 cows (10.42% of the operated animals) had postoperative complications in this period of time. Eight animals have developed purulent inflammatory complications diagnosed 20-45 days after surgery. Three cows were found to have abscesses within 7-10 days of surgery. Hematoma was discovered in one cow 4 days after surgery. Four animals (2.45%) had a displaced abomasum's reoccurrence among 163 cows in four years of observation.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1.Баранова, П.А. Смещение сычуга у молочных коров / П.А.Баранова, Л.Н.Симонова // В сборнике: Проблемы интенсивного развития животноводства и их решение. Брянский государственный аграрный университет. - 2023. - С. 3-7.

2.Безбородов, П.Н. Особенности возникновения, клинической диагностики и лечения некоторых постоперационных осложнений при хирургической репозиции завалов сычуга по методу Г. Дирксена // Вестник УГСХА. - №2(12) - 2010. - С.47-50

3.Данилкина, О.П. Причины, лечение и профилактика смещения сычуга у коров голштино-фризской породы // Вестник КрасГАУ. - 2021. - № 6. - С. 97–104.

4.Племяшов, К.В. Смещение сычуга у высокопродуктивных молочных коров / К.В. Племяшов, Б.С. Семенов, Т.Ш. Кузнецова, Е.А. Корочкина, В.В. Никитин, Г.С. Хусаинова, А.А. Крутикова // Ветеринария. - 2022.- 11.- С.48-54.

5.Симонов, Ю.И. Условия содержания как этиологический фактор возникновения болезней у молочных коров при промышленном содержании / Ю.И. Симонов, Л.Н. Симонова, И.В. Малявко // Зоотехния. - 2021. - № 4. - С. 23-27.

6.Хусаинова, Г.С. Оперативное лечение коров при смещении сычуга как способ сохранения продуктивности // Г.С. Хусаинова, Т.Ш. Кузнецова, Б.С. Семенов // Вестник АГАУ. - 2021. - №10(204). - С.70 –74

7.Altenbrunner-Martinek B, Thiele T, Tichy A, Wittek T. Wundheilungsstörungen nach abdominal-chirurgischen Eingriffen beim Rind: eine retrospektive Studie [Surgery site healing disorder following laparotomy in cattle: a retrospective study]. Tierarztl Prax Ausg G Grosstiere Nutztiere. 2021 Jun;49 (3):157-166. German. doi: 10.1055/a-1477-7931. Epub 2021 Jun 22. PMID: 34157745.

8.Niehaus AJ. Surgical Management of Abomasal Disease. Vet Clin North Am Food Anim Pract. 2016 Nov;32(3):629-644. doi: 10.1016/j.cvfa.2016.05.006. Epub 2016 Sep 7. PMID: 27614775.

9.Wittek T, Fürll M, Grosche A. Peritoneal inflammatory response to surgical correction of left displaced abomasum using different techniques. Vet Rec. 2012 Dec 8;171 (23):594. doi: 10.1136/vr.101107. Epub 2012 Oct 23. PMID: 23092974.

REFERENCES

1.Baranova, P.A. Displacement of the abomasum in dairy cows / P.A.Baranova, L.N.Simonova // In the collection: Problems of intensive development of animal husbandry and their solution. Bryansk State Agrarian University, 2023, pp. 3-7. (In Russ.)

2.Bezborodov, P.N. Features of the occurrence, clinical diagnosis and treatment of some postoperative complications during surgical reposition of abomasum obstructions using the G. Dirksen method // Vestnik of Ulyanovsk state agricultural academy, 2010, no. 2(12), pp. 47-50 (In Russ.)

3.Danilkina, O.P. Causes, treatment and prevention of abomasum displacement in Holstein-Friesian cows // The Bulletin of KrasSAU, 2021, no. 6, pp. 97–104. (In Russ.)

4.Plemyashov, K.V. Displacement of abomasum in highly productive dairy cows / K.V. Plemyashov, B.S. Semenov, T.Sh. Kuznetsova, E.A. Korochkina, V.V. Nikitin, G.S. Khusainova, A.A. Krutikova // Veterinaria, 2022, no. 11, pp. 48-54. (In Russ.)

5.Simonov, Yu.I. Conditions of keeping as an etiological factor in the occurrence of diseases in dairy cows under industrial keeping / Yu.I. Simonov, L.N. Simonova, I.V. Malyavko // Zootechnics, 2021, no. 4. pp. 23 -27. (In Russ.)

6.Khusainova, G.S. Surgical treatment of

cows with displacement of the abomasum as a way to preserve productivity // G.S. Khusainova, T.Sh. Kuznetsova, B.S. Semenov // Bulletin of ASAU, 2021, no. 10(204), pp. 70 –74 (In Russ.)
7.Altenbrunner-Martinek B, Thiele T, Tichy A, Wittek T. Wundheilungsstörungen nach abdominal-chirurgischen Eingriffen beim Rind: eine retrospektive Studie [Surgery site healing disorder following laparotomy in cattle: a retrospective study]. Tierarztl Prax Ausg G Grosstiere Nutztiere. 2021 Jun;49 (3):157-166. German. doi: 10.1055/a-1477-7931. Epub 2021 Jun 22. PMID: 34157745.
8.Niehaus AJ. Surgical Management of Abomasal Disease. Vet Clin North Am Food Anim Pract. 2016 Nov;32(3):629-644. doi: 10.1016/j.cvfa.2016.05.006. Epub 2016 Sep 7. PMID: 27614775.
9.Wittek T, Fürll M, Grosche A. Peritoneal inflammatory response to surgical correction of left displaced abomasum using different techniques. Vet Rec. 2012 Dec 8;171 (23):594. doi: 10.1136/vr.101107. Epub 2012 Oct 23. PMID: 23092974.

НЕЗАРАЗНЫЕ БОЛЕЗНИ

УДК: 619:616.9:636.088:636.4
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.4.566

ВЛИЯНИЕ ПРИРОДНОГО АДАПТОГЕНА БЕТУЛИНА НА КЛИНИКО-ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ТЕЛЯТ ПЛЕМЕННОГО СТАДА

Гнездилова Л.А. – д-р ветеринар. наук, проф., зав. каф. диагностики болезней, терапии, акушерства и репродукции животных (ORCID 0000-0003-1007-34); **Круглова Ю.С.** – канд. ветеринар. наук, доц. каф. диагностики болезней, терапии, акушерства и репродукции животных (ORCID 0000-0003-2953-0745); **Мурадян Ж.Ю.** – канд. биол. наук, доц. каф. диагностики болезней, терапии, акушерства и репродукции животных (ORCID 0000-0003-2516-7627); **Розинский С.М.** – асс. каф. диагностики болезней, терапии, акушерства и репродукции животных (ORCID: 0009-0001-1937-6919)

ФГБОУ ВО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА им. К.И. Скрябина»

*lag22004@mail.ru

Ключевые слова: *бетулин, племенное хозяйство, исследование крови, гематологические показатели, клинические показатели, пероральное введение, живая масса*

Key words: *betulin, breeding farm, blood test, hematological parameters, clinical parameters, oral administration, live weight*

Благодарности. *Экспериментальные работы проводили в рамках гранта РНФ «Природные адаптогены для восстановления воспроизводительной функции у крупного рогатого скота при микотоксикозах (соглашение № 23-26-00150).*

Поступила: 11.11.2024 **Принята к публикации: 02.12.2024**
Опубликована онлайн:16.12.2024

РЕФЕРАТ

Иммуностимулирующая активность бетулина проявляется в способности индуцировать выработку эндогенного интерферона в организме, а также повышать клеточный и гуморальный иммунитет, усиливать активность некоторых иммунокомпетентных клеток, в частности активизируя все показатели фагоцитоза (способность фагоцитов разрушать вирусы и бактериальные клетки). Цель исследования – изучить влияние бетулина на клинический статус и гематологические показатели племенных телят. Исследования проводили в молочных комплексах племенного хозяйства СХП Колхоз «Сознательный», Зубцовского района Тверской области, на базе кафедры диагностики болезней, терапии, акушерства и репродукции животных и лечебно-диагностического центра ФГБОУ ВО МГАВМиБ – МВА имени К.И. Скрябина (далее – ПХ). Бетулин дава-

ли каждому животному группы перорально в дозе 10 мг/кг веса с водой индивидуально 1 раз в день в течение 14 дней. Для оценки влияния бетулина на организм опытных животных, а также для исключения сопутствующих заболеваний в начале и в конце эксперимента проводили клиническое исследование всех опытных животных, гематологический анализ. Для проведения клинических исследований крови использовали автоматический гематологический анализатор Abacus Junior Vet (Австрия). Производили подсчеты числа эритроцитов, лейкоцитов, тромбоцитов, лимфоцитов, базофилов, моноцитов, эозинофилов, сегментоядерных нейтрофилов, а также определение уровня гемоглобина, цветового показателя, показателя анизоцитоза, гематокритной величины. Результаты влияния бетулина на гематологические показатели племенных пятимесячных телят показали, что препарат вызывает достоверное увеличение количества лимфоцитов периферической крови ($p \leq 0,01$), ликвидирует явление нейтрофильного лейкоцитоза, снижая количество нейтрофилов ($p \leq 0,05$) и общее количество лейкоцитов ($p \leq 0,01$) до физиологической нормы. Таким образом, можно предположить, что препарат «Бетулин» стимулирует активное размножение лимфоцитов, усиливает фагоцитоз, что приводит к купированию воспалительного процесса и снижению количества нейтрофилов.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Продуктивность и высокие показатели воспроизводительной способности коров напрямую зависят от производственных стрессов. Условия, которые создают дополнительный стресс для животных, например, неправильно сбалансированный рацион, инфекционные и инвазионные болезни или акушерско-гинекологические заболевания, усугубляют ситуацию [1,2]. При анализе качества корма необходимо обращать внимание на естественные загрязнители, в т. ч. микотоксины, которые продолжают оказывать серьезное воздействие на здоровье животных [3,4].

Интересен положительный опыт применения растительных тритерпеноидов в ветеринарной практике в качестве иммуностимуляторов при различных патологических состояниях у животных разных видов. Весьма перспективными объектами для разработки новых лекарственных препаратов, в том числе и ветеринарных, являются лупановые тритерпеноиды, а именно бетулоновая и бетулиновая кислоты [5, 6].

В области ветеринарной медицины активно развивается новое направление решения проблемы инфекционных болезней – создание и применение экологически чистых препаратов растительного происхождения, способных оказывать бактерицидное, бактерио-статическое, вирулицидное и иммуномодулирующее действие на больной организм [7, 8]. Для практикующего ветеринарного врача важно иметь в арсенале лекарственные средства с хорошей терапевтической активностью, обладающих политропным действием и невысокой себестоимостью [9]. Это позволит при применении одного препарата оказывать разностороннее влияние на возбудителей болезни, стадии развития патологического процесса, а также стимулировать процессы выздоровления. К средствам, подавляющим отдельные звенья патологии, добавляются лекарственные вещества, стимулирующие защитные силы организма [10].

Бетулин – это природный пентациклический тритерпеноид лупанового ряда. Он содержится в большом количестве растений (орешник, календула, солодка и пр.), но в промышленных масштабах его получают экстракцией из бересты – наружного слоя коры березы белой (betula alba), повислой (betula pendula) [11]. В свободном виде вещество не встречается. Многочисленными исследованиями, проведенными более чем в 40 зарубежных и российских научно-исследовательских центрах, продемонстрирована эффективность использования тритерпеновых соединений в качестве прямых регуляторов активности ферментативных систем организма [12, 13].

Иммуностимулирующая активность

бетулина проявляется в способности индуцировать выработку эндогенного интерферона в организме, а также повышать клеточный и гуморальный иммунитет, усиливать активность некоторых иммунокомпетентных клеток, в частности активизируя все показатели фагоцитоза (способность фагоцитов разрушать вирусы и бактериальные клетки) [14, 15].

Цель исследования – изучить влияние бетулина на клинический статус и гематологические показатели племенных телят.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Исследования проводили в молочных комплексах племенного хозяйства СХП Колхоз «Сознательный», Зубцовского района Тверской области, на базе кафедры диагностики болезней, терапии, акушерства и репродукции животных и лечебно-диагностического центра МГАВМиБ имени К.И. Скрябина (далее – ПХ).

Для изучения действия бетулина на клинико-гематологические показатели сыворотки крови было сформировано:

- 2 группы телят сычевской породы (опытная и контрольная), по 10 голов в каждой, возраст – 5 месяцев, живой массой 150-165 кг;

У опытных животных проводились все плановые диагностические мероприятия (хозяйство благополучно по лейкозу, туберкулезу, бруцеллезу).

Бетулин давали каждому животному группы перорально в дозе 10 мг/кг веса с водой индивидуально 1 раз в день в течение 14 дней.

В начале исследования, а также ежедневно на протяжении 14 суток оценивали клиническое состояние животных: температуру, пульс, дыхание, поведенческие реакции, аппетит, акт дефекации и диурез, двигательную активность, состояние кожных покровов, у коров дополнительно оценивали состояние репродуктивной системы (характер выделений, тонус матки и пр.), наличие побочных явлений и осложнений.

Для оценки влияния бетулина на организм опытных животных, а также для исключения сопутствующих заболеваний в начале и в конце эксперимента проводили клиническое исследование всех опытных животных, гематологический анализ.

Рисунок 1 – Подготовка бетулина к применению на телятах.

Рисунок 2 – Взятие крови у опытных и контрольных групп животных.

Для проведения исследования крови использовали автоматический гематологический анализатор Abacus Junior Vet (Австрия). Производили подсчеты числа эритроцитов, лейкоцитов, тромбоцитов, лимфоцитов, базофилов, моноцитов, эозинофилов, сегментоядерных нейтрофилов, а также определение уровня гемоглобина, цветового показателя, показателя анизоцитоза, гематокритной величины.

Статистическая обработка полученных результатов. Обработка экспериментальных данных выполнена с использованием методов биометрии (Лакин Г.Ф.,

1990; Макарова Н.В., Трофимец В.Я., 2002) и компьютерной программы Microsoft Office Excel пакета «Анализ данных». Достоверность разницы показателей между группами животных приводилась с использованием обозначений: знака * – отношение показателей I-ой, II-ой групп и III-ей групп к контрольной группе. Обозначения достоверности разницы при разных уровнях вероятности: * – P < 0,05; ** – P < 0,01; *** – P < 0,001.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

*Клинические показатели.*В период проведения эксперимента у животных опытных групп не отмечено достоверных изменений показателей температуры тела, частоты пульса и количества дыхательных движений. Не было выявлено общей реакции организма на введение препарата. Не отмечалось изменения поведенческих реакций, понижения аппетита, расстройства дефекации и диуреза, а также снижения удоев.

*Показатели температуры, пульса и дыхания.*Результаты клинического исследования (температура, пульс и дыхание) у животных экспериментальных групп до и после применения Бетулина представлены в таблице 1.

Анализируя полученные данные, можно сделать заключение, что показатели температуры, пульса и дыхания у опытных животных оставались в пределах физиологической нормы в период проведения эксперимента и не имели статистически значимых различий.

Гематологические показатели. Результаты гематологического исследования у животных опытной группы до и после применения добавки Бетулина представлены в таблице 2.

Таблица 1 – Показатели температуры, пульса и дыхания у телят до и через 14 дней после перорального применения бетулина

n/n	Температура		Пульс		Дыхание	
	До	После	До	После	До	После
	Телята 5 месяцев					
1	38,2	38,4	78	68	26	24
2	37,6	38,3	71	76	28	28
3	38,4	38,9	69	74	27	25
4	38,5	39,0	72	73	24	25
5	37,8	37,8	76	67	25	25
6	38,2	37,6	74	79	20	24
7	39,0	38,5	66	71	28	24
8	39,0	38,3	65	69	24	24
9	38,4	38,7	75	68	22	25
10	38,6	37,8	80	66	20	25
M±m	38,37±0,45	38,33±0,47	72,6±4,9	71,1±4,28	24,4±2,98	24,9±1,2
Норма	38,5-39,5^{O}C		70-100 уд/мин		25-45 д.дв/мин	

Таблица 2 – Результаты гематологического исследования до и после применения бетулина перорально в дозе 10 мг/кг веса внутрь с водой индивидуально 1 раз в день в течение 14 дней

n/n	Гемоглобин г/л	Эритроциты $x10^{12}$/л	Гематокритная величина %	Лейкоциты $x10^9$/л	Тромбоциты $x10^9$/л	Эозинофилы %	Эозинофилы $x10^9$/л	Базофилы %/	Палочкоядерные нейтрофилы %	Палочкоядерные нейтрофилы $x10^9$/л	Сегментоядерные нейтрофилы %	Сегментоядерные нейтрофилы $x10^9$/л	Моноциты %	Моноциты $x10^9$/л	Лимфоциты %	Лимфоциты $x10^9$/л
	До/После	До/После	До/После	До/После	До/После	До/После	До/После	До/После	До/После	До/После	До/После	До/После	До/После	До/После	До/После	До/После
Телята в возрасте 5 месяцев, n=10. Опыт. До и спустя 14 дней после перорального введения бетулина																
1	117/96	7,21/6,2	31,1/27,6	11,5/9,6	316/584	6/0	0,69/0	0/1	0/0-	-	22/25	2,53/2,4	9/8	1,04/0,77	63/66	7,25/6,34
2	116/103	7,38/6,87	32,7/28,6	10,8/10,6	244/315	2/2	0,21/0,21		2/2	0,21/0,21	24/12	2,59/1,27	4/3	0,43/0,31	68/81	7,34/8,58
3	110/106	9,88/6,56	30,2/29,6	15,1/10,3	250/320	2/8	0,3/0,82		10/2	1,51/0,2	48/12	7,24/1,23	9/3	1,35/0,3	31/75	4,68/7,72
4	102/98	6,43/6,16	30,3/29,3	12,1/9,5	348/268	5/4	0,6/0,38		1/2	0,12/0,19	31/17	3,75/1,61	3/1	0,36/0,095	60/76	7,26/7,22
5	106/98	7,97/7,11	29,4/28,4	10,4/10,6	355/260	3/1	0,3/0,1	0/2	2/2	0,2/0,2	29/19	3,01/2,01	3/4	0,3/0,42	63/72	6,55/7,63
6	104/102	7,22/6,91	31,2/29,9	9,2/9,3	498/230	2/4	0,18/0,37		0/0		25/15	2,3/1,39	5/6	0,46/0,55	68/75	3,25/6,97
7	98/94	6,84/6,85	27,8/27,9	11,5/10,2	360/410	5/3	0,57/0,3		0/0		34/21	3,91/2,14	6/2	0,69/0,2	55/74	6,32/7,54
8	110/104	6,88/6,66	27,6/27,5	16,2/9,5	270/205	1/7	0,16/0,66		7/1	1,13/0,09	52/20	8,42/1,9	10/2	1,62/0,19	30/70	4,86/6,65
9	115/98	7,45/6,99	31,1/32,6	9,1/10,1	430/130	6/2	0,72/0,2		3/3	0,36/0,3	28/14	3,38/1,41	3/3	0,36/0,3	58/78	5,26/7,87
10	100/96	7,25/6,2	27,5/27,6	9,2/7,6	620/480	6/1	0,73/0,07		3/0	0,36/	42/17	5,12/1,29	7/2	0,85/0,15	34/80	3,12/6,08
M±m	107,8±6,8*/99,5±3,9* P≤0,05	7,4±0,9*/6,6±0,3* P≤0,01	29,9±1,7/28,9±1,5	11,5±2,4*/9,7±0,8* P≤0,01	369±118/320±136	3,8±1,98/3,2±2,6	0,44±0,23/0,31±0,26		2,8±3,2/1,2±1,1	0,4±0,5/0,2±0,14	33,5±10*/17,2±4* P≤0,05	4,2±2,1*/1,6±0,4* P≤0,05	5,9±2,7*/3,4±2,1* P≤0,01	0,64±0,3*/0,32±0,2* P≤0,05	53±15*/74,7±4,5* P≤0,05	5,6±1,6*/7,26±0,76* P≤0,01

Телята в возрасте 5 месяцев, n=10. Контрольная группа															
1	110/98	7,14/5,64	30,1/30,5	9,6/9,8	360/280	0/1	0/0,09/		0/1	0/0,09	36/35	3,45/3,43	4/5	0,38/0,49	60/58	5,76/5,68
2	108/88	6,75/5,12	30,3/38,4	9,3/9,6	456/426	0/0		0/1	0/2	0/0,19	39/29	3,62/2,78	4/6	0,37/0,57	57/62	5,3/5,95
3	116/102	7,45/5,32	31,2/30,6	7,6/8,6	383/298	2/1	0,15/0,08		3/0	0,22/0	28/35	2,12/3,01	1/2	0,07/0,17	66/62	5,01/5,33
4	96/94	6,15/6,22	27,4/37,3	15,2/15,4	284/188	5/1	0,76/0,15		11/12	1,67/1,84	29/32	4,4/4,92	8/9	1,21/1,38	47/46	7,14/7,08
5	100/96	6,89/6,77	29,4/29,1	8,2/11,3	368/250	8/7	0,65/0,79		0/2	0/0,22	22/37	1,8/4,18	2/4	0,16/0,45	68/50	5,57/5,65
6	100/90	7,25/6,13	27,9/31,3	7,8/9,4	322/402	1/0	0,07/0		0/0		36/43	2,8/4,04	3/2	0,23/0,18	60/55	4,68/5,17
7	112/94	7,25/5,78	31,2/30,2	12,6/11,6	315/289	2/2	0,25/0,23		5/6	0,63/0,69	34/28	4,28/3,24	7/8	0,88/0,92	52/56	6,55/6,49
8	114/98	7,85/6,71	31,2/27,8	7,9/7,8	295/350	2/0	0,15/		2/0	0,15/	27/33	2,16/2,57	2/1	0,15/0,07	67/66	5,29/5,14
9	100/92	6,59/6,75	28,2/27,8	8,9/9,1	262/300	0/1	0/0,09		0/0		35/34	3,11/3,09	4/2	0,35/0,18	61/63	5,42/5,73
10	106/100	7,22/7,23	29,5/28,5	9,8/8,9	219/405	5/4	0,49/0,35		1/0	0,09/0	27/25	2,64/2,22	4/7	0,39/0,62	63/64	6,17/5,69
M±m	106,2±6,8*/95,2±4,4* P≤0,05 Различия с опытной группой в конце P≤0,05	7,0±0,4*/6,1±0,7* P≤0,05	29,6±1,4/31,5±3,7	9,69±2,4/10,1±2,1	326,4±68/318,8±76	2,5±2,6/1,7±2,2	0,25±0,28/0,18±0,24		2,2±3,5/2,3±3,8	0,25±0,5/0,3±0,5	31,3±5/33,1±5* Различия с опытной группой P≤0,05	3,0±0,9/3,3±0,8	3,9±2,1/4,6±2,8	0,42±0,35/0,5±0,4	60,1±6,6/58,2±6,4* Различия с опытной группой P≤0,05	5,68±0,74/5,79±0,6* Различия с опытной группой P≤0,05

Таблица 3 – Сравнительная оценка гематологических показателей опытной и контрольной групп телят до и после применения бетулина

Показатели	Норма	Опытная группа n=10		Контрольная группа n=10	
Показатели	Норма	До M±m	После M±m	До M±m	После M±m
Гемоглобин г/л	90-120	107,8±6,8*	99,5±3,9* P≤0,05	106,2±6,8*	95,2±4,4* P≤0,05 Различия с опытной группой в конце P≤0,05
Эритроциты $x10^{12}$/л	5-7,5	7,4±0,9*	6,6±0,3* P≤0,01	7,0±0,4*	6,1±0,7* P≤0,05
Лейкоциты $x10^9$/л	4,5-12,0	11,5±2,4*	9,7±0,8* P≤0,01	9,69±2,4	10,1±2,1
Сегментоядерные Нейтрофилы (%)	20-35	33,5±10*	17,2±4* P≤0,05	31,3±5	33,1±5* Различия с опытной группой P≤0,05
$x10^9$/л		4,2±2,1*	1,6±0,4* P≤0,05	3,0±0,9	3,3±0,8
Моноциты (%)	2-7	5,9±2,7*	3,4±2,1* P≤0,01	3,9±2,1	4,6±2,8
$x10^9$/л		0,64±0,3*	0,32±0,2* P≤0,05	0,42±0,35	0,5±0,4
Лимфоциты (%)	40-75	53±15*	74,7±4,5* P≤0,05	60,1±6,6	58,2±6,4* Различия с опытной группой P≤0,05
$x10^9$/л		5,6±1,6*	7,26±0,76* P≤0,01	5,68±0,74	5,79±0,6* Различия с опытной группой P≤0,05

*Примечание: * - различия достоверны при p≤0,05 и p≤0,01.*

Анализируя полученные данные, можно сделать заключение, что в начале эксперимента у некоторых животных как опытной, так и контрольной групп наблюдали повышенное содержание лейкоцитов. При более детальном изучении лейкограммы животных обеих групп были отмечены нейтрофильный лейкоцитоз, моноцитоз и лимфопения. К 14-му дню опыта у животных опытной группы (после применения бетулина) наблюдали снижение количества лейкоцитов в пределах физиологической нормы на 1,8x10^9/л (p≤0,01) с 11,5±2,4 до 9,7±0,8x10^9/л. Это снижение произошло за счет уменьшения и абсолютного (на 2,6 x10^9/л) и относительного (на 16,3%) количества нейтрофилов, различия достоверны (p≤0,05), снижения абсолютного (на 0,32 x10^9/л) (p≤0,05) и относительного (на 2,5%) (p≤0,01) количества моноцитов. При этом, как абсолютное, так и относительное количество лимфоцитов у животных опытной группы повысилось к концу опыта в среднем на 1,66x10^9/л (p≤0,01) или 21,7% (p≤0,05), соответственно, и составило в

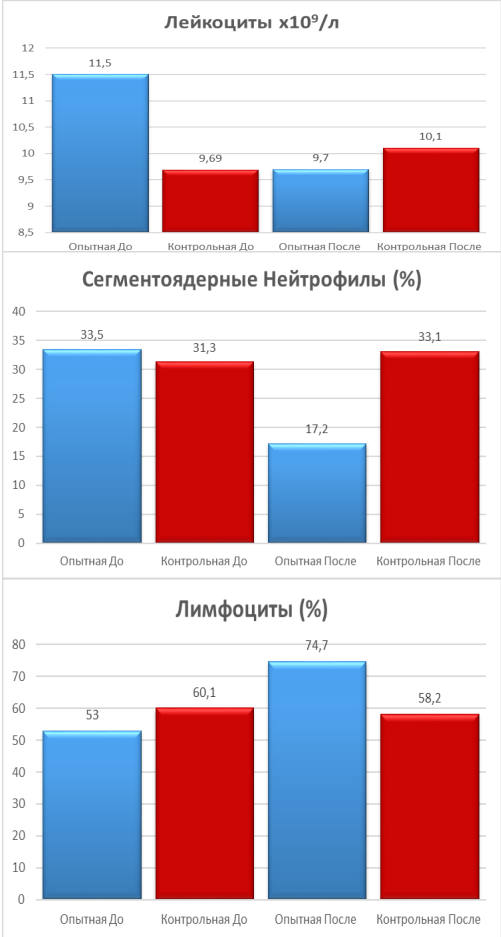


Рисунок 1 – Влияние бетулина на белые клетки крови.

среднем 7,26±0,76 x10^9/л по сравнению с 5,6±1,6 x10^9/л в начале опыта и 74,7% ±4,5 по сравнению с 53%±15 в начале опыта.

При сравнении вышеописанных показателей между контрольной и опытной группами заметных различий в начале опыта не выявили. В конце опыта у животных контрольной группы не отмечали значимых изменений количества лейкоцитов и показателей лейкограммы по сравнению с началом эксперимента. Зато при сравнении с опытной группой отмечали достоверные различия по количеству нейтрофилов и лимфоцитов. Так, к концу эксперимента, количество сегментоядерных нейтрофилов в контрольной группе было на 15,9% выше, чем в опытной и составило 33,1%±5 по сравнению с 17,2%±4 ($p \leq 0,05$) в опыте. Количество же лимфоцитов к концу эксперимента, напротив, в контрольной группе было на 16,5% ниже, чем в опытной группе ($p \leq 0,05$) и составило 58,2%±6,4 по сравнению с 74,7%±4,5 опытной группы. Абсолютные значения лимфоцитов к концу опыта также имели достоверное различие и составили в контроле 5,79±0,6 x10^9/л по сравнению с 7,26±0,76 x10^9/л опытной группы ($p \leq 0,05$).

Анализ количества гемоглобина и эритроцитов показал достоверные различия в начале и в конце эксперимента как в опытной, так и в контрольной группах. В начале опыта отмечали более высокие показатели гемоглобина и эритроцитов. Количество гемоглобина в опытной и контрольной группах составило в среднем 107,8±6,8 и 106,2±6,8 г/л соответственно (различия между группами недостоверны). К концу опыта количество гемоглобина в опытных группах составило в среднем 99,5±3,9 и 95,2±4,4г/л. И в опытной, и в контрольной группах наблюдали снижение показателя. Но в опытной группе количество гемоглобина в конце эксперимента было выше, чем в контроле на 4,2 г/л (различия достоверны $p \leq 0,05$).

При анализе количества эритроцитов периферической крови наблюдали схожие изменения: в начале эксперимента показатель был выше как в опытной, так и в контрольной группах. В конце эксперимента количество эритроцитов понизилось в обеих группах. Но различия между опытом и контролем были недостоверны.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Таким образом, результаты влияния бетулина на гематологические показатели племенных пятимесячных телят показали, что препарат вызывает достоверное увеличение количества лимфоцитов периферической крови ($p \leq 0,01$), ликвидирует явление нейтрофильного лейкоцитоза, снижая количество нейтрофилов ($p \leq 0,05$)

и общее количество лейкоцитов (p≤0,01) до физиологической нормы. Таким образом можно предположить, что препарат «Бетулин» стимулирует активное размножение лимфоцитов, усиливает фагоцитоз, что приводит к купированию воспалительного процесса и снижению количества нейтрофилов.

Снижение количества эритроцитов и гемоглобина к концу опыта в обеих экспериментальных группах связано, по-видимому, с погодными факторами. Поскольку в первый день опыта была сильная жара, которая могла привести к полицитемии. А в последний день опыта, напротив, было прохладно.

THE INFLUENCE OF THE NATURAL ADAPTOGEN BETULIN ON THE CLINICAL AND HEMATOLOGICAL PARAMETERS OF CALVES OF THE BREEDING HERD

Gnezdilova L.A. – Doctor of Veterinary Sciences, Professor, Head of the Department of Disease Diagnostics, Therapy, Obstetrics and Reproduction of Animals (ORCID: 0000 -0003-1007-34); **Kruglova Yu.S.** – Candidate of Veterinary Sciences, Associate Professor of the Department of Disease Diagnostics, Therapy, Obstetrics and Reproduction of Animals (ORCID: 0000-0003-2953-0745); **Muradyan Zh.Yu.** – Candidate of Biological Sciences, Associate Professor of the Department of Disease Diagnostics, Therapy, Obstetrics and Reproduction of Animals (ORCID: 0000-0003-2516-7627); **Rozinsky S.M.** – Assistant of the Department of Disease Diagnostics, Therapy, Obstetrics and Reproduction of Animals, ORCID: 0009-0001-1937-6919.

Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology — MBA named by K.I. Scriabin,

**lag22004@mail.ru*

Experimental work was carried out within the framework of the Russian Science Foundation grant “Natural adaptogens for restoring reproductive function in cattle with mycotoxicosis (agreement No. 23-26-00150).

ABSTRACT

The immunostimulating activity of betulin is manifested in the ability to induce the production of endogenous interferon in the body, as well as to increase cellular and humoral immunity, enhance the activity of some immunocompetent cells, in particular activating all indicators of phagocytosis (the ability of phagocytes to destroy viruses and bacterial cells). The purpose of the study is to study the effect of betulin on the clinical status and hematological indicators of breeding calves. The studies were conducted in the dairy complexes of the breeding farm of the Agricultural Enterprise Kolkhoz "Soznatelny", Zubtsovsky District, Tver Region, on the basis of the Department of Disease Diagnostics, Therapy, Obstetrics and Reproduction of Animals and the Treatment and Diagnostic Center of the Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology - Moscow State Academy of Veterinary Medicine named after K.I. Skryabin (hereinafter referred to as the PH). Betulin was given to each animal of the group orally at a dose of 10 mg / kg of weight with water individually 1 time per day for 14 days. To assess the effect of betulin on the body of experimental animals, as well as to exclude concomitant diseases, a clinical study of all experimental animals and a hematological analysis were conducted at the beginning and end of the experiment. An automatic hematological analyzer Abacus Junior Vet (Austria) was used to conduct clinical blood tests. The number of erythrocytes, leukocytes, platelets, lymphocytes, basophils, monocytes, eosinophils, segmented neutrophils was calculated, as well as the hemoglobin level, color index, anisocytosis index, and hematocrit value were determined. The results of the effect of betulin on hematological indices of five-month-old breeding calves showed that the preparation causes a reliable increase in the number of peripheral blood lymphocytes (p≤0.01), eliminates the phe-

nomenon of neutrophilic leukocytosis, reducing the number of neutrophils ($p \leq 0.05$) and the total number of leukocytes ($p \leq 0.01$) to the physiological norm. Thus, it can be assumed that the drug "Betulin" stimulates active reproduction of lymphocytes, enhances phagocytosis, which leads to the relief of the inflammatory process and a decrease in the number of neutrophils.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1.Гнездилова Л.А., Федотов С.В., Мурадян Ж.Ю., Розинский С.М. Влияние микотоксинов на репродуктивные и производственные показатели лактирующих коров в условиях интенсивного производства // Ветеринария, зоотехния и биотехнология. 2023. № 4. С. 70—80. doi: 10.36871/vet.zoo.bio.202304007. https://www.elibrary.ru/item.asp?id=53951236

2.Гнездилова Л.А., Федотов С.В., Мурадян Ж.Ю., Розинский С.М. Влияние микотоксинов на качественные показатели молока у коров в условиях крупного животноводчесого комплекса // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Агрономия и животноводство. 2024. Т. 19. № 1. С. 30-38. https://www.elibrary.ru/item.asp?id=65673107

3.Гнездилова Л.А., Федотов С.В., Мурадян Ж.Ю., Розинский С.М. Влияние микотоксинов на гемостаз коров в условиях интенсивного животноводства // Вестник КрасГАУ. 2024. № 4 (205). С. 78-87. https://www.elibrary.ru/item.asp?id=69025305

4. Косолапова В.Г., Халифа М.М., Ишмуратов Х.Г. Влияние микотоксинов на здоровье и продуктивность молочного скота // Кормопроизводство. 2021. № 9. С. 38—46. https://www.elibrary.ru/item.asp?id=47469127

5.Мурадян Ж.Ю., Рогов Р.В., Круглова Ю.С.
Влияние пробиотического препарата «Муцинол-Экстра» на гематологические показатели крови молодняка крупного рогатого скота // Аграрная наука. 2021. № 5. С. 11-13. https://www.elibrary.ru/item.asp?id=46413472

6.Попова С.А., Скопцова Т.И., Лосякова Е.В. Микотоксины в кормах: причины, последствия, профилактика // Известия Великолукской ГСХА. 2017. № 1. С. 16—23. https://www.elibrary.ru/item.asp?id=29095353

7.Солдатенко Н.А., Дробин Ю.Д., Бокун Е.А., Алиев А.Ю. Наличие микотоксинов в органах молодняка животных и птиц при скармливании кормов, загрязненных микотоксинами // Российский журнал Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии. 2020. № 4(36). С. 439—442.

8.Kemboi D.C., Antonissen G., Ochieng P.E., Croubels S., Okoth S., Kangethe E.K., Faas J., Lindahl J.F., Gathumbi J.K. A review of the impact of mycotoxins on dairy cattle health: Challenges for food safety and dairy production in sub-Saharan Africa // Toxins. 2020. Vol. 12. № 4. P. 222. doi: 10.3390/toxins12040222. https://www.elibrary.ru/item.asp?id=43572028

9.Makau C.M., Matofari J.W., Muliro P.S., Bebe B.O. Aflatoxin B 1 and Deoxynivalenol contamination of dairy feeds and presence of Aflatoxin M 1 contamination in milk from smallholder dairy systems in Nakuru, Kenya // International journal of food contamination. 2016. No. 3 (1). P. 1–10. doi: 10.1186/s40550-016-0033-7. https://www.elibrary.ru/item.asp?id=51931704

10.Sulzberger S.A., Melnichenko S., Cardoso F.C. Effects of clay after an aflatoxin challenge on aflatoxin clearance, milk production, and metabolism of Holstein cows // Journal of dairy science. 2017. Vol. 100. № 3. P. 1856—1869. doi: 10.3168/jds.2016-11612. https://www.elibrary.ru/item.asp?id=29682815

11.Valgaeren B., Théron L., Croubels S., Devreese M., De Baere S., Van Pamel E., Daeseleire E., De Boevre M., De Saeger S., Vidal A., Di Mavungu J.D., Fruhmann P., Adam G., Callebaut A., Bayrou C., Frisée V., Rao A.S., Knapp E., Sartelet A., Pardon B., Deprez P., Antonissen G. The role of roughage provision on the absorption and disposition of the mycotoxin deoxynivalenol and its acetylated derivatives in calves: From field observations to toxicokinetics // Archives of toxicology. 2019. Vol. 93. P.

293—310. https://www.elibrary.ru/item.asp?id=53401264
12.Zhang F., Liu L., Ni S., Deng J., Liu G.-J., Middleton R., Inglis D.W., Wang S., Liu G. Turn-on Fluorescence Aptasensor on Magnetic Nanobeads for Aflatoxin M1 Detection Based on an Exonuclease III-Assisted Signal Amplification Strategy // Nanomaterials. 2019. Vol. 9. № 1. P. 104. doi: 10.3390/nano9010104. https://www.elibrary.ru/item.asp?id=38855557
13.Gao Y., Li S., Wang J., Luo C., Zhao S., Zheng N. Modulation of Intestinal Epithelial Permeability in Differentiated Caco-2 Cells Exposed to Aflatoxin M1 and Ochratoxin a Individually or Collectively // Toxins. 2018. Vol. 10. № 1. P. 13. doi: 10.3390/toxins10010013 https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29280945/
14.Ahn J.Y., Kim J., Cheong D.H., Hong H., Jeong J.Y., Kim B.G. An In Vitro Study on the Efficacy of Mycotoxin Sequestering Agents for Aflatoxin B1, Deoxynivalenol, and Zearalenone // Animals. 2022. Vol. 12. № 3. P. 333. doi: 10.3390/ani12030333. https://www.elibrary.ru/item.asp?id=57689799
15.Xiong J.L., Wang Y.M., Nennich T.D., Li Y., Liu J.X. Transfer of dietary aflatoxin B1 to milk aflatoxin M1 and effect of inclusion of adsorbent in the diet of dairy cows // Journal of Dairy Science. 2015. Vol. 98. № 4. P. 2545—2554. doi: 10.3168/jds.2013-7842. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25648809/

REFERENCES

1. Gnezdilova L.A., Fedotov S.V., Muradyan Zh.Yu., Rozinsky S.M. The influence of mycotoxins on the reproductive and production performance of lactating cows under intensive production conditions. - Veterinary, animal science and biotechnology. – 2023. - No. 4. – P. 70-80. https://www.elibrary.ru/item.asp?id=53951236
2. Gnezdilova L.A., Fedotov S.V., Muradyan Zh.Yu., Rozinsky S.M. The influence of mycotoxins on the quality indicators of milk in cows in a large livestock complex // Bulletin of Peoples' Friendship University of Russia. Series: Agronomy and Animal Husbandry. 2024. Vol. 19. No. 1. P. 30-38. https://www.elibrary.ru/item.asp?id=65673107
3. Gnezdilova L.A., Fedotov S.V., Muradyan Zh.Yu., Rozinsky S.M. The influence of mycotoxins on the hemostasis of cows in intensive livestock farming // Bulletin of KrasSAU. 2024. No. 4 (205). P. 78-87. https://www.elibrary.ru/item.asp?id=69025305
4. Kosolapova V.G., Khalifa M.M., Ishmuratov H.G. The influence of mycotoxins on the health and productivity of dairy cattle // Feed production. 2021. No. 9. pp. 38-46. https://www.elibrary.ru/item.asp?id=47469127
5. Muradyan Zh.Yu., Rogov R.V., Kruglova Yu.S. The influence of the probiotic drug "Mucinol-Extra" on hematological parameters of the blood of young cattle // Agrarian science. 2021. No. 5. P. 11-13. https://www.elibrary.ru/item.asp?id=46413472
6. Popova, S. A. Mycotoxins in feed: causes, consequences, prevention / S. A. Popova, T. I. Skoptsova, E. V. Losyakova // News of Velikolukskaya State Agricultural Academy. — 2017. — No. 1. — pp. 16–23. https://www.elibrary.ru/item.asp?id=29095353
7. Soldatenko N.A., Drobin Yu.D., Bokun E.A., Aliev A.Yu. The presence of mycotoxins in the organs of young animals and birds when feeding feed contaminated with mycotoxins // Russian Journal of Problems of Veterinary Sanitation, Hygiene and Ecology. 2020. No. 4 (36). P. 439-442. doi: 10.36871/vet.san.hyg.ecol.202004005 https://www.elibrary.ru/item.asp?id=44477065
8. Kemboi D.C., Antonissen G., Ochieng P.E., Croubels S., Okoth S., Kangethe E.K., Faas J., Lindahl J.F., Gathumbi J.K. A review of the impact of mycotoxins on dairy cattle health: Challenges for food safety and dairy production in sub-Saharan Africa // Toxins. 2020. Vol. 12. № 4. P. 222. doi: 10.3390/toxins12040222 https://www.elibrary.ru/item.asp?id=43572028
9. Makau C.M., Matofari J.W., Muliro P.S., Bebe B.O. Aflatoxin B 1 and Deoxynivalenol contamination of dairy feeds and presence of Aflatoxin M 1 contamination in milk from smallholder dairy systems in Nakuru,

Kenya // International journal of food contamination. 2016. No. 3 (1). P. 1–10. doi: 10.1186/s40550-016-0033-7 https://www.elibrary.ru/item.asp?id=51931704
10. Sulzberger S. A. Effects of clay after an aflatoxin challenge on aflatoxin clearance, milk production, and metabolism of Holstein cows / S. A. Sulzberger, S. Melnichenko, F. C. Cardoso // Journal of dairy science. — 2017. — No. 100 (3). — P.1856–1869. https://www.elibrary.ru/item.asp?id=29682815
11. The role of roughage provision on the absorption and disposition of the mycotoxin deoxynivalenol and its acetylated derivatives in calves: From field observations to toxicokinetics / B. Valgaeren et al. // Archives of toxicology. — 2019. — No. 93 (2). — P.293–310. https://www.elibrary.ru/item.asp?id=53401264
12. Zhang, F.; Liu, L.; Ni, S.; Deng, J.; Liu, G.-J.; Middleton, R.; Inglis, D.W.; Wang, S.; Liu, G. Turn-on Fluorescence Aptasensor on Magnetic Nanobeads for Aflatoxin M1 Detection Based on an Exonuclease III—Assisted Signal Amplification Strategy. Nanomaterials 2019, 9, 104. https://www.elibrary.ru/item.asp?id=38855557
13. Gao, Y.; Li, S.; Wang, J.; Luo, C.; Zhao, S.; Zheng, N. Modulation of Intestinal Epithelial Permeability in Differentiated Caco-2 Cells Exposed to Aflatoxin M1 and Ochratoxin a Individually or Collectively. Toxins 2018, 10, 13. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29280945/
14. Ahn, J.Y.; Kim, J.; Cheong, D.H.; Hong, H.; Jeong, J.Y.; Kim, B.G. An In Vitro Study on the Efficacy of Mycotoxin Sequestering Agents for Aflatoxin B1, Deoxynivalenol, and Zearalenone. Animals 2022, 12, 333. https://www.elibrary.ru/item.asp?id=57689799
15. Xiong J.L., Wang Y.M., Nennich T.D., Li Y., Liu J.X. Transfer of dietary aflatoxin B1 to milk aflatoxin M1 and effect of inclusion of adsorbent in the diet of dairy cows // Journal of Dairy Science. 2015. Vol. 98. № 4. P. 2545—2554.

Редакция журнала
«Международный вестник ветеринарии»
196084, Санкт-Петербург, Черниговская 5,
СПбГУВМ.
Телефон/факс (812) 387-11-58
Mail to: farm_vestnik@mail.ru