

УДК 636.6:611-013:619:615

Ніщененко М.П., д.вет.н., професор, **Каплуненко В.Г.**, д.т.н., професор,
Ємельяненко А.А., аспірант ©
E-mail: Anatolevna_86ukr.net

Білоцерківський національний аграрний університет, м. Біла Церква,
Київська обл., Україна, 09111

ЕМБРИОНАЛЬНИЙ РОЗВИТОК ПЕРЕПЕЛІВ ПРИ ІНКУБАЦІЙНІЙ ОБРОБЦІ ЯЄЦЬ АКВАХЕЛАТНИМ РОЗЧИНОМ ГЕРМАНІЮ

Одним з важливих питань, у сучасному птахівництві є підвищення життєздатності птиці на різних етапах її розвитку. Специфіка онтогенезу птиці полягає в тому, що розвиток ембріона відбувається поза материнським організмом в зовнішньому середовищі, яке впливає на ембріони несприятливими абиотичними та біотичними факторами (перепади температури, вологості, токсиканти тощо). В статті наведені дані про вплив різних доз аквахелатного розчину германію (2,5; 5,0; 7,5 мкг/кг яєць) на показники сомітогенезу, маси, росту ембріонів на 10-ту і 15-ту добу інкубації перепелиних яєць. Встановлено, що при обробці яєць розчином аквахелату германію у дозі 5,0 мкг/кг кількість сомітів, показники маси і росту ембріонів були вірогідно більшими в порівнянні з контролем, що ймовірно характеризує стимулюючий вплив аквахелатного розчину германію на сомітогенез, ріст і розвиток тканин та органів ембріонів на 10-ту та на 15-ту добу інкубації. Обробка яєць аквахелатним розчином германію в дозі 7,5 мкг/кг проявляє негативний вплив на швидкість сомітоутворення, гальмує процес розвитку та викликає затримку росту ембріонів в порівнянні з контрольною групою. Доза 2,5 мкг/кг аквахелатного розчину германію виявляла лише тенденцію до збільшення кількості диференційованих пар сомітів, маси і росту ембріонів в порівнянні з контрольною групою.

Ключові слова: перепелині яйця, ембріони, інкубація, сомітогенез, розчин аквахелату германію, передінкубаційна обробка.

УДК 636.6:611-013:619:615

Ніщененко Н.П., д.вет.н., професор, **Каплуненко В.Г.**, д.т.н., професор,
Ємельяненко А.А. аспірант

Белоцерковский национальный аграрный университет, г. Белая Церковь,
Киевская обл., Украина, 09111

ЭМБРИОНАЛЬНОЕ РАЗВИТИЕ ПЕРЕПЕЛОВ ПРИ ИНКУБАЦИОННОЙ ОБРАБОТКЕ ЯИЦ АКВАХЕЛАТНЫМ РАСТВОРОМ ГЕРМАНИЯ.

Одним с важных вопросов, в современном птицеводстве есть повышение жизнеспособности птицы на разных этапах ее развития. Специфика онтогенеза птицы заключается в том, что развитие эмбриона происходит вне материнского организма в окружающей среде, которая влияет на эмбрионы не благоприятными абиотическими и биотическими факторами (перепады температуры, влажности, токсикантами и т.д.) В статье наведены данные о

влиянии разных доз аквахелатного раствора германия (2,5; 5,0; 7,5 мкг/кг яиц) на показатели сомитогенеза, массы, роста эмбрионов на 10-е и 15-е сутки инкубации перепелиных яиц. Установлено, что при обработке яиц раствором аквахелата германия в дозе 5,0 мкг/кг количество сомитов, показатели массы и роста эмбрионов были вероятно больше по сравнению с контролем, что возможно характеризует стимулирующее влияние аквахелатного раствора германия на сомитогенез, рост и развитие тканей и органов эмбрионов на 10-е и 15-е сутки инкубации. Обработка яиц аквахелатным раствором германия в дозе 7,5 мкг/кг оказывает негативное влияние на скорость сомитообразования и процессы развития и задержку роста эмбрионов по сравнению с контрольной группой. Доза 2,5 мкг/кг аквахелатного раствора германия вызывает только незначительное увеличение количества дифференцированных пар сомитов, массы и роста эмбрионов по сравнению с контрольной группой.

Ключевые слова: перепелиные яйца, эмбрионы, инкубация, сомитогенез, раствор аквахелата германия, прединкубационная обработка.

UDC 636.6:611-013:619:615

N. Nischemenko doctor veterinary sciences, **V. Kaplunenko** doctor technical sciences, **A. Emelianenko** aspirant. (Anatolevna_86ukr.net).
Belotserkovskii National Agrarian University, Bila Tserkva, Kiev region,
Ukraine, 09111

EMBRYONIC DEVELOPMENT OF QUAILS IN THE INCUBATING EGGS PROCESSING SOLUTION AKVAHELATE GERMANIUM

One with the important issues in modern life there is an increased poultry birds at different stages of its development. Specificity ontogeny birds is that the development of the embryo takes place outside the mother's body in the environment that affects the embryos are favorable a biotic and biotic factors (temperature changes, humidity, toxicants, etc.) move data on the effect of different doses of germanium solution akvahelate (2.5, 5.0, 7.5 mg/kg eggs) on the performance of somitogenesis, mass, growth of embryos on the 10th and 15th day of incubation of quail eggs. Found that the processing of eggs akvahelate solution of germanium in a dose 5.0 mg/kg quantity of somites, weight indicators and embryo growth were more likely compared to the control, which certainly characterizes the stimulating effect of germanium on akvahelate solution somitogenesis, growth and development of tissues and organs embryos on the 10th and 15th day of incubation. A solution of egg treatment akvahelate germanium at 7.5 mcg/kg has a negative effect on the rate formation of somites and processes of development and growth retardation of embryos compared with the control group. Dose 2,5 mg/kg a solution of germanium akvahelate provided a tendency to increase the amount of differential pairs somite embryos mass and growth compared with the control group

Key words: quails eggs, embryos, incubation, somitogenesis, solution akvahelate germanium, pre-incubation treatment.

Вступ. На сьогоднішній день швидкими темпами розвивається така галузь птахівництва як перепелівництво. Одним з важливих питань, у сучасному птахівництві є підвищення життєздатності птиці на різних етапах її розвитку [1]. Специфіка онтогенезу птиці полягає в тому, що розвиток ембріона

відбувається поза материнським організмом в зовнішньому середовищі, яке впливає на ембріони несприятливими абіотичними та біотичними факторами (перепади температури, вологості, токсиканти тощо) [2].

Низька виводимість при промисловій інкубації спонукає до пошуку нових способів і методів стимуляції ембріонального розвитку птиці. У зв'язку з цим, активізується пошук нових альтернативних підходів до підвищення виводимості птиці. Одним з шляхів впливу на ембріональний розвиток птиці є передінкубаційна обробка яєць, а також обробка їх безпосередньо в процесі інкубації. Для птахофабрик пропонують застосовувати різні фізичні фактори - ультрафіолетові, рентгенівські, гамма - промені, світлові і звукові подразниками тощо; хімічні фактори - бурштинова, нікотинова, фумарова кислоти, вітамінами, озон та ін.; лікувальні препарати ВВ-1, полісепт, бактерицид та ін. [3]. Однак, з практичної точки зору не всі методи можна використовувати для обробки яєць у виробничих умовах. Деякі з них потребують спеціального обладнання високої вартості, необхідної підготовки персоналу або додаткової перевірки на токсичність [4].

Останнім часом у гуманній і ветеринарній медицині впроваджуються наноматеріали, які є аквахелатами металів. Хелатування наночасток молекулами води дозволяє аквахелату легко проникати через мембрани клітин, а наночастинці легко взаємодіяти з клітинними органелами, що створює умови для виявлення високої біологічної активності [5]. Кількість досліджень проведених по вивченню дії аквахелатів збільшується і перед ученими-біологами різних спеціальностей стоять нові завдання по всебічному вивченню властивостей наночастинок та інших продуктів нанотехнологій, їх впливу, на організм людини, тварини і навколишнє середовище [6]. Однак, відомостей вивчення впливу наночастинок металів на ембріогенез та морфологію тканин є досить обмеженими і суперечливими [5,6].

Метою наших досліджень було встановити як впливає розчин аквахелату германію на ембріональний розвиток перепелів.

Матеріали і методи. Експериментальні дослідження проводились в науково-дослідній лабораторії кафедри нормальної та патологічної фізіології тварин Білоцерківського національного аграрного університету.

Для дослідження використовували яйця та ембріони перепелів (*Coturnix coturnix japonica*) породи фараон м'ясного напрямку продуктивності.

Інкубацію перепелиних яєць здійснювали в лабораторному інкубаторі ІЛУ Ф-03 з дотриманням вимог щодо процесу інкубації [2], за оптимальної температури для перепелиних яєць 38,5°C на 1-14 добу, та 37,3°C на 14-17 добу [7].

Для визначення впливу аквахелату германію на процеси інкубації, нами було сформовано чотири групи-аналогів інкубаційних яєць. Яйця трьох дослідних груп обробляли розчинами аквахелату германію у різних дозах, а в контрольній групі яйця обробляли лише дистильованою водою (табл.1). Під час дослідів підтримувалась необхідна температура і відносна вологість в інкубаторі [2, 7].

Таблиця 1

Схема проведених досліджень ($M \pm m$)

Група	Кількість яєць у групі, шт.	Маса яєць у групі, г	Маса одного яйця, г	Доза розчину для обробки яєць, мкг/кг
1- дослідна	150	2083,1	13,88 \pm 0,27	2,5
2- дослідна	150	2036,1	13,57 \pm 0,19	5
3- дослідна	150	2043,3	13,62 \pm 0,21	7,5
Контрольна	150	2056,5	13,71 \pm 0,24	дистильована вода

При проведенні експерименту використовували передінкубаційну обробку яєць, а потім обробку повторювали за добу до критичних періодів: 9-та доба замикання алантоїсу; 11-та доба перехід на білкове живлення; 13-та доба швидкий ріст постійних органів; 15-та доба початок прокльову; 17-та доба виведення молодняку [8, 9].

Вплив аквахелату германію на інкубаційні процеси визначали шляхом підрахунку диференційованих пар сомітів за методикою зняття бластодиску з використанням паперових кілець, зважування та вимірювання ембріонів та їх печінки на 10-ту і 15-ту добу інкубації.

Результати дослідження. на першому етапі ми вивчали вплив аквахелатного розчину германію на сомітогенез перепелиного ембріона. В зв'язку з постійним часом утворення диференційованих пар сомітів їх кількість є найбільш вірогідним критерієм розвитку ембріонів, в процесі порушення якого змінюється швидкість формування сегментів [10].

Нами встановлено, що за обробки яєць розчином аквахелату германію (табл.2) в першій групі з дозою розчину (2,5 мкг/кг) кількість диференційованих пар сомітів мала тенденцію до збільшення на 2,1 %, а в другій групі (5 мкг/кг) кількість сомітів була вірогідно більше на 32,6 % в порівнянні з контролем ($p < 0,001$), що ймовірно характеризує стимулюючий вплив германію на сомітогенез, ріст і розвиток тканин та органів ембріонів.

В третій групі кількість сомітів була на 18,7 % менше в порівнянні з контролем ($p < 0,05$), це ймовірно вказує на те що аквахелатний розчин германію в дозі 7,5 мкг/кг проявляє негативний вплив на розвиток ембріонів за швидкістю сомітоутворення.

Таблиця 2

Показники диференційованих пар сомітів на 38-му годину інкубації, $M \pm m$

№ п/п	Група (n=5)	Кількість диференційованих пар сомітів, шт.
1	1-дослідна	9,4 \pm 0,24
2	2- дослідна	12,2 \pm 0,37***
3	3- дослідна	8,4 \pm 0,24*
4	Контроль	9,2 \pm 0,20

Примітка: * $p < 0,05$; *** $p < 0,001$ в порівнянні з контрольною групою

На другому етапі досліджень ми визначали масу і ріст ембріонів та їх печінки на 10-ту і 15-ту добу інкубації за впливу різних доз аквахелатного розчину германію. Для дослідження в один і той же час доби відбирали яйця з

інкубатора, звільняли ембріони від паза зародкових оболонок, проводили їх зважування та проміри.

На 10-ту добу інкубації на ембріонах спостерігали утворені пір'яні сосочки вздовж спини і голови; на кінці дзьобу з'явлося побіління у вигляді крапки. Вказані зміни були більш виражені у другій дослідній групі. Ембріони стають схожими на птицю: довга шия, дзьоб, крила, на пальцях ніг кігтики, повіки досягали зіниці ока.

Маса яєць в другій групі (табл. 3) була вірогідно менша порівняно з контролем, в першій і третій групах маса яєць не зазнала значних змін, проте вона була порівняно меншою за масу яєць при першому зважуванні перед закладанням в інкубатор. Зменшення маси яєць в період інкубації є показником втрати поживних речовин, які використовуються ембріоном, та споживання ним кисню і виділенням вуглекислоти та води яка балансується по масі яйця. Такі зміни є фізіологічною нормою ембріонального розвитку птиці.

Таблиця 3

Аналіз розвитку перепелиних ембріонів на 10-ту добу інкубації, $M \pm m$, $n=5$

Група	Маса яєць, г	Маса шкаралупи, г	Маса ембріонів, г	Ріст ембріонів, см	Маса алантоїсу, г	Маса печінки, г
1-дослідна	13,11±0,16	2,03±0,03	1,20±0,03	2,20±0,02	2,62±0,06	0,04±0,01
2-дослідна	12,94±0,04***	2,03±0,02	1,46±0,02***	2,28±0,03**	2,51±0,02	0,05±0,01
3-дослідна	13,39±0,10	2,07±0,04	1,01±0,02**	2,01±0,01***	2,71±0,04	0,04±0,01
Контроль	13,22±0,17	2,03±0,03	1,14±0,02	2,18±0,03	2,52±0,03	0,04±0,01

Примітка: *- $p < 0,05$; **- $p < 0,01$; ***- $p < 0,001$ в порівнянні з контрольною групою

Маса шкаралупи і алантоїса в першій, другій і третій групах в порівнянні з контрольною не мали вірогідної різниці. Проте, показники маси і росту ембріонів в дослідних групах вірогідно відрізнялася від контрольної групи. Зокрема, в другій групі за дії аквахелатного розчину германію в дозі 5 мкг/кг маса ембріонів була більше на 28 % ($p < 0,001$). Ріст ембріонів був також більшим на 4,6 % в порівнянні з контролем ($p < 0,01$). У першій групі показники маси і росту ембріонів мали лише тенденцію до збільшення порівняно з контролем, а в третій групі маса на 11,4 % і ріст на 7,8 % були меншими, ніж в контролі. Ми вважаємо що, ймовірно застосований розчин аквахелату германію для обробки перепелиних яєць в дозі 7,5 мкг/кг проявляє негативний вплив на ембріогенез.

При вивченні показників маси печінки та її макроскопічних характеристик, у всіх групах суттєвих змін нами не встановлено.

На 15-ту добу інкубації (табл. 4) при дослідженні розвитку ембріонів встановили, що вони змінили своє положення в яйці – голова була повернута у бік тупого кінця і підтягнута під праве крило так, щоб дзьоб був повернутий до повітряної камери. Ембріони повністю вкриті пухом, їх очі закриті повіками, довжина кінцівок збільшилася, жовток починав втягуватись в черевну порожнину.

В останній період інкубації підвищується проникність шкаралупи внаслідок розщеплення кальцієвих солей вугільною кислотою, яка виділяється ембріоном, при цьому збільшується величина втрати маси яйця. Зокрема, в другій групі втрата маси яєць була на 1,8 % більше в порівнянні з контролем. В першій групі маса яєць була майже однаковою з контролем, а в третій групі втрата маси яєць була менша, ніж в контролі на 0,7 %, що вказує, ймовірно на недостатню проникність шкаралупи. Показники маси шкаралупи у всіх чотирьох групах не мали вірогідної різниці.

Таблиця 4

Аналіз розвитку перепелиних ембріонів на 15 добу інкубації (M±m, n=5)

Група	Маса яйця, г	Маса шкаралупи, г	Маса ембріона, г	Ріст ембріона, см	Маса алантоїса, г	Маса печінки, г
1-дослідна	12,97±0,02	1,95±0,04	4,96±0,02	4,27±0,05	1,12±0,04	0,07±0,01
2-дослідна	12,73±0,02***	1,90±0,06	5,16±0,02***	4,57±0,01***	0,93±0,03**	0,09±0,01
3-дослідна	13,05±0,02*	2,01±0,04	4,70±0,02***	4,05±0,03***	1,31±0,05***	0,08±0,01
Контроль	12,96±0,03	2,01±0,04	4,93±0,02	4,22±0,01	1,03±0,01	0,07±0,01

Примітка: *- p<0,05; **- p<0,01; ***-p<0,001 порівняно з контрольною групою

При обробці перепелиних яєць розчином аквахелату германію в дозі 5 мкг/кг (друга група) нами встановлено, що ембріони за масою 4,6 % і ростом 8,2 % були більшими, ніж в контролі (p<0,001). В третій групі (7,5 мкг/кг) проявлявся зворотній ефект, де ембріони за масою на 4,7 % і ростом на 4,1 % були меншими в порівнянні з контролем (p<0,001). В першій групі маса і ріст ембріонів були майже однаковими з контрольною групою, а маса алантоїса в першій групі не зазнала суттєвих змін в порівнянні з контролем. Проте, в другій групі маса алантоїсу була вірогідно менша на 9,8 %, що свідчить про інтенсивніший розвиток ембріона. В третій групі маса алантоїсу була на 27,1 % більше, що вказує на гальмування процесу втрати тимчасової позазародкової оболонки та затримку розвитку ембріонів. При дослідженні маси печінки у чотирьох групах ми не встановили суттєвих змін, а значить її розвиток був в межах фізіологічної норми.

Висновки. 1. В результаті проведених нами досліджень було встановлено, що доза розчину аквахелату германію 5 мкг/кг є оптимальною, для передінкубаційної обробки та обробки перепелиних яєць в процесі інкубації. Розчин аквахелату германію у вище вказаній дозі позитивно впливає на ембріональний розвиток перепелів за показниками сомітогенезу, маси і росту ембріонів в процесі інкубації.

2. Розчин аквахелату германію в дозі 7,5 мкг/кг для передінкубаційної обробки та обробки перепелиних яєць в процесі інкубації справляв негативний вплив на ембріональний розвиток перепелів за показниками кількості диференційованих пар сомітів, маси та його росту.

Перспективи подальших досліджень. Перспективним напрямком досліджень вважаємо вивчення впливу аквахелатного розчину германію на гематологічні показники в однодобового молодняка перепелів.

Література

1. Жеребов М.Є. Перепільництво в Україні / М.Є. Жеребов // Ефективне птахівництво: спеціалізований журнал з питань птахівництва. – Обухів: ТОВ фірма «Поліграфінко», 2011. – №8– С. 34–38.
2. Бессарабов Б.Ф. Практикум по инкубации и эмбриологии с.-х. птицы. / Б.Ф. Бессарабов – М., 1982. –С. 144.
3. Байдевятова О. М. Проблеми якості та сучасні підходи щодо обробки інкубаційних яєць / О. М. Байдевятова // Птахівництво: Міжвід. темат. наук. зб. / ІП НААН України.–Харків, 2010. – Вип. 65. – 200 с.
4. Задорожній А.А. Вплив екологічно безпечних препаратів на ембріональний і постембріональний розвиток м'ясних курчат/ А.А. Задорожній, В.М. Туринський // Сучасне птахівництво.–2011–№10 (107). – С. 21–23.
5. Борисевич В.Б., Наноматериали и нанотехнологии в ветеринарной практике // В.Б. Борисевич, В. Г. Каплуненко, Н. В. Косинов [и др.]: под редакцией В.Б. Борисевич, В.Г. Каплуненко. – К.: ВД «Авіцена»,2012. –512 с.
6. Нанометали: стан сучасних досліджень та використання в біології, медицині та ветеринарії / В.Ф. Шаторна, В.І. Гарець, В.В. Крутенко та ін. //Вісник проблем біології і медицини. –2012. – Вип.3 –Т.2(95) – С.29–32.
7. Методи оцінки ембріонального розвитку у птиці (за умов фоторегуляторного впливу на ембріогенез): Методичні рекомендації з оцінки інтенсивності ембріогенезу, стану антиоксидантної та енергетичної систем птиці у лабораторних та виробничих умовах / О. С. Цибулін, О.П. Мельниченко, І.Л. Якименко, Д.М. Микитюк. –Біла Церква, 2007. – С. –20.
8. Рольник В.В. Биология эмбрионального развития птиц. / В.В Рольник – Л.: Наука, 1968.–С. 425
9. Freman V.M. Development of Avian Embryo / V.M. Freman, M.A. Vinee – London: Chapman and Hall, 1974. – P. 348.
10. Huang R., Contribution of single somites to the skeleton and muscles of the occipital and cervical regions in avian embryos / R. Huang, Q. Zhi, K. Patel // Anat. And Embryol. – 2000. – Vol. 5. –P. 375–383.

Рецензент – д.с.-г.н., проф.,чл.-кор.НААНУ Кирилів Я.І.