

На правах рукописи

Дмитриева Оксана Сергеевна

**МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ЗРИТЕЛЬНОГО
АНАЛИЗАТОРА ЦЫПЛЯТ-БРОЙЛЕРОВ В ОНТОГЕНЕЗЕ И
ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ РИБОФЛАВИНА**

Специальность 06.02.01 – диагностика болезней и терапия животных,
патология, онкология и морфология животных

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата ветеринарных наук

Москва – 2018

Работа выполнена на кафедре ветеринарии ФГБОУ ВО «Великолукская государственная сельскохозяйственная академия».

Научный руководитель – Сулейманов Фархат Исмаилович

доктор ветеринарных наук, профессор,
профессор кафедры ветеринарии
ФГБОУ ВО «Великолукская государственная
сельскохозяйственная академия».

Официальные оппоненты:

Зайцева Елена Владимировна, доктор биологических наук, профессор, декан естественно-географического факультета ФГБОУ ВО «Брянский государственный университет имени академика И.Г. Петровского».

Амелина Анна Николаевна, кандидат ветеринарных наук, ведущий научный сотрудник лаборатории экспериментальных фармакологических исследований ИИХР г. Химки (06.02.01)

Ведущая организация – Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины»

Защита состоится «13» декабря 2018 г. в _____ часов на заседании диссертационного совета Д 212.203.32 при ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов» по адресу: 117198, Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 8/2, зал №2.

С диссертацией можно ознакомиться в Учебно-научном информационно библиографическом центре Российского университета дружбы народов по адресу: Москва, ул. Миклухо-Маклая, 6.

Автореферат диссертации размещен на сайтах <http://dissovet.rudn.ru/>, <http://vak.ed.gov.ru>.

Автореферат разослан: « » _____ 2018 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
кандидат биологических наук, доцент

Куликов Евгений Владимирович

1 ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

1.1. Актуальность темы исследования. Птицеводство является одной из наиболее быстро развивающихся и экономически эффективных отраслей сельского хозяйства, которое обеспечивает получение диетических продуктов питания с относительно невысокой стоимостью.

В статьях разных авторов описывается влияние различных химических (Вавилова О.В., 2010) и физических (Суйя Е. В., 2018) факторов на инкубационное яйцо. Они способствуют ускорению роста эмбрионов, повышению выводимости цыплят, увеличению сохранности (Сулейманов Ф.И., 1999-2018 гг).

Зрение является важным физиологическим процессом, с помощью которого птицы получают представление о величине, форме и цвете предметов, их взаимном расположении и расстоянии и таким образом приобретают возможность ориентироваться в окружающем пространстве. Важнейшим экзогенным фактором является свет, который воздействует на любой живой организм через глаза, и особенно это развито у птиц. При грамотном и правильном управлении этим фактором можно воздействовать на организм, при выращивании всех пород кур, как яичной, так и мясной. Несушке свет позволяет стимулировать и сдерживать физическое, физиологическое развитие, зрелость птицы. Также контролировать ее агрессивность и предотвращать каннибализм, регулировать яичную продуктивность.

В мясном птицеводстве – цыплят-бройлеров выращивают в течение 37 дней. В первую декаду свет не отключается круглосуточно, что дает, возможность цыплятам очень быстро расти. В последнюю декаду выращивания свет включается только на момент кормления, что дает возможность цыплятам усиленно набирать массу тела. Такой режим освещения позволяет максимально реализовать генетический потенциал, заложенный в современных кроссах мясных кур

В доступной литературе недостаточно данных по морфологии и гистологии глазного яблока у сельскохозяйственных птиц, нами не было найдено сведений по изучению морфометрических и статистических данных, как самого зрительного анализатора, так и его отдельных структур у кур в онтогенезе.

Степень разработанности темы

Данных по строению зрительного анализатора у эмбрионов кур в изученной литературе найдено мало. Нами дополнены и более глубоко изучены морфологические изменения глаза.

Цель исследования. Определение воздействия растворов рибофлавина на морфологические изменения зрительного анализатора эмбрионов и 10-ти суточных цыплят; исследование архитектоники у эмбрионов кур совмещением макро- и микроскопических методов; воздействие на зрачок кур мидриатиков и миотиков.

Задачи исследования:

1. Изучить возрастные морфометрические и морфологические

изменения глазного яблока кур в антенатальном онтогенезе.

2. Изучить возрастные изменения гистологического строения оболочек глазного яблока.

3. Исследовать изменения морфометрических параметров и гистологического изменения зрительного анализатора эмбрионов в возрастном аспекте при влиянии растворов рибофлавина.

4. Изучить воздействие растворов рибофлавина на гистоархитектонику структурных элементов глазного яблока эмбрионов кур.

5. Определить морфологические изменения зрительного анализатора цыплят-бройлеров в постнатальном онтогенезе после воздействия на эмбрионов растворов рибофлавина на вторые сутки инкубации.

6. Исследование архитектоники макро- и микроскопическими методами.

7. Определить особенности влияния вазодилататоров и вазоконстрикторов на диаметр зрачка у кур.

1.2. Научная новизна работы. Впервые изучено воздействие рибофлавина на зрительный анализатор кур в антенатальном онтогенезе. Изучены анатомические, морфометрические и гистологические изменения сетчатой оболочки, хрусталика и роговицы куриных эмбрионов в течение всего антенатального и первые 10 дней постнатального онтогенеза. Впервые изучена архитектоника зрительного анализатора. Определены особенности влияния вазодилататоров и вазоконстрикторов на диаметр зрачка у кур.

1.3. Теоретическая и практическая ценность работы. Результаты исследований дополняют и расширяют сведения о способах стимуляции развития зрительного анализатора кур в антенатальном и постнатальном онтогенезе.

Так же они могут быть использованы, как в сравнительной, так и в экспериментальной морфологии, а также при написании учебников, учебных пособий и в учебном процессе.

1.4. Методология и методы исследования. Методологическая основа исследований – испытание и обоснование применения раствора рибофлавина при воздействии на зрительный анализатор кур в антенатальном и постнатальном онтогенезе; воздействие препаратов атропина и пилокарпина вазодилататоров и вазоконстрикторов на диаметр зрачка у кур.

При проведении исследований использовались следующие методы: 1) анатомический; 2) гистологический; 3) морфометрический; 4) вариационно-статистический и 5) клинический.

Объект исследования - куриные эмбрионы и цыплята-бройлеры до 10-ти суточного возраста, куры.

Степень достоверности и апробация работы. Объективность научных положений и выводов обосновываются результатами статистической обработки экспериментальных данных. Достоверность результатов исследований, приведенных в диссертации, подтверждается значительной численностью

особей в опыте. Выводы и практические предложения формируются из полученных результатов исследования.

Результаты основных работ были доложены на Международной научно-практической конференции молодых ученых «Молодые ученые – науке и практике АПК» (29-30 мая 2017 г., г. Витебск, Республика Беларусь); «Наука и образование для устойчивого развития территорий» (4 декабря 2018 г., г. Великие Луки); на Международной научно-практической конференции молодых ученых и специалистов (12 апреля 2018 г. Великие Луки); на Всероссийском конкурсе на лучшую научную работу среди студентов, аспирантов и молодых ученых высших учебных заведений МСХ РФ (20 апреля 2018 г., г. Санкт-Петербург); на XIX Международной научной конференции «Мировые и Российские тренды развития птицеводства: реалии и вызовы будущего» (15-17 мая 2018 г., Сергиев Посад); на Международной научно-практической конференции молодых ученых «Молодые ученые – науке и практике АПК» (5-6 июня 2018 г., г. Витебск, Республика Беларусь); на ежегодных научно-практических конференциях Великолукской государственной сельскохозяйственной академии (2016, 2017, 2018 гг.).

1.5. Основные положения диссертационной работы, выносимые на защиту:

1. Морфометрические и гистологические изменения зрительного анализатора кур в антенатальном онтогенезе.
2. Влияние растворов рибофлавина на рост и морфологические изменения структурных элементов зрительного анализатора у куриных эмбрионов.
3. Гистологические особенности развития у кур сетчатой оболочки, хрусталика и роговицы глаза под влиянием раствора рибофлавина в антенатальном онтогенезе.
4. Изменения зрительного анализатора цыплят в постнатальном онтогенезе при влиянии на них раствора рибофлавина во время инкубации яиц.
5. Исследование архитектоники макро- и микроскопическими методами.
6. Особенности влияния на диаметр зрачка кур растворов атропина и пилокарпина.

1.6. Сведения о практическом использовании научных результатов

Результаты диссертационной работы могут быть использованы для стимуляции развития зрительного анализатора. Результаты диссертационной работы по воздействию мидриатиков и миотиков могут быть использованы в клинической ветеринарной практике при работе с птицами.

Полученные результаты можно использовать во время проведения занятий и выполнения научных исследовательских работ, связанных с развитием и морфофункциональными особенностями зрительного анализатора.

1.7. Соответствие диссертации научной специальности

Диссертация соответствует специальности 06.02.01 – «диагностика болезней и терапия животных, патология, онкология и морфология животных».

1.8. Реализация результатов исследований. Данные, полученные в ходе исследований используются в учебном процессе ФГБОУ ВО Великолукская ГСХА, ФГБОУ ВО СПбГАВМ, ФГБОУ ВО СПбГАУ, ОУ Витебская ГАВМ, ГБУЗ «Великолукская МБ». Воздействие рибофлавина одобрено для внедрения в ООО «Птицефабрика «Борки» Великолукского района Псковской области, в КФХ «Фролов А. А.», Ленинградская область, Волосовский район.

1.9. Публикация результатов исследования. По результатам проведенной работы опубликовано 12 статей, из которых 4 в изданиях, рекомендованных ВАК РФ для публикации основных результатов диссертационной работы на соискание ученой степени.

1.10. Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 130 страницах компьютерного текста, состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследований, собственных исследований, обсуждения полученных результатов, выводов, практических предложений, списка литературы и приложений. Список использованной литературы включает 221 источник, в том числе 72 – зарубежных авторов. Материалы диссертационной работы иллюстрированы 4 таблицами и 55 рисунками. Приложения к диссертации содержат список опубликованных работ и справки о внедрении в учебный процесс результатов исследований, фотографии гистологических исследования; достижения получены в период написания работы.

1. СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Материалы и методы исследований

Исследования по диссертационной работе были проведены в научной лаборатории ФГБОУ ВО «Великолукская ГСХА», а объектом наших исследований были яйца кур кросса ХАББАРД F₁₅ УАЙТ. Инкубационные яйца приобретались в ООО «Племенная птицефабрика Лебяжье» Ленинградской области. Инкубацию проводили в инкубаторе ИБЛ-770. Отбирали яйца для исследований по результатам оценки их качества и пригодности к инкубации по массе, целостности скорлупы, степени мраморности. Масса яиц составила от 52 до 61 г. Для лабораторных исследований использовались следующие методы: морфометрические, гистологические, анатомические и вариационно-статистические.

Инкубационные яйца в количестве 600 штук были разделены на 2 подопытные и одну контрольную группы. В первой подопытной группе яйца опускали в раствор рибофлавина с концентрацией 0,002% по способу Сулейманова Ф.И. и Вавиловой О.В. (2010). Концентрацию рибофлавина в растворе определяли эмпирическим методом, начиная от 0,001% до 0,1%. Результат воздействия определялся визуально на овоскопе, выборочным вскрытием эмбрионов и изучением внутренних органов и результатам вывода цыплят. Самой оптимальной оказалась доза равная концентрации 0,002%.

Прогретые в инкубаторе до $37,6 \pm 0,1^{\circ}\text{C}$ яйца помещали в раствор рибофлавина комнатной температуры ($t = 20^{\circ}\text{C}$) и выдерживали 20 минут. Во второй подопытной группе прогретые яйца опускали в 0,9% раствор натрия хлорида с $t = 20^{\circ}\text{C}$ и выдерживали 20 минут. Контрольная группа яиц прединкубационной обработке не подвергалась. Во время инкубации температура воздуха составляла $37,6 \pm 0,1^{\circ}\text{C}$, относительная влажность – 54,0-57,0%, что соответствует рекомендациям ВНИТИП по инкубации яиц сельскохозяйственной птицы.

Вторая подопытная группа была создана с целью изучения воздействия погружения на развитие эмбрионов во время инкубации прогретого яйца в прохладную жидкую среду. Для исключения в выводах результатов воздействия не рибофлавина, а простого температурно-влажностного воздействия на инкубационные яйца, нами была предпринята попытка изучения влияния изотонического раствора NaCl.

Рибофлавин химически чистый препарат представляет собой кристаллический порошок оранжево-желтой окраски, со слабым запахом и слегка горьковатым вкусом. Представляет собой производное изоаллоксазина, связанного с сахарным спиртом - d-рибитолом. Химическая формула его $\text{C}_{17}\text{H}_{20}\text{N}_4\text{O}_6$; растворяется в воде в пропорции примерно 1:800. Он практически не растворим в жирах, алкоголе 95° , эфире, хлороформе, бензине. Оказывает профилактическое действие, обогащая ткань глаза кислородом и облегчая проведение нервного импульса к сетчатке глаза, чем упрощает её качественную деятельность. Это вещество активно участвует в синтезе гемоглобина и в обменных процессах, происходящих в организме, следовательно, нормализует и зрительную функцию.

В ходе работы проводился биологический контроль путем овоскопирования, что в дальнейшем позволило вовремя удалять яйца с кровяными кольцами, замершими эмбрионами и неоплодотворенные яйца.

Были изучены морфометрически и морфологически глазные яблоки у эмбрионов кур. Зрительный анализатор эмбрионов кур в антенатальном онтогенезе исследовался каждый час на 2,3,4,5,6 и 7 сутки инкубации. В дальнейшем исследования глаза проводилось на 10, 13, 15, 17 и 20 сутки инкубации, а также на 10 день постнатального развития. Производили энуклеирование глаз в каждом из указанных возрастов у 3 эмбрионов из каждой исследуемой группы.

Определение массы глаз и тела эмбрионов осуществляли на весах HL-400 с погрешностью $\pm 0,1\text{мг}$, линейные измерения проводили штангенциркулем RadioShack с точностью $\pm 0,01\text{мм}$. Гистологически и морфометрически у эмбрионов кур были исследованы в глазных яблоках: форма, размер глаза, сетчатка, хрусталик, роговица и другие структурные элементы.

Полученные данные подвергались биометрической обработке путем определения ошибки средней арифметической ($\pm m$), степени достоверности различий (td), средней арифметической (M) и величин (P) по Стьюденту с анализом полученного цифрового материала. Данные представлены нами в

графиках и отображены в таблицах, анализ которых дал возможность выявить изменения и закономерности в антенатальном росте и развитии зрительного анализатора куриного эмбриона.

Глаза для гистологического исследования, опускали в консервирующий раствор, в качестве фиксатора использовали 10% нейтральный раствор формалина, объем, которого в 20-30 раз превосходил объем исследуемых глаз. После проводки в спиртах фиксированные глаза переносили в смесь 96% спирта и хлороформа на 1 час при температуре 35-40⁰С (Ролдугина Н.П., 2004). Для постепенного пропитывания парафином, глаза перенесли в расплавленную смесь хлороформа с парафином при температуре 35⁰С на 30 мин. Из этой смеси глаза перекладывали в первую порцию расплавленного парафина на 1 час и во вторую – на 30 мин., затем помещали в термостат при температуре 55⁰С. Горячим пинцетом перекладывали кусочки из второго парафина в формочку, заливали парафином и охлаждали в воде. По способу (Меркулов Г.Ф., 1969) из затвердевшего парафина вырезали скальпелем блоки шириной соответственно заключенным объектам, оставляя вокруг каемку парафина. Срезы толщиной 4-6 мкм изготавливались на санном микротоме МС-2. Препараты окрашивали гематоксилин-эозином по Эрлиху и заключали в кедровый бальзам. При помощи микроскопа «Levenhuk» с цифровой насадкой С 310 NG проводили микрофотосъемку гистологических срезов с исследуемых глаз. Программу ScreenMeter и объект-микрометр ОМПУ 4,2 с делением 0,01 мм использовали для гистоморфометрических исследований.

В постнатальном онтогенезе нами были исследованы препараты, действующие на констрикторы, и дилататоры сфинктера зрачка. Для этой цели были использованы общепринятые препараты пилокарпин и атропин.

Пилокарпин м-холиномиметическое средство; алкалоид, содержащийся в листьях различных видов растения пилокарпус (*Pilocarpus pinnatifolius Jaborandi* и др.), химическая формула его C₁₁H₁₆O₂N₂. Чаще это бесцветные кристаллы или белый кристаллический порошок без запаха, очень легко растворим в воде, легко растворим в спирте; гигроскопичен. Пилокарпин на глаза воздействует сокращением сфинктера радужной оболочки глаз и ресничной мышцы, что приводит к сужению зрачка, спазму аккомодации и понижению внутриглазного давления (за счет усиленного оттока водянистой влаги), улучшению трофики. Кроме того, способствует расширению полей зрения благодаря стимуляции периферических отделов сетчатки. Эти эффекты наиболее выражены при его местном применении.

Атропин – алкалоид, содержится в красавке, белене, дурмане, скополии и некоторых других растениях семейства пасленовых. Является сложным эфиром аминспирта тропина и троповой кислоты.

Как при местном, так и при резорбтивном действии атропин вызывает расширение зрачков в результате расслабления сфинктера зрачка, который перестает реагировать на свет; одновременно может повыситься внутриглазное давление, так как при расширении зрачка радужная оболочка утолщается и сдавливает пространства радужно-роговичного угла (фонтановы), через

которые происходит отток жидкости из глазных камер. Расслабление ресничной мышцы под влиянием атропина приводит к уплощению хрусталика и параличу аккомодации: глаз устанавливается на дальнее видение.

Применяют атропин для расширения зрачка и выключения аккомодации с целью исследования глазного дна, установления истинной преломляющей способности хрусталика и для создания функционального покоя при воспалительных заболеваниях глаза.

Для изучения архитектоники структурных элементов глазного яблока, орган также как для гистологических срезов фиксировался в 10% растворе формалина, затем полученные тонкие, не более 10 мкм срезы окрашивались гематоксилин эозином. Предметные стекла, положенные на белый лист бумаги или миллиметровую бумагу подвергались микрофотографированию. Основными условиями к микрофотографированию являются следующие пошаговые операции: 1 – зеркальный цифровой фотоаппарат, который закрепляется на штативе; 2 – объектив максимально приближается к препарату и ставится на режим микрофотографирования; 3 – зуммированием достигается четкость изображения и производится съёмка; 4 – снимки обрабатываются через любые фоторедактирующие программы. Затем, совмещая полученные рисунки, изучаются архитектурные снимки (заявка на патент № 2017109792 от 23.03.17 г.)

При помощи программы Statistica 10.0. проводилась статистическая обработка данных, относительную массу глаз определяли по отношению к массе куриных эмбрионов.

2.2 РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

2.2.1 Возрастные изменения массы глаз и ее корреляция с массой тела при воздействии рибофлавина

Наши исследования представлены в таблице 1. В увеличении массы тела были выделены периоды наиболее активного роста в 3 временных интервалах: на 7-9-е, 11-16-е, 17-20-е сутки инкубации.

Подопытная группа 1 превосходила контрольную в течение всего периода инкубации, в том числе достоверно ($p < 0,05$) на 6-12-е, 15-20-е сутки. В подопытной группе 2 разница оказалась достоверной ($p < 0,05$) только на 7-е, 11-е, 18-е и 20-е сутки инкубации. Периоды активного роста глазных яблок выявлены также в 3 временных интервалах: 7-11-е, 12-14-е, 18-20-е сутки инкубации.

Во второй подопытной группе достоверные различия ($p < 0,05$) выявлены на 6-7-е, 9-е, 13-е и 17-18-е сутки инкубации, однако тенденция превосходства опытной группы над контрольной выявлена также в течение всего периода инкубации. По относительной массе глазного яблока достоверное превосходство ($p < 0,05$) первой опытной группы над контрольной отмечается на 9-е (0,05%), 13-14-е (0,01%), 17-19-е (0,01%) сутки, однако по всем дням инкубации, за исключением 19-го, контрольная группа характеризуется

меньшими величинами показателя. Вторая подопытная группа по относительной массе глазного яблока превосходит контрольную ($p < 0,05$) на 9-е (0,05%), 13-14-е (0,01%) и 17-е (0,01%) сутки инкубации.

Благодаря морфометрическим данным по измерению диаметра дорсовентрально и росто-каудально глазного яблока и хрусталика дало возможность выявить периоды активного роста зрительного анализатора. На рисунках 1-4 представлены данные посуточного развития глазного яблока и хрусталика эмбриона.



Рисунок 1 – Изменение массы глазного яблока куриного эмбриона

При измерении диаметра глазного яблока можно отметить периоды активного роста, графически показанные на рисунках 1, 2, отмечаемые на 4-5-е, 6-7-е, 9-10-е, 11-12-е сутки инкубации.

Подопытная группа 1 при измерении в дорсо-вентральном направлении превосходила контрольную, однако различия оказались достоверными ($p < 0,05$) только на 4-7-е, 10-11-е, 13-14-е, 16-18-е и 20-е сутки. Подопытная группа 2 превосходила контрольную группу на 4-е сутки инкубации на 1,7%, на 5-е сутки – на 0,7%, на 7-е сутки – на 0,4%. В остальные сроки различия варьировали в пределах 0,2-0,3%.

Сходны результаты и в развитии диаметра глазного яблока росто-каудально. Подопытная группа 1 по всем суткам инкубации превосходит контрольную группу, за исключением 6-х и 9-х суток. Подопытная группа 1 достоверно ($p < 0,05$) превосходит контрольную на 3-и сутки на 6%, на 11-е и 17-20-е – на 0,2%, на 20-е сутки – на 0,1%.

В развитии хрусталика в дорсо-вентральном направлении (рис. 2,3) были выделены периоды наиболее активного роста в 3-х временных интервалах: на 4-5-е, 13-14-е и 17-18-е сутки инкубации. Наиболее заметные различия диаметра хрусталика глаз в дорсо-вентральном направлении при сравнении подопытной группы 1 и контрольной наблюдались на 14-е сутки – на 0,03 мм, однако в течение всего периода инкубации подопытная группа 1 превосходила контрольную группу.

Различия оказались достоверными ($p < 0,05$) на 5-е, 7-е, 10-е, 13-14-е и 16-20-е сутки эмбрионального развития. Изучение развития хрусталика росто-каудально показало наиболее интенсивный рост в 3-х временных интервалах:

на 6-7-е, 10-11-е, 18-19-е сутки. Подопытная группа 1 превосходила контрольную группу во все дни инкубации в пределах 0,1-0,2 мм. Достоверная разница ($p < 0,05$) отмечается по всем дням инкубации, за исключением 4-го, 10-го и 20-го.

Воздействие рибофлавина с концентрацией 0,002% на зрительный анализатор кур выявлена достоверная разница дорсо-вентрально и росто-каудально в диаметрах глазного яблока и хрусталика по сравнению с контрольной группой, в которой прединкубационная обработка яиц не проводилась, что открывает дальнейшие перспективы в изучении воздействия рибофлавина на эмбрионы кур.

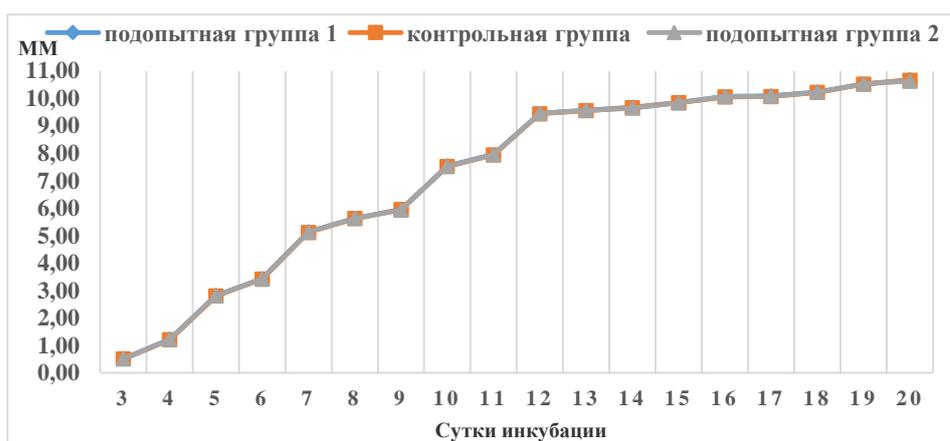


Рисунок 2 – Изменение дорсо-вентрального диаметра глазного яблока куриного эмбриона

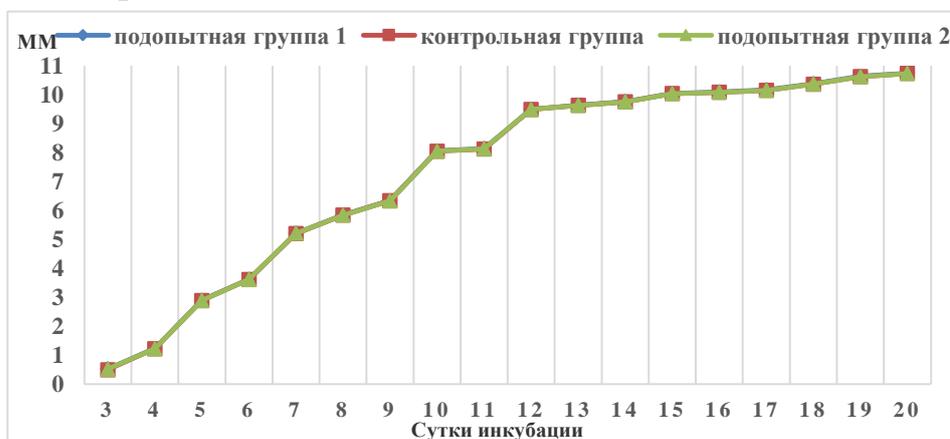


Рисунок 3 – Изменение росто-каудального диаметра глазного яблока куриного эмбриона

Сутки	Масса тела, мг			Масса глаза, мг			Относительная масса глаза (в %)		
	Контрольная группа	Подопытная группа 1	Подопытная группа 2	Контрольная группа	Подопытная группа 1	Подопытная группа 2	Контрольная группа	Подопытная группа 1	Подопытная группа 2
4	136,83±3,35	143,44±3,29	136,77±3,38	1,61±0,36	2,00±0,29	1,95±0,32	1,18±0,25	1,40±0,23	1,47±0,25
5	176,84±3,38	186,81±3,38	180,14±5,82	3,74±0,35	3,98±0,37	3,95±0,37	2,11±0,18	2,14±0,22	2,11±0,23
6	436,86±3,32	456,78±3,37*	443,45±3,30	4,94±0,26	5,97±0,30*	5,89±0,29*	1,13±0,06	1,31±0,07	1,29±0,07
7	743,51±3,42	756,87±3,39*	753,54±3,39*	7,94±0,34	9,08±0,36*	9,02±0,38*	1,07±0,05	1,20±0,04	1,18±0,04
8	1413,39±3,32	1426,70±3,33*	1420,04±5,78	14,34±0,61	15,08±0,36	15,00±0,38	1,02±0,05	1,06±0,03	1,05±0,03
9	2623,44±3,34	2636,89±3,37*	2626,89±3,31	18,41±0,38	19,72±0,31*	19,56±0,37*	0,70±0,05	0,75±0,01*	0,75±0,01*
10	3043,50±3,33	3056,92±3,36*	3050,25±5,81	23,92±0,42	25,01±0,37	24,84±0,30	0,79±0,03	0,82±0,01	0,82±0,01
11	3540,10±5,75	3560,19±5,75*	3553,52±3,34*	29,00±0,38	30,01±0,34	29,81±0,34	0,82±0,02	0,85±0,01	0,84±0,01
12	5043,51±3,41	5056,94±3,36*	5050,27±5,85	30,98±0,37	31,99±0,37	31,86±0,30	0,61±0,001	0,63±0,008	0,63±0,01
13	6923,56±3,32	6926,95±3,36	6920,29±5,79	35,88±0,27	36,99±0,33*	36,92±0,40*	0,52±0,007	0,53±0,005*	0,53±0,005*
14	9936,90±3,32	9947,07±3,35	9940,40±5,80	39,88±0,24	41,04±0,30*	40,98±0,36	0,40±0,004	0,41±0,003*	0,41±0,003*
15	13340,23±5,75	13360,36±5,81*	13340,40±5,83	41,82±0,40	42,80±0,39	42,80±0,39	0,31±0,003	0,32±0,003	0,32±0,003
16	17040,33±5,80	17060,36±5,77*	17047,02±8,81	43,91±0,24	44,60±0,34	44,55±0,34	0,26±0,001	0,27±0,002	0,26±0,002
17	18060,35±5,76	18080,38±5,80*	18057,05±3,32	46,77±0,34	48,02±0,30*	47,85±0,31*	0,26±0,001	0,27±0,002*	0,27±0,002*
18	22860,21±5,70	22887,05±3,32*	22877,05±3,32*	48,90±0,26	50,04±0,29*	49,97±0,36*	0,21±0,002	0,22±0,001*	0,22±0,003
19	26560,25±5,81	26580,38±5,76*	26570,38±5,76	54,00±0,29	55,08±0,35*	54,91±0,37	0,20±0,002	0,21±0,001*	0,21±0,001
20	30390,23±5,74	30420,19±5,74*	30413,52±3,37*	57,99±0,40	58,41±0,59	58,24±0,57	0,19±0,002	0,19±0,002	0,19±0,002

Таблица 1 – Изменение массы тела и глаз куриного эмбриона в антенатальном онтогенезе.

Примечание: * - достоверная разница (P<0,05)

2.2.2. Возрастные изменения сетчатой оболочки глаза эмбрионов кур

Цыплят подопытных и контрольных групп вскрывали со 2-ых суток инкубации по часам. Данные по результатам размера сетчатой оболочки приведены в графиках.

Графики (рис. 4,5,6) дают нам возможность увидеть улучшение в развитии сетчатой оболочки в подопытной группе 1 по отношению к контрольной. На (рис. 5) видно развитие сетчатой оболочки с заметным превосходством подопытной группы 1. Различия оказались статистически достоверными по всем периодам инкубации.

Периоды активного роста выявлены во всех временных интервалах: подопытная группа 1 превосходила контрольную группу на 48 часах развития – на 11,3%; 49 – на 9,1%; 51-52 – на 12%, 53-55 - на 13%, 56 – на 12%, 65 – на - 5,6%, 66 – на 5,1%, 67 - на 6,6%, 68 – на 8%, 69 – на 7,1%, 70 – на 7,1%, 71– на 8%, 72 – на 9%.

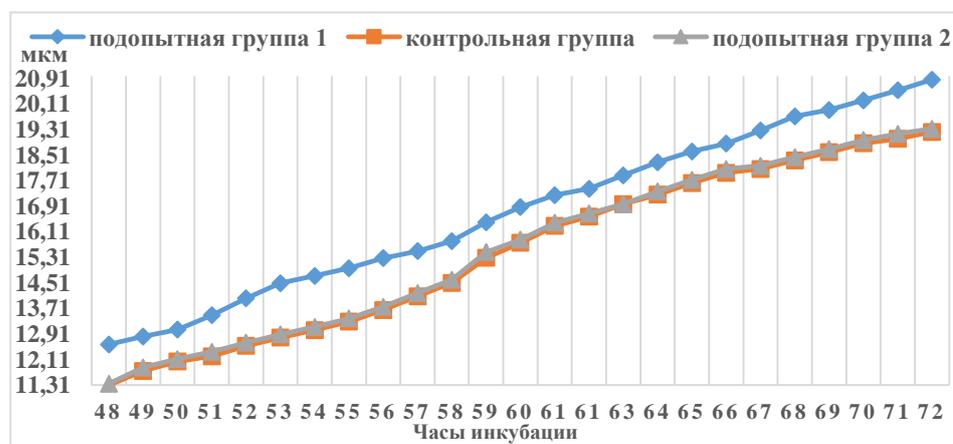


Рисунок 4 – Изменение толщины сетчатой оболочки на 2 день инкубации

Как видно на (рис. 5) развитие сетчатой оболочки идет практически параллельно в трёх группах, но с заметным превосходством подопытной группы 1. На 98-99 часов – на 5%, 101 – на 5%, 102 – на 4,2%, 103 – на 4,6%, 104-107 – на 4%, 108 – на 3,7%, 109 – на 3,4%, 110-113 – на 3,6%, 114 – на 4,2%, 115 – на 3,4%, 116 – на 3,7%, 117 – на 3,5%, 118 – на 3,7%, 119, - на 3%, 120-121 – на 3,6%, 122 – на 3,4%.

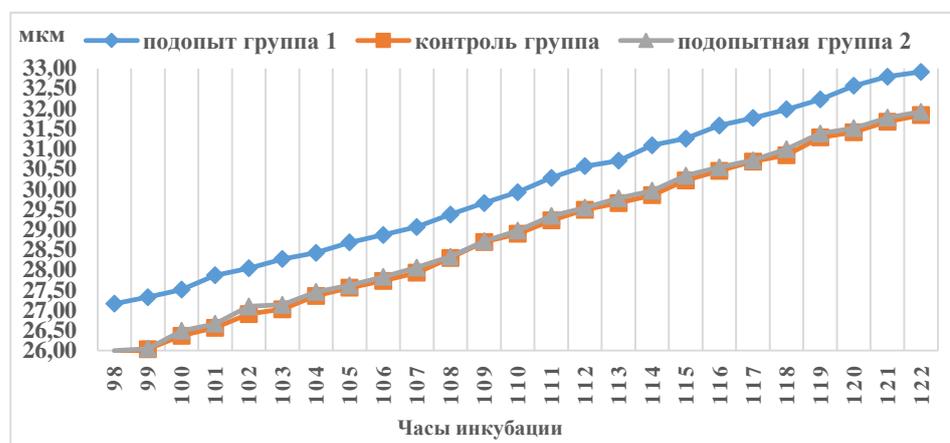


Рисунок 5 – Изменения толщины сетчатой оболочки на 4 день инкубации

В графике (рис.6) представлены результаты исследований толщины сетчатки на 7 сутки инкубации. Периоды активного роста выявлены в 4-х временных интервалах: 173, 174-185, 186-196 часов развития.

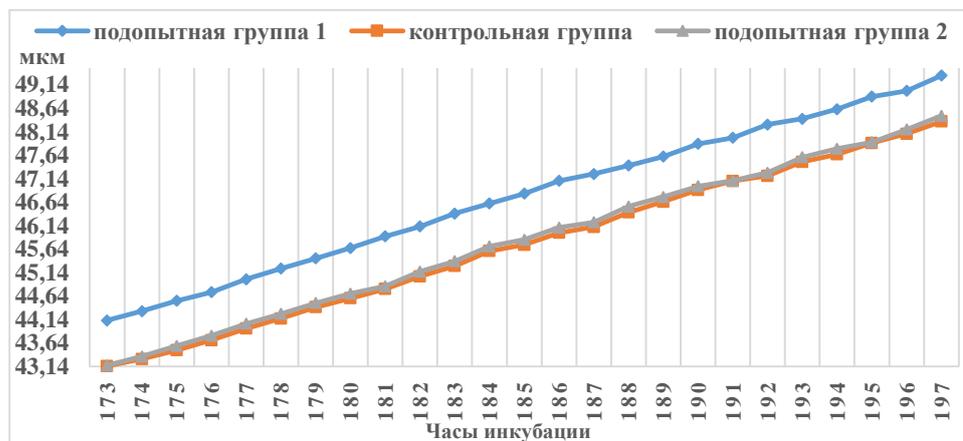


Рисунок 6 – Изменения толщины сетчатой оболочки на 7 день инкубации

Подопытная группа 1 превосходила контрольную группу в течении всех часов инкубации со 173 часа - на 2,3%, 174-185 – на 2,4%, 186-190 – на 2,4%, 191 – на 3%, 192 – на 2,3%, 193-194 – 2%. Отмечается статистически достоверная разница.

Слои сетчатой оболочки представлены в таблице 2. Согласно полученным результатам подопытная группа 1 контрольную группу.

При исследовании слоёв сетчатки в 1-ой подопытной группе их толщина оказалась больше чем в контрольной группе. Это изменение связано с увеличением количества клеток на единицу площади. Наиболее тонким слоем оказался слой нервных волокон. Самыми сформированными на данном этапе развития оказались ганглиозный, наружный ядерный и внутренний ядерный слои. Данные по толщине этих слоёв представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Толщина слоёв сетчатой оболочки глаза куриного эмбриона в антенатальном онтогенезе, мкм

Пигментный слой		
Возраст (в сут)	Подопытная группа 1	Контрольная группа
13	6,59±0,43	5,88±0,63
15	8,30±1,05	7,65±1,05
17	10,11±0,60	9,28±0,62
20	12,32±0,68	11,55±0,59
Фоторецепторный слой		
Возраст (в сут)	Подопытная группа 1	Контрольная группа
13	4,69±0,51*	3,89±0,53
15	7,08±1,04	6,25±1,05
17	8,04±0,53*	7,22±0,51
20	10,18±0,55*	9,03±0,50
Наружная глиальная пограничная мембрана		
Возраст (в сут)	Подопытная группа 1	Контрольная группа
13	7,63±0,24	6,88±0,77
15	11,09±0,55	10,15±0,56
17	15,46±0,58	14,15±0,60

20	18,07±0,59	17,17±0,55
Наружный ядерный слой		
Возраст (в сут)	Подопытная группа 1	Контрольная группа
13	3,16±0,65*	2,68±0,57
15	6,10±1,02*	5,44±1,03
17	7,34±0,61*	6,52±0,84
20	9,36±0,65*	8,61±0,74
Наружный сетчатый слой		
Возраст (в сут)	Подопытная группа 1	Контрольная группа
13	6,46±0,45*	5,69±0,52
15	9,04±0,53*	8,24±0,54
17	9,31±0,51	8,70±0,50
20	13,40±0,56*	12,63±0,51
Внутренний ядерный слой		
Возраст (в сут)	Подопытная группа 1	Контрольная группа
13	15,11±0,62*	14,48±0,46
15	16,25±0,66*	15,56±1,15
17	18,01±0,90*	17,41±0,83
20	19,00±0,47*	18,54±0,62

Продолжение таблицы 2

Внутренний сетчатый		
Возраст (в сут)	Подопытная группа 1	Контрольная группа
13	13,57±0,48*	12,90±0,41
15	15,32±0,55	14,67±0,56
17	16,41±0,42*	15,52±0,56
20	17,21±0,55*	16,33±0,53
Ганглиозный слой		
Возраст (в сут)	Подопытная группа 1	Контрольная группа
13	25,38±0,52*	24,65±0,38
15	26,05±0,49*	25,36±0,92
17	30,53±0,50*	29,44±0,59
20	31,07±0,61*	30,19±0,99
Слой нервных волокон		
Возраст (в сут)	Подопытная группа 1	Контрольная группа
13	4,48±0,45	3,64±0,47
15	6,47±0,47	5,63±0,55
17	8,06±0,53	7,22±0,58
20	9,32±0,56	8,64±0,61
Внутренняя глиальная пограничная мембрана		
Возраст (в сут)	Подопытная группа 1	Контрольная группа
13	3,11±0,54	2,42±0,63
15	5,06±0,35	4,33±0,43
17	7,07±0,46*	6,35±0,49
20	9,00±0,44	8,34±0,52

Примечание: *p<0,05

На рисунке 7 хорошо видно почасовое развитие хрусталика, хрусталикового волокна и роговицы, и эмбрионов. Развитие хрусталика идет параллельно относительно друг другу во всех группах, но подопытная группа 1 превосходит по размерам контрольную группу. Отличительная разница роста

глаз выражается в следующих соотношениях, в 9 временных интервалах: со 119-138 час – на 5,3%, 139-147- на 5,4%, 149-162 – на 4,4%, 163-165 – на 3%, 166-169 – 3,2%, 170-174 – на 3,6%, 175-181 – на 3,8%, 182-185 – на 3,3%, 186-187 – на 4%.

Развитие роговицы исследовано нами в 3 группах. Разница в росте толщины роговицы глаз в подопытной группе 1 по сравнению с контрольной группой исследована в следующих, по часам антенатального развития, 6 временных интервалах: со 123 часов – на 7%, 124 – на 7%, 125 – на 9%, 126 – на 8%, 127-128 – на 7%, 129-130 – на 5%, 133-144 – на 3%, 145-149 – на 2%, 150-163 – на 2%, 164-178 – на 3%, 179-197 на – 9%. Отмечается статистическая достоверная разница.

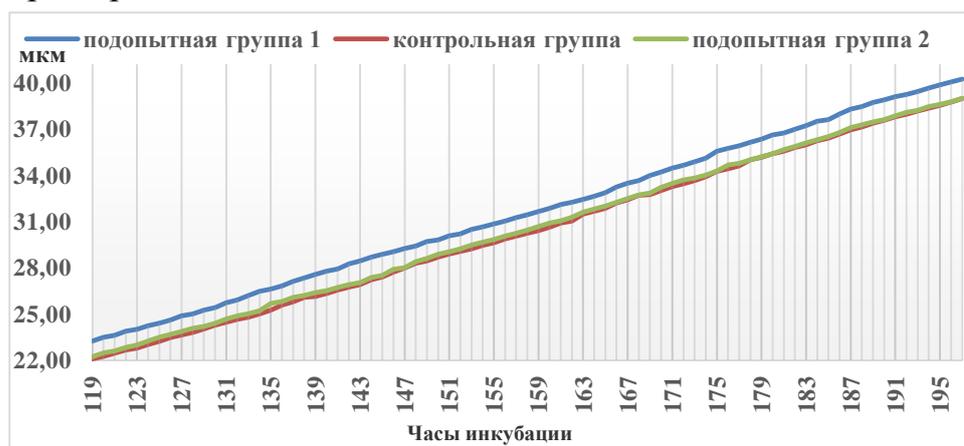


Рисунок 7 – Изменение размера толщины хрусталика

Гистологические исследования постнатального периода проводили у цыплят на 10 день жизни. Они дали возможность четко увидеть все слои сетчатки глаза. Согласно полученным результатам наибольшую толщину имеет ганглиозный слой. За ним следует внутренний ядерный слой, наружный ядерный слой, палочки и колбочки, а самым тонким слоем является слой нервных волокон. В подопытной группе 1 видно, что сами клетки увеличились в размере и стали крупнее в ганглионарном слое на – $33,95 \pm 1,12$ мкм и $32,52 \pm 1,04$; наружной глиальной пограничной мембране – $18,05 \pm 1,67$ и $17,55 \pm 1,20$ мкм, наружном сетчатом слое - $13,05 \pm 1,35$ и $12,53 \pm 1,52$ мкм, наружном ядерном слое – $11,54 \pm 1,35$ и $12,53 \pm 1,52$ мкм.

В гистологических срезах хрусталика у 10-ти суточных цыплят было проведено измерение хрусталикового волокна. В подопытной группе 1 размер хрусталикового волокна составил $10,24 \pm 1,23$ мкм. В контрольной группе составило $9,56 \pm 0,78$ мкм. Данные подтверждают, что у цыплят 10-ти суточного возраста хрусталиковое волокно под действием рибофлавина имеет достоверную разницу, что хорошо видно на гистологических срезах.

2.2.3. Архитектоника структурных элементов зрительного анализатора эмбрионов кур в онтогенезе

Предложенный нами способ архитектурных исследований заключается в том, что глаза у эмбрионов изучаются совмещением методов

макро- и микроскопических исследований, что позволяет визуально и на фотографических отпечатках отслеживать перемещение структурных элементов глазного яблока в возрастной динамике.

Предлагаемый нами способ нужен для того, чтобы выяснить возрастные изменения в топографии и размерах структурных элементов глазного анализатора.

2.2.4. Влияние препаратов мидриатического и миотического действия на зрачок кур

Нами были проведены исследования глаз у кур при помощи прямого офтальмоскопа и щелевой лампы. В глазном дне удалось рассмотреть серый рефлекс. Перед этим одной группе закапывали в глаз атропин, в соответствии с инструкцией, и выдерживали 40-45 минут. Эффекта не наблюдалось. Затем закапывали каждые 20 минут в течение двух часов. Зрачок у птиц, в отличие от млекопитающих, значительно сузился.

Второй группе кур закапывали пилокарпин в соответствии с инструкцией и выдерживали 60 минут; эффекта не было. Затем закапывали также каждые 20 минут в течение двух часов. Зрачок у птицы стал расширяться, в отличие от млекопитающих.

Можно сделать вывод, что у птиц, по сравнению с млекопитающими, атропин оказывает на зрачок мидриатическое действие, а препарат пилокарпин миотическое, т.е. противоположное воздействие этих веществ на сфинктер и дилататор зрачка.

3. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

По результатам наших опытов можно сделать вывод о том, что воздействие рибофлавина на инкубационное яйцо оказало стимулирующее действие на развитие зрительного анализатора кур в онтогенезе. Структурные элементы глазного яблока имели больший размер по сравнению с таковыми у эмбрионов из контрольной группы. Изотонический раствор хлорида натрия не оказал воздействия на гисто- и цитогенез оболочек глаз у эмбрионов кур.

В постнатальном онтогенезе сохранилось положительное влияние раствора рибофлавина на размер оболочек, их слоев и входящих в их состав клеток.

При исследовании воздействия вазодилататоров и вазоконстрикторов на величину зрачка у кур обнаружен их противоположный эффект по сравнению с млекопитающими.

4. ИТОГИ ВЫПОЛНЕННОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

1) Использование рибофлавина в концентрации 0,002%, стимулировало развитие как всего глазного яблока на 0,72%, так и его рецепторного аппарата – сетчатой оболочки на 141,03 мкм (248,93 мкм в опытной и 141,03 мкм в контрольной группе). Внутренняя глиальная пограничная мембрана на 8%, слой нервных волокон на 8%, внутренний

сетчатый на 5,4%, внутренний ядерный слой на 2,3%, наружный сетчатый слой на 6,10%, наружный ядерный слой на 8,7%, наружная глиальная пограничная мембрана на 5,2%, фоторецепторный слой на 12,7%, пигментный слой на 6,7%.

2) Использование рибофлавина в концентрации 0,002%, стимулировало увеличение хрусталика глаза на 2% в росто-каудальном направлении и 3% в дорсо-вентральном направлении. Данные подтверждают, что у цыплят 10-ти суточного возраста хрусталиковое волокно под действием рибофлавина имеет достоверную разницу, что хорошо видно на гистологических срезах глаза у цыплят из подопытной группой 2 и контрольной.

3) Использование рибофлавина в концентрации 0,002%, стимулировало развитие толщину роговицы на 20 сутки эмбрионального развития на 35,51 мкм. У цыплят бройлеров разница роговицы в толщине составило на 10,2% больше, по сравнению с контрольными цыплятами.

4) Определены стадии активного роста глазного яблока на 4-5-е, 6-7-е, 9-10-е, 11-12-е дни, и относительного замедления скорости роста с 13-20 дни, которые отличаются от подопытной группы с воздействием рибофлавина на 4-е сутки инкубации на 1,7%, на 5-е сутки – на 0,7%, на 7-е сутки - на 0,4%.

5) Введения изотонического раствора натрия хлорида в инкубационные яйца не вызвало изменений в структуре и морфометрических показателях глазного яблока эмбрионов кур в антенатальном и постнатальном звеньях онтогенеза.

6) Определены антенатальные онтогенетические изменения архитектоники структурных элементов и формы глазного яблока у эмбрионов кур.

7) Установлено, что дилататоры сфинктера зрачка у кур иннервируются симпатическими волокнами ресничных нервов (пилокарпином), а констрикторы сфинктера зрачка парасимпатическими волокнами (атропином).

5. РЕКОМЕНДАЦИИ И ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

1. Воздействие раствора рибофлавина в концентрации 0,002%, предложенным нами способом, может быть использовано в практическом птицеводстве для улучшения восприятия зрительным анализатором птиц светового раздражения.

2. Полученные в ходе исследования результаты по возрастным морфофункциональным изменениям в зрительном анализаторе куриных эмбрионов могут быть использованы при изучении анатомии и эмбриологии птиц обучающимся, при проведении научно-исследовательских работ.

3. Полученные данные по воздействию на зрачок могут быть использованы в клинической ветеринарной офтальмологии.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Дмитриева О.С., Сулейманов Ф.И., Половинцева Т.М., Шутенков А.Г. Гистологические изменения глазного яблока эмбрионов кур за первую неделю антенатального развития / О.С. Дмитриева, Ф.И. Сулейманов, Т.М. Половинцева, А.Г. Шутенков // Научно-производственный журнал «Иппология и ветеринария» №2 (20) 2017. – С.49-55.

2. Сулейманов Ф.И., Дмитриева О.С., Окадьев Е.В. Гистологическая характеристика развития зрительного анализатора у эмбрионов кур в антенатальном онтогенезе / О.С. Дмитриева, Ф.И. Сулейманов, Е.В. Окадьев // Научно-производственный журнал «Иппология и ветеринария» №2 (20) 2017. – С. 74-78.

3. Дмитриева О.С., Сулейманов Ф.И., Половинцева Т.М. Гистологические изменения в сетчатке глаза куриного эмбриона на второй и третьей неделе антенатального развития / О.С. Дмитриева, Ф.И. Сулейманов, Т.М. Половинцева // Научно-производственный журнал «Иппология и ветеринария» №1 (27) 2018. – С.70-75.

4. Сулейманов Ф.И., Дмитриева О.С. Морфологические изменения глазного яблока под влиянием рибофлавина у цыплят-бройлеров 10-ти дневного возраста / Ф.И. Сулейманов, О.С. Дмитриева // Научно-производственный журнал «Международный вестник ветеринарии» -№1-2018 г. – С.64-69.

5. Дмитриева О. С. Влияние рибофлавина на зрительный анализатор эмбрионов кур в антенатальном онтогенезе /О. С. Дмитриева //Известия Великолукской ГСХА. – 2017. -№ 3 – С.17-22

6. Дмитриева О. С. Влияние рибофлавина на массу тела и глаз эмбрионов кур в антенатальном онтогенезе /О. С. Дмитриева //Известия Великолукской ГСХА. – 2017. -№ 4 – С.2-7

7. Дмитриева О.С. Особенности влияния мидриатических и миотических препаратов на размер зрачка кур / О.С. Дмитриева Е.В. Окадьев // Молодежь – науке и практике АПК: материалы 102-й Междунар. науч.-практ. конф. молодых ученых, посвященной году науки (29-30 мая 2017 г., г. Витебск). – Витебск, 2017. – С. 221.

8. Дмитриева О.С., Сулейманов Ф.И., Окадьев Е.В. Шутенков А.Г. Архитектоника структурных элементов зрительного анализатора эмбрионов кур в онтогенезе / О.С. Дмитриева, Ф.И. Сулейманов, Е.В. Окадьев, А.Г. Шутенков // Norwegian Journal of development of the International Science №4/2017. – С.96-100.

9. Сулейманов Ф.И., Суйя Е.В., Шутенков А.Г., Дмитриева О.С. Развитие зрительного анализатора у эмбрионов кур в онтогенезе и при влиянии витамина В₂ (рибофлавина) / Ф.И. Сулейманов, Е.В. Суйя, А.Г. Шутенков, О.С. Дмитриева // Материалы XIX Международной конференции ВНАП – Сергиев Посад 2018. – С. 689-691.

10. Сулейманов Ф.И., Суйя Е.В., Шутенков А.Г., Дмитриева О.С. Воздействие магнитного поля и лазерного излучения на развитие эмбрионов

кур / Ф.И. Сулейманов, Е.В. Суйя, А.Г. Шутенков, О.С. Дмитриева // Материалы XIX Международной конференции ВНАП – Сергиев Посад 2018. – С. 686-689.

11. Дмитриева О.С. Продуктивность кур и связь её с развитием зрительного анализатора в онтогенезе /О. С. Дмитриева // Научный вклад академии в развитие региона 09-10 ноября 2017 г. – С.189-195.

12. «Способ исследования архитектоники структурных элементов органов у мелких животных» // Патент России №2017109792. 2018. Бюл. №27 / Сулейманов Ф.И., Суйя Е.В., Окатьев Е.В., Дмитриева О.С., Шутенков А.Г. (Состояние делопроизводства: экспертиза по существу).

Дмитриева Оксана Сергеевна (Россия)

Развитие зрительного анализатора цыплят-бройлеров в онтогенезе и воздействие на него рибофлавина

У эмбрионов кур были проведены почасовые исследования со 2 по 7 сутки инкубации, а также на 10, 13, 15, 17 и 20 дни антенатального развития: сетчатой оболочки, хрусталика, роговицы и самого глазного яблока. В ходе проведенных исследований нами установлено, что рибофлавин оказал положительное действие на величину структурных элементов глаз у эмбрионов кур в онтогенезе. В подопытной группе при воздействии рибофлавина, их толщина оказалась статистически достоверно больше чем в контрольной группе.

На гистологических срезах описаны величина хрусталиковых волокон, экваториальная зона размножения эпителиальных клеток, были измерены толщина роговой оболочки, слоёв сетчатки, величина самого хрусталика.

В постнатальном онтогенезе установлена отличительная особенность воздействия мидриатиков и миотиков на величину зрачка у кур по сравнению с млекопитающими.

Dmitrieva Oksana Sergeevna (Russia)

Development of the visual analyzer of broiler chickens in ontogenesis and the effect of Riboflavin on it

In chicken embryos, hourly studies were conducted from 2 to 7 days of incubation, as well as on 10, 13, 15, 17 and 20 days of antenatal development: the retina, lens, cornea and the eyeball itself. In the course of our studies, we found that Riboflavin had a positive effect on the size of the structural elements of the eye in chicken embryos in ontogenesis. In the experimental group under the influence of Riboflavin, their thickness was statistically significantly greater than in the control group.

On histological sections described, the value of the lens fibers, the Equatorial area of reproduction of epithelial cells, was measured thickness of the cornea, layers of the retina, and the size of the lens.

In postnatal ontogenesis, a distinctive feature of the effect of myriatics and myotics on the size of the pupil in chickens compared to mammals was established.