

На правах рукописи

Иссе Мохамед Яссин

**ИММУНОФИЗИОЛОГИЧЕСКОЕ И МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЕ
ОБОСНОВАНИЕ ПРИМЕНЕНИЯ ПЧЕЛИНОГО ПОДМОРА ПРИ
ВЫРАЩИВАНИИ ПЕРЕПЕЛОВ**

Специальности: 03.03.01 – Физиология
03.02.03 – Микробиология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Москва – 2019

Работа выполнена на кафедре микробиологии и иммунологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева»

Научный руководитель: **Маннапова Рамзия Тимергалеевна,**
доктор биологических наук, профессор,
профессор кафедры микробиологии и
иммунологии ФГБОУ ВО РГАУ – МСХА
имени К.А. Тимирязева

Официальные оппоненты: **Плешакова Валентина Ивановна,**
доктор ветеринарных наук, профессор;
заведующий кафедрой ветеринарной
микробиологии, инфекционных и инвазионных
болезней Института ветеринарной медицины и
биотехнологии ФГБОУ ВО «Омский
государственный аграрный университет имени
П.А. Столыпина»
Сачивкина Надежда Павловна,
кандидат биологических наук, доцент, доцент
кафедры микробиологии и вирусологии
ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы
народов»

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего
образования «Саратовский государственный
аграрный университет имени Н.И. Вавилова»

Защита состоится «25» сентября 2019 г. в 13⁰⁰ час. на заседании диссертационного совета Д 220.043.09 на базе ФГБОУ ВО «Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева» по адресу: 127550, Москва, ул. Прянишникова, д.19, тел./факс: +7(499)976-21-84.

С диссертацией можно ознакомиться в Центральной научной библиотеке имени Н.И. Железнова ФГБОУ ВО «Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева» и на сайте университета: www.timacad.ru.

Автореферат разослан « » _____ 2019 года

Ученый секретарь
диссертационного совета,
кандидат биологических наук, доцент



А.А. Ксенофонтова

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность и степень разработанности темы исследования

Большое внимание исследователей привлекает подмор пчел. В нем присутствуют компоненты мёда, маточного молочка, пыльцы, яда, прополиса, воска, что определяет его разнообразный богатый химический состав и биологическую активность. В хитозановом комплексе хитинового покрова присутствуют: гепарин, глюкозамины, меланин, пчелиный яд, уксусная кислота. Водорастворимый полимер меланин поглощает различные радикалы и служит сильнейшим антиоксидантом, генным и фотопротектором, антимутагеном. В пчелином подморе обнаружены: 27 микроэлементов (в т.ч. Ca, Cr, Al, Cu, Mg, P, Zn, Si, Ag, Mo, Fe), витамины (E, K, D, P, C), белки, аминокислоты, пищевые волокна, жир (Д.В. Герасименко, 2005; Н.В. Погарская, 2008; Л.Р. Алиева, 2010; А.В. Бакулин, 2011; Л.А. Скребнева, 2012; Ф.Ф. Шарнина, 2012; Г.В. Кашина 2014). Исследования пчелиного подмора в основном касаются применения его в медицине, биологии, биотехнологии (З.К. Берикашвили, 2010; Н.И. Шрам, 2014; О.В. Алексеева, 2015; Л.А. Салтыкова, 2018; Д.В. Митрофанова, 2018).

Исследования перепелов касаются вопросов роста и развития, воспроизводства, повышения мясной продуктивности, яйценоскости, улучшения кормления и содержания (Л.И. Лисунова, 2006; Г.Д. Афанасьев, 2006, 2013, 2014, 2015; А.В. Макарова, 2007; В.И. Фисинин, 2010; Л.Г. Коршунова, 2016; И.А. Алексеев, 2011; С.В. Хусид, 2015; Е.В. Толпышева, 2016; Р.Б. Тимираева, 2016).

Учитывая, что пчелиный подмор является одним из немногих биологически активных продуктов, обладающих уникальным комплексным составом, с широким спектром действия, без нанесения ущерба для самого организма, исследования посвящены комплексному изучению влияния разных доз экстракта пчелиного подмора (ЭПП) на механизмы становления и развития гематологического, иммунологического, физиологического, биохимического и микробиологического статуса, с целью проявления биологически заложенных потенциальных возможностей организма перепелов, разводимых в неволе, что определяет актуальность данной работы.

Цель и задачи исследования. Целью исследования явилось - разработать научно- обоснованную систему применения ЭПП для повышения биологически заложенных потенциальных возможностей организма перепелов в развитии функциональных механизмов иммунного ответа, микробиологического гомеостаза желудочно- кишечного тракта и увеличения продуктивности птиц.

Задачи исследования:

1. Изучить влияние разных доз ЭПП на гематологические показатели, состояние естественной резистентности и фагоцитоза перепелов.
2. Установить влияние ЭПП на формирование зрелых ростков иммунокомпетентных клеток в красном костном мозге.
3. Определить влияние разных доз ЭПП на морфофункциональные реакции в иммунокомпетентных структурах сумки Фабрициуса и тимуса перепелов.
4. Изучить морфофункциональные перестройки в иммунокомпетентных структурах селезенки с учетом динамики иммуноцитологических реакций под влиянием ЭПП.
5. Установить степень влияния разных доз ЭПП на динамику взаимодействий автохтонной микрофлоры в осуществлении ассоциативного симбиоза в мышечном и железистом отделах желудка перепелов.
6. Определить влияние разных доз ЭПП на колонизационную резистентность, осуществляемую доминантными и ассоциативными микросимбионтами в тонком и толстом отделах кишечника перепелов.
7. Оценить влияние разных доз ЭПП на биохимические показатели качества мяса, продуктивность и сохранность перепелов.

Научная новизна. Впервые проведены комплексные исследования по изучению влияния разных доз ЭПП на биологические и продуктивные показатели перепелов и установлена оптимальная доза применения. Впервые установлена эффективность и высокая степень биологического воздействия ЭПП в средних дозах на показатели гемопоэза и лейкопоэза, естественной резистентности и фагоцитоза. Впервые определены характер и степень морфофункциональных перестроек в иммунокомпетентных структурах центральных и периферических

органов иммунитета перепелов и изучены иммуноцитологические реакции в них. Впервые разработана научная концепция восстановления под влиянием ЭПП естественного микробиоценоза мышечного и железистого отделов желудка и колонизационной резистентности тонкого и толстого отделов кишечника перепелов. Разработана эффективная схема применения ЭПП для повышения сохранности поголовья и прироста живой массы перепелов, для улучшения биохимических показателей качества мяса.

Теоретическая и практическая значимость.

На основании полученных данных о влиянии ЭПП на показатели гемо- и эритропоза, естественной резистентности, фагоцитоза, иммунного статуса, микробиоценоза желудочно-кишечного тракта теоретически и практически обоснована необходимость применения в перепеловодстве ЭПП, как средства, обладающего свойствами, способствующими созданию в организме перепелов прочного иммунного баланса, восстановлению микробной ассоциации мышечного и железистого отделов желудка, колонизационной резистентности тонкого и толстого отделов кишечника. Результаты позволяют рекомендовать применение пчелиного подмора, как эффективное средство для стимуляции роста и развития, повышения и улучшения качества перепелиного мяса и яиц.

Методология и методы исследований. Основные методологические принципы диссертации базируются на научных принципах и положениях российских и зарубежных ученых в области физиологии, иммунологии и микробиологии. Объектом количественных и качественных исследований были перепела мясной французской породы. В диссертации использованы методы теоретического уровня исследований: анализ, синтез, аналогия, обобщение, моделирование; методы эмпирического уровня познания: эксперимент, наблюдение. Фактологический и цифровой материал получен использованием в работе физиологических, иммунологических, морфометрических, цитологических, гематологических, микробиологических методов исследований.

Основные положения, выносимые на защиту.

1. Влияние разных доз ЭПП на активизацию в организме перепелов процессов и показателей гемо- и лейкопоеза;
2. Состояние естественной резистентности и фагоцитоза в организме перепелов под влиянием разных доз ЭПП;
3. Иммуноцитологические реакции красного костного мозга перепелов на разные дозы ЭПП;
4. Морфофункциональные и иммуноморфологические реакции в иммунокомпетентных структурах сумки Фабрициуса и тимуса перепелов.
5. Влияние разных доз ЭПП на морфофункциональные и иммуноморфологические перестройки в структурах селезенки;
6. Влияние разных доз ЭПП на микробно-микологическую экологию (*Bifidobacterium spp.*, *Lactobacillus spp.*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichiae coli*, *Candida albicans*) мышечного и желудочного отделов желудка перепелов.
7. Влияние разных доз ЭПП на микробно-микологическую экологию тонкого и толстого отделов кишечника перепелов.
8. Влияние разных доз ЭПП на сохранность поголовья, продуктивные показатели, эффективность применения ЭПП при выращивании перепелов.

Степень достоверности. Работа выполнена с использованием сертифицированного оборудования и приборов, прошедших поверку средств измерений, согласно ГОСТ 8.513-84. Достоверность полученных результатов подтверждена изучением большого объема фактического материала, на большой выборке животных. Цифровой материал подвергался статистической обработке.

Апробация работы. Основные результаты исследований доложены на ежегодных научно-практических конференциях ФГБОУ ВО РГАУ –МСХА, 2016-2018 г.г; на Международной научно-практической конф. «Современные проблемы пчеловодства и пути их решения» (Москва, 2016); на Международной научно-практической конф. «Состояние и перспективы увеличения производства высоко-качественной продукции сельского хозяйства» (Уфа, 2017), на Конгрессе

Международной ассоциации морфологов (Астрахань, 2018), на XXII Международном конгрессе «Апиславия», на Международной конф., посвященной 120 - летию создания кафедры микробиологии и 150- летию профессора Н.Н. Худякова (Москва, 2018); 2 статьи приняты для доклада на VIII съезде научного медицинского общества анатомов, гистологов и эмбриологов (Воронеж, май 2019).

Публикации. По теме диссертационного исследования опубликовано 12 научных работ, в том числе 5 статьи в ведущих рецензируемых журналах, утвержденных ВАК РФ, включая 3 статью из МБД Scopus, а также 2 работы находятся в печати.

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 161 странице компьютерного текста. Включает: введение, обзор литературы, материалы и методы, результаты собственных исследований, заключение, выводы и практические предложения. Библиографический список включает 149 источников, в том числе 58 зарубежных. Работа иллюстрирована 2 схемами, 35 таблицами, 25 рисунками в виде графиков и диаграмм и микрофотографий

Личный вклад автора. На всех этапах выполнения диссертации (в постановке цели, разработке задач, плана проведения экспериментальных исследований, их выполнения, анализе и интерпретации полученного материала) автор принимал личное участие.

Благодарность. Автор выражает благодарность зав. кафедрой частной зоотехнии, д. с/х. наук, профессору Афанасьеву Г.Д. и доценту кафедры, к. с/х. н., Кормачеву А.С. за консультации в инкубировании в условиях птичника кафедры перепелят, в организации опытов; зав. кафедрой аквакультуры и пчеловодства д.б.н., профессору Маннапову А.Г., зав. кафедрой физиологии, этологии и биохимии, д.б.н., профессору Иванову А.А., профессору кафедры ветеринарии ВГБОУ ВО «МГУПП», д.б.н. Ленченко Е.М. за консультации и помощь в овладении методами исследований, предоставление оборудования и материалов при выполнении некоторых разделов диссертации.

2.0 Материалы и методы исследований

Исследования проводились в лабораториях кафедр микробиологии и иммунологии; аквакультуры и пчеловодства ФГБОУ ВО «РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева». Опыты проводились в условиях птичника кафедры частной зоотехнии на перепелах мясной французской породы, в количестве 140 штук, которые были выведены путем инкубирования. Содержали птиц в клеточных батареях БВМ-Ф-4Ц для молодняка. Освещенность, $T^{\circ}C$, влажность в помещении, плотность посадки, тип кормления соответствовали рекомендациям ВНИТИП. Убой птиц проводили на 7, 14, 30, 45, 60, 90 и 210 сут. опыта. Гематологические исследования проводили на гематологическом ветеринарном анализаторе автомате «PCE-90 Vet». Бактерицидную активность сыворотки крови определяли по методу Мишеля Теффера в модификации О.В. Смирновой и Т.А. Кузьминой (1966 г.), с культурой *E.coli*; лизоцимную - по В. Г. Дорофейчуку (1983) с тест культурой *M. lisdecticus*.

Схема включения в рацион перепелов ЭПП

Группы	Дозы ЭПП . Во всех группах ОР: ПК-5 и вода вволю.
1	Контроль (условия содержания и кормления одинаковые с опытными группами)
2	ЭПП: с 15 сут. возраста с водой в течение 30 сут. (0,1 мл ЭПП на 100 г массы). При средней живой массе 55-57 г Низкая доза: 0,05 мл/гол (1 капля на птицу; 10 капель на 10 птиц на 100 мл воды
3	Средняя доза: 0,1 мл/гол (2 капли на птицу, 20 капель на 10 птиц на 100 мл воды
4	Высокая доза: 0,3 мл/гол (6 капель на птицу, 60 капель на 10 птиц на 100 мл воды

Определение ФА псевдоэозинофилов крови проводили методом В.М. Бермана и Е.М. Славской (1982), с культурой *Staphylococcus aureus*. Взвешивание птиц и органов проводили на весах ВЛКТ-500М (ГОСТ 241-04-80) с точностью до 0,001 г. Кусочки органов фиксировали в 10%-ном нейтральном формалине. Парафиновые срезы окрашивали гематоксилин-эозином, азур II эозином. Площадь зон лимфоидных органов определяли методом точечного счета А.А. Глаголева, с использованием окулярной сетки под стереоскопической лупой МБС-9 (Автандилов Г.Г., 1990). Мазки из пунктата костного мозга окрашивали

по Паппенгейму. Подсчет клеток осуществляли с использованием 100-узловой морфометрической сетки. Фотографирование гистопрепаратов производили с помощью установки для микрофотографирования, состоящей из микроскопа Carl Zeiss AxioStar Plus и фотографической насадки с фотоаппаратом CANON PowerShot A640.

S. aureus выделяли на кровяном солевом МПА. Из чистой культуры ставили реакции на фибринолизин, лецитиназу и скрытую гемолитическую активность. *E. coli* выделяли на МПА, МПБ, средах Эндо и Левина. Чистую культуру *E. coli* типировали в реакции агглютинации. *E. faecalis* и *E. faecium* культивировали селективном агаре по Сланцу и Бертли и на канамицин эскулин азид агаре. Выделение *Bifidobacterium spp.* проводили на среде Блаурокка, *Lactobacillus spp.* - на среде МРС. *C.albicans* выделяли на средах Сабуро, сусло- агаре и ставили реакцию на ферментацию глюкозы и мальтозы.

Статистический анализ количественных данных проводили с использованием программ *Statistica 6.1* и приложения *Excel* из пакета *MS Office 2007*.

3.0 Результаты исследований

3.1 Влияние разных доз ЭПП на гематологические показатели перепелов

В процессе опыта отмечалось повышение содержания эритроцитов в крови птиц всех групп, но данные по 2 и 3 группам были выше, чем в контроле, по 4 группе - имели тенденцию к снижению. Максимальная продукция красным костным мозгом птиц эритроцитов регистрировалась на 60 сут. опыта. К этому периоду показатель перепелов 2 и 3 групп был выше на $0,5$ и $0,8 \cdot 10^{12}/л$, а 4 группы - на $0,9 \cdot 10^{12}/л$ ниже контрольного значения. Подобным образом изменялась динамика гемоглобина. Колебания в содержании эритроцитов и гемоглобина отражались и на уровне гематокрита в крови перепелов. Содержание лейкоцитов в крови перепелов опытных групп уже с 7 сут. эксперимента имело отличия, по сравнению с контролем. Данные птиц 2 и 3 групп, во все последующие сроки опыта, были достоверно выше их значений в контроле. Уровень тромбоцитов через 7 сут. имел заметные колебания: от $95,2$ до $115,7 \cdot 10^9/л$ и во все сроки опытов был максимальным в крови перепелов 3 группы.

Данные по исследованию влияния разных доз ЭПП на динамику показателей лейкограммы в крови перепелов представлены на рисунке 1.

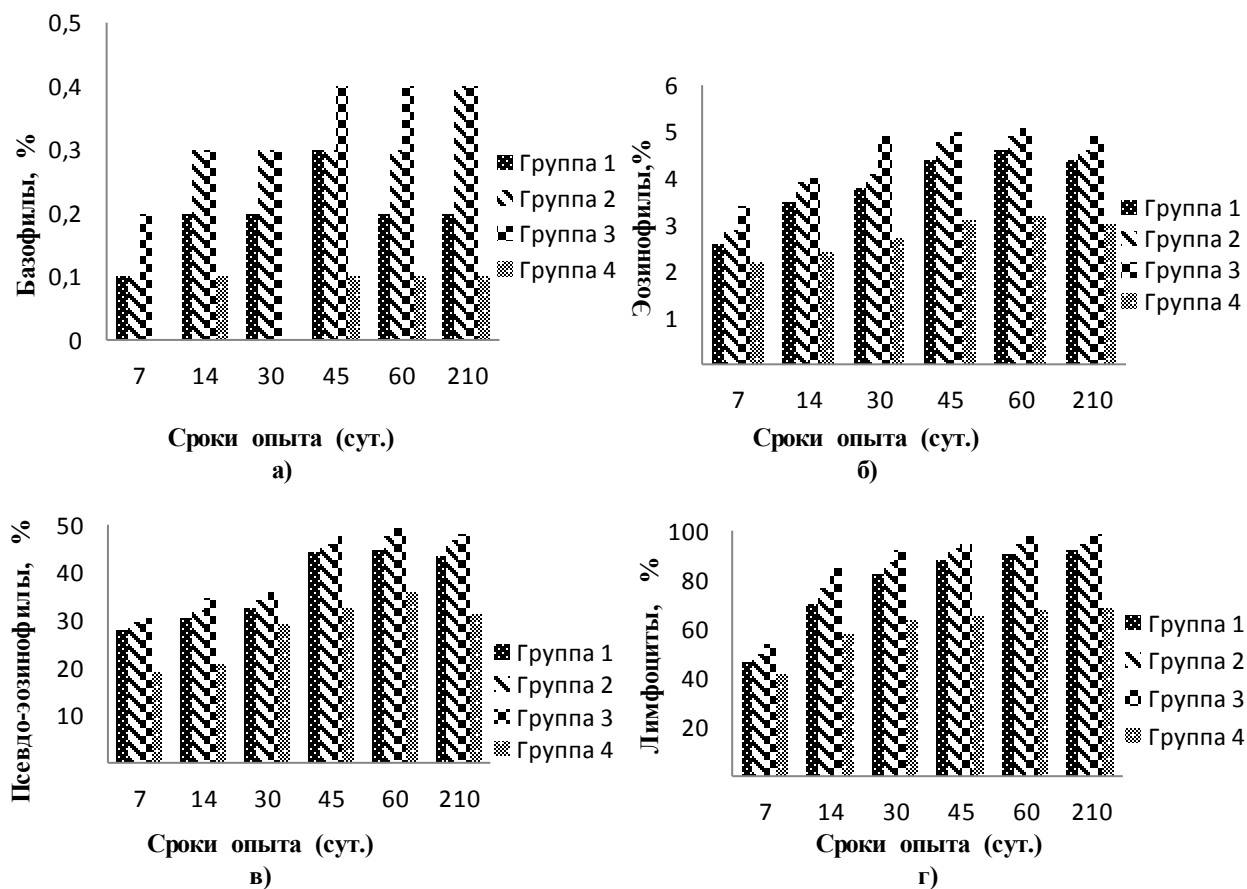


Рис.1. Влияние разных доз ЭПП на динамику показателей лейкограммы в крови перепелов: а) базофилов, б) эозинофилов в) псевдоэозинофилов, г) лимфоцитов. Обозначения: здесь и далее: 1 группа – контрольная, 2 группа – низкие дозы, 3 – группа – средние дозы, 4 – группа – высокие дозы.

3.2 Влияние экстракта пчелиного подмора на физиолого-морфологические реакции иммунной системы и иммунного ответа в организме перепелов

3.2.1 Влияние разных доз ЭПП на естественную резистентность и фагоцитоз

Бактерицидная активность сыворотки крови (БАСК) перепелов к 14 сут. опыта имела достоверные различия по группам и по 3 группе превышала показатели 1, 2 и 4 групп в 1,2; 1,12 и 1,77 раза. Эта тенденция продолжалась и во все последующие сроки исследований. Подобно БАСК изменялась динамика лизоцимной активности сыворотки крови (ЛАСК) перепелов (рисунок 2).

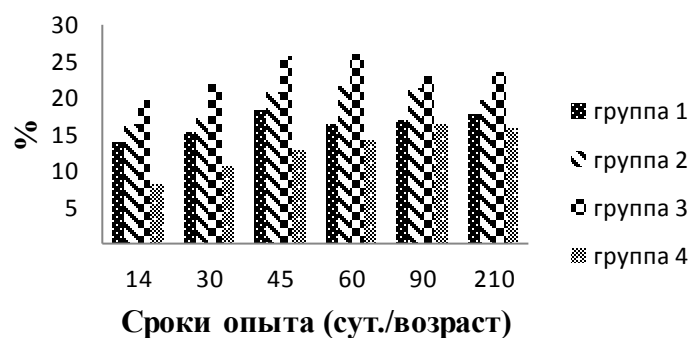


Рис.2. Динамика лизоцимной активности сыворотки крови перепелов

Разные дозы ЭПП оказывают заметное влияние не только на показатели гуморального звена иммунитета (БАСК и ЛАСК), но и клеточного звена иммунитета – фагоцитарную активность (ФА) псевдоэозинофилов крови (таблица 1).

Таблица 1 Динамика ФА псевдоэозинофилов под влиянием разных доз ЭПП

Группы	Стат. показатель	Сроки опыта, сут/возр., в %					
		14/28	30/45	45/60	60/75	90/105	210/225
		ФА псевдоэозинофилов					
1	М	36,5	42,6	46,5	47,4	50,2	49,3
2	М	38,9	44,8	49,0	52,5	55,6	58,7
3	М	44,6	49,7	54,5	59,7	58,9	62,3
4	М	21,3	23,0	24,6	28,8	30,2	36,4

Здесь и далее в таблицах 1 группа - контроль, 2-я группа – низкие дозы, 3 группа – средние дозы, 4 группа – высокие дозы. $P \leq 0,05$

3.2.2. Влияние разных ЭПП на морфофункциональные показатели в иммунных органах перепелов

Результаты исследования динамики содержания клеток в мазках - отпечатках из красного костного мозга перепелов представлены на рисунке 3. Низкие дозы вызывают ее умеренную активизацию, средние - способствуют более выраженной выработке клеток эритроидного ростка, зернистого ростка лейкоцитов и лимфоидных клеток. Высокие дозы затормаживали иммунологическую активность красного костного мозга, что связано с высокой концентрацией биологически активных компонентов в ЭПП и включением супрессивных защитных механизмов со стороны иммунной системы организма перепелов.

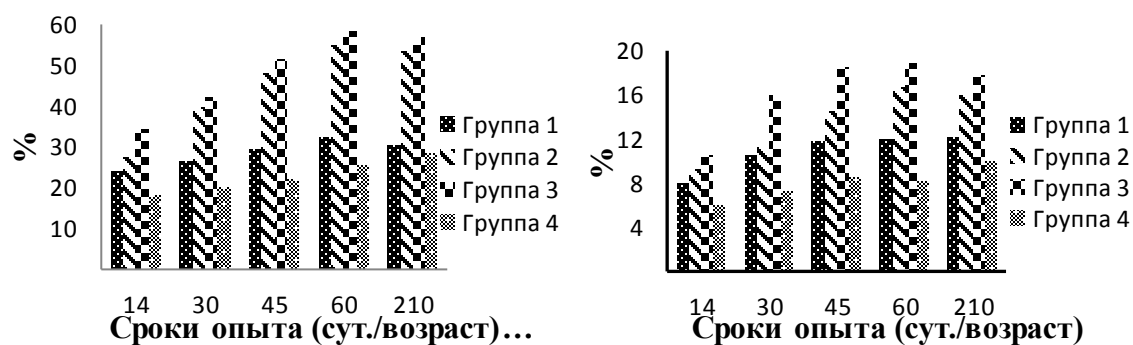


Рис.3. Влияние разных доз ЭПП на динамику показателей миелограммы перепелов: а) клеток зернистого ростка; б) лимфоидных клеток; Обозначения: те ж, что на рис. 1.

Динамика показателей площадей структурных компонентов сумки Фабрициуса представлена на рис. 4.

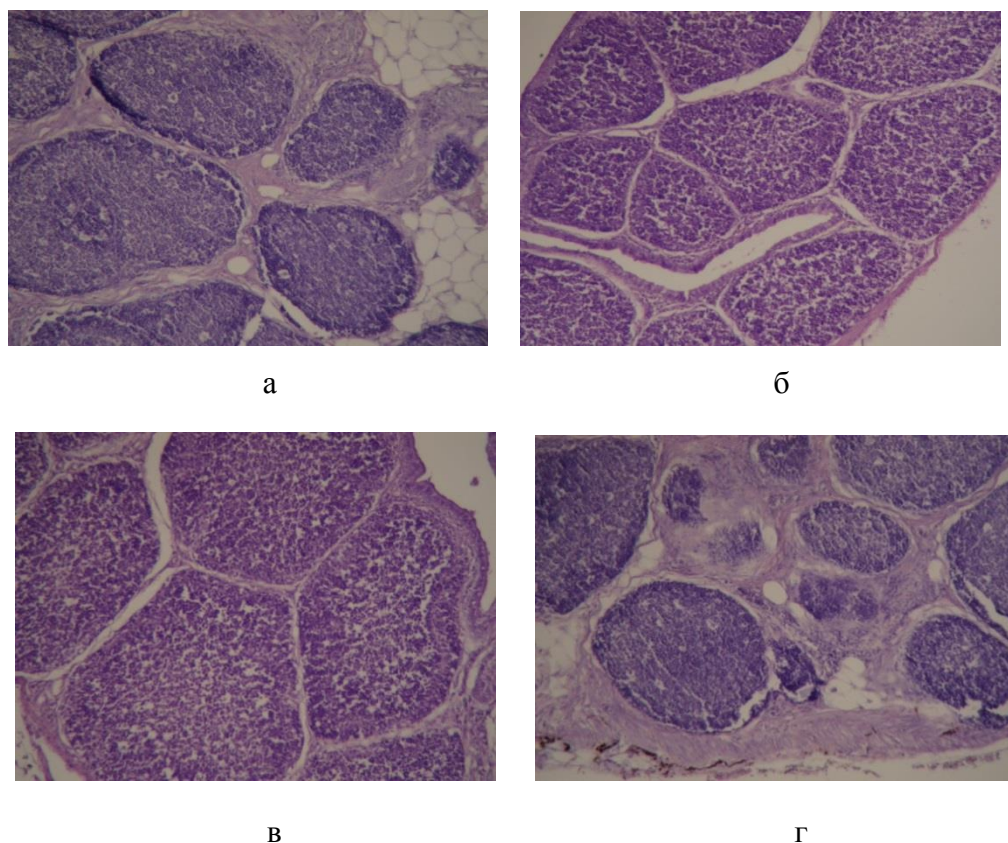


Рис.4. Влияние разных доз ЭПП на динамику площадей структур сумки Фабрициуса перепелов на 60 сут.опыта: а) контроль – расширение мозгового слоя, на фоне выраженного уменьшения коркового.Расширение соединительно- тканной стромы, жировая дистрофия органа; б) 2 группа – умеренное расширение площади коркового и мозгового слоя. Хорошо виден просвет, соединяющий сумку с задней стенкой клоаки цилиндрическим эпителием; в) 3 группа – значительное расширение площади фолликул и его корковой зоны, на фоне уменьшения мозговой зоны; г) 4 группа – уменьшение площади фолликул и их корковой зоны, на фоне расширения мозговой зоны. Расширение площади соединительно- тканной стромы. Начало жировой дистрофии. Окраска гематоксилин – эозином. Увеличение: окуляр 8, объектив 10.

Данные представленные на рис.4 свидетельствуют о том, что пчелиный подмор оказывает положительное влияние на процессы дозревания и дифференцировки В- клеток в органе. Наиболее активная перестройка в иммунокомпетентной структуре сумки Фабрициуса происходит под влиянием средних доз ЭПП.

Разные дозы ЭПП оказывали не одинаковое действие и на динамику массы сумки Фабрициуса (рис. 5), что регистрировалось уже с 14 сут. эксперимента.

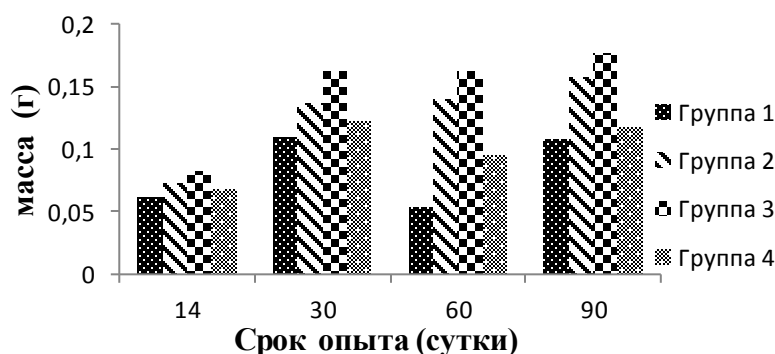


Рис.5. Динамика массы сумки Фабрициуса, в г.

Результаты исследований влияния разных доз ЭПП на динамику изменения морфометрических показателей коркового и мозгового вещества тимуса представлены на рис.6. Под влиянием разных доз ЭПП наблюдались значительные изменения не только в корковом веществе тимуса, где происходит дозревание и дифференцировка Т- лимфоцитов, но регистрировалось заметное истощение мозгового вещества органа. Полученные данные свидетельствуют о благоприятном влиянии ЭПП на состояние Т- системы иммунитета, от которой зависит не только клеточное звено иммунитета, но и гуморальное.

Данные по исследованию динамики изменения площади красной пульпы селезенки представлены в таблице 2. Показатели площади красной пульпы селезенки перепелов 3 группы, во все сроки исследований, были ниже, по сравнению с данными птиц 2 и 4 групп. Уменьшение площади красной пульпы органа связано с усилением иммунологической реактивности органа под влиянием ЭПП и расширением площадей иммунокомпетентных структур селезенки (лимфатических узелков без светлых (рис. 7 а) и со светлыми центрами (рис.7 б) – (В-зона).

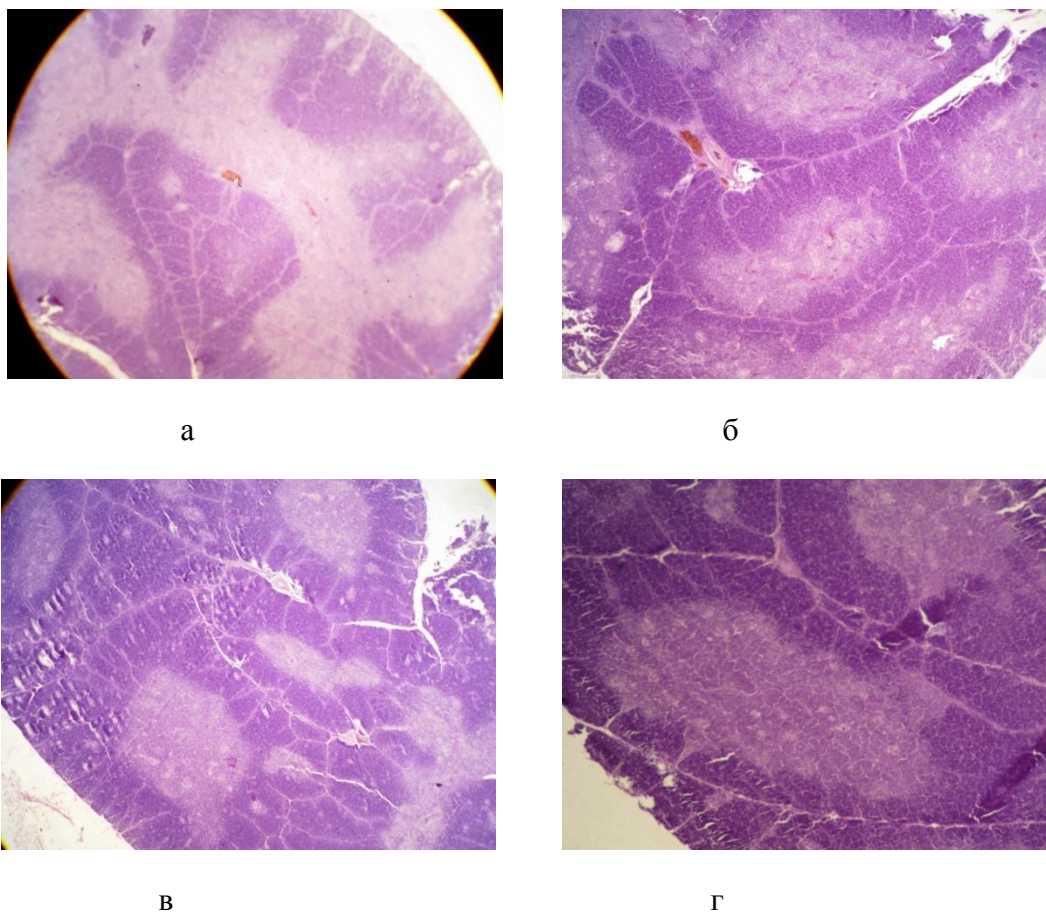


Рис. 6. Тимус на 60 сут. опыта а) перепелки 1 контрольной группы - значительное расширение площади мозгового вещества; б) 2 группы - умеренное расширение площади коркового вещества; в) 3 группы - выраженное расширение площади коркового вещества на фоне уменьшения мозгового вещества; г) 4 – группы – расширение площади мозгового вещества органа. Окраска гематоксилин – эозином. Увеличение: окуляр 8, объектив 10.

Таблица 2. Влияние разных доз ЭПП на динамику изменения площади красной пульпы селезенки (в %)

Сроки опыта сут./возраст)	Стат. пока- затель	Группы			
		1	2	3	4
14 /28	M±m	80,0±1,9	81,6±1,6	82,0±1,6	80,8±2,1
21/36	M±m	76,7±1,6	72,3±1,5	70,1±1,5	74,4±1,6
30/45	M±m	60,0±30,7	65,2±1,6	60,4±1,7	67,8±2,0
60 /75	M±m	63,7±1,6	60,8±1,7	56,7±2,8	64,5±1,5
90/105	M±m	66,9±2,3	63,8±1,6	59,0±1,6	69,4±2,9

Примечание: $P \leq 0,05$

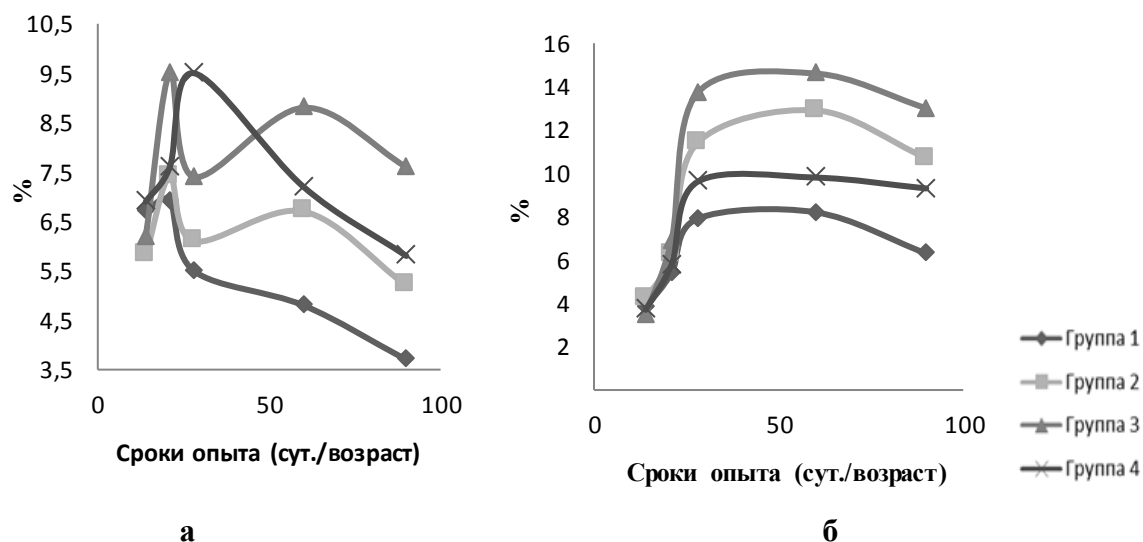


Рис.7: а) Динамика изменения в селезенке перепелов площади лимфатических узелков без светлых центров; б) со светлыми центрами, %.

Подобным образом изменялась в селезенке перепелов площадь периваскулярных лимфоидных муфт.

Перестройки в иммунокомпетентных структурах селезенки перепелов под влиянием ЭПП проявлялись и в цитологических реакциях. С 21- сут. опыта в спленограмме птиц опытных групп заметно повышалась активность лимфоцитов. Максимальное содержание их, во все сроки опыта, отмечалось в селезенке птиц 3 группы. Оно находилось на уровне высоких физиологических значений, характеризующих высокий иммунный статус органа.

С возрастом птиц, и в зависимости от дозы применения ЭПП в селезенке перепелов опытных групп снижалось содержание псевдозозинофилов. К 90 сут. опыта у перепелов 2, 3 и 4 групп уровень псевдозозинофилов в селезенке был ниже, чем у птиц контрольной группы, в 1,8; 2,12 и 1,63 раза, что обусловлено отсутствием или снижением инфекционно-токсических воздействий на организм птиц опытных групп. Подобным образом изменялась в селезенке птиц динамика эозинофилов, что указывает на низкий уровень в организме птиц опытных групп аллергопозитивных и др. иммуносупрессивных механизмов и хороший иммунный статус. Результаты исследования динамики содержания плазматических клеток, макрофагов в спленограмме перепелов представлены

на рис 8. Подобно динамике макрофагов изменялось в селезенке содержание моноцитов.

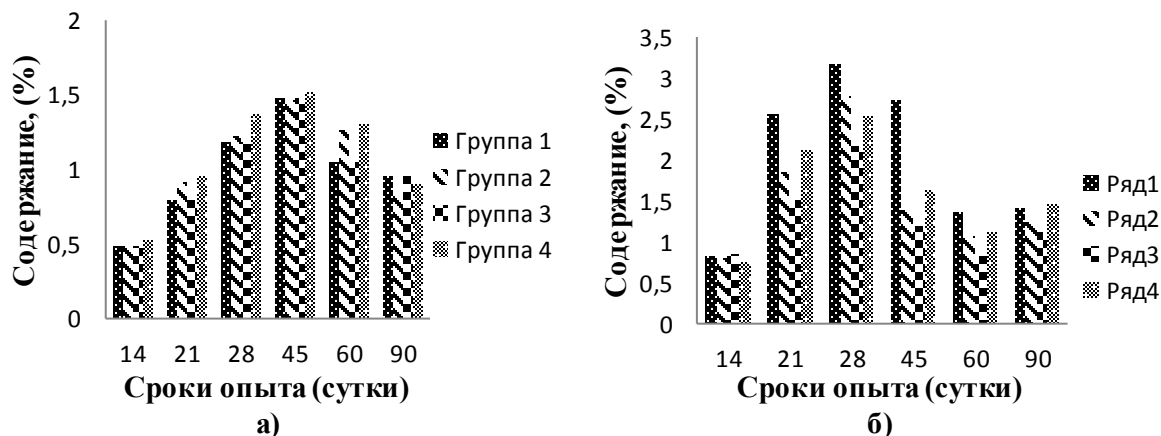


Рис.8. Влияние разных доз ЭПП на динамику: а) плазматических клеток, б) макрофагов в спленограмме перепелов. Обозначения: те же, что на рис.1.

Масса селезенки перепелов контрольной и всех опытных групп с рождения и до 7 сут. опыта не имела заметных достоверных колебаний. К 14 сут. исследований отмечалось увеличение массы органа в 3,14- 3,57 раза. В последующие сроки исследований регистрировались различия в изменении массы селезенки перепелов контрольной и опытных групп не только по группам, но и по половому признаку. Во все последующие сроки исследований масса селезенки перепелов продолжала быть максимальной по 3 группе. Показатели массы селезенки самок с 21 по 90 сут. опыта превышали данные по массе селезенки самцов, что связано более высокими обменными процессами в организме самок в связи с яйцекладкой.

3.3 Влияние экстракта пчелиного подмора на состояние естественного микробиоценоза желудка и кишечника перепелов

Результаты микробиологических исследований по изучению динамики изменения содержания в железистом и мышечном отделах желудка *Bifidobacterium spp.* представлены в таблице 3. Разные дозы ЭПП оказывали благоприятное влияние на рост и размножение *Bifidobacterium spp.* не только в желудке перепелов, но и в тонком и толстом отделах кишечника, но в разных цифровых значениях.

Таблица 3. Влияние разных доз ЭПП на динамику *Bifidobacterium spp.* в железистом и мышечном отделах желудка перепелов.

Сроки опыта (сут./возр.)	Стат. показат.	Группы			
		1-я, контроль	2	3	4
		Железистый отдел желудка			
7/22	M ± m	$6,4 \pm 0,64 \times 10^2$	$7,6 \pm 0,76 \times 10^{2**}$	$8,8 \pm 1,4 \times 10^3$	$8,9 \pm 1,83 \times 10^{2**}$
14/30	M ± m	$3,9 \pm 0,59 \times 10^4$	$7,5 \pm 0,10 \times 10^4$	$7,6 \pm 0,86 \times 10^5$	$4,2 \pm 0,56 \times 10^{4***}$
30/45	M ± m	$4,0 \pm 0,79 \times 10^5$	$6,9 \pm 1,3 \times 10^5$	$8,7 \pm 0,92 \times 10^6$	$2,9 \pm 0,90 \times 10^{5**}$
45/60	M ± m	$7,8 \pm 0,75 \times 10^5$	$12,4 \pm 3,4 \times 10^5$	$9,2 \pm 2,6 \times 10^6$	$9,3 \pm 3,0 \times 10^{5***}$
60/75	M ± m	$10,2 \pm 2,8 \times 10^5$	$7,0 \pm 0,79 \times 10^6$	$13,0 \pm 2,9 \times 10^6$	$14,3 \pm 0,97 \times 10^5$
210/225	M ± m	$8,3 \pm 0,82 \times 10^4$	$4,2 \pm 0,73 \times 10^5$	$7,6 \pm 0,37 \times 10^5$	$2,2 \pm 0,19 \times 10^5$
		Мышечный отдел желудка			
7/22	M ± m	$3,7 \pm 0,5 \times 10^2$	$7,2 \pm 0,6 \times 10^2$	$7,7 \pm 1,7 \times 10^3$	$7,0 \pm 2,0 \times 10^2$
14/30	M ± m	$3,7 \pm 1,2 \times 10^3$	$6,2 \pm 1,1 \times 10^3$	$7,3 \pm 2,0 \times 10^4$	$4,9 \pm 0,93 \times 10^{3***}$
30/45	M ± m	$4,3 \pm 1,3 \times 10^4$	$7,8 \pm 0,81 \times 10^4$	$9,0 \pm 2,0 \times 10^5$	$5,3 \pm 1,5 \times 10^{4***}$
45/60	M ± m	$7,7 \pm 0,72 \times 10^4$	$9,0 \pm 1,5 \times 10^5$	$11,0 \pm 3,4 \times 10^6$	$10,1 \pm 2,2 \times 10^{4**}$
60/75	M ± m	$4,5 \pm 0,72 \times 10^4$	$3,6 \pm 1,0 \times 10^5$	$4,5 \pm 1,3 \times 10^6$	$5,2 \pm 0,83 \times 10^5$
210/225	M ± m	$16,2 \pm 1,2 \times 10^3$	$8,9 \pm 1,1 \times 10^5$	$10,5 \pm 1,4 \times 10^5$	$1,8 \pm 0,43 \times 10^{4***}$

Примечание: здесь и далее в таблицах 1 группа - контроль, 2-я группа – низкие дозы, 3 группа – средние дозы, 4 группа – высокие дозы. * - $P \leq 0,01$, ** - $P \leq 0,05$, *** - $P > 0,05$

Подобно динамике *Bifidobacterium spp.* в желудке и кишечнике перепелов изменялась динамика *Lactobacillus spp.* (рис. 10).

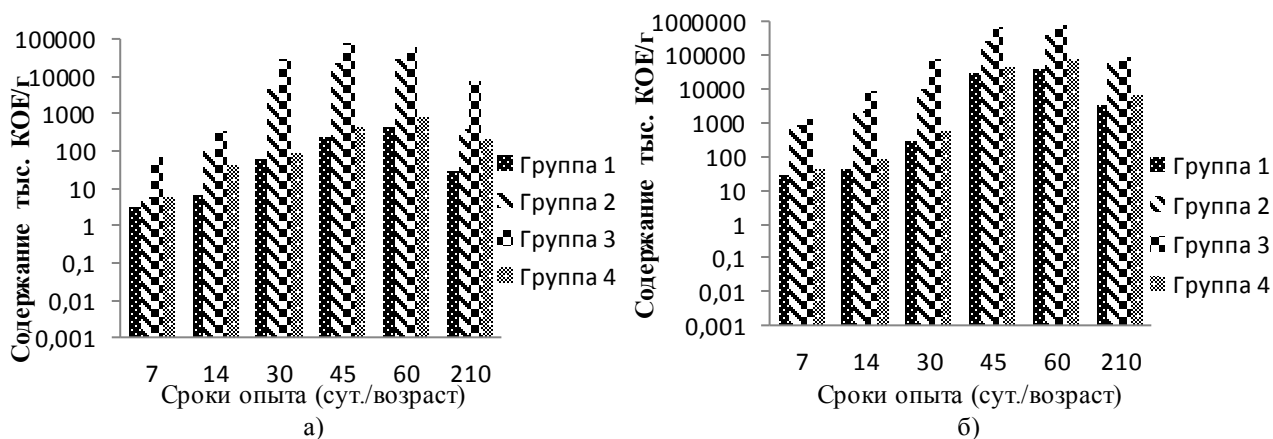


Рис. 10. Влияние разных доз ЭПП на динамику *Lactobacillus spp.* в кишечнике перепелов: а) в тонком отделе и б) толстом отделе. Обозначения: те же, что на рис. 1.

Под влиянием ЭПП в желудке и кишечнике перепелов устанавливался баланс между нормофлорой и условно- патогенными микроорганизмами. При значительном повышении в железистом и мышечном отделах желудка и в тонком и толстом отделах кишечника птиц контрольной группы *E. faecium* (рис.11), (по-

добным образом и *E. faecalis*, *E. coli*, *S. aureus*), ЭПП способствовал в разной степени активности, в зависимости от дозы, снижению активности условно - патогенных микроорганизмов и восстановлению их уровня в сторону физиологических значений.

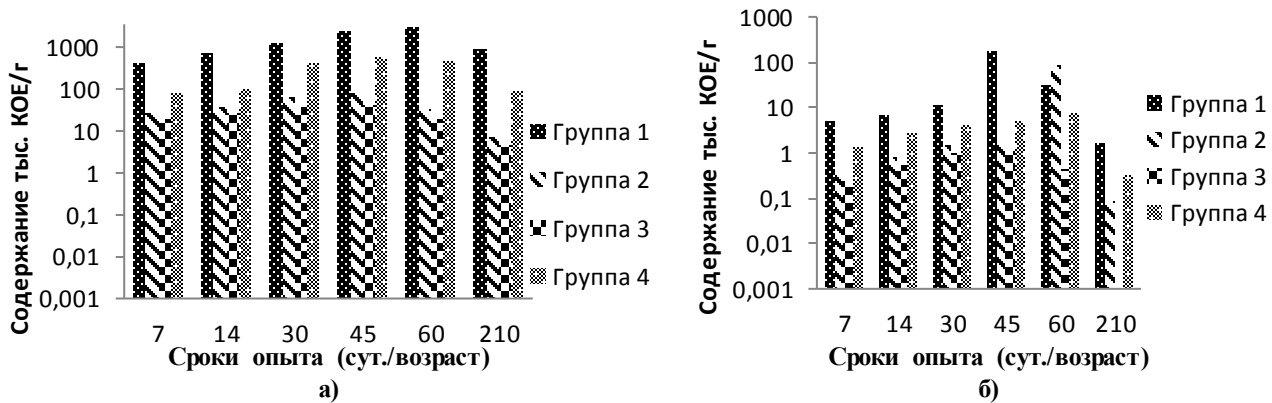


Рис.11. Влияние разных доз ЭПП на динамику *Enterococcus faecium* в желудке перепелов: а) в железистом отделе, б) в мышечном отделе. Обозначения: те же, что на рис. 1.

S. aureus в железистом отделе желудка перепелов 1 контрольной группы выделялся с начала опытов и повышался до 45 сут., с последующим снижением и выделением до конца эксперимента. В опытных группах *S. aureus* появился с 30 сут. опыта, повышаясь незначительно до 60 сут., но значительно уступая контрольным цифрам. Минимальное значение его регистрировалось в железистом желудке птиц 3 группы. В мышечном желудке *S. aureus* выделялся только у птиц 1 контрольной группы с максимальным повышением до 30 сут.

Динамика *E. coli* в желудке перепелов представлена на рис.12.

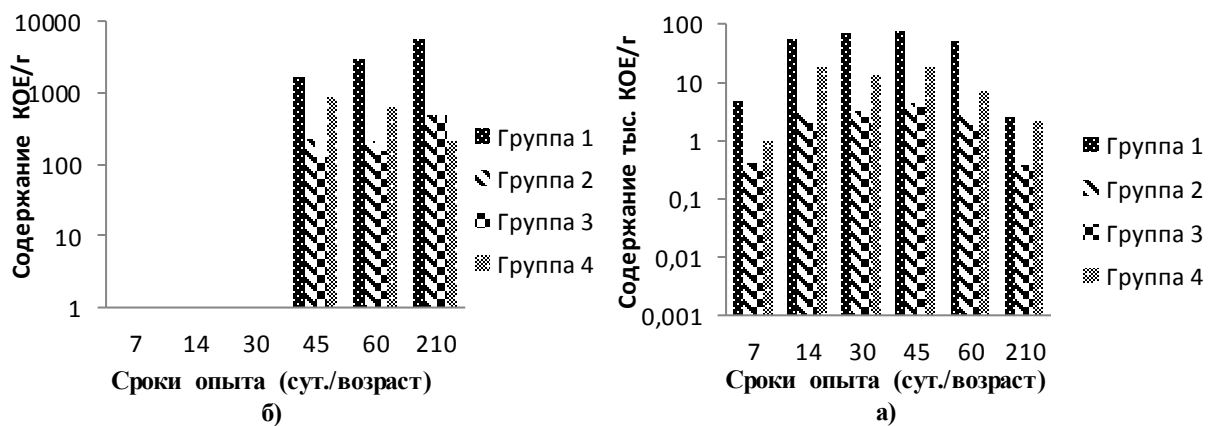


Рис.12. Влияние разных доз ЭПП на динамику *Escherichiae coli* в желудке перепелов: а) в железистом отделе, б) в мышечном отделе.

Под влиянием ЭПП наблюдалось достоверное снижение активности и микрогрибов *C. albicans* (рис.13).

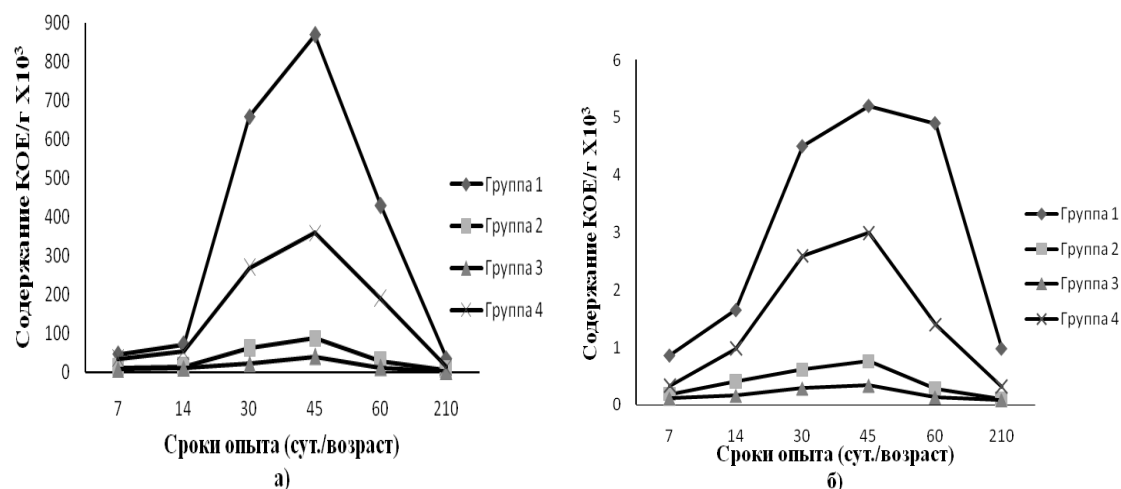


Рис.13. Влияние разных доз ЭПП на динамику *Candida albicans* в желудке перепелов: а) в железистом отделе, б) в мышечном отделе. Обозначения: те же, что на рис.1

4.0 Влияние разных доз ЭПП на продуктивные показатели перепелов

Включение в рацион перепелов ЭПП способствовало улучшению биохимических показателей качества мяса: снижению уровня влаги и жира в тушке, грудке и окорочках, на фоне повышения содержания белка. Наиболее выраженным эти показатели были по 3 группе, менее выраженными в мясе птиц контрольной группы (таблица 4).

Таблица 4. Влияние разных доз ЭПП на биохимические показатели мяса перепелов (на срок опыта 60/75, на 100 г, %)

Показатели	Показатели	Стат. показатель	Группы			
			1	2	3	4
Тушка	Влага	М \pm m	77,4 \pm 1,98	74,2 \pm 2,08	71,5 \pm 1,93	75,7 \pm 1,21
	Жир	М \pm m	4,0 \pm 0,15	3,9 \pm 0,27	3,7 \pm 0,20	3,9 \pm 0,17
	Белок	М \pm m	17,9 \pm 1,38	20,3 \pm 1,43	22,7 \pm 0,87	19,2 \pm 1,54
Грудка	Влага	М \pm m	79,8 \pm 2,10	76,1 \pm 1,52	74,3 \pm 3,13	77,6 \pm 3,82
	Жир	М \pm m	3,6 \pm 0,16	3,4 \pm 0,19	3,3 \pm 0,19	3,46 \pm 0,11
	Белок	М \pm m	20,6 \pm 3,4	22,6 \pm 2,9	24,4 \pm 2,7	21,2 \pm 3,6
Окорочек	Влага	М \pm m	68,6 \pm 1,07	64,1 \pm 1,75	62,4 \pm 1,75	66,5 \pm 1,70
	Жир	М \pm m	4,4 \pm 0,32	3,8 \pm 0,07	3,7 \pm 0,16	4,0 \pm 0,59
	Белок	М \pm m	18,7 \pm 2,19	21,5 \pm 2,04	23,2 \pm 0,81	19,8 \pm 1,57

ЭПП оказывал хорошее влияние на прирост живой массы перепелов. Это регистрировалось уже с 7 сут. от начала эксперимента. Показатели живой массы самок превышали их уровень у самцов. Живая масса перепелов 2, 3 и 4 опытных групп во все сроки опыта была выше, чем контроле. На 60 сут опыта живая масса птиц 2, 3 и 4 групп превысила контрольную цифру по самцам на 32,4; 60,3 и 8,8 грамма, по самкам – на 35,5; 79,1 и 7,9 г. Эта тенденция сохранялась до конца эксперимента. Сохранность поголовья к концу опытов составила в контрольной группе 78,0%, во 2, 3 и 4 группах - 89,0; 95,0 и 85,0%.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Применение ЭПП способствует восстановлению гемо- и лейкопоза в организме перепелов: а) уровень эритроцитов в крови максимально повышается по 2 и 3 группам до $4,6$ и $4,9 \cdot 10^{12}/л$ (контроль $4,0 \cdot 10^{12}/л$), гемоглобина до $148,7$ и $155,3 \cdot 10^{12}/л$ (контроль $140,4 \cdot 10^{12}/л$), показателя гематокрита до $50,6$ и $54,4\%$ (контроль $46,5\%$); б) увеличивается содержание лейкоцитов до $41,5$ и $46,7 \cdot 10^9/л$ (контроль $38,7 \cdot 10^9/л$) и тромбоцитов до $130,9$ и $132,2 \cdot 10^9/л$ (контроль $120,4 \cdot 10^9/л$); в) активизируется продукция эозинофилов, псевдоэозинофилов, лимфоцитов, моноцитов и базофилов.

2. ЭПП оказывает благоприятное влияние на естественные механизмы иммунной защиты перепелов: повышается БАСК на $15,4$ и $26,2\%$, ЛАСК – на $5,3$ и $9,5\%$ и активизируется фагоцитоз псевдоэозинофилов - на $5,1$ и $12,3\%$;

3. Под влиянием низких и средних доз ЭПП усиливается продукция красным костным мозгом выработки клеток зернистого ростка лейкоцитов на $22,2$ и $25,6\%$, лимфоидных клеток на $4,7$ и $6,9\%$, клеток эритроидного ростка на $2,3$ и $11,0\%$.

4. ЭПП способствует усилению процессов дозревания и дифференцировки В- лимфоцитов в сумке Фабрициуса перепелов, что проявляется: а) расширением площади иммунокомпетентной корковой зоны по 2 и 3 группам (на 30 и 60 сут. на $10,4$ и $22,1\%$ и $12,3$ и $24,3\%$) на фоне уменьшения площади, занимаемой мозговой зоной органа; б) превышением массы бursы (не смотря на его общую

инволюцию по всем группам по ходу эксперимента) по 2 и 3 группам, на 30, 60 и 90 сут., в 1,24 и 1,47; в 2,59 и 3,0; в 1,45 и 1,63 раза.

3. Под влиянием низких и средних доз ЭПП в тимусе перепелов отмечается активизация процессов дозревания и дифференцировки Т-лимфоцитов, что выражается в: а) расширении площади иммунокомпетентной структуры – коркового вещества на 30, 60 и 90 сут. в 1,55 и 1,62; в 1,42 и 1,73; в 1,61 и 1,95 раза, на фоне истощения мозгового вещества; б) превышении массы тимуса (при его выраженной общей инволюции), в 1,32 и 1,42; в 1,38 и 1,5; в 1,24 и 1,34 раза.

7. ЭПП активизирует в организме перепелов процессы антителогенеза, повышая иммунологическую активность селезенки, что проявляется морфофункциональными перестройками в иммунокомпетентных структурах органа в виде:

а) расширения площади лимфатических узелков без светлых центров по 2, 3 и 4 группам максимально в 1,39; 1,83 и 1,5 раза; со светлыми центрами в 1,57; 1,79 и 1,19 раза (В – зоны селезенки); б) увеличения площади Т-зависимой периваскулярной лимфоидной муфты максимально в 1,5; 1,8 и 1,28 раза, на фоне уменьшения красной пульпы; в) изменения цитологических реакций: повышение в спленограмме содержания лимфоцитов максимально по 2, 3 и 4 группам в 1,32; 1,44 и 1,27 раза; плазматических клеток в 1,2; 1,76 и 1,23 раза, на фоне умеренного снижения уровня эозинофилов, псевдоэозинофилов, моноцитов, макрофагов; г) превышения массы селезенки перепелов.

8. Низкие и средние дозы ЭПП способствуют активизации доминантных бактерий-пробионтов: а) *Bifidobacterium spp.* в железистом отделе желудка максимально превысили контроль по 2 и 3 группам в 5,83 и 10,8 раз, в мышечном – в 11,7; 142,8 раза; в тонком отделе кишечника – в 63,1 и 189,5 раза, в толстом – в 6,8 и 29,1 раза; б) *Lactobacillus spp.* в железистом желудке максимально превысили контроль по 2 и 3 группам в 3,54 и 13,1 раза, в мышечном – в 49,2 и 375 раз; в тонком отделе кишечника – в 95,8 и 329,2 раза, в толстом – в 9,3 и 23,8 и раза;

9. ЭПП способствует восстановлению баланса содержания ассоциативных микросимбионтов: *E. faecalis*, *E. faecium*, *E. coli*, *S. aureus*, значительно затормаживает

живая их рост и размножение в железистом и мышечном отделах желудка, тонком и толстом отделах кишечника.

10. ЭПП способствует профилактике развития в желудочно-кишечном тракте перепелов кандидомикозов, затормаживанием активности роста и размножения *C. albicans* до их физиологических значений.

11. ЭПП способствует повышению живой массы и ее среднесуточного прироста, улучшению биохимических показателей качества мяса перепелов (снижению в тушке, грудке и окорочках влаги, оптимизации уровня жира, повышению содержания белка).

ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ

1. С целью активизации биологической активности перепелов и повышения продуктивных показателей рекомендуем с 15-ти суточного возраста перепелят с питьевой водой выпаивать в течение 30 сут. средние дозы ЭПП, предварительно растворив в питьевой воде, из расчета 0,1 мл ЭПП на 100 грамм массы птиц. При средней живой массе перепелов, к началу опытов (15 дневные перепелята) 55-57 грамм, доза составляет 0,1 мл/гол. (2 капли на птицу, 20 капель на 10 птиц на 100 мл воды). С 1 по 15 сут. (15сут. -30 дневные перепела) выпаивание раствора проводить желательно индивидуально из пипеток, а в последующие сроки – групповым методом из поилок. Перерасчет доз ЭПП с учетом увеличения массы птиц проводить на 15 сут. опыта (30 суточные перепела) и ее не изменять до конца курса выпаивания (30 сут.- 45 дневные перепела).

2. Материалы диссертации рекомендуем использовать при написании монографий, учебников, рекомендаций, а также при чтении лекции и проведении ЛПЗ со студентами ветеринарных, зооинженерных, пищевых, биологических факультетов вузов, НИИ и лабораториях соответствующего профиля.

Список опубликованных работ по теме диссертации

Публикации в изданиях, рекомендованных ВАК

1. Иссе, М.Я. Биологическая активность экстракта пчелиного подмора / М.Я. Иссе, Р.Т. Маннапова / Пчеловодство. – 2016. – № 6. – С. 50-52.
2. Маннапова, Р.Т. Влияние пчелиного подмора на кроветворение и продуктивность перепелов / Р.Т. Маннапова, Г.Д. Афанасьев, М.Я. Иссе, А.С. Комарчев / Пчеловодство. – 2018. – № 4. – С. 53–55.
3. Маннапова, Р.Т. Эритропоз перепелов под влиянием пчелиного подмора / Р.Т. Маннапова, М.Я. Иссе / Морфология Т.153, № 3, 2018.- С.177-178. Scopus
4. Маннапова, Р.Т. Миелограмма перепелов под влиянием экстракта пчелиного подмора / Р.Т. Маннапова, Г.Д. Афанасьев, М.Я. Иссе, А.С. Комарчев / Морфология Т.155 – № 2 – 2019.- С.187. Scopus.
5. Иссе, М.Я. Влияние пчелиного подмора на лейкограмму в крови перепелов / М.Я. Иссе / Морфология Т.155 – № 2– 2019.- С.136. Scopus.

Публикации в иных изданиях

6. Иссе, М.Я. Особенности иммунитета птиц / М.Я. Иссе // Современные проблемы пчеловодства и пути их решения. – Москва.-2016.- С. 390-393.
7. Иссе, М.Я. Пчелиный подмор для выращивания перепелов / М.Я. Иссе // Современные аспекты сельскохозяйственной микробиологии: материалы конференции. — Москва: РГАУ-МСХА им. К. А. Тимирязева, 2016. - С. 44-45.
8. Иссе, М.Я. Биологические особенности перепелов / М.Я. Иссе // Современные аспекты сельскохозяйственной микробиологии: материалы конференции.-Москва: РГАУ-МСХА им. К.А. Тимирязева, 2016 – С. 46.
9. Афанасьев, Г.Д. Пчелиный подмор - экологичный активатор биологических и продуктивных показателей перепелов / Г.Д. Афанасьев, М.Я. Иссе, А.С. Комарчев // Материалы 1 совместной с институтом животноводства Таджикской академии сельскохозяйственных наук междунар. научно-практической конференции «Состояние и перспективы увеличения производства высококачественной продукции сельского хозяйства». - Уфа. -2017.- С. 228-232.
10. Маннапова, Р.Т. Влияние пчелиного подмора на иммуноморфологические показатели селезенки перепелов / Р.Т. Маннапова, М.Я. Иссе // Наука и Мир –2018 № 3. - С. 8-10.
11. Иссе, М.Я. Влияние экстракта пчелиного подмора на естественную резистентность перепелов / М.Я. Иссе // Доклады ТСХА. Вып. 290. Часть III. М.: Издательство РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, 2018. – С. 176-178.
12. Иссе, М.Я. Коррекция экстрактом пчелиного подмора микробиоценоза желудка и кишечника перепелов / М.Я. Иссе // Сборник докладов XXII Международного конгресса «Апиславия». - Москва. - 2018. - С. 40-43
13. Иванов, А.А. Влияние экстракта пчелиного подмора на морфофункциональные реакции в сумке Фабрициуса / А.А. Иванов, Р.Т. Маннапова, М.Я. Иссе // Продукты пчеловодства. Рациональное питание и качество жизни. – Рыбное. - 2019 (в печати)
14. Маннапова, Р.Т. Влияние разных доз экстракта пчелиного подмора на естественные механизмы защиты перепелов / Р.Т. Маннапова, А.А. Иванов, М.Я. Иссе // Продукты пчеловодства. Рациональное питание и качество жизни. Материалы Всеросс. науч.-практ. конф. – Рыбное. - 2019 (в печати)