

На правах рукописи

Большунов Василий Андреевич

**Морфологические особенности скелетной мускулатуры перепелов
различного направления продуктивности в постэмбриональном
онтогенезе**

06.02.01 — Диагностика болезней и терапия животных,
патология, онкология и морфология животных

АВТОРЕФЕРАТ

**диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук**

Москва – 2020

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность проблемы

На сегодняшний день одной из самых интенсивно развивающихся и рентабельных отраслей сельского хозяйства является птицеводство. Согласно отчету Министерства сельского хозяйства, в результате российских антисанкций из оборота вышло 848 тысяч тонн импортного мяса из стран, попавших под эмбарго, при этом отечественное сельское хозяйство за 2014 год дополнительно увеличило производство на 350 тысяч тонн мяса, в том числе мяса птицы более чем на 6% (Санотова А.А., 2015). Современные технологии выращивания птицы позволяют получить достаточный объём продукции и снабдить население экологически безопасными и высококачественными продуктами питания, что является одним из факторов обеспечения продовольственной безопасности страны. Для решения этой задачи необходимо использовать все виды домашней птицы, в том числе и перепелов. Перепеловодство является перспективной отраслью яичного и мясного птицеводства, позволяющей обеспечить население высококачественными продуктами питания в кратчайшие сроки и с минимальными затратами (Фисинин В.И., 2018).

Знание видовых, породных и возрастных особенностей строения и развития органов локомоторного аппарата сельскохозяйственной птицы имеет большое значение не только для теоретических обоснований эволюционных преобразований, происходящих в организме животных, но и для практической ветеринарии (Калинич О.А., 2009).

В доступной литературе практически отсутствуют сведения, касающиеся морфологических особенностей мышечной системы у сельскохозяйственной птицы, в том числе и у перепелов различного направления продуктивности.

На наш взгляд, раскрытие вышеобозначенной проблемы может иметь как фундаментальное, так и прикладное значение.

Степень разработанности проблемы

В научной литературе обнаружено множество работ, посвященных исследованию висцеральной группы систем, приросту живой массы и методам оценки продуктивности у представителей отряда курообразных (Амелина А.Н., 2013; Афанасьев Г.Д., 2010; Борхунова Е.Н, Кондратов Г.В., 2016, Кочиш И.И., 2015). Что касается соматических систем перепелов, то здесь исследования единичны, фрагментарны и, порой, противоречивы (Иолас С.О., 2012; Калинич О.А., 2009).

Исходя из вышеизложенного, можно сделать вывод, что изучение морфогенеза опорно-двигательного аппарата перепелов, в частности скелетной мускулатуры, необходимо для понимания эволюционных преобразований роста и развития мышечной системы у данного вида, а также для совершенствования селекционно-племенной работы и методов выращивания птицы.

Цель настоящего исследования — выявить закономерности и особенности роста и развития скелетных мышц у перепелов мясного, мясо-яичного и яичного направлений продуктивности на различных сроках постэмбрионального развития.

Для реализации цели необходимо решение ряда конкретных задач:

1. Установить особенности роста и развития скелетных мышц на примере прямой головки четырёхглавой мышцы бедра, (*musculus quadriceps femoris, rectus capitis*) и поверхностной грудной мышцы (*musculus pectoralis major*) у перепелов мясного, мясо-яичного и яичного направлений продуктивности по данным макроскопической морфометрии;
2. Представить сравнительную микроморфометрическую характеристику изучаемых скелетных мышц по показателям толщины мышечных волокон и их пучков, толщине эндомизия и перимизия, количеству мышечных волокон в поле зрения на поперечном срезе, соотношению площадей мышечной и соединительной тканей у цыплят перепелов мясного, мясо-яичного и яичного направлений использования;
3. Выявить ультраструктурные особенности миосимпласмов как критерии оценки направления их морфогенеза;
4. На основании полученных данных разработать методологический подход к структурно-функциональной оценке состояния мышцы как органа, в процессе постэмбрионального онтогенеза;
5. Разработать прогностические критерии, позволяющие оценить направление продуктивности птицы.

Научная новизна

Установлены общие закономерности и особенности морфогенеза скелетных мышц перепелов мясного, мясо-яичного и яичного направлений продуктивности. Выявлены особенности роста и развития скелетных мышц на различных уровнях структурной организации и этапах онтогенеза (5-ые, 21-ые, 32-ые и 42-ые сутки), показана неравномерность их роста с чередованием фаз усиления и замедления ростовых процессов, что подтверждено макро-, микро- и ультрамикроскопически. Представлены данные о влиянии биомеханической нагрузки на структурное оформление мышц различных функциональных групп (*musculus quadriceps femoris* и *musculus pectoralis major*).

Разработан комплексный методологический подход к оценке скелетных мышц перепелов различных пород, на разных сроках постэмбрионального развития и уровнях структурной организации мышц (органном, тканевом и клеточном), на основании которого сформулированы критерии определения направления продуктивности птицы.

Теоретическая и практическая значимость исследований

Полученные результаты дополняют и расширяют сведения в области сравнительной миологии животных, в том числе макро- и микроморфологии скелетной мускулатуры перепелов различного направления продуктивности, а также раскрывают ультраструктурные особенности мышц отдельных пород.

Кроме этого, результаты исследований показывают закономерности органо- и гистогенеза скелетной мускулатуры перепелов в процессе постэмбрионального онтогенеза.

Полученные данные могут быть использованы в учебном процессе, при чтении лекций и проведении лабораторно-практических занятий, при

написании учебных пособий по птицеводству, перепеловодству и анатомии сельскохозяйственной птицы.

Результаты исследования являются базовыми для функциональной и экспериментальной морфологии в вопросах оценки структурно-функционального состояния скелетных мышц в норме и при патологии, кроме этого они могут быть учтены при совершенствовании технологии выращивания птицы, а также для прогнозирования возможного направления продуктивности на ранних сроках постэмбрионального развития при совершенствовании методов селекционно-племенной работы в перепеловодстве.

Исследования, показывающие определенные закономерности ростовых процессов, цикличность развития мышечной ткани на разных уровнях структурной организации, а также разработанный комплекс маркеров ее оценки, могут явиться базой для разработки программ направленного роста, в целях улучшения продуктивных качеств птицы.

Методология и методы исследования

Научное обоснование закономерностей морфогенеза скелетной мускулатуры перепелов различного направления продуктивности определило целесообразность использования комплексного методического подхода, включающего: анатомическое макро- и микропрепарирование; макроморфометрию, с последующим анализом изучаемых структур; гистологическое исследование мышц и их макроморфометрию; ультрамикроскопическое исследование; статистическую обработку полученных данных с определением относительного прироста мышечной массы по С. Броди.

Положения выносимые на защиту

1. Макро- и макроморфологические показатели скелетных мышц перепелов различного направления продуктивности в постэмбриональном онтогенезе.
2. Особенности роста и структурной организации скелетных мышц на примере четырёхглавой мышцы бедра, ее прямой головки (*musculus quadriceps femoris rectus capitis*) и поверхностной грудной мышцы (*musculus pectoralis major*) у перепелов как отражение направления продуктивности птицы.
3. Ультраструктурные признаки скелетных мышц в оценке направления их морфогенеза.
4. Сравнительная морфометрическая характеристика изучаемых скелетных мышц.
5. Закономерности и особенности морфогенеза скелетных мышц, как базовые, при оценке направления продуктивности.

Степень достоверности, апробация и публикация результатов исследований

В основу работы положен анализ результатов комплексных исследований, выполненных на 90 здоровых перепелах клеточного содержания, трех пород различного направления продуктивности. В ходе исследования использовали следующие методы: анатомическое препарирование с последующим описанием изучаемых структур, световую микроскопию гистологических срезов, макро- и макроморфометрию,

трансмиссионную электронную микроскопию. Полученные цифровые данные подвергли статистической обработке по классическим методикам.

Материалы исследований представлены и апробированы на:

- XXVI Московском Международном ветеринарном конгрессе (Москва 2018);

-VIII Съезде Научного медицинского общества анатомов, гистологов, эмбриологов, (Воронеж, 2019);

- VII научно-практической конференции «Актуальные проблемы ветеринарной медицины, зоотехнии и биотехнологии», проводимой в рамках IX всероссийского фестиваля науки, (Москва, 2019);

- Национальной научно-практической конференции с международным участием «Актуальные проблемы ветеринарной морфологии и высшего зооветеринарного образования», (Москва, 2019)

- Этапе Всероссийского конкурса на лучшую научную работу среди студентов, аспирантов и молодых ученых высших учебных заведений Минсельхоза России в номинации «Зооветеринарные науки».

Публикации результатов исследований.

По результатам исследований опубликовано 8 научных работ, в том числе 4 в изданиях, рекомендованных ВАК.

Объем и структура диссертации.

Рукопись кандидатской диссертации изложена на 105 страницах машинописного текста (без учета приложений), иллюстрирована 38 рисунками, 20 таблицами, состоит из введения, обзора литературы, собственных исследований, результатов исследований и их обсуждения, заключения, а также сведений о практическом использовании. Список литературы включает 116 источников, из них 82 отечественных и 34 зарубежных.

СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Материалы и методы исследования

Работа выполнена на базе кафедры анатомии и гистологии животных имени профессора А.Ф. Климова. Экспериментальные исследования проведены на кафедре анатомии и гистологии животных имени профессора А.Ф. Климова и на базе ОАО отдела технологии ФНЦ «ВНИТИП» РАН в период с 2016 по 2020 гг.

В качестве объектов исследования были избраны здоровые цыплята перепелов яичного (японский перепел), мясо-яичного (маньчжурский золотистый) и мясного (фараон) направления продуктивности, клеточного содержания. Птица находилась на стандартном рационе кормления, в соответствии с нормами питательности, установленными ФНЦ «ВНИТИП» РАН (2009 г.).

Материалом для исследования послужили мышцы грудной (поверхностная грудная мышца) и тазовой (четырёхглавая мышца бедра) конечностей.

Таблица 1
Объем проведенных исследований

Группа птиц	Методы исследования				
	Анатомическое вскрытие	Анатомическое препарирование	Гистологическое исследование	Микроморфометрия	Электронная микроскопия
Японский перепел	30	30	30	30	10
Маньчжурский перепел	30	30	30	30	10
Фараон	30	30	30	30	10

Морфологические методы исследования.

Обескровливание проводили методом рассечения яремных вен с обеих сторон, чуть ниже области ушной мочки. Анатомическое вскрытие тела выполняли по методике А.А. Гусевой, Я.Л. Здановской, Н.А. Кривошеевой (1962) и А.В. Комарова (1982).

После обескровливания, в группах для изучения макроскопической картины, методом тонкого анатомического препарирования выделяли исследуемые мышцы и проводили их линейную морфометрию, в

естественном положении с помощью штангенциркуля с точностью до $\pm 0,01$ мм. Определяли длину и ширину (поперечник) каждой исследуемой мышцы. Затем мышцу отделяли от туловища и определяли ее массу. Для гистологического исследования отбирали образцы из средней части мышцы, площадью 2-3 см².

Микроскопическое исследование выполняли с использованием световой микроскопии по общепринятым методикам.

Для осуществления гистологических исследований образцы мышц фиксировали сначала в 5% растворе формалина, а затем в 10% нейтральном формалине. После фиксации образцы промывали водопроводной водой (24 часа), обезвоживали в спиртах возрастающей крепости (от 50 до 100%) и, после погружения в промежуточные среды, заливали в парафин-воск. Серийные парафиновые срезы толщиной 5-10 мкм изготавливали на универсальном автоматизированном микротоме «НМ-360» (Mikron).

Изучение общей морфологической картины осуществляли при помощи светового микроскопа «Jenamed 2» (CarlZeiss, Jena, Germany) после окрашивания гистологических срезов гематоксилином и эозином, по классическим методикам.

Микрофотосъемку и микроморфометрию изучаемых структур выполняли при помощи микроскопа «Jenamed 2» (CarlZeiss, Jena, Germany), совмещенного с системой цифровой микроскопии «ImageScore» по общепринятым методикам.

Сканирующая электронная микроскопия.

Для электронномикроскопического исследования образцы ткани фиксировали в 2,5% р-ре глутаральдегида, приготовленном на фосфатном буфере Миллонига (рН 7,2 – 7,4) с последующей дофиксацией в 1% растворе осмия на соответствующем буфере. Материал обезвоживали в спиртах возрастающей концентрации и заливали в эпон -812 по методике Б.Уикли (1975). С блоков получали полутонкие срезы толщиной 1 мкм, окрашивали толуидиновым синим на 2,5%-ном растворе безводной соды и в них выбирали участки для исследования под контролем электронного микроскопа. Для электронной микроскопии срезы готовили на ультратоме LKB – 3 (Швеция). Ультратонкие срезы контрастировали 2% -ным водным раствором уранилацетата, цитратом свинца по Рейнольдсу (Уикли Б., 1975) и изучали в трансмиссионном микроскопе JEOL – JEM – 100CX II - Япония при увеличениях от 15000 до 40000.

Методы статистической обработки результатов.

Для оценки средних значений изучаемых показателей, выборочной дисперсии, среднего квадратичного отклонения, коэффициента вариации, доверительного интервала и относительной ошибки использовали методы, изложенные в рекомендациях Г.Г. Автандилова (1990), Г.Ф. Лакина (1990) и А. Плохинского (1970). Полученные экспериментальные данные подвергали общестатистической обработке. Подсчет относительного прироста массы осуществляли по методу С. Броди.

РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Сравнительная макроморфологическая характеристика скелетных мышц перепелов на разных сроках постэмбрионального развития

На основании данных анатомического макро- и микропрепарирования были выявлены видоспецифические границы и точки закрепления поверхностной грудной мышцы и прямой головки четырехглавой мышцы бедра, вне зависимости от направления продуктивности птицы.

Так, поверхностная грудная мышца (*musculus pectoralis major*) начинается от латеральной поверхности кила, основания (тела) грудины, массивным пластом распределяется по всей площади грудной клетки, краниально прикрепляясь к латеральной поверхности ключицы и коракоидной кости, и оканчивается латерально на гребне плечевой кости. Вышеописанные топографические особенности и макро-микроморфологические исследования позволяют выделить в мышце три части: грудную, ключично-коракоидную и плечевую.

Прямая головка четырехглавой мышцы (*rectus capitis musculis quadriceps femoris*) берет начало от тазовой кости и простирается дистально по всей краниолатеральной поверхности бедренной кости. В области ее дистального эпифиза мышца тесно срастается со своими остальными головками, закрепляясь на коленной чашке.



Рисунок 1. Макроморфология
поверхностной грудной мышцы перепела
породы фараон мясного направления
продуктивности на 5-ые сутки
постэмбрионального онтогенеза



Рисунок 2. Макроморфологическая
картина прямой головки четырехглавой
мышцы бедра у перепела породы фараон
на 5-ые сутки постэмбрионального
онтогенеза

К 21-ым суткам постэмбрионального развития нами выявлено достоверное увеличение всех цифровых показателей (таблица 2), отражающих интенсивный рост изучаемых мышц. Так, относительный прирост массы поверхностной грудной мышцы Японского перепела (яичного направления продуктивности) составил 145,13% и явился максимальным в данный период. Причем наиболее крупной она стала у птиц мясного (фараон) направления продуктивности.

Кроме этого, значительные изменения выявлены и в структурном оформлении мышцы: так, макро-микроморфологически отчетливо просматривался ход пучков мышечных волокон, параллельный в грудной и коракоидно-ключичной частях и дугообразный в плечевой.

Таблица 2

Макроморфологические показатели скелетной мускулатуры перепелов различного направления продуктивности на 21-ые сутки постэмбрионального онтогенеза

	Четырехглавая мышца бедра			Поверхностная грудная мышца		
	Японский перепел	Маньчжурский перепел	Фараон	Японский перепел	Маньчжурский перепел	Фараон
Длина, см	3,65±0,80	2,98±0,27	3,91±0,07	4,26±0,85	5,18±0,97	5,70±0,23
Ширина (поперечник), см	0,57±0,03*	0,38±0,08*	0,96±0,03*	3,12±0,41	3,79±0,35	4,31±0,14
Масса, г	0,69±0,06*	0,87±0,09	0,94±0,04*	6,36±0,14	7,33±0,39	9,21±0,28
Абсолютный прирост, г	0,008±0,001	0,03±0,002	0,04±0,01	0,34±0,03	0,36±0,11	0,45±0,07
Относительный прирост, %	20,83	82,21	84,84	145,13	125,82	130,29
Живая масса, г	111,06±1,97	125,35±0,44	132,67±0,93*	125,35±0,44	125,35±0,44	132,67±0,93*
Длина тушки, см	18,32±0,48	17,09±0,14	19,95±0,53	18,32±0,48	17,09±0,14	19,95±0,53
Длина тазовой конечности, см	15,27±0,17	15,98±0,67	15,16±0,38	15,98±0,67	15,98±0,67	15,16±0,38

* - различия между сравниваемыми величинами достоверны ($p \leq 0,05$).

Прямая головка четырехглавой мышцы бедра, на данном сроке исследований, значимых изменений претерпевает только по показателям длины у всех изученных нами пород перепелов. Ее масса и поперечник увеличиваются незначительно и не имеют достоверных различий.

К 32-ым суткам постэмбрионального онтогенеза нами обнаружено недостоверное увеличение обеих мышц в размерах. Данный промежуток онтогенеза характеризуется замедлением ростовых процессов, о чем свидетельствует снижение показателей относительного прироста массы (у всех пород, за исключением четырехглавой мышцы бедра уяпонского перепела) при одновременном усилении внутриклеточной дифференцировки, что подтверждают установленные нами результаты световой и трансмиссионной электронной микроскопии.

В период с 32-ых по 42-ые сутки постэмбрионального развития происходит интенсивный рост мышц по всем изучаемым параметрам (рисунок 3,4), который сопровождается снижением процесса внутриклеточной активности. Наиболее яркие изменения выявлены, при

этом, в росте как общей массы тела птиц, так и отдельных мышечных каркасов. Все это может свидетельствовать о компенсации роста мышцы на высшем уровне структурной организации и перераспределении энергетической активности миосимпластов, что согласуется с полученными нами данными светооптического и электронномикроскопического исследований.

Кроме этого, из полученных данных видно, что птицы мясного направления продуктивности превосходят перепелов яичного и мясо-яичного направлений по всем изученным параметрам. Это свидетельствует об интенсивном метаболизме, протекающем в скелетной мускулатуре, а следовательно, и возможности накопления продуктов распада, неизбежно сказывающихся, на наш взгляд, на качественных показателях получаемой продукции.

Рисунок 3.

Прирост массы поверхностной грудной мышцы у перепелов различного направления продуктивности, %

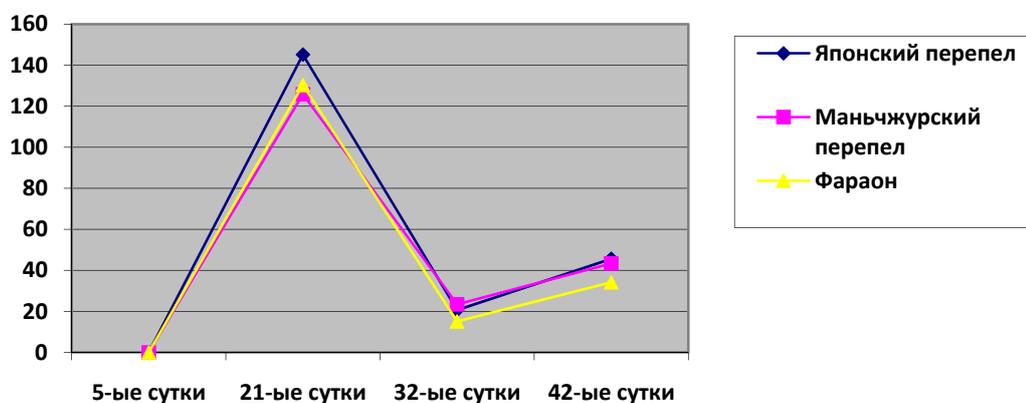
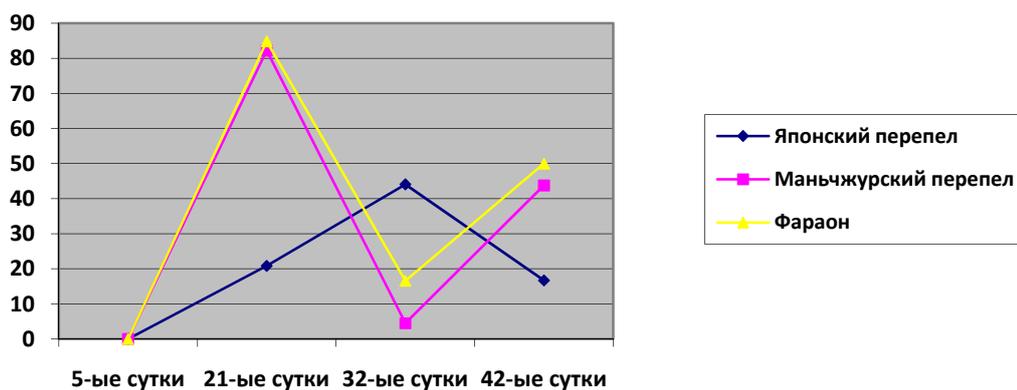


Рисунок 4.

Прирост массы прямой головки четырехглавой мышцы бедра у перепелов различного направления продуктивности, %



Анализ микроскопического строения и микроморфометрических показателей скелетных мышц у перепелов на разных сроках постэмбрионального онтогенеза

Анализ полученных данных позволяет заключить, что на 5-ые сутки постэмбрионального развития у всех трех исследованных пород перепелов в изученных мышцах (прямой головке четырехглавой мышце бедра и поверхностной грудной мышце) обнаружены хорошо оформленные пучки

мышечных волокон с выраженным соединительнотканым каркасом - перимизием и эндомизием (рисунок 5,6,7,8). Показатели толщины отдельных волокон, их пучков, а также эндомизия и перимизия были выше у цыплят перепела породы Фараон, по сравнению с таковыми у Маньчжурского и Японского. Второе место по изученным структурным признакам занимают перепела яичного направления продуктивности. Мясо-яичная порода (маньчжурский перепел) имеет минимальные значения изученных показателей. Четырехглавая мышца бедра по всем микроморфометрическим параметрам превосходит поверхностную грудную мышцу, за исключением толщины перимизия и количества волокон у японского перепела и фараона (таблица 3).

Обе мышцы, у всех исследуемых нами пород хорошо васкуляризованы и иннервированы. В их саркоплазме выявлено большое количество ядер, различных по содержанию эу- и гетерохроматина, причем в четырехглавой мышце у японского перепела и фараона преобладал первый тип, а в той же мышце у маньчжурского перепела - второй, что свидетельствует о их более интенсивной функциональной активности.

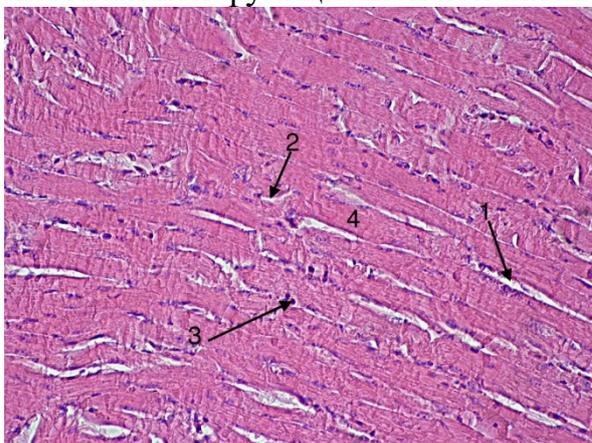


Рисунок 5. Микроморфология четырехглавой мышцы бедра, маньчжурского перепела на 5-ые сутки. Гематоксилин и эозин, об.40, ок.10. 1 – перимизий, 2 – эндомизий, 3 – ядро, 4 – пучок мышечных волокон.

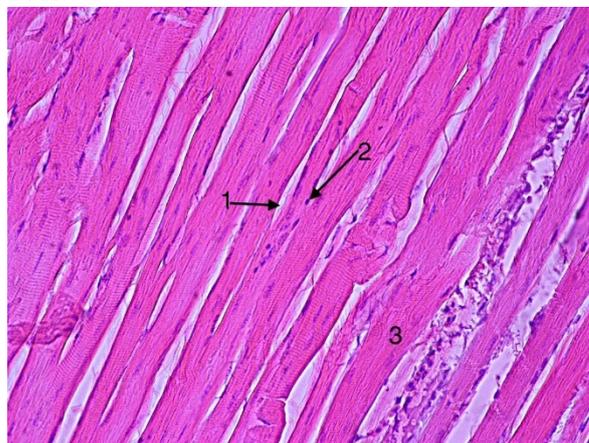


Рисунок 6. Микроморфология четырехглавой мышцы бедра у японского перепела на 5-ые сутки. Гематоксилин и эозин, об.40, ок.10. 1 – перимизий, 2 – ядро, 3 – пучок мышечных волокон.

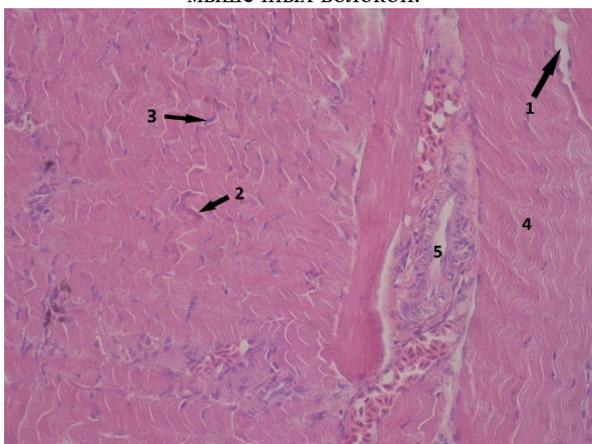


Рисунок 7. Микроморфология поверхностной грудной мышцы, перепела породы фараон на 5-ые сутки. Гематоксилин и эозин об.20, ок. 10. 1 – перимизий, 2 – эндомизий, 3 – ядро, 4 – пучок мышечных волокон

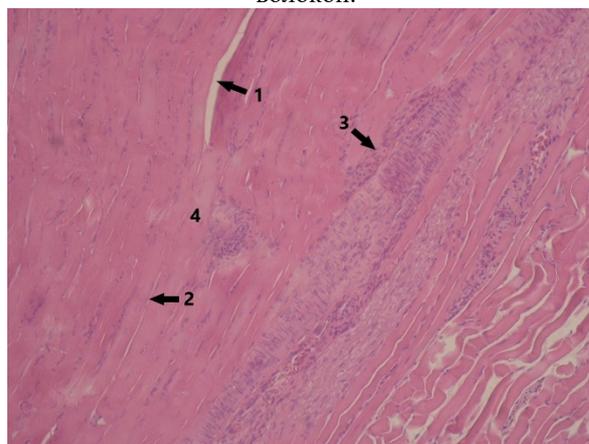


Рисунок 8. Микроморфология четырехглавой мышцы бедра у перепела породы фараон на 5-ые сутки. Гематоксилин и эозин об.20, ок. 10. 1 – перимизий, 2 – эндомизий, 3 – ядро, 4 – пучок мышечных волокон

Исследуемые мышцы у птиц всех пород на данном этапе постэмбрионального онтогенеза претерпевают процесс дальнейшего

развития, о чем свидетельствует наличие в симпластах большого количества ядер с активным эухроматином, а также извилистый ход большинства мышечных волокон. Площадь мышечной ткани преобладает над соединительной и максимальна в четырехглавой мышце бедра у птиц мясного направления продуктивности (фараон), что может являться прогностическим критерием оценки мясной продуктивности (таблица 3).

Таблица 3

Сравнительный микроморфометрический анализ скелетных мышц перепеловразных сроков постэмбрионального развития 5 – 21-ые сутки постэмбрионального развития

5-е сутки постэмбрионального развития						
	Маньчжурский перепел		Японский перепел		Фараон	
	Четырехглавая мышца бедра	Поверхностная грудная мышца	Четырехглавая мышца бедра	Поверхностная грудная мышца	Четырехглавая мышца бедра	Поверхностная грудная мышца
Площадь мышечной ткани, %*	78±2,14	76±4,21	75,0±4,65	72,0±3,14*	80±2,11	79±2,13
Толщина мышечных волокон, мкм	6,18±1,54*	5,43±1,32*	6,88±1,29	6,01±1,61	10,15±1,12*	6,57±1,12*
Толщина пучков мышечных волокон, мкм	75,7±6,25*	69,1±2,32*	82,41±3,57*	87,24±3,62*	89,83±6,38*	84,67±6,98*
Толщина эндомизия, мкм	1,13±0,13*	1,02±0,26	1,81±1,32	1,78±1,25	2,09±0,52	1,35±0,23*
Толщина перимизия, мкм	5,74±2,26*	4,92±2,14*	7,27±2,31*	7,82±2,15*	4,18±0,92*	6,91±0,68*
Кол-во волокон в поле зрения**	13±2	14±1	13,0±1,0	14±3	11±3	13±2
21-е сутки постэмбрионального развития						
	Четырехглавая мышца бедра	Поверхностная грудная мышца	Четырехглавая мышца бедра	Поверхностная грудная мышца	Четырехглавая мышца бедра	Поверхностная грудная мышца
Площадь мышечной ткани, %*	84±2,67	83±3,16	85±3,87	87±4,25*	85±2	83±3
Толщина мышечных волокон, мкм	9,67±0,13*	9,09±1,01*	9,01±1,18	8,45±1,35	18,1±1,83*	17,8±2,23*
Толщина пучков	134,56±6,	145,89±5,15*	147,76±5,15*	163,17±3,24	127,31±3,	148,78

мышечных волокон, мкм	34*			*	47*	±4,33*
Толщина эндомизия, мкм	3,75±1,27*	3,15±1,15	2,85±1,47	2,52±1,21	2,68±0,75	2,71±0,55*
Толщина перимизия, мкм	13,39±2,21*	12,15±1,44*	19,61±2,42*	18,32±2,14*	18,56±2,15*	18,33±2,79*
Кол-во волокон в поле зрения**	15±2	16±3	12±3	13±2	16±3	14±1

* - t – критерий Стьюдента $p \leq 0,05$, данные достоверны.

Сравнительный анализ результатов проведенных нами исследований показал, что на 21-ые сутки постэмбрионального развития, у перепелов, независимо от направления продуктивности, выявлено: утолщение мышечных волокон в обеих исследуемых мышцах, причем показатель толщины их пучков выше в поверхностной грудной мышце, в отличие от показателя толщины отдельных волокон, что может свидетельствовать о увеличении их количества в отдельных пучках, по сравнению с таковым в четырехглавой мышце. Толщина эндомизия и перимизия, по сравнению с предыдущим сроком исследований, у всех пород возрастает.

У птиц каждой исследованной породы, в поверхностной грудной мышце выявлено локальное сохранение извилистого хода мышечных волокон, а следовательно, и их пучков, а также наличие большого количества ядер, с преобладанием в кариоплазме эухроматина. Все это свидетельствует о продолжающемся процессе развития мышцы.

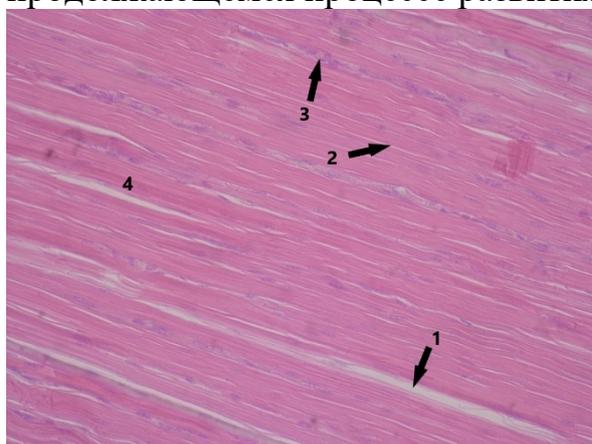


Рисунок 9. Микроморфология поверхностной грудной мышцы у перепела породы фараон на 21-ые сутки. Гематоксилин и эозин об.40, ок. 10.
1 – перимизий, 2 – эндомизий, 3 – ядро, 4 – пучок мышечных волокон

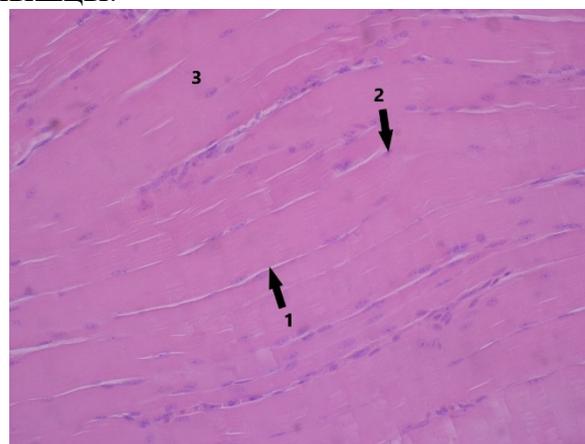


Рисунок 10. Микроморфология четырехглавой мышцы бедра у перепела породы фараон на 21-ые сутки. Гематоксилин и эозин об.40, ок. 10.
1 – перимизий, 2 – эндомизий, 3 – ядро, 4 – пучок мышечных волокон

Таким образом, в исследуемый период, происходит усиление роста мышц, подтверждающийся увеличением толщины мышечных волокон и их пучков.

У 32-суточных цыплят, во всех изученных нами образцах мышц, независимо от породной принадлежности птицы, установлено утолщение мышечных волокон, при этом четырехглавая мышца бедра по этому показателю опережает поверхностную грудную (таблица 4).

Таблица 4

Сравнительный микроморфометрический анализ скелетных мышц перепелов различного направления продуктивности на 32-ые сутки постэмбрионального онтогенеза

32-е сутки постэмбрионального развития						
	Маньчжурский перепел		Японский перепел		«Фараон»	
	Четырехглавая мышца бедра	Поверхностная грудная мышца	Четырехглавая мышца бедра	Поверхностная грудная мышца	Четырехглавая мышца бедра	Поверхностная грудная мышца
Площадь мышечной ткани, %*	84±2,67	83±3,16	85±3,87	87±4,25	85±2	83±3
Толщина мышечных волокон, мкм	9,67±0,13	9,09±1,01	9,01±1,18	8,45±1,35	18,1±1,83*	17,8±2,23*
Толщина пучков мышечных волокон, мкм	134,56±6,34	145,89±5,15*	147,76±5,15	163,17±3,24*	127,31±3,47	148,78±4,33*
Толщина эндомизия, мкм	3,75±1,27	3,15±1,15	2,85±1,47	2,52±1,21	2,68±0,75	2,71±0,55
Толщина перимизия, мкм	13,39±2,21	12,15±1,44*	19,61±2,42	18,32±2,14	18,56±2,15	18,33±2,79*
Кол-во волокон в поле зрения**	15±2	16±3	12±3	13±2	16±3	14±1

* - различия между сравниваемыми величинами достоверны ($p \leq 0,05$).

Максимального значения толщины достигают волокна в четырехглавой мышце бедра у перепелов породы «Фараон» мясного направления продуктивности. Одновременно, в этот период наблюдений утолщаются пучки мышечных волокон и перимизий. Его максимальная толщина была установлена в образцах четырехглавой мышцы самки Японского перепела яичного направления продуктивности.

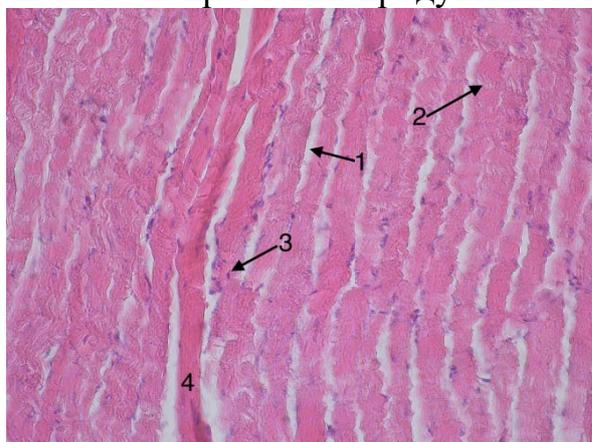


Рисунок 11 Микроморфология поверхностной грудной мышцы японского перепела на 32-ые сутки. Гематоксилин и эозин, об.40, ок.10.
1 – Перимизий, 2 – Эндомизий, 3 – ядро, 4 – пучок мышечных волокон.

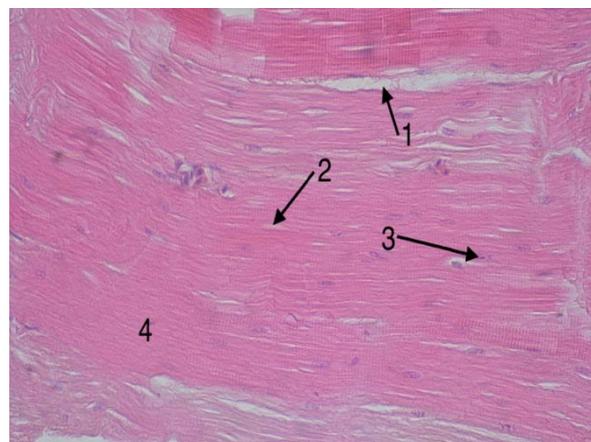


Рисунок 12 Микроморфология четырехглавой мышцы бедра у японского перепела на 32-ые сутки. Гематоксилин и эозин, об.40, ок.10.
1 – Перимизий, 2 – Эндомизий, 3 – Ядро, 4 – Пучок мышечных волокон.

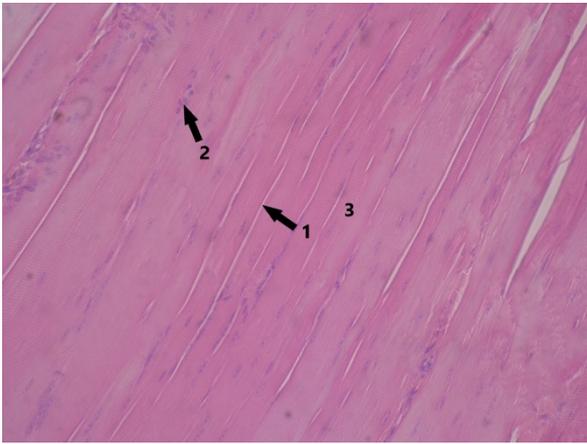


Рисунок 13 Микроморфология поверхностной грудной мышцы у перепела породы фараон на 32-ые сутки. Гематоксилин и эозин об.40, ок. 10.
1 –перимизий, 2 – эндомизий, 3 – ядро, 4 – пучок мышечных волокон

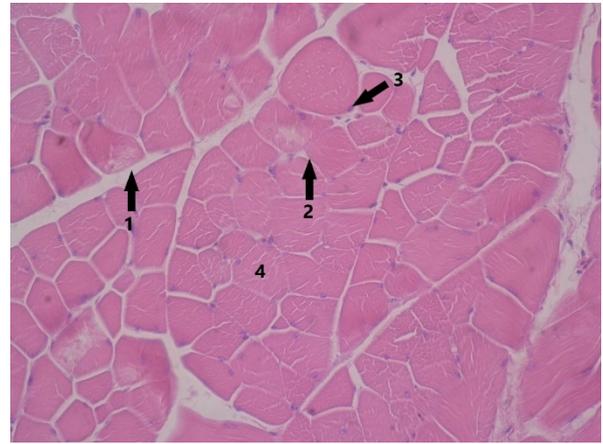


Рисунок 14. Микроморфология четырехглавой мышцы бедра у перепела породы фараон на 32-ые сутки. Гематоксилин и эозин об.40, ок. 10.
1 –перимизий, 2 – эндомизий, 3 – ядро, 4 – пучок мышечных волокон

Толщина эндомизия к данному периоду развития, наоборот, уменьшается. Площадь мышечной ткани в обеих мышцах возрастает и не зависит от породной принадлежности птицы. Самки перепелов разных направлений продуктивности, по большинству изученных показателей, включая количество волокон в поле зрения при увеличении в 1000 раз, превосходят самцов.

На 42-ые сутки постэмбрионального развития перепелов мясо-яичного (маньчжурский перепел), яичного (японский перепел) и мясного(фараон) направлений продуктивности изучаемые показатели: толщина мышечных волокон, пучков мышечных волокон, эндомизия и перимизия увеличиваются, при этом самки по всем исследуемым параметрам роста и развития скелетных мышц опережают самцов. Четырехглавая мышца по всем изученным микроморфологическим признакам превосходит поверхностную грудную.

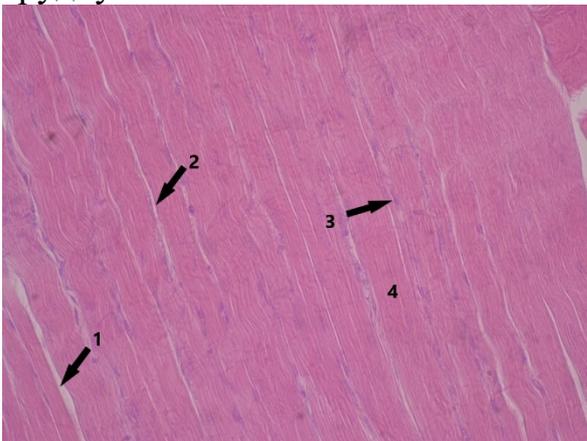


Рисунок 15. Микроморфология поверхностной грудной мышцы у перепела породы фараон на 42-ые сутки. Гематоксилин и эозин об.40, ок. 10.
1 –перимизий, 2 – эндомизий, 3 – ядро, 4 – пучок мышечных волокон

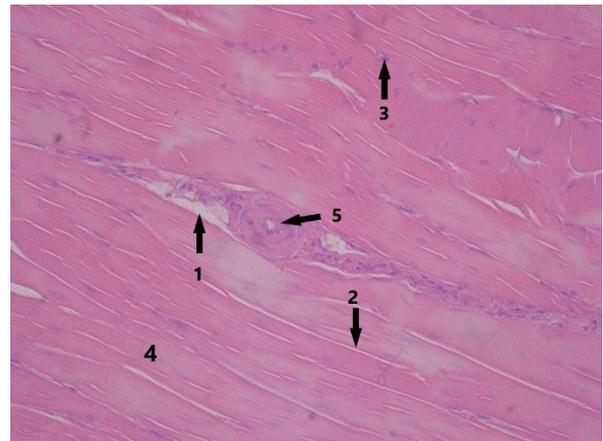


Рисунок 16. Микроморфология четырехглавой мышцы бедра у перепела породы фараон на 42-ые сутки. Гематоксилин и эозин об.40, ок. 10.
1 –перимизий, 2 – эндомизий, 3 – ядро, 4 – пучок мышечных волокон, 5 – сосуд

Среди изученных нами пород, ускоренные темпы морфогенеза, а также становления цитоархитектоники наблюдаются у перепелов мясного направления продуктивности, по сравнению с яичной и мясо-яичной породами, что, может быть, связано с реализацией особыми генетической программы, детерминированной филогенетически.

Кроме вышеизложенного, промежутки с 32-ых по 42-ые сутки постэмбрионального онтогенеза сопровождается усиленным компенсаторным ростом мышц, который в большей степени затрагивает поверхностную грудную мышцу. Полученные результаты, с учетом данных о снижении внутриклеточной активности, свидетельствуют о завершении структурного оформления скелетной мускулатуры и наступлении птицей продуктивного возраста.

Таблица 5

Характеристика четырехглавой мышцы бедра и поверхностной грудной мышцы по морфометрическим показателям у перепелов породы фараон на 42-ые сутки

42-е сутки постэмбрионального развития				
	Четырехглавая мышца бедра		Поверхностная грудная мышца	
	самка	самец	самка	самец
Площадь мышечной ткани, %	92±2,27	89±1,32	87±2,54	88±1,23
Толщина мышечных волокон, мкм	28,17±2,17*	23,27±3,19	19,87±2,14*	19,22±2,88
Толщина пучков мышечных волокон, мкм	226,45±4,21	215,67±6,19	213,89±5,18	208,49±4,67
Толщина эндомизия, мкм	2,35±0,99	2,20±0,43	1,64±0,49	1,98±1,03
Толщина перимизия, мкм	23,13±1,97	21,16±2,27	19,23±2,49	19,98±2,06
Кол-во волокон в поле зрения	10±1	11±2	12±2	12±1

* - критерий Стьюдента $p \leq 0,05$, данные достоверны.

Ультраструктурные особенности скелетной мускулатуры перепелов в постэмбриональном онтогенезе

Для более глубокого понимания и уточнения механизма внутриклеточной дифференцировки мышечного волокна, нами было проведено электронномикроскопическое исследование мышечной ткани у перепелов различного направления продуктивности на 21-ые и 42-ые сутки постэмбрионального онтогенеза.

На основании анализа результатов исследования скелетной мускулатуры перепелов на 21-ые сутки постэмбрионального развития установлено наличие в саркоплазме миосимпластов у всех исследуемых пород хорошо оформленного сократительного аппарата в виде компактно расположенных миофибрилл, митохондрий, с частичной вакуолизацией матрикса и обилие ядер с преобладанием в кариоплазме активного эухроматина.

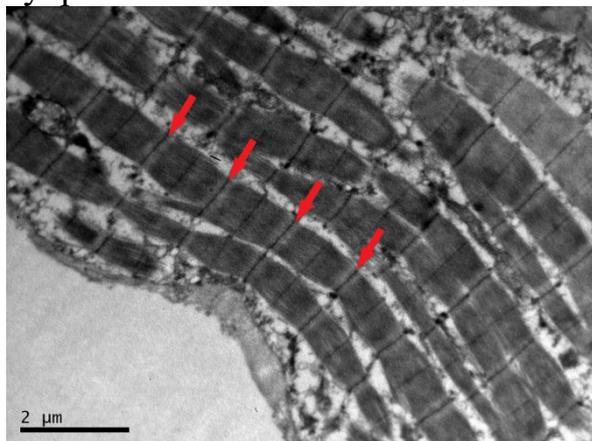


Рисунок 17. Ультраструктура поверхностной грудной мышцы перепела породы фараон на 21-ые сутки постэмбрионального развития. Стрелками показаны границы саркомеров Ув. 15000х

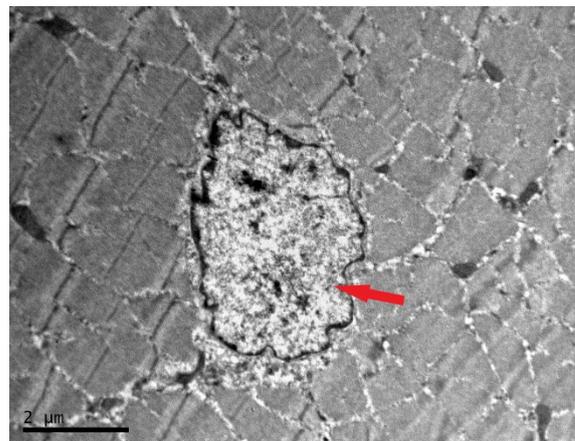


Рисунок 18. Ультраструктура четырехглавой мышцы бедра перепела породы фараон на 21-ые сутки постэмбрионального развития. Стрелкой показано ядро Ув. 15000х

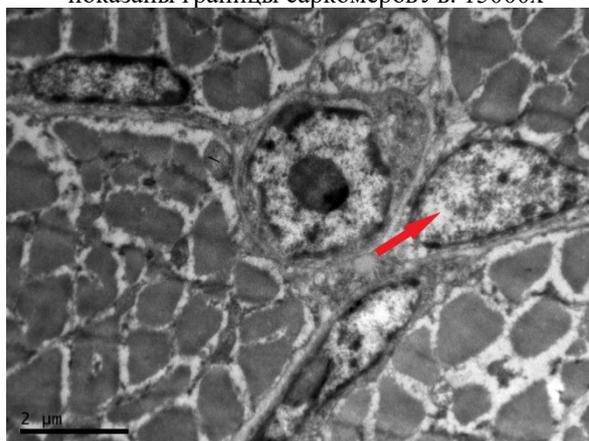


Рисунок 19. Ультраструктура поверхностной грудной мышцы у маньчжурского перепела на 21-ые сутки постэмбрионального развития. Стрелкой показан миосателлитоцит. Ув. 18000х

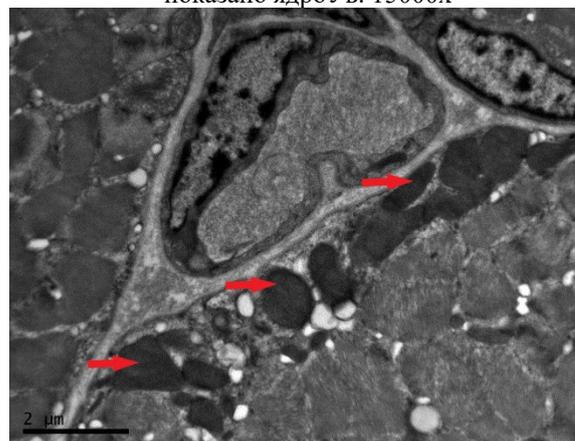


Рисунок 20. Ультраструктура четырехглавой мышцы бедра у маньчжурского перепела на 21-ые сутки постэмбрионального развития. Стрелками показаны митохондрии Ув. 18000х

Это может свидетельствовать о старте интенсивной внутриклеточной дифференциации структур, которая, по нашим данным макроморфологического исследования, начинается именно в этом возрасте.

Кроме того, энергетический аппарат четырехглавой мышцы представлен удлиненными митохондриями палочковидной формы, с более плотным, по сравнению с поверхностной грудной, матриксом. Несмотря на это, их большее количество, обнаружено в поверхностной грудной мышце.

Этот факт может быть связан с реализацией птицей генетической программы морфогенеза вида, направленной на осуществление способности к полету и постепенным перераспределением нагрузки с грудной конечности на тазовую и, как следствие, увеличением энергетической потребности клеток четырехглавой мышцы.

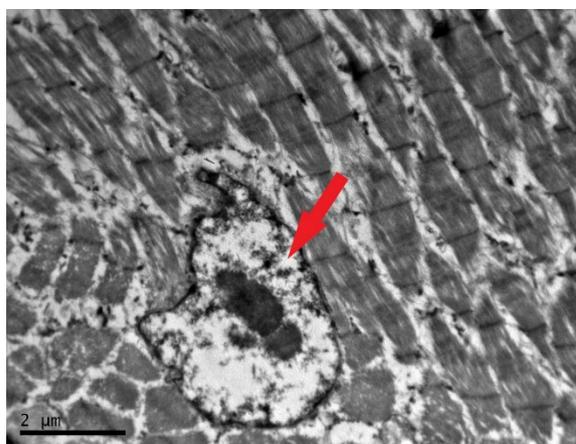


Рисунок 21. Ультраструктура поверхностной грудной мышцы у японского перепела на 21-ые сутки постэмбрионального развития. Стрелкой показано ядро, насыщенное эухроматином Ув. 18000х

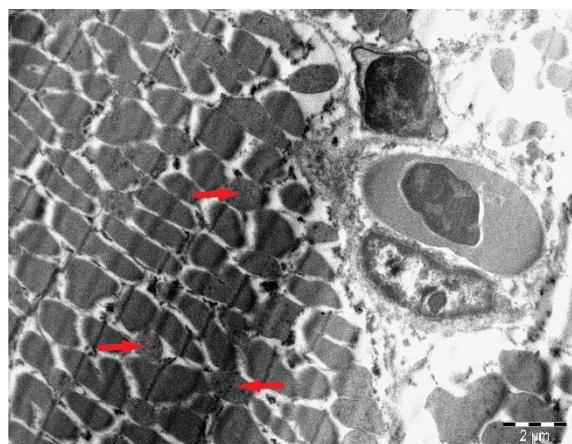


Рисунок 22. Ультраструктура четырехглавой мышцы бедра у перепела породы японский перепел на 21-ые сутки постэмбрионального развития. Стрелками показаны митохондрии Ув. 18000х

На 42-ые сутки постэмбрионального развития перепелов в ультраструктуре поверхностной грудной мышцы обнаружено существенное увеличение количества единично расположенных между миофибриллами митохондрий, а также сосредоточенных группами по периферии мышечного волокна, у сарколеммы, и имеющих, как правило, округлую и овальную формы. Локально обращает на себя внимание сильная вакуолизация матрикса митохондрий, которая может быть обусловлена влиянием биомеханики двигательного поведения птицы: перераспределением нагрузки с грудной на тазовую конечность и аутолизом избыточных энергетических структур.

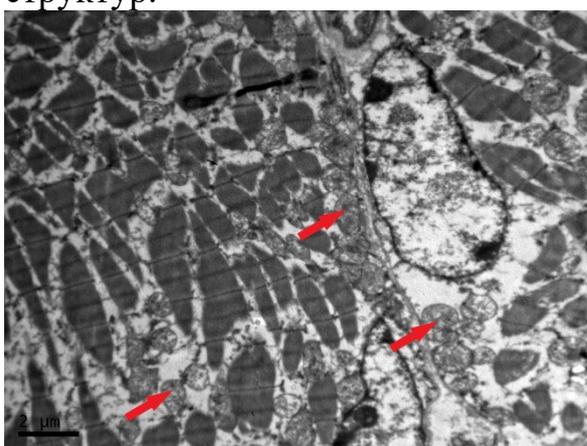


Рисунок 23. Ультраструктура поверхностной грудной мышцы у перепела породы фараон на 42-ые сутки постэмбрионального развития. Стрелками показаны многочисленные, вакуолизованные митохондрии Ув. 15000х

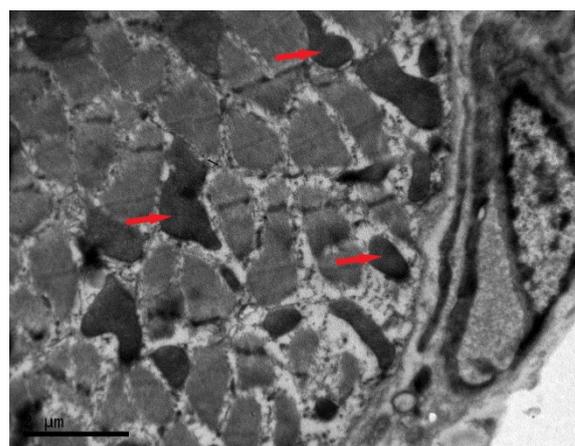


Рисунок 24. Ультраструктура четырехглавой мышцы бедра у перепела породы фараон на 42-ые сутки постэмбрионального развития. Стрелками показаны многочисленные, электронноплотные митохондрии Ув. 15000х

Кроме этого, увеличивается размер ядер, причем содержание активного эухроматина в кариоплазме снижается только у птицы мясо-яичного направления продуктивности (маньчжурский перепел), и сохраняется у японского перепела и фараона.

Четырехглавая мышца бедра на 42-ые сутки постэмбрионального развития перепелов характеризуется уплотнением по отношению друг к другу миофибрилл. Количество митохондрий, также, как в поверхностной грудной мышце, увеличивается, но они массивнее, в большинстве своем палочковидной, или неправильной формы с очень плотным, интенсивно окрашенным матриксом. В ядрах у всех исследуемых пород сохраняется эухроматин.

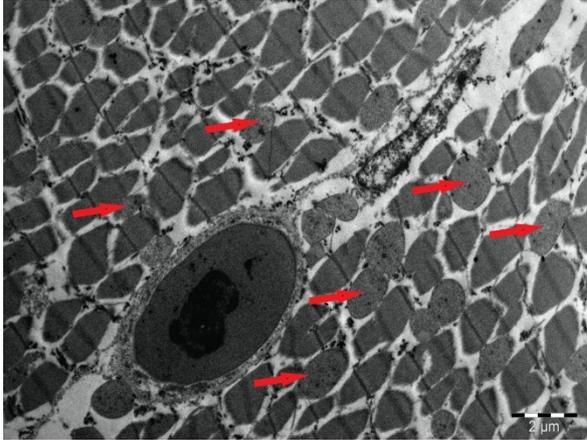


Рисунок 25. Ультраструктура поверхностной грудной мышцы у маньчжурского перепела на 42-ые сутки постэмбрионального развития. Стрелками показаны митохондрии с уплотненным матриксом Ув. 27000х

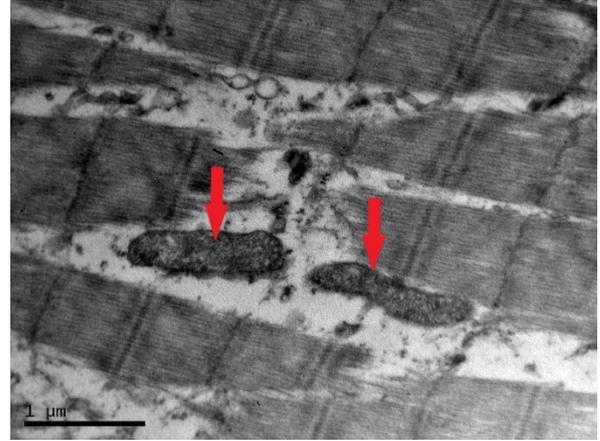


Рисунок 26. Ультраструктура четырехглавой мышцы бедра у маньчжурского перепела на 42-ые сутки постэмбрионального развития. Стрелками показаны митохондрии Ув. 27000х

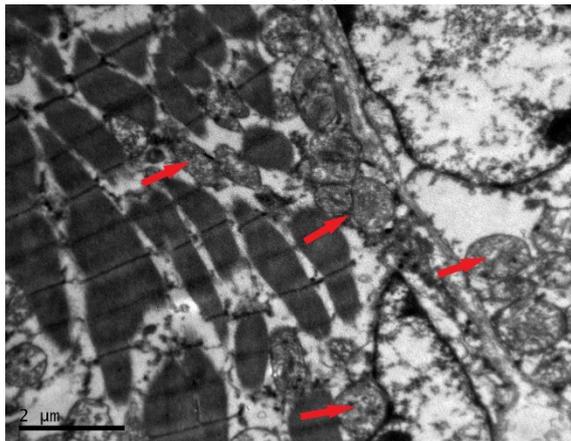


Рисунок 27. Ультраструктура поверхностной грудной мышцы у японского перепела на 42-ые сутки постэмбрионального развития. Стрелками показаны митохондрии Ув. 18000х

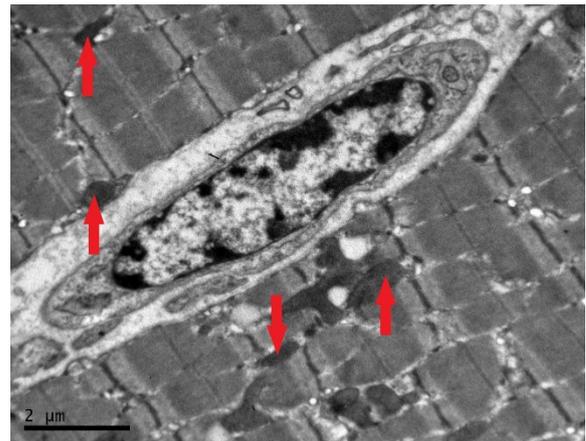


Рисунок 28. Ультраструктура четырехглавой мышцы бедра японского перепела на 42-ые сутки постэмбрионального развития. Стрелками показаны митохондрии Ув. 18000х

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Выявлены закономерности роста скелетных мышц перепелов, характеризующиеся динамикой относительного прироста их массы на разных этапах постэмбрионального развития. Так, интенсивный рост мышц в период с 5-ых по 21-ые сутки, подтверждается их приростом до 145,13%, сменяясь замедлением ростовых процессов вплоть до 32-ых суток и их компенсацией (до 50%) к моменту наступления продуктивного возраста.

2. Установленная нами микроморфологическая картина скелетной мышечной ткани, отражающая асинхронность ростовых процессов в постэмбриональный период развития перепелов, выражается в ускоренном росте мышечных волокон на начальных (5-ые – 21-ые сутки) этапах, сменяющемся их замедлением на 21-ые – 32-ые сутки, при одновременной дифференциации структур мышечного волокна и компенсацией ростовых процессов к моменту наступления продуктивного возраста, независимо от породной принадлежности птицы.

3. Четырехглавая мышца бедра превосходит поверхностную грудную мышцу по показателям толщины мышечных волокон, толщины перимизия, а также скорости дифференциации структур миосимпластов у всех пород, во все изученные сроки развития, независимо от породной принадлежности птицы.

4. Выявлены особенности цитоархитектоники скелетной мышечной ткани, заключающиеся в усиленной дифференцировке внутриклеточных структур в период с 21-ых по 32-ые сутки и продолжающейся на поздних (42-ые сутки) этапах постэмбрионального онтогенеза.

5. Полученные данные свидетельствуют о влиянии полового диморфизма на рост и развитие скелетных мышц. При этом самки к моменту наступления продуктивного возраста по показателям толщины мышечных волокон и их пучков, достоверно ($p \leq 0,05$), опережают самцов.

6. Разработан комплексный методологический подход к оценке скелетной мышцы у перепелов с учетом направления продуктивности на различных уровнях ее структурной организации: органном (макроскопическая морфометрия с анализом относительного и абсолютного прироста массы), тканевом (микроморфометрия миосимпластов с определением толщины мышечных волокон, их пучков, эндо- и перимизия, площади мышечной ткани, а также количества волокон в поле зрения) и клеточном (трансмиссионная электронная микроскопия с оценкой сократительного и энергетического аппаратов).

7. На основании разработанного методологического подхода, определены прогностические маркеры оценки продуктивности птицы в постэмбриональном онтогенезе: на 21-ые сутки – толщина мышечных волокон у птицы мясного направления и относительный прирост массы мышцы с утолщением пучков волокон у яйценоских пород; на 32-ые сутки – относительный прирост массы в четырехглавой мышце бедра у птицы яичного направления продуктивности; на 42-ые сутки - толщина мышечных волокон и их пучков у перепелов мясного направления продуктивности.

РЕКОМЕНДАЦИИ ПО ИСПОЛЬЗОВАНИЮ НАУЧНЫХ ВЫВОДОВ

1. Результаты исследований дополняют и расширяют сведения в области сравнительной морфологии скелетной мускулатуры у птиц различных пород и направлений продуктивности. Полученные данные являются базовыми для функциональной и экспериментальной морфологии в вопросах оценки структурно-функционального состояния скелетных мышц в норме и при патологии.

2. Представленные данные об особенностях морфогенеза и структурного оформления скелетных мышц перепелов различного направления продуктивности могут быть использованы в учебном процессе на кафедрах анатомии, гистологии, птицеводства и болезней птиц, а также при написании соответствующих разделов учебников, учебных пособий и монографий.

3. Полученные результаты могут быть учтены при совершенствовании технологии выращивания птицы, а также для прогнозирования возможного направления ее продуктивности, на ранних сроках постэмбрионального развития при совершенствовании методов селекционно-племенной работы в перепеловодстве.

СВЕДЕНИЯ О ПРАКТИЧЕСКОМ ИСПОЛЬЗОВАНИИ РЕЗУЛЬТАТОВ

Результаты научных исследований используются для усовершенствования технологии выращивания птицы в селекционно-генетическом центре «Загорское экспериментальное племенное хозяйство» - филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения Федерального научного центра «Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт птицеводства» ВНИТИП, а также в учебном процессе на кафедрах анатомии и гистологии животных следующих вузов: ФГБОУ ВО МГАВМиБ – МВА имени К.И. Скрябина; ФГБОУ ВО КГАВМ имени Н.Э. Баумана; ФГБОУ ВО Оренбургский ГАУ; ФГБОУ ВО СПбГАВМ; ФГБОУ ВО Ставропольской ГАУ.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Морфометрические показатели скелетных мышц у перепелов мясного направления продуктивности / Шакирова Г.Р., Большунов В.А. // В сборнике: Современное состояние, традиции и инновационные технологии в развитии АПК материалы международной научно-практической конференции в рамках XXVIII Международной специализированной выставки "Агрокомплекс-2018". Башкирский государственный аграрный университет. - 2018. - С. 233-237.

2. Сравнительный морфометрический анализ поверхностной грудной мышцы у перепелов / Шакирова Г.Р., Большунов В.А. // В сборнике: Наука молодых – инновационному развитию АПК материалы XI Национальной научно-практической конференции молодых ученых. Башкирский государственный аграрный университет. - 2018. С. - 168-171.

3. Морфогенез скелетной мускулатуры перепелов мясного направления продуктивности / Слесаренко Н.А., Большунов В.А. / В сборнике: АКТУАЛЬНЫЕ ПРОБЛЕМЫ ВЕТЕРИНАРНОЙ МОРФОЛОГИИ И ВЫСШЕГО ЗООВЕТЕРИНАРНОГО ОБРАЗОВАНИЯ Сборник трудов Национальной научно-практической конференции с международным участием. - 2019. С. - 227-232.

4. Морфометрические показатели скелетной мускулатуры продуктивных перепелов / Большунов В.А. / В сборнике: Вопросы ветеринарии и ветеринарной биологии Сборник научных трудов молодых ученых. Москва, - 2019. С. - 19-21.

5. Анализ морфометрических показателей скелетной мускулатуры самок и самцов перепелов яичного направления продуктивности / Большунов В.А., Шакирова Г.Р. / В сборнике: Актуальные вопросы биологии, биотехнологии, ветеринарии, зоотехнии, товароведения и переработки сырья животного и растительного происхождения Материалы национальной научно-практической конференции. - 2019. С. - 23-25.

6. Особенности гистогенеза скелетной поперечнополосатой мышечной ткани у перепелов Японской породы / Шакирова Г.Р., Большунов В.А. / Морфология. - 2019. - Т. 155. № 2. С. 320.

7. Ультроструктура четырехглавой мышцы бедра перепелов / Шакирова Г.Р., Большунов В.А., Шакирова С.М. / Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. – 2019. - № 2. С. 131-134.

8. Морфологические особенности скелетной мускулатуры перепелов яичного направления продуктивности / Слесаренко Н.А., Большунов В.А. / Известия Самарской государственной сельскохозяйственной академии. - 2019. - № 4. С. 60-65.