

ОПТИЧЕСКИЙ МЕТОД РЕГИСТРАЦИИ ДВИГАТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ЭМБРИОНА ПТИЦ

Евгений Александрович Андрианов¹
Алексей Александрович Андрианов¹
Александр Николаевич Судаков²
Николай Яковлевич Скользнев³

¹Воронежский государственный аграрный университет имени императора Петра I

²Российский государственный аграрный заочный университет

³Воронежский государственный университет

С учетом важности понимания роли внешних воздействий на развитие эмбриона, а также ряда сходных процессов эмбриогенеза животных и человека изучение эмбрионального развития является одним из важнейших направлений современной науки. Выявлено непосредственное влияние двигательной активности эмбриона на формирование скелета и мышечной системы. Активизация двигательной активности эмбриона в процессе инкубации положительно влияет на мясную продуктивность бройлеров в постэмбриональный период. Изучение двигательной активности эмбриона в яйце имеет ряд преимуществ по сравнению с исследованиями, при которых эмбрион развивается в материнском организме. При этом необходимо учитывать, что яйцо имеет особенности, осложняющие наблюдение за развитием эмбриона, а исследования, не предполагающие повреждения скорлупы, требуют применения технических средств. В рамках исследования рабочих параметров устройства оптической неинвазивной регистрации частоты сердечных сокращений эмбриона птиц одним из помехообразующих факторов являлась подвижность эмбриона, однако анализ осциллограмм светопропускающей способности яйца, полученных при длительном мониторинге сердечной деятельности эмбриона, выявил возможность получения и регистрации высокоточных данных о двигательной активности эмбриона. Приводится сравнительный анализ различных типов осциллограмм колебаний напряжения, вызванных изменениями светопропускающей способности яйца вследствие сердечных сокращений и двигательной активности эмбриона. Оценка продолжительности двигательной активности эмбриона осуществляется посредством сравнения амплитуды напряжений и частотной составляющей полезного сигнала. Предлагается использование спектрограммы для дифференциации типов полезного сигнала. Рассматривается возможность использования оптического метода в целях изучения двигательной активности эмбриона в яйце. Результаты проведенных исследований свидетельствуют о возможности использования метода регистрации светопропускающей способности яйца для изучения двигательной активности эмбриона. Методика полностью исключает повреждение скорлупы и позволяет проводить исследования с первой четверти срока инкубации до выупления.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: двигательная активность эмбриона птиц, неинвазивное исследование, спектрограмма, частота сердечных сокращений, светопропускающая способность яйца.

OPTICAL METHOD OF REGISTRATION OF MOTOR ACTIVITY OF BIRD EMBRYO

Evgeniy A. Andrianov¹
Aleksey A. Andrianov¹
Alexander N. Sudakov²
Nikolay Ya. Skolznev³

¹Voronezh State Agrarian University named after Emperor Peter the Great

²Russian State Agrarian Correspondence University

³Voronezh State University

Taking into account the importance of understanding the role of external impact on the development of the embryo, as well as a number of similar processes of animal and human embryogenesis, studying the embryonic development is one of the most important directions in modern science. The authors have revealed a direct influence of motor activity of the embryo on the formation of the skeleton and muscular system. The activation of the embryo's motor activity in the process of incubation has a positive effect on meat productivity of broilers in the postembryonic period. Studying the embryo's motor activity in the egg has a number of advantages compared to studies in which the embryo develops in the maternal organism. It should be taken into account that the egg has some features that complicate the observation of development of the embryo, and studies that do not involve the damage to the shell require the use of special

technical means. In the study of operating parameters of the device for optical non-invasive recording of heart rate of bird embryos one of the interference-generating factors was the embryo's mobility. However, the analysis of oscillograms of egg light transmitting ability obtained during long-term monitoring of the embryo's cardiac activity revealed the possibility of obtaining and recording high-precision data on the embryonic motor activity. The authors provide a comparative analysis of various types of oscillograms of voltage fluctuations caused by changes in egg light transmitting ability due to heart contractions and motor activity of the embryo. The duration of the embryo's motor activity is estimated by comparing the voltage amplitude and frequency component of the desired signal. It is proposed to use spectrograms to differentiate the types of desired signal. The authors also consider the possibility of using the optical method for studying the motor activity of the embryo in the egg. The results of research indicate the possibility of using the method of recording the egg light transmitting ability for studying the embryo's motor activity. This technique completely eliminates the damage to the shell and allows conducting research from the first quarter of the incubation period until hatching.

KEYWORDS: motor activity of bird embryo, non-invasive study, spectrograms, heart rate, egg light transmitting ability.

Введение
Сложно переоценить влияние эмбрионального периода развития организма на его дальнейшую жизнь. В процессе эмбриогенеза закладываются и формируются висцеральные системы, складывается внешний облик животных и человека [1]. С учетом сходности ряда процессов эмбрионального развития позвоночных одним из современных направлений исследований является изучение двигательной активности эмбриона птиц [10]. Яйцо, в котором эмбрион развивается независимо от воздействия материнского организма, позволяет проводить ряд экспериментов, недоступных исследователю в иных условиях. Доказано, что двигательная активность эмбриона оказывает значительное влияние на формирование скелета и мышечной системы. Стимуляция двигательной активности эмбриона позволяет повысить мясную продуктивность бройлеров в постэмбриональный период [6, 11, 14, 16].

Показателен опыт, при котором посредством воздействия химических соединений снижалась или прекращалась полностью двигательная активность эмбриона птиц. Дальнейшее морфологическое исследование эмбриона выявило значительные изменения в формировании костных и мышечных тканей, которые, в отсутствие двигательной активности, не получили нормального развития [8].

Вместе с тем в качестве объекта наблюдений яйцо и развивающийся в нем зародыш имеют ряд особенностей, вызванных наличием скорлупы, повреждение которой повышает риски инфицирования зародыша и в большинстве случаев затрудняет продолжительные эксперименты, связанные с визуальным наблюдением двигательной активности эмбриона [2].

На сегодняшний день известно несколько способов, позволяющих регистрировать двигательную активность эмбриона без повреждения скорлупы. Наиболее распространенным является способ, при котором двигательная активность эмбриона регистрируется в процессе визуального контроля яйца в проходящем свете видимой части спектра (овоскопия). Существуют также способы, при которых регистрируются микровибрации яйца, вызванные движениями эмбриона, акустические колебания или локальные колебания скорлупы посредством тензодатчиков [9].

Следует отметить, что сходные методики проведения эксперимента применяются при изучении сердечной деятельности эмбриона птиц [7, 15]. Однако наиболее современным направлением технических средств регистрации частоты сердечных сокращений эмбриона птиц является регистрация изменений светопропускающей способности яйца, вызванная изменением диаметра кровеносных сосудов [12].

Экспериментальные данные, полученные в рамках разработки устройства оптической регистрации частоты сердечных сокращений эмбриона птиц, выявили возможность оптической регистрации двигательной активности эмбриона [5].

Методика исследований

Определение двигательной активности эмбрионов домашней курицы проводили на базе инкубатория Воронежского государственного университета (Задонский район, Липецкая область).

Яйца инкубировались в автоматическом инкубаторе «R-COM 50 PRO» при температуре 37,5°C и влажности 66%.

Регистрация двигательной активности осуществлялась при помощи устройства регистрации частоты сердечных сокращений, представляющего собой специализированное высокоточное устройство измерения уровня освещенности (рис. 1) [3].

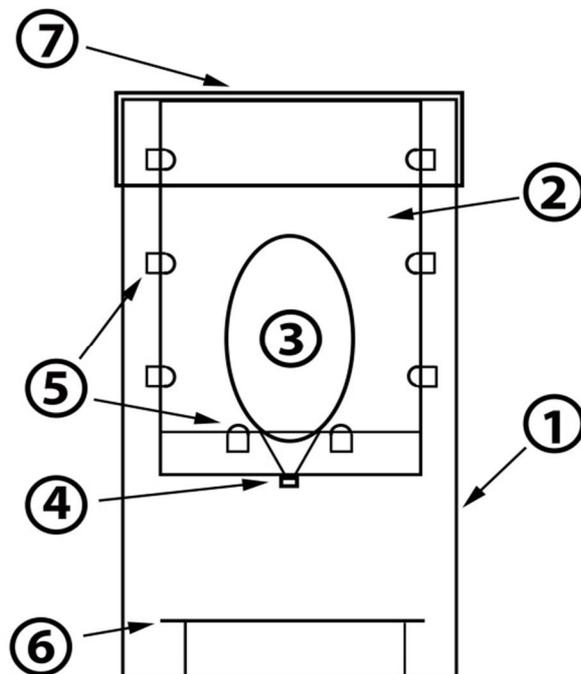


Рис. 1. Устройство регистрации частоты сердечных сокращений эмбриона птиц:
1 – корпус; 2 – внутренняя камера; 3 – яйцо; 4 – фоточувствительный датчик;
5 – ИК-светодиоды; 6 – блок управления; 7 – крышка

Принцип работы устройства основан на регистрации изменений количества проходящего и отраженного от яйца инфракрасного излучения (950 нм), источником которого является группа светодиодов. Изменения светопропускающей способности яйца связаны с пульсацией кровеносных сосудов вследствие сердечных сокращений, а также двигательной активностью эмбриона. Регистрация количества инфракрасного излучения осуществляется высокочувствительным фотодиодом, колебания напряжения на выходе которого, после усиления многокаскадным усилителем на операционных усилителях и фильтрации, достигают значений, позволяющих использовать акустический тракт персонального компьютера для записи осциллограммы и последующего анализа.

Объектом исследований стала партия инкубационного яйца кур породы джерсийский гигант в количестве 20 штук. Каждое яйцо ежедневно помещали на 5 мин. в устройство контроля частоты сердечных сокращений, данные об изменении светопропускающей способности яйца записывались в формате аудиофайла в память персонального компьютера для последующего визуального анализа осциллограмм.

Дифференциация типов сигнала и выделение изменений амплитуды сигнала, вызванных двигательной активностью эмбриона, проводились на основании методики подсчета частоты сердечных сокращений эмбриона птиц [4].

Длительный мониторинг двигательной активности эмбриона осуществлялся с применением удаленного оптического датчика, закрепляемого непосредственно на яйце, находящемся в камере инкубатора.

Результаты и их обсуждение

В ходе эксперимента были получены осциллограммы, на которых визуально дифференцировались три типа колебаний светопропускающей способности яйца.

К первому типу относятся колебания малой амплитуды широкого диапазона частот (рис. 2). Данный тип колебаний присутствует при исследовании как неоплодотворенных яиц, так и яиц на раннем сроке инкубации. Несмотря на высокую чувствительность применяемого устройства, позволяющего регистрировать изменения интенсивности освещенности до 0,05 люкс, пороговым значением, при котором возможно определение как частоты сердечных сокращений, так и двигательной активности эмбриона, являются 5-е сутки инкубации для эмбриона кур, срок инкубации которых составляет 22 дня. Колебания малой амплитуды, регистрируемые на ранних сроках эмбриогенеза, вызваны оптическими и электромагнитными помехами.

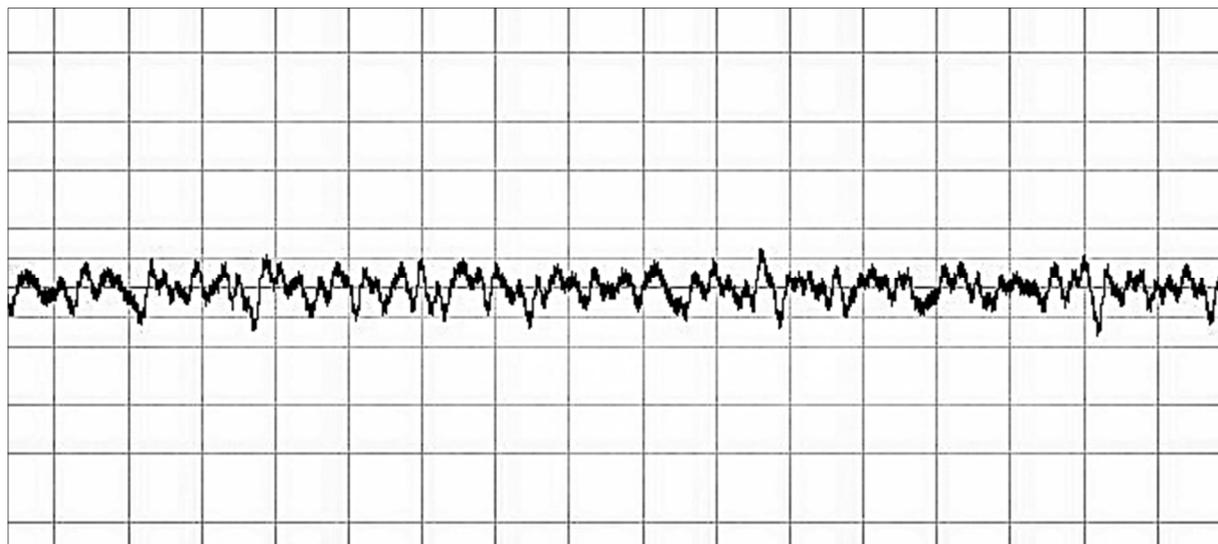


Рис. 2. Осциллограмма исследования неоплодотворенного яйца курицы продолжительностью 1 сек.

Второй тип колебаний светопропускающей способности яйца представлен на рисунке 3 и характеризуется средним диапазоном значений. Данные колебания вызваны изменением диаметра кровеносных сосудов аллантаоиса и позволяют регистрировать частоту сердечных сокращений эмбриона.

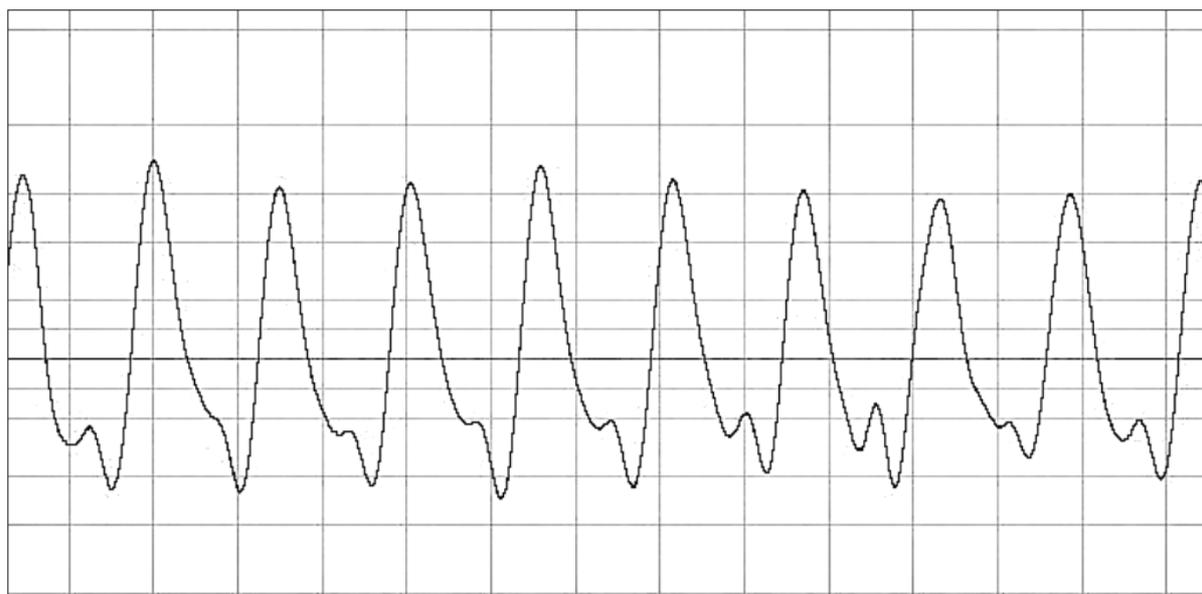


Рис. 3. Осциллограмма исследования оплодотворенного яйца курицы на 12-е сутки инкубации продолжительностью 2 сек.

Третий тип колебаний характеризуется широким диапазоном напряжений, однако, в большинстве случаев, его амплитуда значительно превышает амплитуду как первого, так и второго типов сигнала (рис. 4). Колебания хаотичные, продолжительность колебаний данного типа значительно варьирует.

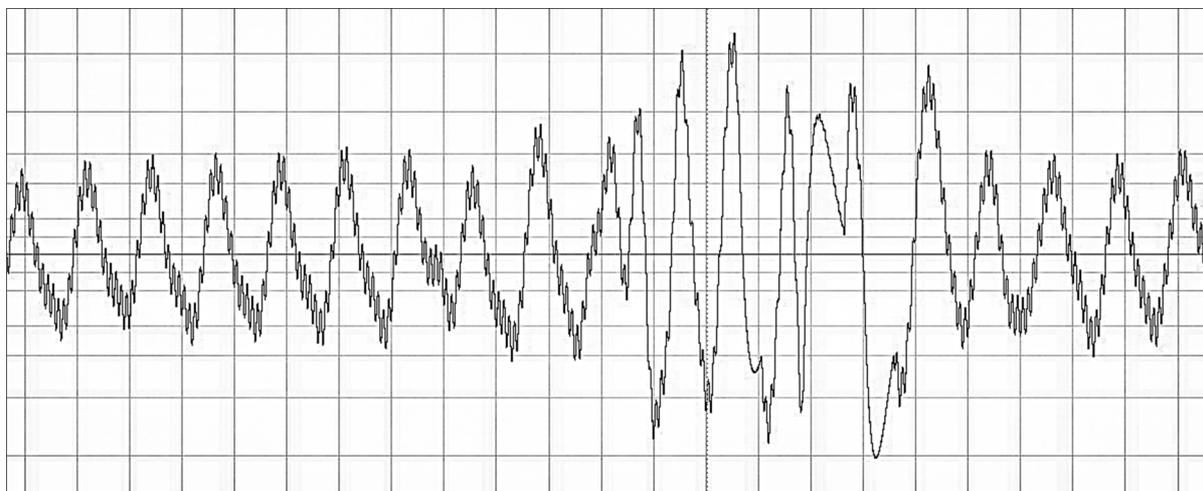


Рис. 4. Осциллограмма исследования оплодотворенного яйца курицы на 8-е сутки инкубации продолжительностью 5 сек. Наблюдаются скачки напряжения, вызванные движениями эмбриона

Для выявления причины колебаний данного типа, параллельно с регистрацией изменения светопропускающей способности яйца в инфракрасном диапазоне, было проведено визуальное наблюдение при просвечивании яйца светом видимой части спектра, позволившее установить, что данный тип колебаний вызван двигательной активностью эмбриона.

В связи с тем что колебания, вызванные двигательной активностью эмбриона, имеют значительную амплитуду, визуальная оценка длительности двигательной активности не представляет сложности для экспериментатора при анализе осциллограмм напряжения сигнала (рис. 5).

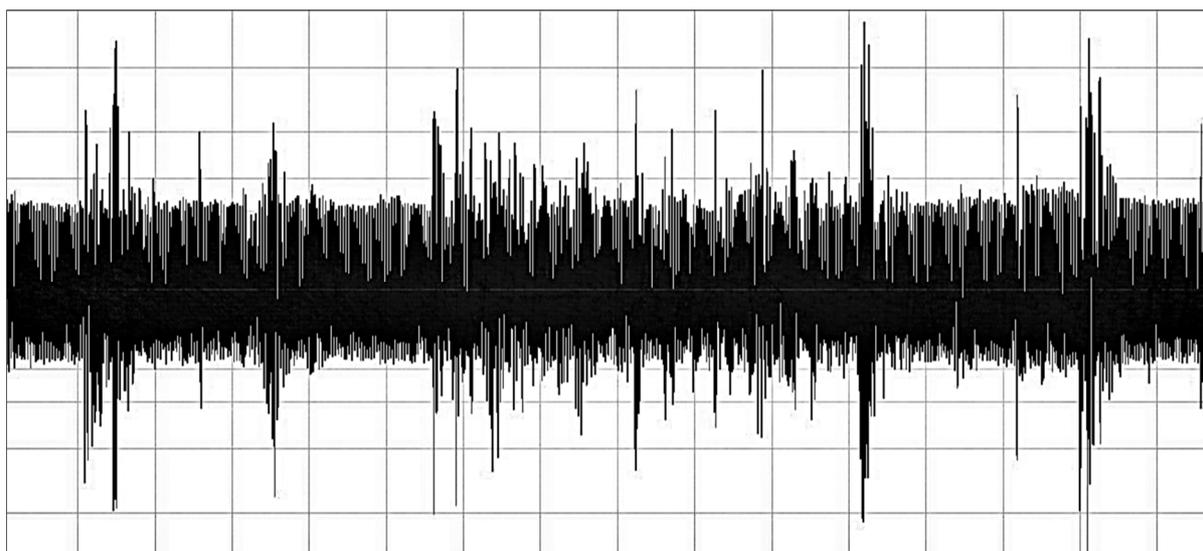
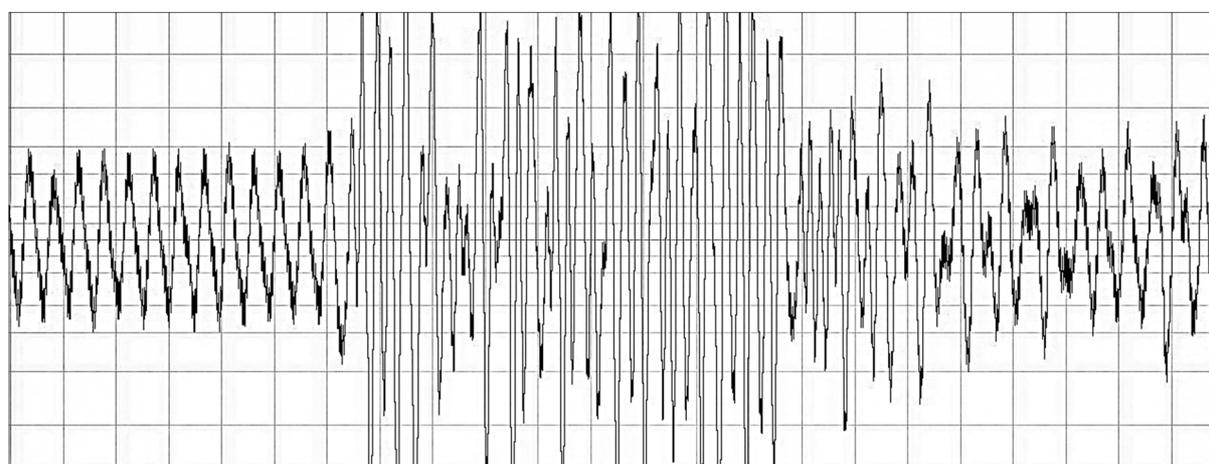


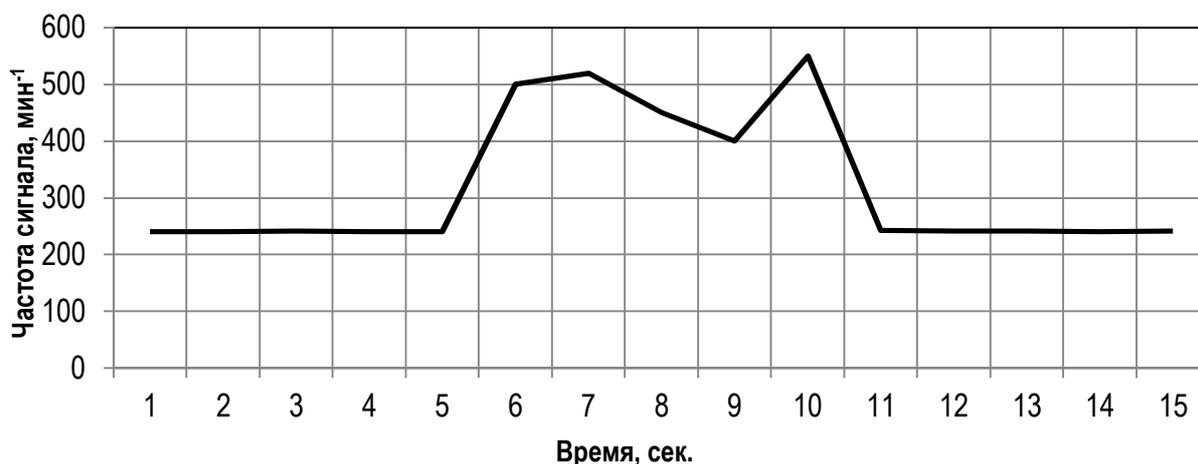
Рис. 5. Осциллограмма исследования оплодотворенного яйца курицы на 15-е сутки инкубации продолжительностью 3 мин.

Особо следует отметить возможность спектральной визуализации частотной составляющей полученных сигналов (рис. 6). Несмотря на то что подобный тип визуализации

зации не отражает данных о сердечной деятельности эмбриона, изменение частотной характеристики сигнала облегчает визуальное наблюдение периодов двигательной активности эмбриона.



а



б

Рис. 6. Осциллограмма (а) и график частотной характеристики (б) исследования оплодотворенного яйца курицы на 8-е сутки инкубации продолжительностью 15 сек.

В ходе эксперимента были выявлены корреляции снижения двигательной активности эмбриона с понижением температуры яйца, что соответствует данным ранних исследований, полученных инвазивными методами [13].

Выводы

Результаты проведенных исследований свидетельствуют о возможности использования метода регистрации светопропускающей способности яйца для изучения двигательной активности эмбриона.

Значительное различие в амплитуде колебаний, вызванных сердечной деятельностью и двигательной активностью эмбриона, позволяет предположить возможность автоматизации процесса выявления периодов двигательной активности.

Методика полностью исключает повреждение скорлупы и позволяет проводить исследования с первой четверти срока инкубации до вылупления.

Как показали исследования, при стимуляции двигательной активности эмбриона можно повысить мясную продуктивность бройлеров в постэмбриональный период.

Библиографический список

1. Антипчук Ю.П. Гистология с основами эмбриологии : учеб. пособие / Ю.П. Антипчук. – Москва : Просвещение, 1983. – 240 с.
2. Буртов Ю.З. Инкубация яиц / Ю.З. Буртов, Ю.С. Голдин, И.П. Кривошипин. – Москва : Агропромиздат, 1990. – 238 с.
3. Пат. 2665117 Российская Федерация, МПК А61В 5/0245 (2006.01). Способ регистрации частоты сердечных сокращений эмбриона птиц без разрушения скорлупы и устройство для его осуществления / Судаков А.Н. и др. ; заявитель и патентообладатель ФГБОУ ВО РГАУ. – № 2016115016 ; заявл. 18.04.2016 ; опубл. 28.08.2018, Бюл. № 25. – 4 с.
4. Разработка методики подсчета частоты сердечных сокращений эмбриона птиц / А.Н. Судаков и др. // Наука сегодня: вызовы и решения : матер. международной науч.-практ. конф. : в 2 ч. (31 января 2018 г., г. Вологда, Научный центр «Диспут»). – Вологда : Изд-во ООО «Маркер», 2018. – Ч. 2. – С. 172–175.
5. Судаков А.Н. Мониторинг состояния эмбриона птиц в реальном времени / А.Н. Судаков, Е.А. Андрианов // Биотехнологии и инновации в агробизнесе : матер. международной науч.-практ. конф. – Белгород : Белгород. гос. аграр. ун-т, 2018. – Ч. II. – С. 80–84.
6. Bos A.F. Intrauterine growth retardation, general movements, and neurodevelopmental outcome: a review / A.F. Bos, C. Einspieler, H.F. Precht // *Dev. Med. Child. Neurol.* – 2001. – Vol. 43 (1). – Pp. 61–68.
7. Cain J.R. Heart rate of the developing chick embryo / J.R. Cain, U.K. Abbott, V.L. Rogallo // *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* – 1967. – Vol. 126. – Pp. 502–510.
8. Hall B.K. A simple, single-injection method for inducing long-term paralysis in embryonic chicks, and preliminary observations on growth of the tibia / B.K. Hall // *Anatomical record.* – 1975. – Vol. 181. – Pp. 767–778.
9. Hamburger V. Some aspects of the embryology of behavior / V. Hamburger // *Q. Rev. Biol.* – 1963. – Vol. 38. – Pp. 342–365.
10. Muller G.B. Embryonic motility: environmental influences and evolutionary innovation / G.B. Muller // *Evol. Dev.* – 2003. – Vol. 5. – Pp. 56–60.
11. Neuromuscular development in the avian paralytic mutant crooked neck dwarf (cn/cn): further evidence for the role of neuromuscular activity in motoneuron survival / R.W. Oppenheim [et al.] // *J. Comp. Neurol.* – 1997. – Vol. 381. – Pp. 353–372.
12. Noninvasive heart rate measurement using a digital egg monitor in chicken and Turkey embryos / M. Lierz, O. Gooss, H.M. Hafez // *Journal of Avian Medicine and Surgery.* – 2006. – Vol. 20 (3). – Pp. 141–146.
13. Oppenheim R. W. Short-term changes in incubation temperature. Behavioral and physiological effects in the chick embryo from 6 to 20 days / R.W. Oppenheim, H.L. Levin // *Dev. Psychobiol.* – 1975. – Vol. 8. – Pp. 103–115.
14. Paralysis and long bone growth in the chick: growth shape trajectories of the pelvic limb / J.E. Bertram [et al.] // *Growth Dev. Aging.* – 1997. – Vol. 61. – Pp. 51–60.
15. Rahn H. The acoustocardiogram: a non-invasive method for measuring heart rate of avian embryos in ovo / H. Rahn, S.A. Poturalski, C.V. Paganelli // *J. Appl. Physiol.* – 1990. – Vol. 69. – Pp. 1546–1548.
16. Ryu Y.U. Precocious locomotor behavior begins in the egg: development of leg muscle patterns for stepping in the chick / Y.U. Ryu, N.S. Bradley // *PLoS ONE.* – 2009. DOI: 10.1371/journal.pone.0006111.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Принадлежность к организации

Евгений Александрович Андрианов – доктор сельскохозяйственных наук, профессор кафедры технологического оборудования, процессов перерабатывающих производств, механизации сельского хозяйства и безопасности жизнедеятельности ФГБОУ ВО «Воронежский государственный аграрный университет имени императора Петра I», Россия, г. Воронеж, e-mail: evgeniy377@gmail.com.

Алексей Александрович Андрианов – кандидат сельскохозяйственных наук, доцент кафедры технологического оборудования, процессов перерабатывающих производств, механизации сельского хозяйства и безопасности жизнедеятельности ФГБОУ ВО «Воронежский государственный аграрный университет имени императора Петра I», Россия, г. Воронеж, e-mail: alexey739@gmail.com.

Александр Николаевич Судаков – аспирант кафедры биоэкологии ФГБОУ ВО «Российский государственный аграрный заочный университет», Россия, г. Балашиха, e-mail: ansudak@gmail.com.

Николай Яковлевич Скользнев – кандидат биологических наук, директор заповедника «Галичья гора» ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет», Россия, Липецкая область, с. Донское, e-mail: skolznik@mail.ru.

Дата поступления в редакцию 02.10.2018

Дата принятия к печати 10.11.2018

AUTHOR CREDENTIALS

Affiliations

Evgeniy A. Andrianov – Doctor of Agricultural Sciences, Professor, the Dept. of Technological Equipment, Processing Plants' Processes, Agricultural Engineering, Health and Safety, Voronezh State Agrarian University named after Emperor Peter the Great, Russia, Voronezh, e-mail: evgeniy377@gmail.com.

Aleksey A. Andrianov – Candidate of Agricultural Sciences, Docent, the Dept. of Technological Equipment, Processes of Processing Industries, Agricultural Mechanization and Health and Safety, Voronezh State Agrarian University named after Emperor Peter the Great, Russia, Voronezh, e-mail: alexey739@gmail.com.

Alexander N. Sudakov – Postgraduate Student, the Dept. of Bioecology, Russian State Agrarian Correspondence University, Russia, Balashikha, e-mail: ansudak@gmail.com.

Nikolay Ya. Skolznov – Candidate of Biological Sciences, Director, Voronezh State University-affiliated Galichya Gora Nature Reserve, Russia, Lipetsk Oblast, Donskoe, e-mail: skolznik@mail.ru.

Received October 02, 2018

Accepted November 10, 2018