

ГАРЬКУН ВАЛЕРИЯ ИГОРЕВНА

**МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ПЕЧЕНИ И КРОВИ
У УТОК ПЕКИНСКОЙ ПОРОДЫ НА ФОНЕ ПРИМЕНЕНИЯ
СЕЛЕНООРГАНИЧЕСКОГО ПРЕПАРАТА**

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

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени
кандидата ветеринарных наук

Санкт-Петербург – 2021

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Ивановская государственная сельскохозяйственная академия имени Д. К. Беляева»

Научный руководитель – Клетикова Людмила Владимировна, доктор биологических наук, доцент, профессор кафедры акушерства, хирургии и незаразных болезней животных ФГБОУ ВО «Ивановская государственная сельскохозяйственная академия имени Д. К. Беляева».

Официальные оппоненты: Селезнев Сергей Борисович, доктор ветеринарных наук, профессор, профессор департамента ветеринарной медицины аграрно-технологического института ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов».

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

Ведущая организация – ФГБОУ ВО «Нижегородская государственная сельскохозяйственная академия»

Защита состоится «15» апреля 2021 г. в 13.00 часов на заседании диссертационного совета Д 220. 059. 05 на базе Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины», по адресу: 196084, г. Санкт-Петербург, Черниговская ул., 5. Тел. /факс: (812) 388-36-31

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины» по адресу: 196084, г. Санкт-Петербург, Черниговская ул., 5 и на официальном сайте: <http://www.spbgavm.ru>.

Автореферат размещен на сайтах: ВАК при Министерстве науки и высшего образования РФ: <http://vak.minobrnauki.gov.ru> «09» февраля 2021 г и ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины» <http://www.spbgavm.ru>. «09» февраля 2021 г.

Автореферат разослан «___» _____ 2021 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета

Кузнецова, Татьяна Шамильевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Агропромышленный комплекс России переживает период активного развития. В условиях действия продовольственного эмбарго и значительной государственной поддержки сформировались благоприятные условия для развития агропромышленного комплекса и пищевой промышленности.

Потребление мяса птицы повсеместно растет. Мировая практика показывает тенденцию, направленную на расширение ассортимента видов мяса птицы, в связи с чем, обострился интерес к водоплавающей птице. Мясо водоплавающих птиц богато витаминами группы В, макро- и микроэлементами, по своему аминокислотному составу близко к мясу дичи. Влияние антропоэкологических процессов, изъятие отдельных элементов из окружающей среды оказывает неблагоприятное влияние на животный организм. Поэтому рынок продуктов здорового питания предполагает обогащение мяса птицы полноценными белками, жирными кислотами, витаминами и микроэлементами.

В селенодефицитных провинциях, к которым относятся Ивановская, Костромская, Владимирская и другие области, особенно актуальным является обогащение и создание селен-содержащих функциональных продуктов питания (Roberfroid, M. B., 2002; Киселев, В. М., Астраков, В. М., 2005; Шендеров, Б. А., 2008; Евдокимова, О. В., Лаврушина, Е. В., 2009; Оттавей, П. Б., 2010; Самойлова, Т. В., Щеглова, В. П., 2019), а также обеспечение здоровья и продуктивного долголетия птицы (Surai, P. F. et al., 2006; Перепелкина, Л. И., 2009; Wang, Z. G. et al, 2010; Егоров, И. и др., 2019). Несмотря на большое количество работ отечественных и иностранных ученых посвященных изучению применения селена, недостаточно информации о влиянии органических форм селена на динамику показателей крови и морфоструктуры печени у уток пекинской породы.

Степень разработанности темы. Имеющиеся литературные сведения за последние десятилетия не позволяют объективно оценить влияние селеноорганического препарата ДАФС-25к на систему крови, не отражают закономерностей и последовательной динамики гематологических показателей крови и морфоструктуры печени у уток пекинской породы в период постинкубационного онтогенеза.

Применение селенсодержащих препаратов, в том числе ДАФС-25к, в условиях птицеводческих хозяйств целесообразно и экономически эффективно (Твердохлебов, А. А., 2005; Yoon, I., 2007; Галашов, В. В., 2012; Ноздрин, Г. А. и др., 2013). Тем не менее, в практику птицеводческих хозяйств разных форм собственности не внедрены способы контроля обеспеченности микроэлементами уток пекинской породы в постинкубационном развитии.

Работ по применению селеноорганического препарата ДАФС-25к в практику разведения уток пекинской породы, с учетом содержания селена в кормах в регионах дефицитных по селену, таких как Ивановская область, мы не обнаружили. Данный факт послужил для проведения комплексного исследования, включающего, доклиническую оценку содержания селена в кормах, исследование в динамике гематологических и биохимических показателей крови, морфогенеза печени у уток пекинской породы от 1- до 120-суточного возраста, оценке содержания селена в печени у 120-суточных уток.

Цель исследования. Изучить гемато-биохимический профиль крови и микроструктуру печени уток пекинской породы в постэмбриональном онтогенезе на фоне применения селеноорганического препарата.

Задачи исследования:

1. Оценить влияние селеноорганического препарата ДАФС-25к на систему крови у уток пекинской породы от 1- до 120-суточного возраста.
2. Проанализировать динамику соматометрических показателей с учетом критических периодов развития уток пекинской породы от 1- до 120-суточного возраста при применении препарата ДАФС-25к.
3. Провести сравнительную оценку микроструктуры печени у уток пекинской породы в возрастном аспекте при применении препарата ДАФС-25к.
4. Разработать рекомендации по применению селеноорганического препарата ДАФС-25к в регионах, дефицитных по содержанию селена на примере Палехского района Ивановской области.

Научная новизна. Впервые установлено содержание селена в комбикормах для молодняка и взрослого поголовья уток пекинской породы. Выявлено синхронное изменение гематологических и биохимических показателей крови и морфоструктуры печени в критические периоды постэмбрионального развития уток пекинской породы.

На основании комплекса методов, использованных в исследовании, выявлен физиологический потенциал организма уток пекинской породы в постинкубационный период развития, обусловленный спецификой механизма воздействия ДАФС-25к. Установлено, что препарат ДАФС-25к обладает способностью защищать биомембраны клеток от разрушающего воздействия свободных радикалов за счет активации ферментов (супероксиддисмутазы, каталазы, глутатионпероксидазы) и витаминов (Е и А). В результате биомембраны клеток становятся более устойчивыми к воздействию свободных радикалов, тем самым повышается интенсивность обменных процессов, ускоряются процессы эритропоэза и синтетической функции печени.

Выявлено, что на фоне применения ДАФС-25к в соответствии с наставлением по применению в период выращивания от 1- до 120-суточного возраста у уток пекинской породы происходит повышение живой массы и содержание селена в печени. Увеличение концентрации селена в печени, не превышающее МДУ, предупреждает ее жировое перерождение.

Теоретическая и практическая значимость. Практическое значение научного исследования состоит в оценке содержания селена в кормах и решении вопроса о коррекции его дефицита путем введения в рацион селеноорганического препарата ДАФС-25к в дозе 1,6 мг/кг корма по массе в период выращивания уток пекинской породы от 1- до 120-суточного возраста. Добавка в рацион ДАФС-25к позволила снизить затраты на проведение лечебных мероприятий от экссудативного диатеза, улучшить конверсию корма, стимулировать рост и эффективное использование запасов желточного мешка, ускорить процессы линьки, улучшить метаболизм, повысить конверсию селена в печень, улучшить товарный вид тушки и печени.

Внедрение. Результаты внедрены в работу «ООО «Ивановская Птицефабрика», КФХ Котомин И. А., ветеринарных клиниках Москвы, Московской и Ивановской областей; результаты исследований используются при чтении лекций и проведения лабораторных занятий со студентами специальности «Ветеринария», аспирантами направления подготовки «Ветеринария и зоотехния» в Ивановской ГСХА.

Методология и методы исследования. Методологической основой для проведения научных исследований явился комплекс научных положений и работ отечественных и зарубежных ученых Бодровой, Л. Ф. (2004); Гибизова, И. Т. (2005); Цогоева, Ф. (2006); Курилкина, В. В., Кулешова, К. А., Шлейдера, И. А. (2008); Edens, F. W. (2008); Никитченко, В. Е. (2011) и других, занимавшихся разработкой и внедрением в птицеводство селеносодержащих кормовых добавок.

В ходе научных изысканий использовались теоретические и эмпирические методы: научный поиск, сравнение, анализ, синтез, макро- и микроморфометрия, классические гистологические, спектрофотометрические, гематологические, биохимические, математические.

Степень достоверности и апробация работы. Научные выводы и практические предложения теоретически обоснованы и подтверждены фактическими данными. Достоверность проведенных исследований основана на том, что все лабораторные методы исследования выполнены с привлечением сертифицированного оборудования с последующей статистической обработкой данных.

Основные результаты научных исследований доложены, обсуждены и получили положительную оценку на: международной научно-практической конференции «Научный диалог: Вопросы медицины» (Москва, 2018); XI международной научно-практической конференции «Фундаментальные и прикладные научные исследования: актуальные вопросы, достижения и инновации» (Пенза, 2018); Международной научно-практической конференции «Инновационная деятельность науки и образования в агропромышленном производстве» (Курск, 2019); Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, посвященной 100-летию высшего аграрного образования на Урале «Агротехнологии XXI века» (Пермь, 2019); II Международном конкурсе обучающихся и педагогов профессиональных (высших, средних, начальных) учебных заведений «Professional stars – 2018/2019» (Москва, 2019); XI Международной научно-практической конференции «Инновационные исследования как локомотив развития современной науки: от теоретических парадигм к практике» (Москва, 2019); Европейском форуме молодых исследователей (Петрозаводск, 2019); Международном научно-исследовательском конкурсе «Конкурс молодых учёных» (Пенза, 2020); XX национальной научно-практической конференции с международным участием по патологической анатомии животных «Актуальные вопросы патологии, морфологии и терапии животных» (УФА, 2020).

Реализованный личный вклад. Основные положения диссертационной работы утверждены службой ветеринарии Ивановской области (Протокол № 4 от 03.02.2020).

Положения, выносимые на защиту:

1. Динамика живой массы и массы печени уток пекинской породы от 1- до 120-суточного возраста на фоне применения ДАФС-25к.
2. Возрастные изменения показателей крови у уток пекинской породы в постэмбриональном онтогенезе на фоне применения ДАФС-25к.
3. Морфометрические параметры печени в период постэмбрионального развития уток пекинской породы на фоне применения ДАФС-25к.

Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на 124 страницах текста компьютерной верстки, включает введение, обзор литературы, материалы и

методы исследований, результаты и их обсуждение, заключение, список литературы, список сокращений, допущенных в работе. Работа иллюстрирована 13 таблицами и 36 рисунками. Список литературы включает 204 источника, в том числе 29 на иностранном языке.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы

Диссертационная работа выполнена в период 2017-2020 гг в Ивановской государственной сельскохозяйственной академии на кафедре акушерства, хирургии и незаразных болезней животных.

В исследовании включены утки пекинской породы, содержащиеся в крестьянско-фермерском хозяйстве в Палехском районе Ивановской области.

Из уток суточного возраста методом аналогов сформированы две группы. Формирование групп проводили с учетом живой массы (отклонение массы в пределах 0,5%), по 250 особей в каждой. Первая группа служила контролем и получала основной рацион, вторая – опытная, к основному рациону кормовую добавку ДАФС-25к (регистрационный номер № ПВР-2-01. 12/0280), содержащую не менее 95% диацетофенонилселенида с массовой долей селена 25%. ДАФС-25к вводили в рацион опытной группы уток в соответствии с наставлением по применению, в дозе 1,6 мг/кг корма по массе (рисунок 1).

Оценку содержания селена в комбикормах для молодняка и взрослых уток проводили в Федеральном научном центре «Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт птицеводства» Российской академии наук (ФНЦ «ВНИТИП» РАН) (Аттестат аккредитации РООС RU. 0001. 21ПЧ64) в соответствии с ГОСТ Р52471-2005 от 27. 09. 2019 г., протокол №633. В комбикорме для взрослой птицы содержание селена составило 0,14 мг/кг, для молодняка – 0,06 мг/кг, содержание йода в комбикорме для взрослой птицы не выявлено, в комбикорме для молодняка – 0,69 мг/кг. Определение живой массы и массы печени уток проводили на весах марок Тiаmо НК0513ВК-1 и 3D в 1-, 15-, 30-, 45-, 60-, 75-, 90-, 105- и 120-суточном возрасте. Относительный прирост живой массы уток вычислили по формуле Броди:

$$K = \frac{W_t - W_0}{0,5 \times (W_t + W_0)} \times 100\% \quad (1),$$

где: K – относительный прирост в процентах за определенный отрезок времени, W_t– масса в данном возрасте, W₀ – масса начальная.

Топографию печени изучили макро- и микроморфометрическим методом. Для изучения структуры печени использовали метод обычного и тонкого препарирования (по В. П. Воробьеву, 1925), форму печени, цвет и размеры долей фотографировали на цифровой фотоаппарат.

Относительную массу печени рассчитывали по формуле:

$$OM = \frac{\text{Масса органа (r)}}{\text{Масса тела (r)}} \times 100\% \quad (2).$$

Исследование крови выполняли с суточного возраста утят с интервалом в 15 дней (в 1-, 15-, 30-, 45-, 60-, 75-, 90-, 105- и 120-суточном возрасте). Кровь получали натошак из плечевой вены.

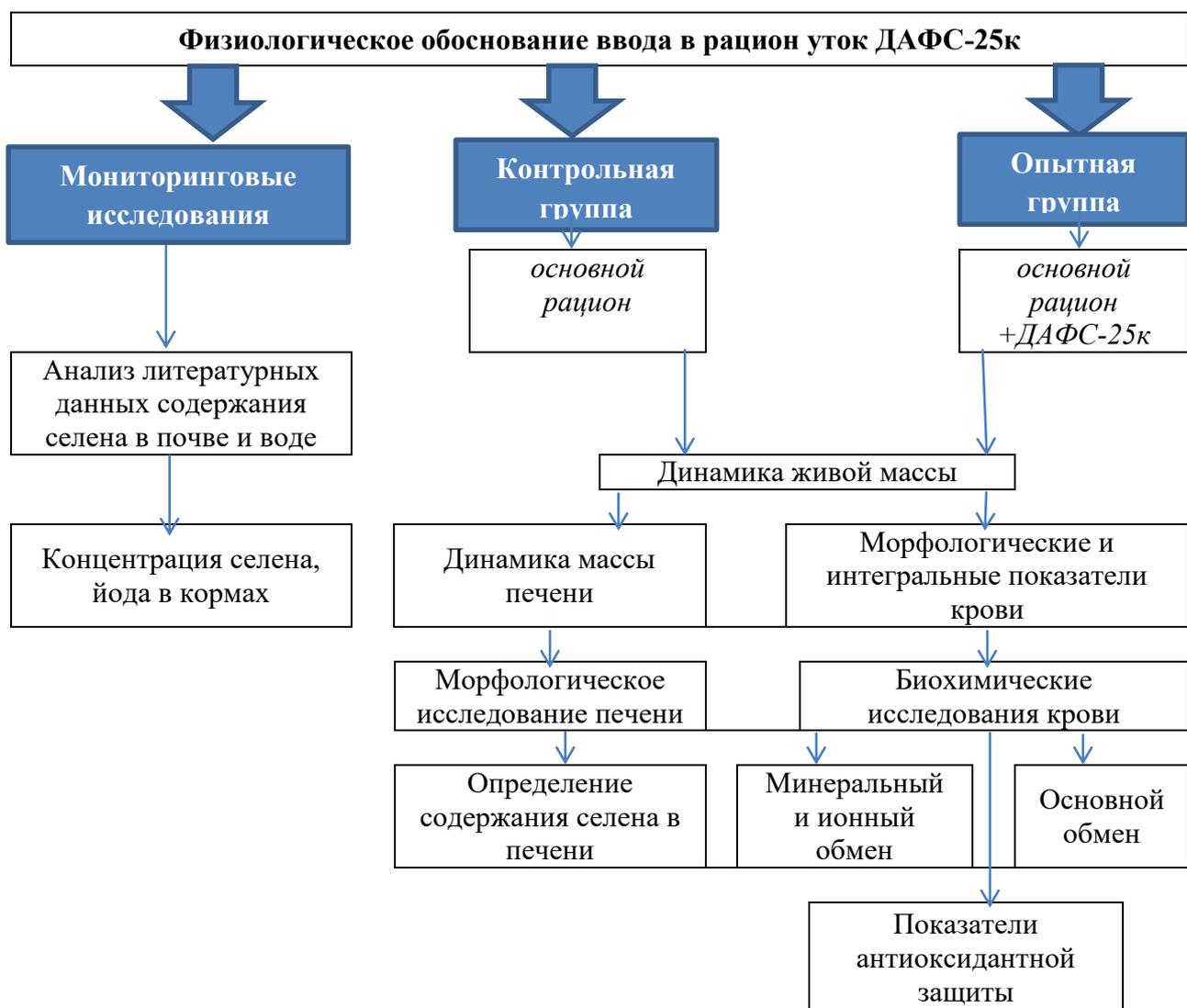


Рисунок 1 – Дизайн проведения эксперимента.

Содержание гемоглобина изучали на гематологическом анализаторе ВСЕ-90Vet, гематокрит – с помощью гематокритной центрифуги, подсчет форменных элементов – в камере Горяева. Для дифференцированного подсчета лейкоцитов готовили мазки и окрашивали их по Романовскому-Гимзе экспресс-методом *Diff-Quick* (АБРИС+, НПВ (Россия)), подсчет клеток выполняли под микроскопом Микромед 3Var3-20 и видеокамеры с программным обеспечением Microscope Color Digital Camera Levenhuk C 1400 NG, объектив SP40X/0.65 и SP10X/0.25 и окуляр WF10X/22.

Эритроцитарные индексы рассчитывали по формулам:

— средний корпускулярный объем (MCV):

$$MCV = \text{гематокрит (\%)} \times 10 / \text{количество эритроцитов } 10^6 \text{ мкл (fL)} \quad (3);$$

— среднее содержание гемоглобина в эритроците (MCH):

$$MCH = \text{гемоглобин} / \text{количество эритроцитов (pg)} \quad (4);$$

— средняя концентрация гемоглобина в эритроцитах (MCHC):

$$MCHC = (\text{гемоглобин/гематокрит}) \times 100 \text{ (г/л)} \quad (5).$$

Биохимическое исследование крови выполнено на полуавтоматическом биохимическом анализаторе Mindray BA-88A с набором реактивов «Ольвекс» и автоматическом анализаторе электролитов i-Smart30VET; анализ содержания церулоплазмينا (ЦП) – на автоматическом ридере «EL 808» с набором реактивов

Assaepro (США); малонового диальдегида (МДА) – на спектрофотометре «Solar 1251»; массовую долю селена в печени – атомно-адсорбционным спектроскопическим методом с использованием закрытого разложения проб (ВГНКИ, 2001) в модификации ФГБОУ ВО ИХТУ (2004).

Для морфологического исследования печени образцы органа фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина, проводку материала осуществляли в гистопротессоре TLP-720 (Россия, Mt Point™), заливку осуществляли на станции заливки ESD-2800 (Россия, Mt Point™), срезы толщиной 5-8 мкм готовили на ротационном полуавтоматическом микротоме RMD-3000 (Россия, Mt Point™), окрашивали гематоксилином и эозином в стейнере линейном автоматическом ALS-96 (Россия, Mt Point™). Препараты исследовали с помощью микроскопа Микмед-6 (Россия, ЛОМО), измерение и фотодокументирование проводили с помощью видеокамеры E31S PM (Китай) и программного обеспечения TourView (Китай) на увеличении $\times 100$ и $\times 400$. Калибровку измерительной шкалы видеокамеры проводили с помощью объект-микрометра проходящего света ОМП (Россия, ЛОМО).

Расчет объема гепатоцита и ядер гепатоцита осуществляли по формуле:

$$V = \pi/6 \times D_m \times D_b \quad (6),$$

где π – 3,14; D_m – малый диаметр клетки (ядра); D_b – большой диаметр клетки (ядра). Объем цитоплазмы представляет собой разницу между объемом гепатоцита и объемом ядра.

В процессе эксперимента исследовано по 170 проб крови и сыворотки крови для оценки гематологических, морфологических и биохимических показателей; 20 проб сыворотки крови для оценки уровня антиоксидантной защиты и перекисного окисления липидов; 85 микроперпаратов печени; 20 образцов печени на предмет содержания селена; 24 пробы корма на предмет содержания селена и йода.

Статистическую обработку данных проводили в операционной системе Microsoft Excel-2010. Оценку достоверности различий между показателями проводили с использованием параметрического критерия t-Стьюдента (Лакин Г. Ф., 1980).

Все процедуры с птицей выполняли в соответствии с Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для научных целей (2003) и этических норм «Директива 2010/63/EU Европейского парламента и Совета от 22 сентября 2010 года по охране животных, используемых в научных целях».

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Живая масса утят суточного возраста составила $52,8 \pm 0,3$ г. За период выращивания среднесуточный прирост уток контрольной группы 21,75 г масса увеличилась в 50,02 раза, у опытных – среднесуточный прирост 22,92 г, живая масса увеличилась в 52,66 раза. 120-суточные утки опытной группы превосходили контрольных по живой массе на 5,28% ($p \leq 0,05$). Наиболее выраженная разница массы утят контрольной и опытной групп отмечалась в 60-75-суточном и 105-120-суточном возрасте.

Масса печени у суточных утят составила $1,44 \pm 0,14$ г, относительная масса – 2,69%, передний ее край тупой, задний и боковые – острые, консистенция мягковатая, цвет глинисто-охристый с розоватым оттенком, что обусловлено

поступлением питательных веществ из желточного мешка, содержащего желточную массу, и разрушением эритроцитов, циркулировавших в эмбриональный период. Доли печени асимметричны: правая в форме неправильного прямоугольника, длиннее левой в 1,27 раза, форма левой доли приближена к треугольнику. На поверхности левой доли глубокая борозда, выраженная с висцеральной стороны, разделяющая ее на две неравные доли.

Среднесуточный прирост массы печени у контрольного и опытного поголовья за весь период составил 0,48 г. У 30-90-суточных уток опытного поголовья масса печени превышала аналогичный показатель контрольной группы на 2,20-9,60%. К 120-суточному возрасту масса печени увеличилась в контрольной группе – в 40,72 раза, в опытной – в 40,58 раза. У 120-суточных контрольных уток относительная масса печени была недостоверно больше, а живая масса – меньше. С возрастом утят левая доля печени отстает в росте и развитии и становится меньше правой, что, вероятно, связано с особенностями кровоснабжения правой доли и развитием левого яичника и яйцевода у птиц.

Концентрация гемоглобина у суточных утят составила $102,14 \pm 0,30$ г/л, эритроцитов – $3,01 \pm 0,01 (\times 10^{12}/л)$, гематокрит – $39,80 \pm 0,08\%$. Выраженные изменения и разница в изучаемых показателях у контрольного и опытного поголовья отмечалась в 15-, 105- и 120-суточном возрасте. У 120-суточных контрольных уток концентрация гемоглобина увеличилась на 16,50%, у опытных – на 24,50%, эритроцитов на 27,90% и 31,20%, гематокрит на 4,90% и 4,20%, соответственно ($p \leq 0,05$). Эритроцитарные индексы MCV, MCH и MCHC в суточном возрасте утят соответствовали $132,06 \pm 0,04$ fL, $33,89 \pm 0,05$ pg и $256,60 \pm 0,01$ g/L. MCH и MCHC был выше у уток опытной группы, что связано с количеством эритроцитов и их способностью транспортировать гемоглобин.

У суточных утят содержание лейкоцитов составило $22,91 \times 10^9/л$. В период роста концентрация лейкоцитов повысилась, и в контрольной группе была больше, чем в опытной. К концу опыта содержание лейкоцитов увеличилась на 15,00-15,60% ($p \leq 0,05$) и не имело достоверных отличий в обеих группах. В лейкограмме у суточных утят преобладали лимфоциты $56,20 \pm 0,64\%$. Процентная концентрация сегментоядерных псевдоэозинофилов составила $35,80 \pm 0,64$, а палочкоядерных – $4,20 \pm 0,64$; моноцитов – $3,50 \pm 2,10$; эозинофилов – $2,40 \pm 0,48$. Динамика отдельных видов лейкоцитов в крови у уток контрольной и опытной групп не выходила за пределы референсных величин на протяжении всего опыта. В 75-суточном возрасте у контрольного поголовья выявлены базофилы и тенденция к их увеличению. У опытных уток базофилы выявлены в 90-суточном возрасте и составили 0,4%. У опытного поголовья отмечено повышение концентрации эозинофилов, сегментоядерных псевдоэозинофилов, моноцитов, что свидетельствует о повышении клеточных факторов защиты организма.

Содержание общего белка у утят составило $38,00 \pm 0,12$ г/л, из них альбумин $17,86 \pm 0,05$ г/л, глобулины – $20,14 \pm 0,06$ г/л, белковый коэффициент 0,89. Концентрация общего белка у 120-суточных контрольных и опытных уток по сравнению с первоначальным показателем увеличилась на 9,40% и 16,70% соответственно, при этом у опытного поголовья содержание белка было больше на 6,70% ($p \leq 0,05$). Уровень альбумина у 120-суточных уток опытной группы был на 17,50% выше, чем в контроле. Снижение белкового коэффициента отмечено в обеих группах в 30- и 75-суточном возрасте. У уток контрольной группы белковый

коэффициент снизился за период исследования с 0,89 до 0,80%, у опытной – увеличился до 0,96%.

У суточных утят уровень общего билирубина составил $12,90 \pm 0,16$ мкмоль/л, прямого – $0,15 \pm 0,01$ мкмоль/л. На 15 сутки исследования содержание общего и прямого билирубина в опытной группе было меньше на 6,40% и 23,10% соответственно. После 45-суточного возраста прямой билирубин в опытной группе не регистрировали. У опытных 120-суточных уток общего билирубина меньше, чем у контрольных на 9,70% ($p \leq 0,05$).

Уровень глюкозы у суточных утят составил $5,27 \pm 0,02$ ммоль/л, и на 15 сутки увеличился в контрольной группе на 54,46%, в опытной – на 57,69% ($p \leq 0,01$). В критические периоды развития содержание глюкозы в контрольной группе было меньше на 0,25-0,57 ммоль/л чем в опытной. Наиболее выраженная разница в содержании глюкозы в сыворотке крови у уток контрольной и опытной групп наблюдалась в 105-суточном возрасте и составила 14,06%. У 120-суточных уток в контрольной и опытной группах содержание глюкозы повысилось на 110,60% и 114,40%, соответственно ($p \leq 0,05$).

Уровень мочевой кислоты у суточных утят – $484,66 \pm 1,13$ мкмоль/л. У уток контрольной группы уровень мочевой кислоты был выше на протяжении всего периода исследований (рисунок 2). У 120-суточных контрольных уток показатель составил 405,40 мкмоль/л, у опытных – 339,41 мкмоль/л, что меньше на 16,28% ($p \leq 0,05$).

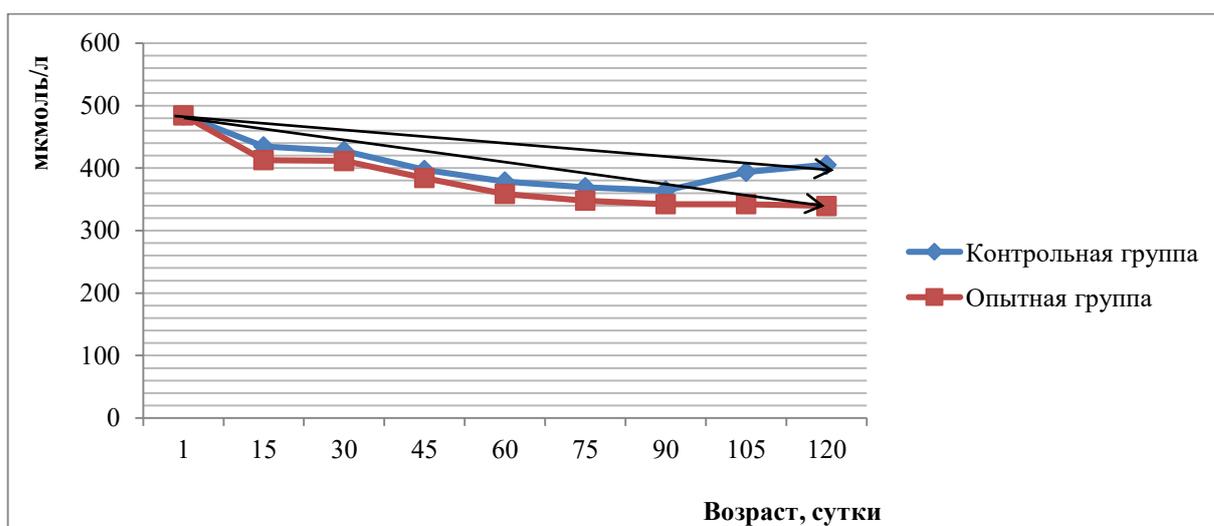


Рисунок 2 – Динамика мочевины у уток контрольной и опытной групп.

Содержание общего кальция в сыворотке крови суточных утят 2,90 ммоль/л. Наиболее выраженное изменение отмечено в первые 15 суток: в контрольной группе показатель увеличился на 7,24%, в опытной – на 13,10%; к окончанию периода выращивания в контрольной группе показатель повысился на 13,59%, в опытной – на 17,93% ($p \leq 0,05$). Концентрация неорганического фосфора у суточных утят $2,90 \pm 0,02$ ммоль/л. Его положительная динамика в контрольной группе наблюдалась до 45-, в опытной до 30-суточного возраста. К окончанию исследования установлено снижение концентрации фосфора в обеих группах на 3,65-6,82%. Значимые изменения в содержании фосфора наблюдались в критические периоды развития: у уток контрольной группы в 45-60-, 105-120-суточном возрасте; в опытной группе в 60- и 105-суточном возрасте. У суточных утят соотношение Ca :

Р составило 1,70 : 1,00; у 120-суточных контрольных уток соотношение было 2,00 : 1,00; у опытных – 2,16 : 1,00. Уровень калия у суточных утят 1,62±0,01 ммоль/л. Максимальное содержание калия в контрольной группе у 75-90-суточных уток, в опытной – у 75-120-суточных. Содержание магния у утят суточного возраста составило 1,100±0,004 ммоль/л. По мере увеличения живой массы уток уровень магния снижался, и к 120-суточному возрасту в контроле составил 0,81±0,01 ммоль/л, в опыте – 1,03±0,01 ммоль/л. Снижение магния в сыворотке крови утят контрольной группы происходило синхронно с понижением фосфора и калия начиная с 60-суточного возраста. У опытных утят снижение Р, К, Mg отмечено в 60- и 105-суточном возрасте уток.

У суточных утят активность АСТ – 45,72±0,10 Ед/л, АЛТ – 25,24±0,13 Ед/л (таблица 1). Наиболее значимое повышение АСТ отмечено в периоды 15-30; 90-105 и 105-120 сутки, соответственно на 7,90%; 9,20% и 6,40%. В опытной группе повышение АСТ более заметно в период 60-75 сутки на 5,60% (p≤0,05). За период от 1- до 120-суточного возраста в контрольной группе уток АСТ увеличился на 45,60%, в опытной – на 16,50% (p≤0,05). Активность фермента АСТ у уток опытной группы на фоне применения селеноорганической добавки была ниже, чем в контрольной на 19,90% (p≤0,05).

Таблица 1 – Динамика трансаминаз у уток контрольной и опытной групп, М±т

Возраст, сутки	АСТ, Ед/л		АЛТ, Ед/л	
	Контрольная группа	Опытная группа	Контрольная группа	Опытная группа
1	45,72±0,10		25,24±0,13	
15	47,74±0,07	47,20±0,08	27,10±0,12	26,32±0,11
30	51,50±0,08	48,10±0,08	27,90±0,08	25,60±0,08*
45	53,94±0,31	50,46±0,23	28,36±0,21	26,20±0,32
60	54,22±0,18	49,96±0,14*	28,60±0,12	25,28±0,18*
75	56,46±0,29	52,78±0,16*	28,88±0,45	26,36±0,21
90	57,28±0,38	53,38±0,22	28,50±0,20	26,20±0,12*
105	62,56±0,17	53,30±0,08**	29,02±0,16	26,08±0,10
120	66,56±0,13	53,28±0,10**	29,80±0,08	26,40±0,08*

Примечание: p ≤ 0,05* – достоверная разница; p ≤ 0,01** – статистически достоверная разница

Концентрация АЛТ в контрольной группе 75-суточных утят увеличилась на 14,40%. в 90-суточном возрасте отмечена тенденция к снижению. В опытной группе отмечено незначительное повышение активности АЛТ на 15 сутки опыта. В отдельные возрастные периоды у уток контрольной и опытной групп отмечена достоверная разница в содержании фермента АЛТ в сыворотке крови. У 120-суточных уток контрольной группы АЛТ была выше, чем в опытной и превышала первоначальный показатель на 18,10%. В опытной группе АЛТ повысилась на 4,60% (p≤0,05).

Исходя из строгой синхронности между повышением общей неспецифической резистентности организма и снижением интенсивности процессов образования свободных радикалов у 120-суточных уток определили содержание церулоплазмينا и малонового диальдегида и установили, что в контрольной группе церулоплазмينا меньше на 70,90%, а МДА больше на 22,83% чем в опытной (таблица 2) (p≤0,05).

Таблица 2 – Содержание МДА и церулоплазмина у 120-суточных уток контрольной и опытной групп

Группа	Малоновый диальдегид, мг/дл	Церулоплазмин, нмоль/мл
Контрольная	16,73±1,26	1,89±0,14
Опытная	12,91±0,98*	3,23±0,17*

Примечание: $p \leq 0,05^$ – достоверная разница; $p \leq 0,01^{**}$ – статистически достоверная разница*

Печень односуточных утят имеет типичное строение. Соединительная ткань слабо выражена и встречается лишь на периферии органа, где формирует тонкую капсулу, а также в области триад, междольковые соединительнотканые перегородки не выявляются, дольчатое строение не выражено. Однако балочное строение четко выражено, печеночные балки располагаются радиально и имеют ветвистый, извилистый вид, местами – клубочковый, толщина балок $18,43 \pm 0,40$ мкм, просвет внутريدольковых синусоидных капилляров – $4,46 \pm 0,19$ мкм. В просвете центральных вен и ветвей воротной вены отмечаются форменные элементы крови. Встречаются ветви воротной вены с расширенными просветами (рисунок 3). Границы гепатоцитов слабо различимы, клетки имеют полигональную форму, объем составляет $553,51 \pm 42,23$ мкм³. Ядра занимают центральное положение, местами несколько оттеснены к периферии, окрашены интенсивно, имеют округло-овальную форму, объем – $38,73 \pm 2,00$ мкм³, содержат 1-4 ядрышка. Цитоплазма окрашена неравномерно, зерниста, ее объем – $383,16 \pm 12,45$ мкм³. Ядерно-цитоплазматическое отношение $0,12 \pm 0,01$ мкм³. К 15-суточному возрасту отмечено увеличение объемов гепатоцитов в контрольной и опытной группах на 12,70 и 27,40%, соответственно. В опытной группе увеличение объемов гепатоцитов выражено ярче, разница в объеме клеток составила 14,70%. Увеличение объема гепатоцитов происходит за счет цитоплазмы. Цитоплазма гепатоцитов уток контрольной группы окрашена неравномерно, имеет пенистый вид ввиду ее вакуолизации, вакуоли выявляются в небольшом количестве (рисунок 4).

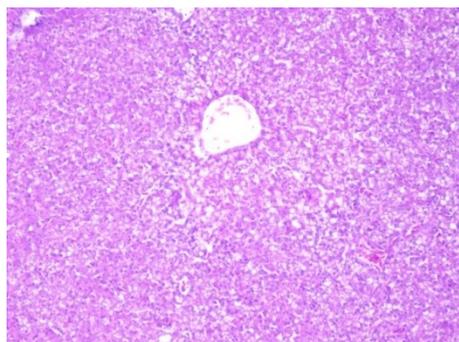


Рисунок 3 – Гистологический препарат печени утят односуточного возраста, утенок № 2. Окраска гематоксилином и эозином. Ок. $\times 10$. Об. $\times 10$.

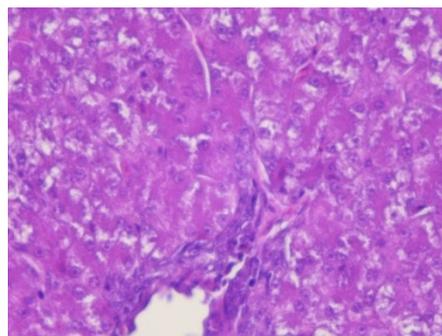


Рисунок 4 – Гистологический препарат печени 15-суточных утят контрольной группы, утенок № 8. Окраска гематоксилином и эозином. Ок. $\times 10$. Об. $\times 10$.

У 30-суточных утят контрольной и опытной групп отмечено снижение объема гепатоцитов; в контрольной – процесс более выражен и составляет соответственно 7,40% и 6,30%. При этом разница между контрольными группами в

сравнении с предыдущим возрастом имеет достоверный характер ($p \leq 0,05$). Снижение объема гепатоцитов связано с началом критического периода в развитии утят, обусловленным заменой эмбрионального пуха на первичное перо. Объем ядер гепатоцитов в опытной группе не имел достоверной разницы с контролем и предыдущим возрастом. Цитоплазма гепатоцитов – незначительно зерниста, клетки имели полигональную форму, граница между ними слабо различима. В контрольной группе цитоплазма гепатоцитов имела более выраженную зернистую структуру, в незначительной степени вакуолизирована. Размеры трабекул, величина просвета синусоидных капилляров и ЯЦО изменяются нелинейно в сравнении с предыдущим возрастом и не имеют достоверных различий между группами.

У 45-суточных утят отмечается увеличение объема гепатоцитов в сравнении с предыдущим возрастом; у подопытных утят в сравнении с контрольными, это происходит с более высокой интенсивностью: 7,20% и 4,20%, соответственно. Объем гепатоцитов в опытной группе превышал таковой в контрольной на 17,30% ($p \leq 0,05$). В контрольной группе цитоплазма гепатоцитов окрашена неравномерно, отличается хорошо выраженной зернистостью, что характерно для начальной стадии белково-зернистой дистрофии (рисунок 5), чего нельзя сказать о структуре печени подопытных утят: границы между клетками различимы, цитоплазма гомогенна, в ядрах хорошо видны 1-4 ядрышка, синусоидные капилляры содержат эритроциты. Объем цитоплазмы гепатоцитов в опытной группе утят больше на 19,80% по сравнению с контрольной (рисунок 6).

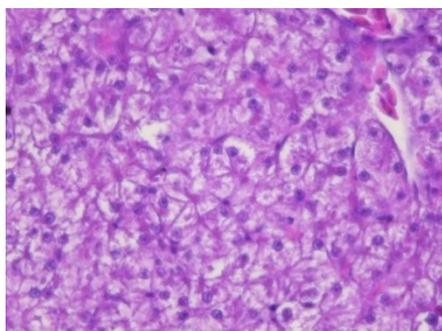


Рисунок 5 – Гистологический препарат печени 45-суточных утят контрольной группы, утенок № 28. Окраска гематоксилином и эозином. Ок. $\times 10$. Об. $\times 40$.

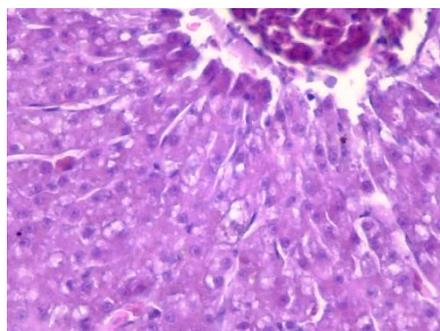


Рисунок 6 – Гистологический препарат печени 45-суточных утят опытной группы, утенок № 34. Окраска гематоксилином и эозином. Ок. $\times 10$. Об. $\times 40$.

У 60-суточных утят контрольной группы цитоплазма гепатоцитов окрашена гетерохромно, неравномерно, местами вакуолизирована, что характерно для первых признаков белково-зернистой и жировой дистрофии. Объем гепатоцитов увеличился за счет увеличения объема ядер и цитоплазмы, соответственно, на 9,20% и 20,60%. В структуре печени утят опытной группы отчетливо выражено балочное строение, границы между гепатоцитами определяются, цитоплазма окрашена равномерно, в ядрах различимы ядрышки. У 75-суточных утят контрольной и опытной группы отмечена тенденция снижения размеров гепатоцитов на 8,00 и 2,60%, соответственно, что обусловлено наступлением второго критического периода, связанного с ювенильной линькой. В паренхиме

печени уток контрольной группы сохраняются признаки жировой дистрофии. У подопытных уток структура печени четко выражена, балочное строение сохранено, синусоидные капилляры определяются. У птиц опытной группы объем гепатоцитов и цитоплазмы больше, чем в контрольной на 8,40% и 14,20%, соответственно ($p \leq 0,05$).

У 90-суточных уток контрольной и опытной группы не отмечено достоверных отличий в размерах описываемых структур, однако сохраняется тенденция нарастания признаков жировой дистрофии, что является обычным явлением у продуктивной птицы, и, с точки зрения пищевой ценности является положительным фактором, однако с позиции сохранения здоровья, это негативный момент. Объем гепатоцита в контрольной группе увеличился на 7,90% за счет увеличения объема цитоплазмы. Структура печени подопытных уток характеризуется дефинитивной структурой, отмечена тенденция к увеличению высоты синусоидов и трабекул. Тенденция к увеличению объема гепатоцита сохранялась и происходила за счет увеличения объема ядра.

В 105- и 120-суточном возрасте уток микрометрические параметры структур печени достоверно не изменилось в сравнении с предыдущим возрастом, однако в паренхиме печени уток контрольной группы, ярко выраженные признаки жировой дистрофии, она имеет пенистый вид из-за жировой мелко- и крупноклеточной инфильтрации, ядра клеток оттеснены на периферию (рисунок 7). Печень у опытных уток сохранила балочное строение, встречаются единичные жировые включения, цитоплазма окрашена равномерно (рисунок 8).

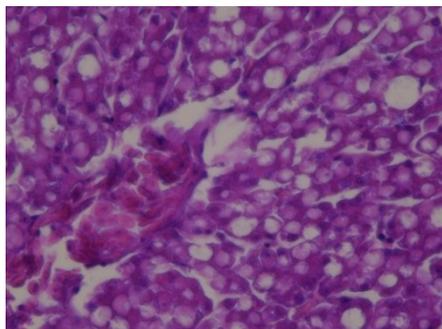


Рисунок 7 – Гистологический препарат печени 105-суточных уток контрольной группы, утка № 67. Окраска гематоксилином и эозином. Ок. $\times 10$. Об. $\times 40$.

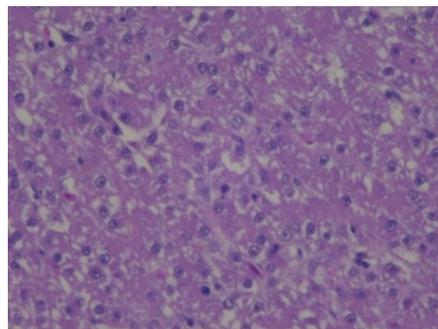


Рисунок 8 – Гистологический препарат печени 120-суточных уток опытной группы, утка № 84. Окраска гематоксилином и эозином. Ок. $\times 10$. Об. $\times 40$.

Таким образом, у уток опытной группы в первый критический период развития (30 суток) объем гепатоцита, и величина трабекул превосходили аналогичные показатели у контрольных утят. Во второй критический период (75 суток) в опытной группе уток объем цитоплазмы гепатоцитов, величина трабекул и синусоидов больше чем у контрольного поголовья. В период достижения утками физиологической зрелости (105-120 суток) у опытных уток были больше объем гепатоцита, ядра и цитоплазмы, ядерно-цитоплазматическое соотношение составило 0,10. На фоне применения селен-содержащей добавки в этот период замедляется рост синусоидов и трабекул. В обеих группах 120-суточных уток увеличение объема гепатоцита происходило за счет увеличения объема и ядра и цитоплазмы. У 120-суточных уток контрольной группы объем гепатоцита

увеличился на 35,50%, объем ядра на 18,40%, объем цитоплазмы на 37,70% по сравнению с результатами, установленными в суточном возрасте утят. В опытной группе у 120-суточных уток по сравнению с 1-суточными объем гепатоцита увеличился на 36,90%, объем ядра на 19,00%, объем цитоплазмы на 38,90% ($p \leq 0,05$).

Анализ содержания селена в печени 120-суточных уток показал, что в контрольной группе его концентрация составила $0,31 \pm 0,07$ мкг/кг, у опытной – $0,52 \pm 0,04$ мкг/кг ($p \leq 0,05$) (рисунок 9).

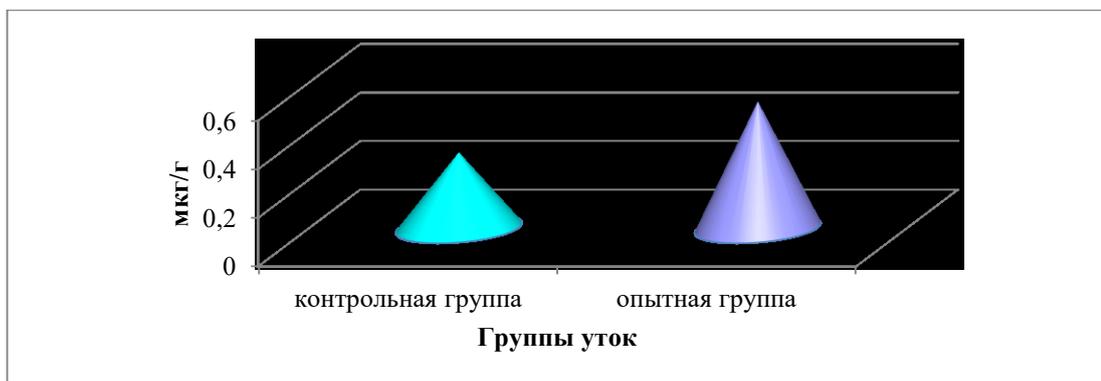


Рисунок 9 – Содержание селена в печени контрольной и опытной групп 120-суточных уток.

Таким образом, введение селен-содержащей органической добавки стимулировало депонирование селена в печени, его концентрация у опытного поголовья уток была достоверно больше на 67,70% ($p \leq 0,05$), что является весьма значимым для региона, испытывающего дефицит селена в продуктах питания.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

По нашим данным содержание селена в комбикорме для молодняка составило 0,06 мг/кг, для взрослой птицы – 0,14 мг/кг, и не дает полной уверенности 100% его усвоения.

На фоне применения ДАФС-25к масса 120-суточных уток увеличилась в 52,66 раза, превысив массу аналогов на 5,28%. Масса печени в опытной группе достигла $58,44 \pm 0,05$ г, и в критические периоды развития ее абсолютная и относительная масса была больше, чем в контрольной группе.

У опытных уток содержание эритроцитов и гемоглобина увеличилось на 31,20% и 24,50%, соответственно, что больше чем в контрольной группе на $0,10 \times 10^{12}/л$ и 8,2 г/л. Интегральные эритроцитарные индексы в опытной группе показали лучшую обеспеченность тканей и органов кислородом.

Более высокое содержание гемоглобина и эритроцитов в крови позволило утятам опытной группы эффективнее преодолевать критические периоды развития.

Содержание лейкоцитов у суточных утят составило $22,91 \times 10^9/л$, у 120-суточных увеличилось в обеих группах на 15,00-15,60% не имея достоверной разницы. У опытных уток в 120-суточном возрасте более высокое содержание эозинофилов и псевдоэозинофилов, что может свидетельствовать о ДАФС-25к, как антистрессовом и иммунорегулирующем препарате. В критические периоды развития (30 и 75 суток) в опытной группе преобладали лимфоциты и эозинофилы, способные в лучшей мере обеспечить защиту организма.

Уровень общего белка повышался по мере роста утят и к 120-суточному возрасту, на фоне применения ДАФС-25к, увеличился на 16,70%, превысив показатель в контрольной группе на 6,70%. У 30- и 75-суточных утят, получавших селен-содержащую добавку, содержание альбумина больше, чем в контроле. Кроме регулирующего влияния на метаболизм, альбумин адсорбирует и транспортирует билирубин, соли желчных кислот, что способствовало активному снижению общего билирубина и раннему нивелированию прямого у опытных утят. Содержание мочевой кислоты у опытных 120-суточных уток снизилась на 30,00%, и было меньше чем в контрольной группе на 16,28%.

В 120-суточном возрасте у опытных уток содержание глюкозы повысилось на 114,40%, и было больше, чем в контрольной группе.

В опытной группе уровень общего кальция увеличился к 120-суточному возрасту на 17,93%, кальций-фосфорное соотношение составило 2,16:1,00, что свидетельствует о выраженной регуляторной функции печени.

У утят контрольной группы содержание минеральных веществ синхронно снижалось в критические периоды развития. В опытной группе изменение содержания Mg и K менее выражено.

Аминотрансферазы повышаются с возрастом, однако их концентрация меньше в опытной группе на фоне контрольной, даже в критические фазы развития (АСТ – на 6,50-6,60%, АЛТ – на 8,20-8,70%). Концентрация АСТ и АЛТ у 120-суточных утят опытной группы меньше, чем у контрольной на 19,95% и 11,41%, соответственно, что свидетельствует о меньшем клеточном повреждении и активизации обмена белков и аминокислот.

ДАФС-25к стимулировал антиоксидантную защиту, что проявилось повышением содержания церулоплазмينا и снижением концентрации МДА на 22,83%.

Печень суточных утят состоит из стромы и паренхимы. Уже в 30-суточном возрасте у утят контрольной группы цитоплазма гепатоцитов имела выраженную зернистую структуру, и в незначительной степени была вакуолизирована, а в 45-суточном возрасте отмечены признаки начальной стадии белково-зернистой дистрофии. К 60-суточному возрасту гетерохромность цитоплазмы, ее вакуолизация увеличились, что присуще белково-зернистой и жировой дистрофии. В тоже время в структуре печени утят опытной группы отчетливо выражено балочное строение, границы между гепатоцитами хорошо различимы, цитоплазма окрашена равномерно, в ядрах различимы ядрышки.

В 75-суточном возрасте в печени уток контрольной и опытной группы отмечена тенденция снижения размеров гепатоцитов на 8,00% и 2,60%, соответственно, что обусловлено наступлением второго критического периода, связанного с ювенильной линькой. Однако объем гепатоцитов и цитоплазмы в опытной группе больше, чем в контрольной на 8,40% и 14,20%, соответственно. В паренхиме печени уток контрольной группы сохраняются признаки жировой дистрофии.

У 120-суточных уток контрольной группы в паренхиме печени ярко выражены признаки жировой дистрофии, она имеет пенистый вид из-за жировой мелко- и крупноклеточной инфильтрации, ядра клеток оттеснены на периферию. У уток опытной группы печень сохранила балочное строение, встречаются единичные жировые включения, цитоплазма окрашена равномерно, что свидетельствует о положительном влиянии селенорганического препарата,

который препятствовал развитию жировой дистрофии печени. В опытной группе у 120-суточных уток по сравнению с 1-суточными объем гепатоцита увеличился на 36,90%, объем ядра на 19,00%, объем цитоплазмы на 38,90%.

Сравнительный анализ показал, что наступление критических периодов развития оказывает одновременно влияние на живую массу уток, массу печени и ее микроструктуру, гематологические и биохимические показатели крови. ДАФС-25к оказал положительное влияние на изучаемые показатели и предотвратил развитие жировой дистрофии печени, кроме того способствовал повышению содержания селена в органе до $0,52 \pm 0,04$ мкг/кг.

Итоги выполненного исследования:

1. ДАФС-25к оказывает стимулирующее влияние на динамику живой массы уток пекинской породы в период постэмбрионального развития;
2. ДАФС-25к стимулирует эритропоэз, синтез общего белка, альбумина и глюкозы;
3. ДАФС-25к оказывает регулирующее влияние на минеральный обмен;
4. ДАФС-25к снижает концентрацию мочевой кислоты, общего и прямого билирубина;
5. ДАФС-25к повышает антиоксидантную защиту организма;
6. ДАФС-25к препятствует разрушению клеток и развитию жировой дистрофии печени;
7. ДАФС-25к способствует накоплению селена в печени, тем самым делая деликатесный продукт функциональным.

Практические рекомендации

1. Независимо от форм собственности птицеводческих хозяйств, специализирующихся на разведении и выращивании уток в регионах дефицитных по содержанию селена, вводить в рацион органические селенсодержащие добавки, такие как ДАФС-25к в дозе, рекомендуемой производителем.
2. Контролировать содержания селена в кормах, используемых в рационах уток.
3. Проводить оценку макроструктуры печени и показателей крови.

Перспективы дальнейшей разработки темы исследования

1. Использовать полученные новые данные в учебном процессе при чтении лекций и проведении лабораторно-практических занятиях студентов ветеринарных, зооинженерных и биологических факультетов.
2. Разработать рекомендации по применению органических форм селена в практике уководства по созданию функциональных продуктов питания для человека.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи, опубликованные в ведущих рецензируемых научных журналах, рекомендованных перечнем ВАК Минобрнауки РФ

1. Гарькун, В. И. Анатомо-морфологическая характеристика печени уток пекинской породы/ В. И. Гарькун, Л. В. Клетикова, В. В. Пронин // Иппология и ветеринария. 2019. № 2. С. 17-22.
2. Гарькун, В. И. Динамика показателей крови уток на фоне применения селенсодержащей кормовой добавки/ В. И. Гарькун, Л. В. Клетикова // Птица и птицепродукты. 2019. №6. С. 54-57.

Статьи, индексируемые в Scopus

3. Garkun, V. I. The importance of microelements in forming duck liver morphology/ L. V. Kletikova, A. N. Martynov, G.A. Fedorov, V. I. Garkun // III International Scientific Conference: AGRITECH-III-2020: Agribusiness, Environmental Engineering and Biotechnologies. Krasnoyarsk Science and Technology City Hall of the Russian Union of Scientific and Engineering Associations. Krasnoyarsk, Russia, 2020. С. 42015.

Публикации в журналах, сборниках научных трудов и материалах конференций

4. Гарькун, В. И. Динамика массы уток пекинской породы в возрастном аспекте/ В. И. Гарькун // Материалы международной научно-практической конференции «Инновационная деятельность науки и образования в агропромышленном производстве» (Курск, 27-28 февраля 2019 г.). В 2 ч. Ч. 2. – Курск: Курская ГСХА, 2019. – С. 345-350.
5. Гарькун, В. И. Влияние селеноорганического препарата на динамику массы печени в постэмбриональном онтогенезе уток пекинской породы / В. И. Гарькун // Материалы всероссийской научно-практической конференции с международным участием, посвященной 100-летию высшего аграрного образования на Урале «Агротехнологии XXI века = Agrotechnologies of the XXI century» (Пермь, 26-28 февраля 2019 г.). В 3 ч. Ч. 1. – Пермь: ФГБОУ ВО «Пермский государственный аграрно-технологический университет имени академика Д. Н. Прянишникова», ИПЦ «Прокрость», 2019. – С. 274-279.
6. Гарькун, В. И. Динамика живой массы, массы печени и морфологических показателей крови в постэмбриональном онтогенезе уток / В. И. Гарькун // XI Международная научно-практическая конференция «Инновационные исследования как локомотив развития современной науки: от теоретических парадигм к практике». – Москва: НИЦ МИСИ/ [Электронный ресурс] – Режим доступа. – URL: <http://conference-nicmisi.ru/innovatsionnye-issledovaniya-kak-lokomotiv-razvitiyasovremennoj-nauki-ot-teoreticheskikh-paradigm-k-praktike.html>, 2019. – С. 488-514.
7. Гарькун, В. И. Динамика минеральных веществ у уток пекинской породы в возрастном аспекте / В. И. Гарькун, Л. В. Клетикова // БИО. 2019. № 8. С. 10-14.
8. Гарькун, В. И. Динамика белкового обмена у уток на фоне применения селеноорганического препарата / В. И. Гарькун // Европейский форум молодых исследователей (Петрозаводск, 22 октября 2019). – Петрозаводск: МЦНП «Новая наука», 2019. – С. 396-399.
9. Гарькун, В. И. Биохимические и морфологические показатели крови у утят пекинской породы суточного возраста / В. И. Гарькун // Сборник статей Международного научно-исследовательского конкурса «Конкурс молодых ученых» (Пенза, 20 января 2020.) – Пенза: Наука и Просвещение, 2020. – С. 302-304.
10. Гарькун, В. И. Пропедевтика внутренних незаразных болезней животных: учебно-методические рекомендации / В. Г. Турков, Л. В. Клетикова, Н. Н. Якименко, А. Н. Мартынов, В. В. Шумаков, В. Н. Кокурин, Ш. Ф. Кахраманова, В. П. Хрущева, О. С. Морис, В. И. Гарькун, С. Г. Сироткина. – Иваново: ФГБОУ ВО Ивановская ГСХА, 2018. – 31 с.

11. Гарькун, В. И. Применение селеноорганических препаратов в селендефицитных провинциях на примере Ивановской области / В. И. Гарькун, Л. В. Клетикова, В. Г. Турков, В. В. Пронин, Е. В. Лазарева. – Иваново: ФГБОУ ВО ИГСХА, 2020. – 20 с.
12. Гарькун, В. И. Диагностика, лечение и профилактика болезней печени у животных и птиц / Л. В. Клетикова, Н. Н. Якименко, М. С. Маннова, О. А. Стрыгина, В. И. Гарькун. – Иваново: ИГСХА, 2020. – 131 с.