



Низкотемпературное воздействие в раннем эмбриогенезе как метод повышения общей резистентности организма цыплят к инфекционным заболеваниям

© 2023. Е. С. Федорова✉, О. И. Станишевская

Всероссийский научно-исследовательский институт генетики и разведения сельскохозяйственных животных – филиал ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр животноводства – ВИЖ имени академика Л. К. Эрнста», г. Санкт-Петербург, Российская Федерация

Статья посвящена проблеме повышения общей резистентности цыплят к инфекционным заболеваниям в первые 3 недели жизни технологическими методами. В качестве фактора воздействия предложено дозированное низкотемпературное воздействие на эмбрион в чувствительный период раннего эмбриогенеза; в качестве тестового вируса при экспериментальном заражении эмбрионов использован вирус гриппа. Установлено, что у эмбрионов, подвергшихся охлаждению, титр вируса был достоверно ниже в 1,5-12,0 раз ($P < 0,001$) по сравнению с контролем, что свидетельствует о снижении репликативной активности вирусных штаммов у эмбрионов данной группы. В куриных эмбрионах русской белоснежной породы с охлаждением наблюдали снижение инфекционной активности вируса гриппа А на 11,5 %, вируса инфекционного бронхита кур – на 3,6-6,9 % в зависимости от породной принадлежности эмбрионов. Уровень общей резистентности организма цыплят опытной группы к заболеваниям бактериальной этиологии отмечен выше, о чем свидетельствует более высокая сохранность молодняка в первые 3 недели жизни (на 1,0 % выше, чем в контроле) и более высокий индекс бursы у 12-суточных цыплят (на 8,5-9,0 % выше, чем в контроле). Выводимость яиц опытной группы была на 4,5 % выше, чем в контроле. Полученные эффекты, как результат гипотермического воздействия в данный чувствительный период эмбриогенеза, могут быть объяснены индуцированием выработки эмбрионом стрессовых белков теплового и холодового шока, которые, в свою очередь, активируют врожденные противовирусные реакции, обусловленные главным комплексом гистосовместимости. Однако данный вопрос требует дополнительного изучения с привлечением методов молекулярной генетики, поскольку предполагаемые механизмы, обуславливающие повышение иммунологического статуса эмбрионов в ответ на низкотемпературное воздействие, нуждаются в подтверждении.

Ключевые слова: куриный эмбрион, инфекционная активность, вирус гриппа, вирус инфекционного бронхита кур, главный комплекс гистосовместимости, белки теплового шока

Благодарности: работа выполнена при поддержке Минобрнауки России в рамках Государственного задания ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр животноводства – ВИЖ имени академика Л. К. Эрнста» (тема № 121052600357-8).

Авторы благодарят рецензентов за их вклад в экспертную оценку этой работы.

Конфликт интересов: авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Федорова Е. С., Станишевская О. И. Низкотемпературное воздействие в раннем эмбриогенезе как метод повышения общей резистентности организма цыплят к инфекционным заболеваниям. Аграрная наука Евро-Северо-Востока. 2023;24(6):1029-1037. DOI: <https://doi.org/10.30766/2072-9081.2023.24.6.1029-1037>

Поступила: 30.06.2023

Принята к публикации: 30.11.2023

Опубликована онлайн: 20.12.2023

Low-temperature exposure in early embryogenesis as a way of increasing the resistance of chicks to infectious diseases

© 2023. Elena S. Fedorova✉, Olga I. Stanishevskaya

Russian Research Institute of Farm Animal Genetics and Breeding – Branch of the L.K. Ernst Federal Research Center for Animal Husbandry, Saint Petersburg, Russian Federation

The article is devoted to the problem of increasing the resistance of chicks from hatching to the age of 3 weeks to infectious diseases by technological methods. Dosed low-temperature exposure to the embryo during the sensitive period of early embryogenesis was proposed as an impact factor; influenza vaccine virus was used as a test virus for experimental infection of embryos. It was found that in the embryos after cooling, the titer of the virus was significantly lower by 1.5-12.0 times ($p < 0.001$) compared with the control. This fact indicates a decrease in the replicative activity of viral strains in embryos of this group. In chicken embryos of Russian Snow-White breed after cooling, there was a decrease in the infectious activity of the influenza A virus by 11.5 %, as well as a decrease in the infectious activity of the infectious bronchitis virus by 3.6-6.9 %, depending on the breed of the embryos. The level of chick resistance in the experimental group to diseases of bacterial etiology was also higher, as evidenced by the higher safety of 3-week-old chicks (0.8-1.1 % higher than in the control) and a higher bursa index in 12-day-old chicks (8.5-9.0 % higher than in the control). The hatchability of eggs of the experimental group was also 4.5 % higher than in the control. The effects obtained as a result of hypothermic exposure during this sensitive period of embryogenesis can be explained by inducing the production of heat and cold shock proteins by the embryo,

which, in turn, activate innate antiviral reactions caused by major histocompatibility complex. However, this issue requires additional study with the involvement of molecular genetics methods, since the supposed mechanisms that cause an increase in resistance in response to low-temperature exposure in early ontogenesis need to be confirmed.

Keywords: chicken embryo, infectious activity, influenza virus, infectious bronchitis virus of chicken, major histocompatibility complex, heat shock proteins

Acknowledgements: the research was carried out under the support of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation within the state assignment of the L.K. Ernst Federal Research Center for Animal Husbandry (theme No. 121052600357-8).

The authors thank the reviewers for their contribution to the expert evaluation of this work.

Conflict of interest: the authors declared no conflict of interest.

Для цитирования: Fedorova E. S., Stanishevskaya O. I. Low-temperature exposure in early embryogenesis as a way of increasing the resistance of chicks to infectious diseases. *Agrarnaya nauka Evro-Severo-Vostoka* = Agricultural Science Euro-North-East. 2023;24(6):1029-1037. (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.30766/2072-9081.2023.24.6.1029-1037>

Received: 30.06.2023

Accepted for publication: 30.11.2023

Published online: 20.12.2023

Птицеводство является одним из наиболее динамично развивающихся секторов животноводства, однако глобализация данной отрасли, технология содержания птицы в разы увеличивают риски, связанные с распространением опасных высоковирулентных патогенов. Инфекционные болезни птиц – один из основных сдерживающих факторов развития птицеводства. Для борьбы с ними применяются вакцинация, антибиотики и комплекс санитарно-ветеринарных мероприятий, направленных на предотвращение возникновения и распространения заболеваний. Дополнительным методом усиления профилактических мер может служить генетическая устойчивость птицы к инфекционным болезням, приобретенная путем селекции (как классической, так и на основе молекулярно-генетических данных) и генетической модификации.

Традиционными селекционными методами еще в середине XX века были созданы популяции кур, устойчивых к различным инфекционным заболеваниям (болезнь Марека, лейкоз и т.д.). Тем не менее, селекция на устойчивость к болезням может быть затруднена из-за необходимости специальных помещений для контрольных испытаний, потенциальной терминальной природы этих признаков, заботы о благополучии животных, отрицательной связи между резистентностью птицы к заболеваниям и ее продуктивностью, проблем биобезопасности и высокой стоимости проведения данных мероприятий [1].

Более эффективному получению желаемых генотипов в настоящее время способствуют технологии редактирования генома [2, 3]. Для этого используются передовые технологии, такие как система CRISPR/Cas9 [4, 5], полногеномное секвенирование, секвенирование РНК и генотипирование однонуклеотидного полиморфизма высокой плотности (SNP). Однако

эти методы требуют больших финансово-экономических затрат и высокой квалификации задействованных специалистов, кроме того, открытым остается вопрос о трансгенеративной передаче отредактированных признаков [6].

Наряду с повышением генетической устойчивости птицы к инфекционным заболеваниям в сочетании с разработкой эффективных вакцин и профилактических стратегий, необходимо разрабатывать новые подходы к индукции врожденных противовирусных ответов организма птиц, начиная с периода раннего онтогенеза. Врожденные реакции цыплят играют ключевую роль в контроле вирусных инфекций [7]. Иммунный ответ эмбриона на патоген на ранних стадиях эмбрионального развития в значительной степени обусловлен главным комплексом гистосовместимости (ГКГ) [8]. ГКГ – это часть иммунной системы, представляющая собой эпитопы внутриклеточных антигенов на клеточной поверхности. Продукты генов ГКГ I класса присутствуют на поверхности всех ядросодержащих клеток и определяют специфичность организма, играют важную роль в гуморальной регуляции, вовлечены в процессы дифференцировки при эмбриональном развитии. Устойчивость кур к болезням является полигенным признаком, который включает различные гены, обеспечивающие устойчивость к патогенам. ГКГ связан с презентацией антигена, продукцией антител и стимуляцией цитокинов, что подчеркивает его роль в устойчивости к болезням. Во время развития инфекции организм хозяина индуцирует изменения в экспрессии генов, которые обеспечивают временную или длительную защиту от патогенов. Существует ряд вирусных заболеваний (болезнь Нью-Касла, болезнь Марека, саркома Рауса), резистентность и восприимчивость к которым определяются конкретными гаплотипами ГКГ кур [9].

Иммунный ответ организма на патоген и различные стресс-факторы также связан с белками теплового шока (БТШ), которые играют важную роль в качестве «эндогенных сигналов опасности» в системе иммунного надзора. БТШ проявляют иммуномодулирующее действие как на врожденный, так и на адаптивный иммунный ответ [10, 11]. Синтез БТШ является универсальным неспецифическим ответом клетки на стресс, включая термический, и, по современным данным, нет такого вида клеточного стресса, при котором не происходило бы синтеза БТШ. Так, гипотермическое воздействие у цыплят вызывает окислительный стресс и влияет на иммунную функцию, провоцируя повышение уровня цитокинов. Более высокая экспрессия БТШ (Hsp90, Hsp70, Hsp60, Hsp40 и Hsp27) может играть роль в защите иммунных органов от холодового стресса [12].

Манипулирование взаимодействиями БТШ патогена и хозяина представляет собой потенциальный путь к улучшению контроля над инфекцией.

Цель исследований – изучить влияние гипотермического стресса в раннем эмбриогенезе кур как метода воздействия, позволяющего повысить иммунологический статус эмбрионов кур к инфекционным заболеваниям в раннем онтогенезе на примере вируса гриппа, а также вируса инфекционного бронхита кур.

Эпизоотическая ситуация по высокопатогенному гриппу птиц остается крайне напряженной, и распространение данного заболевания уже приобрело масштабы панзоотии. В России вакцинация промышленного поголовья против вируса гриппа птиц не предусмотрена действующими ветеринарными правилами (Приказ Минсельхоза РФ от 27.03.2006 N 90 «Об утверждении правил по борьбе с гриппом птиц»). Основой борьбы с гриппом в российском промышленном птицеводстве в настоящее время являются профилактические ветеринарно-санитарные мероприятия. Инфекционный бронхит кур – заболевание вирусной этиологии, которое наносит значительный экономический ущерб птицеводству. Заболевание сопровождается поражением респираторной системы и репродуктивных органов кур. Высокая инфекционность и генетическая изменчивость вируса делает инфекционный бронхит кур одним из самых широко распространенных заболеваний в птицеводстве. Основными мерами борьбы с данным заболеванием, помимо вакцинации, является специфическая профилактика.

Научная новизна – впервые получены экспериментальные данные, характеризующие влияние низкотемпературного воздействия в чувствительный период раннего эмбриогенеза кур на снижение инфекционной активности вирусов гриппа и инфекционного бронхита.

Материал и методы. Исследования по разработке метода повышения иммунологического статуса эмбрионов кур технологическими методами проводили на птице породы русская белоснежная (специализированной для целей биопромышленности – производства эмбриональных вирусных вакцин), разводимой в ЦКП «Генетическая коллекция редких и исчезающих пород кур» Всероссийского научно-исследовательского института генетики и разведения сельскохозяйственных животных (ВНИИГРЖ). Птица содержалась в индивидуальных клетках при искусственном осеменении и принятой в хозяйстве технологии кормления и содержания.

Опыт I. Объект исследований – куры в возрасте 37 недель жизни породы русская белоснежная (специализированная для получения эмбриональных вирусных вакцин) (рис. 1). В качестве тестового вируса был выбран вирус гриппа типов А и В. Экспериментальное заражение, а также определение репродуктивной активности вирусов гриппа проводили в ФГБУ «НИИ гриппа им. А. А. Смородинцева» Минздрава России (Санкт-Петербург), которое включало в себя исследование инфекционной активности вирусов гриппа в 10-кратных разведениях в системе развивающихся куриных эмбрионов, определение общего титра вируса в реакции гемагглютинации (РГА). В исследованиях использовали штаммы вирусов гриппа А (A/Swine/Hongkong/2:6/2020 (H1N1) (RA-55); A/Swine (H1N2)-RII-41-2/2019; A/California/7/09 (H1N1), A/Aichi (H3N2)) и В (B/Phuket/3073/13; B/Washington/02/2019).

Сформированы 2 группы эмбрионов по принципу групп-аналогов по происхождению по матерям. Эмбрионов контрольной группы инкубировали при общепринятом режиме инкубации (37,5 °С – с 1 по 17 сутки, 37,2 °С – с 18 суток инкубации), а эмбрионов опытной группы в чувствительный период развития (на 5,5 сутки инкубации) подвергли охлаждению в течение 6 часов при температуре 16 °С. Выбор возраста воздействия на эмбрионы был обусловлен результатами наших предыдущих исследований [13].

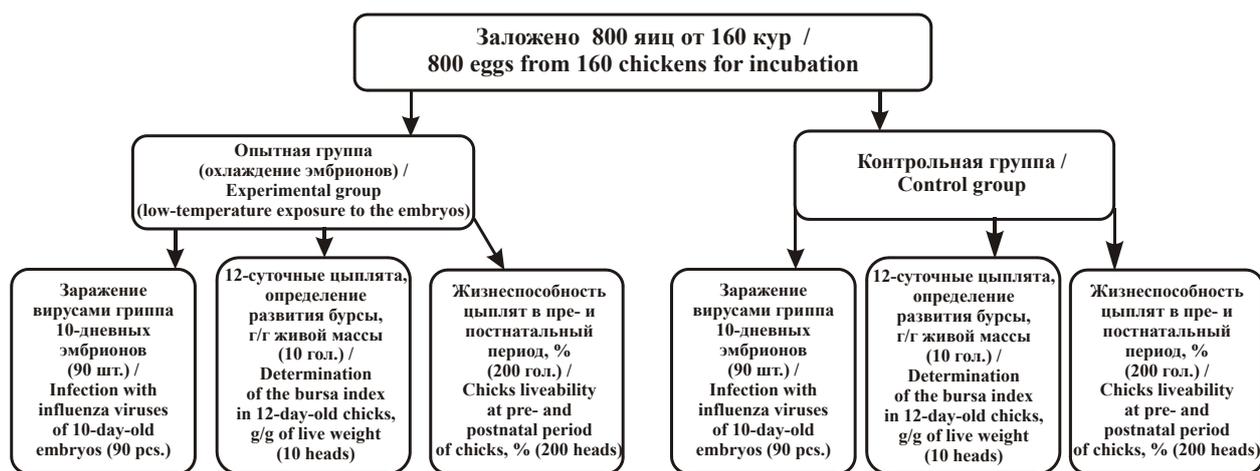


Рис. 1. Опыт 1. Схема исследований / Pic. 1. Research scheme 1

Определение инфекционной активности вируса гриппа проводили на развивающихся куриных эмбрионах 10-12-дневного возраста. Подготовленные 10-кратные разведения вируса вводили в аллантоисную полость эмбриона по 0,2 см³. Эмбрионы инкубировали 48 часов при 34 °С (для вируса гриппа А) и 72 часа при 32 °С (для вируса гриппа В). По окончании срока инкубации собирали вирусосодержащую аллантоисную жидкость отдельно для каждого эмбриона. Титр вируса определяли в реакции гемагглютинации (РГА). За титр вируса принимали наибольшее разведение, в котором наблюдается агглютинация эритроцитов.

Опыт 2. Для верификации результатов, полученных в опыте I, проводили заражение куриных эмбрионов вирусом инфекционного бронхита кур (ИБК) (рис. 2). Объектом исследований являлись куры трех пород различного направления продуктивности в возрасте 42 недель жизни; породы: русская белоснежная (специализированная для получения эмбриональных вирусных вакцин); итальянская куропатчатая (яичное направление продуктивности); царскосельская (комбинированное направление продуктивности).

Сформированы 2 группы эмбрионов по принципу групп-аналогов по происхождению по матерям. Эмбрионов контрольной группы инкубировали при общепринятом режиме инкубации (37,5 °С – с 1 по 17 сутки, 37,2 °С – с 18 суток инкубации), а эмбрионов опытной группы в чувствительный период развития (на 5,5 сутки инкубации) подвергли охлаждению

в течение 6 часов при температуре 16 °С. Экспериментальное заражение, а также определение биологической активности вируса ИБК проводили во «Всероссийском научно-исследовательском ветеринарном институте птицеводства» – филиале ФГБНУ Федеральный научный центр «Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт птицеводства» Российской академии наук (ВНИВИП).

Для определения биологической активности вируса ИБК шт.4/91 использовали метод титрования вирусосодержащей жидкости на 9-дневных эмбрионах кур. Для проведения исследований готовили 10-кратные разведения с 10⁻¹ до 10⁻⁸. Каждым разведением заражали эмбрионы в аллантоисную полость (по 5 эмбрионов на каждое разведение, по 40 – на каждую опытную группу) в объеме 0,2 см³. Незараженные эмбрионы оставляли в качестве контроля. Эмбрионы инкубировали в течение 7 суток при температуре 37 °С и относительной влажности 60-70 %. Ежедневно проводили овоскопию эмбрионов. Гибель эмбрионов в первые 24 часа после заражения считали неспецифической, в последующие дни относили на счет действия вируса ИБК. Через 7 суток инкубации эмбрионы охлаждали в течение 18 часов при температуре 4-6 °С, затем вскрывали и учитывали изменения, характерные для воздействия вируса ИБК (отставание в росте, скручивание в шар, карликовость). Титр вируса определяли по методу Кербера в модификации И. П. Ашмарина¹.

¹Ашмарин И. П., Воробьев А. А. Статистические методы в микробиологических исследованиях. Л.: Медгиз, 1962. 180 с

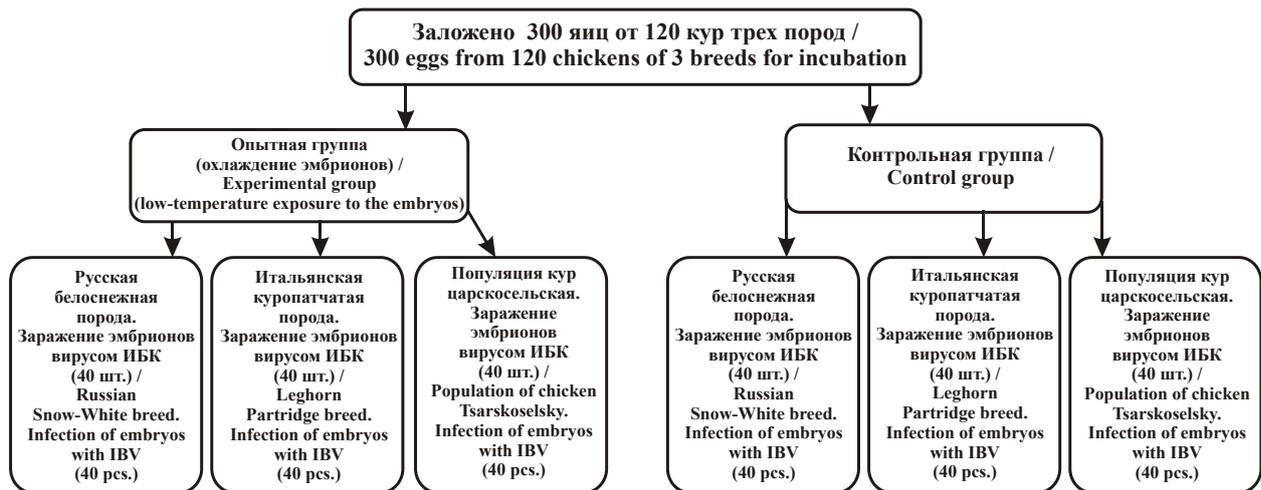


Рис 2. Опыт 2. Схема исследований / Pic. 2. Research scheme 2

С целью верификации полученных данных в производственных условиях, в племенной сезон в ЦКП «Генетическая коллекция редких и исчезающих пород кур» ВНИИГРЖ было проведено охлаждение эмбрионов (опытная группа) по разработанной схеме; полученные цыплята были поставлены на выращивание. В возрасте 12 суток по 10 голов из каждой группы (со средними показателями живой массы по группе) были вскрыты для определения индекса бурсы. Эксперимент проведен в двух повторностях.

Статистическую обработку данных проводили методами оценки критерия достоверности различия средних выборочных (t-критерий Стьюдента) по А. А. Минько² с использованием пакета программ Microsoft Excel 2010.

Результаты и их обсуждение. Согласно нашим исследованиям, охлаждение куриных эмбрионов на 5,5 сутки инкубации приводит к значимому проявлению действия адаптаци-

онного механизма на разных стадиях онтогенеза. У 12,5-суточных эмбрионов наблюдали увеличение объема аллантоисно-амниотической жидкости (на 6,7-8,2 %) [13]. Выводимость яиц, подвергшихся холодовому воздействию, увеличилась на 4,5 % в сравнении с контролем (85,8 % против 81,3 %). Также установлено, что относительная масса органа гуморального иммунитета – бурсы (г/г живой массы) – у 12-суточных цыплят русской белоснежной породы, подвергшихся охлаждению на 5,5 сутки эмбрионального развития, на 8,5-9,0 % выше, чем у цыплят контрольной группы (табл. 1). По результатам выращивания племенных цыплят – сибсов эмбрионов, установлено, что сохранность молодняка в первые 3 недели жизни у цыплят опытной группы была на 1,0 % выше, чем в контроле, что, видимо, свидетельствует о более высоком уровне их общей резистентности к заболеваниям, которые могут быть вызваны транзитной микрофлорой.

Таблица 1 – Показатели выводимости яиц и выращивания цыплят породы русская белоснежная в ЦКП «Генетическая коллекция редких и исчезающих пород кур» ВНИИГРЖ /

Table 1 – Indicators of egg hatchability and rearing of Russian Snow-White chicks in the Centre of collective usage "Genetic collection of rare and endangered chicken breeds" RRIFAGB

Показатель / Parameter	Вывод I / Hatch I	Вывод II / Hatch II
Выводимость, % / Hatchability, %:	81,3	86,7
- контроль / control		
- опыт / experimental	85,8 (+5,2 %)	90,3 (+4,0 %)
Число цыплят, гол. / Number of chicks, heads:		
- контроль / control	197	200
- опыт / experimental	195	190
Сохранность цыплят за 3 недели жизни, % / Livability for 3 weeks, %:		
- контроль / control	93,8	94,4
- опыт / experimental	95,1 (+1,3 %)	95,4 (+1,0 %)
Индекс бурсы у 12-суточных цыплят, % / Bursa index of 12-day-old chicks, %:		
- контроль / control, n = 10	0,40±0,03	0,42±0,03
- опыт / experimental, n = 10	0,45±0,04	0,46±0,02

²Минько А. А. Статистический анализ в MS Excel. М.: Издат. дом «Вильямс», 2004. 448 с.

В результате вирусологических исследований по оценке продуктивности вирусов гриппа в куриных эмбрионах получены данные, согласно которым у 12-суточных эмбрионов опытной группы титр вируса был достоверно ниже в 1,5-12,0 раз по сравнению с контролем, что свидетельствует о снижении репликативной активности вирусных штаммов в эмбрионах, подвергшихся охлаждению в 5,5-суточном возрасте (табл. 2).

При исследовании репликативной активности вируса гриппа A/Swine(H1N2) RII-41-2/2019 показано статистически значимое снижение общего титра вируса в РГА в эмбрионах с охлаждением (в 4,3 раза по сравнению с эмбрионами контрольной группы). Также в куриных эмбрионах с охлаждением наблюдалось снижение инфекционной активности вируса гриппа А на 11,5 % (табл. 3).

Таблица 2 – Сравнение репликативной активности вирусов гриппа в эмбрионах русской белоснежной породы контрольной и опытной групп в РГА /

Table 2 – Comparison of the replicative activity of influenza viruses in the embryos of the Russian Snow-White breed of the control and experimental groups in the hemagglutination reaction (HAR)

Штамм вируса / Virus strain	Количество эмбрионов в каждой группе, шт. / Embryos per group, pcs.	Среднее значение титра в РГА / The average value of the titer in HAR	
		контрольная группа / control	опытная группа / experimental
A/Swine/Hongkong (H1N2)	10	213 ^a ±26	107 ^b ±13
A/Swine (H1N2)	10	768 ^a ±107	64 ^c ±13
A/California (H1N1)	10	50 ^a ±13	16 ^d ±2
A/Aichi (H3N2)	10	218 ^a ±13	141 ^d ±13
B/Phuket	10	192 ^a ±13	122 ^d ±20
B/Washington	10	683 ^a ±107	171 ^d ±107

Примечания: Различия статистически достоверны при: ab P<0,01, ac P<0,001, ad P<0,05 /
Notes: The differences are statistically significant: ab at p < 0.01; ac at p < 0.001; ad at p < 0.05

Таблица 3 – Исследование инфекционной активности в куриных эмбрионах вируса гриппа A/Swine (H1N2) RII-41-2/2019 /

Table 3 – Infectious activity in chicken embryos of influenza A/Swine (H1N2) virus RII-41-2/2019

Показатель / Parameter	Среднее значение титра в РГА / The average value of the titer in HAR	
	контрольная группа / control, n = 30	опытная группа / experimental, n = 30
Среднее значение титра в РГА / The average value of the titer in HAR	164 ^a ±24	38 ^b ±12
Инфекционная активность в IgЭИД ₅₀ /см ³ / Infectious activity in IgEID ₅₀ /cm ³	10,2	9,03

Примечание: Различия статистически достоверны при: ab P<0,001 /
Notes: The differences are statistically significant: ab at p < 0.001

Как видно на рисунке 3, у эмбрионов опытной группы титр вируса гриппа А в РГА, начиная с разведения 10⁻⁵, стремительно падает в отличие от эмбрионов контрольной группы, у которых он, наоборот, максимален в разведении 10⁻³, минимален – в разведении 10⁻⁶, а затем снова начинает увеличиваться. При этом максимальные показатели титра вируса в РГА у 12-суточных эмбрионов опытной группы сопоставимы с минимальными показателями эмбрионов контрольной, а разница между значениями титров обеих групп в аналогичных

разведениях составляет в среднем 2-3 раза (до 8 раз в разведении 10⁻⁸).

По результатам исследований можно утверждать, что дозированное низкотемпературное воздействие в чувствительный период раннего эмбриогенеза позволяет индуцировать врожденные противовирусные реакции, о чем свидетельствует пониженная репликативная и инфекционная активность штаммов вируса гриппа при экспериментальном заражении таких эмбрионов, в сравнении с эмбрионами контрольной группы.

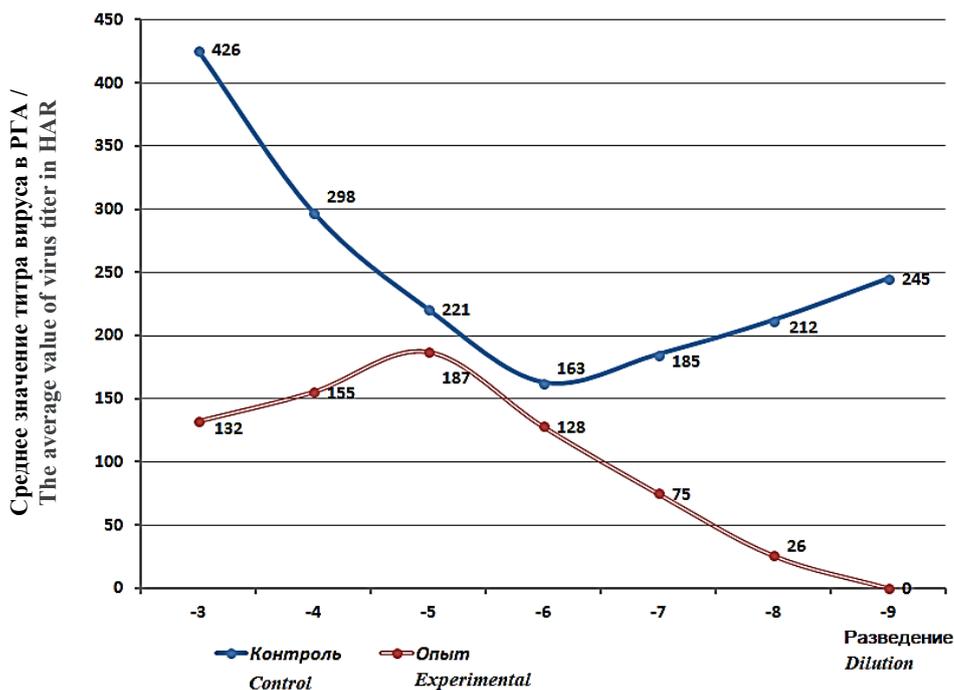


Рис. 3. Инфекционная активность вируса гриппа A/Swine(H1N1) RII-41-2/2019 в различных разведениях в эмбрионах кур русской белоснежной породы в зависимости от режима инкубации /
Fig. 3. Infectious activity of influenza A/Swine(H1N1) virus RII-41-2/2019 in various dilutions in embryos of Russian Snow-White breed chickens, depending on the incubation regime

Для оценки эффективности предложенного метода, как «рабочего» при использовании на различных видах вируса и породах кур, были проведены повторные исследования по экспериментальному заражению кур трех пород различного направления продуктивности вирусом инфекционного бронхита кур (ИБК).

В результате вирусологических исследований по оценке биологической активности вируса ИБК в куриных эмбрионах получены

данные, согласно которым у эмбрионов опытной группы инфекционная активность вируса ИБК была ниже по сравнению с контролем: у кур русской белоснежной породы – на 6,9 %, у итальянской куропатчатой – на 3,6 %, царскосельской – на 4,2 %. Что свидетельствует о снижении репликативной активности вакцинного вируса ИБК в эмбрионах, подвергшихся охлаждению в 5,5-суточном возрасте (табл. 4).

Таблица 4 – Исследование в эмбрионах трех пород кур инфекционной активности вируса ИБК шт.4/91 /
Table 4 – Infectious activity of IBV 4/91 strain in chicken embryos of three breeds

Показатель / Parameter	Русская белоснежная / Russian Snow-White		Итальянская куропатчатая / Leghorn Partridge		Царскосельская / Tsarskoselskaya	
	контроль / control	опыт / experimental	контроль / control	опыт / experimental	контроль / control	опыт / experimental
n = 40						
Масса яйца, г / Egg weight, g	55,3±0,6	55,3±0,6	49,8±0,5	49,1±0,4	63,5±0,5	63,4±0,6
Вирусодержащая жидкость / Extraembryonic fluid:						
- мл/эмбрион, мл / ml/embryo, ml	10,8±0,4	10,8±0,3	6,7 ^a ±0,3	5,0 ^b ±0,2	10,0±0,4	9,9±0,4
- мл/г массы яйца / ml/g of egg weight	0,195±0,009	0,195±0,010	0,135 ^c ±0,008	0,102 ^d ±0,009	0,157±0,012	0,156±0,010
Инфекционная активность в lgЭИД50/см ³ / Infectious activity in lgEID50/cm ³	7,20	6,70	6,95	6,70	7,20	6,90

Различия статистически достоверны при: ab P<0,001, cd P<0,01.
The differences are statistically significant: ab at p < 0.001, cd at p<0.01.

Разница в реакции на воздействие стресс-фактора мы полагаем вызвана межпородными различиями. Известно, что разные породы кур в одном и том же возрасте имеют неодинаковую массу яйца и качественные показатели яиц, основной из которых – величина желтка, что напрямую влияет на стадию развития эмбриона. Кроме того, скорость развития эмбриона и его провизорных органов у разных пород кур может различаться. Данный вопрос требует дополнительного изучения для повышения эффективности разрабатываемого метода повышения иммунобиологического статуса цыплят.

Полученные эффекты, как результат гипотермического воздействия в данный чувствительный период эмбриогенеза, могут быть объяснены индуцированием выработки эмбриональным стрессовых белков теплового и холодного шока, которые, в свою очередь, активируют врожденные противовирусные реакции, обусловленные ГКГ [14, 15]. Дальнейшие исследования данного вопроса будут направлены на уточнение стадии развития эмбриона по Гамбургеру-Гамильтону (1951), на которой низкотемпературное воздействие будет максимально эффективным, а также на уровень гипотермического стресс-фактора.

Заключение. По результатам исследований можно утверждать, что дозированное низкотемпературное воздействие в чувствительный период раннего эмбриогенеза (на 5,5 сутки инкубации) позволяет индуцировать врожденные противовирусные реакции, о чем свидетельствует пониженная репликативная и инфекционная активность штаммов вируса гриппа и инфекционного бронхита кур при экспериментальном заражении таких эмбрионов, в сравнении с эмбрионами контрольной группы. Цыплята, полученные из яиц, подвергшихся гипотермическому воздействию, обладали более высоким уровнем общей резистентности организма к заболеваниям бактериальной этиологии, о чем свидетельствует более высокая сохранность молодняка в первые 3 недели жизни (на 1,0 % выше, чем в контроле) и более высокий индекс бурсы (выше на 8,5-9,0 %). Выводимость яиц опытной группы была на 4,5 % выше, чем в контроле. Однако данный вопрос требует дополнительного изучения с привлечением методов молекулярной генетики, поскольку предполагаемые механизмы, обуславливающие повышение иммунобиологического статуса эмбрионов в ответ на низкотемпературное воздействие, требуют подтверждения.

References

1. Somes R. G. International Registry of Poultry Genetic Stocks. The University of Connecticut Storrs, 1988. 98 p. URL: <http://digitalcommons.uconn.edu/saes/29>
2. Gul H., Habib G., Khan I. M., Rahman S. U., Khan N. M., Wang H., Khan N. U., Liu Y. Genetic resilience in chickens against bacterial, viral and protozoal pathogens. *Frontiers in Veterinary Science*. 2022;9:1032983. DOI: <https://doi.org/10.3389/fvets.2022.1032983>
3. Kheimar A., Klinger R., Bertzbach L. D., Sid H., Yu Y., Conradie A. M., Schade B., Böhm B., Preisinger R., Nair V., Kaufer B. B., Schusser B. A Genetically Engineered Commercial Chicken Line Is Resistant to Highly Pathogenic Avian Leukosis Virus Subgroup J. *Microorganisms*. 2021;9(5):1066. DOI: <https://doi.org/10.3390/microorganisms9051066>
4. Koslová A., Trefil P., Mucksová J., Reinišová M., Plachý J., Kalina J., Kučerová D., Geryk J., Krchlíková V., Lejčková B., Hejnar J. Precise CRISPR/Cas9 editing of the NHE1 gene renders chickens resistant to the J subgroup of avian leukosis virus. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2020;117(4):2108-2112. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.1913827117>
5. Challagulla A., Jenkins K. A., O'Neil T. E., Shi S., Morris K. R., Wise T. G., Paradkar P. N., Tizard M. L., Doran T. J., Schat K. A. In Vivo Inhibition of Marek's Disease Virus in Transgenic Chickens Expressing Cas9 and gRNA against ICP4. *Microorganisms*. 2021;9(1):164. DOI: <https://doi.org/10.3390/microorganisms9010164>
6. McGrew M. J., Sherman A., Ellard F. M., Lillico S. G., Gilhooley H. J., Kingsman A. J., Mitrophanous K. A., Sang H. Efficient production of germline transgenic chickens using lentiviral vectors. *EMBO Reports*. 2004;5(7):728-733. DOI: <https://doi.org/10.1038/sj.embor.7400171>
7. Barjesteh N., O'Dowd K., Vahedi S. M. Antiviral responses against chicken respiratory infections: Focus on avian influenza virus and infectious bronchitis virus. *Cytokine*. 2020;127:154961. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2019.154961>
8. Schilling M. A., Katani R., Memari S., Cavanaugh M., Buza J., Radzio-Basu J., Mpenda F. N., Deist M. S., Lamont S. J., Kapur V. Transcriptional Innate Immune Response of the Developing Chicken Embryo to Newcastle Disease Virus Infection. *Frontiers in Genetics*. 2018;9:61. DOI: <https://doi.org/10.3389/fgene.2018.00061>

9. Kaufman J., Salomonsen J. The "minimal essential ГКГ" revisited: both peptide-binding and cell surface expression level of ГКГ molecules are polymorphisms selected by pathogens in chickens. *Hereditas*. 1997;127(1-2):67-73. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1601-5223.1997.t01-1-00067.x>
10. Torigoe T., Tamura Y., Sato N. Heat shock proteins and immunity: application of hyperthermia for immunomodulation. *International Journal of Hyperthermia*. 2009;25(8):610-616. DOI: <https://doi.org/10.3109/02656730903315831>
11. Stewart G. R., Young D. B. Heat-shock proteins and the host-pathogen interaction during bacterial infection. *Current Opinion in Immunology*. 2004;16(4):506-510. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.coi.2004.05.007>
12. Zhao F. Q., Zhang Z. W., Qu J. P., Yao H. D., Li M., Li S., Xu S. W. Cold stress induces antioxidants and HSPs in chicken immune organs. *Cell Stress and Chaperones*. 2014;19(5):635-648. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12192-013-0489-9>
13. Станишевская О. И., Федорова Е. С. Сравнительная оценка особенностей стресс-реактивности организма кур русской белой породы с мутацией sw+ и амрокс на условия гипотермии в эмбриональном и раннем постнатальном периодах онтогенеза. *Сельскохозяйственная биология*. 2019;54(6):1135-1143. DOI: <https://doi.org/10.15389/agrobiology.2019.6.1135rus> EDN: JIVYWR
- Stanishevskaya O. I., Fedorova E. S. Comparative evaluation of the peculiarities of stress reactivity of the Russian white breed chicken with sw+ mutation and Amrox in hypothermia conditions during embryonal and early postnatal periods of ontogenesis. *Sel'skokhozyaystvennaya biologiya = Agricultural Biology*. 2019;54(6):1135-1143. (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.15389/agrobiology.2019.6.1135rus>
14. De Maio A., Vazquez D. Extracellular heat shock proteins: a new location, a new function. *Shock*. 2013;40(4):239-246. DOI: <https://doi.org/10.1097/SHK.0b013e3182a185ab>
15. Habich C., Burkart V. Heat shock protein 60: regulatory role on innate immune cells. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 2007;64(6):742-751. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00018-007-6413-7>

Сведения об авторах

✉ **Федорова Елена Сергеевна**, кандидат биол. наук, старший научный сотрудник отдела генетики, разведения и сохранения генетических ресурсов сельскохозяйственных птиц, Всероссийский научно-исследовательский институт генетики и разведения сельскохозяйственных животных – филиал ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр животноводства – ВИЖ имени академика Л. К. Эрнста» (ВНИИГРЖ), д. 55а, Московское шоссе, г. Пушкин, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация, 196601, e-mail: spbvniigen@mail.ru, ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-1618-6271>, e-mail: Osot2005@yandex.ru

Станишевская Ольга Игоревна, доктор биол. наук, зав. отделом генетики, разведения и сохранения генетических ресурсов сельскохозяйственных птиц, Всероссийского научно-исследовательского института генетики и разведения сельскохозяйственных животных – филиала ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр животноводства – ВИЖ имени академика Л. К. Эрнста» (ВНИИГРЖ), д. 55а, Московское шоссе, г. Пушкин, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация, 196601, e-mail: spbvniigen@mail.ru, ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-9504-3916>

Information about the authors

✉ **Elena S. Fedorova**, PhD in Biology, senior researcher, the Department of genetics, breeding and conservation of genetic resources of farm birds of Russian Research Institute of Farm Animal Genetics and Breeding – Branch of the L. K. Ernst Federal Research Center for Animal Husbandry, Moscow Shosse, 55a, Pushkin, St. Petersburg, Russian Federation, 196601, e-mail: spbvniigen@mail.ru, ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-1618-6271>, e-mail: Osot2005@yandex.ru

Olga I. Stanishevskaya, DSc in Biology, Head of the Department of genetics, breeding and conservation of genetic resources of farm birds of Russian Research Institute of Farm Animal Genetics and Breeding – Branch of the L. K. Ernst Federal Research Center for Animal Husbandry, Moscow Shosse, 55a, Pushkin, St. Petersburg, Russian Federation, 196601, e-mail: spbvniigen@mail.ru, ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-9504-3916>

✉ – Для контактов / Corresponding author