

УДК 636.5.082.474:591.3

ПОВЫШЕНИЕ СТРЕССОУСТОЙЧИВОСТИ МОЛОДНЯКА КУР ЯИЧНОГО КРОССА ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ ПЕРЕД ИНКУБАЦИЕЙ

© 2020 г. Академик РАН И. И. Кочиш¹, И. С. Луговая^{1,*}, Т. О. Азарнова¹, М. С. Найденский¹, А. А. Антипов¹, Ю. В. Петрова¹, Д. В. Аншаков², Е. А. Золотухина²

Поступило 13.04.2020 г.

После доработки 29.04.2020 г.

Принято к публикации 30.04.2020 г.

Применение перед инкубацией композиции биологически активных веществ, состоящей из коламина, янтарной кислоты, серина и пиридоксина гидрохлорида способствовала снижению количества отходов инкубации и увеличению показателей вывода цыплят на 2.65%, а выводимости яиц — на 1.85%. У цыплят опытной группы отмечена большая стрессоустойчивость, что обусловило снижение интенсивности липопероксидации, а вместе с тем выразилось в увеличении индекса Кребса в 1.74 раза ($p < 0.01$), лейкоцитарного индекса интоксикации на 5.53% и снижении лимфоцитарно-гранулоцитарного индекса в 1.75 раза ($p < 0.05$), а лейкоцитарного индекса — на 1.67% ($p < 0.05$). При этом длина туловища у молодняка опытной группы была на 2.12% меньше, а сохранность за 60 дней выращивания — выше на 3% относительно контроля.

Ключевые слова: цыплята, эмбриогенез, стрессоустойчивость

DOI: 10.31857/S2686738920050145

Птицеводство — наиболее стрессогенная отрасль животноводства, это обусловлено рядом факторов, в том числе искусственной инкубацией, которая в условиях промышленного производства до сих пор не способна обеспечить все факторы (например, биоакустику, аэроинозацию и т.д.), характерные для естественного насиживания и максимально приближающие вывод к 100% показателю. При этом появление новых высокопродуктивных пород и кроссов, зачастую не стрессотренируемых, усугубляет актуальность проблемы повышения уровня стрессоустойчивости сельскохозяйственной птицы [1]. Применение композиции естественных метаболитов является актуальным способом решения данной задачи. В на-

стоящем исследовании были использованы следующие биологически активные вещества. Янтарная кислота, обладает адаптогенной способностью и оказывает антигипоксическое, антистрессовое (антиоксидантное) и нейротропное действие. Коламин, ингибирует окисление жиров, витамина А и других соединений, имеющих ненасыщенные углеродные связи, он принимает активное участие в окислительно-восстановительных процессах в организме животных, оптимизирует фосфорный и белковый обмен и, следовательно, является стимулятором роста. Серин — гликогенная аминокислота, входящая в состав фосфолипидов мембран клеток и активные центры многих ферментов. Витамин В6 (пиридоксина гидрохлорид) — водорастворимый витамин, активной формой которого являются фосфорилированные производные — пиридоксальфосфат и пиридоксаминофосфат. Пиридоксальфосфат входит в состав многих ферментов, которые обеспечивают протекание целого ряда метаболических процессов. При участии витамина В6 протекает реакция образования δ -аминолевулиновой кислоты (синтеза гема) и синтез арахидоновой кислоты, также он способствует более эффективному использованию глюкозы. Необходимо отметить, что пиридоксин оказывает влияние на обмен аминокислот, участвуя в переаминировании, декарбоксилировании, а также пересульфид-

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии — МВА имени К.И. Скрябина», г. Москва, Россия

² Селекционно-генетический центр «Загорское экспериментальное племенное хозяйство» — филиал Федерального государственного бюджетного научного центра «Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт птицеводства» Российской академии наук, г. Сергиев Посад, Россия

*e-mail: ine98@yandex.ru

Таблица 1. Показатели биоконтроля инкубации, %, $n = 189$

Группа	Неоплод	Кровяное кольцо	Замершие	Задохлики	Слабые	Вывод цыплят	$\pm\Delta$	Выводимость яиц	$\pm\Delta$
Контроль	8.99 \pm 2.08	1.59 \pm 0.91	4.23 \pm 1.46	3.70 \pm 1.37	0	81.48 \pm 2.83	–	89.53 \pm 2.23	–
Опыт	7.94 \pm 1.97	0.53 \pm 0.53	3.70 \pm 1.37	2.12 \pm 1.05	1.59 \pm 0.91	84.13 \pm 2.66	+2.65	91.38 \pm 2.04	+1.85

Таблица 2. Показатели перекисного окисления липидов (ПОЛ) и антиоксидантной защитной системы (АОЗС) выведенных цыплят, $n = 5$

Группа	АОА, %	Пероксидаза ед.опт.пл./л*с	СОД, акт/мг гемоглобина	ОШ, отн.ед/мл	МДА, мкмоль/л
Контроль	38 \pm 2.61	22 \pm 1.22	1.1 \pm 0.04	0.5 \pm 0.022	1.6 \pm 0.09
Опыт 1	70 \pm 3.21**	28 \pm 1.52	1.8 \pm 0.07*	0.3 \pm 0.016*	1.3 \pm 0.07

Примечание. АОА – антиокислительная активность, СОД – супероксиддисмутаз, ОШ – основания Шиффа, МДА – малоновый диальдегид, здесь: * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$.

ровании. Вместе с серином он также участвует в синтезе сфинголипидов. Витамин В6 оказывает влияние на образование жизненно важных для организма биогенных аминов, в частности коламина. Пиридоксин способен взаимодействовать с янтарной кислотой, с образованием оксипиридинон, спектр антиоксидантного и антигипоксанта действия которых очень широк [2]. В ранее проведенных исследованиях нами была доказана эффективность указанной композиции на мясном кроссе кур [3].

Цель исследования – увеличение стрессоустойчивости яичных кур путем предынкубационной обработки яиц перед закладкой на инкубацию водным раствором композиции: пиридоксина гидрохлорида, серина, янтарной кислоты и коламина.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследования проведены в условиях Селекционно-генетического центра “Загорское экспериментальное племенное хозяйство” – филиала Федерального государственного бюджетного научного центра “Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт птицеводства” Российской академии наук на яйцах кур кросса “Хайсекс Белый”. В каждую партию входило по 189 яиц. Яйца опытной партии до инкубации обрабатывали водным раствором композиции, состоящей из коламина, янтарной кислоты, серина и пиридоксина гидрохлорида в концентрациях: 0.1%, 0.1%, 0.2%, 0.1%, соответственно. Контрольную партию обработке композицией не подвергали. Клинический анализ крови выведенных цыплят проводили по общепринятым методам [4]. Показатели перекисного окисления липидов (ПОЛ) и антиоксидантной защиты организма (АОЗС) в крови выведенных цыплят

определяли колориметрическим методом (см. Примечание к табл. 2 и Методы). Экспериментальные данные статистически обрабатывали с использованием Microsoft Office Excel. Подсчет среднего количества $M \pm m$ производили по методу Стьюдента. Данные считали достоверными при $p < 0.05$. Достоверность показателей оценивалась по t -критерию Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

По данным Донник И.М. (2015) более высокий уровень стрессоустойчивости особей сопряжен с более высокой жизнеспособностью особи в онтогенезе [5], что нашло свое подтверждение в нашей работе (табл. 1).

Из таблицы следует, что вывод цыплят в опытной партии превышает контроль на 2.65%, а выводимость яиц – на 1.85%, что обусловлено снижением всех представленных отходов инкубации, в частности таких как: “неоплод” на 13%, указанное возможно только за счет уменьшения “ложного неоплода”; “кровяные кольца” в 3 раза, “замершие” на 14%, “задохлики” в 1.75 раза соответственно. При этом количество “слабых” цыплят в обеих группах находилось в пределах допустимых согласно нормативам значений, и в ряде предшествующих исследований указанный показатель был чаще ниже в опытной группе, нежели в контроле [3]. По данным Агеечкина в условиях передового птицеводческого хозяйства получение вывода цыплят, превосходящего таковой показатель по стране на 2%, является значимым достижением.

По данным Кармолиева Р.Х. (2006) молекулярные причины повышения стрессоустойчивости, а вместе с тем жизнеспособности, заключаются в своевременной мобилизации антиоксидантных резервов, необходимых для нивелирования аномальной интенсивности свободнорадикальных

Таблица 3. Некоторые показатели общего клинического анализа крови цыплят суточного возраста, $n = 5$

Показатель	Контроль	Опыт
Эритроциты, $10^{12}/л$	2.34 ± 0.18	$5.5 \pm 0.16^{**}$
Лейкоциты, $10^9/л$	3.45 ± 0.05	$2.0 \pm 0.07^{**}$
Тромбоциты, $10^9/л$	116 ± 4.30	$20 \pm 2.16^{**}$
Сегментоядерные нейтрофилы, $10^9/л$	2.69 ± 0.07	$4.34 \pm 0.08^{**}$
Палочкоядерные нейтрофилы, $10^9/л$	0	0
Лимфоциты, $10^9/л$	0.41 ± 0.03	0.38 ± 0.01
Моноциты, $10^9/л$	0.10 ± 0.01	0.16 ± 0.02
Эозинофилы, $10^9/л$	0	0
Базофилы, $10^9/л$	0.24 ± 0.04	$0.6 \pm 0.07^*$
ИК, условные единицы	6.56 ± 0.42	$11.42 \pm 0.37^{**}$
ЛИИ, условные единицы	3.59 ± 0.06	3.80 ± 0.07
ЛИ, условные единицы	0.15 ± 0.02	$0.09 \pm 0.01^*$
ИЛГ, условные единицы	0.14 ± 0.01	$0.08 \pm 0.01^*$

Примечание. ИК – индекс Кребса, ЛИИ – лейкоцитарный индекс интоксикации, ЛИ – лейкоцитарный индекс, ИЛГ – лимфоцитарно-гранулоцитарный индекс. Здесь: * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$.

реакций и, как следствие, – липопероксидации, обусловленных воздействием средних и сильных стрессоров любого генеза [6] (табл. 2). В настоящей работе показатели перекисного окисления липидов (ПОЛ) и антиоксидантной защитной системы (АОЗС) были использованы в качестве характеристики уровня стрессоустойчивости у цыплят.

Определение АОА в плазме крови выведенных цыплят основано на регистрации скорости окисления восстановительной формы 2,6-дихлорфенолиндофенола (2,6-ДХФИФ) кислородом, растворенным в реакционной среде. При этом бесцветная лейкоформа 2,6-ДХФИФ переходит в окрашенную форму, имеющую максимум поглощения при 600 нм.

Определение активности пероксидазы в крови выведенных цыплят основано на определении скорости реакции окисления бензидина пероксидом водорода при участии фермента с образованием окрашенного продукта реакции, имеющего максимум поглощения при 520 нм.

Определение активности СОД в эритроцитах основано на торможении СОД восстановления бесцветных тетразолиевых солей супероксидными анионрадикалами, при котором происходит их превращение в окрашенные соединения (формазаны).

Метод определения оснований Шиффа в сыворотке крови основан на измерении флуоресценции соединений данного типа, извлекаемых липидными растворителями из биологических материалов.

Принцип определения МДА в крови основан на том, что при высокой температуре в кислой

среде он реагирует с 2-тиобарбитуровой кислотой с образованием окрашенного триметинового комплекса, имеющего максимум поглощения при 532 нм.

Результаты исследования показали, что композиция изучаемых веществ значительно снижает динамику нарастания липопероксидации, обусловив их стремление к физиологически допустимым значениям. Так, уровень вторичного продукта липопероксидации в виде МДА снизился на 18.75%, а конечного – ОШ – в 1.67 раза ($p < 0.05$). Выше-сказанное обусловлено увеличением активности пероксидазы на 27.27% и СОД – в 1.64 раза ($p < 0.05$), а вместе с тем достоверным повышением АОА на 32% ($p < 0.01$). Все это свидетельствует о многоплановости антиоксидантного действия изучаемых биостимуляторов и о более высокой вероятности сохранения целостности мембранных структур клетки, а вместе с тем ее функциональности. Указанное во многом нашло свое подтверждение в нашей работе, что согласуется с литературными данными о влиянии антиоксидантов на мембраны клеток, в особенности – эритроцитов [7].

Исследования ряда ученых указывают на взаимосвязь между оптимизацией гематологического фона и уровня долгосрочной адаптации со стрессоустойчивостью и жизнеспособностью особи [5, 8, 9]. Таким образом, зафиксированное повышение эмбриональной жизнеспособности может быть обусловлено позитивными изменениями гематологических показателей.

Для подтверждения выдвинутой гипотезы у выведенных цыплят был взят общий клинический анализ крови (табл. 3).

Как видно из табл. 3, содержание эритроцитов у цыплят опытной группы достоверно возросло в 2.35 раза ($p < 0.01$), возможно, за счет сохранения целостности мембранных структур красных клеток крови и оптимизации процессов гемопоэза композицией изучаемых веществ. Данные литературы, касающиеся интерпретации содержания лейкоцитов свидетельствуют, что при стрессе их содержание может, как увеличиваться [8], так и уменьшаться [9] в зависимости от вида стресса. Подобные исследования широко проведены только на молодняке кур или взрослой птице, тогда как на эмбрионах и цыплятах суточного возраста таковые представлены разрозненно и фрагментарно.

В то же время, независимо от возраста птицы, общеприняты лейкоцитарные индексы, которые могут в значительной степени предопределить скорость перехода к “долгосрочной адаптации”, т.е. повышенной стрессоустойчивости. Индекс Кребса (ИК), представляющий собой отношение сегментоядерных нейтрофилов к лимфоцитам показывает, что большая его величина в условиях любого стресса характеризует более быстрый переход к долгосрочной адаптации. Подобная динамика относится также к лейкоцитарному индексу интоксикации (ЛИИ), представляющему собой отношение нейтрофилов к сумме лимфоцитов, моноцитов, эозинофилов и базофилов. Данный индекс поможет определить наличие в организме птиц процессов интоксикации, как маркера напряженности протекания стресс-реакции [5].

Лимфоцитарно-гранулоцитарный индекс (ИЛГ) представляет собой соотношение количества лимфоцитов к общему количеству гранулоцитов, а лейкоцитарный индекс (ЛИ) — соотношение лимфоцитов к нейтрофилам. В случае с ИЛГ и ЛИ — динамика их уменьшения характеризует больший уровень стрессоустойчивости за счет более быстрого перехода к долгосрочной адаптации [5].

Данные табл. 3 подтверждают большую стрессоустойчивость цыплят опытной группы, нежели контрольной, что согласуется с вышеприведенными литературными данными. Так, у особей опытной группы ИК был достоверно выше в 1.74 раза ($p < 0.01$), ЛИИ на 5.53%, ЛИ был ниже на 1.67% ($p < 0.05$), а ИЛГ в 1.75 раза ($p < 0.05$) относительно контроля. В то же время процентное соотношение лейкоцитов в лейкоформуле у представителей опытной и контрольной групп существенно не отличалось и находилось в пределах физиологической нормы

Необходимо отметить, что быстрый переход к долгосрочной адаптации у цыплят опытной группы подтверждается показателем длины туловища, которая по данным [10] имеет тенденцию к укорачиванию при повышении стрессоустойчи-

вости у ремонтного молодняка и взрослой птицы. Так, в 60-дневном возрасте длина туловища ($n = 10$) в контроле составила 19.3 ± 0.06 см, а в опыте — 18.9 ± 0.05 см, что на 2.12% меньше контроля. Необходимо отметить, что сохранность молодняка ($n = 100$) за 60 дней выращивания в контроле составила $94 \pm 2.37\%$, а в опыте — $97 \pm 1.71\%$, что на 3% выше.

Таким образом, обработка яиц указанной композицией веществ перед инкубацией способствовала снижению интенсивности липопероксидации и оптимизации гематологического фона. Указанные показатели свидетельствуют о более быстром переходе опытных особей к долгосрочной адаптации и большей стрессоустойчивости цыплят в онтогенезе, что в свою очередь обеспечивает повышение сохранности поголовья.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Агеев А.П., Алексеев Ф.Ф., Аралов А.В. и др. Промышленное птицеводство Под ред. В.И. Фисинина // Сергиев Посад: ГНУ ВНИТИП Россельхозакадемии, 2010. 599 с.
2. Марри Р., Греннер Д., Мейе П. // Биохимия человека. М.: Мир, 2009. 129 с.
3. Луговая И.С., Азарнова Т.О., Кочиш И.И., Найденский М.С., Антипов А.А. Оптимизация гистогенеза органов желудочно-кишечного тракта у эмбрионов кур при аэрозольной обработке инкубационных яиц биологически активными веществами // Вестник российской сельскохозяйственной науки. 2019. № 5. С. 73–76.
4. Кондрахин И.П. Методы ветеринарной клинической лабораторной диагностики: справ. изд. / М.: КолосС, 2004. 520 с.
5. Донник И.М., Дерхо М.А., Харлап С.Ю. Клетки крови как индикатор активности стресс-реакций в организме цыплят // Аграрный Вестник Урала. 2015. № 5 (135). С. 68–71.
6. Кармолиев Р.Х., Кармолиев Р.Р., Нестеров В.В. Теоретические основы в биохимии испытания биологически активных соединений сукцината и аминацетата // Доклады Российской Академии Сельскохозяйственных Наук. 2006. № 2. С. 35–40.
7. Луговская С.А., Морозова В.Т., Почтарь М.Е. Лабораторная гематология. М.: Триада, 2006. 222 с.
8. Сайфутдинова Л.В., Дерхо М.А. Лейкоциты и их информативность в оценке напряженности стресс-реакции у кур-несушек // Известия оренбургского государственного аграрного университета. 2019. № 1 (75). С. 136–139.
9. Царев П.Ю. Характеристика лейкоцитов крови цыплят в условиях температурного стресса // Вестник КРАСГАУ. 2018. № 1 (136). С. 83–88.
10. Чернышова Л.В., Артемьева Т.В. Экстерьерные особенности цыплят-бройлеров кросса ISA F15 с разным уровнем стрессовой чувствительности // Зоотехния. Выпуск. 2014. № 1 (45). С. 125–126.

INCREASED STRESS RESISTANCE OF THE OFFSPRING EGG CROSS CHICKENS WHEN USING BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES BEFORE HATCHING

Academician of the RAS I. I. Kochish^a, I. S. Lugovaya^{a, #}, T. O. Azarnova^a, M. S. Naydensky^a, A. A. Antipov^a, Ju. V. Petrova^a, D. V. Anshakov^b, and E. A. Zolotukhina^b

^a Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology named after K.I. Skriabin", Moscow, Russian Federation

^b Zagorsk Experimental Pedigree Breeding and Genetics Center – a branch of the Federal State Budget Scientific Center "All-Russian Scientific Research and Technological Institute of Poultry Production" of the Russian Academy of Sciences, Sergiev Posad, Russian Federation

[#]e-mail: ine98@yandex.ru

An application of a composition of biologically active substances consisting of colamine, succinic acid, serine, and pyridoxine hydrochloride before a hatching contributed to a decrease in a hatching waste, an increase in chicken hatching rates by 2.65%, and an egg hatchability by 1.85%. The chickens of the experimental group showed a decrease in the intensity of a lipid peroxidation indicating a greater resistance to the stress. This conclusion is also based on an increase in the Krebs index by 1.74 times ($p < 0.01$), leukocyte intoxication index by 5.53%, a decrease in the lymphocyte-granulocyte index by 1.75 times ($p < 0.05$) and the leukocyte index by 1.67% ($p < 0.05$). The body length of the offspring of the experimental group was 2.12% less and the safety for 60 days of cultivation was above 3% relative to the control.

Keywords: chickens, embryogenesis, stress resistance