

Лейкоциты и их информативность в оценке напряжённости стресс-реакции у кур-несушек

Л.В. Сайфутдинова, аспирантка, М.А. Дерхо, д.б.н., профессор, ФГБОУ ВО Южно-Уральский ГАУ

Промышленное птицеводство сопряжено с влиянием на организм птиц комплекса технологических факторов, определяющих её физиологическое состояние, продуктивность, сохранность и т.д. [1–4]. Так, в качестве одного из способов, позволяющих увеличить экономическую эффективность птицефабрики, используют повышенную плотность посадки птицы [5]. Это отражается не только на величине фронта поения и кормления, подвижности особей, но и таких параметрах микроклимата, как температура воздуха и его загрязнённость микрофлорой [6]. В частности, при превышении плотности посадки на 1 голову в расчёте на 1 м² пола температура воздуха в птичнике увеличивается на 20%, а его загрязнённость микрофлорой – в 1,5–2,0 раза.

Переуплотнённая посадка как технологический фактор сопровождается, во-первых, увеличением метаболической массы на единицу площади, что инициирует появление в организме птиц признаков теплового стресса в результате нарушения процессов терморегуляции. Во-вторых, способствует развитию гиподинамии, определяющей в свою очередь метаболический статус клеток органов и тканей, обеспеченность организма кислородом, скорость движения крови по кровеносным сосудам и т.д. [7]. Тепловой стресс и гиподинамия инициируют сдвиги в механизмах нейрогормональной регуляции и, как следствие, в активности обменных процессов [8], что отражается на продуктивности птицы и уровне её здоровья.

Особенности течения адаптационных процессов в организме птиц, вызванных воздействием повышенной температуры и влажности воздуха (тепловые стресс-факторы), достаточно хорошо

раскрыты [9]. В то же время стрессовое воздействие такого технологического фактора, как превышение нормы посадки, практически не изучено, что и определило актуальность темы исследования.

Целью нашей работы стала оценка напряжённости стресс-реакции в организме кур-несушек по изменчивости лейкоцитов и лейкоцитарных индексов при действии технологического фактора — плотности посадки птиц в клетке.

Материал и методы исследования. Экспериментальная часть работы выполнена на базе ПАО «Челябинская птицефабрика» в 2018 г. Объектом исследования служили куры промышленного стада кросса Ломанн ЛСЛ-классик в 52-недельном возрасте с живой массой 1716–1769 г, которых содержали в четырёхъярусных клеточных батареях. Ширина одной клетки составляла 600 мм, глубина — 605 мм, высота фасада — 455 мм, высота тыла — 380 мм, вместимость — 8 гол. Влажность воздуха в птичнике колебалась в пределах 67–68%, температура воздуха — 21,1–21,3°C. Продуктивность кур по промышленному стаду составляла 90,5% (по паспорту кросса 85,3%).

Для моделирования экспериментального стресса в качестве стресс-фактора использовали плотность посадки птиц в клетке, определяющую величину метаболической массы на единицу площади, уровень терморегуляции организма и мышечной активности. С этой целью на втором ярусе клеточной батареи было сформировано три группы: I гр. — контрольная, плотность посадки птиц — 8 гол., что соответствовало нормативу; II — плотность посадки была увеличена в 1,5 раза ($n=12$), III — в 2 раза ($n=16$).

Материалом для исследования служила кровь, забор которой производили из подкожной подкрыльцовой вены, расположенной на внутренней поверхности крыла. Место взятия крови — ближе к локтевому суставу — очищали от пуха, кожу дезинфицировали 70-процентным спиртом и прокалывали вену, направляя иглу вдоль вены срезом вверх. Кровь у птиц контрольной и опытных групп брали до эксперимента (фоновые показатели), а также через 2, 4 и 24 часа после изменения плотности посадки в клетке.

Мазки крови готовили сразу после её взятия, затем окрашивали по методу Романовского — Гимзы. Подсчёт лейкоцитов проводили в камере Горяева.

Для подтверждения стрессового воздействия технологического фактора (плотность посадки) и оценки напряжённости стресс-реакции в организме птиц по данным лейкограммы были рассчитаны индексы:

1) соотношение между гетерофилами и лимфоцитами (Г/Л, усл. ед.) [8, 10, 11];

2) показатель состояния (ПС, усл. ед.) по формуле:

$$ПС = k \frac{B + Eos + L + Mon}{G \cdot WBC},$$

где k — нормализующий коэффициент, равный 100; B , Eos , L , Mon , G — количество базофилов, эозинофилов, лимфоцитов, моноцитов, гетерофилов (псевдоэозинофилов) в лейкограмме, %;

WBC — количество лейкоцитов, $10^9/л$ [11].

Данные статистически обрабатывали методом вариационной статистики на ПК с помощью табличного процессора Microsoft Excel-2003 и пакета прикладной программы «Биометрия».

Результаты исследования. В промышленных условиях проводится постоянный мониторинг состояния птиц, результаты которого позволяют оценить уровень здоровья, соответствие факторов технологической среды биологическим возможностям организма и т.д. При этом наиболее часто используют параметры крови, отражающие функциональное состояние клеток органов, тканей и систем. В первую очередь к ним относят лейкоциты, пул которых позволяет составить представление не только об общей резистентности организма, но и его реактивности при воздействии факторов среды, в том числе и технологических [11, 12].

Куры контрольной и опытных групп до начала эксперимента не имели достоверных различий по уровню общей резистентности организма, определяемой пулом лейкоцитарных клеток в периферическом русле крови. Так, количество лейкоцитов колебалось в интервале 27,50–28,26 $10^9/л$; базофилов — 2,0–2,29%, эозинофилов — 4,29–5,43%, псевдоэозинофилов (гетерофилов) — 34,0–34,51%, лимфоцитов — 54,0–54,71% и моноцитов — 4,45–4,71%, соответствуя границам нормы (табл. 1).

В ходе эксперимента общее количество лейкоцитов, а также отдельных лейкоцитарных клеток, в крови кур контрольной группы колебалось в данных интервалах и не зависело от времени исследования.

В I опытной гр. после увеличения плотности посадки был отмечен социальный конфликт между особями, длительность которого составляла первые 3–4 часа, затем птицы начали принимать корм и воду, передвигаться по клетке. Яйценоскость птиц в клетке в период эксперимента составляла 16,67%. Во II опытной гр. птицы из-за большой скученности не могли передвигаться по клетке, принимать свободно корм и воду, имелись признаки социального конфликта между отдельными особями, перо постепенно становилось влажным и взъерошенным. Данные признаки прогрессировали в ходе эксперимента. При этом куры-несушки прекратили яйцекладку в ходе эксперимента.

Технологический фактор — плотность посадки — привёл к появлению у кур-несушек опытных групп стресс-реакции, что подтверждалось изменением лейкоцитарного состава крови.

Так, у птиц I опытной гр. признаки наиболее ярко были выражены первые 4 час. эксперимента

1. Лейкоцитарная формула кур-несушек (n=7; X±Sx)

Показатель	Группа	Фон (до эксперимента)	Срок исследования после изменения плотности посадки птиц		
			через 2 часа	через 4 часа	через 24 часа
Лейкоциты, 10 ⁹ /л	контрольная	27,50±1,78	27,31±1,80	26,82±1,90	27,52±1,59
	I опытная	27,86±1,21	32,88±0,68*	32,10±0,74*	29,45±0,53
	II опытная	28,26±0,52	26,83±0,60	25,86±0,73	25,56±0,30*
Базофилы, %	контрольная	2,00±0,21	2,14±0,23	2,29±0,19	2,14±0,17
	I опытная	2,14±0,23	1,71±0,29	1,86±0,23	2,00±0,21
	II опытная	2,29±0,19	1,57±0,32	1,43±0,36	1,28±0,32*
Эозинофилы, %	контрольная	5,43±0,29	4,71±0,44	5,00±0,44	4,86±0,28
	I опытная	4,71±0,27	2,57±0,44*	2,71±0,29*	3,71±0,28
	II опытная	4,29±0,53	3,14±0,35	2,71±0,13*	2,85±0,27
Псевдо-эозинофилы, %	контрольная	34,10±0,80	34,20±0,70	33,80±0,45	33,78±0,50
	I опытная	34,51±0,52	40,42±1,19*	39,14±2,25*	36,00±0,91
	II опытная	34,00±0,55	38,14±0,72*	40,28±0,97*	42,78±0,46*
Лимфоциты, %	контрольная	54,00±0,91	53,14±0,99	55,71±0,97	54,43±0,44
	I опытная	54,50±1,50	49,57±0,90	50,86±0,85*	53,00±1,35
	II опытная	54,71±0,89	49,57±1,36*	49,29±1,74*	46,85±1,41*
Моноциты, %	контрольная	4,47±0,29	5,81±0,38	3,20±0,41	4,79±0,50
	I опытная	4,45±0,39	5,73±0,20*	5,43±0,81	5,29±0,34
	II опытная	4,71±0,31	7,58±0,47*	6,29±0,17*	6,24±0,38*

Примечание: * P<0,05 по сравнению с величиной «фон (до эксперимента)»

(табл. 1), о чём свидетельствовало повышение в крови общего количества лейкоцитов по сравнению с фоном на 15,22–18,02% (P<0,05), уменьшение в лейкограмме числа базофилов, эозинофилов и лимфоцитов соответственно на 13,08–20,09; 42,46–45,43 и 6,67–9,05% (P<0,05) на фоне увеличения псевдоэозинофилов (гетерофилов) и моноцитов на 13,42–17,13 и 22,02–28,76% (P<0,05). Максимум сдвигов наблюдался через 2 часа после изменения плотности посадки кур в клетке. Они были результатом выброса в кровотоки незрелых гетерофилов и миграции лимфоцитов в периферические ткани, что обусловлено биологическими эффектами стрессовых гормонов в организме птиц [7, 12].

Через 24 часа эксперимента лейкоцитарный состав крови в I опытной гр. уже достоверно не отличался от фоновых значений, хотя и не достигал их уровня, свидетельствуя о протекании в их организме адаптационных процессов по отношению к технологическому фактору.

У особей II опытной гр. были выявлены сдвиги в морфологическом составе крови, аналогичные I гр., которые планомерно прогрессировали в ходе эксперимента и достигали максимума через 24 часа после его начала. Исключение составляло общее количество лейкоцитов, которое уменьшилось на 9,55% (P<0,05), свидетельствуя о снижении реактивности организма птиц. Основной причиной являлась гиподинамия, так как, во-первых, двигательная активность кур-несушек определяет возможность потребления корма и воды. Во-вторых, органы движения у птиц выполняют роль периферического сердца, определяя снабжение клеток органов и тканей кислородом, питательными веществами и уровень выведения конечных продуктов обмена [7], что влияет на защитные силы организма.

В лейкограмме кур-несушек II опытной гр. в конце эксперимента было отмечено уменьшение количества базофилов, эозинофилов и лимфоцитов соответственно на 44,10; 33,56 и 14,37% (P<0,05). Концентрация псевдоэозинофилов и моноцитов, наоборот, повысилась на 25,82 и 32,48% (P<0,05). В совокупности данные признаки свидетельствовали о прогрессировании напряжённости стресс-реакции в организме птиц в течение всего эксперимента при воздействии технологического фактора (плотность посадки).

Для подтверждения данного вывода, а также определения напряжённости стресс-реакции мы определили величину лейкоцитарных индексов (Г/Л [8, 10, 11]; ПС [11]).

В крови кур I опытной гр. изменение соотношения Г/Л, а также значения показателя состояния через 2 и 4 часа эксперимента колебалось в пределах 22,22–28,57 и 29,23–34,50% (P<0,05) соответственно. Это позволяет констатировать, что увеличение плотности посадки птиц в клетке инициирует развитие в их организме стресс-реакции, имеющей максимальную напряжённость через 2 часа после начала действия стресс-фактора. Куры-несушки в ходе эксперимента постепенно приспосабливались к существующему уровню скученности (превышение плотности посадки в 1,5 раза) в конкретной технологической среде птичника, о чём свидетельствовало уменьшение значений Г/Л и ПС через 24 часа. При этом их величина достоверно не отличалась от фоновых значений, но и не достигла их уровня (табл. 2). В то же время плотность посадки в клетке повлияла на яйценоскость кур. Данный показатель снизился по сравнению с контрольной группой в 5,25 раза. Аналогичные данные приводятся в работе С.В. Цыгановой [7].

2. Лейкоцитарные индексы ($n=7$; $X \pm Sx$)

Показатель	Группа	Фон (до эксперимента)	Срок исследования после изменения плотности посадки птиц		
			через 2 часа	через 4 часа	через 24 часа
Г/Л, усл. ед.	контрольная	0,63±0,02	0,64±0,02	0,61±0,02	0,62±0,01
	I опытная	0,63±0,03	0,81±0,03*	0,77±0,01*	0,68±0,08
	II опытная	0,62±0,03	0,77±0,05	0,82±0,02*	0,91±0,03*
ПС, усл. ед.	контрольная	7,03±0,45	7,04±0,49	7,30±0,53	7,10±0,44
	I опытная	6,84±0,46	4,48±0,34*	4,84±0,41*	6,04±1,19
	II опытная	6,87±0,57	6,05±0,73	5,73±0,56	5,23±0,32*

Примечание: * $P < 0,05$ по сравнению с величиной «фон (до эксперимента)»

У кур-несушек II опытной гр. величина лейкоцитарных индексов максимума достигла в конце эксперимента. При этом соотношение Г/Л превышало фоновый уровень на 46,77% ($P < 0,05$), а показатель состояния был меньше исходного значения на 23,87% ($P < 0,05$) (табл. 2). Следовательно, превышение плотности посадки в 2 раза являлось для кур-несушек таким стресс-фактором, приспособление к которому, вероятнее всего, будет протекать по патологическому пути. Об этом свидетельствует снижение общей резистентности организма птиц, определяемое общим количеством лейкоцитов. Динамика изменений лейкоцитарных индексов указывала и на более низкую способность кур по сравнению с I опытной гр. мобилизовать пластические и энергетические резервы организма, что отражалось на яичной продуктивности несушек. Значит, данный уровень плотности посадки не отвечает биологическим возможностям организма в конкретных технологических условиях птичника.

Выводы. Результаты нашего исследования показали, что при моделировании экспериментального стресса и использовании в качестве стресс-фактора плотности посадки птиц в клетке в организме кур-несушек опытных групп развивается стресс-реакция, для которой характерны, как и при действии других стресс-факторов, изменения в пуле лейкоцитов крови. При превышении плотности посадки в 1,5 раза активность стресс-реакции имеет максимальную напряжённость в течение первых 4 час. после начала действия стресс-фактора, о чём свидетельствует увеличение величины соотношения Г/Л на 22,22–28,57% ($P < 0,05$) и уменьшение показателя состояния (ПС) на 29,23–34,50% ($P < 0,05$). Сдвиги в лейкоцитарном составе крови сопряжены с повышением общего количества лейкоцитов на 15,22–18,02% ($P < 0,05$), что определяет возможность протекания адаптационных процессов в организме кур-несушек по физиологическому пути. Однако уровень скученности отражается на яйценоскости кур, которая уменьшается по

сравнению с контролем в 5,25 раза. В организме птиц II опытной гр. признаки стресс-реакции, оцениваемые по величине лейкоцитарных индексов, нарастают постепенно, достигают максимума через 24 часа после начала действия стресс-фактора. Стресс-реакция протекает на фоне уменьшения общего количества лейкоцитов на 9,55% ($P < 0,05$) и прекращения яйцекладки, определяя низкие адаптационные возможности организма и несоответствие действия стресс-фактора биологическим возможностям организма.

Литература

- Донник И.М., Дерхо М.А., Харлап С.Ю. Клетки крови как индикатор активности стресс-реакций в организме цыплят // Аграрный вестник Урала. 2015. № 5. С. 68–71.
- Колесник Е.А., Дерхо М.А. Об участии холестерина, прогестерона, кортизола и липопротеинов в возрастных изменениях обмена веществ у цыплят-бройлеров промышленного кросса // Сельскохозяйственная биология. 2017. Т. 52. № 4. С. 749–756.
- Куликов Е.В. Химический состав скелета цесарок / Е.В. Куликов, Е.Д. Сотникова, Т.С. Кубатбеков [и др.] // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. 2016. № 1(57). С. 205–208.
- Харлап С.Ю., Дерхо М.А., Лоретц О.Г. Роль белков крови в реализации стресс-индуцирующего воздействия шуттелирования в организме цыплят // Аграрный вестник Урала. 2016. № 3(145). С. 66–71.
- Никулина Н.П. Повышение эффективности птицеводческих хозяйств в условиях формирования рынка: дис. ... канд. эк. наук. М., 2000. 140 с.
- Кавтарашвили А.Ш., Колокольникова Т.Н. Физиология и продуктивность птицы при стрессе // Сельскохозяйственная биология. 2010. № 4. С. 24–37.
- Цыганова С.В. Влияние гиподинамии на продуктивные показатели птицы // Био. 2014. № 12(171). С. 8–11.
- Гаркави Л.Х. Активационная терапия. Антистрессорные реакции активации и тренировки и их использование для оздоровления, профилактики и лечения. Ростов-на-Дону: РГУ, 2006. 256 с.
- Сурай П.Ф., Фотина Т.И. Физиологические механизмы развития теплового стресса в птицеводстве // Качество и безопасность. 2013. № 6. С. 54–60.
- Забудский Ю.И. Проблемы адаптации в птицеводстве // Сельскохозяйственная биология. 2002. № 6. С. 80–85.
- Харлап С.Ю., Дерхо М.А., Середа Т.И. Особенности лейкограммы цыплят в ходе развития стресс-реакции при моделированном стрессе // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. 2015. № 2(52). С. 103–105.
- Колесник Е.А., Дерхо М.А. Об участии гипофизарно-адренкортикальных гормонов в регуляции клеточного пула крови у цыплят-бройлеров // Проблемы биологии продуктивных животных. 2018. № 1. С. 64–74.