

Литература

1. Аргунов П. Очерки сельского хозяйства Минусинского края. – Казань: Тип. Н.А. Ильяшенко, 1892. – С. 104–109.
2. Патачаков К.М. Культура и быт хакасов в свете исторических связей с русским народом (XVIII–XIX вв.). – Абакан: Хакас. кн. изд-во, 1958. – 104 с.
3. Коломеец Ю.Ю., Дергунова М.М. Экстерьерно-конституциональные особенности табунных лошадей Хакасии // Проблемы развития АПК Саяно-Алтая: мат-лы межрегион. науч.-практ. конф. – Абакан: Хакас. кн. изд-во, 2011. – С. 185–190.
4. ГОСТ 27095-86. Мясо. Конина и жеребятина в полутушах и четвертинах. Технические условия. – М.: Стандартиформ, 1986. – 6 с.

Literatura

1. Argunov P. Ocherki sel'skogo hozjajstva Minusinskago kraja. – Kazan': Tip. N.A. Il'jashenko, 1892. – S. 104–109.
2. Patachakov K.M. Kul'tura i byt hakasov v svete istoricheskikh svjazej s russkim narodom (XVIII–XIX vv.). – Abakan: Hakas. kn. izd-vo, 1958. – 104 s.
3. Kolomeec Ju.Ju., Dergunova M.M. Jekster'erno-konstitucional'nye osobennosti tabunnych loshadej Hakasii // Problemy razvitija APK Sajano-Altaja: mat-ly mezhregion. nauch.-prakt. konf. – Abakan: Hakas. kn. izd-vo, 2011. – S. 185–190.
4. GOST 27095-86. Mjaso. Konina i zherebjatina v polutushah i chetvertinah. Tehnicheskie uslovija. – M.: Standartinform, 1986. – 6 s.

УДК 591.11:598.2:577.3

Е.З. Лапкина, Г.В. Макарская,
Л.С. Турранен

ВЛИЯНИЕ ТРАВЯНОЙ ДОБАВКИ НА ОСНОВЕ КРАПИВЫ ДВУДОМНОЙ
(*URTICA DIOICA* L.) И ЗВЕЗДЧАТКИ СРЕДНЕЙ (*STELLARIA MEDIA* L.) В КОРМЛЕНИИ
ЯПОНСКИХ ПЕРЕПЕЛОВ НА ПАРАМЕТРЫ ГЕНЕРАЦИИ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА
КЛЕТКАМИ ИХ ЦЕЛЬНОЙ КРОВИ

Е.З. Lapkina, G.V. Makarskaya,
L.S. Tirranen

THE INFLUENCE OF GRASS ADDITIVE ON THE BASIS OF *URTICA DIOICA* L.
AND *STELLARIA MEDIA* L. IN FEEDING OF JAPANESE QUAILS ON PARAMETERS
OF GENERATION OF ACTIVE FORMS OF OXYGEN BY THEIR WHOLE BLOOD CELLS

Лапкина Е.З. – канд. биол. наук, инженер отдела молекулярной электроники ФИЦ «Красноярский научный центр СО РАН», г. Красноярск. E-mail: e.z.lapkina@mail.ru

Макарская Г.В. – канд. биол. наук, ст. науч. сотр. ФИЦ «Красноярский научный центр СО РАН», г. Красноярск. E-mail: mgv@icm.krasn.ru

Турранен Л.С. – д-р биол. наук, вед. науч. сотр. Международного научного центра испытаний экстремальных состояний организма Института вычислительного моделирования ФИЦ «Красноярский научный центр СО РАН», г. Красноярск. E-mail: l-tiran@ya.ru

Lapkina E.Z. – Cand. Biol. Sci., Engineer, Department of Molecular Electronics, FRC "Krasnoyarsk Scientific Center SB RAS", Krasnoyarsk. E-mail: e.z.lapkina@mail.ru

Makarskaya G.V. – Cand. Biol. Sci., Senior Staff Scientist, FRC "Krasnoyarsk Scientific Center SB RAS", Krasnoyarsk. E-mail: mgv@icm.krasn.ru

Tirranen L.S. – Dr. Biol. Sci., Leading Staff Scientist, FRC "International Research Center of Tests of Extreme Conditions of an Organism", Institute of Computing Modeling, Krasnoyarsk Research Center SB RAS, Krasnoyarsk. E-mail: l-tiran@ya.ru

Повышение иммунорезистентности организма птиц с помощью кормовых добавок на

основе растительного сырья остается актуальным вопросом птицеводства. Цель работы

– изучение влияния травяной добавки на основе растений *Urtica Dioica L.* (крапивы двудомной) и *Stellaria Media L.* (звездчатки средней) в кормлении японских перепелов на параметры генерации активных форм кислорода клетками их цельной крови: амплитуду максимальной интенсивности хемилюминесцентной реакции, время достижения максимума и площадь под кривой хемилюминесценции. Представлены результаты исследований по влиянию кормовой добавки на основе травяной муки из крапивы двудомной и звездчатки средней на изменение кислородного метаболизма клеток крови и реактивность системы неспецифической резистентности организма японских перепелов. С помощью хемилюминесцентного анализа выявлено снижение объемов спонтанной продукции активных форм кислорода и стимуляция объемов индуцированной *in vitro* продукции АФК. Травяные добавки из растений *Urtica Dioica L.* и *Stellaria Media L.* повышают потенциальные возможности клеток к генерации АФК. При использовании в кормлении японских перепелов травяной муки *Urtica Dioica L.* индекс активации люминол- и люцегениннезависимых АФК повысился соответственно в 2,15 и 2,54 раза, а при использовании компонентной травяной добавки, содержащей *Urtica Dioica L.* и *Stellaria Media L.*, – в 1,22 и 1,54 раза.

Ключевые слова: японские перепела, травяные кормовые добавки, крапива двудомная, звездчатка средняя, хемилюминесценция, активные формы кислорода.

*The increase of immunoresistance of birds' organisms by means of feed additives on the basis of vegetable raw materials remains topical issue of poultry farming. The work purpose was studying the influence of a grass additive on the basis of plants of *Urtica Dioica L.* (nettles two-blast furnace) and *Stellaria Media L.* (average chickweed) in feeding of Japanese quails on the parameters of generation of active forms of oxygen cells of their whole blood: the amplitude of the maximum intensity of chemiluminescence reaction, the time of achievement of maximum and the area under chemiluminescence curve. The results of researches on the influence of feed additive on the basis of grass flour from a nettle by a two-blast furnace and chickweed of change of oxygen metabolism of blood cells and the reactivity of system of nonspecific resistance of Japanese quails organisms are*

*presented. By means of chemiluminescence analysis the decrease in volumes of spontaneous production of active forms of oxygen and stimulation of volumes of the induced *in vitro* of production of AFC is revealed. Grass additives from plants of *Urtica Dioica L.* and *Stellaria Media L.* raise potential opportunities of cells for AFC generation. When using the grass *Urtica Dioica L.* flour in feeding of Japanese quails the activation index luminol-and lucigenin dependable AFC raised respectively 2.15 and 2.54 times, and when using the component grass additive containing *Urtica Dioica L.* and *Stellaria Media L.* it raised 1.22 and 1.54 times.*

Keywords: Japanese quails, grass feed additives, nettle, average chickweed, chemiluminescence, active forms of oxygen.

Введение. В настоящее время актуальной проблемой птицеводства остается поиск дешевых кормовых добавок на основе растительного сырья, обладающих функциональными свойствами, такими как повышение иммунорезистентности организма птиц. Известно, что дикорастущие растения (крапива двудомная, звездчатка средняя) являются источником витаминов (А, Е, С, группы В) и микроэлементов [1]. Использование в составе комбикорма муки из крапивы для бройлеров приводит к улучшению переваримости питательных веществ, стимуляции роста, развития и продуктивности птицы [2, 3]. Звездчатка средняя используется в медицине как лекарственное растение, так как в своем составе содержит сапонины, дубильные вещества, флавоноиды. Сложность применения дикорастущих растений с целью повышения иммунорезистентности организма обусловлена тем, что недостаточно научных данных об их влиянии на определенные звенья иммунной системы. В одном растении могут содержаться вещества, стимулирующие и угнетающие иммунные реакции.

Одним из механизмов, обеспечивающих неспецифическую резистентность организма, является способность лейкоцитарных клеток крови продуцировать активные формы кислорода (АФК), которая наиболее выражена в состоянии антигенной индукции [4]. Информативным методом мониторинга функционального состояния клеток крови птиц, участвующих в неспецифических защитных реакциях, и способом контроля при коррекции антиоксидантных систем

организма является хемилюминесцентный анализ клеток цельной крови перепелов [5, 6].

Актуальность исследования определяются отсутствием в доступной научной литературе данных о влиянии кормовых травяных добавок на основе растений *Urtica Dioica* L. и *Stellaria Media* L. на параметры генерации АФК клетками периферической крови птиц.

Цель работы. Изучение влияния травяной добавки на основе растений *Urtica Dioica* L. (крапивы двудомной) и *Stellaria Media* L. (звездчатки средней) в кормлении японских перепелов на параметры генерации активных форм кислорода клетками их цельной крови.

Задачи исследований: выявить изменения кислородного метаболизма клеток крови японских перепелов при использовании травяной кормовой добавки крапивы двудомной и звездчатки средней; оценить состояние системы неспецифической резистентности организма японских перепелов при добавлении в их корм травяной муки (крапива двудомная, звездчатка средняя).

Объекты и методы исследований. Эксперимент проведен в сентябре 2016 года в Федеральном исследовательском центре Красноярского научного центра СО РАН.

Объект изучения: перепела (*Coturnix japonica*) яйценоского направления породы

Японская, поступившие из фермерского хозяйства пос. Березовка Красноярского края. Формировали три группы 17-суточных перепелат по 10 голов в каждой. Длительность эксперимента составляла 7 недель до достижения периода максимальной яйценоскости птицы. Перепелов содержали в одноярусных клетках на 20 голов согласно установленным нормам [7].

Первая контрольная группа употребляла основной рацион (ОР), представленный комбикормом для перепелов, сбалансированным по основным питательным, минеральным и биологически активным веществам.

Две опытных группы дополнительно к основному рациону с 14-суточного возраста получали в корм травяную муку из растений *Urtica Dioica* L. и звездчатки средней *Stellaria Media* L. Во второй опытной группе использовали компонентную травяную добавку, содержащую к массе основного рациона 2 % травяной муки *Stellaria Media* L. и 1 % травяной муки *Urtica Dioica* L. (табл.). Включение в состав кормовых добавок на основе компонентной растительной муки является эффективной формой обогащения рациона птиц биологически активными веществами [3] и, возможно, оказывает синергический эффект в иммунорезистентности организма.

Схема опыта

Группа	Особенности кормления
	<i>I этап – кормление перепелов в возрастном периоде 17-70 дней</i>
I – контроль	ОР (полноценный комбикорм)
II – опыт 1	ОР + 3 % (к массе ОР) травяной муки <i>Urtica Dioica</i> L.
III – опыт 2	ОР + 2 % (к массе ОР) травяной муки <i>Stellaria Media</i> L. + 1 % (к массе ОР) травяной муки <i>Urtica Dioica</i> L.
	<i>II этап – определение параметров хемилюминесценции (I_{max}, S, T_{max}) крови перепелов в возрасте 70 дней в группах I, II, III</i>

Анализ функциональной активности клеток в цельной крови перепелов, контрольных и получавших кормовые добавки, выполнен на базе МНЦ исследований экстремальных состояний организма ФИЦ «Красноярский научный центр СО РАН». Исследовано 14 голов клинически здоровых птиц в трех группах в возрасте 70 дней. Материалом для исследований служила цельная гепаринизированная кровь, взятая у птицы из подкожной локтевой (крыловой) вены.

Функциональную активность клеток периферической крови перепелов, разведенной в 2 раза раствором Хенкса, при антигенной стимуляции *in vitro* оценивали по кинетике генерации АФК, регистрируемой микрометодом люминол- и люцигенинусиленной хемилюминесценции с использованием аппаратно-программного комплекса «Хемилюминометр CL-3604» – ПЭВМ (СКТБ «Наука») [2, 8]. Время записи хемилюминесцентной кривой составляло 90 минут при

температуре в регистрационной камере +42°C. Реакционная смесь регистрационной кюветы состояла из 200 мкл $2,2 \times 10^{-4}$ М люминола (Sigma) в растворе Хенкса (pH 7,2) или люцигенина ("Sigma-Aldrich", Switzerland) 10^{-4} М на растворе Хенкса при pH=7,4, 100 мкл разведенной крови перепелов, 50 мкл суспензии монодисперсных частиц латекса (ВНИИСК, С-Петербург) (5×10^8 част./мл), опсонизированных белками пуловой сыворотки крови кур. Хемилюминесцентные зонды люцигенин и люминол обладают выраженной селективностью в отношении первичных (O_2^-) и вторичных (OH^- , $HOCl$, H_2O_2 , липоперекисных) кислородных радикалов соответственно [4]. О кинетике генерации АФК в системе клеток цельной крови перепелов при антигенной активации *in vitro* (активированная) или без нее (спонтанная) судили по параметрам хемилюминесцентной кривой, принимая во внимание наиболее информативные: амплитуду максимальной интенсивности хемилюминесцентной реакции (I_{max} – имп./с), время достижения максимума (T_{max} – мин) и площадь под кривой хемилюминесценции (S – имп. за 90 мин), определяющей общее количество АФК, генерируемых клетками за время записи хемилюминесцентной кривой, а

также индекс активации ($IA = S_{акт.} / S_{спонт.}$, усл. ед.) как отношение интегральных светосумм индуцированной и спонтанной ХЛ. Результаты исследований обработаны статистически с использованием критерия Стьюдента [9]. Различия считали достоверными при $p < 0,05$.

Результаты исследований. Известно, что травяная мука из крапивы двудомной содержит витамины, каротиноиды и флавоноиды, обладающие антиоксидантным действием [1,3]. Микроэлементный состав (магний, железо, медь, калий, барий, кальций, кремний, марганец и др.) может способствовать проявлению прооксидантных свойств. Поступление в организм пищи, обогащенной этими компонентами, оказывает корректирующее действие на функционирование про- и антиоксидантных систем организма, в том числе и крови [10, 11].

Анализ хемилюминесцентной кинетики генерации АФК выявил рост максимальной интенсивности продукции люцигенинзависимых АФК клетками крови японских перепелов при использовании в кормлении птиц травяной муки из растений крапивы двудомной (*Urtica Dioica* L.) и звездчатки средней (*Stellaria Media* L.) (рис. 1).

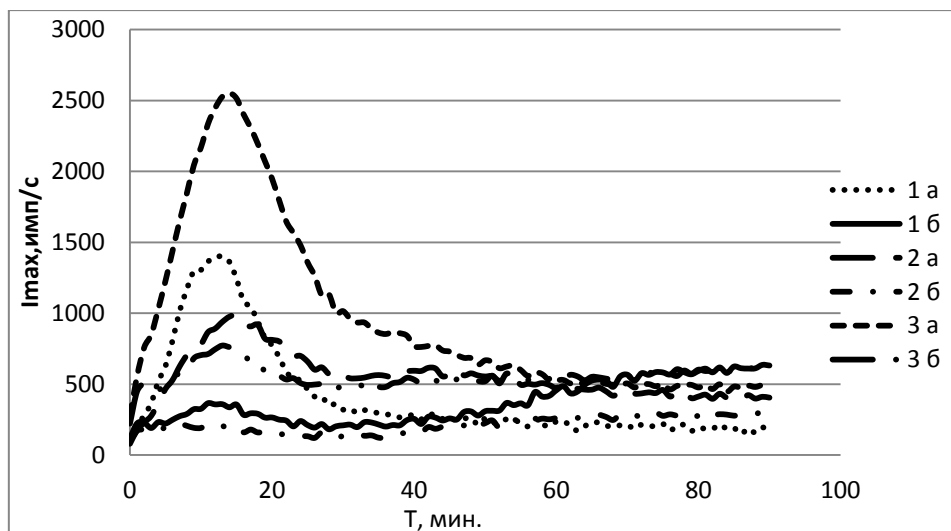


Рис. 1. Кинетика антигениндуцированной (а) и спонтанной (б) генерации люцигенинзависимых АФК клетками крови японских перепелов при обычном рационе кормления (1) и при добавлении в него муки из *Urtica Dioica* L. (2) или смеси из *Urtica Dioica* L. и *Stellaria Media* L. (3)

В сравнении с контролем в опыте 2 снизилась максимальная интенсивность продукции

люминолзависимых АФК на 8,9 % и повысилась люцигенинзависимых АФК на 83,5 % (рис. 2).

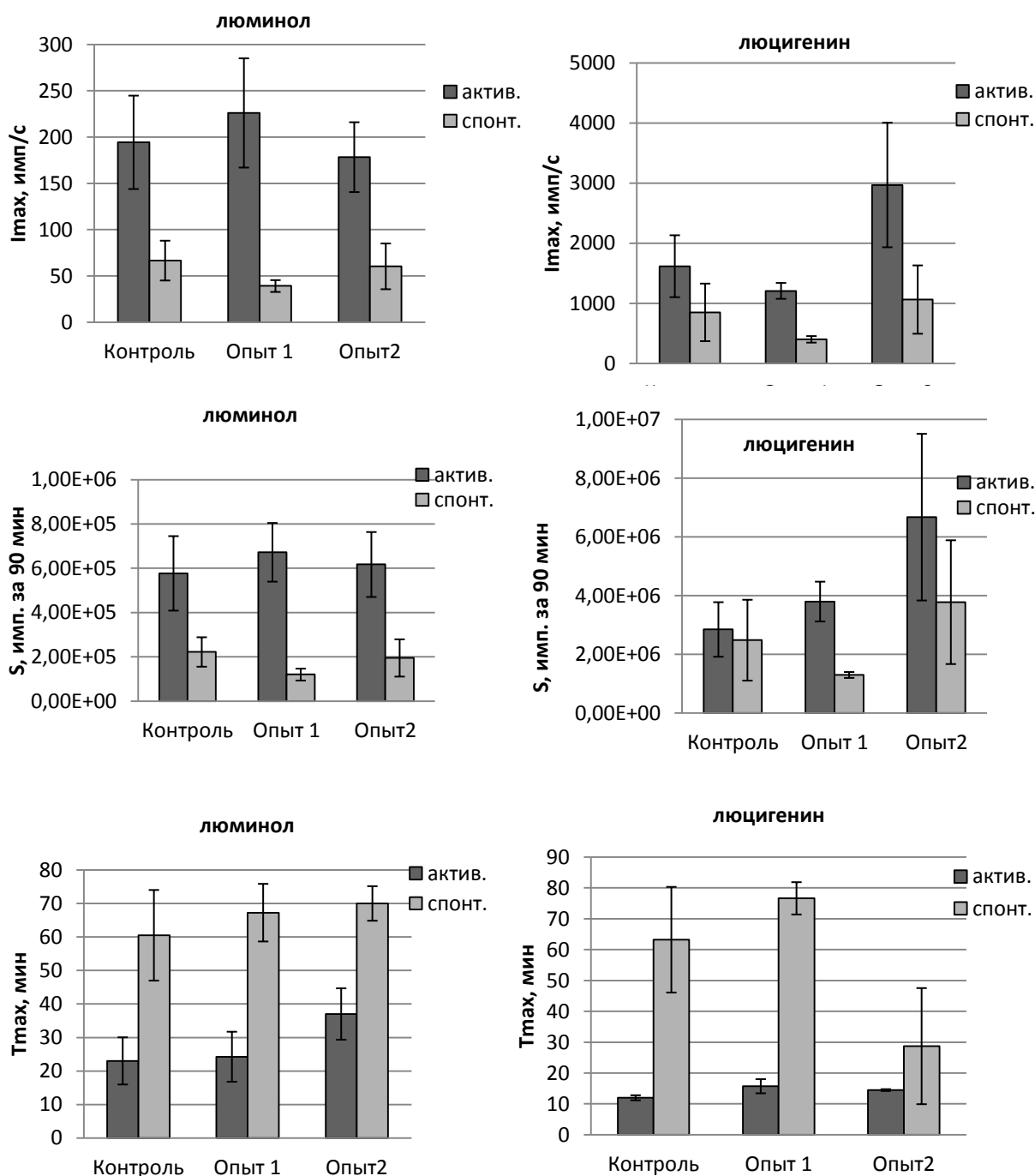


Рис. 2. Параметры хемилюминесцентной кинетики спонтанной и активированной *in vitro* генерации АФК клетками цельной крови японских перепелов

Показатели максимальной интенсивности спонтанной продукции АФК в опыте 1 ниже, чем в контроле: для люминолзависимых АФК – в 1,7 раза, для люцигенинзависимых АФК – в 2,1 раза. Суммарный объем генерации люминолзависимых АФК увеличивается на 16,5 % в опыте 1 и на 6,92 % в опыте 2, а люцигенинзависимых АФК увеличивается в 1,3 раза в опыте 1 и в 2,3 раза в опыте 2. Время выхода на максимум ин-

дуцированной продукции люминолзависимых АФК увеличилось незначительно в опыте 1 и в 1,6 раза в опыте 2, а люцигенинзависимых АФК увеличилось в опыте 1 на 31,3 % и опыте 2 – на 20,8 %. Полученные результаты указывают на повышение функциональной активности клеток цельной крови японских перепелов при использовании как кормовой травяной добавки на основе *Urtica Dioica* L., так и компонентной расти-

тельной муки из *Urtica Dioica* L. и *Stellaria Media* L.

Индекс активации, который отражает потенциальные возможности клеток крови японских перепелов к генерации свободных форм кисло-

рода в ответ на антигенную стимуляцию *in vitro* [12], люминолзависимых АФК повысился в 2,15 раза в опыте 1, в 1,22 раза – в опыте 2, люцигенинзависимых АФК в опыте 1 повысился в 2,54 раза, в опыте 2 – в 1,54 раза (рис. 3).

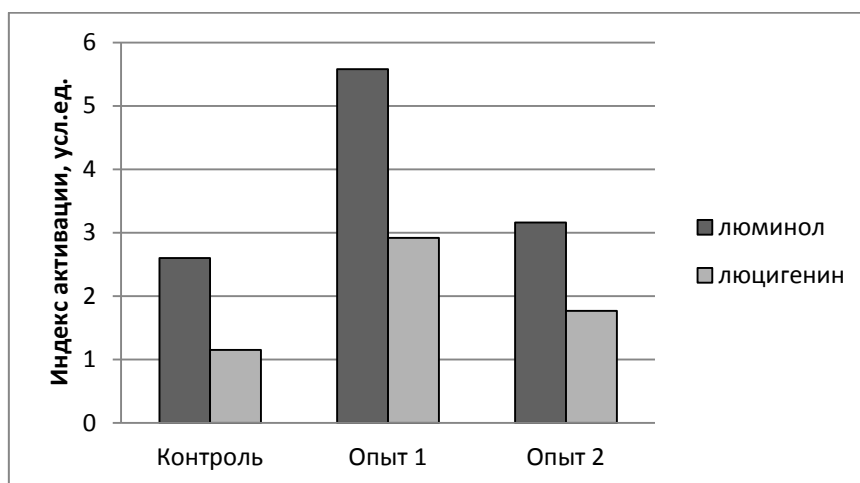


Рис. 3. Влияние травяной добавки *Urtica Dioica* L. и *Stellaria Media* L. на индекс активации продукции АФК клетками цельной крови перепелов

Полученные данные свидетельствуют о повышении потенциальных возможностей клеток крови к генерации как первичных, так и вторичных АФК при использовании в кормлении японских перепелов в большей степени 3 % травяной муки на основе *Urtica Dioica* L.

Выводы

1. Использование в кормлении японских перепелов травяной муки из крапивы двудомной (*Urtica Dioica* L.) и звездчатки средней (*Stellaria Media* L.) вызывает изменение кислородного метаболизма клеток крови: снижает объемы спонтанной продукции АФК и стимулирует объемы индуцированной *in vitro* продукции АФК, что указывает на повышение функциональной активности клеток крови.

2. Травяные добавки на основе растений *Urtica Dioica* L. и *Stellaria Media* L. влияют на реактивность системы неспецифической резистентности организма японских перепелов, повышая потенциальные возможности клеток к генерации активных форм кислорода.

Литература

1. Алиева С.М., Ахмедханова Р.Р., Астарханова Т.С. Применение в комбикормах цыплят-бройлеров местных кормовых средств натурального происхождения // Научный журнал КубГАУ. – 2016. – №117(03). – С. 1314–1325.
2. Ибрагимов Ш.С., Алиева С.М., Ахмедханова Р.Р. Использование муки из крапивы двудомной в кормлении цыплят-бройлеров // Сб. науч. тр. Ставропол. науч.-исследоват. ин-та животноводства и кормопроизводства. – 2013. – Т. 3. – № 6. – С. 143–145.
3. Игнатович Л.С. Кормовые добавки из растительного сырья // Птицеводство. – 2015. – № 5. – С. 23–25.
4. Владимиров Ю.А. Свободные радикалы в биологических системах // Соросовский образовательный журнал. – 2000. – Т. 6. – № 12. – С. 13–14.
5. Макарская Г.В., Тарских С.В., Турицына Е.Г. Люминол- и люцигенинзависимая хемилюминесценция клеток крови кур в постнатальном онтогенезе // Докл. РАСХН. – 2011. – № 3. – С. 46–48.

6. Турицына Е.Г., Макарская Г.В., Тарских С.В. [и др.]. Динамика параметров хемилюминесценции клеток органов иммуногенеза цыплят раннего возраста // Вестник КрасГАУ. – 2013. – № 9. – С. 171–175.
7. Костюнина В.Ф. Зоогиена с основами ветеринарии и санитарии. – М.: Агропромиздат, 1991. – 480 с.
8. Земсков В.М. Изучение функционального состояния фагоцитов человека (кислородный метаболизм и подвижность клеток): метод. рекомендации – М.: Изд-во Ин-та иммунологии МЗ СССР, 1988. – 20 с.
9. Лакин Г.Ф. Биометрия: учеб. для вузов. – 4-е изд. – М.: Высш. шк., 1990. – 352 с.
10. Лесовская М.И. Влияние фитоэкстрактов на кинетику продукции свободных радикалов в крови человека *in vitro* // Фундаментальные исследования. – 2015. – № 2. – С. 1211–1215.
11. Рыжикова М.А., Фархутдинов Р.Р., Сибиряк С.В. [и др.]. Влияние водных извлечений из лекарственных растений на процессы свободнорадикального окисления // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 1999. – Т. 62, № 2. – С. 36–38.
12. Турицына Е.Г., Макарская Г.В., Тарских С.В. Влияние антигенных стимуляций вирусвакцинами на параметры хемилюминесценции клеток цельной крови кур // Вестник КрасГАУ. – 2011. – № 1. – С. 132–136.
3. Ignatovich L.S. Kormovye dobavki iz rastitel'nogo syr'ja // Pticevodstvo. – 2015. – № 5. – С. 23–25.
4. Vladimirov Ju.A. Svobodnye radikaly v biologicheskikh sistemah // Sorosovskij obrazovatel'nyj zhurnal. – 2000. – Т. 6. – № 12. – С. 13–14.
5. Makarskaja G.V., Tarskih S.V., Turicyna E.G. Ljuminol- i ljucigeninzavisimaja hemiljuminescencija kletok krovi kur v postnatal'nom ontogeneze // Dokl. RASHN. – 2011. – № 3. – С. 46–48.
6. Turicyna E.G., Makarskaja G.V., Tarskih S.V. [i dr.]. Dinamika parametrov hemiljuminescencii kletok organov immunogeneza cypljat rannego vozrasta // Vestnik KrasGAU. – 2013. – № 9. – С. 171–175.
7. Kostjunina V.F. Zoogigiena s osnovami veterinarii i sanitarii. – М.: Агропромиздат, 1991. – 480 с.
8. Zemskov V.M. Izuchenie funkcional'nogo sostojanija fagocitov cheloveka (kislородnyj metabolizm i podvizhnost' kletok): metod. rekomendacii – М.: Izd-vo In-ta immunologii MZ SSSR, 1988. – 20 с.
9. Lakin G.F. Biometrija: ucheb. dlja vuzov. – 4-е изд. – М.: Vyssh. shk., 1990. – 352 с.
10. Lesovskaja M.I. Vlijanie fitoekstraktov na kinetiku produkcii svobodnyh radikalov v krovi cheloveka *in vitro* // Fundamental'nye issledovanija. – 2015. – № 2. – С. 1211–1215.
11. Ryzhikova M.A., Farhutdinov R.R., Sibirjak S.V. [i dr.]. Vlijanie vodnyh izvlechenij iz lekarstvennyh rastenij na processy svobodno-radikal'nogo okislenija // Eksperimental'naja i klinicheskaja farmakologija. – 1999. – Т. 62, № 2. – С. 36–38.
12. Turicyna E.G., Makarskaja G.V., Tarskih S.V. Vlijanie antigennyh stimuljacij virusvakcinami na parametry hemiljuminescencii kletok cel'noj krovi kur // Vestnik KrasGAU. – 2011. – № 1. – С. 132–136.

Literatura

1. Alieva S.M., Ahmedhanova R.R., Astarhanova T.S. Primenenie v kombikormah cypljat-brojlerov mestnyh kormovyh sredstv natural'nogo proishozhdenija // Nauchnyj zhurnal KubGAU. – 2016. – №117(03). – С. 1314–1325.
2. Ibragimov Sh.S., Alieva S.M., Ahmedhanova R.R. Ispol'zovanie muki iz krapivy dvudomnoj v kormlenii cypljat-brojlerov // Sb. nauch. tr. Stavropol. nauch.-issledovat. in-ta zhivotnovodstva i kormoproizvodstva. – 2013. – Т. 3. – № 6. – С. 143–145.