

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ПОДХОДЫ К ДИАГНОСТИКЕ СТРЕССОВ В ПТИЦЕВОДСТВЕ (обзор)

А.В. МИФТАХУТДИНОВ

Обобщены данные литературы о методах диагностики стрессов у кур в лабораторных и производственных условиях. В настоящее время разработаны многочисленные методы, позволяющие диагностировать состояние адаптационных механизмов и индивидуальной стрессовой чувствительности у кур. В то же время следует отметить, что использование тех из предложенных подходов, которые основаны на определении биохимических маркеров стресса в крови, в производственных условиях представляет собой непростую задачу из-за необходимости применять специальное оборудование, привлекать высококвалифицированный персонал, а также вследствие неоднозначной интерпретации результатов. Весьма информативным и менее сложным приемом при диагностике стрессового состояния у кур может быть изучение количественного соотношения гетерофилов и лимфоцитов в крови. Высокую диагностическую ценность в случае хронических стрессов имеют показатели общего оперения. В дополнение к ним целесообразно учитывать концентрацию стрессовых гормонов в крови и время тонической неподвижности кур. Однако и в этих случаях процедуры, которым подвергается птица, сами по себе служат факторами стресса, тогда как одно из важнейших условий достоверности результатов при его диагностике — минимальное воздействие на объект исследования. Для этих целей нами разработан способ, позволяющий диагностировать состояние стресса у кур родительского стада мясного направления продуктивности с помощью определения кортикостерона в пробах помета. Предлагаемый способ может быть использован при оценке целесообразности применения схем антистрессовой терапии, для определения оптимальной плотности комплектования производственных площадей, для анализа степени воздействия на организм кур технологических факторов и ветеринарных обработок.

Ключевые слова: стресс, куры, диагностика стрессов.

Стрессы относятся к актуальным проблемам птицеводства (1). В соответствии со сложившейся концепцией, стрессоры через нервную и эндокринную систему вызывают морфологические и функциональные изменения в органах и тканях, а также усиленный синтез и секрецию гормонов адаптации, усиливающих резистентность организма к воздействию негативных факторов внешней среды и способствующих восстановлению произошедших в нем обратимых нарушений (2-4).

Стрессы начинаются еще с инкубатора: ранняя выборка или задержка цыплят в инкубаторе — это сильный стресс, способный существенно снизить будущую продуктивность птицы (5). Различные стрессы могут нарушить процесс созревания тонкого кишечника в первые несколько суток жизни цыпленка (6, 7), выраженное стрессовое воздействие оказывают вакцинация в инкубатории, транспортировка цыплят в корпуса, посадка при отсутствии выровненной подстилки, оптимальной температуры и вентиляции (5). В дальнейшем добавляются кормовые стрессы, связанные не только с переходом цыпленка от желткового питания к сухому корму, отличающемуся по составу от желтка, но и с несбалансированностью рациона по питательным и биологически активным веществам. В процессе роста и развития неизбежны технологические стрессы, связанные с вакцинациями, в летние месяцы особую роль играют тепловые стрессы, наличие микотоксинов в кормах — один из основных кормовых стрессов (8, 9). В технологии производства пищевого и инкубационного яйца важнейшим стрессом сопровождается выход птицы на пик яйценоскости (10). Одна из главных проблем, связанных со стрессами, — повышенная потребность в питательных и биологически активных веществах, необходимых для борьбы со стрессами, в то время как их поступ-

ление с кормом уменьшается, поскольку в таком состоянии птица хуже поедает корм (1, 11, 12).

Методы диагностика стрессов птицы важны для решения как теоретических, так и практических задач. К основным из них относится изучение стрессов у кур в условиях промышленных технологий и в лабораторных физиологических опытах, а также оценка степени влияния внешних факторов на физиологическое состояние птицы. К числу практических задач можно отнести контроль за физиологическим состоянием птицы при разработке новых методов профилактики стрессов, при создании и выборе оптимальных систем содержания и кормления (13, 14).

В настоящее время единый подход к диагностике стрессов в птицеводстве отсутствует (15). Предлагаемые методы имеют свои преимущества и недостатки, что требует от исследователя очень осторожного выбора маркеров стресса (16). При использовании любого подхода к изучению стрессов и стрессовой чувствительности организма необходимо в обязательном порядке учитывать возраст птицы. По данным В.И. Фисинина с соавт. (13), адаптационно-компенсаторные механизмы у цыплят в процессе роста и развития претерпевают фазовые изменения. Первая фаза (высокая чувствительность) отмечается у цыплят в раннем возрасте (от 1 до 90 сут), в возрасте 90-120 сут наступает вторая фаза (относительная резистентность) и третья фаза (повторное повышение чувствительности) начинается у цыплят со 140-суточного возраста (13).

К общим показателям стресса, не имеющим количественного выражения, можно отнести атрофию тимуса и бурсы у молодой птицы, увеличение массы передней доли гипофиза и надпочечников, истощение холестерина в надпочечниках, повышение концентрации кортикостерона, инсулина и глюкагона в плазме крови, усиленный расход глюкозы, снижение приростов живой массы и атрофию мышц, выделение в кровь маркеров острых воспалительных процессов, цитокинов, нарушение роста хрящей и костей, анорексию, повышенную температуру тела. Избыточное отложение жира в брюшной полости и асцит считают маркерными признаками стресса при интенсивном откорме цыплят-бройлеров (17).

Продуктивность кур не всегда служит объективным критерием наличия стресса, так как компенсаторные механизмы организма позволяют некоторое время поддерживать гомеостаз, сохраняя определенное состояние здоровья и продуктивности, но по мере истощения резервов адаптационных систем наблюдается снижение реактивности и резистентности и в результате продуктивность резко падает, развиваются болезни и происходит массовая гибель кур. Высокая смертность может быть важным признаком острых и хронических стрессов в птицеводстве (18).

Убедительно доказана эффективность метода, основанного на изучении гормонального статуса, морфологических показателей крови, базовых биохимических констант организма и показателей резистентности для определения стрессового состояния кур, и использования описанного подхода для определения воздействия технологических факторов на организм птиц, а также соответствия технологических параметров физиологическим потребностям кур (2, 13, 14, 19-21).

Среди способов определения количественных показателей стрессового состояния у кур можно выделить прямые, которые основаны на оценке содержания стрессовых гормонов в крови. Известны многочисленные исследования, доказывающие эффективность непосредственного измерения количества основных гормонов в системе гипоталамус—гипо-

физ—надпочечники, а также их метаболитов. При интерпретации результатов подобных анализов необходимо учитывать, что количество гормонов зависит от природы и силы раздражителя, длительности его воздействия, возраста и генотипа птицы (2).

По данным В.И. Фисинина и Н.А. Кравченко (14), у взрослых кур содержание катехоламинов в надпочечниках и крови и кортикостероидов в крови менее подвержено изменениям при действии раздражителей, чем у цыплят. Указанный факт объясняется тем, что у взрослой птицы при адаптации к новым условиям отмечается меньший расход катехоламинов и кортикостероидов, описанное явление не связано с истощением адреноренальных структур и может быть следствием изменения чувствительности рецепторов. При этом важное значение имеет исходное состояние нейроэндокринной системы, которое необходимо учитывать при анализе регистрируемых данных (14).

Попытки диагностировать стресс посредством определения количества адренкортикотропного гормона (АКТГ) в крови не нашли широкого практического применения, и этот прием используется только в комплексных лабораторных исследованиях (22).

Определение дофамина в крови — ценный метод диагностики стрессов и стрессовой чувствительности (23, 24). В мозге птиц, проявляющих агрессию, обнаружено более высокое содержание дофамина, чем у особей, не склонных к дивергентному поведению (25).

Анализ содержания адреналина и норадреналина в крови в птицеводстве используется для выявления острых технологических стрессов, вызванных факторами, которые характеризуются внезапностью и вызывают высокую смертность, а также при диагностике причин каннибализма (26, 27). Концентрация адреналина в сыворотке крови используется в качестве селекционного признака при создании линий птицы с высокой и низкой индуцибельностью этого гормона, определяющей разную чувствительность к стрессам (28).

Изменение содержания катехоламинов и эстрогенов в тканях надпочечников у кур зависит от возраста, периода роста, развития и физиологического состояния и имеет важное прогностическое значение при определении оптимальных технологических параметров для выращивания и содержания птицы, а также совершенствовании норм питательных и биологически активных веществ, обеспечивающих потребности молодняка и кур-несушек. В.И. Фисининым и Н.А. Кравченко (14) доказано, что существуют три основные фазы, когда содержание катехоламинов в надпочечниках подвержено изменениям. Первая совпадает с периодом общего роста и развития организма, для нее характерен компенсаторный синтез катехоламинов, при этом содержание адреналина выше, чем норадреналина. Во вторую фазу количество гормонов в надпочечниках снижается в результате усиления секреции адреналина. Соотношение между адреналином и норадреналином выравнивается. Вторая фаза характерна для периода подготовки и начала яйцекладки у птицы. В третью фазу у взрослых кур основным гормоном в надпочечниках становится норадреналин (14). Указанные физиологические особенности активации адренергической системы организма должны обязательно учитываться при изучении стрессов и стрессовой чувствительности кур в условиях промышленного содержания.

Серотонин в организме кур выполняет разнообразные физиологические функции и влияет на адаптацию к факторам социальной среды, сексуальное поведение, эмоции и воспроизводство. Определение в крови

и мозге метаболитов серотонина, в основном 5-гидроксииндолуксусной кислоты, используется для анализа различных генетических линий по степени агрессии и склонности к дивергентному поведению (29, 30).

Определение в крови глюкокортикоидных гормонов — общепризнанный метод подтверждения активации стресс-реализующих механизмов организма. В.И. Фисининым (21) изучен гидрокортизон в качестве маркера стрессового состояния у кур. По данным многочисленных исследователей, кортикостерон относится к наиболее часто анализируемым гормонам при диагностике стрессового состояния кур, поскольку это основной глюкокортикоидный гормон у птицы (31–34). При определении глюкокортикоидных гормонов у молодняка кур для оценки активации стресс-реализующих механизмов необходимо учитывать, что чем старше особи, подвергшиеся воздействию стресс-фактора, тем менее выражено изменение количества глюкокортикоидов в крови. Эти различия, по-видимому, можно рассматривать как результат постепенно прогрессирующих физиолого-биохимических изменений гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы, обуславливающих более быстрое возвращение содержания глюкокортикоидных гормонов к норме (2).

К главным проблемам при диагностике стрессов на основе определения концентрации стрессовых гормонов в крови относится активация стресс-реализующих механизмов при отборе проб крови, что ведет к искажению результатов и не позволяет получать достоверные данные. J. Rushen (35) и P. Moneva с соавт. (36) указывают на неоднозначность интерпретации получаемых результатов и отсутствие широкой нормативной базы для сопоставления данных при определении стрессовых гормонов в крови.

Наши исследования нескольких групп признаков, имеющих маркерное значение при стрессах, выполненные с использованием дискриминантного анализа, показали, что концентрация адреналина и кортикостерона у кур в состоянии относительного покоя и после активации стресс-реализующих механизмов может быть использована лишь в качестве уточняющего показателя при изучении стрессов и стрессовой чувствительности (37). С целью исключения дополнительного стрессирования кур при отборе крови и получения наиболее объективных данных рекомендуется применять катетеризацию крупных кровеносных сосудов — подкрыльцовую вену, плечевой вены или артерии (36, 38, 39).

Различные модификации метода определения стрессовых гормонов в крови широко используются в экспериментальных исследованиях, но в условиях промышленного производства их применение затруднено из-за трудоемкости определения, сложности интерпретации результатов и активации стресс-реализующих адаптационных механизмов организма вследствие производимых манипуляций и болезненности процедуры отбора крови для птицы (22, 40).

При изучении стресса и стрессовой чувствительности у кур широко используется один из косвенных физиологических тестов — динамика соотношения между гетерофилами и лимфоцитами (Г/Л) в периферической крови. Установлено, что при развитии состояния стресса этот показатель увеличивается за счет abortивного выброса незрелых клеток гетерофилов из костного мозга в кровяное русло и миграции лимфоцитов из последнего в ткани. Изменения величины соотношения Г/Л коррелируют со сдвигом концентрации кортикостерона в крови птицы и пропорциональны степени действия стресс-факторов различной природы (16, 35, 41, 42). Соотношение Г/Л может характеризовать три уровня физиологического со-

стояния кур: низкий соответствует значению 0,2, средний — значению 0,5 и высокий — может быть более 0,8 (41). К недостаткам такого метода следует отнести то, что при воздействии сверхпороговых раздражителей соотношение Г/Л не всегда изменяется адекватно физиологическому состоянию птицы, поэтому не может приниматься за точный показатель стрессового воздействия (36, 43, 44). Кроме того, подсчет форменных элементов в мазках крови птицы — процесс весьма трудоемкий и требующий высокой квалификации персонала. J. Post с соавт. (45) указывают на возможность использования и точность автоматических гематологических анализаторов при подсчете соотношения Г/Л.

В качестве уточняющих показателей при диагностике стрессового состояния кур применяют определение числа эозинофилов и моноцитов в мазках крови. В исследованиях В.И. Фисинина с соавт. (19), а также М.Н. Maxwell и G.M. Robertson (46) описана эозинопения, сопутствующая стрессовой реакции у кур, при этом количество эозинофилов в органах и тканях увеличивается, указывая на то, что эозинофилы в период развития стресса покидают сосудистое русло. По данным О. Altan с соавт. (47), снижение числа моноцитов и эозинофилов свидетельствует об остром стрессе, однако этот механизм реализуется не всегда и не может надежно маркировать стресс (46).

Известен прием диагностики стресса по миграционной активности лейкоцитов периферической крови на основе капиллярного метода в модификации Ю.И. Забудского с соавт. (48). По мнению авторов, этот подход имеет ряд преимуществ по сравнению с определением соотношения Г/Л. Способ менее трудоемкий, так как не предполагается применять иммерсионную микроскопию, и более доступный для персонала ветеринарных лабораторий птицефабрик, владеющего навыками постановки серологических реакций. Недостаток описанного подхода в том, что отбор крови представляет собой дополнительное стрессовое воздействие, влияющее на результаты анализа (48).

В исследованиях В.И. Фисинина с соавт. (19) обоснована диагностическая ценность реакции оседания эритроцитов при определении стрессового состояния у кур. В период развития стрессов этот показатель может увеличиваться в несколько раз (19).

К последствиям стрессов относится угнетение неспецифической резистентности и иммунной системы. В работах В.И. Фисинина с соавт. (19) в качестве маркера стресса использован титр лизоцима, коррелирующий с количеством цитокинов и глюкокортикоидных гормонов. Известно, что цитокины играют важную роль во взаимодействии иммунной и эндокринной системы при реализации стрессов в организме (49). Ключевым цитокином, стимулирующим стрессовые реакции, считается ИЛ-1 β , секретируемый активированными макрофагами, эндотелиоцитами, кератиноцитами и др. ИЛ-1 β действует на нейтрофилы, способствуя хемотаксису, активации метаболизма, выходу из клеток лизоцима и лактоферрина. Главным механизмом ИЛ-1 β -зависимой индукции стресса служит активация синтеза и секреции кортикотропин-рилизинг-фактора из нервных окончаний (20). S.-Y. Kang с соавт. (50) обнаружили эффекты стресса, выразившиеся в усилении экспрессии проинфламаторных цитокинов в печени и селезенке птицы, на основе чего разрабатываются соответствующие диагностикумы.

Состояние страха — одно из проявлений стресса у кур, при этом физиологическим индикатором страха, в свою очередь, служит время то-

нической неподвижности (51). Тоническая неподвижность мало изучена и проявляется в сниженной реактивности на внешние воздействия при принудительной фиксации. Продолжительность тонической неподвижности связана с агрессивным поведением, расклевом и каннибализмом кур в условиях промышленного содержания. Она может быть критерием хронических стрессов, индивидуальной стрессовой чувствительности и склонности к агрессивному поведению (51-54).

К признакам стресса у кур также относится потеря перьевого покрова. В частности, по степени потери пера судят о стрессовом состоянии птицы в период пика продуктивности. Потеря пера связана с расклевом и каннибализмом, а также с увеличением количества кортикостерона в крови (3, 37, 55, 56). Наиболее совершенные методы позволяют комплексно оценивать состояние оперения на основании подсчета перьев на различных участках тела с представлением результатов в баллах (57).

В настоящее время проходит апробацию прием диагностики стрессов, основанной на выявлении белков острой фазы воспаления. Перспективным маркером для этих целей представляется кислый α_1 -гликопротеин (орозомукоид) (58, 59).

Принципиально новый подход к диагностике и профилактике стрессов предлагают В.И. Фисинин и П. Сурай (10). Согласно их данным, устойчивость к стрессам и коррекция повреждений на молекулярном уровне зависят от функциональной активности витагенов, играющих важнейшую роль в обеспечении адаптационной способности организма. Влияя на метаболизм, они участвуют в восстановлении нарушенного при стрессе гомеостаза и, как следствие, здоровья и продуктивности птицы. Витагены контролируют экспрессию антиоксидантных ферментов супероксиддисмутазы и глутатионпероксидазы, белков теплового шока (шаперонов), сиртуинов (семейство ферментов, которые оказывают защитное действие в условиях стресса, предупреждая повреждения, вызываемые свободными радикалами), ферментов второй фазы детоксикации чужеродных веществ, а также факторов роста и белков, вовлеченных в регуляцию процессов энергетического обмена и поддержания клеточного гомеостаза кальция (10). При слабом стрессе образование свободных радикалов в клетке находится под контролем антиоксидантной системы и частота повреждений ДНК такова, что позволяет сиртуинам успешно осуществлять как репарационную, так и регуляторную функцию. С усилением стресса количество образующихся свободных радикалов увеличивается из-за прогрессирующего повреждения митохондрий, в которых происходят процессы клеточного дыхания, и репарационная функция сиртуинов становится преобладающей. Как следствие, в клетке нарушается метаболический баланс, что негативно влияет на рост, развитие, продуктивные и репродуктивные качества животных и птицы (4). Диагностическая ценность данных о перекисном окислении липидов при стрессе в настоящее время доказана, в то время как комплексное исследование продуктов перекисного окисления, шаперонов и сиртуинов при активации стресс-реализующих механизмов открывает новые, пока что мало изученные возможности для выявления и профилактики стрессов в птицеводстве.

Для того чтобы полностью исключить внешнее воздействие при диагностике стрессов и стрессовой чувствительности у птицы, разработаны неинвазивные методы определения гормонов в биологических пробах. Так, J. Downing (60) указывает на возможность использовать химический анализ яйца при диагностике стрессов. Как известно, в яйце накапливаются

стероидные гормоны (60, 61), причем, по данным F. Rojo с соавт. (62), приблизительно 80 % кортикостерона находится в желтке и 20 % — в белке. Однако определение стрессового состояния и стрессовой чувствительности кур по содержанию кортикостерона в яйце пока что не нашло практического применения: однозначная интерпретация результатов такого исследования затруднена, кроме того, время, когда метод может применяться, ограничено сроком формирования яйца. Для диагностики стрессов млекопитающих широко используется выявление глюкокортикоидных гормонов в фекалиях (63). В настоящее время разрабатываются способы оценки стрессового состояния у кур, основанные на определении количества глюкокортикоидов и их метаболитов методами радиоиммунологического анализа, масс-спектрометрии и газожидкостной хроматографии (64). Подобные подходы могут успешно использоваться в лабораторных экспериментах, однако в условиях птицефабрик они технически недоступны и очень дороги для планового производственного применения.

Нами был разработан метод, позволяющий без непосредственного воздействия на особей диагностировать стрессовое состояние у кур родительского стада мясного направления продуктивности, используя кортикостерон в качестве специфического маркера стрессовой реакции (65). Способ основан на количественном определении кортикостерона в пробах помета, отобранных через 1-3 ч после воздействия фактора, предположительно вызывающего стресс. Содержание гормона оценивали после экстракции этиловым спиртом, применяя твердофазный конкурентный иммуоферментный анализ, который доступен для лабораторий на большинстве российских птицефабрик. Этот прием высокоспецифичен в отношении кортикостерона (100 %) при незначительной перекрестной реакции с прогестероном (7,4 %), диоксикортикостероном (3,4 %), 11-дегидрокортикостероном (1,6 %) и другими стероидами (менее 0,3 %). Иммуоферментный анализ кортикостерона характеризуется высокой чувствительностью при широком диапазоне определения (от 0 до 240 нмоль/л). Кортикостерон, как и другие стероиды, устойчив во внешней среде и хорошо растворим в органических растворителях. Содержание кортикостерона в помете более 50 нмоль/л (65) указывает на активацию гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы и служит индикатором стрессового состояния у кур мясного направления продуктивности. Таким образом, предложенный нами метод специфичен, высокочувствителен и полностью исключает воздействие на исследуемый объект, то есть соответствует одному из важнейших условий достоверной диагностики стрессов. Он может использоваться при оценке целесообразности применения схем антистрессовой терапии, для определения оптимальной плотности комплектования птицей производственных площадей, с целью анализа степени воздействия технологических факторов и ветеринарных обработок на организм кур.

Итак, в настоящее время разработаны многочисленные методы, позволяющие диагностировать состояние адаптационных механизмов и индивидуальной стрессовой чувствительности у кур. В то же время следует отметить, что использование тех из предложенных подходов, которые основаны на определении биохимических маркеров стресса в крови, в производственных условиях представляет собой непростую задачу из-за необходимости применять специальное оборудование, привлекать высококвалифицированный персонал, а также вследствие неоднозначной интерпретации результатов. Весьма информативным и менее сложным приемом при диагностике стрессового состояния у кур может быть изучение количест-

венного соотношения гетерофилов и лимфоцитов в крови. Высокую диагностическую ценность в случае хронических стрессов имеют показатели общего оперения. В дополнение к ним целесообразно учитывать концентрацию стрессовых гормонов в крови и время тонической неподвижности кур. Однако и в этих случаях процедуры, которым подвергается птица, сами по себе служат факторами стресса, тогда как одно из важнейших условий достоверности результатов при его диагностике — минимальное воздействие на объект исследования. Нами разработан неинвазивный способ, позволяющий выявлять состояние стресса у кур родительского стада мясного направления продуктивности по содержанию кортикостерона в пробах помета. Этот метод может использоваться при оценке целесообразности применения схем антистрессовой терапии, для определения оптимальной плотности комплектования птицей производственных площадей, а также с целью анализа степени воздействия технологических факторов и ветеринарных обработок на организм кур.

ФГБОУ ВПО Уральская государственная
академия ветеринарной медицины,
457100 Россия, Челябинская обл., г. Троицк, ул. Гагарина, 13,
e-mail: nirugavm@mail.ru

Поступила в редакцию
3 октября 2012

Sel'skokhozyaistvennaya biologiya [Agricultural Biology], 2014, № 2, pp. 20-30

EXPERIMENTAL APPROACHES TO STRESS DIAGNOSTICS IN POULTRY (review)

A.V. Miftakhutdinov

Ural State Academy of Veterinary Medicine, 13, ul. Gagarina, Troitsk, Chelyabinsk Province, 457100
Russia,
e-mail nirugavm@mail.ru
Received October 3, 2012

doi: 10.15389/agrobiol.2014.2.20eng

Abstract

Special data concerning stresses in poultry and their diagnostics in the laboratories and at the commercial farms are summarized. To estimate the adaptation mechanisms and individual stress resistance in chickens, different procedures have been reported till now. But the methods in which the blood biochemical stress markers must be analyzed are hard to use at commercial farms so far as special equipment and qualified personnel are required. Besides, the biochemical data from these tests are not reliable and accurate. Calculation of the blood heterophils to lymphocytes ratio is considered as easier and more informative, and the feathering is referred as the highly valuable indicator of chronic stresses, especially if combined with the stress hormones contents in blood and the time of tonic immobility of chickens. Nevertheless, to evaluate these parameters, a chicken should be subject to the manipulations which are the stressors itself, while only the minimal impact ensures a reliable stress indication. Because of that we improved the method which allows diagnosing stress in parent flocks of the meat chickens by corticosterone test in excrements. The method can be used to control anti-stress therapy, to optimize the chicken flock size and crowded conditions, and to analyze the impact of applied technologies and veterinary treatments in poultry.

Keywords: stress, hens, chickens, diagnostics of stresses.

REFERENCES

1. Fisinin V.I., Papazyan T., Surai P. *Ptitsevodstvo*, 2009, 8: 10-14.
2. Fisinin V.I., Kravchenko H.A. *Doklady VASKHNIL*, 1977, 7: 29-30.
3. Kavtarashvili A.Sh., Kolokol'nikova T.N. Physiology and productivity of poultry under stress (review). *Sel'skokhozyaistvennaya Biologiya [Agricultural Biology]*, 2010, 4: 25-37.
4. Surai P., Fisinin V.I. The modern anti-stress technologies in poultry: from antioxidants to vitagenes. *Sel'skokhozyaistvennaya Biologiya [Agricultural Biology]*, 2012, 4: 3-12.
5. Fisinin V.I., Surai P. *Ptitsa i ptitseprodukty*, 2012, 3: 38-41.
6. Fisinin V.I., Surai P. *Ptitsevodstvo*, 2012, 2: 11-15.
7. Fisinin V.I., Surai P. *Ptitsevodstvo*, 2012, 3: 9-12.
8. Fisinin V.I., Surai P. *Ptitsa i ptitseprodukty*, 2012, 4: 36-40.
9. Surai P., Fisinin V.I. *Materialy XVII Mezhdunarodnoi konferentsii VNAP «Innovatsionnye raz-*

- rabotki i ikh osvoenie v promyshlennom ptitsevodstve* [Proc. XVII Int. Conf. «Innovations and their use in commercial poultry]. Sergiev Posad, 2012: 24-34.
10. Fisinin V.I., Surai P. *Ptitsa i ptitseprodukty*, 2011, 5: 23-27.
 11. Fisinin V.I., Papazyan T.T., Surai P.F. *Zhivotnovodstvo segodnya*, 2009, 3: 62-67.
 12. Fisinin V.I., Papazyan T.T., Surai P.F. Selenium in poultry nutrition. In: *Current advances in selenium research and applications*. Taylor-Pickard, Wageningen Academic Publishers, The Netherlands, 2008: 221-261.
 13. Fisinin V.I., Mudryi I.N., Kravchenko N.A. *Doklady VASKHNIL*, 1975, 8: 26-29.
 14. Fisinin V.I., Kravchenko N.A. *Sel'skokhozyaistvennaya Biologiya [Agricultural Biology]*, 1979, XIV(2): 191-194.
 15. Dawkins M.S. Behavior as a tool in the assessment of animal welfare. *Zoology*, 2003, 106: 383-387.
 16. Zabudskii Yu.I. *Materialy Tre'tei mezhdunarodnoi irano-rossiiskoi konferentsii «Sel'skoe khozyaistvo i prirodnye resursy» [Proc. 3d Int. Conf. «Iran—Russia: Agriculture and natural resources»]*. Moscow, 2002: 134-135.
 17. Brown K.L. *Environmental control in poultry production*. Oliver & Boyd, Edinburg, 1967: 101-113.
 18. Blokhuis H.J., Van Niekerk T.F., Bessei W., Elson A., Guemene D., Kjaer J.B., Levrino G.A.M., Nicol C.J., Tauson R., Weeks C.A., De Weerd H.A.V. Welfare implications of changes in production systems for laying hens. *World's Poult. Sci. J.*, 2007, 63(1): 101-114.
 19. Fisinin V.I., Kravchenko N.A. *Ptitsevodstvo*, 1977, 7: 29-30.
 20. Vozianov A.F., Butenko A.K., Zak K.P. *Tsitokiny. Biologicheskie i protivovospalitel'nye svoystva [Cytokines. Biological and anti-inflammatory properties]*. Kiev, 1998.
 21. Fisinin V.I. *Vestnik sel'skokhozyaistvennoi nauki*, 1976, 4: 81-85.
 22. Mormede P., Andanson S., Auprein B., Beerda B., Guemene D., Mal-mkvist J., Manteca X., Manteuffel G., Prunet P., Van Reenen C.G., Richard S., Viessier J. Exploration of the hypothalamic-adrenal-axis as a tool to evaluate animal welfare. *Physiol. Behav.*, 2007, 92: 317-339.
 23. Craig J.V., Muir W.M. Group selection for adaptation to multiple-hen cages: behavioral responses. *Poultry Sci.*, 1996, 75: 1145-1155.
 24. Goldstein D.S. Catecholamines and stress. *Endocrine Regulations*, 2003, 37: 69-80.
 25. Holladay S.D., Edens F.W. Effect of caponization on central nervous system monoamines in the Japanese quail. *Comp. Biochem. Physiol.*, 1987, 86(3): 465-468.
 26. Goldstein D.S. Plasma norepinephrine as an indicator of sympathetic neural activity in clinical cardiology. *Am. J. Cardiol.*, 1981, 48: 1147-1154.
 27. Dillon J.E., Raleigh M.J., McGuire M.T., Bergin-Pollack D., Yuwiler A. Plasma catecholamines and social behavior in male vervet monkeys (*Cercopithecus aethiops sabaeus*). *Physiol. Behav.*, 1992, 51: 973-977.
 28. Brown K.I., Nestor K.E. Implications of selection for high and low adrenal response to stress. *Poultry Sci.*, 1974, 53: 1297-1306.
 29. Moffitt T.E., Brammer G.L., Caspi A., Fawcett J.P., Raleigh M., Yuwiler A., Silva P. Whole blood serotonin relates to violence in an epidemiological study. *Biological Psychiatry*, 1998, 43: 446-457.
 30. Lorrain D.S., Matuszewich L., Hull E.M. 8-OH-DPAT influences extracellular levels of serotonin and dopamine in the medial preoptic area of male rats. *Brain Res.*, 1998, 790: 217-223.
 31. Glick B. Antibody and gland studies in cortisone and ACTH-injected birds. *J. Immunol.*, 1967, 98: 1076-1084.
 32. Korte S.M., Beuving G., Ruesink W., Blockhuis H.J. Plasma catecholamine and corticosterone levels during manual restraint in chicks from a high and low feather pecking line of laying hens. *Physiol. Behav.*, 1997, 62: 437-441.
 33. Virden W.S., Thaxton J.P., Corzo A., Dozier W.A., Kidd M.T. Environment, well-being and behavior evaluation of models using corticosterone and adrenocorticotropin to induce conditions mimicking physiological stress in commercial broilers. *Poultry Sci.*, 2007, 86: 2485-2491.
 34. Shini S., Kaiser P., Shini A., Bryden W.L. Biological response of chickens (*Gallus gallus domesticus*) induced by corticosterone and a bacterial endotoxin. *Comp. Biochem. Physiol.*, 2008, 149: 324-333.
 35. Rushen J. Problems associated with the interpretation of physiological data in the assessment of animal welfare. *Appl. Animal Behav. Sci.*, 1991, 28: 381-386.
 36. Moneva P., Popova-Ralcheva S., Abadjieva D., Gudev D., Sredkova V. Poultry welfare assessment, is it possible to avoid handling-induced mental stress interference? *Biotechnology in Animal Husbandry*, 2009, 25(5-6): 1055-1062.
 37. Miftakhutdinov A.V. *Problemy biologii produktivnykh zhivotnykh*, 2012, 1: 46-52.
 38. Buyse J., Decuyper E., Darras V.M., Vleurick L.M., Kuhn E.R., Veldhuis J.D. Food deprivation

- tion and feeding of broiler chickens is associated with rapid and interdependent changes in the somatotrophic and thyrotropic axes. *Br. Poult. Sci.*, 2000, 41: 107-116.
39. De Jong I.C., Van Voorst A.S., Erkens J.H.F., Ehlhardt D.A., Blokhuis H.J. Determination of the circadian rhythm in plasma corticosterone and catecholamine concentrations in growing broiler breeders using intravenous cannulation. *Physiol. Behav.*, 2001, 74: 299-304.
 40. Savory C.J., Mann J. Is there a role for corticosterone in expression of abnormal behaviour in restricted-fed fowls? *Physiol. Behav.*, 1997, 62: 7-13.
 41. Gross W.B., Siegel H.S. Evaluation of the heterophil/lymphocyte ratio as a measure of stress in chickens. *Avian Diseases*, 1983, 27(4): 972-979.
 42. Maxwell M.H., Hocking P.M., Robertson G.W. Differential leucocyte responses to various degrees of food restriction in broilers, turkeys and ducks. *Br. Poult. Sci.*, 1992, 33: 177-187.
 43. Edens F.W., Siegel H.S. Adrenal responses in high and low ACTH response lines of chickens during acute heat stress. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 1975, 25: 64-73.
 44. Maxwell M.H. Avian blood leucocyte responses to stress. *World's Poult. Sci. J.*, 1993, 49: 34-43.
 45. Post J., Rebel J.M., Huurne A.A. Physiological effect of elevated plasma corticosterone concentrations in broiler chickens, an alternative means by which to assess the physiological effects of stress. *Poultry Sci.*, 2003, 82: 1313-1318.
 46. Maxwell M.H., Robertson G.M. The avian heterophil leucocyte: a review. *World's Poult. Sci. J.*, 1998, 54: 155-178.
 47. Altan O., Altan A., Qabuk M., Bayraktar H. Effects of heat stress on some blood parameters in broilers. *Turkish J. Vet. Animal Sci.*, 2000, 24: 145-148.
 48. Zabudskii Yu.I., Skutar' I.G. *Veterinariya*, 1993, 3: 44-46.
 49. Felten S.Y., Madden K.S., Bellinger D.L., Kruszewska B., Moynihan J.A., Felten D.L. The role of the sympathetic nervous system in the modulation of immune responses. *Adv. Pharmacol.*, 1998, 42: 583-587.
 50. Kang S.-Y., Ko Y.-H., Moon Y.-S., Sohn S.-H., Jang I.-S. Effects of the combined stress induced by stocking density and feed restriction on hematological and cytokine parameters as stress indicators in laying hens. *Asian-Australasian Association of Animal Societies*, 2011, 24(3): 414-420.
 51. Jones R.B. Fear and adaptability in poultry: insights, implications and imperatives. *World's Poult. Sci. J.*, 1996, 52: 131-174.
 52. Blokhuis H.J., Beuving G. Feather pecking and other characteristics in two lines of laying hen. *Proc. the 4th European Symposium on Poultry Welfare* /C.J. Savory, B.O. Hughes (eds.). Universities Federation for Animal Welfare, Potters Bar, UK, 1993: 266.
 53. Vestergaard K.S., Kruijtt J.P., Hogan J.A. Feather pecking and chronic fear in groups of red jungle fowl: their relations to dustbathing, rearing environment and social stress. *Animal Behav.*, 1993, 62: 413-419.
 54. Jones R.B., Blockhuis H.J., Beuving H.J. Open field and tonic immobility responses in domestic chicks of two genetic lines differing in their propensity to feather peck. *Br. Poult. Sci.*, 1995, 36: 525-530.
 55. Folsch D.W., Benelli A., Gozzoli L. Die Auswirkungen der Bodenund Batterihaltung mit Unterschiedlicher Besatzdichte auf die Fortbewegung und das Gefieder von Legehennen. *Proc. 6th European Poultry Conference*. Hamburg, 1980: 160-168.
 56. Shcherbatov V.I., Sidorenko L.I., Levchenko E.V., Pakhomova T.I., Kutovenko T.A., Dzholova M.N. *Sposob prognoza stressa u yaichnykh kur. Patent RF na izobretenie № 2151502, A01K67/02. Opubl. 27.06.2000, Byul. 2-2003* [Method to predict stress in egg hens. Patent of the Russian Federation № 2151502, A01K67/02. Published 27.06.2000, Bull. 2-2003].
 57. Tauson R., Kjaer J., Maria G., Cepero R., Holm K. The creation of a common scoring system for the integument and health of laying hens. In: *Applied scoring of integument and health in laying hens. Specific Targeted Research Project*. Swedish University of Agriculture Sciences, 2004: 70.
 58. Grigor P.N., Hughes B.O., Appleby M.C. Social inhibition of movement in domestic hens. *Animal Behav.*, 1995, 49: 1381-1388.
 59. Salamano G., Mellia E., Tarantola M., Gennero M.S., Doglione L., Schiavone A. Acute phase proteins and heterophil:lymphocyte ratio in laying hens in different housing systems. *Vet. Record*, 2010, 167: 749-751.
 60. Downing J. *Non-invasive assessment of stress in commercial housing systems. A report for the Australian Egg Corporation Limited*. Australian Egg Corporation Limited. AECL Publication No US108A, 2012: 69.
 61. Rettenbacher S., Mostl E., Groothuis T.G.G. Gestagens and glucocorticoids in chicken eggs. *Gen. Compar. Endocrinol.*, 2009, 164: 125-129.
 62. Royo F., Mayo S., Carlsson H.E., Hau J. Egg corticosterone: a noninvasive measure of stress in egg-laying birds. *Journal of Avian Medicine and Surgery*, 2008, 22: 310-314.

63. Rogovin K.A., Tupikin A.A., Randall Dzh.A., Kolosova I.E., Moshkin M.P. *Zhurnal obshchei biologii*, 2006, 1(67): 37-52.
64. Mustl E., Rettenbacher S., Palme R. Measurement of corticosterone metabolites in birds droppings: an analytical approach. *Annual New York Academy Science*, 2005, 1046: 17-34.
65. Miftakhutdinov A.V. *Sposob opredeleniya stressovogo sostoyaniya kur myasnogo napravleniya produktivnosti. Polozhitel'noe reshenie na vydachu patenta na izobretenie po zayavke № 2011120009 ot 18.05.2011* [Method to estimate stress in meat hens. Application for Innovation Certificate of the Russian Federation № 2011120009, May 18, 2011].