

ИНВАЗИВНАЯ И НЕИНВАЗИВНАЯ ДИАГНОСТИКА АДАПТАЦИОННЫХ РЕАКЦИЙ МЯСНОЙ ПТИЦЫ ПРИ ПРИМЕНЕНИИ СТРЕСС-ПРОТЕКТОРНОГО АНТИОКСИДАНТА

В.И. ФИСИНИН¹, А.В. МИФТАХУТДИНОВ², Э.М. АМИНЕВА²

Профилактика технологических стрессов у кур в промышленных условиях остается важной научной и практической задачей, однако в настоящее время не разработаны методы оценки эффективности этих мероприятий при использовании фармакологических средств, которые потенциально могут оказывать влияние на маркерные признаки, используемые для оценки адапционных реакций организма птиц. Для диагностики стрессового состояния родительского стада мясных кур в условиях птицеводческих предприятий разработан метод, позволяющий вести контроль за физиологическим состоянием кур посредством определения кортикостерона в пробах помета. Метод используется для оценки степени развития неспецифических адапционных реакций кур при действии различных технологических факторов без непосредственного воздействия на птицу. В настоящей работе проведена оценка эффективности этого метода на фоне практического использования фармакологических способов профилактики стрессов в промышленном птицеводстве. В качестве антистрессового средства использовали СПАО (Стресс-Протектор АнтиОксидант), представляющий собой оригинальную фармакологическую композицию (ФГБОУ ВО Южно-Уральский ГАУ). СПАО содержит активный комплекс, включающий лимоннокислую соль лития, витамины, витаминоподобные и другие вещества, влияющие на метаболизм. Использование для профилактики стрессов фармакологических средств ставит вопрос об изучении точности разработанного неинвазивного метода диагностики и его применимости для определения эффективности проводимой антистрессовой терапии. В настоящем исследовании мы впервые показали, что неинвазивная диагностика напряженности адапционных реакций у кур после стрессирующего технологического воздействия на основании учета количества кортикостерона в экстрактах помета может применяться для оценки эффективности фармакологической профилактики стрессов в промышленных условиях. Пробы крови и помета изучали у кросса Hubbard F15 в период перевода из цеха выращивания ремонтного молодняка в цех взрослого стада в 120-суточном возрасте. В опытную группу входили 12371 курочка и 1246 пегушков, в контрольную — 12865 курочек и 1255 пегушков. Использование СПАО в период выращивания ремонтного молодняка и содержания кур родительского стада позволило повысить их сохранность на 4,6 %, яйценоскость на 2,53 %, средний вывод цыплят на 2,28 % и снизить затраты корма на воспроизводство одного цыпленка-бройлера в среднем на 16,0 % (предположительно за счет прямого воздействия компонентов комплекса на гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковую систему). Фармакологическая профилактика стрессов позволила продлить срок хозяйственного использования кур опытной группы на 2 нед, повысить валовый выход яиц на начальную несушку на 12,4 шт. при более раннем исчерпании продуктивного потенциала птицы в контрольной группе. У кур под действием СПАО количество кортикостерона в ответ на действие раздражителей снижалось в крови в 2,7 раз, в экстрактах помета на 22,3 %. Количество кортикостерона в крови и вытяжках из помета кур статистически значимо коррелировало: до стрессирующего воздействия $r = 0,89$ ($p < 0,05$), после — в среднем $r = 0,68$ ($p < 0,05$). Это указывает на высокую достоверность предложенного неинвазивного метода диагностики стрессов и целесообразность его использования для определения эффективности фармакологической профилактики стрессов в промышленном птицеводстве.

Ключевые слова: стресс кур, фармакологическая профилактика стрессов, промышленное птицеводство, СПАО-комплекс, диагностика стрессов, неспецифические адапционные реакции.

Диагностика и профилактика стрессов у кур остается актуальной научной и практической задачей современного птицеводства (1, 2) и, кроме того, имеет важное значение в связи с проблемой гуманизации промышленных технологий, благополучия и защиты животных (3). В производственных условиях лабораторные методы диагностики стрессов практически не используются (4, 5), а подходы, основанные на контроле снижения продуктивности, повышения смертности и внешних признаков адаптации птицы, не позволяют диагностировать формирование стрессовых реакций до начала развития патологических процессов (6, 7).

Лейкоцитарные индексы (8) и количество гормонов (главным образом гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы) в крови животных (9) — классические показатели активности адаптационных систем. Однако они широко варьируют под действием разнообразных факторов, в том числе индивидуальных особенностей (10), связаны с циркадными ритмами (11) и поэтому ограниченно применимы в промышленных условиях (5). Кроме того, взятие крови у птицы сопровождается дополнительной активацией гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы (12), соизмеримой с таковой при технологических стрессах, что еще более снижает практическую ценность этих методов, хотя в лабораторных исследованиях их относят к самым точным и достоверным (13). Использование методов, основанных на анализе индикаторов активности иммунной системы птицы (экспрессия генов провоспалительных цитокинов IL-1 β , IL-6, белков теплового шока HSP-70 и лизоцима) (14), недостаточно изучено и в условиях промышленного птицеводства в настоящее время не применимо (15).

В качестве перспективного направления в разработке методов оценки стрессовых реакций у кур рассматривается неинвазивная диагностика, основанная на определении гормонов гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы в биологических жидкостях организма, отобранных без непосредственного воздействия на животных, — в яйце (16), перьях (17) и помете (18). Для выявления стресса у мясной птицы в условиях предприятий А.В. Мифтахутдиновым (19) разработан метод, позволяющий судить о физиологическом состоянии по специфическим маркерам стрессовой реакции, то есть без непосредственного воздействия на птицу. Он используется при анализе развития неспецифических адаптационных реакций под действием различных технологических факторов.

В настоящем исследовании мы впервые показали, что точность неинвазивного определения количества кортикостерона в экстрактах помета кур после стрессирующего воздействия достаточна для использования этого теста при оценке результативности антистрессовой терапии в промышленных условиях.

Целью работы было изучение достоверности разработанного неинвазивного метода диагностики состояния адаптационных реакций организма кур при определении эффективности проводимой фармакологической профилактики стрессов.

Методика. Изучали пробы крови и помета, отобранные у кур кросса Hubbard F15 в период перевода из цеха выращивания ремонтного молодняка в цех взрослого стада. Перевод сопровождался внутримышечным введением вакцин Нобилис («MSD Animal Health», США) против инфекционного ринотрахеита, инфекционного бронхита кур, инфекционной бурсальной болезни, ньюкаслской болезни, реовирусного теносиновита кур согласно рекомендациям производителя. Опытную (12371 курочка и 1246 петушков) и контрольную (12865 курочек и 1255 петушков) группы формировали в цехе выращивания, цех взрослого стада комплектовали 120-суточной птицей. Наблюдение осуществляли до окончания продуктивного периода: в опытной группе — 55 нед, в контрольной — 53 нед. Учитывали сохранность, яйценоскость, оплодотворенность яиц, вывод цыплят из яиц, массу яиц, затраты корма. В опытной группе птица получала фармакологический комплекс для животных — стресс-протектор антиоксидант СПАО (порошок белого цвета, хорошо растворимый в воде; разработан в Южно-Уральском государственном аграрном университете), включающий лимоннокислую

соль лития, витамины, витаминоподобные и другие вещества, влияющие на метаболизм (20). За 2 сут до перевода и вакцинации, в день и в течение 2 сут после перевода и вакцинации препарат выпаивали с питьевой водой через систему медикаторов в дозе 185 мг/кг живой массы. Контрольная группа не получала СПАО при переводе и вакцинации.

Кровь для исследований брали в течение 30–45 мин после стрессирующего технологического воздействия (перевода в другой цех с введением вакцины). Отбор проб помета осуществляли через 3 ч после аналогичных манипуляций. Для учета влияния циркадного ритма отбор проводили в опытной и контрольной группах в одно и то же время.

Экстракцию кортикостерона из проб помета осуществляли согласно описанию (19). Концентрацию кортикостерона в сыворотке крови и экстракте из помета определяли с помощью конкурентного иммуноферментного анализа (ИФА) на ИФА-анализаторе Tecan Sunrise («Tecan», Австрия) при $\lambda = 450$ нм. Использовали наборы DRG Corticosterone ELISA KIT («DRG», Германия) с пероксидазным конъюгатом кортикостерона, конкурирующим за связывание с поликлональной антисывороткой к кортикостерону, сорбированной на лунках микропланшета. Наименьшая измеряемая концентрация кортикостерона в тесте — 1,63 нмоль/л. Проявление перекрестной реакции к кортикостерону 100 %, прогестерону 7,4 %, дезоксикортикостерону 3,4 %, 11-дезоксикортикостерону 1,6 %, кортизолу 0,3 %, другим стероидам — менее 0,1 % (согласно инструкции, прилагаемой к набору). В соответствии с методикой (19), содержание кортикостерона в экстракте помета более 50 нмоль/л указывает на активацию гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы и служит индикатором стрессового состояния у мясных кур.

В таблице приведены средние арифметические (\bar{X}) и средние квадратичные отклонения ($\pm S_x$). Межгрупповые различия данных в таблице оценивали с использованием непараметрического U-критерия Манна-Уитни (MW-U). На рисунке представлены средние со стандартной ошибкой (квадраты) и указанием минимального и максимального значения показателя. Здесь для межгрупповых сравнений применяли критерий Краскела-Уоллиса (KW-H), для сравнения зависимых переменных внутри группы до и после воздействия факторов, предположительно вызывающих стресс, — непараметрический критерий Вилкоксона (W). Анализ статистической взаимосвязи показателей между опытом и контролем до и после стрессирующего воздействия осуществляли методом ранговой корреляции по Кендаллу.

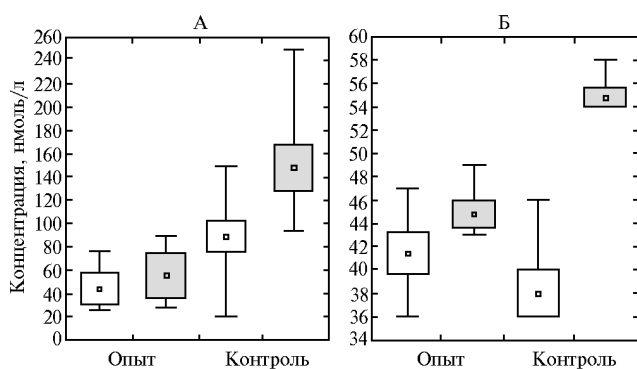
Результаты. Комплектование цеха содержания сопровождается отловом птицы, оценкой габитуса, транспортировкой, внутримышечным введением вакцин и подготовкой организма к яйцекладке, нарушением и формированием новых иерархий соподчиненности в стаде, изменением режима освещения и рациона. Из-за сочетанного воздействия нескольких технологических факторов указанный период, по нашему мнению, — один из критических для формирования будущей продуктивности и воспроизводительных качеств родительского стада кур (21, 22), поэтому он был выбран для оценки антистрессовой активности препарата.

Всего куры родительского стада из опытной группы получали комплекс СПАО 5-кратно. В результате такой профилактики технологических стрессов (табл.) в опытной группе по сравнению с контрольной за весь период содержания повышалась сохранность (на 4,6 %), яйценоскость (на 2,53 %), валовый выход яиц на начальную несущку (на 12,4 шт.), средний

вывод цыплят (на 2,28 %) и снижались затраты корма на воспроизводство одного цыпленка-бройлера (в среднем на 16,0 %). Кур контрольной группы сняли с производственного цикла на 2 нед раньше птицы из опытной группы в связи более ранним истощением продуктивного потенциала, выражающимся в снижении яйценоскости и фертильности, что может служить одним из доказательств целесообразности фармакологической профилактики стрессов в промышленном птицеводстве.

Показатели продуктивности и воспроизводства у кросса Hubbard F15 за период содержания ($X \pm S_x$, производственный опыт)

Показатель	Опыт ($n = 13617$)	Контроль ($n = 14120$)	P
Сохранность поголовья итоговая, %	89,0	84,4	
Средняя сохранность родительского стада кур, %	$93,92 \pm 3,64$	$91,69 \pm 4,65$	$P = 0,0439$
Средняя яйценоскость, %	$70,34 \pm 10,35$	$67,81 \pm 9,59$	$P = 0,2219$
Валовый выход яиц на начальную несущую, шт.	139,0	123,6	
Средняя оплодотворенность яиц, %	$80,56 \pm 7,60$	$77,65 \pm 4,64$	$P = 0,0174$
Средний вывод цыплят из яиц, %	$77,30 \pm 4,14$	$75,02 \pm 3,93$	$P = 0,0178$
Средняя масса яйца, г	$59,58 \pm 5,46$	$61,69 \pm 5,46$	$P = 0,1120$
Средние затраты корма на воспроизводство одного цыпленка-бройлера, г	$833,51 \pm 743,78$	$993,39 \pm 795,72$	$P = 0,0016$



Концентрация кортикостерона (нмоль/л) в сыворотке крови (А) и экстрактах помета (Б) у кур кросса Hubbard F15 до (слева) и после (справа) вакцинации при применении стресс-протекторного антиоксиданта (опыт) и без стресс-протектора (контроль) (производственный опыт). А: до вакцинации критерий Краскела-Уоллиса $KW-H(1; 14) = 3,4554$, $p = 0,0630$; после вакцинации $KW-H(1; 14) = 9,8216$, $p = 0,0017$. Б: до вакцинации $KW-H(1; 10) = 2,0979$, $p = 0,1475$; после вакцинации $KW-H(1; 10) = 7,4503$, $p = 0,0063$.

Содержание глюкокортикоидных гормонов — один из общепринятых показателей, позволяющих оценить выраженность влияния раздражителя и развитие в организме адаптационных процессов (5). До перевода и вакцинации количество кортикостерона у куриц из обеих групп было статистически равнозначно ($44,00 \pm 8,68$ и $89,00 \pm 17,06$ нмоль/л соответственно в опыте и контроле).

После применения антистрессового препарата в опытной группе отмечали не выраженное статистически ($P = 0,3105$) повышение концентрации кортикостерона в сыворотке крови (до $55,50 \pm 7,41$ нмоль/л), тогда как у кур из контрольной группы происходил его резкий выброс в ответ на стрессирующее воздействие (до $148,14 \pm 26,52$ нмоль/л, $P = 0,0425$).

При диагностике неспецифических адаптационных реакций по концентрации стрессовых гормонов в крови существенная проблема заключается в активации стресс-реализующих механизмов при отборе крови, что сказывается на результатах исследований, ведет к искажению результатов и часто не позволяет получить достоверные данные (5). Учитывая этот факт, для подтверждения полученных данных было проведено неинвазивное исследование уровня кортикостерона в экстрактах из помета, взятого от кур опытной и контрольной групп (рис.).

До перевода и вакцинации количество кортикостерона, выделяемого с пометом (см. рис.), было одинаковым в опытной и контрольной групп

пах ($P = 0,1475$). После проведения вакцинации наблюдали статистически недостоверное ($P = 0,0800$) повышение содержания кортикостерона у опытной группы с $41,40 \pm 4,04$ до $44,80 \pm 2,68$ нмоль/л. В контрольной группе, наоборот, происходило статистически выраженное ($P = 0,0431$) повышение количества кортикостерона, выделяемого с пометом с $38,00 \pm 4,47$ до $54,80 \pm 1,79$ нмоль/л. При сравнении показателей (см. рис.) у кур из контрольной группы обнаружили статистически достоверное повышение количества кортикостерона, выделяемого с пометом (на 18,2 %, $P = 0,0063$), после стрессирующего технологического воздействия относительно такового в опытной группе.

Коэффициент ранговой корреляции Кендалла при сравнении показателей по кортикостерону в крови и экстрактах помета кур в опытной и контрольной группах до стрессирующего воздействия был статистически значимым и высоким ($r = 0,89$; $p < 0,0500$), после — статистически значимым средним ($r = 0,68$; $p < 0,0500$). Выявленное снижение коэффициента корреляции после манипуляций с птицей может косвенно указывать на то, что взятие крови как раздражитель меньше влияет на птицу, находящуюся в состоянии относительного покоя, чем на птицу, подвергнутую воздействию описанного технологического стресс-фактора. Обнаруженная закономерность согласуется с теорией неспецифических адаптационных реакций по Л.Х. Гаркави с соавт. (23) и результатами других исследований, указывающих на потенцирование эффектов стрессоров разной силы и продолжительности воздействия (24). В то же время наблюдаемый высокий и средний коэффициент статистически достоверных корреляций указывает на целесообразность практического использования метода неинвазивной диагностики стрессов у кур по количеству кортикостерона в экстрактах помета. Простота постановки, наглядность результатов и широкая доступность ИФА позволяет использовать описанный метод в условиях промышленного производства для определения стресс-реакций у птицы и оценки эффективности проводимой антистрессовой терапии. При использовании рассматриваемого диагностического метода необходимо учитывать, что чем старше куры при действии стресс-фактора, тем менее выражено изменение концентрации глюкокортикоидов в крови (6). Эти различия, по-видимому, можно рассматривать как результат постепенно прогрессирующих физиолого-биохимических изменений гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы, способствующих более быстрому возвращению количества глюкокортикоидных гормонов к норме (25).

Таким образом, фармакологическая профилактика стрессов в период выращивания ремонтного молодняка и содержания родительского стада позволяет повысить сохранность и фертильность птицы и продлить срок ее хозяйственного использования. Применение стресс-протекторного антиоксидантного комплекса при вакцинации и переводе кур из цеха выращивания в цех родительского стада снижает количество кортикостерона в ответ на действие раздражителей в пробах крови в 2,7 раз, в экстрактах помета — на 22,3 %. Снижение индукции кортикостерона при действии стрессоров служит важным индикативным признаком эффективности фармакологического антистрессового препарата. Содержание кортикостерона в крови и вытяжках из помета статистически достоверно коррелирует, что указывает на целесообразность использования разработанного приема неинвазивной оценки показателя для определения эффективности фармакологической профилактики стрессов в промышленном птицеводстве.

INVASIVE AND NONINVASIVE DETECTION OF ADAPTIVE RESPONSE IN MEAT POULTRY AFTER PREVENTIVE APPLICATION OF A STRESS-PROTECTIVE ANTIOXIDANT COMPOSITION

V.I. Fisinin¹, A.V. Miftakhutdinov², E.M. Amineva²

¹Federal Scientific Center All-Russian Research and Technological Poultry Institute RAS, Federal Agency of Scientific Organizations, 10, ul. Ptitsegradskaya, Sergiev Posad, Moscow Province, 141315 Russia, e-mail fisinin@land.ru;

²South Ural State Agrarian University, Department of Physiology and Pharmacology, 13. ul. Gagarina, Troitsk, Chelyabinsk Province, 457100 Russia, e-mail nirugavm@mail.ru (corresponding author A.V. Miftakhutdinov)

Fisinin V.I. orcid.org/0000-0003-0081-6336

Miftakhutdinov A.V. orcid.org/0000-0001-8496-2810

The authors declare no conflict of interests

Received March 2, 2017

doi: 10.15389/agrobiol.2017.6.1244.eng

Abstract

Prevention of technological stress among chickens at commercial farming is an important task but the methods for evaluating effectiveness of these measures in using pharmacological agents have not yet been developed. A method has been developed to diagnose the stressful conditions in commercial stock herds that makes it possible to control physiological state of chickens via corticosterone detection in poultry manure. The method is used to assess development of nonspecific adaptive response in chickens under the influence of various technological factors without direct impact on the body. Here, in farm trials of pharmacological prevention of stresses under intensive poultry production we first proved that the non-invasive assay of corticosterone level in manure extracts may estimate an adaptive response in chickens after technological stress. The SPAO complex (Stress-Protector Antioxidant, a pharmacological composition developed at the Department of Physiology and Pharmacology, South Ural State University) was used as an anti-stress agent. SPAO active complex contains lithium citrate, vitamins, vitamin-like substances etc. that affect metabolism. Blood and poultry manure samples were collected from the Hubbard F15 crossbred chickens during the transfer from the section of rearing flocks to the adult herd at 120 day-old poultry (group 1 of 12371 females and 1246 males, and control group of 12865 females and 1255 males). SPAO complex increased viability in the herd up to 4.6 %, egg production up to 2.53 %, average hatching up to 2.28 % and decrease feed costs per broiler chick on average by 16.0 % (presumably due to the direct effect of the components of the complex on the hypothalamic-pituitary-adrenal system). Pharmacological prevention of stresses allowed to extend economic use of hens in the experimental group for 2 weeks, to increase the gross yield of eggs up to 12.4 pcs whereas an earlier depletion of the productive performance occurred in the control group. In use of SPAO complex blood corticosterone level decreased 2.7 times and corticosterone in extracts of poultry manure was 22.3 % lower. Corticosterone levels in hen blood and the extracts from manure showed statistically significant correlations both before stressing ($r = 0.89$, $p < 0.05$) and after stressing ($r = 0.68$, $p < 0.05$) which indicates a high reliability of the proposed noninvasive method of stress diagnostics to estimate the effectiveness of pharmacological prevention of stress in industrial poultry.

Keywords: stress in chickens, pharmacological prophylaxis of stress, industrial poultry production, SPAO-complex, diagnostics of stress, non-specific adaptation reactions.

REFERENCES

1. Fisinin V.I., Surai P.F., Kuznetsov A.I., Miftakhutdinov A.V., Terman A.A. *Stressy i stressovaya chuvstvitel'nost' kur v myasnom pitsevodstve. Diagnostika i profilaktika* [Stresses and stress-sensitivity in meat hens in commercial poultry]. Troitsk, 2013 (in Russ.).
2. Kochish I.I., Lukicheva V.A., Pen'shina E.Yu., Gumarov M.Kh. *Doklady RASKHN*, 2009, 6: 47-49 (in Russ.).

3. Vizzier Thaxton Y., Christensen K.D., Mench J.A., Rumley E.R., Daugherty C., Feinberg B., Parker M., Siegel P., Scanes C.G. Symposium: Animal welfare challenges for today and tomorrow. *Poultry Sci.*, 2016, 95(9): 2198-2207 (doi: 10.3382/ps/pew099).
4. Kavtarashvili A.Sh., Kolokol'nikova T.N. Physiology and productivity of poultry under stress (review). *Sel'skokhozyaistvennaya Biologiya [Agricultural Biology]*, 2010, 4: 25-37 (in Russ.).
5. Miftakhutdinov A.V. Experimental approaches to stress diagnostics in poultry (review). *Sel'skokhozyaistvennaya Biologiya [Agricultural Biology]*, 2014, 2: 20-30 (in Russ.).
6. Fisinin V.I., Mudryi I.N., Kravchenko N.A. *Doklady VASKHNIL*, 1975, 8: 26-29 (in Russ.).
7. 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 Poultry Sci. J.*, 2007, 63(1): 101-114 (doi: 10.1017/S0043933907001328).
8. Cotter P.F. An examination of the utility of heterophil-lymphocyte ratios in assessing stress of caged hens. *Poultry Sci.*, 2015, 94(3): 512-517 (doi: 10.3382/ps/peu009).
9. Ralph C.R., Hensworth P.H., Leury B.J., Tilbrook A.J. Relationship between plasma and tissue corticosterone in laying hens (*Gallus gallus domesticus*): implications for stress physiology and animal welfare. *Domest. Anim. Endocrin.*, 2015, 50: 72-82 (doi: 10.1016/j.domaniend.2014.09.002).
10. Cockrem J. Stress, corticosterone responses and avian personalities. *J. Ornithol.*, 2007, 148(Suppl. 2): 169-178 (doi: 10.1007/s10336-007-0175-8).
11. Braw-Tal R., Yossefi S., Pen S., Shinder D., Bar A. Hormonal changes associated with ageing and induced moulting of domestic hens. *Brit. Poultry Sci.*, 2004, 45(6): 815-822 (doi: 10.1080/00071660400012782).
12. Tikhonov S., Miftakhutdinov A. Diagnostics of hens stresses in poultry industry. *Global Veterinaria*, 2014, 12(6): 750-755 (doi: 10.5829/idosi.gv.2014.12.06.83199).
13. Ferrante V., Mugnai C., Ferrari L., Marelli S., Spagnoli E., Lolli S. Stress and reactivity in three Italian chicken breeds. *Italian Journal of Animal Science*, 2016, 15(2): 303-309 (doi: 10.1080/1828051X.2016.1185978).
14. Wein Y., Bar Shira E., Friedman A. Avoiding handling-induced stress in poultry: use of uniform parameters to accurately determine physiological stress. *Poultry Sci.*, 2017, 96(1): 65-73 (doi: 10.3382/ps/pew245).
15. Sun-Young K., Young-Hyun K., Yang-Soo M., Sea-Hwan S., In-Surk J. Effects of the combined stress induced by stocking density and feed restriction on hematological and cytokine parameters as stress indicators in laying hens. *Asian-Australas. J. Anim. Sci.*, 2011, 24(3): 414-420 (doi: 10.5713/ajas.2011.10315).
16. Nigel J. Minimally invasive sampling media and the measurement of corticosteroids as biomarkers of stress in animals. *Canadian Journal of Animal Science*, 2012, 92(3): 227-259 (doi: 10.1139/CJAS2012-045).
17. Scanes C.G. Biology of stress in poultry with emphasis on glucocorticoids and the heterophil to lymphocyte ratio. *Poultry Sci.*, 2016, 95(9): 2208-2215 (doi: 10.3382/ps/pew137).
18. Alm M., Holm L., Tauson R., Wall H. Corticosterone metabolites in laying hen droppings — effects of fiber enrichment, genotype, and daily variations. *Poultry Sci.*, 2014, 93(10): 2615-2621 (doi: 10.3382/ps.2014-04193).
19. Miftakhutdinov A.V., Ponomarenko V.V., Anosov D.E. *Sposob opredeleniya stressovogo sostoyaniya kur myasnogo napravleniya produktivnosti. Pat. 2473215 Rossiiskaya Federatsiya, MPK A01K67/02 (2006.01). Zayavl. 18.05.2011. Opubl. 27.01.2013. Byul. № 8 [Estimation of stress status in meat hens. Patent RF 2473215, MPK A01K67/02 (2006.01). Appl. 18.05.2011. Publ. 27.01.2013. Bul. № 8] (in Russ.)*.
20. Fisinin V.I., Miftakhutdinov A.V., Ponomarenko V.V., Anosov D.E. *Agrarnyi vestnik Urala*, 2015, 12: 54-58 (in Russ.).
21. Surai P.F., Fisinin V.I. Vitagenes in poultry production: Part 1. Technological and environmental stresses. *World's Poultry Sci. J.*, 2016, 72(4): 721-734 (doi: 10.1017/S0043933916000714).
22. Surai P.F., Fisinin V.I. Vitagenes in poultry production: Part 2. Nutritional and internal stresses. *World's Poultry Sci. J.*, 2016, 72(4): 761-772 (doi: 10.1017/S0043933916000751).
23. Garkavi L.Kh., Kvakina E.B., Kuz'menko T.S. *Antistressornye reaktsii i aktivatsionnaya terapiya [Anti-stress response and activation therapy]*. Moscow, 1998 (in Russ.).
24. Derkho M.A., Sereda T.I. *Izvestiya Orenburgskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta*, 2015, 6: 255-258 (in Russ.).
25. Fisinin V.I., Kravchenko N.A. *Sel'skokhozyaistvennaya Biologiya [Agricultural Biology]*, 1979, 2: 191-194 (in Russ.).