

УДК 636.5.033

ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ ДОЗ КАДМИЯ НА БИОХИМИЧЕСКИЕ И ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ КРОВИ КУР-НЕСУШЕК

Клепцына Е.С., Афолина И.А.

Томский сельскохозяйственный институт-филиал ФГБОУ ВПО «Новосибирский государственный аграрный университет» (634015, г. Томск, ул. Мичурина, 88), e-mail: eklepcyna@mail.ru, afonina_ia@mail.ru

Исследовано влияние различных доз кадмия, превышающих максимально допустимый уровень, на показатели крови кур-несушек. Работа проводилась на птицефабрике «Туганская». Было определено содержание общего белка в сыворотке крови, α -глобулинов, β -глобулинов, γ -глобулинов и гемоглобина в крови. Исследована лейкоцитарная формула. Проведён анализ изменения параметров крови. Поступление повышенных доз кадмия в организм кур-несушек приводило к существенному повышению содержания общего белка в сыворотке крови птиц, что следует рассматривать как усиление защитной реакции организма. Соотношение белковых фракций сыворотки крови кур-несушек не подверглось существенному изменению. Исследование лейкоцитарной формулы показало, что доля эозинофилов увеличилась в три раза. Снижение уровня сегментоядерных нейтрофилов отмечено только при 5 и 10 МДУ. Выявлено, что повышенные дозы кадмия не вызывают достоверных изменений уровня гемоглобина в крови кур-несушек.

Ключевые слова: тяжёлые металлы, показатели крови, общий белок, гемоглобин, альбумин, глобулиновые фракции, максимально допустимый уровень.

INFLUENCE OF DIFFERENT DOSES OF CADMIUM ON BIOCHEMICAL AND HAEMATOLOGICAL PARAMETERS OF BLOOD LAYING HENS

Kleptsyna E.S., Afonina I.A.

Tomsk agricultural Institute-branch of the Novosibirsk state agrarian University (634015, Tomsk, Michurina street, 88), e-mail: eklepcyna@mail.ru, afonina_ia@mail.ru

The experiments to study the influence of different doses of cadmium exceeding the maximum permissible level in the blood of laying hens. The work was carried out at the poultry farm "Tuganskaya". Was determined serum total protein blood. Studied the content of alpha-globulins, beta-globulin, gamma globulin, hemoglobin. Studied leukocyte formula. The analysis of change of parameters of blood. Admission high doses of cadmium in the body laying hens resulted in a significant increase in the content of total protein in the serum of birds that should be seen as strengthening the protective reactions of the organism. The ratio of protein fractions of blood serum of laying hens have not undergone significant change. The study leukocyte showed that the percentage of eosinophils increased three times. Reduction of the level of segmented neutrophils is observed only at 5 and 10 MDU. Found that high doses of cadmium do not cause significant changes of the level of hemoglobin in the blood of laying hens.

Keywords: heavy metals, blood counts, total protein, haemoglobin, albumin, globulin fraction, the maximum permissible level.

Растущее антропогенное воздействие на окружающую среду приводит к загрязнению всех сред обитания ксенобиотиками, в том числе и тяжёлыми металлами [1]. В работах многих исследователей уделяется большое внимание изучению закономерностей накопления тяжёлых металлов в кормах, воде, почвах [4; 13; 14], органах и тканях различных видов сельскохозяйственных животных [8; 11; 16; 19].

Цель исследования заключалась в изучении влияния различных доз кадмия, превышающих максимально допустимый уровень, на биохимические показатели крови.

Материал и методы исследования. Работы проводились на курах-несушках кросса Родонит на птицефабрике «Туганская» Томской области в течение тридцати дней.

Содержание кур батареинное. Были сформированы четыре группы кур, одна экспериментальная, четыре – опытные. Использовались растворы ацетата кадмия в концентрациях, в 5, 10, 20 и 30 раз превышающих максимально допустимый уровень (МДУ). Раствор соли кадмия выпаивали индивидуально каждой курице из лабораторной пипетки. Раствор изготавливали ежедневно. Взятие проб крови осуществляли острым методом в стеклянные пробирки объёмом 10 мл. Мазки крови изготавливали перед убоем при проколе гребня кур. Были изучены белковые фракции, общий белок, гемоглобин, лейкоцитарная формула. Анализы крови проводили на базе Областной ветеринарной лаборатории.

Результаты исследований и их обсуждение. Существенным показателем комплексного влияния тяжёлых металлов на организм птиц является изучение биохимических показателей крови. Анализ результатов таблицы 1 свидетельствует об изменении сывороточного общего белка кур при использовании разных доз Cd, превышающих максимально допустимый уровень. У птиц контрольной группы его показатель соответствовал норме, которая равна 43–59 г/л. Вместе с тем установлено достоверное увеличение уровня общего белка в ответ на введение кадмия. Усиление биосинтеза белка, согласно исследованиям А. Лениджер, объясняется усилением деятельности защитных механизмов животного организма на поступление токсических веществ [6].

Таблица 1

Влияние кадмия на содержание общего белка в сыворотке крови кур (г/л)

| Превышение МДУ, раз | $\bar{x} \pm S \bar{x}$ | σ | Cv | lim |
|---------------------|-------------------------|----------|------|--------------|
| Контроль | 52,1±5,8 | 18,4 | 35,3 | 31,0 – 82,1 |
| 5 | 69,2±9,4 | 26,6 | 38,4 | 46,0 – 115,7 |
| 10 | 75,4±9,1* | 27,0 | 31,8 | 52,5 – 115,7 |
| 20 | 69,1±3,4* | 9,6 | 14,0 | 59,2 – 88,0 |
| 30 | 68,7±4,2* | 11,2 | 16,3 | 52,2 – 88,0 |

С увеличением от 10 до 30 МДУ кадмия возрастало количество общего белка, и максимальное его значение достигалось при 10 МДУ ($P < 0,05$). Повышение дозы кадмия до 20-30 МДУ не приводило к его снижению в сыворотке крови. При этом уровень белка у кур в опытных группах был выше, чем в контроле. По имеющимся данным литературы, повышение уровня специфических низкомолекулярных белков происходит в ответ на постоянную экспозицию токсиканта в живых организмах [17].

Следует обратить внимание на существенное (в 2 раза) снижение фенотипической

изменчивости уровня общего белка у кур экспериментальных групп, получавших дозы в 20 и 30 раз превышавших МДУ. Причём коэффициент вариации уменьшился за счёт существенного уменьшения границ содержания общего белка у кур в сыворотке крови.

Донник И.М. и др. [1] в районах, контаминированных тяжёлыми металлами, наблюдали у коров биохимические сдвиги, в том числе достоверное снижение содержания общего белка до $66,96 \pm 1,20$ г/л и альбуминов до $28,81 \pm 2,20\%$, что ниже нормативных значений на 29,3 и 26,5% соответственно.

Кадмий вызывает достоверное снижение доли альбуминов при дозах 20 МДУ и выше. При поступлении 30 МДУ имело место снижение показателя альбуминов на 62% по сравнению с контролем. Нужно отметить достоверное увеличение β -глобулиновой фракции при самой низкой дозе используемого токсиканта. В других группах такая тенденция сохранялась. Остальные фракции белков при этом мало изменились (табл. 2).

Таблица 2

Влияние Cd на белковые фракции сыворотки крови кур-несушек, %

| Превышение МДУ, раз | Показатель | Белковые фракции | | | |
|---------------------|---------------------------|------------------|----------------|------------------|----------------|
| | | альбумины | глобулины | | |
| | | | α | β | γ |
| Контроль | $\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$ | $30,1 \pm 2,3$ | $21,4 \pm 1,1$ | $14,2 \pm 2,9$ | $34,3 \pm 3,9$ |
| | lim | 16,7 - 38,0 | 15,0 - 26,9 | 6,0 - 29,0 | 18,0 - 54,2 |
| 5 | $\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$ | $25,1 \pm 4,1$ | $21,8 \pm 2,3$ | $24,0 \pm 2,3^*$ | $29,1 \pm 1,8$ |
| | lim | 12,0 - 40,0 | 12,0 - 29,0 | 16,0 - 34,0 | 25,0 - 40,0 |
| 10 | $\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$ | $28,1 \pm 1,8$ | $20,4 \pm 2,1$ | $19,4 \pm 2,9$ | $32,1 \pm 2,7$ |
| | lim | 24,0 - 33,0 | 15,0 - 30,0 | 10,0 - 28,0 | 20,0 - 39,0 |
| 20 | $\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$ | $21,3 \pm 1,5^*$ | $21,6 \pm 2,0$ | $18,8 \pm 3,7$ | $38,3 \pm 3,1$ |
| | lim | 13,0 - 25,0 | 15,0 - 30,0 | 7,0 - 36,0 | 27,0 - 50,0 |
| 30 | $\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$ | $18,6 \pm 3,4^*$ | $19,6 \pm 1,6$ | $19,6 \pm 3,9$ | $42,2 \pm 4,3$ |
| | lim | 12,3 - 28,0 | 15,0 - 22,3 | 10,0 - 28,0 | 34,0 - 54,0 |

При исследовании влияния кадмия на организм птицы большое значение имеет анализ лейкоцитарной формулы. Лугаськова Н.В. и др. обнаружили, что поступление высоких доз металлов вызывает у птенцов мухоловки-пеструшки повышение уровня лимфоцитов и эозинофилов [7].

Защитная реакция организма на высокие дозы кадмия проявлялась увеличением в 3,5

раза количества эозинофилов ($P < 0,01$) (табл. 3). Более низкие дозы токсиканта приводили к достоверному снижению количества сегментоядерных нейтрофилов и повышению числа лимфоцитов в лейкограмме. Известно, что отсутствие или уменьшение количества эозинофилов свидетельствует об интоксикации организма [3].

Таблица 3

Влияние Cd на лейкоцитарную формулу крови кур-несушек, %

| Показатель | Превышение МДУ, раз | | | | | |
|----------------------|---------------------|-------------------|--------------------|----------------------|----------------------|------------------|
| | контроль | 5 | 10 | 20 | 30 | |
| Базофилы | $0,78 \pm 0,36$ | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| Эозинофилы | $1,11 \pm 0,51$ | $1,0 \pm 0,38$ | $2,75 \pm 0,75$ | $3,86 \pm 0,74^{**}$ | $3,86 \pm 0,67^{**}$ | |
| Ней- тро- филы | юные | $0,22 \pm 0,01$ | 0 | $0,25 \pm 0,16$ | 0 | 0 |
| | п/ядерн | $2,44 \pm 0,69$ | $1,14 \pm 0,26$ | $0,25 \pm 0,16$ | $3,29 \pm 0,75$ | $1,25 \pm 0,37$ |
| | с/ядерн | $15,78 \pm 2,9$ | $8,71 \pm 0,57^*$ | $8,88 \pm 0,8^*$ | $15,57 \pm 3,02$ | $11,38 \pm 0,91$ |
| Лимфоциты | $78,44 \pm 3,4$ | $88,7 \pm 0,92^*$ | $87,63 \pm 0,82^*$ | $72,57 \pm 3,59$ | $82,63 \pm 1,16$ | |
| Моноциты | $1,22 \pm 0,43$ | $0,43 \pm 0,20$ | $0,5 \pm 0,5$ | $2,71 \pm 0,81$ | $1,0 \pm 0,44$ | |

Таким образом, разные дозы кадмия приводили к изменению соотношения белых кровяных клеток в лейкоцитарной формуле кур-несушек.

Изучено влияние ТМ на содержание гемоглобина (Hb) в крови кур-несушек (табл. 4). Средний уровень его концентрации был несколько меньше нижней границы нормы (89 г/л). Доза кадмия, десятикратно превышавшая допустимый уровень, вызывала понижение содержания гемоглобина у белых крыс [2].

Таблица 4

Влияние тяжёлых металлов на содержание гемоглобина (г/л)

| Превышение МДУ, раз | $\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$ | σ | Cv | lim |
|---------------------|---------------------------|----------|------|------------|
| Контроль | $103,6 \pm 4,3$ | 13,0 | 12,5 | 87,0-120,0 |
| 5 | $96,5 \pm 2,8$ | 8,0 | 8,3 | 87,0-107,0 |
| 10 | $102,6 \pm 2,8$ | 7,4 | 7,2 | 95,0-116,0 |
| 20 | $104,0 \pm 4,7$ | 13,2 | 12,7 | 88,0-124,0 |
| 30 | $95,5 \pm 2,4$ | 6,9 | 7,2 | 80,0-100,0 |

Фенотипическая изменчивость содержания гемоглобина у кур опытных групп при разных дозах поступления в их организм Cd была невелика ($Cv = 12,7 - 7,2\%$). Следует отметить, что изменчивость содержания общего белка в сыворотке крови при поступлении в

организм этих металлов была значительно выше ($C_v=38,4 - 11,7\%$).

Повышенные дозы тяжелых металлов влияют на их аккумуляции в органах, тканях [16; 18; 20] и признаки продуктивности [12; 21]. Поэтому важен поиск биохимических и химических маркеров прижизненной неинвазивной оценки уровня накопления тяжелых металлов в организме. Исследователями была показана возможность оценки аккумуляции цинка в мышцах и костях птицы [9] и других видов животных [5; 10].

Выводы. Все дозы кадмия, превышающие максимально допустимые уровни, приводят к существенному увеличению содержания общего белка в сыворотке крови птиц, что следует рассматривать как усиление защитной реакции организма. В то же время не замечено четко выраженных изменений в соотношении белковых фракций сыворотки крови кур-несушек. Доля эозинофилов увеличилась в три раза, снижение уровня сегментоядерных нейтрофилов отмечено только при 5 и 10 МДУ. Выявлено, что повышенные дозы кадмия не вызывают достоверных изменений уровня гемоглобина в крови кур-несушек.

Список литературы

1. Донник И.М. Динамика накопления экотоксикантов в биологических ресурсах регионов с интенсивной антропогенной нагрузкой / И.М. Донник, И.А. Шкуратов, Э.И. Хасина, Е.В. Якубенко // Ветеринария Кубани. – 2012. - № 6. – С. 21–24.
2. Жоров Г.А. Токсический иммунодефицит при скармливании кормов, содержащих радионуклиды и тяжёлые металлы / Г.А. Жоров, П.Н. Рубченков, В.Н. Обрывин // Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии. – 2011. - № 1. – С. 164–171.
3. Клинико-лабораторные методы в гематологии / под ред. В.Г. Михайлова и Г.А. Алексева. – М. : Медицина, 1986. – 200 с.
4. Клепцына Е.С. Содержание Zn, Pb и Cd в кормах и воде птицефабрики «Туганская» / Е.С. Клепцына, Н.Н. Шипилин, В.Л. Петухов, А.Г. Незавитин // Труды Томского филиала Новосибирского государственного аграрного университета. – Вып. 2. – Томск : ТПУ, 1999. – 142 с.
5. Короткевич О.С. Способ определения содержания свинца в органах крупного рогатого скота / О.С. Короткевич, В.Л. Петухов, М.В. Стрижкова, Е.В. Камалдинов, О.И. Себежко, Т.В. Петухова : патент на изобретение RUS 2421726 08.04.2010.
6. Лениджер А. Основы биохимии : в 3-х томах / пер. с англ. – М. : Мир, 1985. - Т. 3. – 320 с.
7. Лугаськова Н.В. Гематологические характеристики мухоловки-пеструшки (*Ficedula hypoleuca* Pall.) в условиях промышленного загрязнения / Н.В. Лугаськова, А.А. Карфидова, Е.А. Бельский // Сибирский экол. журнал. – 2005. - № 3. – С. 507–514.

8. Нарожных К.Н. Содержание кадмия в некоторых органах и тканях бычков герефордской породы / К.Н. Нарожных, Ю.В. Ефанова, О.С. Короткевич // Мир науки, культуры, образования. – 2012. – № 4. – С. 315-318.
9. Петухов В.Л. Способ оценки накопления цинка в мышцах и костях птицы / В.Л. Петухов, Е.С. Клепцына, А.И. Желтиков, И.В. Петухов, О.С. Короткевич : патент на изобретение RUS 2264094 05.07.2001.
10. Петухов В.Л. Способ определения содержания кадмия в мышечной ткани крупного рогатого скота / В.Л. Петухов, О.С. Короткевич, А.И. Желтиков, Т.В. Петухова : патент на изобретение RUS 2426119 24.03.2010.
11. Стрижкова М.В. Содержание свинца в органах и тканях бычков черно-пестрой породы / М.В. Стрижкова, Т.В. Петухова, О.С. Короткевич // Главный зоотехник. – 2011. – № 6. – С. 66-68.
12. Afonina I.A. Cu influence on hens egg productivity / E.S. Kleptsyna, V.L. Petukhov, S.A. Patrashkov, G.N. Korotkova // The European Physical Journal. Special Topics. - 2003. - Т. 1. - № 107. - С. 3.
13. Chysyma R.B. The content of heavy metals in feeds of the Tyva Republic / R.B. Chysyma, V.L. Petukhov, E.E. Kuzmina, E.Ya. Barinov, Yn.A. Dukhanov, G.N. Korotkova // J. De Physique IV: JPXII International Conference on Heavy Metals in the Environment; editors: C. Boutron, C. Ferrari. - Grenoble, 2003. - С. 297-299.
14. Chysyma R.B. Heavy metal concentration in water and soil of different ecological areas of Tyva Republic / R.B. Chysyma, Y.Y. Bakhtina, V.L. Petukhov, G.N. Korotkova, M.L. Kochneva // J. De Physique IV: JPXII International Conference on Heavy Metals in the Environment; editors: C. Boutron, C. Ferrari. - Grenoble, 2003. - С. 301-302.
15. Kleptsyna E.S. Accumulation of heavy metals in chicken feather / E.S. Kleptsyna, I. V. Petukhov, V.L. Petukhov // Book of Abstracts of the 51st Annual Meeting of the European Association for Animal Production. - The Hague. The Netherlands, 21-24 August, 2000.
16. Kleptsyna E.S. The influence of cadmium to egg production and quality / I.V. Petukhov, N.N. Shipilin, O.S. Korotkevich // Book of Abstracts of the 51st Annual Meeting of the European Association for Animal Production. - The Hague. The Netherlands, 21-24 August, 2000.
17. Marmuleva N.I. Radionuclides accumulation in milk and its products / N.I. Marmuleva, E.Ya. Barinov, V.L. Petukhov // J. De Physique IV: JPXII International Conference on Heavy Metals in the Environment; editors: C. Boutron, C. Ferrari. - 2003. - С. 827-829.
18. Narozhnych K.N. The content of lead in some organs and tissues of Hereford bull-calves / K.N. Narozhnych, Y.V. Efanova, V.L. Petukhov, O.S. Korotkevich, B.A. Skukovsky and G.N. Korotkova // E3S Web of Conferences 1. 15003 (2013) DOI: 10.1051 / e3sconf / 20130115003.

19. Patrashkov S.A. Content of heavy metals in the hair / S.A. Patrashkov, V.L. Petukhov, O.S. Korotkevich, I.V. Petukhov // J. De Physique IV: JPXII International Conference on Heavy Metals in the Environment; editors: C. Boutron, C. Ferrari. - Grenoble, 2003. - С. 1025-1027.
20. Petukhova T.V. Content of heavy metals in the muscle tissue of cattle // E3S Web of Conferences 1. 15002 (2013) DOI: 10.1051 / e3sconf / 20130115002.
21. Petukhov V.L. Cu influence on hens egg productivity / V.L. Petukhov, S.A. Patrashkov, G.N. Korotkova, I.A. Afonina, E.S. Kleptsyna // J. De Physique IV: JPXII International Conference on Heavy Metals in the Environment; editors: C. Boutron, C. Ferrari. - 2003. - С. 703-705.

Рецензенты:

Титова Э.В., д.с.-х.н., заместитель директора ФГБУ «Станция агрохимической службы «Томская», г. Томск.

Кочнев Н.Н., д.б.н., профессор кафедры ветеринарной генетики и биотехнологии ФГБОУ ВПО «Новосибирский государственный аграрный университет», г. Новосибирск.