

Оригинальная научная статья
УДК 636.52/.58 : 636.084.1 : 591.1
<https://doi.org/10.26897/2949-4710-2024-2-4-6-14>



**Молекулярно-генетическая и биохимическая оценка
антиоксидантного статуса цыплят-бройлеров (*Gallus gallus domesticus*)
при использовании в кормлении разных фитобиотиков**

**Марина Ивановна Селионова¹, Артем Юрьевич Загарин¹,
Егор Игоревич Куликов²**

¹ Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева, Москва, Россия
² Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт птицеводства, Сергиев Посад, Россия

Автор, ответственный за переписку: Артем Юрьевич Загарин; azagarin@rgau-msha.ru

Аннотация

Одной из ключевых проблем птицеводства является борьба со стрессами различной этиологии, объединяемых единым биологическим механизмом – накоплением свободных радикалов и окислительным стрессом. Установлено, что значительную роль в борьбе с оксидантным стрессом играют витагены, транскрипционная активность которых повышается под действием различных алиментарных факторов включая фитобиотики. Исходя из этого цель исследований заключалась в анализе экспрессии генов, связанных с антиоксидантной защитой (АОЗ), у цыплят-бройлеров (*Gallus gallus domesticus*) при использовании в питании различных фитобиотиков и в сравнении полученных результатов с анализом биохимических параметров АОЗ в сыворотке крови. Был проведен зоотехнический опыт на цыплятах-бройлерах кросса Смена 9, в рамках которого особям контрольной группы скармливали основной рацион, в комбикорма 4 опытных групп вводили растительные экстракты цикория обыкновенного (*Cichorium intubus* L.), зверобоя продырявленного (*Hypericum perforatum* L.), левзеи сафлоровидной (*Rhaphanistrum carthamoides* L.) и тимьяна ползучего (*Thymus serpyllum* L.). В возрасте 22 суток отбирали образцы крови для биохимического анализа, в возрасте 26 суток – образцы печени для оценки относительной экспрессии генов SOD1 и PRDX6 методом 2^{-ΔΔCT}, для чего проводили выделение РНК, обратную транскрипцию и ПЦР-РВ с референсным геном «домашнего хозяйства» ACTB. Результаты исследований свидетельствовали о повышении экспрессии SOD1 в 4,47 раза при использовании экстракта цикория и в 3,53 раза при скармливании экстракта зверобоя. При этом флавоноиды зверобоя проявляли наиболее видимый витагенстимулирующий эффект, что подтверждалось низкой вариабельностью экспрессии SOD1 и снижением значений показателей АОЗ крови, указывая на возможность ограничения использования организмом других физиологических механизмов борьбы со свободными радикалами. Результаты исследований послужат нутригеномным обоснованием при разработке состава новой фитокомбиации.

Ключевые слова

нутригеномика животных, экспрессия генов, антиоксидантный статус, фитобиотики, цыплята-бройлеры

Для цитирования

Селионова М.И., Загарин А.Ю., Куликов Е.И. Молекулярно-генетическая и биохимическая оценка антиоксидантного статуса цыплят-бройлеров (*Gallus gallus domesticus*) при использовании в кормлении разных фитобиотиков // Тимирязевский биологический журнал. 2024. Т. 2, № 4. С. 6-14. <https://doi.org/10.26897/2949-4710-2024-2-4-6-14>



Molecular-genetic and biochemical evaluation of the antioxidant status of broiler chickens (*Gallus gallus domesticus*) using different phytobiotics in the diet

Marina I. Selionova¹, Artem Yu. Zagarin¹, Egor I. Kulikov²

¹ Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy, Moscow, Russia

² All-Russian Research and Technological Poultry Institute, Sergiev Posad, Russia

Corresponding author: Artem Yu. Zagarin; azagarin@rgau-msha.ru

Abstract

One of the key problems of poultry production is the fight against stresses of various etiologies, united by a single biological mechanism – accumulation of free radicals and oxidative stress. It has been established that vitagens play a significant role in the fight against oxidative stress, the transcriptional activity of which is increased under the influence of various nutritional factors, including phytobiotics. Based on this, the aim of the research was to analyze the expression of genes related to antioxidant defence (AOD) in broiler chickens (*Gallus gallus domesticus*) when different phytobiotics are used in the diet and to compare the results obtained with the analysis of biochemical parameters of AOD in blood serum. A zootechnical experiment was carried out on broiler chickens of the cross Smena 9, in which the control group was fed the main diet and four experimental groups were fed the mixed feed with plant extracts of common chicory (*Cichorium intubus* L.), St. John's wort (*Hypericum perforatum* L.), safflower (*Rhaponticum carthamoides* L.) and thyme (*Thymus serpyllum* L.). At 22 days of age, blood samples were taken for biochemical analysis, and at 26 days of age, liver samples were taken to assess the relative expression of *SOD1* and *PRDX6* genes by the $2^{-\Delta\Delta CT}$ method, for which RNA isolation, reverse transcription and PCR-RT with the 'housekeeping' reference gene *ACTB* were performed. The results showed a 4.47-fold increase in *SOD1* expression when chicory extract was used and 3.53-fold increase when St. John's wort extract was used. At the same time, St. John's wort flavonoids showed the most visible vitagen-stimulating effect, which was confirmed by the low variability of *SOD1* expression and a decreased values of blood AOD indicators, indicating the possibility of limiting the use of other physiological mechanisms of free radical control by the organism. The results of the research will serve as a nutrigenomic justification for the development of the composition of a new phytocombination.

Keywords

animal nutrigenomics, gene expression, antioxidant status, phytobiotics, broiler chickens

Conflict of interests

The authors declare no relevant conflict of interests.

For citation

Selionova M.I., Zagarin A.Yu., Kulikov E.I. Molecular-genetic and biochemical evaluation of the antioxidant status of broiler chickens (*Gallus gallus domesticus*) using different phytobiotics in the diet. *Timiryazev Biological Journal*. 2024;2(4):6-14. https://doi.org/10.26897/2949-4710-2024-2-4-6-14

Введение Introduction

Птицеводство – наиболее интенсивная отрасль животноводства, что обуславливает постоянное сопровождение технологии производства продукции птицеводства стрессами. К их числу относят транспортные, вакцинальные, тепловые, предубойные, в итоге объединяемые единым механизмом – накоплением активных форм кислорода и продуктов перекисного окисления и развитием окислительного стресса [1].

Одним из механизмов борьбы с окислительным стрессом является активация так называемых витагенов – генов, кодирующих белки, связанных

с индукцией ответной реакции на стресс. Концепция витагенов нашла свое применение в животноводстве. К числу ключевых витагенов относят гены, в результате экспрессии которых образуются антиоксидантные ферменты (супероксиддисмутаза, глутатионпероксидаза, каталаза), белки теплового шока и тиоредоксиновой системы, сиртуины [2].

Отмечено, что различные биологически активные соединения растений способны активировать витагены, повышая резистентность организма к негативному влиянию свободных радикалов и источникам различных стрессов [3].

Таким образом, фитобиотики – растительные биологически активные добавки, помимо укрепления иммунного статуса животных, повышения

продуктивности, улучшения потребления, переваримости, усвояемости нутриентов корма, нормализации кишечной микробиоты и гомеостаза [4], обладающие также стресспротекторными и антиоксидантными свойствами посредством активации экспрессии витагенов.з

Цель исследований: молекулярно-генетическая (нутригеномная) и биохимическая оценка антиоксидантного статуса цыплят-бройлеров (*Gallus gallus domesticus*) при использовании в их питании растительных экстрактов с различными биологически активными веществами.

Методика исследований Research method

Использование животных в данном исследовании одобрено Комиссией по биоэтике ФГБОУ ВО «Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева» (протокол № 16 от 30 января 2024 г.).

В соответствии с методикой проведения научных и производственных исследований по кормлению сельскохозяйственной птицы ВНИТИП [5] в условиях учебно-производственного птичника РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева был проведен научный эксперимент на цыплятах-бройлерах кросса Смена 9. Эксперимент включал в себя весь период выращивания цыплят и составил 35 суток. Инкубация яиц и вакцинация молодняка осуществлялась на базе селекционно-генетического центра «Загорское ЭПХ» (Сергиев Посад, Россия). После транспортировки цыплят методом сбалансированных групп-аналогов было сформировано 5 групп по 36 гол. в каждой. Половое соотношение в группах носило рандомизированный характер. Система содержания цыплят – клеточная, кормление и поение – вволю с использованием вакуумных/ниппельных поилок и бункерных/желобковых кормушек в разные периоды

выращивания. Технологические параметры, включая плотность посадки, температурный и влажностный режим, режим освещенности, содержание в комбикормах обменной энергии и питательных веществ, соответствовали руководству по работе с птицей данного кросса [6]. Экспериментально созданные факторы стресса в исследованиях не использовали.

Рацион 1 контрольной группы был представлен полнорационными фазовыми комбикормами: «Старт» – 0-10 суток; «Рост» – 11-22 суток; «Финиш» – 23-35 суток. Птице опытных групп в состав комбикормов дополнительно методом ступенчатого смешивания вводили сухие растительные экстракты в соответствии со схемой (табл. 1).

Экстракт *C. intubus* L. стандартизирован на инулин (концентрация – 90%), служащий пребиотиком – питательным субстратом для развития нормальной микробиоты кишечника птицы. Экстракт *H. perforatum* L. включает в свой состав флавоноиды с концентрацией 7,3% в пересчете на рутин, *T. serpyllum* L. – флавоноиды с концентрацией 3,6% в пересчете на рутин и дубильные вещества с концентрацией 18,4% в пересчете на танины. Названные биологически активные вещества использовали в исследованиях, поскольку известно, что они обладают антиоксидантными, иммуномодулирующими и антимикробными свойствами. Экстракт *R. carthamoides* L. был стандартизирован на фитостероид экистен с концентрацией 0,505%, функция экистена заключается в активации биосинтеза белка и, соответственно, интенсификации роста птицы. Все используемые добавки были получены в результате водной экстракции: экстракт цикория обыкновенного – из корневой системы растения на базе биотехнологического предприятия ООО Натуринг (Москва, Россия) в соответствии со стандартами ISO 9001:2015 и 22000:2018, экстракты левзеи сафлоровидной (корневая система), зверобоя продырявленного (побеги) и тимьяна ползучего (побеги) – на биотехнологическом

Таблица 1

Схема введения растительных экстрактов в комбикорма цыплят-бройлеров

Группа	Комбикорм		
	Старт (0-10 сут.)	Рост (11-22 сут.)	Финиш (23-35 сут.)
1 контроль	–		
2 опыт	450 г/т экстракта цикория обыкновенного (<i>Cichorium intubus</i> L.)		560 г/т экстракта цикория обыкновенного (<i>Cichorium intubus</i> L.)
3 опыт	350 г/т экстракта зверобоя продырявленного (<i>Hypericum perforatum</i> L.)		430 г/т экстракта зверобоя продырявленного (<i>Hypericum perforatum</i> L.)
4 опыт	170 г/т экстракта левзеи сафлоровидной (<i>Rhaponticum carthamoides</i> L.)		210 г/т экстракта левзеи сафлоровидной (<i>Rhaponticum carthamoides</i> L.)
5 опыт	200 г/т экстракта тимьяна ползучего (<i>Thymus serpyllum</i> L.)		250 г/т экстракта тимьяна ползучего (<i>Thymus serpyllum</i> L.)

Scheme of introduction of plant extracts into mixed feed for broiler chickens

Group	Mixed feed		
	Starter (0-10 days)	Grower (11-22 days)	Finisher (23-35 days)
1st control	–		
2nd experience	450 g/t of common chicory extract (<i>Cichorium intubus</i> L.)		560 g/t of common chicory extract (<i>Cichorium intubus</i> L.)
3d experience	350 g/t of St. John's wort extract (<i>Hypericum perforatum</i> L.)		430 g/t of St. John's wort extract (<i>Hypericum perforatum</i> L.)
4th experience	170 g/t of lewesia safflower extract (<i>Rhaponticum carthamoides</i> L.)		210 g/t of lewesia safflower extract (<i>Rhaponticum carthamoides</i> L.)
5th experience	200 g/t of extract thyme (<i>Thymus serpyllum</i> L.)		250 g/t of extract thyme (<i>Thymus serpyllum</i> L.)

предприятия ООО «Вистерра» (Алтайский край, Россия) в соответствии со стандартом ISO 22000:2005. Экстракты представляют собой сухие мелкодисперсные порошки белого (*C. intubus* L.), светло-коричневого (*H. perforatum* L., *T. serpyllum* L.) и темно-коричневого (*R. carthamoides* L.) цвета.

С целью проведения биохимического мониторинга антиоксидантного статуса цыплят-бройлеров в возрасте 22 суток у 3 цыплят со средней живой массой из каждой группы из подкрыльцовой вены отбирали кровь в пробирки с активатором свертывания, центрифугировали и отделяли сыворотку. Указанный возраст был выбран в связи с окончанием ростовой фазы выращивания цыплят-бройлеров и стабилизацией биохимического состава крови перед последующей сменой рациона.

На базе ФГБНУ ФИЦ ВИЖ имени Л.К. Эрнста осуществляли лабораторные исследования сыворотки крови. Для характеристики антиоксидантного статуса птицы определяли такие показатели, как концентрация активных продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (ТБК-АП), используя при анализе наборы ООО «Агат-Мед» (Россия), ферментативную активность церулоплазмينا (ЦП) согласно методу Ревина, суммарную концентрацию водорастворимых антиоксидантов (СКВА) с применением прибора Цвет Яуза-01-АА с детектором (НПО «Химавтоматика», Россия) амперометрическим методом. Дополнительно рассчитывали соотношение ТБК-АП к ЦП.

С целью относительной оценки транскрипционной активности генов, связанных с антиоксидантным профилем птицы, из каждой группы отбирали по 4 особи со средней живой массой по группе. Возраст птицы на момент взятия образцов – 26 суток – был обоснован наиболее интенсивным ростом цыплят в этот период онтогенеза и потенциально более выраженными различиями в транскрипционной активности наиболее функционально значимых генов.

В соответствии с Рекомендацией Коллегии Евразийской экономической комиссии от 14 ноября 2023 г. № 33 «О Руководстве по работе с лабораторными (экспериментальными) животными при проведении доклинических (неклинических) исследований» цыплят подвергали эвтаназии, проводили вскрытие и отбирали образцы тканей печени. С целью предупреждения распада РНК образцы фиксировали с помощью препарата IntactRNA («Евроген», Россия) и хранили до проведения лабораторных исследований при температуре –20°C.

Молекулярные исследования проводили в условиях лаборатории прикладной генетики ФГБНУ ФНЦ «ВНИТИП». В соответствии с принятым протоколом образцы гомогенизировали, проводили лизис клеток и выделяли суммарную РНК с помощью набора RNA Solo («Евроген», Россия). Далее проводили реакцию обратной транскрипции, используя набор Magnus («Евроген», Россия) и амплификатор GeneExplorer GE-96G (Bioer, Китай). Для оценки количества выделенной РНК и синтезированной кДНК использовали флуориметр Fluo-200 (Allsheng, Китай) и набор QuDu ssDNA (Thermo Fisher Scientific, США). Полимеразную цепную реакцию в реальном времени (ПЦР-РВ) осуществляли на амплификаторе QuantStudio 5 (Thermo Fisher Scientific, США), используя в качестве контрольного гена «домашнего хозяйства» *ACTB*. Смесь для ПЦР готовили с применением набора 5X qPCRmix-HS SYBR («Евроген», Россия). Режим амплификации следующий: 3 мин при температуре 95°C (предварительный денатурация); 30 с при 95°C; 30 с при 60°C; 30 с при 72°C (40 циклов). Все этапы молекулярных исследований осуществляли с соблюдением режимов протоколов от производителей наборов реагентов. Для оценки относительной экспрессии генов использовали метод $2^{-\Delta\Delta CT}$ [7]. В таблице 2 представлена нуклеотидная последовательность праймеров, использованных для постановки ПЦР.

Математическая обработка данных была проведена с использованием компьютерной программы Microsoft Excel 2021 с помощью однофакторного дисперсионного анализа и t-критерия Стьюдента. Разность считали достоверной при $p \leq 0,05$.

Результаты и их обсуждение

Results and discussion

По результатам выращивания было установлено, что цыплята-бройлеры опытных групп превосходили контроль по сохранности поголовья. Так, значение данного показателя в контрольной группе составило 91,7%, в то время как в опытных группах – 97,2% в группах с включением в комбикорма экстрактов левзеи и тимьяна, 100% – при использовании экстрактов цикория и зверобоя. При скормливании цыплятам экстракта *R. carthamoides* L., стандартизированного на фитостероид экдистен, было установлено превосходство особей опытной группы над контролем на 13,9 и 9,4% в 7 и 14 суток соответственно ($p \leq 0,05$). По результатам заключительного взвешивания не было установлено достоверной разности, однако особи опытной группы имели живую массу на 4,1-7,5% выше, чем при использовании комбикормов без ввода экстрактов. Курочки, получавшие экстракт левзеи, превосходили контрольных на 11,0%. Также следует отметить повышение потребления корма цыплятами опытных групп, что указывает на вероятное удовлетворение вкусовых предпочтений птицы.

В таблице 3 представлены результаты молекулярных исследований по определению транскрипционной активности генов *SOD1* и *PRDX6*.

Известно, что гены семейства *SOD* – ключевые витамины, связанные с антиоксидантной активностью организма, поскольку продукт их экспрессии – фермент супероксиддисмутаза – дисмутирует перекисные радикалы с образованием кислорода и перекиси водорода, которая детоксифицируется в дальнейшем под действием других антиоксидантных ферментов: GSH-Px и CAT [2]. Результаты исследований свидетельствовали о том, что наивысшая экспрессия гена *SOD1* была установлена в тканях печени цыплят-бройлеров 2 опытной группы (экстракт цикория) – в 4,47 раза выше контроля, $p \leq 0,05$. Достоверное повышение транскрипционной активности названного гена было установлено также в 3 опытной группе (экстракт зверобоя) – в 3,53 раза выше контроля, $p \leq 0,01$. Это указывает на витагенстимулирующие свойства растительных экстрактов *C. intubus* L. и *H. perforatum* L., свидетельствуя о возможности их использования в качестве биологически активных добавок с антиоксидантной и стресспротекторной функцией.

Экспрессия гена *PRDX6* в опытных группах относительно контроля несколько повышалась, но изменения не носили достоверного характера. Это может быть связано с низкой чувствительностью экспрессии названного гена по отношению к алиментарным факторам, что определенным образом соответствует гипотезе Han et al. о рассмотрении *PRDX6* в качестве гена «домашнего хозяйства» [9].

Таблица 2

Нуклеотидная последовательность праймеров

Ген	Праймеры	Автор
<i>ACTB</i> (β -актин)	F: CTGTGCCCATCTATGAAGGCTA R: ATTTCTCTCTCGGCTGTGGTG	Лаптев Г.Ю. и др., 2023 [8]
<i>SOD1</i> (супероксиддисмутаза 1)	F: CGGGCCAGTAAAGGTTACTGGAA R: TGTTGTCTCCAAATTCATGCACATG	
<i>PRDX6</i> (пероксиредоксин 6)	F: GCATCCGCTTCCACGACTTCCT R: CCGCTCATCCGGGTCCAACAT	

Table 2

Nucleotide sequence of primers

Gene	Primers	Author
<i>ACTB</i> (β -actin)	F: CTGTGCCCATCTATGAAGGCTA R: ATTTCTCTCTCGGCTGTGGTG	Laptev G. Yu. et al., 2023 [8]
<i>SOD1</i> (superoxide dismutase 1)	F: CGGGCCAGTAAAGGTTACTGGAA R: TGTTGTCTCCAAATTCATGCACATG	
<i>PRDX6</i> (peroxiredoxin 6)	F: GCATCCGCTTCCACGACTTCCT R: CCGCTCATCCGGGTCCAACAT	

Таблица 3

Тепловая карта экспрессии генов, связанных с антиоксидантной защитой организма, у цыплят-бройлеров, n = 4, 26 сут.

Ген	Группа				
	1 контроль	2 опыт	3 опыт	4 опыт	5 опыт
SOD1	–	↑*	↑**	↑	↑
2-ΔΔCT, OE	1,00	4,47	3,53	2,63	2,00
Cv, %	–	54,2	23,8	51,1	80,1
PRDX6	–	↑	↑	↑	↑
2-ΔΔCT, OE	1,00	2,12	1,56	8,84	2,52
Cv, %	–	100,2	138,0	90,8	70,9

*, ** – Разность достоверна по отношению к контролю при $p < 0,05$, $p < 0,01$.

Table 3

Heat map of expression of genes related to antioxidant defence in broiler chickens, n=4, 26 days old

Gene	Group				
	1st control	2nd experience	3d experience	4th experience	5th experience
SOD1	–	↑*	↑**	↑	↑
2-ΔΔCT, OE	1.00	4.47	3.53	2.63	2.00
Cv, %	–	54.2	23.8	51.1	80.1
PRDX6	–	↑	↑	↑	↑
2-ΔΔCT, OE	1.00	2.12	1.56	8.84	2.52
Cv, %	–	100.2	138.0	90.8	70.9

*, ** – difference is reliable in relation to control at $p < 0.05$, $p < 0.01$

Использование в питании цыплят-бройлеров экстрактов левзеи сафлоровидной и тимьяна ползучего не привело к достоверным изменениям транскрипционной активности рассматриваемых витагенов.

Результаты нутригеномного анализа в определенной мере подтверждались итогами биохимического исследования, показатели которого представлены в таблице 4.

Суммарная концентрация водорастворимых антиоксидантов – интегральный показатель, представляющий собой один из наиболее информативных маркеров уровня антиоксидантной защиты и состояния перекисного окисления липидов в сыворотке крови [10]. Церулоплазмин – один из ключевых нейтрализаторов внеклеточных свободных радикалов, обеспечивающий специфическое ингибирование повреждения различных биологических соединений [11]. Медь и железо в составе

церулоплазмينا способствуют остановке окислительных реакций в организме, предотвращая накопление оксидантов [12]. Несмотря на отсутствие достоверных различий между группами по данным показателям, следует отметить, что в 3 опытной группе, цыплятам которой скармливали экстракт *H. perforatum* L., значения были наименьшими. Вероятно, это может объясняться высокой антиоксидантной активностью печени, установленной по результатам анализа экспрессии гена *SOD*, обуславливающей отсутствие необходимости в дополнительных механизмах антиокислительной защиты организма птицы. На это указывает, в том числе, наименьшая варибельность показателей АОЗ в 3 группе: Cv (коэффициент вариации) экспрессии *SOD* составил 23,8%, в то время как в других опытных – 51,1-80,1%, Cv по показателю СКВА в 3 группе – 6,8%, при значениях 15,3-40,1% в других, контрольной и опытных, группах.

Таблица 4

Показатели антиоксидантной защиты сыворотки крови цыплят-бройлеров, n = 3, 22 сут.

Показатель	Группа				
	1 контроль	2 опыт	3 опыт	4 опыт	5 опыт
СКВА, мг/л	26,0±6,01	33,0±5,70	20,6±0,81	20,7±1,83	35,4±6,00
Церулоплазмин, мг/л	56,0±0,58	81,7±18,32	49,3±3,18	51,7±1,76	62,7±4,91
ТБК-АП, мкмоль/л	2,8±0,10	3,3±0,41	3,0±0,36	3,3±0,39	3,1±0,23
ЦП / ТБК-АП	20,3±0,89	24,3±3,09	16,6±0,89*	16,2±1,34	20,1±1,94

* – разность достоверна по отношению к контролю при $p \leq 0,05$; СКВА – суммарная концентрация водорастворимых антиоксидантов; ТБК-АП – активные продукты, реагирующие с тиобарбитуровой кислотой; ЦП / ТБК-АП – отношение концентрации церулоплазмينا к содержанию активных продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой.

Table 4

Indicators of antioxidant defence of blood serum of broiler chickens, n=3, 22 days old

Indicator	Group				
	1st control	2nd experience	3d experience	4th experience	5th experience
TCWA, mg/l	26,0±6,01	33,0±5,70	20,6±0,81	20,7±1,83	35,4±6,00
Ceruloplasmin, mg/l	56,0±0,58	81,7±18,32	49,3±3,18	51,7±1,76	62,7±4,91
TBA-AP, $\mu\text{Mol/L}$	2,8±0,10	3,3±0,41	3,0±0,36	3,3±0,39	3,1±0,23
CP / TBA-AP	20,3±0,89	24,3±3,09	16,6±0,89*	16,2±1,34	20,1±1,94

* – difference is reliable in relation to control at $p \leq 0,05$; TCWA – total concentration of water-soluble antioxidants; TBA-AP – active products reacting with thiobarbituric acid; CP / TBA-AP – ratio of ceruloplasmin concentration to the content of active products reacting with thiobarbituric acid

Данная гипотеза также определенным образом подтверждается результатами определения концентрации активных продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой, которая в 3 группе была минимальной в сравнении с другими опытными. Реакция с тиобарбитуровой кислотой (ТБК) используется для оценки состояния перекисного окисления липидов и основана на способности ТБК реагировать с малоновым диальдегидом (МДА) – низкомолекулярным соединением, представляющим промежуточный продукт ферментативного окисления арахидоновой кислоты и конечный продукт окислительной деградации липидов [11]. Рассматривая опытные группы в сравнении, также отметили наименьшую концентрацию ТБК-АП в 3 группе, что указывает на эффективные механизмы борьбы организма птицы со свободными радикалами и перекисным окислением липидов, индуцируемые биологически активными соединениями экстракта *H. perforatum* L. Факт наибольшего содержания ТБК-АП в опытных группах относительно контроля, вероятно, связан с наиболее

интенсивным липидным метаболизмом и отложением жира у цыплят, получающих фитобиотики, по сравнению с контрольными аналогами, что было установлено нами ранее [13].

Вышеизложенное подтверждается значением расчетного показателя отношения церулоплазмينا к продуктам, реагирующим с тиобарбитуровой кислотой, которое в 3 опытной группе было на 18,2% ниже, чем в контроле ($p \leq 0,05$).

Во 2 опытной группе несмотря на то, что экспрессия *SOD* была выше контроля, содержание СКВА и церулоплазмينا также увеличивались, в то время как концентрация ТБК-АП была наивысшей. Вероятно, это связано с тем, что активация экспрессии гена *SOD* в этой группе происходила под влиянием микробиоты кишечника, состав которой стабилизировался под действием инулина. Об активации витагенов микроорганизмами ЖКТ сообщалось в исследованиях П.Ф. Сурая [5]. Таким образом, организм птицы 2 группы нуждался как в активности антиоксидантных ферментов, кодируемых описанными

витагенами, так и в действии прочих антиоксидантных соединений. Биологически активные компоненты экстракта *Hypericum perforatum* L. – флавоноиды – действовали на транскрипционную активность *SOD* не опосредованно, а напрямую.

Выводы Conclusions

Таким образом, экстракт зверобоя продырявленного (*H. perforatum* L.), стандартизированный на флавоноиды, проявляет витагенстимулирующий эффект, повышая

активность гена *SOD*, позволяя ограничить использование организмом других физиологических механизмов борьбы со свободными радикалами. Экстракт цикория обыкновенного (*C. intubus* L.) также способствовал росту транскрипционной активности гена *SOD*, однако это влияние было менее выраженным и не подтверждалось результатами биохимической оценки антиоксидантного статуса цыплят-бройлеров. Полученные данные могут являться нутригеномным обоснованием при разработке состава новой фитокомбинации, в которой экстракт *H. perforatum* L. будет служить ключевым антиоксидантным компонентом.

Список источников

1. Мифтахутдинов А.В., Сайфульмулюков Э.Р. Научное обоснование и реализация комплексного подхода к фармакологической профилактике технологических стрессов в промышленном птицеводстве // *Достижения науки и техники АПК*. 2023. Т. 37, № 12. С. 32-38. https://doi.org/10.53859/02352451_2023_37_12_32
2. Сурай П.Ф., Кочиш И.И., Фисинин В.И., Грозина А.А. и др. *Молекулярные механизмы поддержания здоровья кишечника птицы: роль микробиоты*: Монография. Москва: «Сельскохозяйственные технологии», 2018. 344 с. EDN: YUFGIH
3. Kouvedaki I., Pappas A.C., Surai P.F., Zoidis E. Nutrigenomics of Natural Antioxidants in Broilers. *Antioxidants*. 2024;13:270. <https://doi.org/10.3390/antiox13030270>
4. Багно О.А., Прохоров О.Н., Шевченко С.А., Шевченко А.И. и др. Фитобиотики в кормлении сельскохозяйственных животных // *Сельскохозяйственная биология*. 2018. Т. 53, № 4. С. 687-697. <https://doi.org/10.15389/agrobiology.2018.4.687rus>
5. Егоров И.А., Манукян В.А., Ленкова Т.Н., Околелова Т.М. и др. *Методика проведения научных и производственных исследований по кормлению сельскохозяйственной птицы. Молекулярно-генетические методы определения микрофлоры кишечника*: Учебное пособие. Сергиев Посад: Весь Сергиев Посад, 2013. 51 с. EDN: SDOKYP
6. Ефимов Д.Н., Егорова А.В., Емануйлова Ж.В., Иванов А.В. и др. *Руководство по работе с птицей мясного кросса «Смена 9» с аутосексной материнской родительской формой (племенная работа; инкубация яиц; технология выращивания, содержания; кормление; здоровье и биобезопасность)*: Методические указания. Сергиев Посад: Федеральный научный центр «Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт птицеводства» Российской академии наук, 2021. 95 с. EDN: AJBTFN
7. Livak K.J., Schmittgen T.D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta CT}$ method. *Methods*. 2001;25(4):402-408. <https://doi.org/10.1006/meth.2001.1262>
8. Лаптев Г.Ю., Йылдырым Е.А., Ильина Л.А., Филиппова В.А. и др. Экспрессия генов иммунитета и адаптации и состав микробиома у родительского поголовья

References

1. Miftakhutdinov A.V., Saifulmulyukov E.R. Scientific substantiation and implementation of an integrated approach to pharmacological prevention of technological stress in industrial poultry farming. *Achievements of Science and Technology in the Agro-Industrial Complex*. 2023;37(12):32-38. (In Russ.) https://doi.org/10.53859/02352451_2023_37_12_32
2. Surai P.F., Kochish I.I., Fisinin V.I. et al. *Molecular mechanisms for maintaining poultry intestinal health: the role of the microbiota: a monograph*. Moscow, Russia: Selskohozyaystvennye tekhnologii, 2018:344. (In Russ.)
3. Kouvedaki I., Pappas A.C., Surai P.F. et al. Nutrigenomics of Natural Antioxidants in Broilers. *Antioxidants*. 2024;13:270. <https://doi.org/10.3390/antiox13030270>
4. Bagno O.A., Prokhorov O.N., Shevchenko S.A. et al. Use of phytobiotics in farm animal feeding. *Agricultural Biology*. 2018;53(4):687-697. (In Russ.) <https://doi.org/10.15389/agrobiology.2018.4.687rus>
5. Egorov I.A., Manukyan V.A., Lenkova T.N. et al. *Methodology of scientific and production research on poultry feeding. Molecular-genetic methods of intestinal microflora determination: a training manual*. Sergiev Posad, Russia: Ves' Sergiev Posad, 2013:51. (In Russ.)
6. Efimov D.N., Egorova A.V., Emanuilova Z.V. et al. *Manual on work with poultry of meat cross 'Smena 9' with autosex maternal parental form: (breeding work; egg incubation; technology of growing, housing; feeding; health and biosafety): methodological guidelines*. Sergiev Posad, Russia: Federalniy nauchniy tsentr "Vserossiyskiy nauchno-issledovatel'skiy i tekhnologicheskiy institut ptitsevodstva" Rossiyskoy akademii nauk, 2021:95. (In Russ.)
7. Livak K.J., Schmittgen T.D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta CT}$ method. *Methods*. 2001;25(4):402-408. <https://doi.org/10.1006/meth.2001.1262>
8. Laptev G.Yu., Yildirim E.A., Ilyina L.A. et al. Expression of genes of immune response and adaptation and cecal microbiome composition in males and females of chickens

кур и петухов (*Gallus gallus* L.) линий CM5 и CM9 кросса Смена 9 // *Сельскохозяйственная биология*. 2023. Т. 58, № 2. С. 313-332. <https://doi.org/10.15389/agrobiology.2023.2.313rus>

9. Han J.Y., Song K.D., Shin J.H., Han B.K. et al. Identification and Characterization of the Peroxiredoxin Gene Family in Chickens. *Poultry Science*. 2005;84:1432-1438. <https://doi.org/10.1093/ps/84.9.1432>

10. Боголюбова Н.В. Некоторые аспекты антиоксидантной защиты в организме молодняка крупного рогатого скота // *Аграрная наука*. 2023. Т. 370, № 5. С. 38-41. <https://doi.org/10.32634/0869-8155-2023-370-5-38-41>

11. Боголюбова Н.В., Некрасов Р.В., Никанова Д.А. и др. Биохимические и молекулярно-генетические индикаторы антиоксидантной защиты и иммунитета у петушков (*Gallus gallus domesticus*) разных генотипов // *Сельскохозяйственная биология*. 2023. Т. 58, № 4. С. 669-684. <https://doi.org/10.15389/agrobiology.2023.4.669rus>

12. Савина А.А., Воронина О.А., Зайцев С.Ю. Сезонные закономерности изменения антиоксидантных и микроэлементных параметров молока коров черно-пестрой породы // *Аграрная наука Евро-Северо-Востока*. 2023. Т. 24, № 5. С. 858-867. <https://doi.org/10.30766/2072-9081.2023.24.5.858-867>

13. Selionova M.I., Trukhachev V.I., Zagarin A.Yu., Kulikov E.I. et al. Expression of Genes Related to Meat Productivity, Metabolic and Morphological Significance of Broiler Chickens with the Use of Nutritional Phytochemicals. *Animals*. 2024;14:2958. <https://doi.org/10.3390/ani14202958>

(*Gallus gallus* L.) in CM5 and CM9 parental lines of Smena 9 cross. *Agricultural Biology*. 2023;58(2):313-332. (In Russ.) <https://doi.org/10.15389/agrobiology.2023.2.313rus>

9. Han J.Y., Song K.D., Shin J.H. et al. Identification and Characterization of the Peroxiredoxin Gene Family in Chickens. *Poultry Science*. 2005;84:1432-1438. <https://doi.org/10.1093/ps/84.9.1432>

10. Bogolyubova N.V. Some aspects of antioxidant protection in the body of young cattle. *Agrarian Science*. 2023;370(5):38-41. (In Russ.) <https://doi.org/10.32634/0869-8155-2023-370-5-38-41>

11. Bogolyubova N.V., Nekrasov R.V., Nikanova D.A. et al. Biochemical and molecular genetic indicators of antioxidant protection and immunity in mail chicks (*Gallus gallus domesticus*) of different genotypes. *Agricultural biology*. 2023;58(4):669-684. (In Russ.) <https://doi.org/10.15389/agrobiology.2023.4.669rus>

12. Savina A.A., Voronina O.A., Zaitsev S.Yu. Seasonal patterns of changes in antioxidant and microelement parameters of milk from black-and-white cows. *Agrarian Science Euro-North-East*. 2023;24(5):858-867. (In Russ.) <https://doi.org/10.30766/2072-9081.2023.24.5.858-867>

13. Selionova M.I., Trukhachev V.I., Zagarin A.Yu. et al. Expression of Genes Related to Meat Productivity, Metabolic and Morphological Significance of Broiler Chickens with the Use of Nutritional Phytochemicals. *Animals*. 2024;14:2958. <https://doi.org/10.3390/ani14202958>

Сведения об авторах

Марина Ивановна Селионова, проректор по научной работе, профессор кафедры разведения, генетики и биотехнологии животных, доктор биологических наук, профессор РАН, Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева; 127434, Российская Федерация, Москва, ул. Тимирязевская, 49; selionova@rgau-msha.ru; <https://orcid.org/0000-0002-9501-8080>

Артем Юрьевич Загарин, аспирант, ассистент кафедры разведения, генетики и биотехнологии животных, Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева; 127434, Российская Федерация, Москва, ул. Тимирязевская, 49; azagarin@rgau-msha.ru; <https://orcid.org/0000-0002-3782-3903>

Егор Игоревич Куликов, аспирант, заведующий лабораторией прикладной генетики, Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт птицеводства; 141311, Российская Федерация, Сергиев Посад, ул. Птицеградская, 10; kulikovigor33@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0001-5553-4454>

Статья поступила в редакцию 21.10.2024
Одобрена после рецензирования 10.12.2024
Принята к публикации 20.12.2024

Information about the authors

Marina I. Selionova, DSc (Bio), Professor of the Russian Academy of Sciences, Vice Rector for Research, Professor at the Department of Animal Breeding, Genetics and Biotechnology, Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy (49 Timiryazevskaya St., Moscow, 127434, Russian Federation); e-mail: selionova@rgau-msha.ru; <https://orcid.org/0000-0002-9501-8080>

Artem Yu. Zagarin, postgraduate student, Assistant at the Department of Animal Breeding, Genetics and Biotechnology, Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy (49 Timiryazevskaya St., Moscow, 127434, Russian Federation); e-mail: azagarin@rgau-msha.ru; <https://orcid.org/0000-0002-3782-3903>

Egor I. Kulikov, postgraduate student, Head of the Laboratory of Applied Genetics, Federal Scientific Center “All-Russian Research and Technological Poultry Institute” (10, Ptitsegradskaya St., Sergiev Posad, 141311, Russian Federation); e-mail: kulikovigor33@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0001-5553-4454>

The article was submitted to the editorial office October 21, 2024
Approved after reviewing December 10, 2024
Accepted for publication December 20, 2024