

KONCENTRACE KORTIKOSTERONU V KREVNI PLAZMĚ NOSNIC (*GALLUS DOMESTICUS*) V PRŮBĚHU SNÁŠKOVÉHO CYKLU

A. Pavlík, Z. Havlíček

Došlo: 6. února 2004

Abstract

PAVLÍK, A., HAVLÍČEK, Z.: *Plasma corticosterone concentration in laying hens (Gallus Domesticus) during the laying period*. Acta univ. agric. et silvic. Mendel. Brun., 2004, LII, No. 2, pp. 27-32

The aim of this work was to study corticosterone concentration in the plasma of laying hens (*Gallus domesticus*) during the laying period. The experiment included 12 ISA Brown laying hens, which were caged in enriched cage system according to EU directive 1999/74. They were fed by complete diet for laying hens. Blood samples were taken between 15th and 75th week of age. Mean corticosterone concentration during the whole period was $2,86 \pm 0,086 \text{ nmol.l}^{-1}$ and ranged from $1,76 \pm 0,135$ to $3,98 \pm 0,0357 \text{ nmol.l}^{-1}$. Plasma corticosterone concentration increased significantly ($P \leq 0,01$) at the beginning of the laying period. Then followed slight variation until 47th week of age. Corticosterone concentration increased significantly ($P \leq 0,01$) again at 52nd week of age to $3,98 \pm 0,236 \text{ nmol.l}^{-1}$. From 58th week of age to end of laying period plasma corticosterone concentration decreased and reached the value of $2,22 \pm 0,210 \text{ nmol.l}^{-1}$.

laying hens, corticosterone, enriched cage technology

This project was supported by the Ministry of Education and Sports of Czech Republic, Grant No 1023 3FR 1228 and NAZV QC 1128.

Kortikosteron je hlavní glukokortikoidní hormon u ptáků (FRANKEL, 1970; BEUVING a VONDER, 1977; CURTIS, et al., 1980; CARSIA a HARVEY, 2000). Při určitých situacích kortikosteron zvyšováním hladiny glukózy významně ovlivňuje metabolismus sacharidů, svými katabolickými účinky působí na metabolismus bílkovin a zapojuje se také do lipolytických procesů. Ovlivňuje srdeční činnost a krevní oběh, kdy zvyšuje kontrakce srdce a způsobuje periferní vazokonstrikci.

Je považován za jeden z významných ukazatelů hodnocení vnitřního prostředí zvířat v rámci indikace stresu, kdy se jeho sekrece zvyšuje jako odpověď na akutní stresové situace (BEUVING a VONDER, 1978). Jeho sekrece je cirkadiánní s večerním minimem a ranním maximem. Má mnoho variant působení a u drůbeže může např. inhibovat růst (DAVISON, et al., 1980), sni-

žovat velikost varlat (GROSS, et al., 1980) a vaječníků (PETITTE a ETCHES, 1991), vlivem jeho imunosupresivních účinků zvyšovat poměr heterofilních granulocytů a lymfocytů a zároveň snižovat imunitní odpověď protilátek na antigen (GROSS, et al., 1980), zesilovat pocit strachu (JONES, et al., 1988).

Zvýšení jeho hladiny je také spojováno s hustotou populace na jednotku plochy v klecových technologiích (LEI, et al., 1972; MASHALY, et al., 1982, 1984; EDENS, et al., 1982; KOELKEBECK a CAIN, 1983, 1984; CRAIG a CRAIG, 1985; KOELKEBECK et al., 1986; MENCH, et al., 1986; GIBSON et al., 1986; LAGADIC, et al., 1990; LITTIN a COCKREM, 2001). Problematikou koncentrace kortikosteronu v krevní plazmě nosnic ve vztahu k restrikci krmné dávky se zabývali např. KUBIKOVA, et al., (2001) a VESTERGAARD, et al., (1997),

uvádějí vliv zamezení přirozených projevů chování na hladinu kortikosteronu u nosnic.

Cílem pokusu bylo sledovat změny koncentrace kortikosteronu v krevní plazmě nosnic v průběhu snáškového cyklu ustájených v komfortní klecové technologii odpovídající požadavkům Směrnice Rady 1999/74/EC.

MATERIÁL A METODY

Třítázová technologie je vybavená šesti kapátkovými napáječkami, 20 cm žlábkového krmítka na nosnici, 15 cm hřadovacího prostoru na nosnici, prostorem k popelení a hřabání, zařízením pro zkracování drápů a snáškovým hnízdem. Sklon podlahy je 14 %, celková plocha na jednu nosnici je 0,094 m², využitelná plocha na 1 nosnici je 0,064 m². Do pokusu bylo vybráno 12 nosnic hybridní kombinace ISA Brown. Světelný režim se prodlužoval od 15. týdne věku podle technologického návodu až na 15 hodin. Nosnice byly po celou dobu pokusu krmeny kompletní krmnou směsí obsahující 875 g.kg⁻¹ sušiny; 170,7 g.kg⁻¹ NL; 25,95 g.kg⁻¹ vlákniny; 35,89 g.kg⁻¹ Ca; 6,27 g.kg⁻¹ P; 11,1 MJ ME. Krev pro stanovení kortikosteronu byla odebírána z *vena brachialis* do heparinizovaných zkumavek v 15., 22., 28., 35., 41., 47., 52., 58., 66. a 75. týdnu věku nosnic. Krev byla odebírána vždy mezi 8.⁰⁰ a 9.⁰⁰ hod. Pro minimalizaci vlivu zacházení s nosnicemi na zvýšení hladiny kortikosteronu v průběhu odběru krve netrvala doba odběru déle než 1,5 minuty. Po odstředění byly vzorky krevní plazmy až do následné analýzy uloženy při -20 °C. Stanovení koncentrace kortikosteronu bylo provedeno radioimunolytickou metodou použitou v práci JEŽOVÁ et al., 1994.

Statistické vyhodnocení bylo provedeno pomocí programu UNISTAT 4.53. Ze získaných dat byly vypočteny tyto souhrnné statistické charakteristiky:

aritmetický průměr $\bar{x}$, směrodatná odchylka SD, střední chyba průměru SE a variační koeficient V. Pro stanovení průkaznosti rozdílů mezi průměrnými hodnotami byla použita Kruskal-Wallisova jednofaktorová analýza rozptylu a následně mnohonásobné porovnávání pro t-rozdělení hodnocené na hladinách významnosti ($P \leq 0,05$) a ($P \leq 0,01$).

VÝSLEDKY

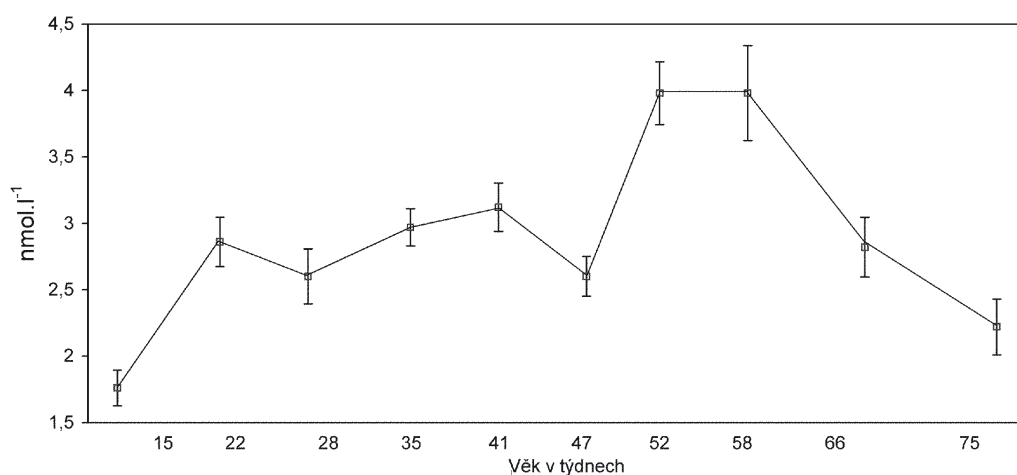
Průměrná koncentrace kortikosteronu v krevní plazmě nosnic za celé snáškové období byla $2,86 \pm 0,086$ nmol.l⁻¹ ($0,99 \pm 0,030$ ng.ml⁻¹). Průměrné koncentrace kortikosteronu v krevní plazmě nosnic v průběhu snáškového cyklu v jednotlivých časových termínech sledování se pohybovaly v rozmezí od $1,76 \pm 0,135$ do $3,98 \pm 0,357$ nmol.l⁻¹ ($0,61 \pm 0,047$ - $1,38 \pm 0,124$ ng.ml⁻¹), (tab I.). Ze zjištěných dat je zřejmé, že hladina kortikosteronu mírně kolísala v první polovině snáškového cyklu s následnou vzestupnou tendencí. V 52. týdnu věku slepic se koncentrace kortikosteronu v krevní plazmě výrazně zvyšuje a následně od 66. týdne opět snižuje až do konce sledování (obr. 1).

Nejnižší průměrná hodnota koncentrace kortikosteronu v krevní plazmě byla zjištěna v 15. týdnu věku nosnic $1,76 \pm 0,135$ nmol.l⁻¹ ($0,61 \pm 0,047$ ng.ml⁻¹). V 22. týdnu věku byl zaznamenán vysoce průkazný ($P \leq 0,01$) vzestup na $2,86 \pm 0,187$ nmol.l⁻¹ ($0,99 \pm 0,065$ ng.ml⁻¹). Ve 28. týdnu se koncentrace kortikosteronu neprůkazně snížila na průměrnou hodnotu $2,60 \pm 0,207$ nmol.l⁻¹ ($0,90 \pm 0,072$ ng.ml⁻¹) a následovalo neprůkazné zvyšování jeho hladiny až do 41. týdne věku, kdy jeho koncentrace dosahovala $3,12 \pm 0,181$ nmol.l⁻¹ ($1,08 \pm 0,063$ ng.ml⁻¹) a dále pokles v 47. týdnu na $2,60 \pm 0,150$ nmol.l⁻¹ ($0,90 \pm 0,052$ ng.ml⁻¹). V 52. týdnu věku se koncentrace kortikosteronu vysoce statisticky ($P \leq 0,01$) zvýšila

I: Průměrné hodnoty koncentrace kortikosteronu v průběhu snáškového cyklu (nmol.l⁻¹)

Týden	n	$\bar{x}$	SD	SE	V	P
15.	12	1,76	0,453	0,135	0,257	
22.	12	2,86	0,620	0,187	0,216	**
28.	12	2,60	0,718	0,207	0,276	
35.	12	2,97	0,493	0,141	0,167	
41.	12	3,12	0,601	0,181	0,193	
47.	12	2,60	0,473	0,150	0,181	
52.	12	3,98	0,747	0,236	0,188	**
58.	12	3,98	1,130	0,357	0,284	
66.	12	2,82	0,782	0,225	0,276	*
75.	12	2,22	0,730	0,210	0,326	

* $P \leq 0,05$; ** $P \leq 0,01$



1: Koncentrace kortikosteronu v krevní plazmě nosnic v průběhu snáškového cyklu ($\bar{x} \pm SE$)

a dosahovala maxima $3,98 \pm 0,236$ nmol.l⁻¹ ($1,38 \pm 0,082$ ng.ml⁻¹), které s malým rozdílem v 58. týdnu ($3,98 \pm 0,357$ nmol.l⁻¹) přetrvávalo až do 66. týdne, kdy nastal průkazný pokles ($P \leq 0,05$) na $2,82 \pm 0,225$ nmol.l⁻¹ ($0,98 \pm 0,078$ ng.ml⁻¹), který přetrvával až do 75. týdne s úrovní průměrné hodnoty $2,22 \pm 0,210$ nmol.l⁻¹ ($0,77 \pm 0,073$ ng.ml⁻¹).

DISKUSE

Kortikosteron v krevní plazmě nosnic byl sledován mnoha autory, především při určování vlivu různých podmínek prostředí na organismus zvířat. Z těchto důvodů je proto možné naše zjištění srovnávat s výsledky jiných autorů jen v obecné rovině.

V pracích některých autorů je prezentován vliv technologických systémů chovu na koncentraci kortikosteronu v krevní plazmě, a to zejména v závislosti na velikosti využitelné plochy klece připadající na jednu nosnici. Je obecně známo, že se koncentrace kortikosteronu zvyšuje s hustotou populace slepic, při níž dochází ke změnám podmínek prostředí a sociální struktury skupiny, což může působit stresově. Námi zjištěná celková průměrná hodnota množství kortikosteronu v krevní plazmě nosnic byla $2,86 \pm 0,086$ nmol.l⁻¹ ($0,99 \pm 0,030$ ng.ml⁻¹), při využitelné ploše 0,064 m². Podobné průměrné hodnoty zjistili KORTE, et al., (1997) 0,97 ng.ml⁻¹ při sledování koncentrace kortikosteronu nosnic plemene Leghorn white, avšak v tradiční klecové technologii a KOELKEBECK, et al., (1986), kteří uvádějí průměrnou hodnotu 0,98 ng.ml⁻¹ v klecové technologii s využitelnou plochou pro jednu nosnici 0,058 m². MASHALY, et al., (1984) zaznamenali signifikantní vliv hustoty populace na koncentraci kortikosteronu v klecích o ploše 1550 cm² při zvyšování počtu ze tří na pět nosnic. Při počtu tří nosnic v kleci, což odpovídá využitelné ploše 0,052 m², uvádějí průměrnou koncentraci

kortikosteronu 1,37 ng.ml⁻¹. KOELKEBECK a CAIN, (1984) zjistili průměrné koncentrace kortikosteronu v krevní plazmě nosnic 0,55 – 0,75 ng.ml⁻¹ ustájených v klecích s využitelnou plochou 0,039 – 0,116 m². V tomto případě však neprokázali vliv hustoty populace na zvyšování koncentrace kortikosteronu. Nižší průměrné koncentrace kortikosteronu v krevní plazmě nosnice udávají MENCH, et al., (1986) 0,57 ng.ml⁻¹ v klecové technologii s plochou 0,069 m².

LITTIN a COCKREM (2001) sledovali individuální rozdíly hladin kortikosteronu v krevní plazmě v 51. týdnu věku nosnic a zjistili průměrné koncentrace 1,46 – 1,55 ng.ml⁻¹, jež jsou o něco vyšší než jsme stanovili v našem experimentu v 52. týdnu věku. Hladiny kortikosteronu v krevní plazmě nosnic ustájených v klecové technologii, které korespondují s naším zjištěním, uvádějí LAGADIC, et al., (1990) 1,23 – 1,65 ng.ml⁻¹ v 58. týdnu věku nosnic. GIBSON, et al., (1986) naměřili průměrnou koncentraci kortikosteronu v krevní plazmě nosnic v klecových technologiích 1,43 ng.ml⁻¹.

Z hlediska vlivu výživy a techniky krmení může být restrikce v krmné dávce považována za stresový faktor ovlivňující sekreci kortikosteronu. KUBIKOVA et al., (2001) uvádějí, že kvalitativní i kvantitativní restrikce krmiva zvyšuje hladinu plazmatického kortikosteronu. Zároveň uvádějí koncentraci 5,53 nmol.l⁻¹ u jedinců krmných *ad libitum*. Námi sledované nosnice krmné *ad libitum* vykazují v průběhu snáškového cyklu nižší průměrné hodnoty.

V komfortní klecové technologii je nosnicím k dispozici zařízení pro hrabání a popelení. Hrabání a popelení je považováno za přirozené projevy chování nosnic. Zamezení těchto aktivit může vést k behaviorálním a hormonálním změnám indikujícím stres a narušení pohody zvířat (VESTERGAARD, et al., 1997). Tito autoři zjistili rozdíly v koncentraci kortikoste-

ronu slepic ustájených v klecích s možností a bez možnosti popelení a hrabání. Uvádějí vyšší koncentrace kortikosteronu v krevní plazmě u nosnic, kterým je v popelení zabráněno. Námi zjištěné průměrné koncentrace jsou nižší než koncentrace, které zjistili tito autoři u nosnic s možností popelení ($1,90 \text{ ng.ml}^{-1}$).

Dynamika změn koncentrace kortikosteronu

v krevní plazmě sledovaná v průběhu celého pokusu koresponduje se zjištěním autorů DAVIS, et al., (2000), jež udávají vzestup koncentrace v klecové technologii s využitelnou plochou $0,048 \text{ m}^2$ v období od 20. do 26. týdne věku nosnic s následným kolísáním do 51. týdne, od kterého se koncentrace kortikosteronu signifikantně zvyšovala.

SOUHRN

Cílem práce bylo sledování koncentrace kortikosteronu v krevní plazmě nosnic v průběhu snáškového cyklu. Do experimentu bylo zařazeno 12 nosnic hybridní kombinace ISA Brown. Nosnice byly ustájeny v komfortní klecové technologii odpovídající požadavkům Směrnice Rady 1999/74/EC a krmeny kompletní krmnou směsí. Krev byla odebírána v deseti termínech v období od 15. do 75. týdnu věku. Průměrná koncentrace kortikosteronu byla za celé období snášky $2,86 \pm 0,086 \text{ nmol.l}^{-1}$, přičemž průměrné koncentrace se v jednotlivých termínech sledování pohybovaly v rozmezí od $1,76 \pm 0,135$ do $3,98 \pm 0,357 \text{ nmol.l}^{-1}$. Koncentrace kortikosteronu se vysoce průkazně ($P \leq 0,01$) zvyšovala na začátku snáškového cyklu a do 47. týdne věku mírně kolísala. V 52. se vysoce průkazně ($P \leq 0,01$) zvýšila až na průměrné hodnoty $3,98 \pm 0,236 \text{ nmol.l}^{-1}$. Od 58. týdne věku slepic se hladina kortikosteronu v krevní plazmě snižovala až do konce snáškového cyklu, a to na průměrnou hodnotu $2,22 \pm 0,210 \text{ nmol.l}^{-1}$. Ze zjištěných dat je zřejmé, že hladina kortikosteronu mírně kolísala v první polovině snáškového cyklu s navazující vzestupnou tendencí s vrcholem v 52. a 58. týdnu a následným poklesem až do konce snáškového období (75. týden věku nosnic).

nosnice, kortikosteron, komfortní klecová technologie

LITERATURA

- BEUVING, G. and VONDER, G. M. A.: Daily rhythm of corticosterone in laying hens and the influence of egg laying. *Journal of reproduction and Fertility*, 1977, 51: 169–173.
- BEUVING, G. and VONDER, G. M. A.: Effect of stressing factors on corticosterone levels in the plasma of laying hens. *General and Comparative Endocrinology*, 1978, 35: 153–159.
- CARSIA, R. V. and HARVEY, S.: Adrenals, 2000. In "Avian Physiology" (P.D. Sturkie Ed.) 489–537.
- CRAIG, J. V. and CRAIG, J. A.: Corticosteroid levels in White Leghorn hens as affected by handling, laying-house environment, and genetic stock. *Poultry Science*, 1985, 64: 809–816.
- CURTIS, M. J., FLACK, I. H., HARVEY, S.: The effect of *Escherichia coli* endotoxins on the concentrations of corticosterone and growth hormone in the plasma of the domestics fowl. *Research in Veterinary Science*, 1980, 28: 123–127.
- DAVIS, G. S., ANDERSON, K. E., CARROLL, A.S.: The effect of long term caging and molt of single comb white leghorn hens on heterophil to lymphocyte ratios, corticosterone and thyroid hormones. *Poultry Science*, 2000, 79: 514–518.
- DAVISON, T. F., SCANES, C. G., HARVEY, S., FLACK, I.H.: The effect of an injection of corticotrophin on plasma concentrations of corticosterone, growth hormone and prolactin in two strains of domestic fowl. *British Poultry Science*, 1980, 21: 287–293.
- FRANKEL, A. I.: Neurohumoral control of the avian adrenal. A review. *Poultry Science*, 1970, 49: 869–921.
- GIBSON, S. W., HUGHES, B. O., HARVEY, S., DUN, P.: Plasma concentrations of corticosterone and thyroid hormones in laying fowls from different housing systems. *British Poultry Science*, 1986, 27: 621–628.
- GROSS, W. B., SIEGEL, P. B., DUBOSE, R. T.: Some effects of feeding corticosterone to chicken. *Poultry Science*, 1980, 29: 516–522.
- JEZOVA, D., GUILLAUME, V., JURANKOVA, E., CARAYON, P., OLIVER, C.: Studies of the physiological role of ANF in ACTH regulation. *Endocrine Regulations*, 1994, 28: 163–169.
- JONES, R. B., BEUVING, G., BLOCKHUIS, H. J.: Tonic immobility and heterophil/lymfocyte response of the domestic fowl to corticosteron infusion. *Physiology and Behaviour*, 1988, 42: 249–253.

- KOELBECK, K. W. and CAIN, J. R.: The influence of management alternatives on aspects of laying hen welfare. *Poultry Science*, 1983, 62: 1449-1450.
- KOELBECK, K. W., CAIN, J. R., AMOSS JR., M.S. Corticosterone sampling of laying hens in different management systems. *Poultry Science*, 1986, 65: 183-185.
- KOELBECK, K. W. and CAIN, J. R.: Performance, behavior, plasma corticosterone and economic returns of laying hens in several management alternatives. *Poultry Science*, 1984, 63: 2123-2131.
- KORTE, S. M., BEUVING, G., RUESINK, W., BLOKHUIS, H. J.: Plasma catecholamine and corticosterone levels during manual restraint in chicks from a high and low feather pecking line of laying hens. *Physiology and Behaviour*, 1997, 62: 437-441.
- KUBIKOVA, L., VYBOH, P., KOSTAL, L.: Behavioural, endocrine and metabolic effects of food restriction in broiler breeder hens. *Acta Veterinaria Brno*, 2001, 70: 247-257.
- LAGADIC, H., FAURE, J. M., MILLS, A. D., WILLIAMS, J. B.: Effects of blood sampling on plasma concentrations of corticosterone and glucose in laying hens caged in groups. *British Poultry Science*, 1990, 31: 823-829.
- LEI, K. Y., STEFANOVIC, M. P., SLINGER, S. J.: Effects of population density on energy utilization, intestinal disaccharides, and adrenal function in hens. *Canadian Journal of Animal Science*, 1972, 52: 103-112.
- LITTIN, K. E. and COCKREM, J. F.: Individual variation in corticosterone secretion in laying hens. *British Poultry Science*, 2001, 42: 536-546.
- MASHALY, M. M., WEBB, M. L., ROUSH, W. B.: Adrenal gland response of laying hens to different cage densities. *Poultry Science*, 1982, 61: 1506.
- MASHALY, M. M., WEBB, M. L., ROUSH, W. B., GRAVES, H. B.: Change in serum corticosterone concentration on laying hens as a response to increased population density. *Poultry Science*, 1984, 63: 2271-2274.
- MENCH, J. A., VAN TIENHOVEN, A., MARSH, J. A., MCCORMICK, C. C., CUNNINGHAM, D. L., BAKER, R. C.: Effects of cage and Floor pen management on behavior, production and physiological stress responses of laying hens. *Poultry Science*, 1986, 65: 1058-1069.
- PETITTE, J. N. and ETCHES, R. J.: Daily infusion of corticosterone and reproductive function in the domestic hen (*Gallus domesticus*). *General and Comparative Endocrinology*, 1991, 83: 397-405.
- VESTERGAARD, K. S., SKADHAUGE, E., LAWSON, L. G.: The stress of not being able to perform dustbathing in laying hens. *Physiology and Behaviour*, 1997, 62: 413-419.

Adresa

Ing. Aleš Pavlík, Dr. Ing. Zdeněk Havlíček, Ústav morfologie, fyziologie a veterinářství, Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Česká republika

