

На правах рукописи

Глебов

8

ГЛЕБОВ
Дмитрий Павлович

**ЦИТОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ МЕСТНОЙ ЗАЩИТЫ ТРАХЕИ И
ИММУННЫЙ СТАТУС У КУР ПРИ ПРИМЕНЕНИИ ПРЕПАРАТОВ
«ЛИГНОГУМАТ КД-А» НА ФОНЕ ПОНИЖЕННОЙ
ИММУНОЛОГИЧЕСКОЙ РЕАКТИВНОСТИ**

Специальность 16 00 02 – патология, онкология и морфология животных

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата ветеринарных наук



Екатеринбург – 2007

Работа выполнена на кафедре внутренних незаразных болезней, хирургии и акушерства ФГОУ ВПО «Ивановская ГСХА имени академика Д.К. Беляева» и в ОАО «Ивановский бройлер»

Научный руководитель:

доктор ветеринарных наук, профессор Алексеева Светлана Анатольевна

Официальные оппоненты

- доктор биологических наук, профессор Сидорова Клавдия Александровна
- кандидат ветеринарных наук Женихова Наталья Ивановна

Ведущая организация

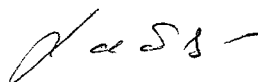
ФГОУ ВПО «Костромская государственная сельскохозяйственная академия»

Защита диссертации состоится « 26 » октября 2007 г в 16 00 на заседании диссертационного совета ДМ 220 067 03 в ФГОУ ВПО «Уральская государственная сельскохозяйственная академия» по адресу 620075, г Екатеринбург, ул Карла Либкнехта, 42, тел 371-33-63

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГОУ ВПО «Уральская государственная сельскохозяйственная академия»

Автореферат разослан «18» .09 .2007 года

Ученый секретарь
диссертационного совета,
Доцент



Л.А. Рабовская

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы. В настоящее время на птицеводческих предприятиях все чаще возникает проблема снижения иммунитета птицы. В этиологии этого явления можно выделить несколько причин. Это использование специализированных высокопродуктивных линий и кроссов кур яичного и мясного направления продуктивности, характеризующихся напряженным обменом веществ и поэтому неустойчивых к действию даже незначительных неблагоприятных факторов внешней среды, неполноценное кормление, главным образом несбалансированность рационов по содержанию витаминов, микроэлементов и других биологически активных веществ, а также целый ряд факторов техногенной природы: высокая концентрация поголовья на ограниченной площади, шум работающих механизмов, ограниченная подвижность, загазованность помещений, повышенный радиационный фон (Г.Н. Дранник и др., 1994; Д.Б. Утешев и др., 1998; Ю.В. Конопатов, Е.Е. Макеева, 2000; В.С. Прудников и др., 2002; Н.А. Садовов, 2003; Ю.И. Микулец и др., 2004; Б.Ф. Бессарабов, 2005; Б.Я. Бирман, 2005).

Все перечисленные факторы в конечном итоге способствуют уменьшению жизнеспособности и продуктивности птицы, а это неизбежно ведет к экономическим потерям. Поэтому в настоящее время основной задачей ветеринарных специалистов птицеводческих предприятий является постоянный контроль за состоянием иммунного статуса птиц и его коррекция путем применения средств иммунопрофилактики и иммунотерапии.

Одним из способов повышения иммунологической реактивности и продуктивности птицы является использование в комбикормах биологически активных веществ. Среди них в последние годы ученые проявляют интерес к гуминовым веществам как к наиболее экономически эффективному сырью для производства препаратов. Б.Ф. Бессарабовым с соавт. (2004, 2007) доказано, что в незначительных дозах гуминовые вещества, в частности лигногуматы, оказывают стимулирующее действие на основные звенья обмена веществ, что повышает продуктивность птицы и сопротивляемость ее к неблагоприятным факторам среды. Однако проблема влияния лигногуматов на местную защиту органов дыхания птицы в литературных источниках не раскрыта. В тоже время, по данным С.А. Алексеевой (1992, 1993) и В.Г. Скопичева с соавт. (2004) от состояния их защитных свойств в значительной степени зависит устойчивость организма к инфекционным и незаразным болезням, ведь ежедневно через респираторные органы проходит большое количество воздуха, содержащего пыль, органические и неорганические частицы, микроорганизмы и вирусы. Особенно важна роль местных защитных механизмов дыхательных путей при инфекционных болезнях с аэрогенным путем заражения, таких как птичий грипп, ньюкаслская болезнь, инфекционный бронхит и др.

Поэтому нам представляется весьма актуальным изучение местной защиты дыхательных путей у кур-несушек при пониженной иммунологической реактивности и после ее коррекции препаратами гуминовых кислот

Цель и задачи исследований. Целью работы явилось изучение изменений цитологических показателей местной защиты трахеи и иммунологического состояния организма кур-несушек в целом при применении препаратов «Лигногумат КД-А» на фоне пониженной иммунологической реактивности вследствие нарушения условий содержания и кормления.

Для достижения означенной цели были поставлены следующие задачи

1 Изучить изменение цитологических показателей местной защиты слизистой оболочки трахеи, а также иммунологическое состояние организма кур до и после применения «Лигногумата КД-А» калиевого и натриевого,

2 Изучить показатели сохранности, живой массы и продуктивности кур-несушек на фоне пониженной иммунологической реактивности вследствие нарушения режимов кормления и содержания, и после применения лигногуматов,

3 Определить корреляцию между изучаемыми показателями,

4 Рассчитать экономическую эффективность применения данных препаратов курам-несушкам при иммунодефицитном состоянии, вызванном нарушениями в кормлении и содержании

Научная новизна. Впервые рассмотрено влияние препаратов «Лигногумат КД-А» на защитные свойства слизистой оболочки трахеи кур. Выявлено, что применение гуминовых соединений калия и натрия курам-несушкам на фоне пониженной иммунологической реактивности вследствие нарушения условий содержания и кормления, способствует увеличению в цитогамме количества адсорбирующих эпителиальных клеток и фагоцитирующих лейкоцитов и их функциональной активности (адсорбции и фагоцитоза)

Установлено, что использование «Лигногумата КД-А» калиевого курам-несушкам при пониженной иммунологической реактивности вследствие нарушений условий содержания и кормления способствует большему усилению защитных функций органов дыхания, увеличению количества лейкоцитов в крови, лизосомально-катионного теста гранулоцитов, бактерицидной и лизоцимной активности сыворотки крови, а также яйценоскости и сохранности кур-несушек, чем «Лигногумат КД-А» натриевый

Выявлено, что введение в рацион кур лигногуматов оказывает стимулирующее действие на выработку специфических антител к ньюкаслской болезни и способствует предотвращению кормовых интоксикаций

Установлено, что применение «Лигногумата КД-А» калиевого курам-несушкам при пониженной иммунологической реактивности за счет

повышения сохранности и продуктивности имело больший экономический эффект, чем «Лигногумат КД-А» натриевого

Практическая значимость. Результаты проведенного исследования позволяют рекомендовать препараты «Лигногумат КД-А» для коррекции иммунитета и продуктивности птицы

С этой целью "Лигногумат КД-А" калиевый назначают в дозе 60 мг на кг живой массы птицы один раз в день в течение 5 суток Курс введения повторяют с интервалом 12 дней

"Лигногумат КД-А" натриевый назначают в дозе 20 мг на кг живой массы птицы в течение 5 дней Курс введения повторяют через 30 дней

Применение кормовых добавок продолжают до устранения нарушений в режимах содержания и кормления птицы

Научные разработки автора вошли в «Рекомендации по повышению местной защиты дыхательных путей, сохранности и продуктивности сельскохозяйственной птицы в промышленных условиях» (одобренны научно-техническим советом Управления ветеринарии Ивановской области, протокол от 26 июня 2007)

Апробация работы. Материалы диссертационной работы доложены на 47 Всероссийской конференции молодых ученых и аспирантов по птицеводству «Научно-производственный опыт в птицеводстве» (Сергиев Посад, 2006), научной конференции «Современные проблемы развития АПК в работах молодых ученых и студентов ИГСХА» (Иваново, 2006), научной конференции «Проблемы токсикологии и патологии молодняка сельскохозяйственных животных» (Казань, 2006), научно-практической конференции „Ветеринарная медицина – теория, практика и обучение” (Санкт-Петербург, 2006), международной научно-методической конференции, посвященной 90-летию академика Д К Беляева (Иваново, 2007)

Основные положения, выносимые на защиту:

- Динамика цитологических показателей местной защиты слизистой оболочки трахеи кур при применении «Лигногумата КД-А» калиевого и натриевого
- Динамика специфических и неспецифических факторов иммунной защиты у птиц при применении «Лигногумата КД-А» калиевого и натриевого,
- Сравнительная эффективность применения «Лигногумата КД-А» калиевого и натриевого

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 8 научных работ, в том числе 1 работа в издании, регламентированном ВАК РФ для кандидатских и докторских диссертаций, в которых изложены основные положения и выводы по изучаемому вопросу

Объем и структура работы. Диссертация изложена на 171 странице компьютерного текста и состоит из введения, обзора литературы, материала и

методов исследований, результатов собственных исследований, обсуждения, выводов, практических предложений и списка литературы Библиография включает в себя 198 источников литературы, в том числе 159 работ отечественных и 39 зарубежных авторов, а также 3 источника из ИНТЕРНЕТа Работа содержит 30 таблиц и 30 рисунков

СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Работа выполнена на кафедре внутренних незаразных болезней, хирургии и акушерства ФГОУ ВПО Ивановская государственная сельскохозяйственная академия имени академика ДК Беляева, в лаборатории и цехе производства товарного яйца птицефабрики ОАО «Ивановский бройлер» в период с 2004 по 2006 гг

Для изучения иммунобиологического статуса у кур-несушек на фоне пониженной иммунологической реактивности вследствие нарушений в кормлении и содержании, и после применения препаратов гуминовых кислот было сформировано 3 группы птицы кросса ИСА браун, по 200 голов каждая (2 группы опытные и 1 контрольная) Отобранная для эксперимента птица была однородна по живой массе (средняя масса птицы - 1790 г) и возрасту (38 недель) Куры-несушки содержались в типовом птичнике в клеточных батареях БКН-3А/6

Для повышения резистентности и продуктивности опытные группы кур-несушек в утреннее кормление дополнительно к основному рациону получали следующие кормовые добавки

1 группа - "Лигногумат КД-А" калиевый, в дозе 60 мг на кг живой массы один раз в день в течение 5 суток Курс введения повторяли три раза с интервалом 12 дней

2 группа - "Лигногумат КД-А" натриевый, в дозе 20 мг на кг живой массы в течение 5 дней Всего было проведено два курса с интервалом в 30 дней

Дозы и продолжительность применения биологически активных добавок соответствовали рекомендациям производителя, а кратность предложена нами

«Лигногумат КД» калиевый и натриевый - гуминовый препарат, полученный из лигносодержащего растительного сырья методом окислительно-гидролизной деструкции, производится НПО «Реализация экологических технологий» (г Санкт-Петербург)

Выпускают препарат в двух формах - сухой и жидкой В нашем эксперименте была применена сухая форма, представляющая собой порошок темно-коричневого цвета со слабым запахом ванилина, РН 8,5-10 и содержанием влаги не более 14%, растворимый в воде в любой пропорции

В препарате содержится массовая доля органических веществ не менее 58 % от сухого вещества, высокомолекулярных гуминовых кислот не менее 60

% от органики, фульвовых и низкомолекулярных кислот не более 40 % от органики, массовая доля микроэлементов (медь и марганец) не менее 0,01 %

Птице «Лигногумат КД-А» калиевый и натриевый применяли в виде водного 20 % раствора, вводя в корм методом ступенчатого смешивания

3 группа (контрольная) кур-несушек препарат не получала

Взятие крови из подкрыльцовой вены у кур проводили утром до кормления перед применением лигногуматов, на 30 и 60 сутки исследований. Определяли следующие показатели крови: количество лейкоцитов по К С Фоминой и В И Шмельковой (1978), содержание общего кальция по Е Вичеву и А Каракашовой (цит. по И П Кондрахину, 2004), неорганического фосфора по В Ф Коромыслову и Л А Кудрявцевой (цит. по И П Кондрахину, 2004), цинк-сульфатная осадочная печеночная проба по И П Кондрахину (2004)

Местную защиту дыхательных путей определяли по фагоцитарным и адсорбционным свойствам слизистых оболочек трахеи по О Г Алексеевой (1986) и содержанию лизоцима в трахеобронхиальном секрете по методу Х Я Гранд, Л М Яворского, И Я Блумберг (1973), лизосомально-катионный тест гранулоцитов по методу Л С Колабской (1983) в модификации С А Алексеевой (1992), общий белок в сыворотке крови – рефрактометрически (ИРФ-22), лизоцимную активность сыворотки крови (И Ф Храбустовский и Ю М Марков (1974), цит. по С И Плященко и В Т Сидорову, 1979), бактерицидную активность сыворотки крови по Мишелю и Трефферс (1956), в модификации Ю М Маркова и И Ф Храбустовского (1974)

Кроме этого определяли содержание витамина А в сыворотке крови колориметрическим методом по Б И Антонову (1991), в печени колориметрическим методом ГОСТ 7047-55 (1980) и в желтке яйца по В И Фисинину, А Н Тищенко (1998)

Напряженность иммунитета к Ньюкаслской болезни определяли в лаборатории ОАО «Ивановский бройлер» в реакции РЗГА

Вакцинация птицы проводилась согласно схеме и плану противоэпизоотических мероприятий в благополучных хозяйствах. В 17 недельном возрасте курам-молодкам внутримышечно, в дозе 0,5 мл на голову, прививали ассоциированную, инактивированную, эмульгированную вакцину против Ньюкаслской болезни птиц, инфекционного бронхита кур и синдрома снижения яйценоскости-76, изготовленную в ФГУ ВНИИЗЖ.

Для изучения уровня местной защиты и определения содержания витамина А в печени проводили убой птицы методом пересечения подязычной артерии

Ежедневно учитывали температуру и относительную влажность воздуха в помещении птичника, продуктивность и сохранность кур, проводили клинический осмотр птицы. Живую массу тела измеряли ежемесячно, путем взвешивания по 25 кур из каждой группы

Групповое и кормовое поведение кур-несушек изучали согласно методическим рекомендациям по этологии птицы (ВНИТИП, 1995)

Статистическая обработка полученных количественных данных проводилась в программе «Microsoft Excel – 2003» Оценка достоверности различий между показателями производилась с использованием параметрического критерия t - Стьюдента (Г Ф Лакин, 1980)

Экономическую эффективность рассчитывали по «Методике определения экономической эффективности научно-исследовательских и опытно-конструкторских работ, новой техники, изобретений и рационализаторских предложений» (1980)

2.2. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

2.2.1. Технологические, иммунологические и гематологические показатели у кур-несушек в промышленном птицеводстве

Результаты зоотехнической отчетности показали, что у исследуемых кур с момента их вселения наблюдается пониженная жизнеспособность и продуктивность. На 1 июня 2005 г. яйценоскость кур по сравнению с плановой была снижена на 9,7 %, сохранность – на 1,1 %, а конверсия корма увеличена на 10 %. Наиболее распространенной причиной падежа кур за весь период содержания являлся расклев, со значительной тенденцией к увеличению, в меньшей степени - истощение.

Для уточнения причин сложившейся ситуации у птицы был проведен отбор проб крови для гематологических, биохимических и иммунологических исследований, печени и яиц для определения содержания витамина А, участков трахеи для определения защитных свойств ее слизистой оболочки.

Результаты исследований показали, что у исследуемой птицы снижены такие иммунологические показатели как количество лизоцима в трахеобронхиальном секрете, бактерицидная и лизоцимная активность сыворотки, лизосомально-катионный тест гранулоцитов крови – важнейшие факторы, определяющие естественные защитные способности организма. При этом содержание лейкоцитов в крови находится у нижней границы физиологического значения, а показатели общего белка, общего кальция и неорганического фосфора в сыворотке крови соответствуют норме. Цинк-сульфатная осадочная печеночная проба составила 1,6-1,7 мл, что свидетельствует об отсутствии нарушений со стороны белковосинтезирующей функции печени. Содержание витамина А в сыворотке крови соответствует физиологической норме (15-100 мкг %). А в печени и в яйце количество ретинола значительно снижено 62,7-69,9 мкг/г против 450-550 мкг/г и 1,7-1,83 мкг/г против 6-9 мкг/г (на 83 и 70,5 % соответственно ниже минимальных значений физиологической нормы). Это может свидетельствовать о том, что ранее птица получала комбикорм с низким содержанием витамина А.

При исследовании отпечатков со слизистой оболочки трахеи отмечено, что у наблюдаемой птицы показатели цитограммы отличаются от нормальных физиологических значений. В частности снижено количество эпителиальных клеток, адсорбирующих микроорганизмы, на 7%, а фагоцитирующих лейкоцитов на 10,3%. При этом число разрушенных гранулоцитов увеличено на 13,5%. Кроме этого, отмечена пониженная адсорбирующая способность эпителия (на 21,2%) и фагоцитарная активность мигрирующих лейкоцитов (на 13,8%).

Ежедневные измерения отдельных параметров микроклимата, проводимые в течение эксперимента, показали, что птица весь наблюдаемый период содержалась в условиях высокой температуры, низкой относительной влажности, повышенной запыленности и загазованности воздуха в помещении и получала комбикорм, несбалансированный по многим показателям. В частности, в рационе для кур исследуемой возрастной группы было превышено содержание сырого жира на 49,6 %, сырой клетчатки на 24 %, линолевой кислоты на 65 %, метионина на 9,5 %, комплекса метионин + цистин на 1,4 %, усвояемого фосфора на 13 %. Увеличенное содержание в рационе кальция (на 14,5 %) оправдано высокой температурой воздуха в птичнике и как следствие этого снижением его усвоения организмом. Однако при этом не учтено кальций-фосфорное соотношение.

Таким образом, анализируя вышеприведенные данные, можно сделать вывод, что у изучаемой птицы пониженная иммунологическая реактивность и недостаточность ретинола в организме. На развитие А-гиповитаминоза также указывают клинические признаки у птицы: тусклое, ломкое оперение, бледная окраска гребешка, сережек, радужной оболочки глаз, неоперенных частей ног, слущивающийся эпителий на голове и лапах. Снижение иммунологической реактивности у птицы проявилось в ослаблении общих (бактерицидная и лизоцимная активность сыворотки, степень насыщения гранулоцитов крови лизосомально-катионными белками) и местных факторов защиты организма. Как отмечают многие исследователи, недостаток ретинола сам непосредственно вызывает угнетение защитной функции организма. Также нельзя не отметить существенное превышение в используемом рационе количества сырого жира, так как по данным Ю.В. Конопатова, Е.Е. Макеевой (2000) избыток высокомолекулярных жирных кислот вызывает уменьшение массы тимуса и селезенки, снижение активности Т-киллеров и фагоцитарной активности нейтрофилов. Снижению иммунологической реактивности способствовали и неблагоприятные параметры микроклимата помещения, где содержалась птица. Следствием вышеперечисленных обстоятельств явилось снижение сохранности и продуктивности кур.

2.2.2. Местные факторы защиты дыхательных путей у кур при использовании лигногуматов

Первой линией защиты организма от чужеродных агентов является морфологическая и функциональная целостность слизистых оболочек дыхательных путей. Поэтому изучение состояния местных механизмов иммунитета при патологических состояниях и их коррекции, имеет важное практическое значение, так как раскрывает реальный уровень защитной деятельности слизистых оболочек и помогает профилактировать серьезные нарушения, которые впоследствии могли стать основой для вторжения в организм и развития возбудителей инфекционных болезней.

В наших исследованиях прослеживается положительное влияние гуминовых соединений на иммунную защиту дыхательной системы кур-несушек к факторам бактериальной и вирусной агрессии. Это подтверждают данные клеточного состава слизистой трахеи. До применения препаратов среди трех групп кур существенной достоверной разницы в цитограмме не наблюдалось. В течение опыта лигногуматы стимулировали и значительно изменяли локальные механизмы защиты слизистой оболочки трахеи. Так, через 30 дней после начала применения препаратов в гистограмме у кур группы, получавшей «Лигногумат КД-А» калиевый, относительно контрольной, уменьшилось содержание неадсорбирующих эпителиальных клеток на 9,0 % ($p < 0,05$), а увеличилось количество адсорбирующих эпителиальных клеток на 13,3 % ($p < 0,05$) и фагоцитирующих лейкоцитов на 52,6 % ($p < 0,05$). Возросла адсорбирующая способность эпителия и фагоцитарная активность лейкоцитов соответственно на 8,8 и 20,7 % ($p < 0,05$).

В группе, получавшей «Лигногумат КД-А» натриевый, количество неадсорбирующих эпителиальных клеток уменьшилось на 7,2 % ($p < 0,05$), а адсорбирующих эпителиальных клеток увеличилось на 12,7 % ($p < 0,02$). Возросло количество фагоцитирующих лейкоцитов на 47,4 % ($p < 0,05$) и фагоцитарное число на 17,2 % ($p < 0,05$). Существенных изменений в адсорбционной активности эпителия во 2 группе не отмечено.

Сходная тенденция проявилась и при исследовании цитограммы на 60 день исследований. Относительно контрольной в 1 группе количество неадсорбирующих эпителиальных клеток уменьшилось на 13,2 % ($p < 0,01$). При этом возросло содержание адсорбирующих эпителиальных клеток на 26,0 % ($p < 0,001$) до $21,8 \pm 0,5$, а также фагоцитирующих лейкоцитов - на 94,0 % ($p < 0,01$) до $7,2 \pm 0,7$. Адсорбционная активность эпителия и фагоцитарная активность лейкоцитов увеличились на 21,9 % ($p < 0,05$) и 20,0 % ($p < 0,02$) соответственно и составили $7,8 \pm 0,4$ и $3,6 \pm 0,2$.

Во 2 группе количество неадсорбирующих эпителиальных клеток уменьшилось относительно 3 группы на 12,0 % ($p < 0,02$). При этом возросло содержание адсорбирующих эпителиальных клеток на 26,0 % ($p < 0,001$) до $21,7 \pm 0,6$, а также фагоцитирующих лейкоцитов - на 89,0 % ($p < 0,01$) до $7,0 \pm$

0,6 Адсорбционная активность эпителия слизистой оболочки трахеи увеличилась на 18,7 % ($p < 0,05$) и составила $7,6 \pm 0,3$, а фагоцитарная активность лейкоцитов с 30 дня эксперимента существенно не изменилась, оставшись на уровне $3,5 \pm 0,2$

Таким образом, результаты исследований показали, что «Лигногумат КД-А» благодаря увеличению количества адсорбирующих эпителиальных клеток и фагоцитирующих лейкоцитов в цитограмме слизистой оболочки трахеи, а также их функциональной активности, повысил защитные функции органов дыхания кур-несушек. Также следует отметить, что калиевая вариация лигногумата способствовала этому в большей степени, чем натриевая.

Адекватное представление о процессах местной защиты дыхательных путей у кур дает исследование лизоцима в секретах. Лизоцим обеспечивает защиту дыхательных путей от воздействия различных условно-патогенных микроорганизмов, принимает участие в нейтрализации патогенных бактерий вместе с другими факторами местной защиты. Поэтому его дефицит может быть одной из причин бактериальных инфекций органов дыхания.

Применение препаратов гуминовых кислот способствовало возрастанию количества лизоцима в трахеобронхиальном секрете. У кур-несушек первой группы на 30 и 60 сутки исследований данный показатель повысился соответственно на 13 % и 19,6 % ($p < 0,05$), а у птицы второй группы – на 13 % и 19 % ($p < 0,05$). Это существенно увеличивает устойчивость органов дыхания к болезнетворным агентам.

2.2.3. Гематологические и иммунологические показатели у кур при применении кормовых добавок «Лигногумат КД-А» калиевый и натриевый

Лейкоциты играют большую роль в защитных и восстановительных процессах в организме. Основная их масса находится в иммунокомпетентных органах и кровяном русле, но часть гранулоцитов мигрирует на слизистые оболочки, обеспечивая механизмы местного иммунитета.

В наших исследованиях применение «Лигногумата КД-А» калиевого и натриевого способствовало возрастанию исследуемого показателя. На 30 сутки эксперимента количество лейкоцитов в 1 и 2 группах увеличилось относительно начального уровня на 12,0 % и 5,5 % соответственно, а относительно контрольной группы – на 9,0 % и 4,3 % ($p < 0,01$). Возрастание исследуемого показателя произошло и на 60 день эксперимента. В 1 группе содержание лейкоцитов в крови составило $28,6 \pm 0,51$ Г/л или млрд/л, что на 15,0 % ($p < 0,001$) больше, чем при первом исследовании, а во 2 группе – $27,3 \pm 0,34$ Г/л, т.е. на 8,3 % ($p < 0,001$) выше исходного уровня. В контрольной группе в течение эксперимента данный показатель наоборот уменьшился на 1,1 Г/л или

на 4,3 %, однако статистической достоверности эти изменения не имели ($p < 0,2$).

Лизосомально-катионные белки – это неферментные катионные белки, содержащиеся в лизосомах нейтрофильных и эозинофильных гранулоцитов, участвуют в разрушении мембран микробной клетки. Поскольку они содержатся в лизосомах только нейтрофильных и эозинофильных гранулоцитов, то очевидна их роль как цитохимического маркера клеток гранулоцитарного ряда.

Как уже было отмечено выше (пункт 2.2.1) у кур-несушек до опыта был выявлен низкий исходный уровень насыщения гранулоцитов крови лизосомально-катионными белками – 1,2 единицы. Применение лигногуматов способствовало возрастанию исследуемого показателя. Так у кур первой группы, относительно контрольной, зарегистрировано увеличение лизосомально-катионного теста гранулоцитов крови на 30 и 60 день эксперимента на 7,2 % ($p < 0,1$) и 12,9 % ($p < 0,001$) соответственно; тогда как у кур второй группы увеличение составило в указанные сроки 7,7 % ($p < 0,05$) и 9,7 % ($p < 0,01$). Таким образом, максимальное повышение данного показателя у кур обеих опытных групп отмечено в конце эксперимента на 60 день, причем более показательно это произошло в первой опытной группе. Насыщенность гранулоцитов лизосомально-катионными белками у птицы первой группы на 60 сутки исследования была больше, по отношению ко второй группе, – на 3 % (рис 1).

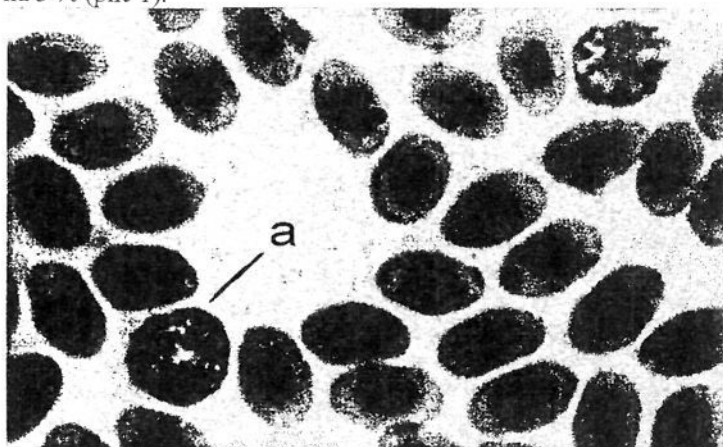


Рис. 1. Псевдоэозинофил (а) крови курицы первой группы в возрасте 300 дней при окраске мазка по методу Л.С.Колабской (1983) в модификации С.А.

Алексеевой (1992), СМ, об.90, ок.7, оп. зум 6Х

Бактерицидная активность сыворотки крови имеет важное диагностическое значение и в комплексе с лизосомально-катионным тестом гранулоцитов в полной мере характеризует защитные свойства крови. Создание ее высокого уровня играет значительную роль в предупреждении заболеваний. В наших исследованиях использование препаратов «Лигногумат КД-А» калиевый и натриевый способствовало стабильному возрастанию бактерицидной активности сыворотки крови с изначально низких значений. У птицы первой группы на 60 сутки эксперимента данный показатель увеличился, по сравнению с исходными данными, на 32,2 % лизиса ($p < 0,001$), а во второй группе – на 27,6 % лизиса ($p < 0,001$).

Дистанционно действующими химическими факторами антимикробной защиты являются ферменты типа лизоцима. Его содержание в сыворотке крови дает представление о состоянии неспецифического фактора иммунной защиты у кур. Гуминовые препараты, введенные с кормом, стимулировали лизоцимную активность сыворотки крови. У кур-несушек первой группы, получавших «Лигногумат КД-А» калиевый, на 30 и 60 сутки исследования данный показатель возрос соответственно на 13,7 и 22,6 % лизиса ($p < 0,001$), а у кур второй группы, где использовали «Лигногумат КД-А» натриевый, – на 7,4 % и 17,0 % лизиса ($p < 0,001$). Данное обстоятельство повышает шансы ферментативной борьбы лизоцима с микроорганизмами, а, следовательно, и функциональную эффективность работы гранулоцитов, моноцитов, макрофагов – клеток синтезирующих и секретирующих этот белок.

Белки крови выполняют многие функции, поддерживают постоянство онкотического давления, рН крови, играют большую роль в образовании иммунитета. Количество общего белка в сыворотке крови кур опытных групп, по сравнению с контрольной группой, постепенно равнозначно увеличивалось в течение эксперимента, и на 60 сутки было больше на 30 % ($p < 0,001$).

Для оценки белковосинтезирующей функции печени, диагностики и прогнозирования ее патологических состояний широко используют осадочные пробы. В наших исследованиях применялась цинк-сульфатная осадочная печеночная проба. При этом было выявлено, что у наблюдаемой птицы в течение всего периода исследований изучаемый показатель составил 1,6–1,8 мл и в ходе опыта не изменялся. Следовательно, применение лигногуматов отрицательного влияния на функциональную способность печени не оказало.

Возрастание общего белка, а также общего кальция и неорганического фосфора в сыворотке крови у кур опытных групп свидетельствует о значительном усилении обменных процессов в организме птицы.

2.2.4. Динамика содержания витамина А в организме кур под воздействием лигногуматов

Витамин А играет важную роль в поддержании целостности анатомических барьеров, включая эпителиальные и слизистые поверхности и их секреты, которые составляют первичную неспецифическую защиту организма, обеспечивает нормальный рост и развитие птицы, высокую продуктивность, регулируя обмен веществ. В наших исследованиях, как уже было отмечено выше (раздел 2.2.1.), выявлено низкое содержание витамина А в печени и яйце при нормальных показателях ретинола в сыворотке крови. Данное обстоятельство вероятно обусловлено усиленным использованием депонированного витамина А в период яйцекладки при недостаточном его поступлении в организм или пониженном усвоении ретинола в пищеварительном тракте. Применяемые нами лигногуматы оказали стимулирующие влияние на содержание витамина А в сыворотке крови, хотя данная кормовая добавка не содержит в своем составе ретинола и его предшественников. Полученный эффект можно объяснить тем, что благодаря повышению кислотности в желудочно-кишечном тракте рефлекторно усилилась секреторная функция пищеварительных желез, в том числе и печени, от которой зависит всасывание жирорастворимых витаминов. У кур первой и второй групп на 60 сутки количество витамина А в сыворотке крови превышало аналогичный показатель кур-несушек контрольной группы, соответственно, на 29,0 % ($p < 0,02$) и 24,0% ($p < 0,05$). Необходимо заметить, что более выраженным положительным эффектом, связанным с повышением витамина А в сыворотке крови, обладала калиевая вариация препарата.

Следует отметить, что на содержание ретинола в печени и в яйце кур опытных групп «Лигногумат КД-А» заметного влияния не оказал.

2.2.5. Напряженность иммунитета к ньюкаслской болезни у кур при применении «Лигногумата КД-А» калиевого и натриевого

Исследования показали, что титры специфических антител к ньюкаслской болезни у кур до эксперимента составляли $9,52 \log_2 - 9,59 \log_2$. Применение препаратов вызвало повышение титра антител. У кур-несушек первой и второй групп на 60 сутки исследования изучаемый показатель был выше, чем в контроле соответственно на $0,43 \log_2$ и $0,35 \log_2$. Важно отметить, что применение лигногуматов изменило распределение титров по разведениям. В частности, во всех группах в начале эксперимента, а также в 3 группе в течение всего наблюдаемого периода отмечен большой разброс титров от $6 \log_2$ ($1/64$) до $11 \log_2$ ($1/2048$), что говорит о неоднородности популяции по напряженности иммунитета к ньюкаслской болезни, а это опасно в эпизоотологическом отношении. После курса применения кормовых добавок диапазон распределения титров существенно уменьшился, при этом титр большей части исследованных проб в 1 и 2 группах соответствовал разведениям $1/512$ ($9 \log_2$).

и 1.1024 (10 log₂), то есть популяция птицы стала более однородной по исследуемому показателю

Таким образом, куры-несушки на фоне пониженной иммунологической реактивности имеют более низкие титры антител, чем при использовании препаратов гуминовых кислот «Лигногумат КД-А» калиевый и натриевый в равной степени обеспечивают напряженный иммунитет у птицы

2.2.6. Корреляционная связь между отдельными показателями крови и цитограммы слизистой оболочки трахеи кур при применении «Лигногумата КД-А» калиевого и натриевого

Параметрический коэффициент корреляции является общепринятой мерой ассоциации между парными выборками. Его абсолютное значение является индикатором линейной связи. Нами установлена связь отдельных показателей сыворотки крови и цитограммы слизистой оболочки трахеи у кур при пониженной иммунологической реактивности вследствие нарушений кормления и содержания, и ее коррекции иммуномодулирующими препаратами «Лигногумат КД» калиевый и натриевый.

Коэффициент корреляции между

- ✓ количеством эпителиальных клеток, адсорбирующих микрофлору, и адсорбционным числом (средним количеством бактерий, адсорбированных одной клеткой) в цитограмме слизистой оболочки трахеи на протяжении всего периода исследований составил 0,90, что характеризует тесную прямую коррелятивную связь ($p < 0,001$),
- ✓ количеством фагоцитирующих лейкоцитов и фагоцитарным числом (средним количеством фагоцитированных микроорганизмов одним полиморфноядерным лейкоцитом) лейкоцитов слизистой оболочки трахеи (по данным цитограммы) составил 0,96, что также указывает на тесную прямую коррелятивную связь ($p < 0,001$),
- ✓ содержанием лейкоцитов в крови и количеством фагоцитирующих лейкоцитов на слизистой оболочке трахеи (по данным цитограммы) на протяжении всего периода исследований составил 0,92, что характеризует тесную прямую коррелятивную связь ($p < 0,001$),
- ✓ содержанием лейкоцитов в крови и общим количеством лейкоцитов (фагоцитирующих и нефагоцитирующих) на слизистой оболочке трахеи составил 0,7, что указывает на заметную прямую коррелятивную связь ($p < 0,02$),
- ✓ лизосомально-катионным тестом гранулоцитов крови и фагоцитарным числом (среднее количество фагоцитированных микроорганизмов одним полиморфноядерным лейкоцитом) лейкоцитов слизистой оболочки трахеи (по данным цитограммы) составил 0,96, что указывает на тесную прямую коррелятивную связь ($p < 0,001$)

Совокупность полученных данных свидетельствует о том, что при пониженной иммунологической реактивности кур вследствие нарушений в кормлении и содержании, и ее коррекции иммуномодулирующими препаратами «Лигногумат КД-А» калиевый и натриевый существует положительная коррелятивная взаимосвязь между содержанием лейкоцитов в крови и количеством фагоцитирующих лейкоцитов, общим количеством лейкоцитов в цитограмме слизистой оболочки трахеи кур, а также между уровнем насыщения гранулоцитов крови лизосомально-катионными белками и фагоцитарной активностью лейкоцитов слизистой оболочки трахеи. Данное обстоятельство подтверждает взаимосвязь всех механизмов иммунной защиты и тот факт, что местная резистентность слизистых оболочек дыхательных путей взаимосвязана с показателями неспецифической защиты всего организма.

2.2.7. Результаты патологоанатомического вскрытия павшей птицы

Результаты патологоанатомического вскрытия павшей птицы подтвердили, что применение лигногуматов способствовало нормализации обменных процессов у кур опытных групп. Это, прежде всего, подтверждается отсутствием случаев падежа кур от желточного перитонита (сальпингоперитонита), в то время как в контрольной группе по этой причине погибли две птицы. Случай падежа одной курицы от сальпингоперитонита в 1 группе произошел в начале применения «Лигногумата КД-А» калиевого, когда в организме больной птицы уже произошли необратимые патологические процессы. Желточный перитонит – полиэтиологическое заболевание, но специфическую роль в его возникновении играют интоксикации, травматические повреждения и неполноценное кормление, в частности недостаточность кальция и витаминов А, Д и Е.

Применение препаратов «Лигногумат КД-А» калиевый и натриевый также способствовало предупреждению кормовых токсикозов. Если при вскрытии павшей птицы признаки интоксикации (дистрофические изменения и кровоизлияния в печени, сердце, почках, воспалительные процессы в железистом желудке и тонком кишечнике) были выявлены в опытных группах в двух случаях, то в контрольной группе – у 9 трупов.

2.2.8. Технологические показатели птицы при применении «Лигногумата КД-А» калиевого и натриевого

Повышенная температура и низкая относительная влажность воздуха, сильная загазованность и запыленность помещения, где содержалась подопытная птица, несбалансированность рациона кормления, недостаточность витамина А, пониженная иммунологическая реактивность непосредственно способствовали снижению жизнеспособности и продуктивности кур-несушек. Использование кормовых добавок «Лигногумат КД-А» улучшило морфологические и иммунологические показатели крови, что благоприятно

сказалось на продуктивности птицы. Так, уже после первого курса применения лигногуматов, отмечалось усиление яйценоскости в опытных группах, а за второй месяц эксперимента интенсивность яйцекладки в группе, получавшей лигногумат калия, превосходила контрольную на 14,5 % ($p < 0,01$), а в группе, получавшей лигногумат натрия, на 4,5 % ($p < 0,01$). Увеличилась сохранность поголовья в 1 группе на 6 %, а во 2 группе – на 4 % по сравнению с контрольной.

Самым важным для птицы видом активности является поведение, связанное с поиском, выбором и непосредственным приемом корма (пищевое или жорновое поведение). Одним из показателей, характеризующих жорновое поведение, является активность потребления (клевания) корма птицей (число клевков в минуту). Результаты исследования жорнового поведения показали следующее: активность потребления (клевания) корма курами первой группы составила – 200 клевков, второй группы – 199 клевков, третьей группы – 127 клевков за 3 минуты. Таким образом, добавление к корму лигногуматов увеличивает активность потребления корма курами в среднем на 73 клевательных движения за 3 минуты, или на 56 % ($p < 0,001$).

Подводя итоги данного раздела необходимо сделать вывод о том, что очевидность влияния кормовых добавок «Лигногумат КД-А» калиевый и натриевый на технологические показатели кур-несушек не вызывает сомнений. Данные соединения стимулировали развитие и продуктивность кур, увеличивали их сохранность. При этом более ускоренное восстановление генетически заданного потенциала продуктивности было отмечено при использовании лигногумата калия.

После окончания применения лигногуматов и до убоя птицы нами отслеживались основные зоотехнические показатели в наблюдаемых группах, такие как яйценоскость, падеж, сохранность. Исключение из рациона кур-несушек гуминовых препаратов привело к падению показателя интенсивности яйценоскости. Особенно резкое снижение продуктивности было отмечено в первые два месяца после прекращения применения лигногумата калия в 1 группе (на 17 %). Далее, постепенно понижаясь в среднем по стаду на 4,6 % (за каждый временной период – 4 недели), продуктивность кур перед их промышленным убоем достигла низкого значения – 64 %, вместо запланированного – 78 %. Падеж птицы 1 и 2 групп в первые два месяца после окончания применения кормовых добавок отсутствовал, что может говорить о достаточно стабильном достигнутом эффекте повышения жизнеспособности кур.

Таким образом, применение лигногуматов оказало непродолжительное стимулирующее действие на яичную продуктивность кур-несушек и более длительный эффект по увеличению сохранности птицы.

2.2.9. Экономическая эффективность применения «Лигногумата КД-А» калиевого и натриевого курам-несушкам

Экономическая эффективность применения «Лигногумата КД-А» калиевого составила 2967,2 руб или 14,8 руб на одну курицу-несушку В случае с «Лигногуматом КД-А» натриевым искомые показатели были равны 1367,8 руб, или 6,84 руб на одну курицу-несушку. Таким образом калиевая вариация препарата оказалась более экономически эффективной

ВЫВОДЫ

- 1 При недостаточности в организме витамина А, несбалансированном рационе кормления и неблагоприятном режиме микроклимата у кур понижается иммунная защита, о чем свидетельствуют низкие значения таких показателей как лизоцимная и бактерицидная активность сыворотки крови, степень насыщения лизосомально-катионными белками гранулоцитов крови, а также сохранность и яйценоскость
- 2 При пониженной иммунологической реактивности изменяется местная защита дыхательных путей: на слизистой оболочке трахеи снижается количество адсорбирующих микроорганизмы эпителиальных клеток и фагоцитирующих лейкоцитов с одновременным уменьшением адсорбционного и фагоцитарного числа, увеличивается количество разрушенных лейкоцитов, снижается содержание лизоцима в трахеобронхиальном секрете
- 3 Применение «Лигногумата КД-А» калиевого и натриевого стимулирует местные механизмы защиты дыхательных путей: повышается содержание лизоцима в трахеобронхиальном секрете, в цитограмме слизистой оболочки трахеи увеличивается количество фагоцитирующих лейкоцитов и число адсорбирующих эпителиальных клеток, усиливается интенсивность фагоцитоза и адсорбционная активность
- 4 Использование лигногуматов оказало положительное влияние на метаболизм витамина А, играющего важную роль в поддержании целостности анатомических барьеров, включая эпителиальные и слизистые поверхности и их секреты, о чем свидетельствует повышение уровня ретинола в сыворотке крови
- 5 При применении препаратов гуминовых кислот у кур-несушек возрастает содержание лейкоцитов, лизосомально-катионный тест гранулоцитов крови, общий белок, общий кальций, неорганический фосфор, бактерицидная и лизоцимная активность сыворотки крови, а также увеличиваются сохранность и яйценоскость
- 6 Выявлена коррелятивная связь между отдельными показателями крови и цитограммы слизистой оболочки трахеи между уровнем насыщения гранулоцитов крови лизосомально-катионными белками и фагоцитарной активностью лейкоцитов слизистой оболочки - тесная прямая связь ($r =$

+0,96), между содержанием лейкоцитов в крови и количеством фагоцитирующих лейкоцитов – тесная прямая связь ($r = +0,92$), и между содержанием лейкоцитов в крови и общим количеством неразрушенных лейкоцитов в цитогамме слизистой оболочки трахеи - заметная прямая коррелятивная связь ($r = +0,70$)

- 7 Использование лигногуматов стимулировало выработку специфических антител к Ньюкаслской болезни у кур с низкой напряженностью иммунитета, способствуя тем самым повышению иммунологической однородности популяции птицы
- 8 При применении препаратов «Лигногумат КД-А» уменьшается количество павшей птицы, при вскрытии которой обнаруживаются дистрофические изменения во внутренних органах, характерные для кормовых интоксикаций
- 9 Наиболее экономически эффективной явилась калиевая соль гуминовых кислот, по сравнению с натриевой. Экономический эффект от применения «Лигногумата КД-А» натриевого составил 6,84 руб., а «Лигногумата КД-А» калиевого - 14,8 руб. на одну курицу-несушку

ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ

«Лигногумат КД-А» калиевый и натриевый могут быть использованы для повышения общей и местной резистентности, сохранности и продуктивности кур-несушек при снижении иммунологической реактивности вследствие нарушения режимов кормления и содержания

КД «Лигногумат» калиевый назначают перорально в смеси с кормом или питьевой водой в дозе 60 мг на кг живой массы один раз в сутки в течение 5 дней. Курс введения повторяют с интервалом 12 дней.

КД «Лигногумат» натриевый назначают курам-несушкам также перорально в смеси с кормом или питьевой водой в дозе 20 мг на кг живой массы. Курс введения повторяют через 30 дней.

Применение кормовых добавок следует продолжать до устранения нарушений в режимах содержания и кормления птицы.

Научные разработки автора вошли в «Рекомендации по повышению местной защиты дыхательных путей, сохранности и продуктивности сельскохозяйственной птицы в промышленных условиях» (одобрены научно-техническим советом Управления ветеринарии Ивановской области, Иваново, 2007).

СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

- 1 Глебов Д П Влияние лигногуматов на показатели крови кур-несушек / Глебов Д П // Современные проблемы развития АПК в работах молодых ученых и студентов ИГСХА – Иваново Изд-во ФГОУ ВПО ИГСХА, 2006 –С 69-71
- 2 Глебов Д П Влияние лигногуматов на сохранность и продуктивность кур-несушек на фоне температурно-влажностного режима микроклимата, не соответствующего оптимальным зоогигиеническим показателям / Глебов Д П // Материалы 47-й Всероссийской конференции молодых ученых и аспирантов по птицеводству и научно-производственный опыт в птицеводстве – Сергиев-Посад, 2006 – С 55-58
- 3 Глебов Д.П. Сравнительная оценка применения «Лигногумата КД-А» калиевого и натриевого курам-несушкам / Глебов Д П, Алексеева С.А // Материалы научно-практической конференции «Ветеринарная медицина – теория, практика, обучение» – Санкт-Петербург, 2006 – С 27-29
- 4 Алексеева С А Повышение иммунного статуса у кур с помощью лигногуматов, селенорганических и витаминных препаратов / Алексеева С А, Глебов Д П, Рубцов В В, Комаров Е Н // Материалы научной конференции «Проблемы токсикологии и патологии молодняка сельскохозяйственных животных» - Казань, 2006 - С 33 - 37
- 5 Глебов Д П Кормовые добавки на основе гуминовых кислот как средство повышения здоровья и продуктивности кур-несушек / Глебов Д П, Алексеева С А // Материалы научно-методической конференции «Актуальные проблемы и перспективы развития агропромышленного комплекса» – Иваново, 2007. - С 111-113
- 6 Глебов Д П Имунная защита слизистой оболочки трахеи у кур при применении кормовых добавок «Лигногумат КД-А» калиевый и натриевый / Глебов Д П, Алексеева С А // Материалы научно-методической конференции «Актуальные проблемы и перспективы развития агропромышленного комплекса» – Иваново, 2007 – С 113-114
- 7 Алексеева С.А. Влияние «Лигногумата КД» калиевого и натриевого на защитные свойства организма кур-несушек / Алексеева С.А., Глебов Д.П. // Журнал «Ветеринарная патология». – М.. - 2007, №2 - С. 27-30.
- 8 Алексеева С А Рекомендации по повышению местной защиты дыхательных путей, сохранности и продуктивности сельскохозяйственной птицы в промышленных условиях / Алексеева С А, Роменский В И, Клетикова Л В, Глебов Д П, Рубцов В В, Копоть О Ю, Кокурин В Н, Кокурина Н В, Гаврилова Т Ю – Иваново, 2007 – 31 с

Подписано в печать 14.08.2007 г. Формат 60х84 1/16
Усл. печ. л. 1,0 Бумага «Гознак» Тираж 100 экз. Заказ №58

Отпечатано в типографии ООО «ИРА УТК»
620075, г. Екатеринбург, ул. К. Либкнехта, 42, к. 1103.