

На правах рукописи



САФОНОВ АНДРЕЙ ВЛАДИМИРОВИЧ

**ФАРМАКОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА
И ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ ГУМИВАЛА
В ПТИЦЕВОДСТВЕ**

16.00.04 - ветеринарная фармакология с токсикологией

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата ветеринарных наук

Воронеж – 2007

Работа выполнена в отделе фармакологии ГНУ «Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии Россельхозакадемии», г. Воронеж.

Научный руководитель:

заслуженный деятель науки РФ,
доктор биологических наук, профессор
Бузлама Виталий Соломонович

Официальные оппоненты:

доктор ветеринарных наук, профессор
Аргунов Муаед Нурдинович
кандидат ветеринарных наук, доцент
Кочетов Иван Алексеевич

Ведущая организация:

ФГОУ ВПО «Белгородская государственная сельскохозяйственная академия»

Защита диссертации состоится 26 апреля 2007 года в 13 часов на заседании диссертационного совета Д.006.004.01 при Всероссийском научно-исследовательском ветеринарном институте патологии, фармакологии и терапии РАСХН (Россия, 394087, г. Воронеж, ул. Ломоносова, 114-б).

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке ГНУ «Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии».

Автореферат разослан 23 марта 2007 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,
кандидат биологических наук



Т. И. Ермакова

1.ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

1.1. Актуальность темы. Сегодня не подлежит сомнению, что ведение современного животноводства, в том числе и птицеводства невозможно без стрессогенных ситуаций и этому есть объяснение. Прежде всего, птицы, в частности куры, отличаются высокоинтенсивным обменом веществ, скороспелостью, как при производстве мяса, так и яиц, сверхкороткими сроками выращивания бройлеров и использования яичных кур. Учитывая комплекс этих особенностей, получение заданной продуктивности птицеводства требует очень чуткого отношения к отдельным особям и к стаду в целом. Самые совершенные технологии мясного и яичного птицеводства не обходятся без стрессогенных мероприятий связанных с технологией содержания. Это пересадки, перемещение, транспортировка, вакцинация и др. (Фисинин В. И. и др.,1977; Евстратова А. М., 1979; Болотников И. А. и др., 1983; Сухинин А. А.,1989; Кузьмин В.А., 1996; Бузлама А.В.,2000 и др.).

Среди сельскохозяйственных животных куры относятся к наиболее стресс - чувствительным (Квиткин Ю. П. и др.,1977; Мымрин И.А.,1989). В связи с этим стресс, в птицеводстве особенно неблагоприятен. Он снижает резистентность и продуктивность птиц, ведет к заболеваемости и падежу, а в конечном итоге к значительному экономическому ущербу.

Одним из способов уменьшения отрицательных последствий влияния технологически обусловленных стресс – факторов, является поддержание продуктивного здоровья стресс - корректорами (Бузлама В.С.,2000) .

Фармакологическими стресс - корректорами или адаптогенами называют природные, модифицированные или синтетические препараты, которые, регулируя физиологическое состояние узловых механизмов структурно-биохимического гомеостаза, способствуют поддержанию продуктивного здоровья организма при изменяющихся условиях и неблагоприятных воздействиях внешней среды (Лазарев Н.В.,1961; Брехман И.И.,1968; Бузлама В.С., 2003).

Имеющиеся в ветеринарной практике стресс - корректоры для использования в птицеводстве недостаточно эффективны из-за жестких требований предъявляемых отраслью. Среди них необходимо выделить следующие: 1 – массовость перорального применения; 2 – обязательность полного отсутствия в мясе и яйце остаточных количеств самих стресс-корректоров или их метаболитов; 3 – отсутствие отрицательного влияние на качество продукции.

Одним из модифицированных природных стресс - корректоров, адаптогенов является гумивал, представляющий собой продукт глубокого гидролиза природного лигнина. Действующим началом препарата являются гуминовые вещества. Гумивал выпускается в виде не стерильного, хорошо растворимого в воде порошка для орального применения с кормом или водой.

1.2. Цель и задачи исследований. Цель работы: доклиническая оценка и изучение стресс - корректорного действия гумивала, его фармакологического влияния на организм кур и разработка показаний к применению в качестве кормовой добавки повышающей резистентность птицы и её продуктивное здоровье.

Для достижения поставленной цели решали следующие задачи:

1. Изучить токсичность гумивала.
2. Изучить в сравнительном плане адаптогенное, стресс - корректорное действие гумивала в лабораторных экспериментах.
3. Оценить влияние гумивала на яйценоскость кур на разных стадиях технологического цикла.
4. Изучить действие гумивала на рост и развитие цыплят-бройлеров.
5. Изучить экологическую и пищевую безопасность гумивала.
6. Определить экономическую эффективность использования гумивала в рационах птиц и разработать предложения производству.

1.3. Научная новизна работы. Изучена токсичность гумивала на лабораторных животных и птице. Показано в сравнительном плане адапто-

генное, стресс - корректное действие препарата в лабораторных экспериментах. Проведено комплексное изучение стресс - реактивности, морфологических и биохимических показателей крови, изменений роста и развития кур при включении в рацион гумивала. Установлено положительное влияние на количество и качество получаемой продукции в птицеводстве яичного и мясного направления. Оценена экологическая и пищевая безопасность гумивала.

1.4. Теоретическая и практическая ценность работы. Проведенные токсикологические, фармакологические и клинические исследования гумивала позволяют рекомендовать его птице яичного и мясного направления для повышения продуктивности и улучшения качества продукции. Отработана его дозировка и кратность применения. Результаты исследований вошли в НД, на основании которой утверждена инструкция по применению гумивала в качестве кормовой добавки в животноводстве (№ ПВР-4.5/01357 от 24 апреля 2006).

1.5. Основные положения диссертации выносимые на защиту:

- о токсических свойствах гумивала;
- о наличии у гумивала стресс - корректорных свойств;
- об эффективности использования гумивала в птицеводстве яичного и мясного направления;
- о положительном влиянии препарата на качественные показатели птицеводческой продукции;
- об экологической и пищевой безопасности.

1.6. Апробация работы. Основные положения диссертационной работы доложены и обсуждены: на второй региональной конференции практикующих ветеринарных врачей, г. Воронеж, 2004г; международной научно-практической конференции, посвященной 100-летию со дня рождения профессора А. А. Авророва, «Актуальные проблемы ветеринарной патологии и морфологии животных», г. Воронеж, 2006 г; первой международной научно-практической конференции молодых ученых « Актуальные про-

блемы диагностики, терапии и профилактики болезней животных», г. Воронеж, 2006 г., 1У Всероссийской конференции «Итоги и перспективы применения гуминовых препаратов и кормовых добавок в ветеринарии», г. Москва, 2006 г.

1.7. Публикации материалов исследований. По материалам диссертации опубликовано 6 научных работ, в том числе 1 в журнале рекомендованном ВАК.

1.8. Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 159 страницах компьютерного набора. Она состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследований, результатов собственных исследований, обсуждения, выводов, практических предложений, списка литературы, приложения. В диссертации 49 таблиц, 10 рисунков. Всего использовано 198 литературных источника, в том числе 48 публикаций зарубежных авторов.

2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Исследования по решению поставленных задач выполнены в соответствии с планом научных работ ГНУ «Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии Российской академии сельскохозяйственных наук», по государственной теме: «Изучить на молекулярно – биохимическом, структурно-функциональном, системно- физиологическом и экологическом уровнях и определить причины и механизмы перехода организма из нормального состояния в патологическое и на этой основе разработать средства, методы и технологию защиты здоровья и продуктивности животных» (№ гос. регистрации 01.200.117018).

Биохимические исследования крови и экспериментальные работы на лабораторных животных проведены в отделе фармакологии ВНИВИПФиТ. Научно-производственные опыты и производственные испытания препарата проведены в условиях птицефабрики ООО « СП «Русь» Каширского района и ООО «Инкубатор» Эртильского района Воронежской области.

При проведении исследований использовали гумивал (80,0 % по ДВ) производства ООО «Лигфарм» (г. Москва).

Экспериментальные и научно-производственные опыты проведены в соответствии с требованиями к врачебно-биологическому эксперименту по подбору аналогов, постановке контроля, соблюдению одинаковых условий кормления и содержания животных в период проведения работ и учета результатов.

Исследования по оценке безвредности гумивала (острая и хроническая токсичность, мутагенное, эмбриотропное, раздражающее, резорбтивное действие) выполнены на белых мышах, белых крысах и кроликах. Использовали: 84 беспородных самцов и самок белых мышей с массой тела $20,0 \pm 2,0$ г; 211 самцов и самок белых крыс линии Wistar с массой тела 180,0 - 220,0 г; 32 кролика породы шиншилла обоего пола со средней массой тела 2,0 кг. Животных содержали в условиях вивария в соответствии с существующими нормами. Токсикологическую оценку и органно-системное действие изучали в соответствии с «Руководством по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ», 2000 г.

Экспериментальная оценка специфической активности гумивала выполнена на 121 белой беспородной крысе. Оценено стресс - корректорное действие гумивала. Имобилизацию на белых крысах проводили классическим методом. Гумивал задавали с кормом в разных дозах в течение пятнадцати дней. Животных до начала экстремального воздействия за 12 часов подвергали депривации без лишения доступа к воде. Имобилизацию крыс контрольной и опытных групп осуществляли фиксацией за четыре конечности в спинном положении на специальных деревянных планшетах. Продолжительность имобилизации – 18 часов. До экстремального воздействия животных взвешивали. После имобилизации их также взвешивали, а затем с соблюдением существующих норм декапитуировали, отделяли и взвешивали надпочечники, тимус, селезенку и другие органы.

Для оценки стрессогенного ульцерогенеза желудок промывали физиологическим раствором и подсчитывали в нем количество язв, измеряли их диаметр. Так же подсчитывали количество точечных и петехиальных кровоизлияний.

Стресс - корректорную активность гумивала определяли по изменению массы тела, надпочечников и других внутренних органов животных, по клиническим, морфологическим и биохимическим показателям крови контрольной и опытной группы. Оценка специфической активности гумивала для повышения резистентности и улучшения продуктивного здоровья птиц проведена в четырех опытах: на 5250 курах в период становления яйцекладки в возрасте 160 дней; 5690 курах-несушках в возрасте 380 дней, на фоне 80 %-й яйценоскости; 30088 курах-несушках 380 дневного возраста в период снижения яйцекладки и 1500 цыплятах-бройлерах. Учитывали заболеваемость, падёж, вынужденный убой, продуктивность, качество продукции. Исследования проведены на фоне хозяйственных рационов с добавлением гумивала (в смеси с комбикормом или с водой). Для учёта резорбтивного фармакологического действия препарата изучали морфологические и биохимические показатели крови в соответствии с существующими методами исследований.

Оценку экологической безопасности гумивала провели на микроорганизмах и простейших, рыбах, семенах и проростках растений («Экспресс - биотест. Биологический мониторинг экологических систем», Воронеж, 1997). Технологические свойства гумивала оценены с помощью методик, принятых в исследованиях комбикормов, премиксов и других кормовых добавок.

С целью оценки яичной продуктивности у кур-несушек изучали:

- ежедневно яйценоскость кур опытных и контрольной групп и отбирали яйца для биохимического исследования (каротиноиды, витамины А, Е и В₂, кислотное число желтка);

- массу яйца и составных частей (белок, желток, скорлупа), как важнейшие показатели пищевой и товарной ценности, определяющей продуктивность птицы.

Содержание в желтке яиц каратиноидов, витамина А (Скурихин, В.Н., Шабает С.В.,1996), витамина Е (Киселевич Р.Ш., Скварко С.М.,1972), витамина В₂ (Войтов Л.И. и др.,1989), кислотное число (Калмыков С.Т.,1976).

Пищевую безопасность оценивали с использованием варёного мяса и бульона, яиц при лабораторных и клинических испытаниях. Дегустационную оценку мяса проводили по методике, рекомендованной Всесоюзным научно-исследовательским институтом мясной промышленности (Мысин А.Т. и др., 1985), а яиц по методике, разработанной УНИИП.

Для оценки и характеристики общего состояния белых крыс и птицы определяли общепринятыми методами (Кондрахин И.П. и др., 1985) в крови количество эритроцитов ($1 \times 10^{12}/л$), лейкоцитов ($1 \times 10^9/л$), гемоглобина (г/л); глюкозы глюкозооксидазным методом с использованием набора реактивов фирмы «Lachema»; молочной кислоты по реакции с п-оксиdifенилом по Баркеру и Саммерсону (Меньшиков В.М.,1987); пировиноградной кислоты по модифицированному методу Умбрайт (Бабаскин П.М.,1976); в сыворотке крови общего белка рефрактометрически, белковые фракции- электрофорезом в агаровом геле (Кушманов О.Д.,1983);общих липидов – по цветной реакции с сульфифосфаниловым реактивом (Кнайт и др.,1972); неорганического фосфора (Орлов Л.В.,1980); мочевины, активность щелочной фосфатазы, АсАТ и АлАТ (Кондрахин И.П. и др.,1985), холестерол (Одушко Н.П., Зеленина З.Н., 1979).

Полученные цифровые значения результатов исследований обрабатывали методами математической статистики, принятой в биологии и медицине (Лакин Г.Ф.,1990), с использованием стандартной программы фирмы Microsoft Excel ("Statistica 5.0", "Statgraphica"), на PC «Pentium 111».

3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1. Общая характеристика гумивала.

Исследования по оценке некоторых технологических свойств гумивала показали, что препарат можно использовать в смеси с кормами и в виде водного раствора. У гумивала хорошая сыпучесть, о чём говорят данные измерения угла естественного откоса, который в среднем равен 31,0. По величине объёмной массы видно, что препарат тяжелее отрубей (370 кг/м^3) и измельчённого зерна (600 кг/м^3). Но он по данному показателю легче солей микроэлементов и приближается к таким ингредиентам премиксов, как аминокислоты, витамины.

Препарат, основным компонентом и действующим началом которого являются гуминовые вещества (80,0 %) содержит около 30 элементов таблицы Менделеева. Присутствуют все основные микроэлементы. Гумивал богат ненасыщенными двойными связями, карбоксильными и гидроксильными группами.

Для него характерна некоторая щелочность, высокое содержание органических веществ, азота, фосфора и калия.

3.2. Токсичность гумивала.

3.2.1. Острая и хроническая токсичность.

Гумивал при однократном внутреннем применении в дозах до 10 000,0 мг ДВ/кг не проявляет токсических свойств. В больших количествах препарат ввести внутрь не представляется возможным.

Длительные наблюдения (104 дня) показали, что гумивал в ежедневных дозах до 2500,0 мг ДВ/кг, ни среди самцов, ни среди самок не вызывал изменений поведения, клинического состояния, аппетита. Крысы охотно поедали корм, имели гладкий, блестящий шерстный покров, эластичную кожу. Не отмечено гибели животных.

Гумивал в дозе 25,0 и 250,0 мг ДВ/кг массы тела оказал положительное влияние на динамику массы тела крыс (рис.1). На 40-й и 80-й дни от-

мечена наибольшая разница массы тела между контрольной и опытными группами.

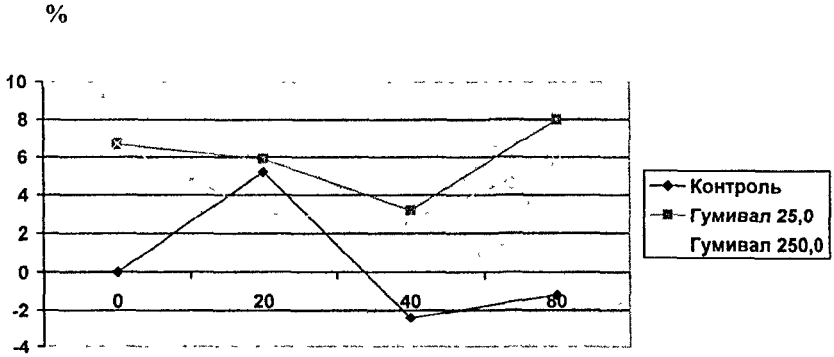


Рис.1. Динамика массы крыс (% к контролю).

Не отмечено существенного влияния гумивала на массу сердца, почек, лёгких и печени. В то же время гумивал влияет на массу надпочечников и тимуса (стресс- и иммунокомпетентных органов). С увеличением дозы препарата от 25,0 до 1 000,0 мг ДВ/кг масса надпочечников снижается на 18,3 % - 31,7 %, а тимуса на 2,20 % - 9,20 %.

3.2. 2. Мутагенное действие.

Мутагенный эффект оценивали методом подсчёта доминантных летальных мутаций. В контрольной группе оплодотворяющая активность самцов и плодовитость самок находились в физиологических пределах.

Гумивал, длительно применяемый самцам в дозах от 25,0 до 250,0 мг ДВ/кг повышал плодовитость крыс. Оплодотворяющая способность самцов возрастает. Доимплантационная гибель плодов уменьшилась на 7,60 %. Уродливых и аномальных плодов не обнаружено.

3.2.3. Эмбриотропная активность.

Применение гумивала во всех испытанных дозах не оказало существенного влияния на эмбриональную смертность, состояние живых плодов и родившихся крысят. Гумивал в применённых дозах не оказывает тератогенного действия. Как в контроле, так и в опытных группах практически

отсутствовали плоды с отёками и уродствами.

При скармливании разных доз гумивала крысам в течение всего периода беременности можно констатировать некоторый рост количества родившихся живых крысят (на 21,8 % - 24,7 %) и уменьшение мёртворожденности (на 16,3 % - 39,0 %) по сравнению с контролем. Отмечается существенная стимуляция роста плодов под влиянием гумивала. Так, при использовании препарата в дозе 25,0 мг ДВ/кг, масса тела новорожденных была выше на 21,1 %, а длина туловища на 8,8 %.

Таким образом длительное применение гумивала в малых и средних дозах не вызывает мутагенного, тератогенного и эмбриотоксического действия при длительном применении самцам и самкам белых крыс.

3.2.4 Кумуляция.

Как при оценке острой, так и хронической токсичности, проведённой с внутренним применением гумивала, в большом диапазоне доз не удалось выявить параметры летальности животных. Поэтому рассчитать коэффициенты кумуляции не представлялось возможным.

3.2.5. Раздражающее действие.

Нанесение на конъюнктиву глаза гумивала в 0,5 %, 1,0% и 5,0% –ной концентрации не вызвало нагноений, повреждения роговицы, подъёма температуры как после первого, так и пятикратного применения препарата. Отмечаемое слезотечение проходило к 3-му часу.

Нанесение на кожу 1,0 % - 10,0 % растворов гумивала одно- и пятикратно не оказывает заметного влияния на поведение животных, аппетит. Не изменяется температура тела. Гумивал не вызывает воспаления кожи, 10 %-й раствор оказывает некоторое раздражающее действие после 3-го нанесения, усиливающегося к 5-й обработке и затем проходит без последствий. Не изменяется интенсивность роста шёрстного покрова и динамика массы тела кроликов.

3.2.6. Резорбтивное действие на интактных животных.

Гумивал при длительном внутреннем применении белым крысам в

дозах от 25,0 до 2 500,0 мг ДВ/кг проявляет выраженное резорбтивное действие. С учётом изменения различных показателей крови, характеризующих гомеостаз красной и белой крови, обмен белков, липидов, активность ферментов, энергетический, азотистый метаболизм, уровень фосфора, видно, что гумивал даже в больших дозах не вызывает резких сдвигов в организме. Это дополнительно характеризует его низкую токсичность и физиологичность.

Препарат не оказывает влияния на количественные и качественные показатели красной и белой крови интактных крыс. Он не вызывает изменений общего содержания лейкоцитов в крови. Обнаружена тенденция к снижению уровня общего белка. Перераспределение белковых фракций направлено на увеличение содержания альбуминов. Ярко выражено снижающее влияние на уровень γ -глобулинов в сыворотке крови. Такая реакция на длительное применение гумивала отмечается и у самцов, и у самок. Препарат способствует возрастанию активности АЛАТ, не влияет на активность ЩФ и АсАТ. Лишь в дозе 2 500,0 мг ДВ/кг он способствует активизации аспаратаминотрансферазы.

По данным изменений отдельных показателей энергетического обмена под влиянием длительного применения гумивала в разных дозах видно, что препарат способствует усилению образования макроэргов и анаболических процессов. Это не прямо, но в некоторой степени подтверждается снижением общего уровня липидов в крови и тенденцией к увеличению фосфора.

3.3. Специфическая активность гумивала

3.3.1. Стресс - корректорное действие.

В опытах использовали культуру клеток инфузории-туфельки в стационарной фазе роста. В качестве эталона применяли элеутерококк. Препарат широко известен и используется в качестве адаптогена стресс-корректора, как в гуманной, так и в ветеринарной медицине. Оценивали

степень повышения выносливости параметий (по продолжительности жизни до 100 %-й гибели от начала повреждения) при повреждающем воздействии на них гипертонического раствора хлорида натрия.

Установлено, что гумивал, как и элеутерококк защищает свободноживущие клетки от мембраноразрушающего действия гипертонического раствора хлорида натрия. Оптимальная защитная концентрация препарата находится в пределах 1:10 000 -1:100 000 или 100,0 - 10,0 мг на 1 литр питательной среды.

В опытах на белых крысах – самцах подвергнутых иммобилизации установлено, что с учётом 12-ти часового ночного голодания интактные крысы потеряли 6,04 % массы тела. Иммобилизация сопровождалась потерей массы тела контрольных крыс на 9,56 %. Взятый в качестве стресс-корректора (эталон) порошок экстракта элеутерококка в дозе 100,0 мг/кг оказал выраженное защитное действие. Животные по потерям массы тела превышали интактных всего на 1,7 %, а по сравнению с контролем потеряли на 62,0 % меньше. Влияние гумивала на этот показатель прямо зависело от дозы. Так, в дозах 1,0 и 100,0 мг ДВ/кг препарат не оказал заметного влияния, а в дозах 10,0 –25,0 и 50,0 мг ДВ/кг оказал выраженное защитное действие.

Потери массы тела при иммобилизационном стрессе по сравнению с контролем ниже на 31,6 % - 34,1 % (табл.1). У контрольных животных иммобилизация привела к гипертрофии надпочечников на 20,5 %. Элеутерококк в дозе 100,0 мг/кг проявил выраженное регулирующее действие.

По сравнению с интактом надпочечники увеличились только на 7,5 % и были меньше, чем у крыс контрольной группы на 10,8 %. Гумивал оказывает

влияние на реакцию надпочечников белых крыс при иммобилизационном стрессе. Но установлена большая зависимость от доз препарата. В малой дозе 1,0 мг ДВ/кг кормовая добавка не проявляет активности. В дозе 10,0 мг ДВ/кг оказывает выраженное стресс-корректорное действие. Масса над-

почечников крыс более чем в 2 раза меньше, чем у контрольных особей. Действие гумивала приближается к активности элеутерококка в дозе 100,0 мг/кг. Гумивал в дозе 25,0 мг ДВ/кг наиболее активен. Его применение способствует практически полному предотвращению гипертрофии надпочечников при стрессе. Их масса у опытных животных по сравнению с интактными возросла всего на 2,0 %, а с контрольными оказалась меньше на 15,4 %.

Таблица 1.

Адаптогенная активность гумивала при иммобилизационном стрессе белых крыс.

Группы	Снижение массы тела, %	Гипертрофия надпочечников, %	Инволюция тимуса, %
Контроль	100	100	100
Элеутерококк, 100 мг/кг	62,1	89,2	12,1
Гумивал, 10 мг ДВ/кг	65,9	90,9	98,3
Гумивал, 25 мг ДВ/кг	68,4	84,6	84,5
Гумивал, 50 мг ДВ/кг	66,4	93,4	88,3
Гумивал, 100 мг ДВ/кг	95,8	94,6	91,2

Активность гумивала в этой дозе практически не отличается от элеутерококка. Дальнейшее увеличение дозы гумивала до 50,0 - 100,0 мг ДВ/кг не способствует увеличению его активности. У контрольных крыс по сравнению с интактными произошла инволюция тимуса на 17,9 %.

Элеутерококк в дозе 100,0 мг/кг проявил стресс - протекторный эффект. Тимус опытных животных не отличался от такового интактных по своей массе и превосходил контроль на 20,1 %. Максимальное влияние на реакцию тимуса у крыс при остром стрессе гумивал проявил в дозе 25,0 мг ДВ/кг. Тимус опытных животных потерял по сравнению с интактными 39,6 % своей массы, по сравнению с контролем – 15,5 % и с эталоном – 29,6 %.

Здесь проявляется выраженное потенцирующее действие препарата на состояние одного из главных иммунокомпетентных органов при экстремальном воздействии на организм. Это можно интерпретировать как неспецифическую защиту организма в неблагоприятных условиях. Результаты исследований показали, что гумивал обладает выраженным антиульцерогенным действием. Имобилизационный стресс приводит к сильному язвообразованию и кровоизлияниям. Язвы слизистой оболочки желудка охватывают две трети животных с обширностью до 10,0 мм (диаметр язв на растянутом желудке).

Если сравнивать антиульцерогенную активность испытуемого препарата и эталона в наиболее эффективных дозах, то можно отметить, что оптимальная доза гумивала меньше, чем элеутерококка в 4 раза. Для большей наглядности все характеристики язвообразования на слизистой оболочке желудка у интактных крыс приняты за 100 %. И к этому общему знаменателю отнесены все полученные результаты. Взяты только наиболее активные дозы препаратов (табл.2.).

Таблица 2.

Сравнительная оценка активности гумивала для протектирования
ульцерогенеза у белых крыс при имобилизационном стрессе.

Показатели	Группа животных			
	Интакт	Контроль	мг	
			Элеутерококк, 100,0	Гумивал, 25,0
Степень, %	100,0	500,0	100,0	100,0
Интенсивность, %	100,0	648,5	66,7	45,5
Обширность, %	100,0	413,9	113,9	126,0
Кровоизлияния, %	100,0	2413,8	689,7	344,8

Сравнение данных обследования желудков контрольных и интактных крыс показывает, что в экстремальных условиях на слизистой кровоизлияний возникает больше, чем язв в 4,8 раза, а в целом их наблюдается в 24 раза больше. Острый стресс сопровождается выраженным ульцерогенезом,

в среднем в 5 раз по степени поражения, его интенсивности и обширности превосходящим этот процесс у интактных животных. Общеизвестный адапто-ген - элеутерококк в дозе 100,0 мг/кг массы тела при длительном профилактическом внутреннем применении существенно протектирует стрессогенное язвообразование.

Практически не возрастает степень поражения по сравнению с интактными животными, а по сравнению с контролем она уменьшается в 5 раз. Интенсивность язвообразования у поражённых животных снижается по сравнению с контролем в 5 раз, а обширность язв - почти в 4 раза. То же констатировано по кровоизлияниям.

Новая кормовая добавка - гумивал проявляет такого же уровня ulceroprotective активность, но в дозе в 4 раза меньшей, чем у эталона. Так, степень поражения опытных животных находится на уровне интактных и в 5 раз меньше, чем контрольных. Интенсивность поражения ниже, чем в группе эталона в 1,5, а контроля - в 14,2 раза. Его обширность лишь на 10,5 % выше, чем в группе эталона и в 5,1 раза ниже по сравнению с контролем. Так же отмечено существенно меньшее возникновение кровоизлияний как по сравнению с контролем (в 7 раз), так и с эталоном (в 2 раза).

Для оценки состояния гомеостаза белых крыс после длительного применения гумивала и последующего экстремального воздействия (иммобилизационный стресс) изучены некоторые показатели крови. Исследования показали, что само по себе острое экстремальное воздействие не вызвало достоверных изменений изученных показателей. Применение гумивала не оказало существенного влияния на разные показатели гомеостаза. Они оставались в пределах физиологических колебаний.

В целом, комплексная оценка гумивала, применённого в разных дозах (от 1,0 до 100,0 мг ДВ/кг) внутрь многократно в сравнении с элеутерококком показала, что новая кормовая добавка обладает выраженным адаптогенным стресс - коррекционным действием, подобным общепризнан-

ному препарату, взятому за эталон. Оптимальная доза гумивала лежит в пределах 10,0 -50,0 мг ДВ/кг.

3.3.2. Адаптогенный спектр гумивала.

Изучение адаптогенного спектра гумивала в эксперименте проведено с целью обоснования дальнейших клинических испытаний препарата на продуктивных животных. Опыты проведены в трёх основных направлениях. С этой целью в качестве экстремальных факторов использовали: 1- физическо-эмоциональную нагрузку; 2 - разные виды недостаточности кислорода; 3 - разные виды химической интоксикации. В качестве эталона использовали порошок экстракта элеутерококка в дозе 100,0 мг ДВ/кг. Гумивал применяли в дозах 10,0; 25,0 или 50,0 мг ДВ /кг. Препараты применяли внутрь в смеси с кормом по 1 разу в день в течение 7-ми дней. Воздействию неблагоприятных факторов подвергали животных через 1 сутки после последней дачи препаратов.

Детализация оценки стресс - корректорного действия гумивала показала достаточно высокий уровень неспецифичности его защитной активности. Препарат повышает выносливость организма при физическо-эмоциональной нагрузке. Он способствует устойчивости организма при разных формах кислородной недостаточности и химических повреждениях с различными механизмами действия.

3.3.3. Применение препарата на курах - молодках в период становления яйцекладки.

Испытания проведены на 160 дневных курах (2596 голов) кросса «Иза Браун». Контролем служили птицы того же птичника. Гумивал применяли в период начала яйцекладки ежедневно в смеси с кормом в дозе 25,0 мг ДВ/кг массы тела кур в течение 30 дней. Контрольная птица получала основную рацион без гумивала (2654 голов). Учитывали сохранность и продуктивность кур.

Установлено, что применение гумивала положительно повлияло на скорость становления яичной продуктивности кур (рис.2). На начало опыта

интенсивность яйцекладки кур в контрольной группе составила 8,45%, в конце - 64,5%, т.е. интенсивность яйцекладки повысилась в 7,6 раза. В опытной группе кур интенсивность яйцекладки на начало опыта - 8,72%, а в конце - 76,0%. Это повышение в 8,7 раза, что на 14,5 % больше, чем в контроле.

Уровня промышленно значимой яйцекладки куры опытной группы достигли к 173-дневному возрасту (63,8%), а контрольной – к 180-му дню (62,6 %). Разница – 7 дней.

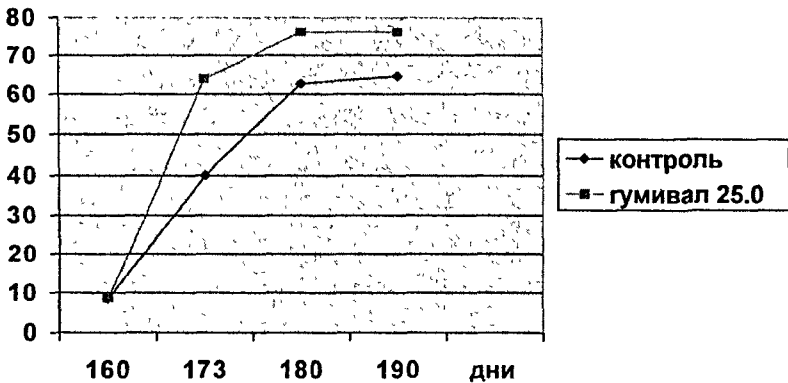


Рис.2.Яйценоскость кур – молодок (%)

3.3.4.Применение препарата на курах в период интенсивной яйцекладки.

Изучение влияния гумивала на кур кросса «Иза Браун» в период стабильной яйценоскости (80,0%) показало, что за 46-дневный период наблюдений среди контрольных птиц (2845 голов) пало – 1,23 %, вынужденно убито – 3,94 %. Получено яиц – 82,6%, в том числе с браком (насечки, тек) –2,25%. Применение гумивала с водой в дозе 25,0 мг ДВ/кг массы тела кур (2845 голов) в течение 23 дней уменьшает падеж на 25,0 %,выбраковку на 11,6 % и получение бракованного яйца на 26,3%.

3.3.5. Влияние гумивала на кур в период снижения яйценоскости.

В период снижения яйценоскости кур (табл.3.), применение гумивала с водой курам-несушкам породы «Ломанн Белый» в течение 17 дней не вызвало заметных клинических изменений, но увеличило яйценоскость. В группе получавшей гумивал в дозе 25,0 мг ДВ/кг массы тела яйценоскость повысилась на 0,7%. Наибольшую яйценоскость отмечали у кур получавших гумивал в дозе 50,0 мг ДВ/кг. Яйценоскость повысилась на 2,3%. По заболеваемости и сохранности существенной разницы по группам не отмечали. Экономическая эффективность составила 3,68 рублей на один рубль затрат.

Таблица 3.

Влияние гумивала на яйценоскость и сохранность кур-несушек

Показатели	Контроль	Гумивал- 25 мг ДВ/кг	Гумивал- 50 мг ДВ/кг
Количество кур на начало опыта, голов	10070	10108	10110
Валовый сбор яйца, штук	132250	136490	140160
Яйценоскость: начало опыта	82,2	80,5	81,0
конец опыта	74,6	81,2	83,3
Вынуждено забито, гол./%	73 / 0,73	77 / 0,71	-
Пало, гол./%	27 / 0,27	24 / 0,24	-

3.3.6. Влияние препарата на прирост массы тела цыплят-бройлеров.

Изучение влияния гумивала на прирост массы тела цыплят-бройлеров показало, что на последнем периоде выращивания (20 дней) живая масса птиц, получавших гумивал в дозе 50,0 мг ДВ/кг, была выше, чем у птицы контрольной группы на 9,67% (табл.4).

У цыплят получавших гумивал в дозе 50,0 мг ДВ/кг среднесуточный прирост составил 43,9 г и превышал таковой у цыплят контрольной группы на 22,3 %. Вес потрошенных тушек цыплят опытных групп был больше чем в контроле соответственно на 25,2 и 96,0 грамм.

Таким образом, результаты исследований показали, что наивысший прирост живой массы установлен в группе цыплят-бройлеров, получавших гумивал в дозе 50,0 мг ДВ/кг, начиная с 20 дня жизни и по 40 день включительно.

Таблица 4

Данные о живой массе, среднесуточном приросте и весе тушек бройлеров получавших гумивал

Группы	n = гол	Масса цыплят, сутки/грамм		Среднесуточный привес, грамм	Средний вес тушки, грамм
		20	40		
Гумивал 25 мг ДВ/кг	500	460±5,65	1220±1,29	38,0±0,06	725,9±0,77
Гумивал 50 мг ДВ/кг	500	460±5,65	1338±7,39	43,9±0,37	810,0±4,30
Контроль	500	460±5,65	1178±3,77	35,9±0,19	695,4±2,26

Расчет экономической эффективности показал, что ее величина на рубль затрат составила в первой группе (25,0мг ДВ/кг) –6,08 рублей, второй группе (50,0мг ДВ/кг) –10,8 рублей.

3.4. Оценка экологической и пищевой безопасности.

3.4.1. Опыты на бактериях.

Проведено три опыта на бактериях - симбионтах млекопитающих (кишечная палочка, стафилококк) и почвенных нитрифицирующих микроорганизмах

Первый опыт проведён на референтном штамме кишечной палочки - Es-cherichia coli 866. Установлено, что только в 5,0 %- 1,0 %-м разведении гумивал несколько тормозит интенсивность роста бактерий. В разведении 0,5% он не оказывает заметного влияния. В высоких разведениях (0,05 % - 0,01 %) гумивал способствует интенсификации роста, а в очень высоких снова не влияет на рост кишечной палочки.

Второй опыт проведён на референтном штамме *Staphylococcus aureus* 209P. Оказалось, что золотистый стафилококк более восприимчив к стимулирующему действию гумивала. В концентрациях 0,1 % - 0,005 % препарат выражено интенсифицирует рост кокковой микрофлоры.

Третий опыт выполнен на почвенных нитрифицирующих бактериях. Препарат испытан в тех же концентрациях. Показано, что для этих микроорганизмов гумивал не токсичен. Выраженное стимулирующее действие начинается с 0,5 %-й концентрации, нарастает до 0,05 % - 0,001 %-й и, снижаясь, сохраняется до разведения 1: 100 000. В целом показано, что применение гумивала не оказывает вредного влияния на представителей кишечных симбионтов и почвенных микроорганизмов.

3.4.2. Опыты на простейших.

Опыты проведены на культуре *Paramecium caudatum* в два этапа. На первом этапе провели экспресс-оценку биологической активности гумивала. На втором - оценили биологическую активность гумивала по интенсивности размножения парамеций. Препарат испытывали в концентрациях 5,0 %; 1,0 %; 0,5 %; 0,1%; 0,05%; 0,01%; 0,005%; 0,001%. Экспозиция контакта 24 часа.

Опыт показал, что кормовая добавка гумивал по-разному влияет на интенсивность деления инфузорий. В высокой концентрации (5,0 %) препарат несколько угнетает этот процесс. В концентрациях 1,0 % и 0,5 % не отмечено заметного влияния. Дальше от 0,1 %-й концентрации до 0,01 %-й гумивал способствует повышению интенсивности размножения клеток в 1,4 - 1,9 раза.

Таким образом, проведённые опыты показали, что гумивал на одноклеточных свободноживущих организмах *P. caudatum* не только не проявляет биоцидного действия, но оказывает потенцирующее влияние на их деление в условиях экспоненциальной (быстрого деления) фазы роста.

3.4.3. Опыты на рыбах.

Исследования проведены на одномесячных сеголетках гуппий.

Полученные результаты показывают, что новая кормовая добавка - гумивал не токсична для молоди рыб.

3.4.4. Влияние на всхожесть семян пшеницы, интенсивность роста и выживаемость проростков.

Исследования проведены с использованием семян пшеницы - яровая «Светлана», урожая 2004 года. Зёрна опытных навесок обрабатывали соответствующими объемами раствора гумивала из расчета 1000,0;100,0; 10,0 и 1,0 мг по ДВ на 1 кг зерна.

Проведенный опыт показал, что гумивал в разных дозах и концентрациях при обработке семян, стеблей и листьев молодых растений не оказывает отрицательного влияния. В дозе 10,0 мг по ДВ на 1 кг зерна он способствует лучшей проростаемости зёрен и интенсификации роста её проростков соответственно на 21,9 % и 27,0 %.

3.4.5. Пищевая безопасность.

Установлено, что по полному набору дегустационных показателей, характеризующих варёное мясо кроликов, цыплят-бройлеров и кур-несушек применение гумивала не сказалось на их внешних и вкусовых показателях. Яйца кур опытной и контрольной группы не отличаются друг от друга по вкусу, аромату и степени отделения скорлупы.

Таблица 5.

Влияние гумивала (25,0 мг ДВ/кг) на физические показатели качества яиц

Показатели	Контроль (n=10)	Гумивал (n=10)	Процент к контролю
Масса яйца, г	49,16±1,05	56,46±1,22*	114,8
Толщина скорлупы, мм	0,35± 0,01	0,42 ±0,01*	120,0
Масса скорлупы, г	6,54± 0,15	7,13± 0,24*	109,0
Масса белка, г	30,05 ±0,58	34,17 ±0,66*	113,3
Масса желтка, г	14,88± 0,45	16,35 ±0,58*	109,4

* - P<0,05

Данные таблицы 5 и 6 показывают, что применение гумивала оказало положительное влияние на массу яиц, толщину скорлупы и полноценность яиц. В желтке достоверно, на 5,1% - 9,6 % увеличилось содержание каротиноидов и витаминов А и В₂. Особенно заметно возрос уровень витамина В₂ (на 29,9 %). Снизилось кислотное число желтка на 9,1%.

Таблица 6.

Влияние гумивала на биохимические показатели качества яиц

Показатели	Контроль (n=10)	Гумивал (n=10)	Процент к контролю
Каротиноиды желтка, мкг/г	8,14 ±4, 13	8,92 ±0,16*	109,6
Витамин А желтка, мкг/г	5,86 ±9,08	6,16 ±0,09*	105,1
Витамин В ₂ желтка, мкг/г	3,21 ±0,06	4,17 ±0,13*	129,9
Кислотное число желтка, мг КОН	5,38 ±0,07	4,89 ±0,05*	90,9

* - $P < 0,05$

Таким образом, на двух видах животных с оценкой сырого и варёного мяса, бульона и яиц показано, что длительное применение новой кормовой добавки в оптимальных дозах 25,0 и 50,0 мг ДВ /кг веса тела не оказывает отрицательного влияния на качество мяса.

Отмечено улучшение полноценности яиц. Всё это говорит о пищевой безопасности гумивала.

4. В Ы В О Д Ы

1. Гумивал – препаративная форма гуминовых веществ, обеспечивающая способность организма осуществлять биологические процессы улучшения здоровья и повышения продуктивности.

2. Гумивал в широком диапазоне доз от 10,0 мг ДВ/кг до 10 000 мг ДВ/кг массы тела практически не токсичен. Он не проявляет острой и хронической токсичности, не обладает мутагенным, эмбриотоксическим действием.

3. Длительное применение гумивала в экстремальных условиях способствует сохранению гомеостаза организма. Это при иммобилизационном стрессе проявляется в:

3.1. Снижение стресс - продуцирующей гипертрофии надпочечников на 19,4%.

3.2. Снижение потерь массы тела и паренхиматозных органов до 60 %.

3.3. Снижение язвообразования: степень поражения в 5 раз, интенсивность в 14,2 раз, обширность в 5,1 раз. Уменьшается количество кровоизлияний в 7 раз.

4. В период становления яйцекладки применение гумивала курам способствует ее ускорению на 7 дней и повышению яйценоскости на 16,7 %.

5. Препарат в период интенсивной яйцекладки уменьшает падеж кур на 25,0 %, выбраковку кур и яйца соответственно на 11,6 % и 26,3 %.

6. Применение гумивала курам в период снижения яйценоскости задерживает этот процесс на 9,90% .

7. Гумивал способствует повышению прироста массы тела цыплят - бройлеров на 9,67% и убойного выхода мяса на 16,5 %.

8. Оптимальные дозы гумивала птице находятся в пределах 25,0-50,0 мг ДВ/кг массы тела или 500 г по ДВ на 1 тонну корма.

9. Гумивал при длительном применении птице не обладает экологической и пищевой опасностью.

10. Экономическая эффективность гумивала при использовании в яичном и бройлерном птицеводстве достигает 10,8 рублей на 1 рубль затрат.

5. ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ

Применять гумивал в яичном и бройлерном птицеводстве для повышения резистентности и улучшения продуктивного здоровья кур и цыплят согласно утвержденной инструкции № ПВР – 4.5 / 01357 от 24.04.2006 г.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1.Сафонов А.В. Гумивал – для повышения продуктивного здоровья кур /А. В. Сафонов, В. С. Бузлама // Материалы второй региональной конференции практикующих врачей, - Воронеж, 2004.- С.18-19.

2.Сафонов А. В. Токсикологическая характеристика новой адаптогенной и антиоксидантной кормовой добавки гумивал. /А. В. Сафонов //Актуальные проблемы ветеринарной патологии и морфологии животных: Материалы международной научно–практической конференции, посвященной 100-летию со дня рождения профессора А. А. Авророва, - Воронеж, 2006.-С.773-775.

3.Сафонов А.В. Гумивал – новая адаптогенная и антиоксидантная кормовая добавка, повышающая резистентность животных при стрессе /А. В. Сафонов, В. С. Бузлама// Актуальные проблемы диагностики, терапии и профилактики болезней животных: Материалы первой международной научно-практической конференции молодых учёных, - г. Воронеж,2006 г.-С.106-109.

4.Бузлама В.С. Механизм действия препаратов гуминовых веществ /В. С. Бузлама, В.Н. Долгополов, А.В. Сафонов, С.В. Бузлама// Итоги и перспективы применения гуминовых препаратов и кормовых добавок в ветеринарии: Материалы IY Всероссийской конференции,- г. Москва,2006 г.-С.24-35.

5.Бузлама С.В. Эффективность перорального гуминового препарата в яичном птицеводстве / С. В. Бузлама, А. В. Сафонов //, Ветеринария и кормление, №1,2007-С.31.

6.Сафонов А.В. Гумивал – острая, хроническая токсичность и результаты производственных испытаний на поросятах группы опороса, доразивания и пиг-балия /А. В. Сафонов, С. В. Бузлама //, Свиноводство, №3.2007–С.24-25.