

На правах рукописи

МАТРОСОВА ЛИЛИЯ ЕВГЕНЬЕВНА

**ФАРМАКО - ТОКСИКОЛОГИЧЕСКАЯ И БИОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА
УСКОРИТЕЛЯ ФЕРМЕНТАЦИИ УФ-1 ДЛЯ ПЕРЕРАБОТКИ
ОРГАНИЧЕСКИХ ОТХОДОВ ЖИВОТНОВОДСТВА**

16.00.04 – ветеринарная фармакология с токсикологией
03.00.07 – микробиология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук



Казань – 2005

Работа выполнена в Федеральном государственном научном учреждении «Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт» (г. Казань).

Научный руководитель: Доктор биологических наук, профессор
Тремасов Михаил Яковлевич

Научный консультант: Доктор биологических наук, профессор
Иванов Аркадий Васильевич

Официальные оппоненты: Доктор биологических наук
Гильмутдинов Рустам Якубович

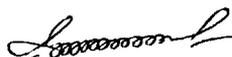
Доктор ветеринарных наук, профессор
Софронов Владимир Георгиевич

Ведущее учреждение: Всероссийский научно-исследовательский институт ветеринарной санитарии, гигиены и экологии (г. Москва)

Защита состоится «27» декабря 2005 г. в 10 часов на заседании диссертационного совета Д-220.012.01 при Всероссийском научно-исследовательском ветеринарном институте (420075, Россия, Казань, Научный городок – 2).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке института (г. Казань)
Автореферат разослан «25» ноября 2005 г.

Учёный секретарь диссертационного совета, кандидат ветеринарных наук



В.И. Степанов

2006-4
28880

2207748
3

1. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

1.1. **Актуальность** темы. Неотъемлемой частью любого цивилизованного общества наряду с производством продукции промышленного, бытового и сельскохозяйственного назначения является образование как жидких, так и твердых отходов. Наибольшую экологическую и эпизоотическую опасность представляют отходы сельскохозяйственных предприятий, в частности навоз и помет, отличающиеся высоким содержанием экологически опасных веществ – аммиака, сероводорода, меркаптана, фенола и др.

Вместе с тем, в сельском хозяйстве существует значительная потребность в органических отходах агропромышленного комплекса, содержащих достаточное количество питательных элементов, представляющих ценный сырьевой материал для получения высокоэффективных удобрений и других продуктов, необходимых народному хозяйству.

Внесение навоза и помета в почву без предварительной обработки является неприемлемым в связи с возможным содержанием возбудителей инфекционных и инвазионных болезней, экотоксикантов (тяжелых металлов, пестицидов, микотоксинов и т.д.), медикаментозных препаратов и других загрязнителей. Почва после внесения органических отходов в значительной степени обсеменяется микрофлорой, что создает определенную экологическую и санитарную опасность (Тюрин В.Г., 2004). Следует также отметить, что использование органических отходов без переработки нецелесообразно, поскольку при хранении в течение 2-3 месяцев потери азота в них могут составлять 50-60 % (Мыц Е.А., 1996; Фомин Ю.И., 1996; Morse D., 1994; Menzi H. et al., 1995; Dosch P., Gutser R., 1996; Estavillo J. et al., 1996). Значительным недостатком внесения в почву отходов является тот факт, что, с одной тонной навоза или помета в почву попадает 12 млн. семян сорных растений (Попов П.Д., 1997).

В этой возникшей дилемме важным для науки и практики является разработка биотехнологических процессов утилизации органических отходов, обеспечивающих организацию эффективных, безотходных и природоохранных технологий биоконверсии навоза и помета.

Перспективным и современным методом переработки органических отходов является биологический, с использованием специфических популяций микроорганизмов.

Во Всероссийском научно-исследовательском ветеринарном институте г.Казань (Тремасов М.Я., Сергейчев А.И., 1996) на основе выделенных из почвы микроорганизмов разработан препарат, получивший название УФ-1, использование которого ускоряет процесс утилизации различного вида органического сырья, в том числе экскрементов животных, птиц и человека.

Однако, не изученными оставались морфологические, физиолого-биохимические и патогенные свойства микроорганизмов, входящих в состав УФ-1, параметры безвредности, обеззараживающие и обезвреживающие действия, не обоснованы дозы препарата.

Выполненная работа является частью комплексных заданий НИР, определенных Департаментом ветеринарии МСХ РФ по теме «Разработка

РОС. НАЦИОНАЛЬНАЯ
БИБЛИОТЕКА
С.Петербург
09 109 ака 10216

мероприятий по ликвидации в очагах поражения последствий воздействия экотоксикантами» (№ гос. регистрации 01200202603).

1.2. Цель и задачи исследования. Целью настоящей работы явилось изучение биологических свойств микроорганизмов, входящих в состав УФ-1; определение параметров безопасности, обеззараживающего и обезвреживающего действия препарата и эффективности использования его для переработки органических отходов агропромышленного комплекса в высококачественное экологически чистое органическое удобрение.

В соответствии с поставленной целью были определены следующие задачи:

- изучить морфологические, культуральные, биохимические и патогенные свойства микроорганизмов, входящих в состав УФ-1;
- изучить острую, субхроническую, хроническую токсичность, раздражающее, алергизирующее, пирогенное, канцерогенное, эмбриотоксическое и тератогенное действия УФ-1;
- изучить обезвреживающее действие УФ-1 в отношении патогенных микроорганизмов и микотоксинов;
- разработать методы контроля качества препарата;
- оценить эффективность использования УФ-1 для переработки органических отходов агропромышленного комплекса и провести анализ качества получаемого удобрения

1.3. Научная новизна работы. Впервые изучены морфологические, физиолого-биохимические и патогенные свойства штаммов микроорганизмов, входящих в состав препарата УФ-1. Выявлено, что они обладают сахаролитической, протеолитической, уреазной и каталазной активностью, не образуют сероводород и индол, не обладают амилолитической активностью и патогенными свойствами. Штаммы паспортизированы и депонированы во «Всероссийской государственной коллекции штаммов микроорганизмов, используемых в ветеринарии и животноводстве» (ФГУ ВГНКИ). Установлено отсутствие выраженной острой и хронической токсичности; пирогенных и раздражающих свойств; отдаленных эффектов действия УФ-1. Выяснена эффективность использования УФ-1 для обеззараживания и обезвреживания органических отходов контаминированных микроорганизмами, микотоксинами. Предложены методы контроля качества препарата и разработана технология утилизации органических отходов сельскохозяйственных предприятий в высококачественное экологически чистое органическое удобрение. Экспериментально обоснованы дозы препарата.

По материалам диссертационной работы подготовлены и представлены в Федеральный институт промышленной собственности 2 заявки на выдачу патентов на изобретения:

«Штамм *Actinomyces fradiae*-96 для переработки органических отходов животноводства и птицеводства» (заявка №2005109042 (010708) от 29.03.2005 г.);

«Способ получения органического удобрения» (заявка №2005109044 (010710) от 29.03.2005 г.).

1.4. Практическая ценность работы. Предложен и внедрен в производство препарат УФ-1 для переработки различного вида органического сырья в высококачественное экологически чистое органическое удобрение. На основании полученных данных, разработаны и утверждены в установленном порядке следующие нормативно-технические документы:

«Методические рекомендации по борьбе с микотоксикозами животных в Самарской области», утвержденные руководителем управления реализации целевых программ в животноводстве МСХ и продовольствия Самарской области (1.03.2004).

Технические условия ТУ 9291-00-00492374-04 «Органическое удобрение на основе УФ-1 технологии», утвержденные заместителем Министра сельского хозяйства и продовольствия РТ по земледелию (15.06.2004).

1.5. Аprobация работы. Основные материалы диссертационной работы доложены и одобрены на научных сессиях ФГНУ ВНИВИ (г. Казань) по итогам НИР за 2002-2004 г.г., ежегодных республиканских, межрегиональных, всероссийских, международных научно-практических конференциях по актуальным проблемам ветеринарии и зоотехнии (Владимир, 2003, 2004, 2005; Кемерово 2003; Казань, 2004, 2005; Чебоксары, 2004; Москва, 2004, 2005).

1.6. Публикации. Основные положения диссертации изложены в 11 работах, опубликованных в журналах «Био», «Ветеринарный врач» и материалах научно-практических конференций.

1.7. Основные научные положения диссертации, выносимые на защиту:

- препарат УФ-1 для переработки органических отходов животноводства и птицеводства в экологически чистое органическое удобрение;
- показатели качества и безопасности препарата УФ-1.

1.8. Объем и структура работы. Материалы диссертации изложены на 151 страницах компьютерного текста и включают следующие разделы: введение, обзор литературы, материалы и методику исследований, результаты собственных исследований, обсуждение результатов исследований, выводы, практические предложения, список использованной литературы, приложения. Работа иллюстрирована 38 таблицами и 6 рисунками. Список использованной литературы содержит 240 библиографических источников, в том числе 86 зарубежных авторов.

2. СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Материалы и методика исследований

Работа проводилась в 2002-2005 годах в лаборатории микотоксинов ФГНУ «Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт» (г. Казань), а также в условиях животноводческих и птицеводческих хозяйств.

Препарат УФ-1 представляет собой прозрачную, светло-желтого цвета жидкость со специфическим запахом, полученный на основе ассоциации почвенных микроорганизмов: *Actinomyces fradiae*-96 и *Candida krusei*-96. Идентификацию данных штаммов проводили с использованием определителя бактерий Берджи (1997), а также по Красильникову Н.А. «Биология отдельных

групп актиномицет» (1965) и Реброву Р.Н. «Грибы рода *Candida* при бактериальных инфекциях» (1979).

Биологическая оценка препарата проводилась с учетом определения морфологических (форма и размеры клеток), тинкториальных (способности к окраске анилиновыми красителями), физиологических (характер роста культуры на жидких и плотных питательных средах, ферментация углеводов и многоатомных спиртов, уреазная и каталазная активность, образование конечных продуктов распада белков) и патогенных свойств, входящих в состав УФ-1 микроорганизмов. Исследования проводили руководствуясь принятыми в микробиологии методами (Лабинская А.С., 1963; Байрак В.А. и др., 1980; Сидоров М.А. и др., 1995).

Морфологические и тинкториальные свойства штаммов устанавливали путем микроскопирования мазков из агаровых или бульонных культур, окрашенных по Граму. Величину микроорганизмов определяли световой микроскопией с использованием окулярного микрометра АМ-9-2.

Культуральные свойства микроорганизмов изучали по характеру их роста в жидких (МПБ) и на плотных (сусло-агар) питательных средах, после инкубирования посевов в термостате в течение 24-48 часов, при температуре 37°C. При изучении биохимических свойств штаммов использовали: МПБ с индикаторными бумажками пропитанными уксусно-кислым свинцом (определение сероводорода), реактив Эрлиха (выделение индола); среды Гисса, содержащие различные углеводы и многоатомный спирт; агар Кристенсена (уреазная активность); МПЖ (протеолитическая активность); МПА с 0,2 % - ным растворимым крахмалом (амилолитическая активность). Каталазную активность данных актиномицетов изучали путем суспендирования культуральной массы в 3 %-ной перекиси водорода на предметном стекле. Наличие каталазы оценивали по появлению пузырьков газа (атомарный кислород, отщепленный каталазой от перекиси водорода).

Патогенные свойства *Actinomyces fradiae*-96 и *Candida krusei*-96 изучали путем подкожного и внутрибрюшинного введения 0,5-1 мл взвеси микроорганизмов в МПБ, с содержанием в 1 мл 100, 200, 500 млн. и 1 млрд. микр. кл.

Изучение фармако-токсикологических свойств УФ-1 включало определение острой, субхронической и хронической токсичности; раздражающего, алергизирующего, пирогенного, а также канцерогенного, эмбриотоксического и тератогенного действий.

Исследования проводили на лабораторных животных (белые мыши, белые крысы, морские свинки и кролики), содержащихся в условиях вивария института. Перед проведением каждого опыта - животных, по принципу аналогов (одинаковая живая масса, возраст, пол), делили на опытные и контрольные группы. Кормление и содержание животных опытных групп не отличались от контрольных.

Изучение безвредности препарата проводили согласно «Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ» (М., 2000), с учетом «Методических рекомендаций, утвержденных Управлением государственного контроля лекарственных средств и медицинской

техники Минздрава России» (29.12.1997) и одобренных фармакологическим государственным комитетом Минздрава России (протокол №13 от 25.12. 1997), а также «Методических указаний по определению токсических свойств препаратов, применяемых в ветеринарии и животноводстве» (М., 1988).

Острую токсичность УФ-1 оценивали на белых мышах и белых крысах. Препарат вводили в желудок атравматическим зондом однократно как в виде рабочего раствора, так и в нативном виде.

Изучение кумулятивного действия УФ-1 проводили с использованием теста «субхронической токсичности», предложенного Lim R. et al. (1961).

Изучение влияния УФ-1 на функциональное состояние печени проводили с использованием гексеналовой пробы и определения активности гепатоспецифических ферментов. Активность аспартатаминотрансферазы (АсАТ) и аланинаминотрансферазы (АлАТ) в сыворотке крови определяли методом Рейтмана-Френкеля (Кондрахин И.П. и др., 2004).

Оценку функционального состояния центральной нервной системы при многократном воздействии УФ-1 проводили в опытах на белых крысах, с использованием тест-метода «открытое поле», предложенного Boissier O. et al. (1964).

Раздражающее действие ускорителя ферментации определяли согласно «Методических указаний по изучению раздражающих свойств и обоснованию ПДК избирательно действующих раздражающих веществ в воздухе рабочей зоны», утвержденных Минздравом СССР (М., 1980).

Определение алергизирующего действия препарата проводили в соответствии с Методическими указаниями МУ 1.1.578-96 «Требования к постановке экспериментальных исследований по обоснованию предельно допустимых концентраций промышленных химических аллергенов в воздухе рабочей зоны и атмосферы», утвержденных Минздравом России (М., 1997).

Пирогенность УФ-1 изучали в опытах на 6 кроликах, массой 2,3±0,3 кг по методике, описанной Першиным Г.Н. (1971).

Изучение возможного эмбриотоксического действия УФ-1 проводили согласно «Методических указаний по изучению эмбриотоксического действия фармакологических веществ и влияния их на репродуктивную функцию», утвержденным Минздравом СССР (М., 1986).

В ходе экспериментов определялись гематологические и биохимические показатели крови, регистрировался прирост массы тела животных. Количество эритроцитов, лейкоцитов, гемоглобина, СОЭ определяли по общепринятым методам (Кудрявцев А.А., Кудрявцева Л.А., 1974), глюкозы – ортолуидиновым методом, общего белка – рефрактометрически (Антонов Б.И. и др., 1991).

Обеззараживающее действие УФ-1 изучали на экспериментально контаминированном органическом субстрате (свиной навоз). Для контаминации субстрата использовали музейные штаммы микроорганизмов: E. coli 0126 и Sal. thyphimurium 371. До и каждые 5 сут после обработки навоза УФ-1 подсчитывали количество микроорганизмов в субстрате методом серийного разведения.

Детоксицирующее действие УФ-1 изучали на экспериментально контаминированном органическом субстрате. Для контаминации органического субстрата использовали кристаллический Т-2 токсин, синтезированный в

лаборатории микотоксинов с.н.с., к.в.н. Сергейчевым А.И., не отличающийся по физико-химическим свойствам от существующих стандартов. В качестве продуцента Т-2 токсина использовали *Fusarium sporotrichiella* шт. 2m-15, предоставленный Котиком А.Н.

Производственные опыты по изучению эффективности УФ-1 для переработки навоза и помета проведены в условиях свиноводческих, скотоводческих и птицеводческих хозяйств. Использовались различные дозы препарата, ставились опытные и контрольные пробы. До и после обработки навозных масс отбирали пробы (как с поверхности, так и с глубины) для проведения микробиологических, копрологических и токсикологических исследований. Для выделения и количественного учета микроорганизмов; образцы навоза высеивали в виде разведенной суспензии на питательные среды разного состава, в чашках Петри. Культивирование осуществлялось в условиях термостата, а затем проводился подсчет и микроскопический анализ выросших колоний. С целью выявления в отобранных образцах яиц гельминтов, исследование фекалий проводили методом Фюллеборна.

По окончании процесса ферментации проводили анализ качества получаемого удобрения. Качество получаемого удобрения оценивалось по содержанию основных питательных веществ. Определение влаги производили по ГОСТ 26713-85, общего азота - по ГОСТ 26715-85, общего фосфора в пересчете на P_2O_5 и общего калия в пересчете на K_2O - по ГОСТ 26717-85.

В экспериментальной работе использовали 117 белых мышей, 240 белых крыс, 12 морских свинок, 24 кролика, 240 проб крови, 425 проб навоза и помета. Проведено более 800 микробиологических, копрологических, гематологических, биохимических и хроматографических исследований.

Цифровой материал подвергали статистической обработке на персональном компьютере, с использованием программы Microsoft Excel, по общепринятым методам вариационной статистики с вычислением критерия достоверности Стьюдента.

При выполнении отдельных этапов работ принимал участие с.н.с., к.в.н. Сергейчев А.И., за что выражаем ему благодарность.

3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1. Изучение биологических свойств штаммов микроорганизмов, входящих в состав УФ-1

УФ-1 представляет собой взвесь микроорганизмов в питательной среде, идентифицированных как *Actinomyces fradiae* и *Candida krusei*, разновидность 96.

Actinomyces fradiae представляют собой грамположительные, овальной формы микромицеты, длиной $6,0 \pm 0,4$ мкм и шириной $4,0 \pm 0,5$ мкм. *Candida krusei* - грамположительные, округлой формы, размерами: $4,0 \pm 0,17$ мкм и $5,0 \pm 0,3$ мкм.

На сусло-агаре данные микроорганизмы образуют мелкие, кремового цвета, округлые, выпуклые, вязкой консистенции, мутные колонии с гладкой поверхностью и ровными краями (S-формы колоний). Рост этих микроорганизмов в МПБ сопровождается помутнением, с формированием

слизистой пленки, легко разбивающейся при встряхивании. Для *Candida krusei* характерно формирование и хлопьев.

Штаммы микроорганизмов, входящие в состав УФ-1, обладают выраженной сахаролитической активностью и на средах Гисса интенсивно ферментируют с образованием кислоты без газа глюкозу, сахарозу, глицерин, маннит, дульцит, лактозу, а с образованием кислоты и газа - мальтозу.

Исследуемые штаммы обладают протеолитической (разжижают желатин), каталазной и уреазной активностью. Не образуют сероводород и индол и не способны расщеплять крахмал, т.е. не обладают амилолитической активностью.

Введение подкожно и внутрибрюшинно белым мышам 0,5-1 мл взвеси микроорганизмов в МПБ, с содержанием в 1 мл 100, 200, 500 млн. и 1 млрд. микр. кл. (*Actinomyces fradiae*-96 и *Candida krusei*-96) не приводит к гибели животных, следовательно, они не обладают патогенностью. При вскрытии на 7 сут специально убитых животных патологоанатомические изменения во внутренних органах не наблюдались. Из тканей внутренних органов исходные культуры УФ-1 не выделялись.

Штаммы паспортизированы как *Actinomyces fradiae*-96-ВГНКИ 04.05.17. - ДЕП и *Candida krusei*-96-ВГНКИ 04.05.18. - ДЕП и депонированы 23.09.2004 г во «Всероссийской государственной коллекции штаммов микроорганизмов, используемых в ветеринарии и животноводстве» (ФГУ ВГНКИ). Справки о депонировании штаммов выданы соответственно за № 2395/20 и № 2396/20 от 23.09.2004 г.

3.2. Изучение безвредности препарата

Острую токсичность УФ-1 изучали в опытах на 45 белых мышах и 30 крысах обоего пола, разделенных по принципу аналогов на опытные и контрольные группы. Вводили как сам препарат (200 млн. микр. кл.), так и УФ-1 раствор, в концентрации 1:1000 (200 тыс. микр. кл.), в объеме 0,5 мл для белых мышей и 5 - для крыс. Животным контрольных групп (3 группа) в аналогичном объеме вводили физиологический раствор.

Проведенные опыты показали, что однократное внутрижелудочное введение УФ-1 как в нативном виде, так и в рабочем растворе не оказывает токсического действия и не приводит к гибели животных.

Поскольку дозы 0,5 и 5 мл являются максимально вводимыми при внутреннем введении соответственно белым мышам (массой 18-20 г) и белым крысам (массой 150-160 г), то большие дозы УФ-1 ввести не удалось. Вследствие этого не представлялось возможным определить и ЛД₅₀.

Субхроническую токсичность УФ-1 оценивали на 30 белых крысах обоего пола с начальной массой 150-160 г., разделенных по принципу аналогов на 3 группы по 10 голов в каждой (2 опытные и 1 контрольная). Опытным животным вводили УФ-1 внутрижелудочно в нативном виде (1 группа) и в рабочем растворе (2 группа). Первоначально вводимая доза препарата в первые 4 сут составила 0,5 мл, то есть 1/10 от максимальной вводимой. В последующем каждые 4 сут предыдущую дозу увеличивали в 1,5 раза и так до окончания эксперимента. Контрольным животным (3 группа) по аналогичной схеме вводили физиологический раствор.

Установлено, что ежедневное внутрижелудочное введение УФ-1 не вызвало гибели животных и существенных отклонений от нормального состояния. Животные всех групп сохраняли удовлетворительный аппетит, имели гладкий и чистый шерстный покров.

Проведенные исследования показали, что гематологические и биохимические показатели крови животных всех групп находились в пределах физиологической нормы (табл. 1).

Таблица 1– Гематологические и биохимические показатели белых крыс при применении УФ-1 (n=10)

Показатели	Группы животных		
	1	2	контроль
Эритроциты, $10^{12}/л$	$6,9 \pm 0,1^*$	$6,4 \pm 0,2$	$6,3 \pm 0,8$
Лейкоциты, $10^9/л$	$11,1 \pm 0,5^*$	$12,7 \pm 0,4^*$	$11,9 \pm 0,6$
Гемоглобин, г/л	$135,0 \pm 0,4^*$	$130,2 \pm 1,3$	$130,0 \pm 0,7$
СОЭ, мм/ч	$0,8 \pm 0,1$	$0,9 \pm 0,1$	$1,05 \pm 0,1$
Общий белок, г/л	$68,7 \pm 0,6$	$68,7 \pm 0,3$	$68,9 \pm 0,3$
Глюкоза, ммоль/л	$4,4 \pm 0,1$	$4,3 \pm 0,3$	$4,4 \pm 0,7$

Примечание: * $P < 0,05$

Таким образом, одно- и многократное внутрижелудочное введение УФ-1 не приводят к гибели лабораторных животных. Данное обстоятельство не позволило определить LD_{50} и рассчитать коэффициент кумуляции по показателю смертельного эффекта. Однако, можно предположить, что коэффициент кумуляции (отношение максимально вводимой дозы при многократном введении на максимально вводимую дозу при однократном введении) составляет 8,3 и по классификации Медведа Л.И. (1986) УФ-1 можно отнести к веществам не обладающим кумулятивным действием.

Длительное действие препарата, а также влияние его на энергию роста, гематологические и биохимические показатели крови изучали в опытах на белых крысах, разделенных на 4 равные группы: 3 опытные и 1 контрольная (по 10 животных в каждой). Крысы 1-ой группы в течение 3 месяцев получали вместо питьевой воды 16 % - ный, 2-ой группы - 8 % - ный, 3-ей группы – 4 %-ный растворы УФ-1. Содержание микробных тел составило в 1 мл данного раствора 32, 16 и 8 млн. микр. кл. соответственно. Контрольная группа крыс по аналогичной схеме получала физиологический раствор.

Установлено, что длительное введение УФ-1 не оказывает отрицательного действия на организм животных. В ходе эксперимента не наблюдалось гибели крыс опытной группы, а также существенных отклонений их от нормального состояния.

Гематологические и биохимические показатели крови крыс как опытных, так и контрольных групп находились в пределах физиологической нормы.

Многократное внутрижелудочное введение препарата не оказывало отрицательного влияния на функциональное состояние центральной нервной системы и печени. Показатели двигательной и исследовательской активности, продолжительность и характер гексеналового сна, активность аспарат- и аланинаминотрансфераз не выходили за пределы физиологических колебаний.

У кроликов при введении УФ-1 не наблюдалось повышение температуры более $0,6 \pm 0,01^{\circ}\text{C}$, что свидетельствует об апирогенности препарата.

Местно-раздражающее действие УФ-1 на кожу изучали в опытах на 4 кроликах породы «Шиншилла» и 4-х морских свинок. На выстриженную кожу правого бока животного шпательем наносили УФ-1, участок кожи левого бока служил контролем, на него наносили физиологический раствор. Реакцию кожи регистрировали и оценивали с симметричным участком кожи животного через 1 и 16 часов. В течение всего периода наблюдений, каких-либо функциональных нарушений кожи (эритема, отек, изъязвления, изменение местной температуры) на участке нанесения препарата не отмечалось.

В следующей серии опытов в конъюнктивальный мешок правого глаза 4-х кроликов глазной пипеткой закапывали по 2 капли УФ-1, в левый (контроль) - физиологический раствор. После нанесения УФ-1 и физиологического раствора на слизистую оболочку глаз животных наблюдалось незначительное слезотечение, исчезающее через несколько минут. В дальнейшем каких-либо признаков раздражения слизистой оболочки глаз, выражающиеся в инъецировании сосудов конъюнктивы и гиперемии, не отмечалось, что свидетельствует об отсутствии у препарата раздражающих свойств.

Для выявления аллергенных свойств УФ-1 проводили внутрикожную сенсибилизацию морских свинок, разделенных на 2 опытные и одну контрольную группы по 4 животных в каждой. Морским свинкам опытной группы внутрикожно вводили УФ-1 в дозе 0,02 и 0,1 мл, контрольным животным - в том же объеме физиологический раствор. Выявление сенсибилизации проводили через 8 дней, используя реакцию специфического лизиса лейкоцитов (РСЛЛ). На протяжении всего опыта, видимых кожных изменений на месте введения препарата не отмечалось.

Показатель РСЛЛ у животных 1-ой опытной группы составил $4,5 \pm 0,4\%$, у 2-ой - $12,4 \pm 0,5\%$. В то время как у контрольных животных не отмечалось увеличения лизиса лейкоцитов, РСЛЛ составила - $4,8 \pm 0,3\%$.

Положительная РСЛЛ, обнаруженная только у животных 2 опытной группы, при отрицательной кожной пробе свидетельствует о слабовыраженной аллергической реакции УФ-1, которая связана с грибной природой препарата. Поскольку известно, что плесневые и дрожжеподобные грибы являются индукторами аллергических реакций различных типов (Глушко Н.П. и др., 1998; Koivikko A. et al., 1991; Halpin D. et al., 1994; Richaidson M., Kokki M., 1998).

Канцерогенные свойства УФ-1 выясняли в опытах на белых крысах ($n=60$) и кроликах ($n=10$). Животным опытных групп 3 раза в неделю, в течение 6 мес, на выстриженный участок кожи (кроликам на кожу уха) наносили УФ-1, в объеме 0,5 мл, контрольной - физиологический раствор.

В результате проведенных исследований выявлено, что многократное накожное нанесение УФ-1 не оказывало отрицательного влияния на общее состояние подопытных животных, видимых изменений кожи на месте нанесения препарата не выявлено. Также не отмечалось опухолевидных образований на коже и других структурах организма.

В течение проведения экспериментов как в контрольной, так и опытной

группе белых крыс отмечался падеж отдельных животных, которое являлось естественным отходом и не выходил за допустимые, при этом границы.

Достоверной разницы в показателях прироста массы тела белых крыс во всех группах не обнаружено.

Гематологические показатели крови кроликов как контрольных, так и опытных групп находились в пределах физиологической нормы.

При диагностическом вскрытии специально убитых животных патологоанатомические изменения во внутренних органах не обнаруживались.

Таким образом, УФ-1 при длительном накожном нанесении животным не оказывает канцерогенного действия, о чем свидетельствует отсутствие опухолевидных образований на коже и внутренних органах, а также изменений массы тела и основных гематологических показателей.

С целью определения действия УФ-1 на организм потомства нами было проведено изучение эмбриотоксических и тератогенных свойств.

Опыты проводили на 20 самках белых крыс половозрелого возраста живой массы 180-200 г, разделенных по принципу аналогов на контрольную и опытную группы. Крысам опытной группы вводили УФ-1 в дозе 0,5 мл с 1 по 19 дни беременности. Крысам контрольной группы по аналогичной схеме вводили физиологический раствор.

Проведенные исследования показали, что введение УФ-1 беременным самкам белых крыс не оказывало отрицательного влияния на массу тела и течение беременности. Достоверной разницы в показателях предимплантационной и постимплантационной гибели эмбрионов, общей эмбриональной смертности, прироста массы тела и развития крысят в постнатальный период не обнаружено.

При внешнем осмотре извлеченных из матки плодов видимых морфологических изменений не наблюдалось. В ходе исследования плодов методами Вильсона и Даусона аномалий развития не выявлено.

Таким образом, в острых и хронических экспериментах на лабораторных животных, проведенных в соответствии с требованиями Государственной Фармакопеи, установлена безвредность препарата. Следовательно, УФ-1 согласно гигиенической классификации относится к малотоксичным препаратам, по ГОСТу – к 4-му классу – вещества малоопасные. Полученные данные позволяют отнести УФ-1 к безвредным препаратам, не обладающим кумулятивным действием.

3.3. Изучение обеззараживающего действия УФ-1 на патогенные микроорганизмы

С целью определения обеззараживающего действия УФ-1, с установлением срока гибели патогенных микроорганизмов провели серию модельных лабораторных опытов. Для этого в аквариумы размером 40х20х10 см помещали пробы органического субстрата (свиной навоз) и контаминировали взвесью суточных культур музейных штаммов микроорганизмов: *E. coli* 0126 и *Sal. thyphimurium* 371. В начале опытов и через каждые 5 сут проводили определение количества данных микроорганизмов, используя метод последовательных разведений в стерильном изотоническом растворе натрия

хлорида, с последующим посевом каждого разведения на дифференциальные среды. Подсчет выросших колоний с пересчетом их титра в 1 г фекалий проводили после культивирования посевов в термостате в течение 24 – 72 ч при температуре 37°C. Для индикации *E.coli* использовали агар Эндо, *Sal. thyphimurium* - висмут-сульфит агар, с последующей микроскопией выросших колоний.

Обеззараживающее действие УФ-1 изучали в различных модификациях, ставили опытные и контрольные пробы. В опытные пробы к органическому субстрату добавляли предварительно разведенный в воде до рабочей концентрации 1:1000 УФ-1 в концентрации 1, 2 и 4 тыс. микр. кл./кг (соответственно 1, 2 и 3 пробы). В контрольную пробу (4 проба) препарат не вносили. Первоначальное содержание *E. coli* в 1 г навоза составило в 1-ой пробе - $1010 \pm 0,4 (10,1 \times 10^8)$; во 2-ой - $1050 \pm 0,1 (10,5 \times 10^8)$; в 3-ей - $1060 \pm 0,3 (10,6 \times 10^8)$, а в 4-ой пробе (контроль) - $1030 \pm 0,17 (10,30 \times 10^8)$ млн. микр. кл.

Наилучший обеззараживающий эффект был отмечен при добавлении к субстрату УФ-1 в концентрации 4 тыс. микр. кл./кг, позволяющий полностью обеззаразить субстрат, экспериментально загрязненный *E. coli* на 25 сут. Более низкие концентрации УФ-1 (1 и 2 тыс. микр. кл./кг) позволили снизить содержание *E. coli* на 25 сут опыта в среднем на 6 порядков (от несколько миллионов в начале опыта до несколько сотен). Содержание *E. coli* на 25 сут в 1-ой пробе составило $2,1 \pm 1,7 \times 10^2$, во 2-ой - $2,7 \pm 1,7 \times 10^2$ КОЕ/г субстрата ($P < 0,001$). Полное обеззараживание субстрата 1-ой и 2-ой проб, загрязненных *E. coli*, наблюдалось на 30-ые сутки опыта. В контрольных пробах содержание *E. coli* на 30 сут опыта снизилось на 2 порядка от $10,3 \pm 0,17 \times 10^8$ до $1,8 \pm 0,7 \times 10^6$ КОЕ/г субстрата.

Изучение динамики изменения количества *Sal. thyphimurium* показал наилучший эффект при внесении УФ-1 в концентрации 4 тыс. микр. кл./кг, что позволило полностью обеззаразить субстрат на 20-ые сут опыта. Внесение в навоз УФ-1 в количестве 1 и 2 тыс. микр. кл./кг снижало содержание сальмонелл на 20-ые сут в среднем на 5-6 порядков: от нескольких миллионов до несколько тысяч (в 1 пробе) и сотен (во 2 пробе). Содержание *Sal. thyphimurium* в 1-ой и 2-ой пробах на 20-ые сут опыта составило соответственно $4,7 \pm 0,3 \times 10^3$ и $5,6 \pm 2,4 \times 10^2$ КОЕ/г ($P < 0,001$). Полное обеззараживание субстрата в этих пробах наблюдалось соответственно на 30-ые и 25-ые сутки. В контрольной пробе содержание *Sal. thyphimurium* на 30 сут опыта составило $2,5 \pm 0,3 \times 10^6$, при исходном значении данного показателя $41,8 \pm 1,1 \times 10^8$ КОЕ/г.

3.4. Изучение обезвреживающего действия УФ-1 на органические отходы, загрязненные Т-2 токсином

В связи с возможностью выделения с экскрементами животных микотоксинов, попадания в навоз остатков корма, в том числе загрязненного микотоксинами и необходимостью изыскания методов для утилизации загрязненных кормов было проведено изучение детоксицирующего действия УФ-1. В качестве объектов подвергаемых детоксикации использовался навоз свиней и крупного рогатого скота, а также корма экспериментально загрязненные Т-2 токсином. Наилучший детоксицирующий эффект был

отмечен при внесении в свиной навоз УФ-1 в концентрации 4 тыс. микр. кл./кг, позволяющий обезвредить через 24 ч 93,8 % Т-2 токсина ($P < 0,001$). Полное обезвреживание субстрата при внесении УФ-1 в концентрации 4 тыс. микр. кл. наблюдалось на 5 сут, в дозе 1 и 2 тыс. микр. кл./кг - на 8 сут. В контрольных пробах на 8 сут содержание Т-2 токсина снизилось на 22 % (рис. 1).

Обработка навоза крупного рогатого скота УФ-1 в концентрации 1 тыс. микр. кл./кг; 2 тыс. микр. кл./кг и 4 тыс. микр. кл./кг через сут приводила к разрушению 63,2; 74,8 ($P < 0,01$) и 83 % ($P < 0,001$) Т-2 токсина, соответственно. При внесении в субстрат УФ-1 в концентрации 4 тыс. микр. кл./кг полная деградация Т-2 токсина, наблюдалась на 5 сут, в дозе 1 и 2 тыс. микр. кл./кг - на 8 сут. В контрольных пробах (без внесения УФ-1) изменения были менее значительные (рис. 2).



Рис. 1. Степень обезвреживания свиного навоза УФ-1, загрязненного Т-2 токсином



Рис. 2. Степень обезвреживания навоза крупного рогатого скота УФ-1, загрязненного Т-2 токсином

В следующей серии опытов в качестве объектов подвергаемой детоксикации использовали корма, экспериментально загрязненные кристаллическим Т-2 токсином, растворенным в ацетоне. На 1 кг корма вносили

5 мг Т-2 токсина. После выпаривания ацетона в опытные пробы вносили УФ-1 в объеме 0,01 и 0,02 мл/кг, т. е. в концентрации 2 и 4 тыс. микр. кл./кг.

Результаты исследований по изучению обезвреживающего действия УФ-1 представлены в табл. 2.

Таблица 2 - Обезвреживание препаратом УФ-1 комбикорма, контаминированного Т-2 токсином

Проба	Т-2 токсин, мг/кг	Период исследований, ч			
		24		48	
		Т-2 токсин, мг/кг	% обезвр-ния	Т-2 токсин, мг/кг	% обезвр-ния
1	1,0	0,16±0,2*	85	-	100
2	1,0	0,06±0,5*	93,8	-	100
контроль	1,0	0,92±0,2	8	0,88±0,1	12

Примечание: * $P < 0,001$

Использование УФ-1 через 24 ч приводило к обезвреживанию 85-93,8 % Т-2 токсина ($P < 0,001$). Наилучший эффект был отмечен при внесении УФ-1 в концентрации 4 тыс. микр. кл./кг. Через 48 ч в опытных пробах Т-2 токсин не обнаруживался. В контрольной пробе содержание Т-2 токсина через 24 и 48 ч незначительно уменьшилось (на 8-12 %).

3.5. Методы контроля качества препарата УФ-1

Предложены методы контроля качества препарата УФ-1, которые производятся по следующим показателям: определение внешнего вида, цвета, наличия посторонних примесей, концентрации *Actinomyces fradiae-96* и *Candida krusei-96*, контаминации посторонней микрофлорой, безвредности для животных.

УФ-1 представляет собой прозрачную светло-желтого цвета жидкость со специфическим запахом. Допускается содержание осадка, легко разбивающегося при встряхивании. В препарате не допускается наличие посторонних примесей и контаминация посторонней микрофлорой более 300 тыс. микроорганизмов в 1 см³. В 1 мл препарата должно содержаться не менее 200 млн. микр. кл. *Actinomyces fradiae-96* и *Candida krusei-96*. Внутривбрюшинное введение белым мышам 0,5 мл УФ-1 не должен вызывать их гибели и видимых отклонений в клиническом состоянии.

Оптимальным является хранение препарата при температуре 4°С в течение 6-7 мес или в лиофильно высушенном виде.

3.6. Изучение эффективности УФ-1 в производственных условиях

Для изучения эффективности УФ-1 нами были проведены производственные опыты в условиях свиноводческих, скотоводческих и птицеводческих хозяйств РФ: СЗАО «СКВО» Ростовской области; агрофирма «Нур», СХКП им. «Вахитово» Кукморского района, ООО «Ялкын» Тюлячинского района, ООО «ХимокамАгро» Нижнекамского района, птицефабриках 'ОАО «Ак Барс Пестрецы», «Казанская», «Ключинская», «Юбилейная» РТ и др. Исследования проводили как в летний, так и зимний периоды.

Технологический процесс переработки навоза с использованием УФ-1 включал выполнение следующих операций. На площадку с твердым покрытием закладывали навоз или птичий помет (высотой бурта не менее 1 м). Поверхность равномерно поливали УФ-1, предварительно разведенным в воде до рабочей концентрации (1:1000). Затем на обработанную поверхность вновь закладывали субстрат и повторяли процедуру полива. Испытывали разные дозы препарата. Ставили 3 опытные и 1 контрольную пробу. Объем заложенных буртов составил не менее 500 т. В 1 опытную пробу вносили УФ-1 из расчета 10 мл/т (2 млн. микр. кл.), во 2 - в количестве 20 мл/т (4 млн. микр. кл.) и в 3 – 30 мл/т (6 млн. микр. кл.). Поверхность контрольной пробы поливали в том же объеме водой.

В СЗАО «СКВО» Ростовской области проведены опыты по утилизации жидкого навоза крупного рогатого скота, содержащего в лагунах, объемом 4500 м³. С помощью разбрызгивателя в лагуны вносили УФ-1, предварительно разведенный до рабочего раствора, из расчета 20 мл/т.

Предусмотрено внесение препарата непосредственно в канализационные коллекторы.

Производственные опыты показали высокую эффективность использования УФ-1 для переработки органических отходов. Через несколько часов после обработки УФ-1 навоза и помета на площадках и 48 ч в лагунах специфический неприятный запах исчезал совсем или становился почти незаметным. В контрольных пробах на протяжении всего периода исследований отмечался сильный запах навоза. Использование в процессе переработки органических отходов других методов и средств устраняет неприятный запах за более длительный срок. Так, созданный на основе ЭМ-технологии биопрепарат «Тамир», устраняет запах только на 7-10 сут (Блинов В.А., 2003).

С использованием УФ-1 разработаны биопакеты, предназначенные для утилизации выгребных ям на приусадебных участках, применение которых позволяет избавиться от неприятного запаха в течение 1 сут.

В нативном свином навозе обнаруживались яйца *Ascaris suum* - возбудителя аскаридоза свиней. Внесение в свиной навоз УФ-1 в дозе 20 и 30 мл/т позволило через 10 сут обеззаразить субстрат от яиц *Ascaris suum*, которые весьма устойчивы к воздействию условий внешней среды и сохраняют жизнеспособность в навозе более 2 лет (Захаров П.В., 1993; Акбаев М.Ш. и др., 2000). При внесении УФ-1 в дозе 10 мл/т обеззараживание субстрата наблюдалось на 20-ые сутки. В контрольной группе количественное содержание *Ascaris suum* в период исследования (30 сут) не претерпело значительных изменений по сравнению с исходным уровнем.

Также внесение препарата привело к полному обеззараживанию органического субстрата от обнаруженных в нем бактерий группы кишечной палочки и сальмонелл на 15-20-ые сутки. В контрольных пробах (без внесения УФ-1) бактериальная обсемененность оставалась на прежнем уровне.

Применение УФ-1 значительно снижало бактериальную обсемененность конечного продукта. В обработанном конечном продукте отсутствовала патогенная микрофлора, яйца и личинки гельминтов, простейшие, при наличии их в исходном субстрате. Содержание тяжелых металлов во всех отобранных образцах переработанного с использованием УФ-1 навоза не превышало уровень

ПДК этих элементов для почв. В конечном продукте исходные микроорганизмы УФ-1 не обнаруживались.

Содержание азота, фосфора и калия в получаемом в результате переработки свиного навоза удобрения составляет 2,49-3,1; 1,18-1,39 и 2,0-2,1%; навоза крупного рогатого скота - 2,2-2,5; 1,6-1,7; 2,5-2,8%, птичьего помета - 3,9-4,4; 1,7-1,8 и 2,73-3,15% соответственно. В отобранных образцах контрольных проб отмечалось низкое содержание питательных веществ, что несомненно снижает качество получаемого удобрения.

Исследования, проведенные совместно с Научно-исследовательским центром «Плодородие», показали, что полученное в процессе ферментации удобрение при внесении в почву оказывало положительное влияние на ее агрохимические свойства. Под действием удобрения в почве увеличивалось содержание подвижного фосфора – (P_2O_5), обменного калия – (K_2O), снижалась величины гидролитической и обменной кислотности и повышались сумма поглощенных оснований в почве и степень насыщенности почвы основаниями, что важно при реабилитации почвенного грунта. Благодаря этому увеличивалась урожайность сельскохозяйственных культур.

Таким образом, проведенные производственные опыты убедительно свидетельствуют о высокой эффективности использования УФ-1 для переработки органических отходов животноводства и птицеводства.

В производственных условиях обоснованы эффективные дозы использования УФ-1. Наилучший эффект был отмечен при внесении в навоз и помет УФ-1 в дозе 20 мл/т. В зимний период сроки переработки органических отходов увеличивались на 10-20 сут.

Всего с применением УФ-1 переработано свыше 500 тыс. т навоза и помета в различных регионах РФ.

ВЫВОДЫ

1. На основе микроорганизмов, выделенных из почвы, разработан препарат – ускоритель ферментации (УФ-1) для переработки (в течение 30-40 сут в летний период и 40-50 сут - в зимний) различного вида органического сырья в высокоэффективное экологически чистое органическое удобрение.

2. Входящие в состав УФ-1 штаммы микроорганизмов (*Actinomyces fradiae*-96 и *Candida krusei*-96) обладают выраженной сахаролитической, протеолитической, каталазной и уреазной активностью. *Actinomyces fradiae*-96 и *Candida krusei*-96 не патогенны для животных.

3. УФ-1 по ГОСТ 12.1.007.76 относится к 4 классу – малоопасные вещества. Препарат не обладает кумулятивным, раздражающим, пирогенным, канцерогенным, эмбриотоксическим и тератогенным действиями. Не оказывает отрицательного влияния на функциональное состояние печени и центральной нервной системы. Показатель реакции специфического лизиса лейкоцитов у подопытных животных составляет $12,4 \pm 0,5\%$, что свидетельствует о слабо выраженной аллергической реакции УФ-1.

4. Выявлено обеззараживающее действие УФ-1 на патогенные микроорганизмы: *E. coli* 0126 и *Sal. typhimurium* 371. Наиболее выраженное

обеззараживающее действие отмечается при внесении в субстрат УФ-1 в объеме 0,02 мл/кг (4 тыс. микр. кл./кг), позволяющий полностью обеззаразить субстрат, экспериментально контаминированный *E. coli* на 25-ые, а *Sal. typhimurium* – на 20-ые сутки. В контрольных пробах значительных изменений в содержании микроорганизмов, не наблюдается.

5. В опытах *in vitro* установлено детоксицирующее действие УФ-1 на Т-2 токсин. Полное обезвреживание свиного навоза, экспериментально контаминированного Т-2 токсином, при внесении в субстрат УФ-1 в концентрации 4 тыс. микр. кл./кг, наступает на – 8 сут, навоза крупного рогатого скота – на 5 сут. Более низкие концентрации препарата (1 и 2 тыс. микр. кл./кг) обеспечивают обезвреживание навоза на 8 сут.

6. Разработана технология переработки органических отходов в высококачественное экологически чистое органическое удобрение с содержанием азота, фосфора и калия в свином навозе 2,49-3,1; 1,18-1,39 и 2,0-2,1%; навозе крупного рогатого скота - 2,2-2,5; 1,6-1,7; 2,5-2,8%; птичьим помете - 3,9-4,4; 1,7-1,8; и 2,73-3,15% соответственно. В получаемом конечном продукте отсутствовала патогенная микрофлора, яйца и личинки гельминтов при наличии их в исходном субстрате.

7. Внесение в почву полученного с использованием УФ-1 удобрения положительно влияет на ее агрохимические свойства: увеличивает содержание подвижного фосфора – (P_2O_5), обменного калия – (K_2O), снижает величину гидролитической и обменной кислотности и повышает сумму поглощенных оснований и степень насыщенности почвы основаниями.

ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ

1. Предложен для внедрения в производство новый препарат – ускоритель ферментации УФ-1, позволяющий круглогодично, независимо от температурных условий, перерабатывать различное органическое сырье в высококачественное экологически чистое органическое удобрение.

2. Для производства препарата используются выделенные из почвы в 1996 г. штаммы *Actinomyces fradiae*-96-ДЕП/ВГНКИ и *Candida krusei*-96 ДЕП/ВГНКИ. Штаммы паспортизированы и депонированы во «Всероссийской государственной коллекции штаммов микроорганизмов, используемых в ветеринарии и животноводстве» (ФГУ ВГНКИ).

3. Разработана и утверждена в установленном порядке нормативно-техническая документация:

«Методические рекомендации по борьбе с микотоксикозами животных в Самарской области», утвержденные руководителем управления реализации целевых программ в животноводстве МСХ и продовольствия Самарской области (1.03.2004).

Технические условия ТУ 9291-00-00492374-04 «Органическое удобрение на основе УФ-1 технологии», утвержденные заместителем Министра сельского хозяйства и продовольствия РТ по земледелию (15.06.2004).

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Тремасов М.Я., Сергейчев А.И., Матросова Л.Е. и др. Метод ускоренной ферментации для утилизации органических отходов животноводства // Материалы международной научной конференции, посвященной 45-летию ФГУ «ВНИИЗЖ» 30-31 октября 2003 г «Актуальные проблемы инфекционной патологии животных». – Владимир, 2003. - С.143-145.
2. Матросова Л.Е., Сергейчев А.И., Тремасов М.Я. Ускоритель ферментации – УФ-1 для переработки птичьего помета // Материалы межрегиональной научно-практической конференции «Повышение устойчивости и эффективности агропромышленного производства в Сибири: наука, техника, практика». - Кемерово, 2003. – С.175-176.
3. Тремасов М.Я., Сергейчев А.И., Матросова Л.Е. К проблеме утилизации органических отходов сельскохозяйственных предприятий // БИО.- 2004.-№1.- С.25-27.
4. Матросова Л.Е., Сергейчев А.И., Тремасов М.Я. и др. Ускоритель ферментации (УФ-1) – основа получения экологически чистого органического удобрения // Материалы 2 – й международной научно-практической конференции «Дождевые черви и плодородие почв».- Владимир, 2004.- С.80-82.
5. Сергейчев А.И., Матросова Л.Е., Титова В.Ю. и др. УФ-1 для переработки отходов животноводства и птицеводства // Сборник научных трудов «Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии». - Т.116. – М., 2004. - С.146-149.
6. Матросова Л.Е., Сергейчев А.И., Тремасов М.Я. Экологически безопасный способ переработки органических отходов сельскохозяйственных предприятий // Материалы международной научно-практической конференции «Состояние и проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии в животноводстве».- Чебоксары, 2004. - С.559-561.
7. Матросова Л.Е. Изучение фармако-токсикологических свойств ускорителя ферментации // Материалы Всероссийской научно-практической конференции по актуальным проблемам агропромышленного комплекса. – Казань, 2004. - С. 139-141.
8. Матросова Л.Е., Сергейчев А.И., Тремасов М.Я. Морфологические и физиолого - биохимические характеристики микромицета, используемого для получения ускорителя ферментации УФ-1 // Материалы Всероссийской научно-практической конференции посвященной 45-летию ФГНУ ВНИВИ, 14-15 апреля 2005 г «Проблемы экотоксикологического, радиационного и эпизоотологического мониторинга». – Казань, 2005. - С.101-104.
9. Иванов А.В., Матросова Л.Е., Сергейчев А.И. и др. Изучение детоксицирующего действия микромицетов на микотоксины // Материалы третьего Всероссийского конгресса по медицинской микологии «Успехи медицинской микологии». - Т.5.-М., 2005. - С.132-134.
10. Матросова Л.Е. Микробные препараты в процессе переработки органического сырья // Материалы молодежного форума «Агробиотехнологии и экологическое земледелие». – Владимир, 2005. - С.138-140.
11. Матросова Л.Е. Современный экологический подход к переработке органических отходов // Ветеринарный врач - 2005. - №2. - С.21-23.

Р25 5 37

РНБ Русский фонд

2006-4

28880

Подписано в печать 24.11.2005 Заказ № 31 Формат 60x84 1/16. Усл.п.л. 1,0.
Тираж 100 экз. Отпечатано на офсетном участке ФГНУ ВНИВИ (г. Казань).
Адрес: 420075, г. Казань, Научный городок-2