

На правах рукописи

БЫЛГАЕВА Анджела Анастасовна

**ПЛЕСНЕВЫЕ ГРИБЫ В КОРМАХ И ИХ ОБЕЗЗАРАЖИВАНИЕ В
УСЛОВИЯХ ЯКУТИИ**

16.00.06—ветеринарная санитария, экология,
зоогигиена и ветеринарно-санитарная экспертиза

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата ветеринарных наук

Якутск 2004

Работа выполнена в ГНУ Якутский научно-исследовательский институт сельского хозяйства Сибирского отделения РАСХН.

Научный руководитель: доктор ветеринарных наук
М.П. Неустроев

Научный консультант: доктор ветеринарных наук
Н.П.Тарабукина

Официальные оппоненты: доктор ветеринарных наук,
профессор **М.С. Саввинова**
кандидат ветеринарных наук
Н.И. Прокопьева

Ведущая организация: — Всероссийский научно-исследовательский институт ветеринарной санитарии, гигиены и экологии.

Защита диссертации состоится « 21 » декабря 2004 г. в 11 часов на заседании диссертационного совета К — 006.063.02 при ГНУ Якутский научно-исследовательский институт сельского хозяйства СО РАСХН (677001, г. Якутск, ул. Бестужева-Марлинского 23/1).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ЯНИИСХ СО РАСХН.

Автореферат разослан « 20 » ноября 2004 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
канд. ветеринарных наук



М.П. Федорова

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Корма растительного происхождения, загрязненные плесневыми грибами, представляют реальную опасность не только для здоровья сельскохозяйственных животных, но и для здоровья человека, потребителя продуктов животноводства. При контаминации кормов существует возможность накопления микотоксинов, вторичных метаболитов плесневых грибов, кроме того, угнетается полезная микрофлора самих растений.

По литературным данным отмечается, что контаминация кормов остается серьезной проблемой. Так, по данным ФАО, более 30% мирового сбора продовольственных и кормовых культур загрязнено микотоксинами. Существующий факт выдвигает перед наукой и практикой ряд неотложных мер, направленных на изучение и разработку новых способов профилактики и борьбы с ними (С.В. Петрович, 1987; А.С. Донченко, Г.А. Ноздрин, 1997; А.Х. Саркисов, 1999; О.А. Монастырский, 2001).

Особо остро стоит вопрос обеззараживания кормов растительного происхождения, так как они наиболее подвержены действию плесневых грибов (Г. Девеговда, 2002). Растительные субстраты, обсемененные патогенными грибами, не могут быть использованы в корм животным без соответствующей санитарной обработки, так как большие дозы микотоксинов у животных вызывают ярко выраженные признаки отравления, приводящие часто к гибели. В малых дозах поступление какого-либо микотоксина не приводит к заметным отклонениям и даже не диагностируется, но вызывает значительные потери из-за снижения продуктивности, прироста массы тела, ослабления резистентности организма, при этом создаются благоприятные условия для возникновения многих инфекционных болезней (В.И. Билай, 1960; В.В. Рухляда, 1985; С.В. Петрович, 1991). Кроме того, возникают микрoэкологические нарушения кишечного микробиоценоза (В.Г. Акимкин, Г.И. Заболотнова, Г.К. Антонова и др., 1996; Т.Ч. Лихатинова, 1995; Б.А. Шендеров, 1998).

В настоящее время разработан ряд способов профилактики контаминации кормов патогенными грибами, такими как физические, химические и биологические. Имеются сведения об эффективности применения бактериальных препаратов для борьбы с плесневением кормов (С.Н. Харченко, С.Р. Резник, В.П. Литвин, 1980). В этом плане, следует отметить бактерии рода *Bacillus*, как наиболее распространенных в природе антагонистов ко многим патогенным микроорганизмам, которые успешно используются в различных отраслях сельского хозяйства (В.В. Смирнов, С.Р. Резник, И.А. Василевская, 1982; А. Chesson, 1991; В. Никитенко, 1993; А.Н. Панин и др., 1998; Н.П. Тарабукина, М.П. Неустроев, 2000).



Разработка эффективных и экологически безопасных способов деконтаминации кормов плесневыми грибами, с применением эубиотических микроорганизмов, особенно актуально в условиях Крайнего Севера, где характерен длительный зимний период содержания животных, трудность в обеспечении качественными кормами.

Цель и задачи исследований. Целью диссертационной работы является изучение распространенности плесневых грибов в кормах и разработка способов борьбы с ними. Для достижения этой цели были поставлены следующие задачи:

- определить в кормах доминирующие виды микроскопических грибов;
- изучить антагонистическое действие бактерий рода *Bacillus* на микофлору кормов;
- разработать эффективные и экологически безопасные способы обеззараживания кормов, загрязненных плесневыми грибами;
- разработать способы профилактики микотоксикозов животных в условиях Крайнего Севера.

Научная новизна.

— выявлены доминирующие в условиях Якутии, виды микроскопических грибов, развивающихся в кормах, почве и биоматериале, а именно, плесневые грибы рода *Aspergillus*, *Mucor* и *Penicillium*;

— установлено, что при скармливании молодяку крупного рогатого скота сена, загрязненного плесневыми грибами регистрируются нарушения кишечного микробиоценоза: уменьшение количества представителей нормофлоры — бифидо- и лактобактерий, при значительном увеличении количества потенциальных энтеропатогенов, что характеризует явление дисбактериоза;

— изучена антагонистическая активность штаммов *Bacillus subtilis* «ТНП-3» и «ТНП-5» в отношении грибов рода *Aspergillus*, *Penicillium* и *Stachybotrys*;

— впервые в условиях Крайнего севера, разработан эффективный биологический способ деконтаминации кормов (сено, сенаж) плесневыми грибами с использованием эубиотического препарата Сахабактисубтил;

— впервые разработаны способы профилактики микотоксикозов животных с применением препарата Сахабактисубтил и адсорбированного им цеолита-хонгурина.

Практическая значимость. Разработаны методические рекомендации «Профилактика микотоксикозов сельскохозяйственных животных в условиях Якутии», утверждённые и опубликованные Ученым советом ГНУ ЯНИИСХ,

позволяющие значительно снизить контаминацию кормов (сено, сенаж) плесневыми грибами.

Предложен способ профилактики микотоксикозов животных с применением препарата Сахабактисубтил или адсорбированного им цеолита-хонгурина, который позволит при использовании сена, контаминированного грибами родов *Aspergillus*, *Mucor*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Rhizopus*, *Alternaria*, *Stachybotrys* и *Tnchodenna*, повысить иммунобиологическую реактивность, и предотвратить отравление животных.

Апробация работы. Основные материалы диссертационной работы доложены на заседаниях Ученого совета Якутского НИИСХ в 2001 -2004 гг., на научно-практической конференции молодых ученых (Якутск, 2002), на Софроновских чтениях (Якутск, 2001), научно-практической конференции «Актуальные проблемы ветеринарной медицины в Якутии» (Якутск, 2002), научной конференции молодых ученых и аспирантов (Москва, 2002), республиканской научно-практической конференции аспирантов (Якутск, 2003), 2 республиканских аспирантских чтениях по биол. и с.-х. наукам (Якутск, 2004); заочной электронной конференции «Современные проблемы ветеринарной медицины» (Москва, 2004), международной конференции молодых ученых, посвященной 35-летию СО РАСХН (Новосибирск, 2004).

Публикация результатов исследований. Основные научные положения изложены в 4 научных работах, опубликованных в сборниках научных трудов ЯГСХА, ГНУ ЯНИИСХ и Российской академии естествознания.

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 138 страницах, состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов, собственных исследований, обсуждения результатов, выводов, практических предложений, списка литературы и приложения. Работа иллюстрирована 25 таблицами, 7 диаграммами и 5 фотографиями. Список использованной литературы **включает 104 источника, в том числе 24** иностранных авторов.

Основные вопросы, выносимые на защиту:

- материалы изучения распространенности плесневых грибов в Центральных районах Якутии;
- результаты изучения видового спектра микроскопических грибов выделенных из кормов, почвы и биоматериала;
- результаты деконтаминации кормов плесневыми грибами;
- результаты разработки способов профилактики микотоксикозов молодняка крупного рогатого скота.

СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Материалы и методы. Диссертационная работа выполнена в 2001-2004 гг. Экспериментальная часть работы проводилась в лаборатории по разработке микробных препаратов Якутского научно-исследовательского института

сельского хозяйства СО РАСХН, в ОПХ «Покровское», КП «Орион» Намского улуса Республики Саха (Якутия).

Распространенность плесневых грибов изучали путем анализа отчетов Департамента ветеринарии МСХ РС (Я), микологических данных улусных ветеринарно-испытательных лабораторий Центральных районов Якутии, а также по материалам собственных микологических исследований.

Органолептический, микроскопический, микологический анализы собранных образцов грубых кормов проводили согласно «Методическим указаниям по санитарно-микологическому исследованию кормов», утвержденным Главным управлением ветеринарии МСХ СССР 14 мая 1969 г. Микологический анализ проб почвы исследовали согласно «Методам изучения почвенных микроскопических грибов» (М.А. Литвинов, 1969). При микологических исследованиях кормов использовали «Методы исследования в ветеринарной медицине» (В.В. Курасов, Л.С. Малиновская, 1971), «Лабораторную диагностику микотоксикозов» (А.Ф. Кузнецов, М.Г. Ковальская, Е.Н. Софронов, 1989), «Определитель патогенных и условно-патогенных грибов» (Д. Саттон, А. Фотергилл, М. Ринальди, 2001). При микробиологическом исследовании использовали общепринятые методы. Родовую и видовую идентификацию выделенных микроорганизмов проводили согласно «Справочнику по микробиологическим и вирусологическим методам исследований» (1982), «Определителю зоопатогенных микроорганизмов» (1995), а также «Определителю бактерий Берджи»(1997).

Изучение антагонистических свойств спорообразующих бактерий рода *Bacillus* проводили методом диффузии в агар. В качестве тест-культур были использованы плесневые грибы рода *Aspergillus*, *Penicillium* и *Stachybotrys*.

Для предохранения контаминации кормов плесневыми грибами рода *Penicillium*, *Aspergillus*, *Stachybotrys*, *Rhizopus* и *Mucor* корма, (сено, сенаж) предварительно собранные в валки, обрабатывали препаратом Сахабактисубтил из расчета 5 млрд. микробных клеток на 1 кг корма.

Обработку кормов производили аэрозольным способом с помощью серийно выпускаемой техники.

При изучении профилактирующих свойств, обработанных препаратом Сахабактисубтил кормов, исследовали кишечную микрофлору, учитывали показатели естественной резистентности молодняка крупного рогатого скота до и после опытов. Определяли в динамике количество лактопозитивных и лактозонегативных эшерихий, энтерококков, бифидо- и лактобактерий, спорообразующих бактерий, а также условно-патогенных микроорганизмов. Использовали питательные среды: мясо-пептонный агар, Эндо, MRS, Лактобакагар, Бифидум среду, азидную, Байрд-Паркера.

Определение количества гемоглобина, эритроцитов, фагоцитарной активности лейкоцитов, бактерицидной и лизоцимной активности сыворотки крови проводили согласно методическим рекомендациям, разработанным М.П. Неустровым, В.И. Малышевой (1995), а также использовали методики, разработанные П.Н. Никаноровым (1979), П.А. Емельяненко с соавт., (1980), С.И. Плященко (1985), П.Н. Смирновым с соавт., (1989).

Биохимические исследования крови на содержание общего белка и его фракций, каротина, кальция, фосфора, магния проводили в лаборатории биохимии и массового анализа ЯНИИСХ. Анализы проведены на спектральном анализаторе NIRSCANER мо LCE 4250 производства США.

Экономическую эффективность предлагаемого препарата определяли согласно методики, утвержденной секцией организации и экономики ветеринарного дела РАСХН (20.01.1997 г.).

Экспериментальные данные подвергли статистической обработке по Стьюденту.

В экспериментальной работе использовали 80 голов молодняка крупного рогатого скота, 186 проб кормов растительного происхождения, 87 почвы, 50 патологического материала, 287 фекалий. Проведено свыше 6000 микологических, бактериологических, микроскопических, гематологических и биохимических исследований.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

1. Изучение распространенности плесневых грибов в Центральном регионе РС (Я). По данным ветеринарно-испытательных лабораторий (Намского, Мегино-Кангаласского, Горного, Чурапчинского и Хангаласского улусов) и результатам собственных исследований за последние 10 лет, из грибных инфекций в Республике Саха (Якутия) чаще всего встречаются плесневые грибы рода *Mucor* (65%), *Penillium* (12%) *nAspergillus* (10%).

По отчетным данным Департамента ветеринарии МСХ РС (Я), за последние 5 лет (1999-2003 гг.), пораженность плесневыми грибами составляет: сено- 15,1%, сочные корма-6,2% и концентрированные корма- 10%.

Таким образом, изучение распространенности микроскопических грибов показало, что подавляющее большинство выделенных грибных инфекций относятся к группе плесневых 76%, на долю же остальных, приходится всего 24%.

2. Санитарно-микологические исследования почвы

Всего исследовано 49 проб почвы из разных мест республики: в зонах антропогенного (Усть-Алданского улуса, алаас Мюрю), техногенного воздействия (Мирнинский улус: с почв отвалов) и в качестве контроля - лесные почвы.

Проведено определение количества микроскопических грибов и спорообразующих аэробных бактерий.

Наибольшее количество различных родов микроскопических грибов - 18, выделено из почв отвалов, образуемых техникой добывающей промышленности, среди них - 75 изолятов, составляют плесневые грибы рода *Aspergillus* и *Penicillium*. В то же время, в почвах отвалов устаовлено наименьшее количество спорообразующих бактерий - $425,0 \pm 130,0$ тыс. м. к. в 1 г. Наибольшее число спорообразующих бактерий - $27,7 \pm 12,4$ млн. м. к. в 1 г установлено в аласных и лесных почвах - $21,8 \pm 14,1$ млн. м. к. в 1 г.

Таким образом, в результате исследований отмечена взаимосвязь спорообразующих аэробных бактерий с выделением микроскопических грибов из почвы. Так, из образцов аласных и лесных почв выделено значительное количество спорообразующих бактерий, тогда как микроскопических грибов в данных почвенных образцах гораздо ниже, чем в почвах загрязненных и нарушенных под влиянием человека и техники (почвы города и отвалов).

3. Санитарно-микологические исследования кормов.

3.1. Санитарно-микологические исследования сена

Всего микологическим исследованиям было подвергнуто 57 проб кормов растительного происхождения, собранных в Центральных районах Республики Саха (Якутия). Было выделено 99 изолятов микроскопических грибов, отнесенных при идентификации к 14 видам 7 родов 2 классов: *Deuteromycetes*, *Phycomycetes*.

Данные о микобиоте сена показывают, что доминирующее положение в контаминации сена принадлежит представителям рода *Aspergillus* (28,3% от общего числа изолятов) и *Mucor* (23,2%) но, вместе с тем, достаточно широко распространены представители родов *Penicillium* (18,2%). В значительной степени, пробы сенаконтаминированы видами *Fusarium* (14,1%) и *Rhizopus* (11,1%). Реже встречаются *Alternaria* (2,02 % *Stachybotrys* 2 %) и *Trichoderma* (1,01%).

3.2. Санитарно-микологические исследования сенажа

При микологическом исследовании проб сенажа были выделены и идентифицированы грибы рода *Mucor* (100%), *Rhizopus* (62,5%), *Penicillium* (11%), *Aspergillus* (10%), *Stachybotrys* (3,2%), *Fusarium* (1,9%).

Таким образом, большинство выделенных микроскопических грибов из сенажа относятся к группе плесневых грибов (73%), когда как на долю других грибных инфекций относится всего 27%.

3.3. Санитарно-микологические исследования зернофуража

Микологическому анализу были подвергнуты пробы зернофуража поступившие из Центральных районов республики.

Наиболее часто выделяемыми микроскопическими грибами являются представители рода *Aspergillus*. Этот род характеризуется видовым

разнообразием: *A. fumigatus* (9,14%), *A. glaucus* (4,5%) и *A. niger* (4,5%). Выяснилось, что на долю плеснеобразующих грибов приходится 62%, а к другим грибным инфекциям - 38%.

3.4. Санитарно-микологические исследования комбинированных кормов

Пробы комбикормов отбирали ежедневно в течение 15 дней, при чем брали 2 вида корма: влажный и сухой

В результате изучения микофлоры комбикормов выделено чрезвычайно большое число видов плесневых грибов. Представители семейства *Mucoraceae* присутствовали почти во всех образцах, из них широко распространен *Mucor ramosissimus*. Процентное соотношение плесневых грибов, обнаруженных в исследованных образцах комбикормов¹ *Mucor* — 53%, *Aspergillus* — 35,3%, *Rhizopus* — 17,6%, *Penicillium* — 11,7%

4. Санитарно-микологические исследования биоматериалов

На микологическое исследование поступило 38 проб биологического материала, из них 26 проб патологического материала от положительно реагирующих на туберкулин животных и 12 проб влажной слизи коров.

Из патологического материала положительно реагирующих на туберкулин животных выделяются плесневые грибы — *Aspergillus niger*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus glaucus*, *Penicillium sp*, *Mucor*.

Из влажной слизи коров выделяются грибы — *Aspergillus niger*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus flavus*, *Alternaria alternate*, *Mucor ramosissimus*.

Доминирующим являются представители рода *Aspergillus* (71,4% от общего числа выделенных видов). Наибольшее количество изолятов выделенных из поступившего биологического материала относится к виду *Aspergillus fumigatus* (34,9% от общего числа выделенных видов).

5. Анализ результатов изучения распространенности плесневых грибов

Всего санитарно-микологическому анализу было подвергнуто 167 проб, из них 57 проб кормов растительного происхождения (сено, зернофураж), 17 комбинированных кормов, 49 почвы, а также культуры грибов, выделенные из патологических материалов положительно реагирующих на туберкулин животных - 26, культуры из картофеля - 6, пробы влажной слизи коров — 12.

Обобщенный результат проведенных исследований показывает, что наибольший процент выделения приходится на грибы рода *Aspergillus* - 34,3%. Из рода *Aspergillus* наиболее распространенным видом является *Aspergillus fumigatus* - 38,7%. *Aspergillus flavus* выявлен у 26,2% идентифицированных видов семейства, *Aspergillus niger* - 22,5%, *Aspergillus glaucus* - 7,5%, *Aspergillus nidulans* - 3,7% и не выявлены виды у 1,2% аспергиллов.

Семейство *Mucoraceae* (24,8% от всех выявленных изолятов) представлено видами *Mucor racemosus* — 46,5%, *Rhizopus* — 32,7%, *Mucor circinelloides* — 1,7%, и не выявлены виды у 18,9% мукоровых.

Пенициллы (17,16% от всех выявленных изолятов) представлены 4 видами: *Penicillium citrinum* (42,5% от выявленных видов), *Penicillium viridicatum* — 17,5%, *Penicillium chrysogenum* — 10,0%, *Penicillium janthinellum* — 7,5%, *Penicillium purpurogenum* — 2,5% и не идентифицированы виды — 20,0%.

Кроме того, выявлены 14 родов, которые составляют: *Fusarium* — 10,3%, *Candida* — 4,29%, *Alternaria* — 2,14%, *Acremonium* — 1,29%, *Trichoderma* — 1,29%, *Geotrichum* — 1,28%, *Stachybotrys* — 0,85%, *Aureobasidium* — 0,43%, *Hormonema* — 0,42%, *Arthrographis* — 0,42%, *Malbranchea* — 0,42%, *Microascus* — 0,42%.

6. Разработка методов детоксикации кормов плесневыми грибами.

6.1. Изучение антагонистических свойств бактерий рода *Bacillus* к некоторым токсигенным грибам.

Антагонистическую активность штаммов бактерий рода *Bacillus* (*Bac. mycoides*, *Bac. pumilus*, *Bac. subtilis* «ТНП-3», *Bac. megatherium*, *Bac. subtilis* «ТНП-5», выделенных из мерзлотных почв), определяли методом диффузии в агар на средах Чапека и МПА. Для контроля использовали среды без бактерий рода *Bacillus*. опыты проведены в 3-кратной повторности. В качестве тест-культур использовали плесневые грибы рода *Penicillium*, *Aspergillus* и *Stachybotrys*, выделенные из проб сена. На основании проведенных опытов, наиболее эффективными и обладающими выраженным фунгистатическими действиями в отношении плесневых грибов рода *Aspergillus*, *Penicillium* и *Stachybotrys*, оказались штаммы бактерий *Bac. subtilis* «ТНП-3» и «ТНП-5», которые являются основой препарата Сахабактисубтил.

6.2. Результаты деконтаминации кормов плесневыми грибами

Разработку способов деконтаминации кормов плесневыми грибами проводили в лабораторных и производственных условиях. При обработке кормов применяли препарат Сахабактисубтил, который в 1 дозе (10 мл) маточного раствора содержит 50 млрд. м. к. При приготовлении рабочего раствора 1 дозу препарата растворяли в небольшом количестве воды (200 мл). На обработку 1 тонны кормов было израсходовано 10 доз (100 мл) препарата Сахабактисубтил, который предварительно растворяли в 20 л воды, экспозиция 1 час. После обработки корм скармливали молодняку крупного рогатого скота в течение 30 дней.

6.3. Санитарно-микробиологические показатели обработанных кормов.

После обработки кормов были проведены микологические и микробиологические исследования опытных (обработанных) и контрольных (необработанных) кормов. В результате, опытное сено имело высокое

содержание протеина, клетчатки, фосфора и углевода по сравнению с контрольным.

Микологические исследования показали, что в опытном сене в результате жизнедеятельности бактерий рода *Bacillus*, количество плесневых грибов значительно сократилось в сене на 89,4%, сенаже - на 55,6%, по сравнению с необработанными кормами.

Таким образом, полученные нами данные говорят о перспективности использования препарата при заготовке кормов с санитарной точки зрения.

6.4. Изучение влияния кормов обработанных препаратом Сахабактисубтил на организм молодняка крупного рогатого скота. В организме молодняка крупного рогатого скота, принимавшего обработанные препаратом Сахабактисубтил корма, отмечается повышение бактерицидной и лизоцимной активности сыворотки крови.

В крови молодняка опытной группы отмечено достоверное повышение содержания гемоглобина ($10,9 \pm 0,2$ г%), по сравнению с контрольной группой животных.

По результатам биохимических исследований сыворотки крови молодняка опытной группы, которые принимали обработанный препаратом Сахабактисубтил корма, отмечено достоверное повышение показателей общего белка ($8,22 \pm 0,02$ г%), глобулинов: ~~α~~ ($1,34 \pm 0,05$ г%) и ~~γ~~ глобулиновых ($2,58 \pm 0,04$ г%) фракций. У животных контрольной группы наблюдается снижение показателей общего белка ($8,07 \pm 0,1$ г%) и ~~α~~ глобулинов ($1,26 \pm 0,22$ г%). Показатели минерального обмена у обеих групп в ходе опытов изменились незначительно.

При изучении кишечного микробиоценоза молодняка крупного рогатого скота отмечено, что в опытной группе, получавшей обработанный препаратом Сахабактисубтил корм (сено, сенаж), регистрируется увеличение представителей нормальной микрофлоры: бифидобактерий, и значительное повышение лактобактерий ($14,04 \pm 1,395$ млн. м. к. в г), при одновременном снижении количества лактозоотрицательных эшерихий ($0,142 \pm 0,086$ млн. м. к. в г), энтерококков ($0,5148 \pm 0,425$ млн. м. к. в г), также условно-патогенных микроорганизмов - протей, по сравнению с показателями микробиоценоза животных контрольной группы.

В контрольной группе в конце опыта отмечено небольшое увеличение лактобактерий ($1,0173 \pm 0,9282$ млн. м. к. в г) - это в 13 раз меньше, чем в опытной группе и уменьшилось количество бифидобактерий. Лактозонегативные (потенциальные энтеропатогены - $2,267 \pm 1,9$ млн. м. к. в г) преобладают над лактозоположительными эшерихиями ($0,278 \pm 0,161$ млн. м. к. в г), а количество стафилококков ($8,866 \pm 7,18$ млн. м. к. в г) увеличилось более чем в 5 раз.

Эти данные указывают, что при употреблении даже кормов удовлетворительного качества, без видимых признаков плесневения, у животных развиваются признаки дисбактериоза. Исходя из полученных результатов, можно заключить, что обработка кормов препаратом Сахабактисубтил не только уменьшает в них количество плесневых грибов, но и при употреблении их корректирует микрофлору кишечника животных.

Кроме того, корма, обработанные препаратом Сахабактисубтил, введенные в рацион молодняка крупного рогатого скота способствовали повышению привесов на 29,5% по сравнению с контрольной группой, получавшей необработанный корм.

Следовательно, применение в рационе животных кормов обработанных препаратом Сахабактисубтил не только обеспечивает повышение привесов и улучшение показателей естественной резистентности организма животных в зимне-стойловый период, но и способствует нормализации кишечного микробиоценоза во время длительного зимне-стойлового периода содержания молодняка крупного рогатого скота.

7. Разработка способов профилактики микотоксикозов животных.

Исследования проводили в Покровском ОПХ на 20 гол. молодняка крупного рогатого скота, разделенных на 4 группы. Условия содержания, поения, кормления (сено неудовлетворительного качества, естественно **контаминированное плесневыми грибами** рода *Aspergillus* — 28,3%, *Mucor* — 23,23%, *Penicillium* — 18,2%, *Fusarium* — 14,12%, *Rhizopus* — 11,1%, *Alternaria* — 2,02%, *Stachybotrys* — 2,02% и *Trichoderma* — 1,01%) были одинаковы.

В опытах использовали препарат Сахабактисубтил, цеолит Хонгуринского месторождения, ежедневно в течение 30 дней.

1 опытная группа получала по 15 г цеолита адсорбированного препаратом Сахабактисубтил (10 мл);

2 опытная группа — по 15 г цеолита;

3 опытная группа — препарат Сахабактисубтил по 10 мл перорально.

Как показывают результаты опытов, применение цеолита с Сахабактисубтилом и без, заметно повышает бактерицидную активность (цеолит + препарат Сахабактисубтил — $51,53 \pm 0,18\%$; цеолит — $22,99 \pm 0,31\%$; Сахабактисубтил — $22,74 \pm 0,56\%$) по сравнению с контрольной группой ($11,22 \pm 0,09\%$) и исходными данными ($11,205 \pm 0,09\%$). При этом, у 1 опытной группы принимавшей цеолит с Сахабактисубтилом отмечено снижение лизоцимной активности — $8,96 \pm 0,22\%$. Достоверное повышение лизоцимной активности сыворотки крови зарегистрировано у молодняка 2 и 3 опытных групп (2 группа — $32,78 \pm 0,22\%$; 3 группа — $17,28 \pm 0,72\%$). А лизоцимная активность у контрольной группы снизилась от начальных показателей (от $16,66 \pm 0,07\%$ до $4,66 \pm 1,87\%$).

В крови животных всех групп отмечено уменьшение концентрации эритроцитов (1 группа — $5,15 \pm 0,19$ до $4,99 \pm 0,36$ тыс/мкл; 2 группа — $4,03 \pm 0,31$ тыс/мкл; 3 группа — $4,28 \pm 0,37$ тыс/мкл и $4,02 \pm 0,03$ тыс/мкл — контрольная группа). Отмечено заметное увеличение содержания лейкоцитов в крови у животных 1 группы — $11,4 \pm 0,12$ тыс/мкл и 2 группы — $7,29 \pm 0,51$ тыс/мкл, по сравнению с контрольной группой ($7,1 \pm 0,01$ тыс/мкл). Заметное снижение количества лейкоцитов, хотя и не достоверное, зарегистрировано у 3 группы, получавшей только Сахабактисубтил (до $6,92 \pm 1,02$ тыс/мкл).

Значительное повышение альбуминовой (1 группа — $3,1 \pm 0,17$ г%; 2 группа — $2,36 \pm 0,92$ г%; 3 группа — $3,09 \pm 0,1$ г%), а также β -глобулиновых фракций сыворотки крови наблюдается у всех опытных групп (1 группа — $1,91 \pm 0,16$ г%; 2 группа — $2,05 \pm 0,22$ г%; 3 группа — $1,803 \pm 0,12$ г%) по сравнению с контрольной группой молодняка ($1,68 \pm 0,12$ г%).

При исследовании минерального обмена у животных опытных групп в содержании каротина (1 группа — $0,66 \pm 0,04$ мг%; 2 группа — $0,69 \pm 0,04$ мг%; 3 группа — $0,67 \pm 0,04$ мг%, контроль — $0,48 \pm 0,09$ мг%), кальция (1 группа — $12,67 \pm 0,03$ мг%; 2 группа — $12,69 \pm 0,05$ мг%; 3 группа — $12,69 \pm 0,02$ мг%, 4 группа — $12,56 \pm 0,05$ мг%) и магния (1 группа — $2,71 \pm 0,03$ мг%; 2 группа — $2,73 \pm 0,02$ мг%; 3 группа — $2,72 \pm 0,02$ мг%; 4 группа — $2,46 \pm 0,07$ мг%) отмечена тенденция к увеличению, что показывает улучшение обменных процессов в организме подопытных животных.

При скармливании молодняку сена контаминированного плесневыми грибами, в контрольной группе отмечаются нарушения кишечного микробиоценоза и зарегистрированы явления дисбактериоза: уменьшение количества представителей нормофлоры - лактобактерий, почти в 3 раза (в начале опытов — $0,19 \pm 0,061$ млн м. к. в 1 г, в конце опытов $0,066 \pm 0,006$ млн. м. к. в 1 г); при этом значительно увеличивается количество потенциальных энтеропатогенов — лактозонегативных эшерихий (в начале $0,2 \pm 0,02$ млн. м. к. в 1 г, в конце опытов — $1192,0 \pm 105,0$ млн. м. к. в 1 г).

У всех опытных групп отмечена нормализация кишечной микрофлоры, по сравнению с исходными данными и контрольной группой. При этом в 1 группе, принимавшей одновременно с контаминированным плесневыми грибами кормом цеолит с препаратом Сахабактисубтил, количество лактобактерий возросло (до $13,66 \pm 0,81$ млн. м. к. в 1 г) более чем в 71 раз, в 2 группе (цеолит) - (до $7,33 \pm 0,73$ млн. м. к. в 1 г) в 38 раз, а в 3 группе (препарат Сахабактисубтил) — (до $21,66 \pm 12,7$ млн. м. к. в 1 г), в 114 раз.

Таким образом, на основании полученных результатов исследований можно заключить, что при недостатке кормов и использовании сена неудовлетворительного качества, контаминированного плесневыми грибами родов *Aspergillus*, *Mucor*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Rhizopus*, *Alternaria*, *Stachybotrys* и *Trichoderma*, для профилактики микотоксикозов необходимо

применять препарат Сахабактисубтил или адсорбированный препаратом цеолит-хонгурин. Предложенный метод профилактики микотоксикозов способствует повышению иммунобиологической реактивности, корректирует микроэкологию кишечника, предотвратит отравление животных.

ВЫВОДЫ

1. При микологическом исследовании кормов (сено, сенаж, зернофураж, комбикорма) выделены микроскопические грибы рода *Aspergillus*— 26,2%, *Mucor*—22,1%, *Penicillium*— 13,1%, *Rhizopus*— 12,4%, *Fusarium*— 14,5%, *Alternaria*— 2,7%, *Stachybotrus*— 1,37%, *Candida* 6,89%, *Trichoderma*—0,68%. При этом отмечено, что доминирующими видами при исследовании кормов в условиях Якутии являются плесневые грибы рода *Aspergillus* и *Mucor*.

2. Санитарно-микологическими исследованиями мерзлотных почв Центральной Якутии установлена взаимосвязь количества спорообразующих аэробных бактерий и микроскопических грибов в мерзлотных почвах.

3. Выявлено, что в организме крупного рогатого скота с неспецифической реакцией на ППД-туберкулин для млекопитающих, кроме атипичных микобактерий персистируют также грибы рода *Aspergillus*, среди них *Aspergillus fumigatus*— 34,6%, *A. flavus*— 15,4%, *A. niger*— 11,5% и *A. glaucus*—7,69% от всех выделенных видов;

4. Установлено, что штаммы *Bacillus subtilis* «ТНП-3» и «ТНП-5», являющиеся основой препарата Сахабактисубтил, обладают выраженными антагонистическими свойствами в отношении плесневых грибов рода *Aspergillus*, *Penicillium*, *Stachybotrus*.

5. Разработан биологический способ борьбы с плесневением кормов с использованием штаммов *Bacillus subtilis* «ТНП-3» и «ТНП-5» (препарат Сахабактисубтил), который позволяет сократить количество плесневых грибов в сене на 89,4%, сенаже - на 55,6%, по сравнению с необработанными кормами. Использование препарата при заготовке кормов обеспечивает их хорошую сохранность.

6. Применение в рационе животных кормов, обработанных препаратом Сахабактисубтил, не только обеспечивает повышение привесов и показателей естественной резистентное™ организма, но и способствует нормализации кишечного микробиоценоза во время длительного зимне-стойлового периода содержания животных.

7. При использовании сена неудовлетворительного качества, загрязненного грибами родов *Aspergillus*, *Mucor*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Rhizopus*, *Alternaria*, *Stachybotrys* и *Trichoderma*, для

профилактики микотоксикозов следует применять препарат Сахабактисубтил или адсорбированный им цеолит-хонгурин. Предложенный способ профилактики микотоксикозов способствует повышению иммунобиологической реактивности, корректирует микроэкологию кишечника, предотвращает отравление животных.

8. Экономическая эффективность от применения разработанного способа борьбы с плесневением кормов составляет на 1 голову - 480 рублей, на 1 рубль затрат - 15 рублей.

Практические предложения

Материалы диссертации вошли в методические рекомендации "Профилактика микотоксикозов сельскохозяйственных животных в условиях Якутии" (Якутск, 2004) и предложены для внедрения в производство.

Список опубликованных работ

1. **Былгаева А.А.** Изучение плесневых грибов в грубых кормах. // Материалы научно-практической конференции молодых ученых. — Якутск, 2002. — С.40-43.

2. **Былгаева А.А.** Состояние микотоксикозов в РС (Я). // Актуальные проблемы ветеринарной медицины. — Якутск, 2002. — С.77-78.

3. Былгаева А.А. Влияние препарата Сахабактисубтил на плесневелые корма. // Современные проблемы вет. медицины. — М. 2004. — С. 1-2.

4. Тарабукина Н.П., Неустроев М.П., **Былгаева А.А.** Профилактика микотоксикозов сельскохозяйственных животных в условиях Якутии: Рекомендации / РАСХН. Сиб. Отд-ние ГНУ Якут. НИИСХ. — Якутск, 2004. — 16 с.



№ 25587

Подписано к печати 12.11.04 г. Формат 60x84 1/32. Гарнитура Times.
Печать трафаретная. Усл. печ. л. 1,0. Тираж 100 экз. Заказ № 134

Отпечатано в ГНУ ЯНИИСХ СО РАСХН. Лицензия №19-0031 от 09.11.2001 г.
г. Якутск, ул. Каландаришвили, 5 тел.: 36-40-76.