Коколова Людмила Михайловна
Гаврильева Любовь Юрьевна
Мачахтыров Григорий Николаевич

**МЕТОДИКА ВЫЧИСЛЕНИЕ ЭКОНОМИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ
ПРИМЕНЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНОГО СРЕДСТВА ДЛЯ
ОБЕЗЗАРАЖИВАНИЯ ТЕРРИТОРИЙ КОНЕБАЗ**

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РФ
Якутский научно-исследовательский институт сельского хозяйства имени М.Г.
Сафронова – обособленное подразделение
Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федеральный
исследовательский центр
«Якутский научный центр,
Сибирского отделения Российской академии наук»

*Коколова Людмила Михайловна
Гаврильева Любовь Юрьевна
Мачахтыров Григорий Николаевич*

**МЕТОДИКА ВЫЧИСЛЕНИЕ ЭКОНОМИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ
ПРИМЕНЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНОГО СРЕДСТВА ДЛЯ
ОБЕЗЗАРАЖИВАНИЯ ТЕРРИТОРИИ КОНЕБАЗ**
(методическое пособие)

Якутск
2020

УДК 619+631.16
ББК 48.73

АВТОРЫ:

Коколова Людмила Михайловна, доктор ветеринарных наук,
заведующая лабораторией гельминтологии,
Гаврильева Любовь Юрьевна, кандидат ветеринарных наук,
старший научный сотрудник лаборатории гельминтологии
Мачахтыров Григорий Николаевич, кандидат биологических наук,
ведущий научный сотрудник лаборатории воспроизводства и физиологии
животных
Якутского научно-исследовательского института сельского хозяйства
имени М.Г. Сафронова

РЕЦЕНЗЕНТ:

Платонов Терентий Афанасьевич, канд. биол. наук, доцент кафедры
паразитологии и эпизоотологии животных ФВМ ФГБОУ ВО «Арктический
государственный агротехнологический университет» (АГАТУ).

Методика вычисление экономической эффективности применение
биологически активного средства для обеззараживания территории конезаводов:
методическое пособие / Л.М. Коколова, Л.Ю. Гаврильева, Г.Н. Мачахтыров,;
Якут. науч.-исслед. ин-т. сел. хоз-ва им. М.Г. Сафронова. – Якутск, 2020. – 21 с.

Методическое пособие предназначено для научных сотрудников,
аспирантов, магистрантов и студентов средних и высших учебных заведений
факультета ветеринарной медицины и эпизоотологии, практикующих
ветеринарных специалистов. Изложены способы вычисления экономической
эффективности применения биологически активного средства из штаммов
нематофаговых грибов род *Arthrobotrys oligospora* L₃-1, L₃-2 для
обеззараживания территорий конезаводов.

Рассмотрено и одобрено на научно-методическом совете по ветеринарной
медицине и Ученом Совете ЯНИИСХ, 2019 г.

ISBN 978-5-6040039-8-5

©Коколова Л.М., 2020
©ЯНИИСХ, 2020

Содержание

1.	Общие положения и проведения лабораторной диагностики.....	5
2.	Требования безопасности и технические условия	5
3.	Термины и определения.....	7
4.	Отбор и подготовка проб фекалий и почвы для исследования.....	8
5.	Зараженность лошадей нематодами семейства Strongylidae	12
6.	Расчет экономической эффективности применение биологически активных средств из штаммов L3-1, L3-2 нематофаговых грибов рода <i>Arthrobotrys oligospora</i>	14
7.	Заключение.....	18
8.	Практические предложения.....	19
9.	Использованная литература.....	20

1. Общие положения и проведения лабораторной диагностики

1.1. Общие положения методов лабораторной диагностики гельминтозов лошадей – по [ГОСТ Р 54627 2011 Животные сельскохозяйственные жвачные. Методы лабораторной диагностики гельминтозов](#) [1].

Лабораторную диагностику гельминтозов животных проводят по показателям:

- экстенсивности инвазии;
- интенсивности инвазии;
- числа жизнеспособных яиц и личинок гельминтов определенных видов

в количественном или процентном отношении к общему числу обнаруженных.

1.2 Численность обнаруженных яиц и личинок гельминтов соответствует требованиям стандарта [ГОСТ Р 54627-2011. Группа С19](#).

1.3 По числу обнаруженных яиц и личинок гельминтов интенсивность инвазии у животных классифицируют в соответствии с таблицей 1.

2. Требования безопасности и технические условия

2.1 Сотрудники, выполняющие работу по отбору, доставке и анализу проб, должны иметь рабочую спецодежду: халаты, фартуки, перчатки, резиновую обувь по [ГОСТ 12.4.011](#). Рабочие халаты подлежат обмену на чистые по истечении каждой рабочей недели. Спецодежду и обувь хранят в шкафах. Сотрудники должны быть обеспечены средствами и условиями для личной гигиены и обязаны соблюдать санитарно-гигиенические требования.

2.2 Требования безопасности при работе с химическими реактивами – по [ГОСТ 12.1.007](#), с электрооборудованием – по [ГОСТ Р 12.1.019](#). Требования пожарной безопасности – по [ГОСТ 12.1.018](#). [ГОСТ Р 51652-2000](#) Спирт этиловый ректификованный из пищевого сырья.

Технические условия. Необходимо в лаборатории иметь шкаф вытяжной, холодильник электрический бытовой, любого класса, позволяющий поддерживать температуру от минус 6°C до плюс 5°C, по техническим характеристикам и условиям эксплуатации соответствующий требованиям ГОСТ 16317. Термостат электрический (типа ТС-1/80 СПУ или аналогичный), позволяющий поддерживать температуру от 5°C до 60°C с допустимой погрешностью $\pm 0,4^\circ\text{C}$. Центрифугу (типа ЦЛС-31 М со сменным ротором) с частотой вращения 1500-2500 об/мин. Микроскоп стереоскопический типа МБС, обеспечивающий 100-кратное увеличение. Осветитель к микроскопу ОИ-19 или аналогичного типа. Камеры счетные ВИГИСа. Столик нагревательный к микроскопу (столик Морозова). Весы с пределами допустимой абсолютной погрешности однократного взвешивания ± 5 мг и ± 10 мг по ГОСТ Р 53228.

Лабораторные инструменты: пинцеты анатомические, пинцеты хирургические, набор ареометров АОН-1 типа 1 (А1) с пределами измерений от 1,000 до 1,600 кг/см., аппарат Бермана, стаканы стеклянные вместимостью

30 см., петли металлические гельминтологические диаметром 8-9 мм., штатив для пробирок лабораторный, столик с гнездами для воронок, кюветы эмалированные, кюветы почковидные, спиртовка СЛ-1 по ГОСТ 25336, часы песочные на 3-5 мин или сигнальные, металлические по ГОСТ 19126, ножницы анатомические, ножницы хирургические по ГОСТ 21239, прибор для уравнивания центрифужных пробирок вместимостью от 10 до 100 см ГОСТ Р 54627-2011, термометры технические стеклянные с пределами измерения температуры от 0°C до 100°C и от 100°C до 200°C по ГОСТ 28498, совки, портативные лопаты, пробоотборники, рН-метр, обеспечивающий измерение с погрешностью не более $\pm 0,01$ ед. рН., дозаторы пипеточные, термостат обеспечивающий поддержание температуры от 8°C до 35°C с допустимой погрешностью $\pm 2^\circ\text{C}$, карандаши по стеклу (стеклографы), груши резиновые разных размеров, перчатки одноразовые, фартук клеенчатый, бумага фильтровальная по ГОСТ 12026, бумага пергаментная, емкости для отбора проб воды, органических удобрений, навоза, навозных стоков, осадков, пригодные для обеззараживания, из нейтральных материалов, канистры, ведра вместимостью 8-10 дм. ГОСТ Р 54627-2011, клеенка, полиэтиленовые пленка, пакеты, мешки, вата медицинская гигроскопическая по ГОСТ 5556, марля медицинская по ГОСТ 9412, стекла предметные размерами 25x75, 60x120 мм по ГОСТ 9284, стекла покровные размерами 18x18, 24x24 мм по ГОСТ 6672, чашки биологические Петри по ГОСТ 25336, стаканы стеклянные лабораторные вместимостью 250, 400 и 1000 см. ГОСТ Р 54627-2011 и ГОСТ 25336, стаканы стеклянные 50-150 см. ГОСТ Р 54627-2011, чашки плоскодонные сферические вместимостью 1000 и 2500 см. ГОСТ Р 54627-2011, пипетки градуированные вместимостью 1-10 и 50 см. ГОСТ Р 54627-2011, воронки стеклянные по ГОСТ 25336, колбы конические вместимостью 50, 100 и 1000 см. ГОСТ 1770, стекла часовые разных размеров по ГОСТ 23932, цилиндры градуированные с носиком вместимостью 1, 25, 100, 200, 500 и 1000 см. ГОСТ Р 54627-2011 и ГОСТ 1770, палочки стеклянные, трубки резиновые длиной 20-30 см, банки стеклянные с притертыми пробками разной вместимости (до 1000 см. ГОСТ Р 54627-2011, ступки и пестики фарфоровые разных размеров по ГОСТ 9147, эксикаторы с притертой крышкой, стаканы стеклянные высокие с носиком (ВН) вместимостью 50, 100 см. ГОСТ Р 54627-2011, стаканы аптечные вместимостью 50 и 100 см., пробирки центрифужные градуированные (ПЦГ) вместимостью 10 см. Вода дистиллированная по ГОСТ 6709, калий едкий по ГОСТ 24363, натрий хлористый по ГОСТ 4233, натрий хлористый, х.ч., на изотоническом растворе массовой долей 0,85% (для жидкости Барбагалло с 3%-ным формалином), глицерин по ГОСТ 6259, хлорид цинка по ГОСТ 4529, формалин технический по ГОСТ 1625, кислота соляная по ГОСТ 3118, цинк серноокислый 7-водный по ГОСТ 4174, Цинк сульфат ГОСТ 4174-77, натрия тиосульфат по ГОСТ 244. х.ч., спирт этиловый ректификованный технический по ГОСТ 18300, спирт этиловый ректификованный по ГОСТ Р 51652, кислота молочная по ГОСТ 490, индикаторы бумажные для определения рН в диапазоне 6-8 ед. рН с интервалом деления 0,2, глицерин, Мелисептол рапид ГОСТ 12.1.007-76.

Допускается применение других средств измерений, вспомогательного оборудования, не уступающих вышеуказанным по метрологическим и техническим характеристикам и обеспечивающим необходимую точность измерения, а также реактивов и материалов по качеству не хуже вышеуказанных.

Диагноз стронгилоидоза устанавливают при обнаружении личинок возбудителя в фекалиях, дуоденальном содержимом, иногда в мокроте. В качестве унифицированного метода лабораторной диагностики рекомендуется метод Бермана, изложенный в методических указаниях МУК 4.2.735-99 "Паразитологические методы лабораторной диагностики гельминтозов и протозоозов". Кoproовоскопическое исследование целесообразно сочетать и исследованием осадка после предварительного центрифугирования. Рекомендуется исследовать свежие фекалии. При подозрении на стронгилоидоз в случае отрицательного результата при однократном исследовании необходимо проводить повторные анализы фекалий до 5 раз с промежутками 5 - 7 дней.

3. Термины и определения

В настоящем стандарте применены следующие термины с соответствующими определениями:

3.1 гельминтозы: Паразитарные болезни животных, вызываемые гельминтами – паразитическими червями.

3.2 инвазия: Проникание в организм животного паразитов (гельминтов) с последующим развитием сложного патофизиологического процесса их взаимодействия.

3.3 интенсивность инвазии: Общее число яиц и личинок гельминтов, обнаруженных у обследованного животного, выраженное в экземплярах.

3.4 экстенсивность инвазии: Отношение числа зараженных животных к общему поголовью обследованных животных разного возраста и вида, выраженное в процентах.

3.5 нематодозы: Болезни, вызываемые круглыми гельминтами, относящими к классу нематода (Nematoda).

3.6 стронгилята. Яйца и личинки, относящий к классу нематода (Nematoda).

3.7 деляфондия. Яйца и личинки, относящий к классу нематода (Nematoda).

3.8 альфортия. Яйца и личинки, относящий к классу нематода (Nematoda).

3.9 трихонемотиды. Яйца и личинки, относящий к классу нематода (Nematoda).

3.10 обеззараживание территории. Дезинвазии подвергаются только ограниченные и наиболее важные участки территории.

3.11 дегельминтизация. Комплекс лечебно-профилактических мероприятий, направленных на оздоровление окружающей среды от инвазионного материала (яиц, личинок) и оздоровление животных.

3.12 нематофаговые грибы. Способные формировать в почве и в культуре большое количество хламидоспор, чьи защитные оболочки оказываются «не по зубам» клещам, амебам и другим представителям почвенной фауны, а также выдерживают длительное высушивание и действие других неблагоприятных факторов среды.

3.13 мицелиальная масса. Полученная глубинной ферментацией масса

3.14 биологически активные средства. Биологически активные вещества, полностью состоящие из компонентов природного материала предназначенные для применения как обеззараживающие и лекарственные препараты.

3.15 экономическая эффективность. Расчет эффективности испытания биологически активного средства. Расчет эффективности групповой дегельминтизации.

4. Отбор и подготовка проб фекалий и почвы для исследования

Метод Фюллеборна для диагностики стронгилятозов анализируемую пробу массой 5 г заливают в ступке 3-5 см. тщательно размешивают пестиком или стеклянной палочкой и по мере размешивания добавляют раствор, доводя объем до 15 см. процеживают через сито в чистый стакан и отстаивают в течение 40 мин. За время флотации яйца нематод и цестод, удельный вес которых меньше веса насыщенного раствора хлористого натрия, всплывают на поверхность и концентрируются на поверхностной пленке. Затем, прикасаясь металлической петлей к разным местам поверхностной взвеси, снимают три капли раствора и наносят на предметное стекло, и исследуют под микроскопом. Для недопущения быстрого высыхания и кристаллизации капель на предметных стеклах к ним добавляют по небольшой капле 50%-ного водного раствора глицерина. Металлическую петлю обжигают над пламенем спиртовки в начале и конце испытаний. При массовых исследованиях каплю на предметном стекле покровным стеклом не накрывают, а металлическую петлю промывают резкими движениями в стаканчике с дистиллированной водой. Флотационные методы основаны для определения наличия яиц нематод, личиночных стадий паразитических и свободноживущих нематод, а также члеников и половозрелых форм, всплывающих на поверхность флотационного раствора с исследуемого материала с помощью микроскопа.

Метод Котельникова-Хренова для диагностики нематодозов исследование проводится с помощью флотационного раствора нитрата аммония с изменением времени отстаивания после фильтрования жидкости до 10-15 мин.

Метод Бермана-Орлова для диагностики зараженности лошадей стронгилидами и трихонематидами 5 г анализируемой пробы фекалий заворачивают в кусочек марли и помещают в воронку на металлическое сито.

Предварительно в воронку наливают дихлорированную воду температурой 40°C. Заполненный анализируемой пробой фекалий и дистиллированной водой аппарат Бермана оставляют при комнатной температуре на 3 ч. Личинки нематод обладают термотропностью и благодаря этому перемещаются из анализируемой пробы фекалий в теплую воду и оседают на дно пробирки. Перед испытанием пробирки осторожно разъединяют с резиновой трубкой и быстрым движением, не встряхивая осадок на дне, сливают жидкость из пробирки до осадка. Так снимают все пробирки в аппарате и ставят их в штатив. Осадок разливают на часовые или предметные стекла и микроскопируются. При осмотре под микроскопом личинки нематод подвижные, и их легко найти.

Комбинированный флотационный метод для диагностики нематодозов исследование проводят с помощью комбинированного флотационного раствора с изменением времени отстаивания после фильтрования жидкости до 10-15 мин.

Нами впервые применен Метод Mc.Master's для количественного исследования фекалий. Метод Макмастера позволяет оценить количество гельминтов путем определения количества яиц нематод на грамм фекалий. Преимущество этой техники в том, что она быстра для подсчета яйца гельминтов освобожденных от посторонних примесей. Для этого:

1. Взвесьте 2 грамма фекалий.

2. Добавьте фекальный материал в 60 мл флотационного раствора $ZnSO_4$ в стакане *OVATECPlus*, fecal diagnostic devices. Энергично встряхиваем содержимое, чтобы оно распалось и гомогенизируйте образец фекалия. Вылейте $\frac{1}{2}$ содержимое через сито или обшитую марлей воронку во второй контейнер. Используя шпателем необходимо выжать как можно больше жидкости из материала, оставшегося в сите.

3. Под 10-кратным увеличением подсчитайте яйца, которые попадают в сетку с обеих сторон камеры. (Не считайте яйца, выпавшие за пределы сетки.) Умножьте общее количество яиц в 2 камерах на 100; это количество яиц на грамм фекалий.

При определении наличия яиц и личинок нематод под микроскопом можно использовать соответствующий атлас яиц гельминтов лошадей.

Примечание – На препарате часто скапливается много личинок нематод, которых трудно дифференцировать из-за их подвижности. Для прекращения движения на предметное стекло с личинками нематод наносят 0,7 мл раствора Мелисептол рапид. Также личинки нематод можно обездвижить прибавлением двух-трех капель раствора, состоящего из двух частей жидкости Барбагалло, двух частей дистиллированной воды и одной части 5%-ного раствора йода. После этого осадок взбалтывают и выливают на стекло для микроскопирования. Личинки теряют подвижность без нарушения своей структуры.

Многие паразитарные болезни протекают субклинически или хронически. Специалисты обязаны думать о неизбежности снижения продуктивности животных. Следует напомнить, что потери от хронических и субклинических

заболеваний 10, 20 раз больше, чем от падежа при остром течении некоторых гельминтозов (Р.С. Шульц). При инвазии чрезвычайно мало изучены качества животноводческой продукции. При многих гельминтозах значительно снижается продуктивность лошадей табунного содержания.

Сбор проб почвы для изучения степени загрязненности яйцами гельминтов в соответствии с ГОСТом 17-4.4-02-84 «Охрана природы. Почвы. Методы отбора и подготовки проб для гельминтологического и протозоологического исследования».

1. Почвы для проведения лабораторного исследования брали с поверхности (1-3 см) на территории конезаводской базы СПКХ «Кустук» Сунтарского улуса. С поверхности (1-3 см) сбор пробы почвы проводили одноразовыми пластмассовыми ложками. Пробы помещали в стеклянные банки с крышками. На каждой пробе клеили этикетку с указанием места забора, даты, глубины, характера исследуемого участка (в тени или на солнце, состав почвы, наличие растительности).

2. Для выяснения обсеменения яйцами гельминтов на исследуемой территории коневодческой базы вблизи от фекалий животных, на территории навеса для животных, на территории кормушек выделяли площадку по 25 м², получилось 4 точки с каждой из этих площадок по диагонали отбирали 5-10 навесок (почва, растительный покров, фекалии) по 10-20 г. После тщательного перемешивания этих навесок составляли среднюю пробу (масса каждой не менее 100-200 г).

3. Для выделения яиц стронгилят из каждой пробы брали навеску по 5 гр. почвы в стеклянных стаканчиках и заливали раствором Барбагалло затем исследовали под микроскопом. Исследуем весь объем пробы. Данные исследования фиксируются в лабораторном журнале.

Для исследования гельминтов в почве применен метод З.Г.Васильковой и В.А.Гефтер (1948). Для диагностики личинок нематод (свободноживущих и паразитических) можно использовать метод Корта, суть которого заключается в воздействии на личинок нематод формалином. При этом личинки свободноживущих нематод погибают быстрее, чем паразитические. Личинок помещают в 118 воду в чашку Петри или на часовое стекло. При добавлении 40%-ного раствора формалина к жидкости с личинками нематод в соотношении 1:5 личинки свободноживущих нематод гибнут через 5–8 мин, а паразитические остаются живыми в течение 15–20 мин, но подвижность их замедляется. При добавлении формалина в соотношении 1:25 первые гибнут через 12 мин, вторые – в 95% случаев остаются нормально подвижными.

Гельминтологическое обследование пастбищ лошадей целью ветеринарно-гельминтологической оценки состояния пастбища по стронгилятозам в настоящее время, составления прогноза в отношении возможного возникновения паразитарных болезней в будущем. При их обследовании учитывают площадь, рельеф и характер почвы, растительный покров и урожайность трав, водный режим (наличие заболоченных участков, небольших водоемов типа канав, мочажин, луж). Для исследований собирать фекалии в свежем состоянии с поверхности почвы, так как длительное

хранение экскрементов во внешней среде при температуре свыше $+15^{\circ}\text{C}$ ведет к развитию яиц и к выходу личинок из яиц большинство видов стронгилят. Свежие фекалии не зарастают плесневыми грибами, хорошо сформированы, с глянцевой поверхностью, достаточно влажные, при исследовании внутреннего содержимого не содержат крупных насекомых и их личинок, куколок и т. п. Необходимо учитывать, что фекалии от молодняка и взрослых животных. Из каждой пробы фекалий достаточно будет взять пробы из разных точек (периферия и центр) массой 30–100 г. Желательно, чтобы была отмечена места сбора фекалий. Это даст возможность не допускать повторного взятия материала из одной и той же кучки и территории. Наряду с этим надо обратить внимание на форму, цвет, консистенцию, наличие различных примесей (слизь, кровь, гельминты и их фрагменты и т. д.) в фекалиях. Пробы необходимо поместить фекало-сборник или небольшие полиэтиленовые пакетики с этикеткой, на которой необходимо указать время, место взятия, если возможно, то возраст и пол. Пробы берут не менее от 10% общего поголовья табуна лошадей.

Гельминтоовоскопию проводят различными методами, основанными на осаждении и всплывании яиц гельминтов следующими методами: Вишняускаса, Фюллеборна (1920), Калантарян (1938) и Брежа (1957).

Согласно «МУК 4.2.2661-10. Методы контроля. Биологические и микробиологические факторы. Методы санитарно-паразитологических исследований. Методические указания», утвержденных 23 июля 2010 г., отбор проб почвы для паразитологических анализов с целью оценки качественного состояния почв естественного и нарушенного сложения проводить не менее двух раз в год.

При изучении динамики самоочищения почвы от яиц гельминтов отбор проб проводить в течение первого месяца наблюдений еженедельно, а затем ежемесячно в течение вегетационного периода до завершения активной фазы самоочищения. Исследование почвы на личинки стронгилят проводят по методам Бермана (1942) и Супряги; исследование травы и сена на наличие личинок стронгилят – методами Котельникова (1991) и Акулина.

Плановые диагностические обследования лошадей и территорий коневодческих баз (фекалий, почва и травянистая растительность) проводить в конце мая и в начале июня и в конце сентября и в начале октября. Для своевременного выявления стронгилятозов пищеварительного тракта копроскопические исследования фекалий взрослого поголовья и у молодняка текущего года рождения необходимо проводить перед зимнее пастбой табунов. В случае обнаружения яиц стронгилят путем гельминтокопрологических исследований выявление экстенсивности и интенсивности заражения определить сроки проведения лечебных дегельминтизаций с организацией подкормки и провести лечение групповым или индивидуальным методом лечения с применением кормолекарственной смеси. Исследования проводить на территориях коневодческих баз, где регулярно очищаются остатки корма и навоза лошадей; перенос косяков на

новое место пастбы проводить по нозологическим и гельминтологическим показаниям.

Целью настоящей работы является разработать методику вычисления экономической эффективности применения биологически активного средства из штаммов L3-1, L3-2 нематофаговых грибов рода *Arthrobotrys oligospora* для обеззараживания территории конезаводов.

5. Зараженность лошадей нематодами семейства Strongylidae

Одной из серьезных проблем табунного коневодства по-прежнему является значительная зараженность животных паразитическими нематодами семейства Strongylidae. Нематодозы у лошадей табунного содержания на территории Якутии распространены повсеместно по данным проведенных исследований насчитывается около 50 видов нематод, паразитирующих у лошадей, в том числе и относящиеся к подотряду стронгилят, наибольший экономический урон причиняют стронгилез, альфортиоз и деляфондиоз, которые регистрируют во всех коневодческих хозяйствах республики.

Исследование зараженность лошадей табунного содержания основными стронгилятами встречается во все сезоны года и годовые показатели инвазии весьма высокие. Обнаружение в фекалии животных яиц стронгилят в среднем составило $36,7 \pm 2,9$ яиц/г. фекалий. Результаты гельминтологических вскрытий показали, что в желудочно-кишечном тракте личинки стронгилят насчитывалась от минимального 12 тысяч и максимального до 120 тысяч личинок у одного зараженного животного. Половозрелых нематод находили в среднем по $1036,8 \pm 20,1$ экз./гол.

В настоящее время в республике профилактика и лечение нематодозов лошадей табунного содержания ограничивается одноразовым проведением противогельминтной обработки с применением антигельминтных препаратов на основе полусинтетических авермектинов и ивермектинов обладающим, антипаразитарными свойствами, но имеющие сильное токсическое влияние на компоненты пастбищного биоценоза. В результате уничтожаются копробионты, насекомые и другие полезные компоненты почвы, происходит замедление процесса разложения органических отходов особенно на пастбищах мерзлотных почв Якутии, в результате из года в год происходит загрязнение окружающей среды. При этом инвазионные личинки остаются вне зоны действия применяемых в ветеринарной практике антигельминтных препаратов, а популяция нематод с каждым годом увеличивается. Происходит быстрая реинвазия, наблюдается кратковременное действие препаратов, что является причиной значимых экономических затрат в хозяйствах (Коколова Л.М., Гаврильева Л.Ю., 2019). Кроме того, массовое и продолжительное применение одного и того же препарата длительное время приводит к возникновению резистентности самих гельминтов, причем скорость формирования устойчивых видов превосходит возможность химической промышленности по разработке новых эффективных антигельминтных препаратов (Теплякова Т.В. 1991; 1999).

Еще в начале развития борьбы с гельминтозами животных наши соотечественники проводили исследования по регулированию численности зоопаразитических нематод в их свободно движущих стадиях и обосновали возможность биологического контроля нематод и их личинок при помощи их естественных врагов, почвенных микроскопических грибов – гифомицетов. Грибов-гифомицетов насчитывается около 160 видов. Они отличаются от других микроскопических грибов агрессивностью по отношению нематод обладают, способностью питаться ими.

В настоящее время с учетом распространенности и степенью заболеваемости стронгилятозами лошадей табунного содержания выделение из мерзлотных почв Якутии микроскопических грибов, обладающих агрессивностью против стронгилят и их личинок изучение их нематофаговой активности является весьма актуальной проблемой. Изучение биоэкологических основ использования нематофаговых грибов рода *Arthrobotrys oligospora* для снижения численности инвазионных личинок и стронгилят лошадей является необходимым решением защиты лошадей (Коколова Л.М., Степанова С.М., 2017). Хищные грибы-гифомицеты найдены практически во всех частях мира, известно более 100 их видов. Наши исследования подтвердили широкую распространенность хищных грибов в природе. Из почв Центральной Якутии нами выделено 2 штамма хищных грибов.

Механизм хищничества, возникший в результате длительной сопряженной эволюции, независимо от типа ловушки (клейкие петли или головки, сжимающиеся кольца и т.д.) включает выделение аттрактантов и токсических веществ, проникновение гифы гриба внутрь тела парализованной нематоды, выделение ферментов и антибиотиков для эффективной утилизации жертвы и предотвращения развития конкурирующих микроорганизмов. Для защиты от нематод хищные грибы-гифомицеты представляют наибольший практический интерес, так как не вызывают устойчивости у вредителя, не загрязняют почву токсинами и не оказывают отрицательного воздействия на полезные организмы. Хищные грибы имеют в почве свою экологическую нишу, трофически связанную с нематодами.

Выявление периодичности в появлении ловушек в почве и максимального их образования через 2 недели после внесения биосредства с мицелиями нематофагового гриба в почву объясняет и подтверждает выводы о целесообразности внесения препарата хищных грибов в почву на первую неделю начала кормления на территории конезаводов.

Крупные хламидоспоры с их толстыми меланизированными оболочками недоступны для клещей, амёб и других представителей почвенной фауны. Ловушки, появление которых инициируется присутствием личинок нематод, часто возникают сразу на ростковой гифе. На поверхность ловушек выделяются биологически активные соединения, участвующие в механизме хищничества. Они не растворимы в воде и не подвергаются быстрому разрушению почвенными микроорганизмами. Особая роль в этих процессах принадлежит терпеновым соединениям.

Нашей задачей было провести производственные испытания биологически активных средств из штаммов нематофаговых грибов *Athrobotrys oligospora* и рассчитать экономическую эффективность применения биологически активных средств из штаммов L₃-1, L₃-2 нематофаговых грибов рода *Arthrobotrys oligospora* и годовой экономический эффект от комплексного лечебно-профилактического группового лечения против паразитарных болезней.

6. Расчет экономической эффективности применения биологически активных средств из штаммов L₃-1, L₃-2 нематофаговых грибов рода *Arthrobotrys oligospora*

Для получения биологически активного средства на основе мицелиальной массы нематофаговых грибов штаммов L₃-1, L₃-2 рода *Arthrobotrys oligospora* использовали маточный материал культивированную биомассу гриба в конических колбах на питательной среде Чапека.

Для проведения производственного испытания на территории конебазы КХ «Модун» в естественных условиях внесли биосредство в сухой и жидкой форме.

1. Биологически активное средство в сухой форме на вермикулите, полученное путем внесения маточной культуры мицелиальной массы штаммов L₃-1 нематофаговых грибов рода *Arthrobotrys oligospora* из расчета $4,0 \times 10^5$ спор на 1 г сухого компонента, т.е. в соотношении 4,0 мг мицелиальной массы на 1 г вермикулита (40000 спор). Проведено на 1000 кв.м. путем внесения биосредства *Arthrobotrys oligospora* L₃-1 на вермикулите, из расчета на 5 кг сухого средства на 1 га. На 1 кв.м. внесли 5 г сухого средства (200 тыс. спор).

2. Биологически активное средство в жидкой форме в качестве индуктора спорообразования использовали дистиллированную воду, разбавляли вегетативную мицелиальную массу в соотношении $4,0 \times 10^5$ спор на 1 мл дистиллированной воды (40000 спор). Проведено на 1000 кв.м. путем внесения биосредства *Arthrobotrys oligospora* L₃-2 в жидкой форме, с помощью опрыскивания, из расчета на 5 л биосредства на 1 га. На 1 кв.м. внесли 5 мл сухого средства (200 тыс. спор).

Нами получены новые знания по влиянию экологически безопасных, биологически активных средств из штаммов нематофаговых грибов *Athrobotrys oligospora* против возбудителей паразитарных болезней лошадей табунного содержания для обеззараживания территорий конебаз в условиях Якутии.

Данные по подсчету личинок используются как показатели условной интенсивности стронгилятозной инвазий табунных лошадей при круглогодичном пастбищном содержании в условиях критически низких температур Якутии. В условиях Якутии наиболее патогенными представителями семейства Strongylidae являются наиболее часто встречаемые виды – *Strongylus*, *Delafondia vulgaris*, *Alfortia edentates*, *Trichonematidae*, они зарегистрированы у лошадей табунного содержания в коневодческих хозяйствах

республики. Животные инвазированы стронгилятами пищеварительного тракта во все сезоны года. По результатам исследования в течение года не отметили разницу в структуре и плотности популяции стронгилят в организме лошадей. Экстенсивность инвазии вызванной стронгилятами достигало 100%. Установлено, что с повышением экстенсивности инвазии увеличивалось количество яиц в фекалиях лошадей.

Таблица 1. Интенсивность инвазии в зависимости от числа обнаруженных яиц гельминтов, экз./1 г фекалий

Вид стронгилят	Интенсивность инвазии в зависимости от числа обнаруженных яиц гельминтов, экз./1 г фекалий			
	Низкая	Средняя	Высокая	Очень высокая
<i>Strongylus equinus</i>	150-350	351-600*	601-1500	Св. 1500
<i>Delafondia vulgaris</i>	1-100	101-500*	501-1000	Св. 1000
<i>Alfortia edentatus</i>	50-150	151-300*	301-1000	Св. 1000
Разные виды Трихонематид <i>Trichonematidae</i>	1-350	351-500*	501-1000	Св. 1000

* у взрослых лошадей низкая интенсивность инвазии.

По числу обнаруженных яиц и личинок гельминтов интенсивность инвазии у животных классифицируют в соответствии с таблицей 1. Жизнеспособность обнаруженных яиц и личинок гельминтов определяют и подтверждают в соответствии с требованиями настоящего стандарта.

1). Расчет приготовления среды Чапека для выделения нематофаговых грибов,

- Среда Чапека, 1кг = 2310 руб., используем 0,25 гр. среды на 1 га применение;

$$2310 : 1000 \times x = 2310 \times 0,25 : 1000 = 0,6 \text{ руб.}$$

Необходимо средства на 1 га. $0,25 \times 1000 = 250 \text{ гр/га}$

На 0,25 гр. среды получается расход 0,6 руб.;

- Работа автоклава 20 минут (500 Вт.): 1 Вт = 8 руб.,
($24 \times 60 = 1440 : 500 = 2,88 \text{ руб.}$)

В сутки 2,88 руб.;

- 5 л дистиллированной воды составляет 70 руб.

Для приготовления среды берем 500 мл дистиллированной воды, цена:
 $70 : 5 = 14 \text{ р} \times 0,5 = 7 \text{ руб.}$

2). Расчет приготовления биологически активного средства в сухой форме,

$$1 \text{ га} = 1000 \text{ м}^2$$

Вермикулит 5 кг стоит 210 руб.

Нематофаговый гриб 20 гр. = х,

$X = 2,88 + 0,6 + 7 = 10,48$ руб.

20 гр. нематофаговых грибов = 10,48 руб.

$210 + 10,48 = 220,48$ руб. на 1000 кв.м.

3). Расчет приготовления биологически активного средства в жидкой форме,

1 га = 1000 м²

5 л дистиллированной воды составляет 70 руб.

Нематофаговый гриб 20 гр. = х,

$X = 2,88 + 0,6 + 7 = 10,48$ руб.

20 гр. нематофаговых грибов = 10,48 руб.

$70 + 10,48 = 80,48$ руб. на 1000 кв.м.

4). Зарплата работников

В день = 562 руб.

$562 \times 5 = 2810$ руб.

На 5 рабочих дней зарплата 1 работника составляет 2810 руб.

5) Обеззараживание конебазы проводили 1 день, 3 сотрудника.

Командировочные расходы, проезд на 1 человека составляет 2000 руб.

$562 \times 3 = 1686 + 6000 = 7686$ руб.

$7686 + 220,48 + 80,48 = 7986,96$ руб.

Таблица 2. Затраты на обеззараживание 1 га опытного участка конебазы КХ «Модун» М.-Кангаласского улуса сухим и жидким биосредством на основе мицелиальной массы *Arthrobotrys oligospora* L3-1 и L3-2.

№	Наименование	Сумма	Сухой на вермикулите на 1000 кв.м.	Жидкая форма, на 1000 кв.м.	Йод Хлористый 3%, на 1000 кв.м.
1	Доставка				1000
2	Заработная плата, за 3 сотрудников на 1 день	1686	1686	1686	1686
3	Командировочные расходы, за 3 сотрудников, всего в.т.ч.:	6000	6000	6000	6000
4	Материалы и оборудование всего в т.ч.:			-	333333,333
	- Вермикулит	210	210	-	
	- Среда Чапека	2310	0,6	0,6	
5	Доп. Расходы: Дистиллированная вода Эл.энергия	80,48 2,88	10,48 2,88	70 2,88	
	Всего расходов	10289,36	7909,96	7759,48	342019,333

Примечание: Расчет включает 1 рабочий день.

Для сравнения результатов испытания сухим и жидким биосредством на основе мицелиальной массы *Arthrobotrys oligospora* L3-1 и L3-2 с применением обеззараживающее средство Йод Хлористый 3% ("Инструкция по проведению ветеринарной дезинфекции, дезинвазии, дезинсекции и дератизации" (Утверждена Главным управлением ветеринарии Министерства сельского хозяйства СССР от 8 декабря 1968 г.) с соблюдением «Правил проведения дезинфекции и дезинвазии объектов государственного ветеринарного надзора» от 15 июля 2002 года N 13-5-2/052).

Обеззараживающее средство Йод Хлористый 3% - обладает широким спектром противомикробного действия в отношении грамположительных и грамотрицательных бактерий, включая микобактерии туберкулеза, а также вирусов и грибов. Активен также против спор анаэробных бактерий, ооцист кокцидий, яиц ряда гельминтов. При этом пары концентрированного (неразведенного) средства вызывают сильное раздражение слизистых оболочек верхних дыхательных путей, конъюнктивит, помутнение роговицы глаз. При длительном воздействии на кожу Йод однохлористый вызывает ожоги и изъязвления.

Таблица 3. По степени воздействия на организм Йод однохлористый относится к высокоопасным веществам (2 класс опасности в соответствии с ГОСТ 12.1.007-76).

Препараты	Назначение против гельминтов	Конц., %	Расход, л/м	Экспозиция, ч	Примечание
Однохлористый йод	Стронгилоидозы	3	1	1	

Препарат	Дезинвазия			Дезинфекция		
	концентрация, %, t°C	экспозиция, ч	возбудители	концентрация, %, t°C	экспозиция, ч	группа устойчивости
Однохлористый йод	3	3	Стронгилоидоза	5		I
	3	1	Стронгилятозов	5		II
	-	-	-	10		III
	-	-	-	10		IV

Цена Йода Хлористого 3% равен 1000 руб. за 3 л., 1л. опрыскиваем на 1 кв. м., 1л. = 333,3 руб., обеззараживание на 1000 кв. м. составляет 333333,3 руб.

Разница затраты от применения Йода Хлористого 3% сухой формы биосредства составляет:

342019,333-12699,96 = 329320,333 руб.

жидкой формы:

342019,333-7759,48 = 334259,853 руб.

Предотвращенный экономический ущерб на рубль затрат при применении биосредства определяется, как отношение экономического эффекта к сумме затрат.

$P_y = M_l \times Y$, где

M_l - количества зараженных животных;

Y - средняя стоимость одного животного.

$P_y = 100 \times 100000 = 10\,000\,000$ руб.

Экономический эффект:

$\mathcal{E}_v = P_y - Z_v$, где

P_y - предотвращенный экономический ущерб;

Z_v - затраты на ветеринарные мероприятия.

$\mathcal{E}_v = 10000000 - 12699,96 = 9987300,04$ руб. (сухая форма);

$\mathcal{E}_v = 10000000 - 7759,48 = 9992240,52$ руб. (жидкая форма).

Обеззараживание почвы при контаминации возбудителями стронгилят лошадей табунного содержания (дезинвазия) проводилось в местах интенсивного скопления животных, на участках с высоким накоплением и концентрацией личинок нематод на выгульных площадках, в помещениях с земляными полами, на территориях летних стоянок, где обычно применяются хлорная известь, едкий натр, что дорого и экологически опасно.

На территории конезаводы КХ «Модун» Мегинского-Кангаласского района нами проведено производственное испытание по применению обеззараживающего биологически активного средства на основе мицелиальной массы нематофагового гриба рода *Arthrobotrys oligospora*.

И экономический эффект на рубль затрат определился, как отношение экономического эффекта к сумме затрат;

$\mathcal{E}_p = \mathcal{E}_v : Z_v$

$\mathcal{E}_p = 9987300,04 : 7909,96$ руб. = 1262,62 руб. (сухая форма)

$\mathcal{E}_p = 9992240,52 : 7759,48 = 1287,74$ руб. (жидкая форма)

Т.к. $\mathcal{E}_p > 1$, то лечение оказалось эффективным.

При применении сухой формы биологически активного средства из штаммов L_3-1 на 1 руб. затрат экономическая эффективность составляет 1262,62 руб. При применении жидкой формы биологически активного средства из штаммов L_3-2 на 1 руб. затрат экономическая эффективность будет 1287,74 руб.

6. Заключение

Разработанные и примененные нами биологически активные средства из мицелиальной массы штаммов L_3-1 , L_3-2 нематофаговых грибов рода *Arthrobotrys oligospora* являются противопаразитарными экономически эффективными средствами для обеззараживания территории конезаводы и следует рекомендовать для применения. Территории конезавод, где постоянно содержат лошадей необходимо обеззараживать с применением биологически активного средства в жидкой форме в качестве индуктора спорообразования использовали дистиллированную воду, с вегетативной мицелиальной массой в

соотношении $4,0 \times 10^4$ и $8,0 \times 10^4$ спор на 1 мл дистиллированной воды (это ≈ 40000 , 100000 спор). Обеззараживание 1 га территории путем внесения биосредства *Arthrobotrys oligospora* L3-2 в жидкой форме, с помощью опрыскивания, из расчета на 5 л биосредства, т.е. на 1 кв.м. 5 мл сухого средства, что равно распространению 200 тыс. спор.

Применение обеззараживающего средства Йода Хлористого 3% на 1000 кв. м. составляет 333333,3 руб. Предотвращенный экономический ущерб на рубль затрат при применении сухого биосредства составило 9987300,04 руб., жидкого биосредства 9992240,52 руб.

Эффективность от применения сухой формы биологически активного средства из штамма L₃-1 на 1 руб. затрат эффективность составляет 1262,62 рублей. При применении жидкой формы биологически активного средства из штаммов L₃-2 на 1 руб. затрат эффективность равна 1287,74 руб.

8. Практическое предложение

Плановые диагностические обследования лошадей и территорий коневодческих баз (фекалий, почва и травянистая растительность) проводить в конце мая и в начале июня и в конце сентября и в начале октября. Для своевременного выявления стронгилятозов пищеварительного тракта копроскопические исследования фекалий взрослого поголовья и у молодняка текущего года рождения необходимо проводить перед зимнее пастьбой табунов. В случае обнаружения яиц стронгилят путем гельминтокопрологических исследований выявление экстенсивности и интенсивности заражения определить сроки проведения лечебных дегельминтизаций с организацией подкормки и провести лечение групповым или индивидуальным методом лечения с применением кормолекарственной смеси. Подкормку проводить на территориях коневодческих баз, необходимо регулярно очищать от остатков корма и навоза лошадей, при переходе косяков на место летней пастьбы проводить по нозологическим и гельминтологическим показаниям.

Обеззараживание почвы при контаминации возбудителями стронгилят лошадей табунного содержания (дезинвазия) проводилось в местах интенсивного скопления животных, на участках с высоким накоплением и концентрацией личинок и нематод стронгилят. В большинстве случаев для дезинвазии почвы выгульных площадок, земляного пола в помещениях, почвы на территории летних лагерей, обычно применяют хлорную известь, едкий натр, что дорого и экологически небезопасно. Территории конебазы, где постоянно проводится кормление лошадей в теплое время обеззараживать с применением биологически активного средства в жидкой форме в качестве индуктора спорообразования использовали дистиллированную воду, разбавляли вегетативную мицелиальную массу в соотношении $4,0 \times 10^4$ и $8,0 \times 10^4$ спор на 1 мл дистиллированной воды (40000 спор). Проведено на 1000 кв.м. путем внесения биосредства *Arthrobotrys oligospora* L3-2 в жидкой форме,

с помощью опрыскивания, из расчета на 5 л биосредства на 1 га. На 1 кв.м. внесли 5 мл сухого средства (200 тыс. спор).

Литература

1. ГОСТ Р 54627-2011 Животные сельскохозяйственные. Методы лабораторной диагностики гельминтозов ... "Стандартизация в Российской Федерации. Основные положения".
2. Коколова Л.М. Организация экологического благополучия по паразитарным болезням лошадей при круглогодичном пастбищном содержании в экстремальных условиях Якутии [Текст] / Л.М. Коколова // Астраханский вестник экологического образования №2(50) – 2019. – С 225-229 doi: 10.18411/im-42-2019-2.
3. Коколова Л.М., Степанова С.М.
4. Санитарно-эпидемиологические правила "Безопасность работы с микроорганизмами III-IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней. СП 1.3.2322-08". Постановление от 28 января 2008 года N 4.
5. Теплякова Т.В. Хищные грибы-гифомицеты – естественные враги нематод [текст] / Т.В. Теплякова // Защита растений. – 1991. – №5. – С. 10-12.
6. Теплякова Т.В. Биоэкологические аспекты изучения и использования хищных грибов-гифомицетов [Текст] / Т.В. Теплякова // Новосибирск. – 1999 – 252 с.
7. <https://ru.wikipedia.org/wiki>.

Научное издание

**МЕТОДИКА ВЫЧИСЛЕНИЕ ЭКОНОМИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ
ПРИМЕНЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНОГО СРЕДСТВА ДЛЯ
ОБЕЗЗАРАЖИВАНИЯ ТЕРРИТОРИИ КОНЕБАЗ**

(методическое пособие)
на русском языке

Коколова Людмила Михайловна
Гаврильева Любовь Юрьевна
Мачахтыров Григорий Николаевич

Адрес: 677001, Республика Саха (Якутия)
Г. Якутск, ул. Бестужева-Марлинского 23/1
Тел.: (411)221-45-72

e-mail: kokolova_lm@mail.ru, lubov.gavrileva86@mail.ru, agronii@sakha.ru

Комп. верстка *С.Е. Стручкова*

Подписано в печать 28.11.2020
Формат 60×84/16. Усл.печ.л. 2. Бумага БХИ
Гарнитура Times. Тираж 300 экз. **Заказ №**____

Отпечатано с готовых диапозитивов
В типографии ООО «Компания «Дани-Алмас»
677000, Республика Саха (Якутия) г. Якутск,
ул. Билибина 10А. Тел/факс: 36-92-91
e.mail: ofset_lenina@mail.ru