

Изобретение относится к сельскому хозяйству, в частности, к биологически активным препаратам для сельскохозяйственных животных, и может быть использовано прежде всего при выращивании и кормлении полезных шелкопрядов и рыб.

Известен биологически активный препарат грибного происхождения, который представляет собой автолизат гриба *Fusarium sambucinum*-139 - продуцента комплекса водорастворимых витаминов группы В и каротиноидов, выращенного с использованием яблочных и виноградных выжимок. Однако известный препарат проявляет недостаточное стимулирующее действие на развитие и продуктивность сельскохозяйственных животных, особенно на шелкопродуктивность шелкопряда, и не обладает лечебно-профилактическим действием.

В основу предлагаемого изобретения поставлена задача создания витаминно-коферментного препарата, обладающего широким спектром стимулирующего действия на развитие и продуктивность сельскохозяйственных животных и повышающего их устойчивость к заболеваниям. Эта задача решается путем добавления к известному препарату автолизата гриба *Fusarium sambucinum*-199. Полученный витаминно-коферментный препарат обладает более существенным стимулирующим действием на рост, развитие и продуктивность сельскохозяйственных животных и позволяет эффективно защитить их от инфекционных (ядерный полиэроз тутового шелкопряда, сапролегниоз карпа) и инвазионных (микроспориоз дубового шелкопряда) заболеваний. Поставленная задача решается тем, что предлагаемый препарат получают путем добавления к автолизату гриба-продуцента *Fusarium sambucinum*-139 автолизата гриба-продуцента *Fusarium sambucinum*-199 при следующем соотношении компонентов, об. %:

Автолизат гриба <i>Fusarium sambucinum</i> -139	25 - 50
---	---------

Автолизат гриба <i>Fusarium sambucinum</i> -199	50 - 75.
---	----------

Получение препарата проводится в 3 стадии.

Первая стадия включает выращивание инокулята грибов-продуцентов на синтетической среде Чапека при 24 - 26°C на протяжении 36ч на качалках при 240об/мин.

Вторая стадия, или ферментация, включает выращивание грибов-продуцентов с использованием полученного инокулята на среде с минеральными солями и источником глюкозы (виноградные выжимки) в ферментерах при 26 - 28°C с последующим проведением автолиза и дальнейшим разделением жидкой и твердой фаз путем фильтрации.

Третья стадия включает добавление к автолизату гриба *Fusarium sambucinum*-139 автолизата гриба *Fusarium sambucinum*-199 при следующем соотношении компонентов, об. %:

Автолизат гриба <i>Fusarium sambucinum</i> -139	25 - 50
---	---------

Автолизат гриба <i>Fusarium sambucinum</i> -199	50 - 75.
---	----------

Полученный препарат содержит широкий набор витаминов и коферментов с преобладанием пантотеновой кислоты, никотиновой кислоты, НАД, ФАД, КоА. Благодаря этому он стимулирует рост, развитие и продуктивность сельскохозяйственных животных, повышает их устойчивость к инфекционным и инвазионным заболеваниям и непосредственно угнетает жизнедеятельность некоторых микроорганизмов и простейших.

Пример 1. Для экспериментов использовали гусениц дубового шелкопряда породы Полесский тассар, полученных из естественно зараженной микроспоридиями грены (слабая степень заражения), которых со дня выхода из грены до завивки коконов кормили листьями дуба черешчатого. Корм подопытных гусениц в I и II возрастах ежедневно, 1 раз в сутки, обрабатывали 10% водными растворами витаминно-коферментных препаратов при различных соотношениях их компонентов (табл.1). Корм контрольных особей в этот период обрабатывали равнозначным объемом воды. Данные, приведенные в табл.1, свидетельствуют о том, что предлагаемый витаминно-коферментный препарат, в отличие от прототипа и известного, обуславливает повышение устойчивости дубового шелкопряда к инвазионному заболеванию - микроспориозу. При использовании предлагаемого препарата гибель гусениц от этого заболевания началась во второй половине V возраста, тогда как при применении прототипа и известного препарата и в контроле - уже в IV возрасте. В результате предлагаемый препарат обеспечил снижение гибели гусениц от микроспориоза на 10 - 16,5% по сравнению с известными препаратами и контролем. Предлагаемый витаминно-коферментный препарат продолжает защищать дубового шелкопряда от микроспориоза и в период завивки коконов и окукливания насекомых. Благодаря этому после созревания коконов выход качественных коконов, пригодных для размотки, увеличился на 13,5 - 20% по сравнению с известными препаратами и 21,5 - 24,5% по сравнению с контролем.

Предлагаемый витаминно-коферментный препарат способствует значительному ускорению развития гусениц дубового шелкопряда. Получавшие его подопытные насекомые завивали коконы в среднем на 6 - 7 суток раньше, чем контрольные, в то время как при применении прототипа и известного препарата разница с контролем составила соответственно 4,4 и 0,6 суток. Кроме того, среди гусениц, получавших обработанный предлагаемым препаратом корм, отмечалось незначительное количество больных и ослабленных особей, которые последними завивают коконы. Поэтому период выкормки здесь закончился на 12 - 14 дней раньше, чем в контроле, тогда как при применении прототипа и известного препарата - соответственно на 2 и 3 дня раньше.

Предлагаемый витаминно-коферментный препарат проявляет значительное стимулирующее влияние на продуктивность дубового шелкопряда и обеспечивает достоверное увеличение массы коконов и их шелковых оболочек по сравнению с контролем. Масса кокона возросла на 8 - 12% у самок и 6 - 9% у самцов. Предлагаемый препарат оказывает особенно сильное стимулирующее влияние на

шелкопродуктивность дубового шелкопряда. Его применение обусловило увеличение массы шелковой оболочки кокона по сравнению с контролем на 23 - 31% у самок и 37 - 40% у самцов, в то время, как при использовании прототипа и известного препарата масса шелковой оболочки возросла по сравнению с контролем соответственно на 7 и 12% у самок, 9 и 23% у самцов.

Данные, приведенные в табл.1, свидетельствуют о том, что витаминно-коферментный препарат обладает наиболее заметным стимулирующим и защитным действием при следующем соотношении компонентов, об.%:

Автолизат гриба <i>Fusarium sambucinum</i> -139	25 - 50
Автолизат гриба <i>Fusarium sambucinum</i> -199	50 - 75.

Увеличение содержания автолизата гриба *Fusarium sambucinum*-139 сверх 50об.% при соответствующем уменьшении содержания автолизата гриба *Fusarium sambucinum*-199 приводит к заметному снижению защитных свойств препарата при заболевании насекомых микроспориidioзом. Кроме того, такой препарат не обеспечивает достоверного увеличения массы коконов самцов и массы шелковой оболочки коконов дубового шелкопряда по сравнению с контролем. Увеличение содержания автолизата гриба *Fusarium sambucinum*-199 сверх 75об.% приводит к уменьшению защитного действия препарата и его стимулирующего влияния на массу коконов дубового шелкопряда.

Пример 2. Для экспериментов использовали гусениц тутового шелкопряда гибрида Б-1_{ул} х Б-2_{ул}. Корм подопытных гусениц обрабатывали 10% водными растворами витаминно-коферментных препаратов при различных соотношениях их компонентов (табл.2). Обработку проводили в следующие сроки:

Опыт 1 - на 1, 3, 4, 5 и 6 - й дни V возраста дважды в день (в первую утреннюю и последнюю вечернюю поправки). На 2 - й день V возраста подопытных и контрольных гусениц прогревали при 41,5°C на протяжении 5 часов для активации латентной (эндогенной) инфекции ядерного полиэдроза (желтухи).

Опыт 2 - на 3 - й день III возраста в ходе 5 очередных попокормок. Во 2 - й день IV возраста подопытных и контрольных гусениц заражали активным вирусом ядерного полиэдроза (экзогенная инфекция).

Опыт 3 - на 2 - й день IV возраста в две последние дневные поправки и в 3 - й день IV возраста в ходе трех очередных попокормок. В первой половине 2 - го дня IV возраста, за 4ч до начала применения препаратов, подопытных и контрольных гусениц заражали активным вирусом ядерного полиэдроза (экзогенная инфекция).

Корм контрольных гусениц в те же сроки обрабатывали равнозначным объемом стерильной воды.

Данные, приведенные в табл.2, свидетельствуют о том, что предлагаемый витаминно-коферментный препарат, в отличие от прототипа и известного, обладает существенным лечебно-профилактическим действием и обеспечивает достаточно эффективную защиту тутового шелкопряда от вирусного заболевания - ядерного полиэдроза (желтухи). Предлагаемый витаминно-коферментный препарат обеспечил достоверное снижение гибели тутового шелкопряда от ядерного полиэдроза по сравнению с контролем, прототипом и известным препаратом. Применение его при активации латентной вирусной инфекции, вызванной прогревом гусениц, обусловило, в отличие от прототипа и известного препарата, снижение гибели тутового шелкопряда от ядерного полиэдроза на 6 - 11,4% по сравнению с контролем. Использование предлагаемого витаминно-коферментного препарата для профилактики или лечения экзогенной вирусной инфекции обеспечило, в отличие от прототипа и известного препарата, достоверное снижение гибели тутового шелкопряда от желтухи по сравнению с контролем - соответственно на 8,7 - 9,4 и 11,7 - 13,4%. Предлагаемый витаминно-коферментный препарат обусловил также повышение содержания шелка в коконах до 17,0 - 17,3% при 16,4% в контроле.

Данные, приведенные в табл.2, свидетельствуют о том, что витаминно-коферментный препарат обладает наиболее сильным лечебно-профилактическим действием при следующем соотношении компонентов, об.%:

Автолизат гриба <i>Fusarium sambucinum</i> -139	25 - 50
Автолизат гриба <i>Fusarium sambucinum</i> -199	50 - 75.

Увеличение содержания автолизата гриба *Fusarium sambucinum*-139 сверх 50, а гриба *Fusarium sambucinum*-199 сверх 75об.% приводит к ослаблению лечебно-профилактических свойств препарата по отношению к ядерному полиэдрозу тутового шелкопряда.

Пример 3. Для экспериментов использовали сеголетков карпа, которых трижды с недельным интервалом выдерживали в растворах витаминно-коферментных препаратов при различных соотношениях их компонентов (табл.3) следующим образом:

Опыт 1 - выдерживание рыб сначала в 0,5% растворе поваренной соли, а потом на протяжении 5мин в 10% растворах витаминно-коферментных препаратов (гиперосмотическая инфильтрация).

Опыт 2 - выдерживание рыб в 1% водных растворах витаминно-коферментных препаратов на протяжении 3сут. Контрольных особей не подвергали никаким дополнительным воздействиям. Как подопытных, так и контрольных сеголетков карпа содержали в одной емкости с аэрированной водой и кормили через день стандартным комбикормом. Через две недели после последней обработки определяли ряд важнейших рыбоводно-биологических показателей подопытных и контрольных рыб.

Данные, приведенные в табл.3, свидетельствуют о том, что предлагаемый витаминно-коферментный препарат обеспечивает наиболее значительное повышение рыбоводно-биологических показателей сеголетков карпа, в том числе достоверное увеличение их длины, высоты и толщины по сравнению с контролем, чем прототип и известный препарат. При введении предлагаемого препарата в организм рыб путем гиперосмотической инфильтрации масса сеголетков карпа увеличилась на 11,2 - 12,6%, а толщина - на 7,0 - 8,1% по сравнению с контролем, в то время как при использовании прототипа и

известного препарата это увеличение составило 5,1 и 3,6% соответственно для массы и 0,6 и 1,9% соответственно для толщины. При выдерживании рыб в 1% водном растворе предлагаемого препарата масса сеголетков карпа увеличилась на 15,1 - 17,3%, а длина - на 4,0 - 4,2% по сравнению с контролем, в то время как при использовании прототипа и известного препарата это увеличение составило 5,9 и 4,3% соответственно для массы и 1,5 и 1,4% соответственно для длины.

Данные, приведенные в табл.3, свидетельствуют о том, что витаминно-коферментный препарат обладает наиболее сильным стимулирующим действием на основные рыбоводно-биологические показатели сеголетков карпа при следующем соотношении компонентов, об.%:

Автолизат гриба <i>Fusarium sambucinum</i> -139	25 - 50
Автолизат гриба <i>Fusarium sambucinum</i> -199	50 - 75.

Увеличение содержания автолизата гриба *Fusarium sambucinum*-139 сверх 50, а автолизата гриба *Fusarium sambucinum*-199 сверх 75об.% приводит к ослаблению стимулирующего действия препарата на рыбоводно-биологические показатели сеголетков карпа, причем такой препарат не обеспечивает достоверного увеличения их длины и толщины по сравнению с контролем.

Пример 4. Для экспериментов использовали икру карпа, полученную от одной самки. В опытных вариантах в процессе обесклеивания икру обрабатывали 10% водными растворами витаминно-коферментных препаратов при различных соотношениях их компонентов (табл.4) в сочетании с обесклеивающим веществом (сухое молоко). В контроле икру обрабатывали только обесклеивающим веществом.

Данные, приведенные в табл.4, свидетельствуют о том, что предлагаемый витаминно-коферментный препарат обеспечивает значительное увеличение выхода жизнеспособных личинок по сравнению с известными препаратами и контролем вследствие снижения пораженности икры сапролегниозом. Использование предлагаемого препарата обусловило увеличение выхода личинок на 79,6 - 88,1% по сравнению с контролем, в то время как применение прототипа и известного препарата - на 19,9 и 30,8% соответственно. Полученные в опыте личинки также были впоследствии более жизнеспособными и устойчивыми к загрязнению воды и другим неблагоприятным изменениям окружающей среды.

Данные, приведенные в табл.4, свидетельствуют о том, что витаминно-коферментный препарат обладает наиболее сильным защитным действием при следующем соотношении компонентов, об.%:

Автолизат гриба <i>Fusarium sambucinum</i> -139	25 - 50
Автолизат гриба <i>Fusarium sambucinum</i> -199	50 - 75.

Увеличение содержания автолизата гриба *Fusarium sambucinum*-139 сверх 50, а автолизата гриба *Fusarium sambucinum*-199 сверх 75об.% приводит к ослаблению защитных свойств препарата при поражении икры карпа сапролегниозом.

Промышленная применимость изобретения явствует из того, что предлагаемый витаминно-коферментный препарат не только сильнее стимулирует рост и развитие и повышает продуктивность сельскохозяйственных животных по сравнению с известными, но и, в отличие от них, обеспечивает эффективную защиту от вирусных (ядерный полиэдроз тутового шелкопряда), грибных (сапролегниоз карпа) и протозойных (микроспориоз дубового шелкопряда) заболеваний. Препарат получают на основе дешевого вторичного сырья, он нетоксичен для человека и животных и безопасен в обращении, в отличие от большинства используемых в рыбоводстве красителей, обладающих канцерогенными и мутагенными свойствами, отрицательно влияющих на окружающую среду и сохраняющихся в организме рыб длительное время. Способы применения витаминно-коферментного препарата несложны и хорошо вписываются в технологии выращивания полезных шелкопрядов и рыб.

Он может быть использован для повышения продуктивности выкармков тутового и дубового шелкопрядов, особенно в случае проявления вирусной и протозойной инфекций, а также для улучшения рыбоводно-биологических показателей молоди карпа и увеличения выхода жизнеспособных личинок с целью повышения рыбопродуктивности.

Таблица 1

Влияние витаминно-коферментного препарата на развитие и продуктивность дубового шелкопряда и его заболеваемость микроспориозом

Препарат (по соотношению компонентов, об. %)	Длительность периода выкармли. сутки		Гибель гусениц от микроспориоза, %	Выход качественных коконов, %	Средняя масса, мг			
					кокона		оболочки	
	средняя	общая			самки	самцы	самки	самцы
Предлагаемый								
автолизат <i>Fusarium sambucinum</i> - 139 - 25	47,37±0,60	57	5,0	90,0	6622±113	4748±94	555±24	529±20
автолизат <i>Fusarium sambucinum</i> - 199 - 75								
автолизат <i>Fusarium sambucinum</i> - 139 - 50	46,30±0,56	55	2,5	93,0	6887±129	4883±109	594±18	538±17
автолизат <i>Fusarium sambucinum</i> - 199 - 50								
автолизат <i>Fusarium sambucinum</i> - 139 - 75	46,09±0,59	64	10,0	80,5	6614±120	4712±103	499±16	442±23
автолизат <i>Fusarium sambucinum</i> - 199 - 25								
Прототип								
автолизат <i>Fusarium sambucinum</i> - 139	48,96±0,9	67	19,0	73,0	6599±139	4786±101	485±23	
Известный								
автолизат <i>Fusarium sambucinum</i> - 199	52,78±0,88	66	15,0	76,5	6340±126	4653±97	507±14	
Контроль (вода)	53,34±0,62	69	19,0	68,5	6130±98	4481±89	452±20	

Таблица 2

Результаты применения витаминно-коферментного препарата для защиты тутового шелкопряда от ядерного полиэдроза

Препарат (по соотношению компонентов, об. %)	Гибель шелкопряда от ядерного полиэдроза на стадии гусеницы и куколки. %		
	эндогенная латентная ин- фекция	экзогенная инфекция	
		до заражения (профилактика)	после заражения (лечение)
Предлагаемый			
автолизат <i>Fusarium sambucinum</i> - 139 - 25	86,7±1,1	40,6±1,8	42,3±1,6
автолизат <i>Fusarium sambucinum</i> - 199 - 75			
автолизат <i>Fusarium sambucinum</i> - 139 - 50	81,3±1,3	41,3±1,7	40,6±1,3
автолизат <i>Fusarium sambucinum</i> - 199 - 50			
автолизат <i>Fusarium sambucinum</i> - 139 - 75	90,9±1,1	45,7±1,7	47,2±0,9
автолизат <i>Fusarium sambucinum</i> - 199 - 25			
Прототип			
автолизат <i>Fusarium sambucinum</i> - 139	92,3±1,3	48,7±1,4	51,7±1,4
Известный			
автолизат <i>Fusarium sambucinum</i> - 199	90,7±1,2	46,3±1,6	49,7±1,8
Контроль (вода)	92,7±1,4	50,0±1,2	54,0±1,2

Таблица 3

Влияние витаминно-коферментного препарата на рыбоводно-биологические показатели сеголетков карпа

№ опыта	Препарат (по соотношению компонентов, об. %)	Масса тела. г	Длина. см	Высота, мм	Толщина. мм
	Предлагаемый				
1 - введение путем гиперосмотической инфильтрации	автолизат <i>Fusarium sambucinum</i> - 139 - 25	21,98±1,15	10,20±0,12	30,40±0,42	15,51±0,27
	автолизат <i>Fusarium sambucinum</i> - 199 - 75				
	автолизат <i>Fusarium sambucinum</i> - 139 - 50	22,26±1,20	10,25±0,16	30,58±0,47	15,67±0,31
	автолизат <i>Fusarium sambucinum</i> - 199 - 50				
	автолизат <i>Fusarium sambucinum</i> - 139 - 75	21,03±1,10	10,07±0,15	30,09±0,43	15,09±0,33
	автолизат <i>Fusarium sambucinum</i> - 199 - 25				
	Прототип				
	автолизат <i>Fusarium sambucinum</i> - 139	20,78±1,13	9,99±0,13	29,56±0,59	14,57±0,23
	Известный				
	автолизат <i>Fusarium sambucinum</i> - 199	20,49±1,24	10,03±0,14	29,80±0,54	14,76±0,28
2 - введение путем выдерживания в растворе	автолизат <i>Fusarium sambucinum</i> - 139 - 25	22,75±1,14	10,15±0,11	30,54±0,40	15,38±0,26
	автолизат <i>Fusarium sambucinum</i> - 199 - 75				
	автолизат <i>Fusarium sambucinum</i> - 139 - 50	23,19±1,18	10,17±0,14	30,72±0,55	15,44±0,31
	автолизат <i>Fusarium sambucinum</i> - 199 - 50				
	автолизат <i>Fusarium sambucinum</i> - 139 - 75	21,26±1,21	9,98±0,15	30,34±0,51	15,14±0,24
	автолизат <i>Fusarium sambucinum</i> - 199 - 25				
2 - введение путем выдерживания в растворе	Прототип				
	автолизат <i>Fusarium sambucinum</i> - 139	20,93±1,19	9,91±0,16	29,60±0,61	14,98±0,29
	Известный				
	автолизат <i>Fusarium sambucinum</i> - 199	20,62±1,22	9,90±0,14	29,77±0,55	14,89±0,37
Контроль	-	19,77±1,54	9,76±0,15	28,30±0,68	14,49±0,36

Т а б л и ц а 4

Влияние витаминно-коферментного препарата на пораженность икры карпа сапролег-
ниозом и выход жизнеспособных личинок

Препарат (по соотношению компонентов, об. %)	Выход личинок, %
Предлагаемый	
автолизат <i>Fusarium sambucinum</i> - 139 - 25 автолизат <i>Fusarium sambucinum</i> - 199 - 75	88,3±9,1
автолизат <i>Fusarium sambucinum</i> - 139 - 50 автолизат <i>Fusarium sambucinum</i> - 199 - 50	96,8±7,4
автолизат <i>Fusarium sambucinum</i> - 139 - 75 автолизат <i>Fusarium sambucinum</i> - 199 - 25	60,4±7,2
Прототип	
автолизат <i>Fusarium sambucinum</i> - 139	28,6±3,8
Известный	
автолизат <i>Fusarium sambucinum</i> - 199	39,5±6,9
Контроль	8,7±1,9