

МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ
«САРАТОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ АГРАРНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
ИМЕНИ Н.И. ВАВИЛОВА»**

БИОТЕХНОЛОГИЯ: РЕАЛЬНОСТЬ И ПЕРСПЕКТИВЫ В СЕЛЬСКОМ ХОЗЯЙСТВЕ

**Материалы Международной
научно-практической конференции**

К 100-летию СГАУ имени Н.И. Вавилова

САРАТОВ

2013

УДК 579.64:60
ББК 30:40.5

Биотехнология: реальность и перспективы в сельском хозяйстве:
Материалы Международной научно-практической конференции.– Саратов:
Издательство «КУБиК», 2013. – 286 с.

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

д-р биол. наук, профессор *Л.В. Карпунина*;
д-р биол. наук, профессор *А.А. Щербаков*;
канд. биол. наук, доцент *Е.Н. Бухарова*

УДК 579.64:60
ББК 30:40.5

Материалы изданы в авторской редакции

ISBN 978-5-91818-287-1

© ФГБОУ ВПО «Саратовский ГАУ», 2013



УДК 616.316.5-002-053.2:616.8

**А.В. Алешкин¹, Ю.В. Кулакова¹, И.А. Киселева¹, Ю.В. Агапова¹,
Н.В. Воложанцев², Э.А. Светоч², М.В. Лахтин¹, С.С. Афанасьев¹,
О.Г. Ефимова¹, В.М. Лахтин¹**

¹Московский научно-исследовательский институт
имени Г.Н. Габричевского, г. Москва, Россия

²Государственный научный центр прикладной микробиологии
и биотехнологии, п. Оболенск, Московская область, Россия

БАД НА ОСНОВЕ КОКТЕЙЛЯ БАКТЕРИОФАГОВ: ВЛИЯНИЕ НА НОРМОФЛОРУ

Бактериофаги играют важную роль в микрoэкологическом биоконтроле и пищевой промышленности, обладают потенциалом применения в медицине [1, 2]. Новая пробиотическая биологически активная добавка (БАД) на основе поливалентного коктейля бактериофагов содержит вирусы с литической активностью (в концентрации 10^{10} - 10^{11} БОЕ/мл) в отношении штаммов MRSA *S. aureus*, *E. coli* O104:H4, *E. coli* O157:H7, других клинически значимых штаммов *E. coli*, *S. sonnei*, *S. flexneri*, *S. enteritidis*, *S. typhimurium*, *S. infantis* и *L. monocytogenes*. Целью было изучение влияния БАД на нормальную микрофлору желудочно-кишечного тракта в опытах *in vitro* и *in vivo* на мышах. В экспериментах *in vitro* использовали ингредиенты пробиотиков – производственные штаммы из государственной коллекции ФБУН «МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского»: *L. acidophilus* NK₁, *L. acidophilus* 100_{аш}, *L. acidophilus* K₃III₂₄ (составляющие Ацилакт), *L. plantarum* 8P-A3 (основа Лактобактерина), *B. adolescentis* MC-42 (основа Бифидина), *B. bifidum* №1 (основа Бифидумбактерина). В опытах *in vivo* исследовали микрофлору беспородных белых мышей в течение двух недель в присутствии внутрижелудочно введенной БАД. БАД в опытах *in vitro* не лизировала и не влияла на скорость роста лактобацилл и бифидобактерий. Титр и время нарастания производственных штаммов нормофлоры в присутствии БАД были неизменными по сравнению с контрольными и составляли 10^8 - 10^9 КОЕ/мл и 18-20 ч, соответственно. В опытах *in vivo* продемонстрировано отсутствие негативного влияния БАД на нормофлору мышей на 4-е, 10-е и 14-е сутки (БАД вводили в течение первых 10 дней). Полная элиминация бактериофагов, входящих в БАД, наблюдалась на 12–13-е сутки. Таким образом, новая пробиотическая БАД к пище на основе поливалентного коктейля бактериофагов не оказывает негативного влияния на нормальную микрофлору млекопитающих, что открывает

перспективы ее широкого терапевтического применения. Результаты также указывают на важность межпаттернового узнавания в системе «Бактериофаги–Бактерии» для оценки времени реализации литического действия (определения «узкого» звена или звеньев суммарного эффекта по его протяженности и выраженности моды или составляющих мод) БАД на основе мультидисплейного коктейля поливалентных бактериофагов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Aleshkin A.V., Lakhtin V.M., Afanasiev S.S., Lakhtin M.V., Aleshkin V.A. Bacteriophage practice antimicrobial potential. The review // Materials of international scientific practical conference “Science and innovations” (October 7–15, 2012, Poland).

2. Лахтин В.М., Алешкин А.В., Лахтин М.В., Афанасьев С.С., Алешкин В.А. Бактериофаги и молочнокислые бактерии. Обзор // Бюлл. ВСНЦ СО РАМН. – 2012. – № 5 (87); Часть 1. – С. 382–385.

УДК 619:618.7.636.2:616

В.А. Антипов, Е.В. Кузьмина, Р.Ю. Будюк

Краснодарский научно-исследовательский ветеринарный институт
РАСХН, г. Краснодар, Россия

БИОТЕХНОЛОГИЯ ПОЛУЧЕНИЯ И ЭФФЕКТИВНОСТЬ КАРОТИНСОДЕРЖАЩИХ ПРЕПАРАТОВ

Прогресс ветеринарной фармакологии обеспечивается постоянным поиском и созданием новых высокоэффективных и безопасных лекарственных средств. Оценка препаратов по показателям, характеризующим их физико-химические и биологические особенности, приобрела важное прикладное и теоретическое значение, так как от этого во многом зависит их лечебное и профилактическое действие.

Использование витаминов и микроэлементов ставит своей целью не только восполнение их дефицита, возникающего на фоне несбалансированного кормления, но и коррекцию биохимических процессов, протекающих на клеточном уровне, что, в свою очередь, способствует выздоровлению животных и обеспечивает профилактику заболеваний.

В результате работ, проведенных в Краснодарском НИВИ, разработана группа препаратов на основе каротиноидов: каролин, карсел, карток, ликолин, ликовит.

Каролин, карсел, карток представляют собой растворы бета-каротина в рафинированных и дезодорированных маслах (кукурузном, соевом, подсолнечном) с массовой долей каротина не менее 0,18 %. Действующим веществом является получаемый из биомассы культуры гриба *Blakeslea trispora*, бета-каротин (C₄₀H₅₆), выпускаемый по ФС 42-3867. Субстанция бета-каротина представляет собой красно-фиолетовые кристаллы с метал-

лическим блеском, трудно растворимые в хлороформе и нерастворимые в спирте и воде. Подлинность препарата подтверждается тах спектров поглощения, которые в хлороформе составляют 464 ± 2 и 492 ± 2 нм.

В карсел дополнительно входит ДАФС-25, представляющий собой ди-ацетофенонилселенид, а в карток – витамин Е. Эти препараты выпускаются как для внутреннего, так и для парентерального введения.

Ликовит представляет собой обезжиренную ликопинсодержащую биомассу с концентрацией ликопина от 0,01 до 0,3%. Ликолин – это раствор ликопина, полученного из растительного сырья в рафинированных и дезодорированных маслах (кукурузном, соевом, подсолнечном) с массовой долей ликопина от 0,05 до 0,2 %.

Препараты предназначены для нормализации обмена веществ, профилактики задержания последа, послеродовых эндометритов и нарушений воспроизводительной функции у коров, повышения молочности свиноматок и сохранности поросят, улучшения качества яиц и сохранности цыплят.

В настоящее время известно около 600 различных каротиноидов, ряд из которых имеют большое значение как вещества, защищающие организм животного от агрессивных стресс-факторов. Помимо антиоксидантных свойств каротиноиды, в том числе, ликопин, обладают другими ценными характеристиками, оказывающими позитивное влияние на организм животных (антиканцерогенная, антимуtagenная, детоксикационная и иммуностимулирующая активность).

Селен обеспечивает активность окислительно-восстановительных ферментов и витаминов, иммунологическую резистентность организма, повышает синтез цитохрома Р-450 и т.д.

В результате проведенных токсикологических исследований установлено, что эти препараты малотоксичны для животных и согласно ГОСТ 12.1.007-76 «Вредные вещества» относятся к 4-му классу опасности (малоопасные вещества). Их длительное применение в дозах, в несколько раз превышающих лечебно-профилактические, не влияет отрицательно на общее состояние животных и другие показатели их клинического статуса, не оказывает вредного местного действия, существенно не влияет на морфобиохимические показатели крови, не проявляет отрицательного влияния на основные виды обмена, не нарушает функций и структуру систем, органов и тканей.

По органолептическим, физико-химическим и биологическим показателям препараты должны соответствовать требованиям и нормам, указанным в таблице. Определение прозрачности, цвета, запаха и вкуса проводят органолептически в соответствии с ГОСТ 5472, кислотное число препарата определяют по ГОСТ 5476, перекисное число по ГОСТ 26593, стерильность по ГОСТ 28085.

Физико-химические свойства каротиноидных препаратов

Показатель	КАРОЛИН	КАРСЕЛ	КАРТОК	ЛИКОЛИН	ЛИКОВИТ
Препаративная форма	Прозрачная маслянистая жидкость без осадка	Прозрачная маслянистая жидкость без осадка	Прозрачная маслянистая жидкость без осадка	Прозрачная маслянистая жидкость*	Однородная пастообразная масса или маслянистый порошок
Цвет	Темно-красный	Темно-красный	Темно-красный	Красно-коричневый	Красно-коричневый
Запах и вкус	Специфический				
Массовая доля бета-каротина, %	0,18	0,18	0,18	-	-
-//- ликопина	-	-	-	0,05-0,2	0,01-0,3
-//- ДАФС-25	-	0,225	-	-	-
-//- витамина Е	-	-	0,5	-	-
Кислотное число, мг КОН, не более	0,4	0,4	0,4	-	-
Стерильность	+	+	+	-	-
Количество МА и ФАМ, КОЕ в 1 мл, не более	-	-	-	5×10^5	5×10^5
Сальмонеллы в 25 мл	-	-	-	Не допускается	Не допускается
Энтеробактерии в 1 мл, не более	-	-	-	300 колоний	300 колоний
Кишечная палочка в 1 мл	-	-	-	Не допускается	Не допускается

* допускается осадок, исчезающий при температуре 60 °С.

УДК 619:636.2.053.085.16:612.017.1

А.Я. Арушанян

Кубанский государственный аграрный университет, г. Краснодар, Россия

ВЛИЯНИЕ ГИДРОГЕМОЛА НА ИММУНОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ НОВОРОЖДЕННЫХ ТЕЛЯТ

Причиной возникновения острых кишечных заболеваний у новорожденных телят чаще всего являются различные условно патогенные микроорганизмы, а главным предрасполагающим фактором – нарушение формирования микробиоценоза в первые дни жизни животных. В связи с этим в последнее время большое внимание уделяется разработке средств направленного регулирования микрoэкологических процессов в кишечном тракте новорожденных. Данные средства представляют собой препараты живых бактерий или продукты их жизнедеятельности (пробиотики), а также вещества стимулирующие размножение бифидо- и лактобактерий (пребио-

тики). Установлено, что пре- и пробиотики могут напрямую или опосредованно влиять не только на состав кишечной микрофлоры, но и организм в целом, в частности на его врожденный иммунитет.

В связи с этим, целью исследования было изучение влияния пребиотического препарата «Гидрогемол» на иммунобиологические показатели новорожденных телят.

Исследования проводились на базе молочно-товарной фермы хозяйства ЗАО «Путиловец-Юг» и в лаборатории кафедры микробиологии, эпизоотологии и вирусологии Кубанского ГАУ. Предметом исследования являлась фагоцитарная (захватывающая и переваривающая) способность нейтрофилов, бактерицидная и лизоцимная активность сыворотки крови. Фагоцитарную способность нейтрофилов определяли в реакции бактериального фагоцитоза клеток *Staphylococcus aureus*. Бактерицидную активность сыворотки крови (БАСК) определяли колориметрическим методом с использованием *Escherichia coli*. Лизоцимную активность сыворотки крови (ЛАСК) определяли колориметрическим методом с использованием *Micrococcus lysodeikticus*, общее количество лейкоцитов и лейкоцитарную формулу определяли общепринятыми методами, принятыми в клинической диагностике.

Для проведения опыта было сформировано 2 группы новорожденных телят – опытная и контрольная по 10 животных в каждой. Подопытные телята после первой выпойки молозива получали «Гидрогемол» (препарат на основе гидролизата крови, молочной, янтарной и бензойной кислот) с молоком 2 раза в сутки в течение 10 дней в дозе 50 мл. Телята из контрольной группы содержались по схеме хозяйства, и получали молоко, сквашенное 8,5 % раствором муравьиной кислоты из расчета 20 мл на 1 литр. Перед опытом и по его завершении (на 11 сутки) у телят отбирали кровь для исследования.

Проведенными исследованиями установлено, что в первые сутки после рождения показатели уровня естественной резистентности телят были приблизительно одинаковыми и находились на достаточно низком уровне. Это выражалось тем, что БАСК находилась в диапазоне 43–47 %, ЛАСК – 0,25–0,37, общее количество лейкоцитов – $9,21\text{--}11,3 \times 10^9/\text{л}$. Захватывающая способность нейтрофилов находилась в пределах 12–15 %, а переваривающая активность – 40–50 %. Соотношение различных фракций лейкоцитов тоже находилось приблизительно на одинаковом уровне и не выходило за пределы физиологических показателей.

При исследовании крови после завершения опыта было установлено, что у телят из опытной группы общее количество лейкоцитов было равно $16,5 \times 10^9/\text{л}$, а у телят из контрольной группы $9,1 \times 10^9/\text{л}$. В количественном составе лейкоцитов у телят из контрольной группы преобладающее место занимали нейтрофильные гранулоциты ($70,3 \pm 6,7\%$), что может свидетельствовать о наличии у них воспалительного процесса. У телят из опытной группы количество нейтрофильных гранулоцитов было в пределах $48,7 \pm 2,4\%$, такое же количество ($48,3 \pm 5,6\%$) лейкоцитов приходилось на

лимфоциты, что может характеризовать состояние животных как стабильное с выраженным процессом лейкопоза.

Фагоцитарная активность нейтрофилов у телят из опытной группы была на 19,4 % выше, чем у телят из контрольной группы, фагоцитарное число – на 2,11 ед.; количество активных фагоцитов на 1,24 тыс./мкл; абсолютный фагоцитарный показатель на 237,7 тыс./мкл, однако переваривающая активность и индекс завершенности фагоцитоза оказались ниже, чем в контроле на в 1,3 и 1,2 раза соответственно. Данная картина может свидетельствовать о более выраженной фагоцитарной реакции нейтрофильных гранулоцитов, и о значительно большем их активном числе у телят из опытной группы. В то же время захватывающая способность нейтрофилов настолько выражена, что не все поглощенные бактерии перевариваются, а, следовательно, процесс фагоцитоза остаётся полностью не завершённым. У телят из контрольной группы количество активных нейтрофилов существенно ниже, они захватывают значительно меньше бактериальных клеток, но в большем количестве (67,9 %) их переваривают.

Показатели БАСК и ЛАСК телят свидетельствовали о том, что уровень неспецифической гуморальной защиты у животных из опытной группы был более выражен, чем у животных из контрольной группы. Так у подопытных телят БАСК находилась на уровне 48,9 %, а ЛАСК – 4,53 мкг/мл. У телят из контрольной группы данные показатели были соответственно 37,1 % и 0,40 мкг/мл.

Таким образом, установлено, что дача телятам гидрогемола 2 раза в сутки в дозе 50 мл в течение первых десяти дней после рождения позитивно влияет на их организм, активизируя при этом факторы неспецифической резистентности и обуславливая защиту новорожденных от негативного действия болезнетворных микроорганизмов.

УДК 619:615:37.012

*И.В. Бобровская, Л.А. Неминущая, Н.К. Еремец, О.В. Провоторова,
С.В. Лихашерстова, В.И. Еремец, А.Я. Самуйленко*

ГНУ ВНИТИБП Россельхозакадемии, г. Щелково, Московская обл., Россия

БИОТЕХНОЛОГИИ НОВЫХ ПРОБИОТИКОВ И СИНБИОТИЧЕСКИХ КОМПЛЕКСОВ ДЛЯ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ И ПТИЦЫ

Наукоемкие технологии играют ключевую роль в обеспечении населения качественной продукцией животноводства и растениеводства. Повысить продуктивность сельскохозяйственных животных и птицы нельзя без полноценного правильного кормления и использования различных кормовых добавок и пробиотических препаратов. Комплексы, входящие в их состав, обеспечивают, помимо питательной ценности, такие свойства, как

антиоксидантные, антибактериальные, антистрессовые, иммуномодулирующие, антипаразитарные, противовоспалительные, а также обеспечивают стимуляцию секреции пищеварительных ферментов, ингибирование развития патогенной микрофлоры в кишечнике, защиту кишечника при смене корма. Такие добавки обладают еще и лечебно-профилактическими свойствами (1, 2). Кормовые белковые продукты, получаемые на основе микробиологического синтеза, по своему химическому составу и питательной ценности не уступают традиционным белковым кормам, таким как соевый шрот, мясокостная и рыбная мука и др. Биотехнологический способ получения обеспечивает их экологическую чистоту. Все эти препараты возможно производить по унифицированным технологиям на гибких технологических линиях, которые могут быть тиражированы и размещены в виде минибиоzaводов непосредственно в местах потребления продукции – на агропредприятиях и птицеводческих комплексах (3).

Во ВНИТИБП разработана «Концепция регионального развития и научного обеспечения биологических производств средств повышения плодородия почв, защиты растений, увеличения продуктивности животных, экологической и продовольственной безопасности», подразумевающая разработку и внедрение в регионах станы унифицированных промышленных технологий и технологических линий на модульной основе с использованием современного оборудования и систем автоматизации, которые будут экономически выгодны.

В рамках реализации положений Концепции в институте научно обоснована концепция создания синбиотических комплексов «пробиотик+пребиотик» и «пробиотики+белковая кормовая добавка». Разработаны новые препараты (пробиотики АВИЛАКТ-1К, АВИСУБТИЛ, пребиотик АВИСТИМ, белковая кормовая добавка ЦЕРЕВЕТ) и синбиотические комплексы на их основе АВИЛАКТ-ФОРТЕ и ЛАКТОСУБТИЛ-ФОРТЕ. Для пробиотиков разработано две готовые формы – жидкая и сухая. Количество живых бактерий *L. Acidophilus* и *B. Subtilis* в сухом материале составляло не менее 3×10^9 КОЕ/г и 5×10^{10} КОЕ/г соответственно. Жидкий препарат расфасовывали в стеклянную или полиэтиленовую тару, а сухой – в полимерные пакеты. Для получения готовой формы пребиотика АВИСТИМ культуральную жидкость отделяли от биомассы гриба фильтрацией на нутч-фильтрах, подвергали стерилизующей фильтрации и расфасовывали в стеклянную или полиэтиленовую тару. При получении готовой формы препарата ЦЕРЕВЕТ биомассу дрожжей подвергали плазмоллизу, контролировали на отсутствие живых клеток и сушили на распылительной сушилке типа Niro Atomizer. Установлена возможность применения двух форм пробиотика – сухой и жидкой. Однако использование сублимационного высушивания имеет ряд недостатков (большие энергозатраты, неудобство фасования препарата в случае крупных партий, высокая гидрофильность и др.) и может быть заменено другими видами сушки (в кипящем слое, конвекционный и др.), которые лишены названных недостатков

и позволяют получить более современные формы препарата, например, путем иммобилизации на гранулах корма или сорбентах.

В результате проведенных исследований разработана технология изготовления препаратов, входящих в состав синбиотических комплексов; проведены доклинические исследования их безопасности и специфической активности; разработаны способы применения в сухой и жидкой формах; оценена лечебно-профилактическая и экономическая эффективность при откорме бройлеров. Показано, что препараты не токсичны, безвредны, не обладают раздражающим действием на слизистые оболочки. Применение синбиотиков способствует:

- увеличению привесов на 6,9–10,2 %;
- сохранности птицы на 2,5–3,8 %;
- уменьшению затрат корма на 3,8–6,1 %;
- улучшению качества мяса и увеличению доли съедобной части тушки;
- повышению эффективности вакцинации птицы против ньюкаслской болезни при наличии в хозяйстве коли-инфекции.

Использование комплексов способствует повышению резистентности организма птицы, переболевшей колибактериозом. Пробиотики обладают выраженной антагонистической активностью (*in vitro* и *in vivo*) в отношении условно-патогенных и патогенных микроорганизмов (*E.coli* и *Salmonella*) и характеризуется умеренной или высокой чувствительностью к различным антибиотикам. Экономический эффект от применения синбиотических комплексов АВИЛАКТ-ФОРТЕ и ЛАКТОСУБИЛ-ФОРТЕ получен за счет повышения сохранности поголовья, прироста живой массы и снижения затрат корма.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Неминущая Л.А. Синбиотики – белковый кормовой продукт 21 века. /Л.А. Неминущая, Г.И. Воробьева, Э.Ф. Токарик, В.И. Еремец, И.Л. Боро, А.Я. Самуйленко: в сб. мат-лов междунаrodn. научно-практич. конф., посв. 40-летию института «Научные основы производства ветеринарных биологических препаратов» – Щелково, 2009. – С. 489–497.
2. Рымарева Л.В. Дрожжи кормовые из зерновой барды – полноценный белково-витаминный корм для сельскохозяйственных животных и птицы /Л.В. Рымарева, Т.И. Лозанская, Н.М. Худякова. //Ценовик. – Август, 2008. – С. 14–20.
3. Самуйленко А.Я. Основы технологии производства ветеринарных биологических препаратов /Самуйленко А.Я., Рубан Е.А. – М: Россельхозакадемия. – Т. 1.–2. – М.: РАСХН, 2000. – 781 с.

**А.В. Боровикова, А.Д. Гормакова, Н.А. Дьяченко, Р.К. Исаев,
Е.И. Коваленко, А.В. Солдатенко**

Саратовский филиал Самарского медицинского института «РЕАВИЗ»,
г. Саратов, Россия

БИОТЕХНОЛОГИЯ И МЕДИЦИНА: ТОЧКИ ПЕРЕСЕЧЕНИЯ

Биотехнология – настолько обширная область естествознания, что сложно выделить в ней направления, являющиеся наиболее приоритетными. Наше внимание, как студентов-медиков, привлекла медицинская биотехнология, или, согласно зарубежной классификации – «красная биотехнология». Именно ей, на наш взгляд, отводится важнейшая роль в решении актуальных медицинских проблем.

Как известно, за последние 40 лет создано более 200 биотехнологических лекарственных препаратов, и еще более 400 находятся на стадии исследований. В настоящее время биотехнологическим путем производят генно-инженерные белки (интерфероны, интерлейкины, гормоны, вакцины), ферментные препараты и препараты на основе аминокислот, витамины, антибиотики и т.д. Впечатляют некоторые факты: ранее из 1 л донорской человеческой крови получали только 1 лекарственную дозу интерферона, сейчас, используя методы биотехнологии, из 1 л культуральной жидкости продуцента (*E. coli*, *S. cerevisiae*, культура фибробластов) можно получить 50–100 таких доз; из 1 л культуральной жидкости генно-модифицированного штамма *E. Coli* получают до 200 граммов гормона инсулина, что эквивалентно количеству инсулина, выделяемого из 1600 кг поджелудочной железы свиньи или коровы (одна железа коровы весит 200 - 250 грамм). Более того, ученые из Датского Центра Стволовых Клеток (TheDanishStemCellCenter, DanStem) при Университете Копенгагена (UniversityofCopenhagen) выяснили, как наилучшим образом вырастить из стволовых клеток инсулин-продуцирующие клетки поджелудочной железы, полученная информация в будущем может помочь при лечении диабета методом клеточной терапии.

Еще в начале 90-х годов появились статьи, в которых рассматривались перспективы использования сапротрофной микрофлоры как продуцента биологически активных веществ. Предполагалось вводить в организм сапрофитные микроорганизмы, которые могли бы жить в условиях симбиоза с нормальной микрофлорой организма. Способы введения могут быть различны: капсулы, растворимые в кишечном соке, культуры штаммов-продуцентов на пленочной основе, в виде свечей, а при легочных заболеваниях – в виде аэрозолей. Сейчас активно используют пробиотики – живые, специально подобранные штаммы микроорганизмов или специфические субстанции микробного, растительного или животного происхождения. С учетом направленности действия различают пробиотики, исполь-

зубные для обеспечения функционального питания; для реабилитационной терапии и нормализации микробиоценоза после длительного применения антимикробных средств; для коррекции иммунитета, стимуляции роста и развития; для терапии при заболеваниях бактериальной и вирусной этиологии. Классическими примерами являются такие пробиотики, как лактобактерин, бактисубтил, бифидумбактерин, аципол, линекс и т.д.

Особый интерес для медиков представляют стволовые клетки, позволяющие вырастить необходимую ткань человеческого организма или восстановить ее после повреждения. Выращивая в лабораторных условиях сердечную ткань из стволовых клеток, канадские ученые создали особую среду из ростовых факторов, позволившую превратить зрелые стволовые клетки в функционально молодые. Открытие, возможно, позволит ученым выращивать тканевые «заплатки» для восстановления поврежденных участков сердца из собственных стволовых клеток пациента вне зависимости от его возраста, избегая при этом отторжения ткани. Институт стволовых клеток человека проводил исследования первого в стране генотерапевтического препарата Неоваскулген для лечения критической ишемии нижних конечностей – когда сосуды становятся непроходимыми, а окружающая ткань умирает. Такой диагноз ставят 300 тысячам пациентов ежегодно, и новый препарат может стать реальной альтернативой ампутации. Препарат содержит ген, вырабатывающий в клетках больного вещество, стимулирующее рост новых сосудов. К технологиям будущего ученые относят и метод клеточной трансплантации стволовых клеток. Эта область науки пока вызывает много споров, но успехи стволовой терапии уже очевидны в заместительной терапии поврежденных тканей (например, ее используют в ожоговых центрах).

Расшифровка генома человека положила начало развитию персонализированной медицины, основным принципом которой является подбор методов лечения в соответствии с генетическими особенностями пациентов, появились такие отрасли фармации как фармакогенетика и фармакогеномика. Как известно, разные люди по-разному отвечают на терапию одним и тем же лекарственным средством. Для одного пациента препарат может оказаться абсолютно неэффективным, а у другого он может привести к возникновению серьезных побочных эффектов вплоть до летального исхода. По мнению большинства ученых, в том числе министра здравоохранения В.И. Скворцовой, индивидуальный подход позволит не только улучшить результаты лечения, но и сделать излечимыми те заболевания, которые сегодня неизлечимы. И хотя пока это направление относят к медицине будущего, уникальные разработки в этой области уже есть. Например, разработан тест СУР 150, позволяющий на основе анализа крови и полученной генной информации подбирать лекарственные препараты для лечения болезней сердца. Со слов академика Хаитова Р.М., возможно, уже в ближайшем будущем таблетки будут носить не названия брендов, а имена пациентов.

Фантастика? Думаем, что нет! Мы просто уверены в том, что будут разработаны «вакцины» от всех болезней, человечество наконец-то победит

рак и забудет, что такое СПИД. И уже буквально следующему поколению студентов сложно будет представить продолжительность жизни менее 200 лет, и вполне естественной будет казаться вечная молодость человечества!

УДК 579.61

*М.М. Вакараева¹, О.В. Нечаева², Д.А. Заярский³, Г.М. Шуб²,
Н.В. Беспалова¹*

¹Саратовский государственный технический университет имени Гагарина Ю.А., г. Саратов, Россия

²Саратовский государственный медицинский университет имени В.И. Разумовского, г. Саратов, Россия

³Саратовский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского, г. Саратов, Россия

БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ НАНОРАЗМЕРНЫХ АГРЕГАТОВ ФЛАВОНОИДОВ, СТАБИЛИЗИРОВАННЫХ ПОЛИДИМЕТИЛ-ДИАЛЛИЛАММОНИЕМ ЙОДИД САХАРОЗЫ

Поиск новых веществ, обладающих антимикробной активностью, является актуальной проблемой современности. Это связано с постоянно расширяющейся устойчивостью возбудителей инфекционных заболеваний к популярным антибиотикам и химиотерапевтическим препаратам и формированием большого количества госпитальных штаммов микроорганизмов.

Представляло интерес исследовать биологическую активность наноразмерных структур «ядро-оболочка», полученных на основе флавоноидов, которые стабилизировали полидиметилдиаллиламмонием йодид сахарозы, а также нестабилизированных наноагрегатов флавоноидов.

Полидиметилдиаллиламмоний йодид сахарозы (ПДДАЙС) представляет собой нетоксичный биосовместимый полиэлектrolит с выраженной антимикробной активностью.

Структуры «ядро-оболочка» создавали методом последовательной адсорбции полиэлектrolита на поверхности агрегатов флавоноидов, в результате чего формировались сферические объекты размером 70–100 нм. Измерения проводились с помощью зондовой нанолaborатории NTEGRA Spectra (NT-MDT, Россия).

Исследование активности полученных структур проводили в отношении стандартных штаммов грамположительных и грамотрицательных бактерий. Антимикробные свойства определяли методом серийных разведений.

Образцы исследуемых структур титровали в стерильной дистиллированной воде до получения рабочей концентрации 1000 мкг/мл. Затем получали двойные разведения препарата в мясо-пептонном бульоне (МПБ) до 2 мкг/мл. Рабочие концентрации наноагрегатов флавоноидов составили от 10 до 2,5 мг/мл.

В качестве экспериментальной модели были использованы стандартные штаммы *S. aureus* 209 P, *E. coli* M-17, *P. aeruginosa*, *B. cereus* 8035.

Взвесь исследуемых бактерий готовили в физиологическом растворе по оптическому стандарту мутности 10 Ед (ГИСК им. Тарасевича), а затем титровали до конечной концентрации 2×10^6 м.к./мл. В каждую пробирку, содержащую определенную концентрацию препарата, вносили по 0,1 мл взвеси исследуемых микроорганизмов и инкубировали в термостате при 37 °С в течение 24 часов. Учет результатов проводили по наличию видимого роста в пробирках. В качестве контроля оценивали рост исследуемых микроорганизмов в жидкой питательной среде. Затем из каждой пробирки, где отсутствовал видимый рост, производили высев на мясо-пептонный агар (МПА). Посевы инкубировали в термостате при 37 °С в течение 24 часов. После чего подсчитывали количество колониеобразующих единиц (КОЕ) контрольных и опытных образцов.

Антимикробную активность оценивали по минимальной подавляющей концентрации исследуемых препаратов. В ходе проведенных экспериментов было установлено, что наноагрегаты флавоноидов не проявляли антимикробной активности в отношении исследуемых микроорганизмов, так как во всех пробирках с жидкой питательной средой с добавлением наноагрегатов наблюдался рост микроорганизмов в виде равномерного помутнения.

Нами было установлено, что при культивировании стандартного штамма *S. aureus* 209 P во всех пробирках видимый рост микроорганизмов отсутствовал. В контрольных пробирках наблюдался рост бактерий в виде равномерного помутнения. Высев из пробирок на МПА позволил определить минимальную бактерицидную концентрацию, которая составила 16 мкг/мл.

При культивировании стандартного штамма *Bacillus cereus* 8035 видимый рост во всех пробирках отсутствовал. Нам не удалось определить минимальную бактерицидную концентрацию для данного микроорганизма, так как рост бактерий на МПА отсутствовал при высевах из всех пробирок.

При культивировании *E. coli* M-17 во всех пробирках видимый рост бактерий отсутствовал. В результате посева материала на МПА было установлено, что минимальная бактерицидная концентрация для кишечной палочки составила 250 мкг/мл. Более низкие концентрации препарата оказывали бактериостатическое действие на данный микроорганизм.

Минимальная подавляющая концентрация препарата для *P. aeruginosa* ATCC 27853 составила 64 мкг/мл, однако при воздействии соединения в концентрации 32 мкг/мл синегнойная палочка утрачивала способность к пигментообразованию. На МПА не удалось определить минимальную бактерицидную концентрацию препарата для *P. aeruginosa* ATCC 27853, т.к. при высевах из всех пробирок наблюдался рост микроорганизма. Следовательно, исследуемые структуры в концентрации 64 мкг/мл и выше характеризовались бактериостатической активностью в отношении *P. aeruginosa* ATCC 27853.

Таким образом, в ходе проведенных исследований нами было установлено, что структуры «ядро-оболочка», состоящие из наноагрегатов флаво-

ноидов, покрытых полимерной оболочкой ПДДАЙС, вызывают гибель или задерживают рост и размножение грамположительных и грамотрицательных бактерий, и поэтому могут быть рассмотрены как перспективное антимикробное средство.

УДК 615.33

Н.С. Вечкина, А.А. Матюхина, Е.А. Чечулина, С.Н. Буришина

Саратовский филиал Самарского медицинского института «РЕАВИЗ»,
г. Саратов, Россия

АНАЛИЗ АССОРТИМЕНТА СОВРЕМЕННЫХ АНТИБИОТИКОВ

В настоящее время развитая фармацевтическая промышленность, широкая сеть аптек и богатый ассортимент лекарственных препаратов кажется нам совершенно естественным и сложно представить, как без всего этого можно обходиться. Не менее 20 % из используемых в настоящее время в клинике лекарственных средств приходится на долю противомикробных препаратов, прежде всего антибиотиков, и у каждого дома в аптечке имеется хотя бы один антибиотик! Это обусловлено, в первую очередь, широким распространением инфекционных заболеваний, составляющих более 50 % всех известных болезней.

Неоспоримым фактом является то, что первые антибиотики в промышленном масштабе начали получать только в XX веке и первым антибиотиком был пенициллин, который в 1929 г. английский микробиолог Флеминг выделил из плесневых грибов. Однако уже в Библии имеется упоминание об использовании травы иссоп для лечения кожных заболеваний. Как известно, эта трава поражается плесенью грибов родов *Penicillium* и *Aspergillus*, и может быть насыщена метаболитами грибов антибиотического характера. Далее, еще в древнем Египте инфекционные заболевания лечили с помощью заплесневелого хлеба. Может, именно египтян следует считать первопроходцами в использовании антибиотиков?

Сейчас антибиотики – самый большой класс фармацевтических соединений, получаемых преимущественно биотехнологическим путем. Действительно, шесть родов филаментозных грибов производят около 1000 различных антибиотиков, в том числе цефалоспорины и пенициллины; два рода нефиламентозных бактерий синтезируют 500 антибиотиков, а три рода актиномиетов – около 3000 антибиотиков. В настоящее время известно около 6000 антибиотиков, однако в клинике используется не более 150–200. Это связано с тем, что молекулы природных антибиотиков не всегда удовлетворяют необходимым химиотерапевтическим и фармакологическим свойствам, а также обладают рядом побочных эффектов. Среди основных побочных эффектов антибиотикотерапии – токсические реакции (прежде всего, поражения печени и почек), дисбактериозы, что может стать причи-

ной вторичных эндогенных инфекций (например, у больного стафилококковой пневмонией в результате антибиотикотерапии может развиваться цистит, вызванный *E. coli*), хорошо известны и аллергические реакции, провоцируемые антибиотиками, а также их иммунодепрессивное действие.

Не стоит забывать, что длительное применение того или иного антибиотика приводит к появлению устойчивых (резистентных) к нему форм микроорганизмов, и они становятся невосприимчивыми к его действию. Например, в первые годы после открытия пенициллина около 99 % патогенных стафилококков были чувствительны к этому антибиотику; в 60-е годы к пенициллину остались чувствительны уже не более 20–30 %. По меткому замечанию поэта Пабло Неруды – «Ученые придумали десятки лекарств и убили миллиарды микробов, но оставшиеся стали в миллион раз злее».

В связи с этим практически важным и актуальным является поиск новых антибиотиков и «модификация» уже известных. Следует отметить, что с коммерческой точки зрения наиболее перспективным является именно химическая или биотехнологическая трансформация уже имеющихся антибиотиков. Для ряда антибиотиков разработаны методы полного химического синтеза, которые, однако, сложны и экономически не обоснованы.

Внимание фармацевтов (и потребителей) последнее время привлекают антибиотики группы макролидов. Первый антибиотик этой группы – эритромицин – был выделен из культуры грибов *Streptomyces erythreus* в 1952 г. Несколько позже из грибов рода *Streptomyces antibioticus* был выделен другой представитель этой группы – олеандомицин. Эритромицин и олеандомицин относятся к группе природных макролидов. К полусинтетическим макролидам относится один из наиболее популярных на сегодняшний день антибиотиков – азитромицин. Создание этого эффективного и безопасного «лидера» группы макролидов – заслуга доктора Слободана Докича и возглавляемой им исследовательской группы фармацевтической компании «PLIVA» из Хорватии. Именно они в 1981 г. синтезировали антибиотик азитромицин путем включения атома азота в 14-членное лактонное кольцо эритромицина между 9-м и 10-м атомами углерода. Спустя семь лет по завершении многочисленных доклинических и клинических испытаний, азитромицин (более известный под торговым названием «Сумамед») был впервые выведен на мировой фармацевтический рынок. В настоящее время азитромицин является самым назначаемым антибиотиком. По данным «Фармэксперта» за 2011 г. в нашей стране именно «Сумамед» является лидером розничных продаж в денежном выражении.

Лекарственными формами азитромицина являются таблетки и капсулы, порошки для приготовления суспензии, в том числе и длительного действия с разнообразными торговыми названиями – «Сумамед», «Сумамокс», «Сумамед форте», «Азитрокс», «Азицид», «Хемомицин», «Зитролид-форте», «Зи-фактор», «Зетамаксретард» и др.

Какие антибиотики преобладают на полках наших аптек и чему отдают предпочтение потребители нашей области? С этой целью мы провели статистику продаж антибиотиков в одной из аптек сети «Вита» г. Энгельса.

Нами установлено, что в осенний период времени из 400 покупателей 50,8 % отдали предпочтение препаратам азитромицинового ряда («Сумамед», «Азитрокс», «Азицид», «Зитролид», «Зи-фактор», «Хемомицин»). Не забывают жители Энгельса и полусинтетические пенициллины – 30,2 % потребителей отдали предпочтение амоксицилину и его производным («Аугментин», «Амоксиклав», «Флемоксинсолютаб»). Следует отметить кларитромицин – также один из полусинтетических антибиотиков группы макролидов, именно кларитромицину и препаратам на его основе («Кладид», «Фромили Д», «Кларбакт») доверились 12,0 % потребителей, 7,0 % чеков пришлось на антибиотические препараты других групп.

УДК 619:615

Г.С. Волкова, Е.В. Кукова

ГНУ ВНИИ пищевой биотехнологии Россельхозакадемии,
г. Москва, Россия

ПРОИЗВОДСТВЕННЫЙ ОПЫТ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ПОСЛЕСПИРТОВОЙ БАРДЫ ДЛЯ ВЫРАБОТКИ ОБОГАЩЕННЫХ БЕЛКОВЫХ КОРМОВЫХ ПРОДУКТОВ С ПРОБИОТИЧЕСКИМИ СВОЙСТВАМИ

В принятой Минсельхозом России концепции по развитию животноводства предусмотрено увеличение производства говядины, свинины, мяса птицы в два раза. Решение поставленных задач предполагает значительное расширение производства кормов, применение новых технологий и создание на этой основе крупнотоннажных производств, повышение качества кормов, в особенности их сбалансированность по белку.

Дефицит белка пополняется за счет использования кормовых дрожжей, шротов, белковых кормовых добавок, но объемы их производства ограничены, поэтому в значительных количествах эти компоненты приобретаются по импорту. В то же время видится реальная возможность быстро организовать производство кормовых белковых продуктов, используя имеющийся потенциал в виде вторичных сырьевых ресурсов и отходов производства в перерабатывающих отраслях промышленности.

Во ВНИИПБТ разработана технология использования спиртовой барды и других вторичных сырьевых ресурсов перерабатывающих производств в качестве сырья, по которой вырабатываются белковые кормовые продукты «Биобардин», «Пробитин» и «Пропилакт» на основе консорциума молочнокислых и пропионовокислых бактерий. При совместном культивировании этих продуцентов в сброженных растворах накапливаются L-молочная и пропионовая кислоты, растворимые белки, каталазно-пероксидазные, супероксиддисмутазные и лактатдегидрогеназные комплексы. Кроме того, об-

наружены цитохромоксидазные системы, витамины группы В, бактериоцины молочнокислых и пропионовокислых бактерий.

При изучении процесса культивирования и состава культуральных жидкостей выявлено, что антибиотические вещества и антиокислительные ферментные комплексы, обладающие антимикробными признаками и определяющие защитно-профилактические свойства, образуются в клетках бактерий и выделяются в культуральную жидкость на всем протяжении физиологического развития. Установлена корреляция между фазой развития кислотообразующих микроорганизмов и образованием комплекса ферментов и ферментных систем, выделяемых в культуральную жидкость.

Особое внимание уделяли сохранению в конечных продуктах биологически ценных компонентов и живых микроорганизмов, в том числе продуцирующих L-формы кислот (пропионовокислые, молочнокислые бактерии и их ассоциации). Они характеризуются высоким содержанием белка (40–45 %), аминокислот, витаминов, микроэлементов и других биологически активных веществ. Продукты также обладают пробиотическими и защитно-профилактическими свойствами.

Исследования по использованию предлагаемых белковых продуктов при кормлении различных групп животных – крупного рогатого скота, свиней, лошадей, птиц и молодняка этих групп животных проводились с привлечением соответствующих институтов сельскохозяйственного профиля, животноводов, ветеринаров непосредственно в животноводческих хозяйствах и частных подворьях. По результатам опытных кормлений была отмечена почти полная сохранность молодняка, быстрое развитие и прибавление веса, хорошее физическое состояние, отсутствие диареи и других заболеваний, хорошая поедаемость корма. Прирост живой массы на одну голову молодняка крупного рогатого скота в сутки составил 370–400 г. Кормовые белковые препараты не оказали отрицательного влияния на биохимические показатели крови, которые находились в пределах физиологической нормы.

Проведены испытания (во ВНИИПИ) по использованию белковых кормовых препаратов при кормлении кур-несушек и цыплят – бройлеров различного возраста. Положительные результаты получены при использовании разработанных белковых кормовых продуктов в коневодстве.

На основании результатов широкого производственного опыта утверждены Технологические инструкции по применению этих продуктов для кормления животных и птицы взамен подсолнечного и соевого шротов. Продукция зарегистрирована в Федеральном органе по ветеринарному и фитосанитарному надзору РФ.

Технико-экономические расчеты и бизнес-план подтверждают экономическую эффективность производства белковых кормовых продуктов из послеспиртовой барды.

В настоящее время технология производства кормовых белковых продуктов под торговыми марками «Биобардин», «Пробитин» и «Пропилакт» реализована на нескольких спиртовых заводах.

Г.А. Востроилова, Г.Н. Близнецова

ГНУ Всероссийский НИВИ патологии, фармакологии и терапии
Россельхозакадемии, г. Воронеж, Россия

ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ АМИНОТОНА

Одной из основных задач современной медицинской и ветеринарной фармацевтики является разработка технологий производства препаратов, основанных на получении действующих биологически активных веществ из природных субстанций без потери их физико-химических свойств, биологической активности, а также создание условий наибольшей экстрактивности действующих веществ из биосубстрата. По-нашему мнению, наиболее перспективными и преобладающими по ряду качественных характеристик, являются криогенные технологии, а применяемая нами технологическая схема получения БАВ из тканей плаценты свиней, в частности гидрофильной фракции (аминотон), соответствует требованиям, предъявляемым GMP.

Установлено, что особенностью состава и биологического действия тканевых препаратов является наличие пептидов и свободных нуклеотидов, способных стимулировать общую резистентность организма животных. Метод получения препаратов криофракционированием не исключает образования полипептидов с низкой молекулярной массой – цитомединов, которые осуществляют перенос биологической информации между клетками каждого органа. Неспецифические эффекты, присущие всем регуляторным пептидам, включают влияние на иммуногенез, гомеостаз, процессы регенерации и неспецифическую резистентность.

В опытах *in vitro* и *in vivo* нами было установлено, что аминотон оказывает выраженное стимулирующее действие на клеточное и гуморальное звено иммунитета. Так, препарат повышает фагоцитарную активность макрофагов перитонеального экссудата мышей по сравнению с контролем в 2,0 раза. Кроме того, аминотон оказывает выраженное влияние на переваривающую способность фагоцитов: индекс завершенности фагоцитоза увеличивается с 19,08 % в контроле до 66,7 %.

Опыты на мышах показали, что аминотон достоверно повышает процент НСТ-положительных нейтрофилов крови в спонтанном НСТ-тесте в 2,4 раза, в стимулированном – в 3 раза. По-видимому, это связано с тем, что препарат обуславливает активацию гексозомонофосфатного шунта – одного из важнейших механизмов реактивности нейтрофилов.

При оценке влияния аминотона на РГЗТ у мышей, индуцированную эритроцитами барана, было выявлено, что эффект стимуляции клеточно-опосредованной реакции в 2,2 раза выше по сравнению с контролем. Двукратное введение аминотона повышало интенсивность реакции в 3,2 раза, что свидетельствует о регулирующем влиянии препаратов на Т-лимфоциты, ответственные за развитие РГЗТ. При этом препарат стимули-

ровал клеточное звено иммунитета не только при профилактическом (до сенсibilизации), но и при лечебном (после сенсibilизации) введении в среднем в 1,2 раза.

При этом стоит отметить, что аминотон оказывает выраженное стимулирующее действие на показатели гуморального звена неспецифической резистентности у коров и 2-месячных телят. Под влиянием аминотона бактерицидная активность сыворотки крови телят повышается на 20,5 %, у коров – 25,6 %, активность лизоцима – 29,6 % и 38,1 % соответственно, а активность комплемента – до 42,1 % и 30,2 % соответственно.

В многочисленных опытах были получены данные, которые позволили подтвердить наличие у препарата адаптогенного действия. Так, аминотон способствовал мобилизации защитных резервов организма белых мышей при экстремальном воздействии, что сопровождалось повышением жизнеспособности и выносливости. Известно, что острый стресс вызывает инволюцию иммунокомпетентных органов, в частности, тимуса и селезенки. Введение аминотона предотвращало гипертрофию надпочечников у крыс, а также инволюцию тимуса и селезенки.

С учетом основных критериев оценки острой стресс-реакции доказано, что аминотон обладает выраженными стресс-протективными и антиоксидантными свойствами. Влияние аминотона на свободнорадикальное окисление при стрессе обусловлено непосредственным участием биологически активных соединений, входящих в состав препарата, в частности, аминокислот, способных изменять направленность процессов пероксидации на различных стадиях метаболизма. Применение аминотона профилактировало избыточную активацию ПОЛ в ответ на стрессовоздействие, снижало негативные изменения в ферментативном звене антиоксидантной системе организма.

Изучение противовоспалительных свойств аминотона на различных моделях позволило установить, что при лечении ран в первой фазе раневого процесса он профилактирует вторичные некрозы за счет стабилизации биомембран, а во второй фазе способствует ранозаживлению. Аминотон, обладает мембраностабилизирующим действием за счет сродства с белковыми компонентами биологических мембран.

Таким образом, использование препаратов, полученных с помощью криофракционирования в ветеринарной клинической практике весьма перспективно. Имея эндогенное происхождение, они обеспечивают оптимальную физиологическую коррекцию пораженной ткани, действуют быстро и не вызывают побочных эффектов. Аминотон представляет интерес в качестве иммуномодулятора, т.к. стимулирует фагоцитоз и фагоцитарную активность нейтрофилов, повышает защитные силы организма, улучшает иммунобиологические реакции, а также стимулирует рост и размножение клеток, принимает участие в синтезе белка и оказывает другие разнообразные воздействия на ранние и поздние стадии воспаления.

Г.А. Востроилова, Т.Е. Лободина, Н.М. Федорова

ГНУ Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии РАСХН, г. Воронеж, Россия

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ПРОДУКТОВ КРИОФРАКЦИОНИРОВАНИЯ ПЛАЦЕНТЫ СВИНОЙ

Пристальный интерес врачей, биохимиков и, в первую очередь, биотехнологов во всем мире давно привлекают препараты природного происхождения и, в частности, тканевые и новые способы их получения. Это вызвано тем, что биорегуляторы, получаемые, в частности, из плаценты животных, нашли широкое применение в животноводстве, как эффективные стимуляторы при выращивании и откорме сельскохозяйственных животных и птиц, а также для лечебных целей при многих заболеваниях (В.И. Беляев, Т.И. Ермакова 2001).

Среди различных способов получения тканевых препаратов наиболее перспективными являются криогенные технологии, при реализации которых перерабатываемое сырье находится при отрицательных температурах, сохраняется нативная молекулярная структура, витаминный, гормональный состав препарата и таким образом сохраняется его биологическая активность (А.Г. Подольский, А.И. Осецкий, 2001).

Одними из представителей данной группы являются препараты криотон, липотон и аминотон, полученные из плаценты свиней методом криофракционирования. Действующим началом указанных препаратов являются биологически активные субстанции – низкомолекулярная, липофильная и гидрофильная фракции плаценты свиной (С.В. Шабунин, Г.А. Востроилова, 2004).

В данном сообщении представлены физико-химические свойства криотона, липотона и аминотона.

При исследовании установлено, что в низкомолекулярной фракции плаценты свиной (криотон) содержатся:

- микроэлементы (мг/л): медь – 0,17–0,22;
- цинк – 1,0–1,26;
- железо – 0,8–0,95;
- марганец – 0,02–0,03,
- свободные аминокислоты (мм/л): глютаминовая кислота – 17,2– 17,5;
- глицин – 6,6–8,2;
- аланин – 6,8–8,0;
- валин – 15,4–16,6;
- изолейцин – 9,3–10,4;
- лейцин – 12,9–13,8;
- тирозин – 14,5–15,3;

- фенилаланин–23,9–26,2;
- гистидин – 40,7–45,0;
- триптофан – 18,0–19,6;
- лизин – 18,8–19,3.

Также присутствуют сахара и полисахариды, летучие эфиры жирных кислот, полипептиды м.м. до 300.

Криотон представляет собой однородную прозрачную жидкость с незначительной опалесценцией, от бесцветного до светло-желтого цвета со специфическим запахом.

Химический состав липофильной фракции:

- липиды – 93–97 %;
- из них: триглицериды – 24–26 %;
- НЭЖК – 20–22 %;
- стерины – 10–15 %;
- фосфолипиды – 35–42 %;
- из них: лизолецитин – 12,1–19,8 %;
- сфингомиелин – 13,3–15,5 %;
- фосфатидилхолин – 43,8–50,5 %;
- фосфатидилинозитол – 5,3–8,6 %;
- фосфатидилсерин – 11,6–13,5 %;
- фосфатидилэтаноламин – 5,4–7,7 %;
- фосфатидиловая кислота – 5,0–7,2 %;
- витамины: витамин Е – 1,51–1,74 мг%;
- витамин А – 199,8–214,2 мкг/г;
- витамин В₂ – 4,07–5,18 мкг/г;
- макро- и микроэлементы (мг/кг): цинк – 130–190;
- медь – 150–300;
- марганец – 10–35;
- кальций – 0,56 %;
- фосфор – 0,073 %;
- гексозы – 3–7%;
- свободные аминокислоты (мкМ/л): глютаминовая кислота – 4,2;
- глицин – 2,5;
- аланин – 2,0;
- валин – 4,2;
- изолейцин – 9,9;
- лейцин – 75,4;
- тирозин – 5,8;
- фенилаланин – 14,4;
- гистидин – 58,3;
- лизин – 100,3.

Препарат представляет собой прозрачную маслянистую жидкость светло-желтого цвета со специфическим запахом.

Гидрофильная фракция плаценты свиной (аминотон) – субстанция, получаемая в результате вводно-солевой экстракции её после выделения липофильной фракции.

Аминотон содержит:

- аминокислоты (мкМ/л): цистеиновая кислота – 17,8–28,6;
- аспарагиновая кислота – 65,6–70,4;
- треонин – 205,3–257,5;
- серин – 296,2–354,0;
- глютаминовая кислота – 412,7–501,5;
- пролин – 265,0–360,0;
- цистин – 45,5–81,0;
- глицин – 310,8–368,4;
- аланин – 521,7–576,7;
- валин – 224,3–307,6;
- метионин – 51,9–78,3;
- изолейцин – 142,9–187,5;
- лейцин – 588,1–660,7;
- тирозин – 101,3–109,5;
- фенилаланин – 267,0–353,1;
- гистидин – 38,6–50,5;
- триптофан – 76,1–93,5;
- лизин – 295,7–324,3;
- аргинин – 114,9–133,9;
- глютамин – 488,9–571,4;
- таурин – 203,4–216,3;
- β -аланин – 64,4–87,2;
- фосфоэтанолламин – 142,9–203,4;
- макро- и микроэлементы (мг/л): цинк – 0,27–0,28;
- медь – 0,08–0,11;
- марганец – 0,33–0,38;
- железо – 5,44–6,93;
- кальций – 8,12–8,63;
- фосфор – 6,14–6,79;
- нуклеиновые кислоты – 0,036–0,04 мг/мл.

Также присутствуют гексуроновые кислоты, полисахариды.

Аминотон представляет собой однородную суспензию светлороманевого цвета со специфическим запахом.

Результаты исследования физико-химических свойств различных субстанций плаценты свиной указывает, что в новых тканевых препаратах криотон, липотон и аминотон – имеются макро-, микроэлементы, витамины, аминокислоты, липиды и другие биологические элементы, обладающие разнонаправленной биологической активностью: иммуностимули-

рующим, адаптогенным, противовоспалительным, репаративным и корректирующим метаболизм действием.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Беляев В.И.* Сравнительная эффективность препаратов из плаценты / В.И. Беляев, Т.И. Ермакова // Новые фармакологические средства в животноводстве и ветеринарии. Мат. науч.-практ. конф., посвящ. 55-летию Краснодарской НИВС. Краснодар 2001. – Ч.1. – С. 25.
2. *Подольский А.Г.* Современные криобиологические технологии переработки растительного сырья. Справочное пособие / А.Г. Подольский, А.И. Осецкий. – Харьков: НТУ «ХПИ», 2001. – 311 с.
3. Патент № 2237486 Россия, С1, 7 А61 К 35/50. Способ получения биологически активных липофильной и гидрофильной фракций плаценты свиной /С.В. Шабунин, Г.А. Востроилова, Н.П. Мещеряков, Н.Ф. Курило и др.; ЗАО НПП «Агрофарм» (RU) – 2003124738; Заявл. 07.08.2003; Оpubл. 10.10.2004; Бюл. №28 //ИСМ. – 2004.

УДК 619:615.36:616.34-002:636.2-053.31

Г.А. Востроилова, А.В. Топольницкая

ГНУ Всероссийский НИВИ патологии, фармакологии и терапии
Россельхозакадемии, г. Воронеж, Россия

ПРИМЕНЕНИЕ АМИНОТОНА ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ ЭШЕРИХИОЗА НОВОРОЖДЕННЫХ ТЕЛЯТ

Аминотон – гидрофильная фракция плаценты свиной, представляет собой биологически активный комплекс, основными компонентами которого являются аминокислоты, олигопептиды, глюкуроновые и нуклеиновые кислоты, микроэлементы.

Аминотон относится к малотоксичным веществам – 4 класс опасности. Препарат не обладает раздражающими, аллергенными, иммунотоксическими, мутагенными свойствами, не проявляет эмбриотоксического и тератогенного действия, в исследованных дозах безвреден для сельскохозяйственных и мелких домашних животных и птицы.

В научно-производственном опыте по изучению эффективности аминотона было сформировано две группы коров. Коровы первой группы (n=50) служили контролем и не получали препарат. Животным второй группы (n=50) вводили подкожно аминотон в дозе 20 мл на голову трехкратно по следующей схеме: за месяц до отела, за 15 дней до отела и сразу после отела. Телятам, родившимся от этих коров на 5 и 7 сутки после рождения однократно внутримышечно вводили аминотон в дозе 0,1 мл на кг массы тела.

Для оценки профилактической эффективности аминотона за новорожденными телятами вели наблюдения в течение первых 40 дней жизни. Учитывали массу тела сразу после рождения, через 1, 10 и 40 дней жизни, а также время появления клинических признаков расстройств желудочно-кишечного

тракта, продолжительность болезни, падеж. Диагноз ставили на основании бактериологических исследований и клинической картины болезни.

За животными в течение этого срока вели клиническое наблюдение. В крови новорожденных и 10-дневных телят изучали морфологические, биохимические и иммунологические показатели.

Установлено, что эшерихиоз у телят контрольной группы регистрировался в 18 % случаев. Клинические признаки болезни появлялись в среднем на 3 сутки жизни, заболевание продолжалось 6 суток. У телят опытной группы эшерихиоз отмечался только у 6 % животных. При этом заболевание начиналось на 4 сутки после рождения и продолжалось в среднем 2,8 суток. В целом, болезнь телят опытной группы протекала в более легкой форме, и лечение требовало меньше затрат.

У телят контрольной группы в течение 10 суток после рождения происходило снижение массы тела в среднем на 140 г по сравнению с массой тела при рождении. У телят опытной группы снижение массы тела не наблюдалось и ее среднесуточный прирост за первые 10 дней жизни составил в среднем 110 г. С 10-х по 40-е сутки жизни у телят опытной группы среднесуточный прирост массы тела был на 18,0 % выше, чем у телят контрольной группы.

Экспериментально было доказано, что становление иммунного статуса идет более активно у телят опытной группы. Это подтверждается более высоким уровнем комплементарной (на 19,9 %) и лизоцимной активности (на 31,7 %) сыворотки крови, а также показателем фагоцитарного резерва, который был выше у телят, родившихся от опытных коров. На 10-й день жизни содержание гемоглобина и эритроцитов было выше в группе телят, которым применяли аминотон на 7,7 % и 10,5 % соответственно. У телят контрольной группы был более низкий уровень общего белка и иммуноглобулинов. Более высокое содержание в сыворотке крови телят опытной группы общих липидов и β -липопротеидов свидетельствует о лучших адаптивных возможностях их организма и способности более активно использовать липиды на энергетические нужды в период новорожденности.

Таким образом, трехкратное применение аминотона коровам с последующим двукратным введением новорожденным телятам, показало высокую эффективность при профилактике эшерихиоза.

*С.В. Генералов, Е.Г. Абрамова, Ж.В. Матвеева, И.М. Жулидов,
А.К. Никифоров, Свинцов Р.А., Л.В. Савицкая, М.В. Галкина,
Т.А. Михеева, А.В. Комиссаров*

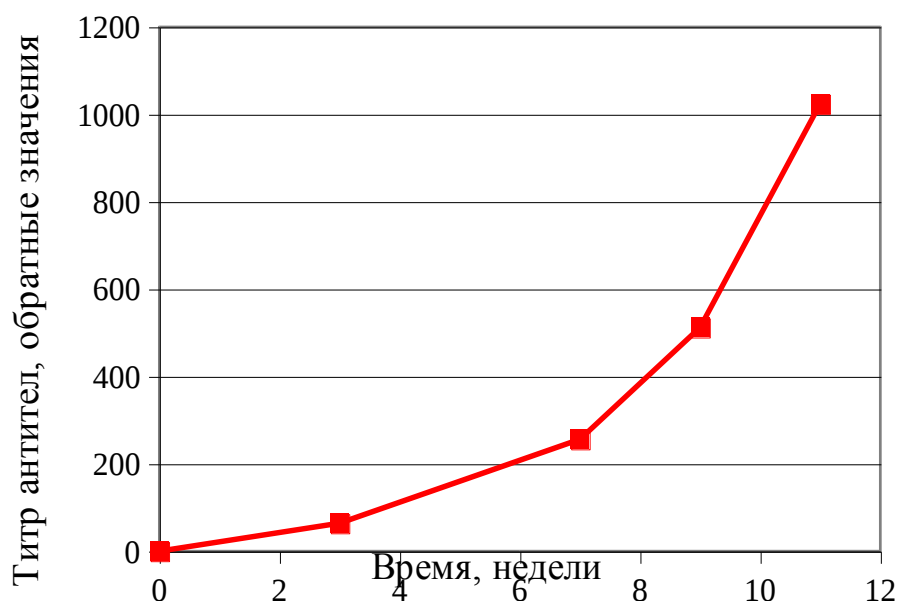
ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт
«Микроб» Роспотребнадзора, г. Саратов, Россия

ПОЛУЧЕНИЕ АНТИРАБИЧЕСКОГО ИММУНОГЛОБУЛИНА ИЗ СЫВОРОТКИ КРОВИ ЛОШАДИ С ПРИМЕНЕНИЕМ КУЛЬТУРАЛЬНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ

Бешенство – острая вирусная болезнь животных и человека, характеризующаяся признаками поражения центральной нервной системы и абсолютной летальностью. В естественных условиях передача вируса происходит при укусе больным животным. В комплексе профилактических мероприятий после контакта с подозрительным на бешенство животным наряду с вакциной используют антирабический иммуноглобулин (АИГ), полученный из иммунной сыворотки животных или человека. Для производства АИГ для иммунизации продуцентов используют антиген, полученный на основе фиксированного вируса бешенства, репродуцированного в мозговой ткани животных. В настоящее время ВОЗ рекомендует отказаться от использования органо-тканевого антигена ввиду высокой вероятности развития поствакцинальных осложнений, связанных с возможным образованием антител-нейротоксинов в ответ на введение примесей мозговой ткани [5, 14]. В качестве альтернативного варианта предложено использовать вирус бешенства, репродуцированный на клеточных культурах.

Целью настоящего исследования явилась разработка способа получения антирабического иммуноглобулина (АИГ) из сыворотки крови лошадей с использованием антигена, полученного на основе штамма фиксированного вируса бешенства «Москва 3253», репродуцированного на перевиваемой клеточной линии Vero.

Адаптированный к клеточной линии Vero штамм вируса бешенства «Москва 3253» выращивали в биореакторе BioG-M Plus («BioTron») при 37°C, pH 7,2. Для выращивания вируса использовали среду 199 с содержанием человеческого сывороточного альбумина 0,1 % и антибиотиков (пенициллин – 100 ЕД/мл; стрептомицин 0,1 мг/мл). Полученную вирусосодержащую жидкость инактивировали добавлением фенола до концентрации 0,5 % с последующим инкубированием при 37 °C, очищали от клеточного дебриса, а затем концентрировали методом тангенциальной ультрафильтрации для повышения показателей антигенной активности. Инактивированную концентрированную очищенную культуральную жидкость использовали для иммунизации лошадей с целью получения антирабической сыворотки.



Динамика изменения специфической активности лошадиной антирабической сыворотки в процессе иммунизации

Иммунизацию лошадей культуральным антигеном проводили на протяжении 11 недель с интервалом между первой и второй инъекциями 21 день, далее – с интервалом 7 дней. Первые пять инъекций осуществляли с использованием гидроксида алюминия (3 мг/мл) в качестве адъюванта. Затем использование адъюванта исключали. Введение антигена проводили внутримышечно. Объём иммунизирующей дозы был равен 5 мл с содержанием вируса бешенства 10^8 ГЭ/мл, по данным ПЦР в режиме реального времени. Взятие крови для получения АИГ осуществляли через 10 дней после последней иммунизации. Состояние лошадей в течение всего срока иммунизации было удовлетворительным, антиген при внутримышечном введении не вызывал общих и местных побочных реакций. Анализ специфической активности полученных антирабических сывороток показал положительную динамику образования антител. К 11 неделе титр антител иммунных сывороток в реакции нейтрализации соответствовал значению 1:554, в в дот-иммуноанализе – 1:1000, что явилось достаточным для завершения процесса иммунизации. Выделенный из антирабической сыворотки специфический иммуноглобулин был изучен по основным биологическим и физико-химическим параметрам. Уровень специфической активности образцов АИГ, полученных из экспериментальных образцов сыворотки крови лошади, составил 242 и 214 МЕ/мл (при титре антител соответственно 1:11987 и 1:11888). Согласно требованиям нормативной документации, специфическая активность АИГ из лошадиной сыворотки должна быть не ниже 150 МЕ/мл в реакции нейтрализации вируса бешенства в количестве от 100 до 1000 LD₅₀/0,03 мл. Экспериментальный АИГ успешно прошёл испытания на токсичность, не оказывал повреждающего действия на организм экспериментальных животных: белых мышей и морских свинок. Физико-химические показатели (содержание белка, pH, электрофорез-

тическая чистота, прозрачность, цветность) также соответствовали требованиям нормативной документации на АИГ из сыворотки крови лошади жидкий. Результаты проведённых исследований доказывают возможность использования культурального рабического антигена в производстве антирабического иммуноглобулина. Применение культурального антигена в производстве гетерологичного АИГ позволит уменьшить вероятность развития побочных реакций у пациента, а также упростить рутинную процедуру иммунизации за счёт значительного уменьшения объёма вводимой дозы и сокращения общего количества инъекций.

УДК 619:615

Е.А. Горельникова, Л.В. Карпунина

Саратовский государственный аграрный университет
имени Н.И. Вавилова, г. Саратов, Россия

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ БАКТЕРИАЛЬНОГО ЛЕКТИНА НА ПРОДУКЦИЮ ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ СТАФИЛОКОККОВОЙ ИНФЕКЦИИ У МЫШЕЙ

Лектины, являясь биологически активными соединениями, как известно в настоящее время, способны оказывать значительное влияние на метаболизм клеток макроорганизма. В данной работе представлено данных о влиянии лектина ЛП, выделенного с поверхности почвенных азотфиксирующих бактерий *Paenibacillus polymyxa* 1460, на продукцию провоспалительных цитокинов при моделировании стафилококковой инфекции.

При моделировании инфекционного процесса использовали суточную культуру *S.aureus* 100б. Культуру бактерий *S.aureus* 100б вводили белым беспородным мышам (самцы, с массой тела 18-22 г) по 0,2 мл внутрибрюшинно в дозе 5 млн кл/мл. Одной группе мышей через 1 час после заражения внутрибрюшинно вводили по 0,2 мл лектина в концентрации 0,4 мкг/мл. Другой группе животных вводили лектин за 24 ч до заражения. Через 1 час и 6 часов мышей умерщвляли транслокацией шейных позвонков, брали кровь из сердца, получали сыворотку по общепринятой методике.

Провоспалительные цитокины: ИЛ-1 α , ФНО- α и ИФ- γ определяли в сыворотке крови постановкой иммуноферментного анализа с тест-системами на основе моноклональных антител (наборы реактивов «Цитокиновый тест» АО «Иммунодиагностика» г. Санкт-Петербург и тест-системы «ИФА-БЕСТ», производства ЗАО «Вектор-БЕСТ», г. Новосибирск). Определение каждого цитокина осуществляли в соответствии с рекомендациями производителя тест-систем, результаты учитывали на Multiskan Plus version 2.01. По значениям оптической плотности стандартных образцов

строили калибровочные кривые и с учетом оптической плотности образцов определяли концентрации цитокинов.

Статистический анализ результатов проводили по стандартным методикам. Использовали параметрический t-критерий Стьюдента, достоверными считали различия при вероятности ошибки $p < 0,05$.

Введение лектина за 24 и через 1 час после инфицирования сопровождалось снижением содержания в сыворотке крови ФНО- α . В то же время сравнение результатов при разных схемах введения лектина позволило установить одинаковое количество этого цитокина через 1 час, и значительно меньшее содержание ФНО- α через 6 часов у мышей, обработанных лектином за 24 часа до заражения. У мышей, которым вводили лектин за сутки до инфицирования, содержание ФНО- α было выше через 24 часа после заражения *S.aureus* 100б.

На фоне действия лектина содержание ИЛ-1 значительно снижалось в сыворотке крови инфицированных мышей. При введении лектина за 24 часа до заражения содержание ИЛ-1 значительно уменьшалось через 1 час инфекционного процесса, затем увеличивалось через 6 часов и снижалось до уровня содержания цитокинов в крови интактных мышей через 24 часа.

При определении ИЛ-6 в сыворотке крови мышей при моделировании стафилококковой инфекции отмечено снижение его содержания на фоне действия лектина при обеих схемах введения.

Таким образом, результаты данного исследования свидетельствуют о том, что независимо от схемы введения лектина *P.polymyxa* 1460 происходит снижение содержания провоспалительных цитокинов в сыворотке крови экспериментальных животных при стафилококковой инфекции, т.е. можно производить коррекцию цитокинового статуса организма при данном инфекционном заболевании.

УДК 616.616.988.21

А.М. Гулюкин, Н.А. Хисматуллина

Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности, г. Казань, Россия

ПОЛУЧЕНИЕ АНТИВИДОВЫХ ПЕРОКСИДАЗНЫХ КОНЬЮГАТОВ

Одной из причин распространения бешенства является отсутствие массовой вакцинации диких и сельскохозяйственных животных, а также контроля эффективности вакцинопрофилактики.

Традиционный метод определения вируснейтрализующих антител – реакция нейтрализации (РН) на белых мышах или в культуре клеток трудоемки, продолжительны по времени и требуют больших материальных затрат. Иммуноферментный метод требует значительно меньше времени, чем РН на животных, что дает возможность получать результаты за не-

сколько часов, выявлять в сыворотке крови антитела, начиная с третьего дня после вакцинации. Перспективным является использование непрямого варианта иммуноферментного анализа (ИФА) для определения специфических к вирусу бешенства антител в сыворотках крови животных, вакцинированных против бешенства. Для проведения непрямого варианта ИФА требуется наличие антивидовых пероксидазных конъюгатов к каждому виду животного.

Основным источником и распространителем бешенства в дикой фауне является лисица, бешенства городского типа – собаки. В настоящее время отсутствуют коммерческие антивидовые пероксидазные конъюгаты против иммуноглобулинов лисицы и собаки.

В связи с этим, целью нашей работы явилась разработка антивидовых пероксидазных конъюгатов против иммуноглобулинов лисиц и собак и определение их активности и специфичности.

В качестве доноров антивидовых сывороток крови использовали кроликов живой массой 2,8–3,0 кг, в качестве антигенов – пул иммуноглобулинов сывороток крови собак и пул иммуноглобулинов сывороток крови лисиц. На первом этапе гипериммунизации в плантарную поверхность задних лап кролика вводили 0,2–0,3 мл полный адъювант Фрейнда (ПАФ), через 7 сут. в увеличенные подколенные лимфатические узлы – смесь 0,5 мл ПАФ и антигена. Спустя 3 недели подкожно в область спины вводили смесь ПАФ и антигена, при этом концентрацию антигена увеличивали в 2 раза. Через 30 сут. внутривенно инъецировали 0,5 мл антигена. Через сутки манипуляцию повторяли, концентрацию антигена увеличивали вдвое. Взятие крови проводили через 2 недели. Из полученных сывороток выделяли иммуноглобулин осаждением насыщенным раствором сульфата аммония по методике Kaplan M.M., Koprowski H. /1975/ с нашими модификациями, определяли концентрацию белка по биуретовой пробе, выделяли глобулины класса G /Ig G/ методом хроматографии на колонке с ДЭАЭ-целлюлозой по методике Федорова Ю.М. (1981), который конъюгировали с пероксидазой из корней хрена.

Концентрацию белка IgG определяли спектрофотометрически при длине волны 280 нм по формуле /Schreier M. et al., 1980/:

$$K = (A_{280} \times \text{разведение пробы}) / 1,4, \text{ где}$$

K – концентрация иммуноглобулина,

A_{280} – оптическая плотность раствора при длине волны 280 нм, измеренная на спектрофотометре.

Концентрация белка, высчитанная по этой формуле, составила 35 мг/мл. Для конъюгирования с ферментом брали пробы Ig G с концентрацией белка 5 мг/мл. В качестве фермента использовали пероксидазу из корней хрена с RZ=3, удельной активностью 600–900 ед/мг производства «Sigma». Конъюгацию проводили по методу описанному Р.К. Nakane et al. (1974) в модификации Дзантиева (1974). После диализа раствор наносили на заранее приготовленную колонку (1,5 см x 90 см) с сефадексом Г – 100, уравновешенную 0,01 М ФБР, рН 7,4. Элюировали тем же буфером при + 4 °С,

собирали фракции по 3 мл. Каждую фракцию фотометрировали на спектрофотометре СФ-16 ЛОМО при длине волны 280 нм и 403 нм. Отношение экстинкций 403 нм на 280 нм (RZ) должно быть не менее 0,5 (Р.К. Nakane et al., 1974). Полученные антивидовые пероксидазные конъюгаты были активны в разведениях 1:100 – 1:400. Во фракции с RZ равным или большим 0,5 (пиковые фракции), добавляли бычий сывороточный альбумин (БСА) в количестве 10 мг/мл. Готовый конъюгат разливали по 0,1 мл и хранили в замороженном виде при – 20 °С или при – 80 °С. Кроме того, часть конъюгатов лиофилизировали и хранили в высушенном виде при +4 °С.

Активность и специфичность антивидовых пероксидазных конъюгатов определяли шахматным титрованием с использованием гомологичных и гетерологичных сывороток. В качестве гомологичных сывороток использовали пул антирабических сывороток крови лисиц и пул антирабических сывороток крови собак для соответствующих конъюгатов. При этом гетерологичные сыворотки иммобилизовывали непосредственно на полистироловый планшет, тогда как отрицательную и положительную контрольные сыворотки наслаивали на специфический антиген вируса бешенства.

Заключение. В результате проведенных исследований установлена высокая специфичность антивидовых пероксидазных конъюгатов – антител кроликов, против Ig лисиц и собак, разработанных в условиях лаборатории иммунологии ФГБУ «ФЦТРБ-ВНИВИ», так как они реагируют с антителами соответствующих контрольных положительных сывороток (титр антител в ИФА 1:1280 и 1:640) и не реагируют с антителами гетерологичных сывороток.

УДК 615.371/.372:663.15:66.081.63

*С.А. Еремин, Ю.А. Алешина, Л.Ф. Ливанова, А.В. Комиссаров,
Н.П. Миронова, А.К. Никифоров*

ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт
«Микроб» Роспотребнадзора, г. Саратов, Россия

ВЫБОР ОПТИМАЛЬНОЙ ТЕМПЕРАТУРЫ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ АТОКСИГЕННЫХ ШТАММОВ ХОЛЕРНОГО ВИБРИОНА

В РосНИПЧИ «Микроб» сконструированы атоксигенные штаммы холерного вибриона *V. cholerae* eltor КМ 263 Инаба [2], *V. cholerae* eltor КМ 262 Огава [3], являющиеся продуцентами О1-антигенов. Для продукции О139 антигена возможно использование нетоксигенного штамма *V. cholerae* М 377 О139. Эти штаммы холерного вибриона перспективны для создания отечественной современной химической вакцины против холеры.

Одним из важнейших процессов при производстве вакцинных медицинских иммунобиологических препаратов является культивирование микроорганизмов, которое определяет эффективность микробиологического

производства, качество продуктов микробного синтеза и т.д. При разработке технологий производства вакцинных препаратов существенную роль играет обоснование оптимальных технологических режимов проведения процесса культивирования. Оптимальные условия (температура, pH среды, аэрация и т.д.) синтеза антигенов холерными вибрионами индивидуальны для каждого штамма-продуцента [1, 4].

Целью данной работы являлось выбор оптимальной температуры культивирования атоксигенных штаммов холерного вибриона. Для реализации поставленной цели были проведены исследования по ее влиянию на рост биомассы и продукцию О-антигена. Были исследованы три температурных режима проведения процесса: (30 ± 1) , (37 ± 1) и (42 ± 1) °C. Выращивание проводили в стационарных условиях в пробирках вместимостью 10 мл. Объем питательной среды, в качестве которой использовался бульон LB (pH 7,4), составлял 3 мл. Посевная доза была принята равной 10^8 м.к./мл. Культивирование осуществляли в течение 18 ч.

Полученные данные представлены в таблице и свидетельствуют о том, что накопление биомассы при температурах (30 ± 1) и (37 ± 1) °C существенно не отличается, при (42 ± 1) °C наблюдается снижение концентрации холерных вибрионов. Максимальная продукция О-антигенов наблюдается при культивировании холерных вибрионов с температурой, равной (37 ± 1) °C.

Данные по влиянию различных температур процесса культивирования атоксигенных штаммов холерного вибриона на рост биомассы и накопление О-антигенов

Температура проведения процесса, °C	Содержание О-антигена в ДИА, обратный титр			Концентрация холерных вибрионов, млрд м.к. /мл		
	<i>V. cholerae</i> КМ 263	<i>V. cholerae</i> КМ 262	<i>V. cholerae</i> М377	<i>V. cholerae</i> КМ 263	<i>V. cholerae</i> КМ 262	<i>V. cholerae</i> М377
(30 ± 1)	26,0	11,0	0,2	3,5	3,5	10,0
(37 ± 1)	50,0	16,0	0,4	3,7	3,6	10,2
(42 ± 1)	20,0	3,8	0,18	2,0	2,2	9,0

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Адамов А.К. Наумшина М.С. Холерные вибрионы. – Саратов: Изд-во Саратовск. ун-та. – 1984. – 328 с.
2. Ливанова Л.Ф., Стрельникова-Ааб Е.Н., Заднова С.П., Смирнова Н.И. Авирулентный штамм бактерий *Vibrio cholerae* КМ 263 биовара эльтор серовара Инаба – продуцент протективного О1 антигена. Патент № 2425867 РФ, МПК C12N 1/20 C12R 1/63A61K 39/106; 10.08.2011.
3. Стрельникова-Ааб Е.Н., Ливанова Л.Ф., Горяев А.А., Заднова С.П., Смирнова Н.И. Авирулентный штамм бактерий *Vibrio cholerae* КМ 262 биовара эльтор серовара Огава – продуцент протективного О1 антигена. Патент № 2425868 РФ, МПК C12N 1/20 C12R 1/63 A61K 39/106; 10.08.2011.
4. Evans D.J., Richardson S.H. In vitro production of cholera toxin and the vascular permeability factor by *Vibrio cholerae* // J.Bacteriol. – 1968. – Vol. 96., № 1. – P. 126–130.

И.Ю. Еремина

Красноярский государственный аграрный университет, г. Красноярск, Россия

ПРИМЕНЕНИЕ ХЕМИЛЮМИНЕСЦЕНТНОГО МЕТОДА В СЕЛЕКЦИИ МОЛОЧНОГО СКОТА

Несомненно, что современная селекция животных уже не может обходиться без биотехнологических приемов. На сегодняшний день имеется в наличии широкий спектр биотехнологий, которые уже используются в трех основных областях животноводства:

- воспроизводство, генетика и селекция животных;
- производство и кормление животных;
- охрана здоровья животных.

Учитывая новые открывающиеся возможности, следует признать, что существует объективная необходимость совершенствования системы крупномасштабной селекции, применяя все более и более чувствительные методы. Принципиально важно получить эту информацию задолго до того, как результат внешних воздействий на организмы проявится в видимых признаках, таких, как изменение формы и задержка роста клеток, уменьшение численности клеточной популяции и общей биомассы. Любое конкретное проявление гомеостаза, являясь одним из элементов фенотипа, находится под генетическим контролем. Поэтому сохранение гомеостаза на уровне организма требует в качестве одного из обязательных условий поддержания стабильности структуры и функционирования генотипа. Мониторинг функциональной активности иммунокомпетентных клеток (ФА ИКК) является одним из перспективных направлений в данной области исследования. На базе, которого возможно своевременно прогнозировать ущерб от ошибок при оценке генетической ценности животных, что способствует правильной интерпретации направленности и эффективности селекционного процесса.

Системный подход, объединяющий индикаторы состояния сложных систем (показатели ХЛГ) с традиционно используемыми индексами, обеспечивает создание научно обоснованных рекомендаций по сохранению, использованию, управлению и восстановлению генофонда сельскохозяйственных животных. Опираясь на положительный опыт применения хемилюминесцентного анализа в изучении закономерностей формирования механизмов иммунологического статуса при развитии патологического процесса (Пухова Я.И. и др., 1995); оценке изменений адаптационного потенциала людей при различных функциональных нагрузках (Лесовская М.И., 2003) подобные исследования проводятся и на сельскохозяйственных животных. Исследовательский коллектив изучает возможности применения ХЛГ анализа в животноводстве в качестве одного из дополнительных индикаторов

при скрининге состояния гомеостаза в условиях адаптивной и неадаптивной интенсификации в молочном скотоводстве.

Оценку функциональной активности клеток крови, при антигенной стимуляции *invitro* проводили по кинетике генерации АФК, регистрируемой микрометодом люминолуценной хемилюминесценции с использованием аппаратурно-программного комплекса «Хемилюминометр CL-3604» – ПЭВМ (СКТБ «Наука»). Кинетика генерации АФК в системе клеток цельной крови быков фиксировалась по параметрам хемилюминесцентной кривой: амплитуде максимальной активности хемилюминесцентной реакции (I_{max} – имп./с), времени достижения максимума (T_{max} – мин.) и площадь под кривой хемилюминесценции (S – имп. за 180 мин.), определяющей общее количество АФК, генерируемых клетками за время записи хемилюминесцентной кривой.

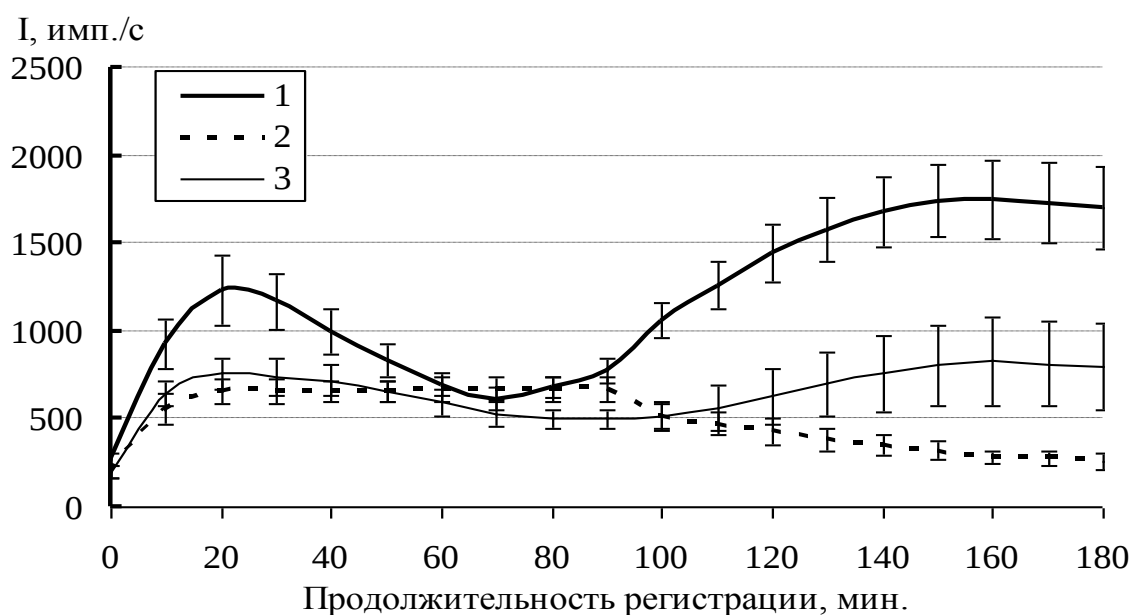


Рис. 1. Кинетика генерации АФК антигенами активированными *invitro* клетками в цельной крови быков-производителей (n=20) при разведении раствором Хенкса в 2 (1), 6 (2) и 11 (3) раз.

Многолетними исследованиями показано, что для животных разного экотипа, возраста и в различные сезонные промежутки характерен особый вид кинетики продукции АФК. Это выражается в изменении амплитуды первого и второго максимума, а также их соотношения, общего объема (S) продуцируемых АФК. Исследование функциональной активности антигенами активированных клеток выявило характерную для этого вида животных динамику генерации АФК при фагоцитозе, которую можно использовать как среднестатистическую «норму». Сравнение параметров индивидуальных хемилюминесцентных кривых с значением параметра S среднестатистической кинетики, полученной при исследовании 832 образцов крови быков, выявило, что 32 % животных относится к нормопродуктивному типу активности клеток в реакции на антиген, 48 % животных – гипопродуктивны, для 20 % характерна гиперпродукция АФК.

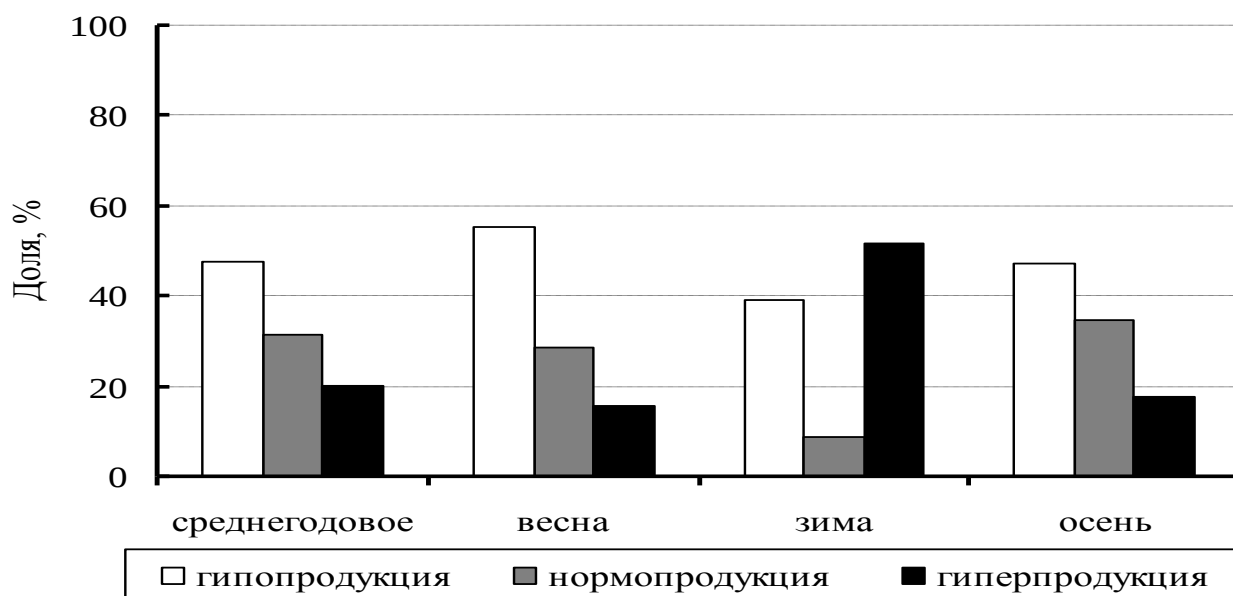


Рис. 2. Распределение обследованных быков по типу АФК-продуктивности антигенактивированных *in vitro* клеток периферической крови в различные сезонные периоды

Таким образом, особенности лейкоцитарного состава периферической крови крупного рогатого скота (преобладание лимфоцитарных клеток) отразились в особенности хемилюминесцентной кривой по ее виду и амплитуде максимумов. Анализ межгодовой сезонной динамики показателей хемилюминесценции выявил наличие своеобразной сезонной динамики активности ФА ИКК, однако указанные закономерности подвержены влиянию дополнительных природно-климатических, породных и иных факторов, что и предстоит в дальнейшем исследовать. Корреляционный анализ связи значений среднего возраста с усредненным значением для выборок объемом антигенактивированной продукции АФК в весенний и осенний периоды определил достоверную прямо пропорциональную зависимость ($R_{\text{весна}}=0,75$ и $R_{\text{осень}}=0,78$ при $R_{\text{табл}}=0,6$).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Владимиров Ю.А.* Активированная хемилюминесценция и биолуминесценция как инструмент в медико-биологических исследованиях // Соросовский образовательный журнал. – 2001. – № 1. – С. 16–23.
2. *Макарская Г.В., Лопатин В.Н., Тарских С.В.* Хемилюминесцентный анализ функциональной активности фагоцитирующих клеток крови рыб // Доклады АН. – 2003. – Т. 390, № 3. – С. 420–422.

И.Ю. Еремина, А.А. Терехина

Красноярский государственный аграрный университет, г. Красноярск, Россия

ВОЗРАСТНАЯ ДИНАМИКА ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ФАГОЦИТИРУЮЩИХ КЛЕТОК КРОВИ СОБАК ПОРОДЫ НЕМЕЦКАЯ ОВЧАРКА

Одной из задач сельскохозяйственной биотехнологии является содействие созданию пород, линий и отдельных групп животных, устойчивых к воздействию неблагоприятных факторов, имеющих высокий потенциал способных его реализовать в онтогенезе и воспроизвести у потомков. Контроль и анализ состояния животных в разные периоды онтогенеза позволяет получать более объективную информацию для своевременной коррекции в процессе выращивания и селекции. Роль собак в современном мире трудно переоценить. Они выполняют защитные функции (охрана территории, имущества, человека). Обладают уникальным чутьем, которое используется для поиска наркотиков, взрывчатки, оружия, для спасения людей в труднодоступных местах. Даже краткосрочное общение с собакой способствует улучшению психологического и психосоциального состояния человека. Однако не продуманная селекционная работа (или ее полное отсутствие), подверженность воздействию неблагоприятных факторов среды, приводит к рождению собак, с пониженной резистентностью к заболеваниям, неуправляемых и с различными отклонениями в поведении. Даже приобретая животное в специальном клубе невозможно быть уверенным, что щенок, возможно приобретённый за большие деньги, не погибнет в первые месяцы жизни от случайной инфекции или даже прививки. Возможность получения информации еще до того как появятся изменения в фенотипе, как результат внешних воздействий на организм принципиально важно. Любое конкретное изменение и проявление динамического постоянства состава и свойств внутренней среды организма находится под контролем генотипа. Поэтому поддержание стабильности функционирования генотипа и его структуры требует сохранения гомеостаза на уровне организма. Анализ АФК-продукционной активности клеток позволяет оценить состояние периферической резистентности. Мониторинг функциональной активности иммунокомпетентных клеток (ФА ИКК) является одним из перспективных направлений в данной области исследования, на базе которого возможно своевременно прогнозировать ущерб от ошибок при оценке генетической ценности животных, что способствует повышению эффективности селекционного процесса и сведет к минимуму побочные эффекты.

Исследования проводились с целью выявить критерии ранней оценки иммунологической устойчивости собак породы немецкая овчарка. На данном этапе анализировали сезонную и возрастную динамику функциональной активности фагоцитирующих клеток крови собак. Оценку функцио-

нальной активности клеток крови, при антигенной стимуляции *in vitro* проводили по кинетике генерации АФК, регистрируемой микрометодом люминолусиленной хемилюминесценции с использованием аппаратно-программного комплекса «Хемилюминометр CL-3604» – ПЭВМ (СКТБ «Наука»). В качестве объекта выступили служебные собаки породы немецкая овчарка. Возрастную динамику оценивали в разновозрастных группах. Сравнительный анализ кинетики генерации люминол-зависимых АФК у собак выявил динамику продукции АФК (таблица). Наиболее наглядно возрастные тенденции проявились в осенний период.. Время достижения максимума свечения (Tmax) по имеющимся данным у животных в возрасте с четырех до двадцати четырех месяцев увеличивается с 35 минуты до 38 минуты, в старшем возрасте (старше 2 лет) следует резкое увеличение времени достижения максимума (Tmax) до 63.33.

Выявлено, что, в весенний период, увеличивается время достижения максимума с возрастом. Наблюдаются незначительные колебания времени достижения Tmax между группами в осенний период на 370,67 имп/сек. при спонтанной и более значительные на 1626,67 имп/сек. при активированной ФА ИКК. Количество импульсов, соответствующее времени достижения максимума Tmax в марте с увеличением возраста резко снижается: на 39 % при активированной ФА ИКК, и на 41 % при спонтанной ФА ИКК. В осенний период, в группах наблюдаются незначительные колебания величины Squar (площади под кривой хемилюминесценции).

Оценка функциональной активности иммунокомпетентных клеток служебных собак

Группа	Информативные параметры хемилюминесценции					
	Tmax, мин. актив.	Tmax, мин. спонт.	Tmax, имп./сек. актив.	Tmax, имп./сек. спонт.	Squar, имп/90 минут, * 10 ⁶ актив.	Squar, имп/90 минут, * 10 ⁶ спонт.
ноябрь 2009						
4–6 мес.	13,00±6,50	35,00±26,34	5840,67±1007,63	2614,00±179,91	16,50±3,10	10,30±0,50
13–18 мес.	13,50±2,91	37,50±18,2	4676,25±1052,91	2350,00±369,90	15,50±2,40	10,20±2,00
19–24 мес.	12,60±2,87	38,20±13,97	4214,00±218,81	2613,20±246,59	13,50±2,00	10,42±0,70
25 и более	17,33±6,12	64,33±24,14	4731,00±873,97	2720,67±903,90	16,50±3,10	11,50±2,60
март 2010						
19–24 мес.	10,00±5,1	5,00±0,00	6341,67±97,60	4164,67±1128,69	12,40±2,89	6,10±1,20
25 и более	19,60±3,45	19,80±4,98	3852,60±1123,16	2437,00±664,67	10,60±2,60	7,10±2,50

Таким образом, установлена динамика, выражающаяся в тенденции увеличения продукции АФК клетками с возрастом. В отличие от других видов животных у собак наглядные показатели наблюдаются и по спонтанной хемилюминесценции.

В.П. Ермолин

Саратовское отделение Государственного научно-исследовательского института озерного и речного рыбного хозяйства, г. Саратов, Россия

РАСЧЕТ УЩЕРБА ВОДНЫМ БИОЛОГИЧЕСКИМ РЕСУРСАМ ПРИ ВЫПОЛНЕНИИ ВЗРЫВНЫХ РАБОТ НА ВОДОЕМАХ С ЦЕЛЮ ЛИКВИДАЦИИ ЛЕДОВЫХ ЗАТОРОВ

Ранее (Ермолин, 2012), был рассмотрен методический подход к определению безопасного расстояния при производстве взрывных работ. В данной работе, которую следует рассматривать продолжением указанной выше, приводится дальнейший ход расчета.

В качестве примера приведем расчет ущерба от проведения взрывных работ при ликвидации ледовых заторов весной 2011 г. на реке Чапаевка в районах сел Подъем-Михайловка и Сухая Вязовка Самарской области. Для ликвидации ледяных заторов использовался метод взрыва зарядов с низовой стороны затора. Заряды устанавливались на глубине 1–2 метра от нижней поверхности затора (масса заряда – 0,876 кг тротила). Затоп, образовавшийся в районе с. Подъем-Михайловка был ликвидирован взрывом одного заряда, в районе с. Сухая Вязовка последовательными взрывами 7-и зарядов, установленными вдоль оси реки на расстоянии 20 м между зарядами.

При расчете зоны поражения имеет значение ширина водотока. Ширина р. Чапаевка в районе с. Подъем-Михайловка составляет 150–170 м, в районе с. Сухая Вязовка – 40 м, при этом зона поражения для рыб составила у с. Подъем-Михайловка 18617 м² (1.86 га), в районе с. Сухая Вязовка – 10960 м² (1.1 га). Для кормовых организмов эти зоны поражения будут следующие: 64 м² в объеме водной массы 128 м³ и 445 м² в объеме 1113 м³ соответственно

Пространственно, рассматриваемые пункты расположены на одном водотоке, достаточно близко друг от друга (около 35 км) и характеризуются сходными показателями ихтиофауны и кормовой базы, что позволяет для расчета ущерба использовать усредненные данные и суммарную зону поражения: суммарная площадь поражения для рыб – 1,96 га; для кормовых организмов – для донных беспозвоночных 509 м², мелких промысловых рыб (пищи хищных рыб) – 29557 м², объем (для пелагического планктона) – 1241 м³.

Расчет ущерба от гибели рыб проводился по формуле:

$$Y_p = n_0 \cdot (K_1/100) \cdot S \cdot p, \quad (1)$$

где Y_p – ущерб от гибели рыб, кг;

n_0 численность рыб в период проведения взрывов, экз./га;

K_1 – коэффициент промыслового возврата, %;

S – площадь поражения, га;

p – средний вес рыбы в улове, кг.

В работе использованы коэффициенты промыслового возврата молоди рыб, опубликованные ранее (Ермолин, Марченко, 2012).

Интенсивность развития отдельных групп кормовых организмов существенно отлична. Достаточно высокие биомассы наблюдаются у донных беспозвоночных: организмов мягкого бентоса, менее – фитопланктона и практически отсутствие зоопланктона, последний был представлен единичными особями веслоногих ракообразных и коловраток, что сделало невозможным использовать его для расчета ущерба.

Следует отметить, что в нашем распоряжении имелись данные по численности молоди рыб на основании исследований, проведенных в сентябре-октябре, в то время как ликвидация заторов проводилась в апреле. По среднемноголетним данным, убыль молоди в естественных условиях за осеннее-зимний период (ноябрь–апрель колеблется от 20 до 40 % (Небольсина, 1980; Ермолин, 1984), или в среднем 30 %. Отсюда, коэффициент выживания составит 70 %. В соответствии с выживаемостью скорректирована возможная численность молоди рыб в апреле.

Для оценки ущерба от гибели кормовой базы использована формула (5) пункта 3.7.1.1 «Временной методики...» (1989):

$$Y_k = n_0 \cdot W_0 \cdot (P/B) \cdot (1/K_2) \cdot (K_3/100) \cdot 10^{-3}, \quad (2)$$

где Y_k – ущерб от потери кормовых организмов, кг;

n_0 – средняя концентрация кормовых организмов г/м³;

W_0 – площадь кормовых угодий (м²) или объем воды (м³), подвергшихся отрицательному воздействию (площадь или объем поражения);

P/B – коэффициент перевода биомассы кормовых организмов в их продукцию;

K_2 – кормовой коэффициент для перевода продукции кормовых организмов в рыбопродукцию;

K_3 – показатель предельно возможного использования кормовой базы, %;

10^{-3} – коэффициент пересчета единиц массы (из граммов в тонны).

Конечный результат расчета ущерба от гибели рыб отражен в таблице 1, от гибели кормовых организмов – в таблице 2.

Итоговая оценка ущерба (Y) принималась по максимальной из рассчитанных величин потерь: от гибели рыб или гибели кормовых организмов (пункт 3.7.1.1 «Временной методики ...» (1989). Расчетные потери от гибели ихтиофауны (191.5 кг) существенно превышают потери кормовых организмов (5.5 кг). В связи с этим, в качестве ущерба принимаются потери от гибели ихтиофауны (191.5 кг).

Таким образом, непредотвратимый ущерб, нанесенный водным биологическим ресурсам реки Чапаевка Самарской области в результате производства взрывных работ по защите инженерных сооружений перед подвижной льда, в период ледохода при ликвидации ледовых заторов в 2011 г. составил 191,5 кг рыбы. В общей массе ущерба доминируют щука, лещ, плотва, окунь, карась, на долю которых в совокупности приходится 85 %.

Таблица 1

**Расчетные потери рыбного хозяйства от гибели молоди рыб от взрывов
при ликвидации заторов на р. Чапаевка в районе в совокупности
у сел Подъем-Михайловка и Сухая Вязовка**

Виды рыб	Возможный объем промыслового возврата от погибшей молоди рыб (n_0), экз. на площади (S) 2.96 га ($n_0 \cdot (K_1/100) \cdot S$)	Средняя масса особи промыслового размера (P), кг	Ущерб (Y_p), кг
Лещ	30,2	1,0	30,2
Щука	49,7	1,5	74,5
Язь	22,7	0,3	6,8
Плотва	159,2	0,18	28,7
Карась	46,2	0,3	13,9
Окунь	76,4	0,2	15,3
Красноперка	16,3	0,18	2,9
Густера	8,6	0,18	1,5
Прочие	221,7	0,08	17,7
Всего	631		191,5

Таблица 2

**Расчет ущерба, наносимого ВБР на р. Чапаевка в районе сел
Подъем-Михайловка и Сухая Вязовка от потери кормовой базы**

Группы организмов	Биомасса, $г/м^3$, $г/м^2$ (n_0)	P/B	K_2	K_3 , %	Рыбная продукция, $г/м^2$, $г/м^3$	Объем, площадь поражения (W_0)		Срок восстановления, годы	Ущерб, кг (Y_k)
						$м^3$	$м^2$		
Фитопланктон	3.4	80	50	10	0.54	1241		1	0.7
Зообентос:									
мягкий	5.65	5	8	60	2.1		509	2	2.1
МНВР	0.3	1.5	4	80	0.09		29557		2.7
Всего									5.5

Условные обозначения: МНВР – Мелкие непромысловые виды рыб – пища хищных рыб

Рыбы подвижные организмы. Уже весной данные акватории, вследствие активного миграционного движения в нерестовый период, вновь заселяются рыбами. Поэтому ущерб от взрывов при ликвидации заторов следует считать временным.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Временная методика оценки ущерба, наносимого рыбным запасам в результате строительства, реконструкции и расширения предприятий, сооружений и других объектов и проведение различных видов работ на рыбохозяйственных водоемах. Рыбоохрана. Сборник нормативных актов. – М., 1996. С. 409–423.
2. Методика исчисления размера вреда, причиненного водным биологическим ресурсам (утверждена Приказом Росрыболовства № 1166 от 25.11.2011 г.). – М.: 2011.
3. *Ермолин В.П.* Экология питания рыб и пути повышения рыбопродуктивности Саратовского водохранилища: Дис. ... канд. биол. наук. – Саратов, 1984. – 342 с.
4. *Ермолин В.П., Марченко Е.Н.* О коэффициенте промвозврата. Аграрная наука в 21 веке: проблемы и перспективы: Сборник статей Всероссийской научно-практической конференции. Ч. 1 / Под ред. И.Л. Воротникова. – Саратов: «КУБиК», 2012. – С 36–40.
5. Ермолин В.П. Определение безопасного расстояния для водных биологических ресурсов при выполнении взрывных работ на водоемах с целью ликвидации ледовых заторов. Бассейн Волги в XXI веке: структура и функционирование экосистем водохранилищ // Сборник материалов докладов участников Всероссийской конференции. Ин-т биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН, Борок, 22–26 октября 2012 г. – Ижевск: Издатель Пермьяков С.А., 2012. – С. 69–72.
6. *Небольсина Т.К.* Экосистема Волгоградского водохранилища и пути создания рационального рыбного хозяйства – Дисс. доктора биол. наук, Саратов. 1980. – 367 с.

УДК 504.73

В.П. Ермолин, И.А. Беянин

Саратовское отделение Государственного научно-исследовательского института озерного и речного рыбного хозяйства, г. Саратов, Россия

ТЕХНОЛОГИЯ УСТАНОВЛЕНИЯ МАССЫ СТЕРЛЯДИ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ЕЁ ДЛИНЫ

В настоящее время описана математическая связь длины и массы многих промысловых видов рыб Волгоградского и Саратовского водохранилищ (лещ, плотва, густера, синец, судак, берш, окунь и др.). Математический инструментарий представляет степенную модель.

Однако не для всех видов рыб указанная модель подходит. В качестве примера рассмотрим связь длины и массы у стерляди по материалам таблицы с использованием экспоненциальной, степенной, полиномиальной (полиномов второй и третьей степеней) моделей.

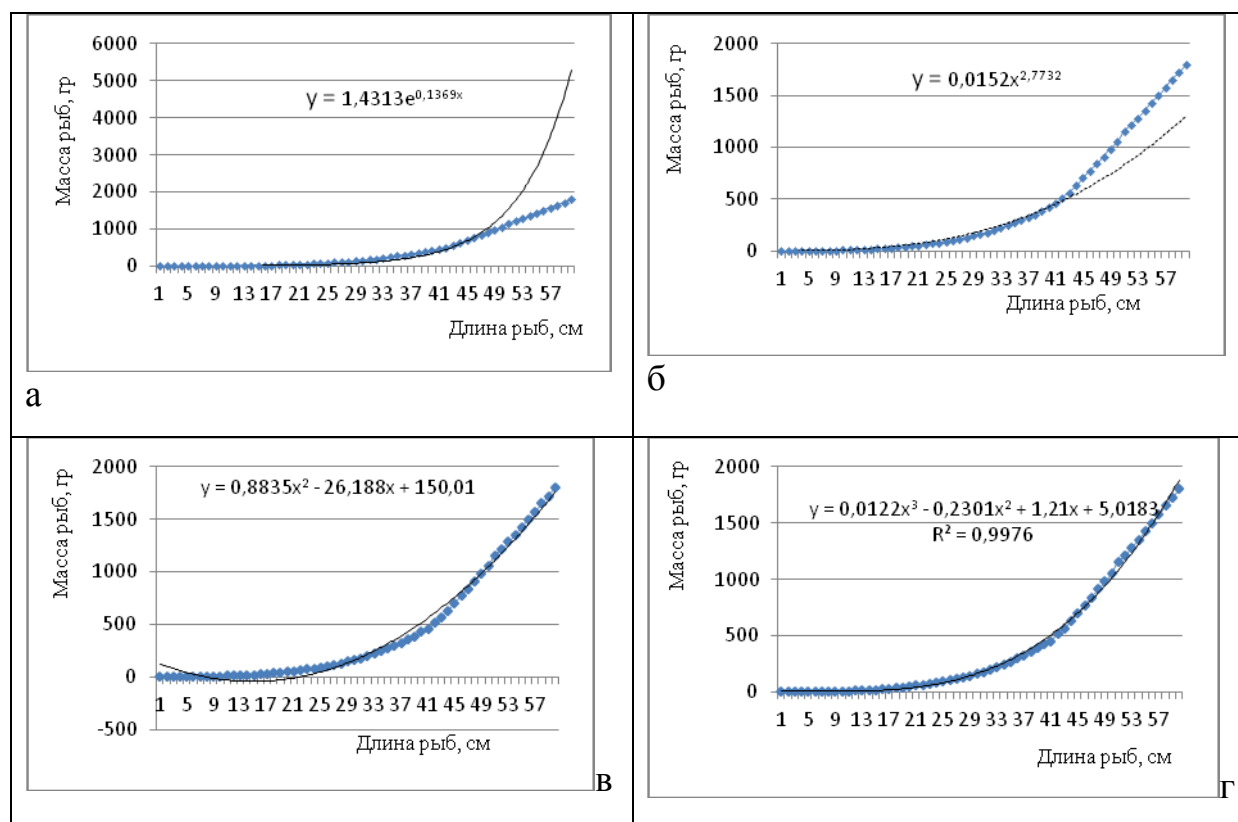
Результаты применения разных моделей отражены на рисунке, из него видно, что экспоненциальная (табл. а) и степенная (табл. б) модели не могут быть использованы для описания зависимости массы стерляди от её длины. Очень высокое совпадение наблюдается при применении полинома второй степени (табл. в). Но, в плане технологии, полином третьей степени (табл. г) дает совпадение близкое к 100% ($R^2 = 0.9976$).

Масса стерляди в зависимости от длины рыб

X, см	У, гр	X, см	У, гр	X, см	У, гр	X, см	У, гр
1	0.1	16	24	31	178	46	772
2	0.18	17	28	32	200	47	840
3	0.3	18	35	33	220	48	912
4	0.5	19	40	34	248	49	984
5	0.9	20	48	35	272	50	1050
6	1.5	21	56	36	296	51	1160
7	2.8	22	64	37	324	52	1212
8	4.2	23	72	38	354	53	1284
9	6.3	24	80	39	388	54	1348
10	8	25	90	40	426	55	1428
11	10	26	102	41	454	56	1500
12	12	27	114	42	512	57	1576
13	14	28	128	43	564	58	1652
14	16	29	144	44	630	59	1720
15	20	30	160	45	704	60	1800

Примечание: X – длина (до сочленения с телом средних лучей хвостового плавника), У – масса стерляди (рассчитаны по материалам В.И. Шилова (1971)).

Таким образом, полином третьей степени является предпочтительной моделью для установления связи массы тела стерляди от её длины.



**Математическое выражение связи массы стерляди в зависимости от её длины
(тонкой линией обозначена основная тенденция,
описываемая математической моделью)**

Шилов В.И. О расах, росте, созревании и повторности нереста стерляди Волгоградского водохранилища. – Тр. Саратов. отд. «ГосНИОРХ», 1971. – Т. XI. – С. 112–153.

УДК 504.73

В.П. Ермолин, С.М. Бобров, В.Б. Руденко-Травин

Саратовское отделение Государственного научно-исследовательского института озерного и речного рыбного хозяйства, г. Саратов, Россия

СТЕРЛЯДЬ – ОБЪЕКТ ВСЕЛЕНИЯ В ВОДОЕМЫ НИЖНЕЙ ВОЛГИ

Стерлядь внесена в региональные красные книги Саратовской и Самарской областей. Причина тому – сокращение численности вида, вследствие ухудшения условий воспроизводства до критических значений. По остальным показателям (жилое пространство, кислородный, гидрохимический режим, кормовая база и др.) условия в водоеме соответствуют требуемым. Иными словами, имеются условия для успешного пастбищного выращивания этого ценного вида и последующего промыслового использования. В связи с чем, было дано соответствующее биологическое обоснование и определена приемная емкость указанных водоемов по стерляди.

Так, согласно приемной емкости, в Волгоградское водохранилище для формирования промыслового стада и достижение промыслового вылова в 100 т необходимо выпускать по 2 млн экз. её подрощенной молоди ежегодно, в Саратовское водохранилище – 1–1.2 млн экз. (Фонды Саратовского отд. ФГБНУ «ГосНИОРХ»). Эту меру следует рассматривать как восстановительное мероприятие, посредством искусственного воспроизводства водных биоресурсов. При этом создаются условия, когда «краснокнижный» вид при достижении промысловой численности переводится в разряд промысловых биоресурсов.

Вселение стерляди входит в план рыбоводно-мелиоративных мероприятий определяемых, ежегодно утверждаемых Росрыболовством. В настоящее время зарыбление водоемов стерлядью производится в счет ущерба от размера вреда, причиненного водным биологическим ресурсам.

Согласно «Методике исчисления размера вреда, причиненного водным биологическим ресурсам» (2011), при планировании проведения восстановительных мероприятий посредством искусственного воспроизводства водных биоресурсов расчет количества выпускаемых в водный объект рыбохозяйственного значения личинок или молоди водных биоресурсов определяется согласно пункту 59 упомянутой методики. При этом средняя масса одной воспроизводимой особи водных биоресурсов в промысловом возврате, (далее СМВОП) (определяется согласно Временным биотехническим показателям по разведению молоди (личинок) в учреждениях и на предприятиях, подведомственных Федеральному агентству по рыболовст-

ву, занимающихся искусственным воспроизводством водных биологических ресурсов в водных объектах рыбохозяйственного значения, утвержденным Росрыболовством, или по литературным данным с указанием источника опубликования).

Согласно Временным биотехническим показателям по разведению молоди (личинок) в учреждениях и на предприятиях, подведомственных Федеральному агентству по рыболовству, занимающихся искусственным воспроизводством водных биологических ресурсов в водных объектах рыбохозяйственного значения, утвержденных приказом Росрыболовства от 19.04.2010 г. № 439 СМВОП колеблется по регионам на порядок (табл. 1).

Таблица 1

СМВОП по регионам, кг

Регион	СМВОП, кг		Средняя, кг*
	Самки	Самцы	
Ярославская область	1,0	1,0	1,0
Волгоградская область	1,3	0,8	1,05
Астраханская область	1,5	0,8	1,15
Красноярский край	2,5	1,5	2,0
Республика Хакасия	2,5	1,5	2,0
Московская область	0,9	0,8	0,85
Московская область, в искусственных условиях	1,5	0,9	1,2
Тюменская область	0,35	0,2	0,27
Саратовская область	3,5	2,0	2,75

Примечание. * – средняя при соотношении полов 1:1 (при получении половых продуктов).

В тоже время, в практике промысла водных биоресурсов существует один чрезвычайно важный показатель – промысловая мера. Мера, с которой разрешено ловить рыбу. Однако, по отношению к стерляди она тоже непостоянна. Так, согласно «Правил рыболовства в рыбохозяйственных водоемах Волжско-Камского бассейна» (Приказ Минрыбхоза СССР № 401 от 18 октября 1968 г.), промысловая мера на стерлядь в Куйбышевском водохранилище равна 36 см, Волгоградском – 38 см. Изменение промысловой меры стерляди с 38 на 42 см произошло после выхода приказа № 44 от 28 января 1987 г. «О временном режиме рыболовства в водохранилищах Волжско-Камского каскада на период 1987–1990 гг.», который в 2000 г. совместным приказом Госкомрыболовства и Госкомэкологии России № 153/381 от 18.05.2000 г. переводится из временного в постоянный. Однако, Указанием № 27-У от 16 августа 2002 г. по определению Кассационной коллегии Верховного Суда Российской Федерации они были признаны недействительными. Этим же Указанием предписывалось руководствоваться «Правилами рыболовства в водоемах Волжско-Камского бассейна», утвержденными приказом Минрыбхоза СССР № 401 от 18 октября 1968 г.

Возврат к Правилам рыболовства 1968 г сопровождался к возврату промысловой меры на стерлядь в Куйбышевском водохранилище – 36 см, Волгоградском и Саратовском – 38 см.

Очередное изменение Правил рыболовства произошло в 2009 гг., когда были приняты «Правила рыболовства Волжско-Каспийского рыбохозяйственного бассейна», утвержденные приказом Росрыболовства № 1 от 13 января 2009 г., согласно которых промысловая мера на стерлядь устанавливалась в 42 см. Однако, к времени реализации приказа Росрыболовства № 1 от 13 января 2009 г., Стерлядь Волгоградского и Саратовского водохранилищ была включена в региональные Красные книги Саратовской (2006) и Самарской областей (2009). То есть, при планировании проведения восстановительных мероприятий посредством искусственного воспроизводства водных биоресурсов в Саратовском и Волгоградском водохранилище СМВОП стерляди может принята в соответствии с существовавшей на момент включения её в региональные Красные книги промысловой мерой – 38 см.

Согласно многолетних материалов исследований, проведенных в Саратовском, Волгоградском водохранилищах и водотоках их бассейнов, линейный рост и масса стерляди (природная форма) хорошо описывается полиномом третьей степени ($R^2 = 0.9976$) (Ермолин, Белянин, 2013):

$$W = 0.0122L^3 - 0.2301L^2 + 1.21L + 5.0183$$

где W – вес особи, грамм;

L – длина стерляди (до основания средних лучей хвостового плавника), см).

В совокупности водоемов в последнее десятилетие было три промысловые длины на стерлядь: 36, 38 и 42 см. Масса стерляди в зависимости от её длины приведена в таблице 2.

Таблица 2

Масса стерляди при разной длине

Наименование	Длина стерляди (L), см		
	36	38	42
Масса рыб (W), грамм	320	338 (≈340)	554 (≈550)

Таким образом, при планировании проведения восстановительных мероприятий посредством искусственного воспроизводства водных биоресурсов в Саратовском и Волгоградском водохранилищах и их бассейнах средняя масса одной воспроизводимой особи стерляди в промысловом возврате может принята в 340 г (0.34 кг), в водоемах, где действует иная норма – 36 и 42 см, соответственно СМВОП равна 320 (0.32) и 540 г (0.54 кг).

Методика исчисления размера вреда, причиненного водным биологическим ресурсам (утверждена Приказом Росрыболовства № 1166 от 25.11.2011 г.). – М.: 2011.

В.П. Ермолин, Е.А. Зотова

Саратовское отделение Государственного научно-исследовательского института озерного и речного рыбного хозяйства, г. Саратов, Россия

САЗАН – ВЫБОР НАВЕСКИ В ПРОМВОЗВРАТЕ ПРИ ПЛАНИРОВАНИИ ВОССТАНОВИТЕЛЬНЫХ МЕРОПРИЯТИЙ

Согласно «Методике исчисления размера вреда, причиненного водным биологическим ресурсам» (2011), при планировании проведения восстановительных мероприятий посредством искусственного воспроизводства водных биоресурсов расчет количества выпускаемых в водный объект рыбохозяйственного значения личинок или молоди водных биоресурсов определяется согласно пункту 59 упомянутой методики. При этом средняя масса одной воспроизводимой особи водных биоресурсов в промысловом возврате, (далее P , кг) (определяется по Временным биотехническим показателям по разведению молоди (личинок) в учреждениях и на предприятиях, подведомственных Федеральному агентству по рыболовству, занимающихся искусственным воспроизводством водных биологических ресурсов в водных объектах рыбохозяйственного значения, утвержденных приказом Росрыболовства от 19.04.2010 г. № 439, или по литературным данным с указанием источника опубликования).

Рассмотрим применение данного пункта на практике на примере сазана – наиболее часто и в относительно больших масштабах, рекомендуемого при восстановительных мероприятиях посредством искусственного воспроизводства водных биоресурсов.

В тоже время, согласно приказа Росрыболовства от 19.04.2010 г. № 439 – 2, 6 кг (в Ростовской области (наиболее близкой к нижеволжским водохранилищам) самки 3,0 кг, самцы – 2,2 кг, при соотношении полов близким 1:1 в среднем – 2,6 кг). Отсюда, $P = 2.6$ кг.

Сазан – удачный объект для восстановительных мероприятий. Эффективность восстановительных мер по сазану можно продемонстрировать на примере Волгоградского водохранилища.

В промысловых уловах рыбы в р. Волге, в акватории современного Волгоградского водохранилища, удельный вес сазана составлял 1,4–2,4 % (Яковлева, 1956, 1962). С образованием водохранилища, из-за отсутствия благоприятных условий воспроизводства, численность и уловы его начали снижаться и в период с 1992 по 1998 гг. он в уловах не отмечался. В 1996 г. начато (и ведется по сей день) его искусственное воспроизводство – подращивание в прудах и последующий выпуск в водохранилище. В результате этой меры наблюдается увеличение запаса и восстановление его численности и массы. Состав вновь сформированного стада близок к тому, что наблюдалось в речной период. Промысловый запас в последние годы вырос с 47 т в 2002 г. до 250 т в 2011 г. Вылов за этот период увеличился с 6,8

до 63 т. Доля сазана в общем вылове рыбы в 2011 г. составила 1,7 %. Практически, за счет проведения восстановительных мероприятий посредством искусственного воспроизводства водных биоресурсов доля сазана в составе промысловой ихтиофауны (по численности и промысловому запасу) восстановлена до величин, характерных для речного периода.

Временные биотехнические показатели в большей степени ориентированы на прудовую рыбу, так как в этом направлении имеются большие наработки. Хорошо известно, что домашние формы животных, вследствие направленной селекции при одних и тех же «метрических» размерах всегда имеют большую массу. Карп (домашняя форма сазана) – не исключение. При одной и той же длине с сазаном, он более массивен. В результате попадания в водоем по разным причинам карпа из прудовых хозяйств, происходит смешение природной и прудовой линий, наблюдается существенное увеличение разброса вариантов в кривой нормального распределения. Средняя масса особей промысловой длиной 40 см при этом достигает 2,2 кг (Ермолин, Мосияш, 2011).

Согласно требований природоохранного законодательства, при планировании и проведении восстановительных мероприятий следует рассматривать только природную форму сазана, так как только она разрешена к выпуску в водоем в качестве инструмента восстановительного мероприятия.

В практике промысла существует один чрезвычайно важный показатель – промысловая мера. Мера, с которой разрешено ловить рыбу. Согласно «Правил рыболовства Волжско-Каспийского рыбохозяйственного бассейна», утвержденных приказом Росрыболовства от 13 января 2009 г. № 1, промысловая мера на сазана установлена в 40 см (табл. 2 Правил рыболовства ...).

Согласно многолетних материалов исследований, проведенных в Саратовском, Волгоградском водохранилищах и водотоках их бассейнов, линейный рост и масса сазана (природная форма) хорошо описывается показательным уравнением вида: $W = 0.051L^{2.79}$ (где W – вес особи в граммах; L – длина сазана в см). При промысловой длине в 40 см вес рыбы равен 1504 грамма (1,5 кг). То есть, $P = 1.5$ кг.

Правилами рыболовства допускается прилов немерных особей до 30–40 %. В результате, размер вылавливаемых рыб снижается. При этом мы получаем некоторую скорректированную меру («скорректированную промысловую длину» далее (СПМ)). Скорректированная промысловая мера обратно пропорциональна прилову (таблица).

Прилов, СПМ и навеска сазана

Прилов, %	СПМ, см	Навеска (P) в соответствии с СПМ, грамм (кг)
10	39	1401 (1,4)
20	38	1303 (1,3)
30	37	1210 (1,2)
40	36	1121 (1,1)

Примечание. СПМ рассчитана при допущении линейных вариантов доли прилова – рыб длиной от 40 до 15 см.

Разрешенный прилов колеблется от 20 до 40 %, в среднем 30 %. Отсюда, по промысловой длине сазана в 40 см и прилове в 30 % для водоемов Нижней Волги, в частности Волгоградского и Саратовского водохранилищ и водоемов их бассейнов, средняя масса одной воспроизводимой особи сазана в промысловом возврате в среднем составит 1,2 кг ($P = 1.2$ кг).

Итак, на вполне законной основе средняя масса одной воспроизводимой особи водных биоресурсов в промысловом возврате может быть в широком диапазоне навесок. В рассматриваемом случае – 1,2; 1,5; 2,2 и 2,6 кг.

Согласно пункта 59 «Методики исчисления ...» (2011), расчет количества личинок или молоди рыб (других водных биоресурсов), необходимого для восстановления нарушаемого состояния водных биоресурсов посредством их искусственного воспроизводства, выполняется по формуле:

$$N_M = N / (p \times K_1), \quad (1)$$

где: N_M – количество воспроизводимых водных биоресурсов (личинок, молоди рыб, других водных биоресурсов), экз.;

N – потери (размер вреда) водных биоресурсов, кг или т;

p – средняя масса одной воспроизводимой особи водных биоресурсов в промысловом возврате, кг;

K_1 – коэффициент пополнения промыслового запаса (промысловый возврат), %.

Совершенно очевидно, что при выборе разных p численное значение N_M должно оставаться относительно постоянным, что возможно при соответствующем изменении K_1 . В сложившейся ситуации следует опираться на доказанные (установленные) факты по конкретным водоемам. Так, к настоящему времени установлено, что при выпуске в водоемы Нижней Волги, частности Саратовское и Волгоградское водохранилища, в целях товарного выращивания сазана навеской 20–25 грамм, промыслового размера в 40 см (навеска 1,5 кг) составляет 5 % особей от выпуска. Отсюда, при условии $N_M = \text{const}$, K_1 будет приобретать разное значение, в зависимости от средней массы одной воспроизводимой особи водных биоресурсов в промысловом возврате (от промнавески), численно равный:

- при промнавеске 1,2 кг – 6,25 %;
- при промнавеске 1,5 кг – 5 %;
- при промнавеске 2,2 кг – 3,4 %;
- при промнавеске 2,6 кг – 2,9 %.

Описанный подход определения средней массы одной воспроизводимой особи в промысловом возврате и, коэффициента пополнения промыслового запаса может быть применен ко всем разрешенным для вылова (добычи) видам рыб, на которые установлена промысловая мера и определен допустимый прилов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ермолин В.П., Мосияш С.С. Промысловый возврат, средняя промысловая навеска сазана и растительноядных рыб (толстолобиков) в водохранилищах Нижней Волги.

Экологические аспекты развития АПК. Материалы Международной научно-практической конференции, посвященной 75-летию со дня рождения профессора Кормилицина. – Саратов, 2011. – С. 54–55.

2. Методика исчисления размера вреда, причиненного водным биологическим ресурсам (утверждена Приказом Росрыболовства № 1166 от 25.11.2011 г.). – М.: 2011.

3. Яковлева А.Н. Промысел леща в Нижней Волге и прогноз его численности в Сталинградском водохранилище // Тр. Саратов. отд. ГосНИОРХ. – 1956. – Т. 4. – С. 128–154.

4. Яковлева А.Н. Формирование запасов рыб Волгоградского водохранилища в первые годы его существования (1959–1961 гг.). Тр. Саратовского отд. «ГосНИОРХ», 1962. – Т. 7. – С. 74–108.

УДК 504.73

В.П. Ермолин, С.Н. Макаров

Саратовское отделение Государственного научно-исследовательского института озерного и речного рыбного хозяйства, г. Саратов, Россия

ВОЗВРАТНЫЙ КОЭФФИЦИЕНТ: ОПРЕДЕЛЕНИЕ, ПРИМЕНЕНИЕ

В исчислении размера вреда, причиненного водным биологическим ресурсам, большое значение имеют сведения по численности производителей и молоди в водоемах производства работ. Часто эти сведения неполные. Имеются данные только по численности нерестового стада, или численности молоди. При недостающем звене можно использовать закономерность численность производителей – численность молоди. Простейший вариант этой связи представлен в таблице 1, где по численности молоди (сеголетков), рассчитывается численность промыслового возврата.

Таблица 1

Видовой состав и численность молоди рыб в условном водотоке по уловам мальковой волокушей

Виды рыб	Навеска молоди, г	Численность сеголетков, экз./га	Коэффициент промыслового возврата (K_1), %	Численность промыслового возврата, экз./га
Лещ	2,2	510	1	5,1
Плотва	3,8	2040	2	40,8
Окунь	3,2	1820	2	36,4
Щука	10,5	420	4	16,8

Численность промыслового возврата отражает половозрелую часть стада и может быть использована для получения основных показателей нерестового стада. К примеру, численность самок ($\varnothing$) в нерестовом стаде на единицу площади (экз./м²) (табл. 2).

В отдельных случаях необходимо определить количество молоди по известной численности производителей, используя определенный коэффициент. Назовем его возвратный – величина обратная промысловому коэффициенту, определяемый отношением молоди (n_m) к численности нерестового стада (n_{nc}), или математически n_m/n_{nc} (табл. 3).

Таблица 2

Количество производителей леща, плотвы, окуня и щуки на единицу площади, экз./м²

Виды рыб	Численность нерестового стада, экз./га	Численность половозрелых особей, экз./м ²	♂:♀	Кол-во ♀, экз./м ²
Лещ	5,1	$5,1^{-0.4}$	1:1	$2,55^{-0.4}$
Плотва	40,8	$4,1^{-0.3}$	1:2	$1,37^{-0.3}$
Окунь	36,4	$3,6^{-0.3}$	1:1	$1,8^{-0.3}$
Щука	16,8	$1,7^{-0.3}$	1:2	$0,57^{-0.3}$

Таблица 3

Видовой состав и численность молоди рыб в условном водотоке по уловам мальковой волокушей

Виды рыб	Навеска молоди, г	Численность молоди, экз./га (n_m)	Численность нерестового стада, экз./га (n_{nc})	Возвратный коэффициент (n_m/n_{nc})
Лещ	2,2	510	5,1	100
Плотва	3,8	2040	40,8	50
Окунь	3,2	1820	36,4	50
Щука	10,5	420	16,8	25

Кроме того, возвратный коэффициент (В) может быть определен исходя из коэффициента промыслового возврата через отношение $100/K_1$. Величина возвратного коэффициента, также как и промыслового, зависит от навески молоди рыб (табл. 4).

Таблица 4

Возвратный коэффициент (В) при разной навеске молоди рыб

Виды рыб		Молодь навеской (г)						
		0,2	0,5	1,0	1,5	3,0	5,0	10,0
Судак	K_1	0,1	0,22	0,5	0,7	1,3	1,9	3,3
	В	1000	455	200	143	77	53	30
Щука	K_1	0,18	0,48	0,9	1,4	2,6	4,3	7,5
	В	556	208	111	71	38	23	67
Лещ	K_1	0,12	0,3	0,6	0,9	1,7	2,8	5,0
	В	833	333	167	111	59	36	20

В.П. Ермолин, В.Б. Руденко-Травин, С.М. Бобров

Саратовское отделение Государственного научно-исследовательского института озерного и речного рыбного хозяйства, Саратов, Россия.

МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ ИНДЕКСА КРАТНОСТИ РАЗМНОЖЕНИЯ РЫБ

В «Методике исчисления размера вреда, причиненного водным биологическим ресурсам» (Приказ Росрыболовства от 25.11.2011 г. № 1166) терминам «кратность нереста» и «кратность размножения» придается равное толкование (формула (8) раздела II. указанной методики). Пояснение терминов дано в статье В.П. Ермолина и Л.В. Гузеевой (2012). Приводим их в краткой форме:

Термины «кратность размножения» и «кратность нереста» разные понятия: «кратность размножения» связана с цикличностью размножения, в то время как «кратность нереста» – с порционностью нереста отдельного цикла размножения. В тоже время, «кратность размножения» и «кратность нереста» являются критериями единого процесса воспроизводства:

- кратность размножения – это количество циклов размножения, совершаемых рыбой в течение жизни;
- кратность нереста – количество порций икры, откладываемых рыбой за один цикл размножения.

После выхода указанной выше статьи стали поступать просьбы опубликовать сведения по кратности размножения отдельных видов рыб.

Однако наиболее важна методическая часть вопроса, в частности методика определения индекса кратности размножения. Так как овладев ею, можно рассчитать индекс кратности размножения любого вида рыб. Прежде чем перейти к конкретному рассмотрению методики нахождения индекса кратности размножения (далее ИКР), необходимо остановиться на основных точках.

Следует отметить, что по определению ИКР в литературе нет четко разработанной методики. Авторами данной работы, на основе экспертной оценки большого числа работ по расчету ущерба выделено два подхода в определении ИКР:

- ИКР равен числу возрастных групп от впервые созревающих до самых старых в стаде (примерно 5 % работ);
- ИКР равен числу возрастных групп от момента 100% созревания до самых старых в стаде (95 % работ).

Как это выглядит реально, рассмотрим на примере данных, приведенных в таблице. Поскольку в формулу (8) раздела II методики, входит средняя плодовитость 1 экз. самки (икра, личинки), то нерестовое стадо (популяция) в данной работе рассматривается только по отношению самок. Как следует из таблицы, максимальное число производителей в популяции на-

блюдается у рыб в возрасте 8 лет (24 %). При анализе было установлено, что рыбы в возрасте 8 лет и старше 100 % зрелые, в то время как в возрасте 4–7 лет – разной степени зрелости. Отсюда, ИКР в первом варианте равен 14, во втором – 10.

Численность нерестового стада леща (♀♀) по возрастным группам в верхней зоне Волгоградского водохранилища весной 2003–2007 гг.

Наименование	Возрастные группы														Σ
	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	
Экз.*	1	33	124	222	240	185	107	46	17	12	6	4	2	1	1000

Примечание: * – приведена относительная численность в составе 1000 экз.

Совершенно очевидно, что такой (назовем его «прямой») подход определения ИКР не имеет под собой оснований. Хорошо известно, что:

- рыбы созревают не одновременно, этот процесс порой растягивается на несколько лет;
- численность нерестового стада – процесс пополнения и убыли, при котором в первой части суммарная величина численности нерестового стада обеспечивает рост числа зрелых особей с возрастом рыб, во второй – наблюдается постоянная их убыль.

При этом, как в части убыли, так и пополнения нерестового стада легко найти средний (средневзвешенный) возраст, участвующих в нересте самок. Обозначим средний возраст вступления в нерестовое стадо (пополнение) через t_1 , а средний возраст нерестового стада в части убыли через t_2 . Тогда ИКР (T) определится по формуле:

$$T = t_2 - t_1 \quad (1)$$

Рассмотрим определение каждого из показателей, опираясь на данные таблицы.

Средний возраст вступления в нерестовое стадо – это средневзвешенная числа половозрелых рыб в возрасте 4–8 лет. Расчет, согласно данным таблице 1 дает $t_1 = 7,1$ года. Средний возраст нерестового стада в части убыли (9–17 лет) $t_2 = 10$ лет. Отсюда, $T = 2,9$ (10–7,1).

Смысл индекса в том, что он показывает, сколько раз средняя зрелая особь данного нерестового стада принимала участие в нересте за свою жизнь. Согласно проведенного расчета, средняя зрелая особь леща нерестового стада в верхней зоне Волгоградского водохранилища за свою жизнь принимает участие в нересте лишь 2,9 раза. То есть, ИКР, рассчитанный по средневзвешенному значению пополнения и убыли, существенно (в разы) отличается от такового, полученного при «прямом» подходе.

Предлагаемый метод определения ИКР в последующем может уточняться. Однако уже сейчас он достаточно корректен и может быть рекомендован для практического применения.

Ермолин В.П. Гузеева Л.В. О содержании терминов «кратность размножения» и «кратность нереста» рыб. Аграрная наука в 21 веке: проблемы и перспективы: Сборник статей Всероссийской научно-практической конференции. Ч. 1 / Под ред. И.Л. Воротникова. – Саратов: «КУБиК», 2012. – С. 34–36.

УДК 619:616.988.636.22/.28

М.А. Ефимова, Х.З. Гаффаров, А.Я. Яруллин, Л.Ш. Дуплева

Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности «ФГБУ ФЦТРБ-ВНИВИ», г. Казань, Россия

ИММУНОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ПАРВОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

Парвовирусная инфекция крупного рогатого скота – контагиозное заболевание, вызываемое гемагглютинирующим вирусом *Haden*, клинически проявляется острым поражением кишечника у новорожденных телят, органов дыхания и нарушением функций репродуктивных органов у взрослого поголовья [1].

Парвовирусная инфекция широко распространена в мире и является одной из наиболее сложных проблем инфекционной патологии промышленного скотоводства, причиняющей серьёзный ущерб воспроизводству. Так, например, серопозитивность взрослого скота в США в 29 из 35 стад, в которых регистрировались диарея новорожденных телят и аборт у коров, составила 65–86 % [5, 6]. Аналогичные результаты были получены в Австралии [3], Алжире [7], Великобритании [4] и др. странах.

По данным зарубежных исследователей, лабораторная диагностика парвовирусной инфекции крупного рогатого скота осуществляется путем выделения вируса на первично-трипсинизированной культуре клеток почек и путем обнаружения специфических антител в сыворотке крови инфицированных животных в реакции торможения гемагглютинации (РТГА). При этом статистически достоверными положительными результатами в РТГА считают титры антител в разведении 1:32 и выше [2].

При оценке степени распространения этой инфекции среди поголовья скота в молочных комплексах Республики Татарстан и в некоторых других регионах Среднего Поволжья в РТГА установлена серопозитивность 11–45,2 % исследованных проб к парвовирусу крупного рогатого скота.

Высокая серопозитивность животных к парвовирусному антигену указывает на циркуляцию этого возбудителя среди поголовья скота и перспективность продолжения дальнейших исследований, опираясь на более специфичные и чувствительные методы диагностики.

В последнее время для диагностики инфекционных заболеваний широко внедряется ИФА, который отличается высокой чувствительностью, специ-

фичностью, воспроизводимостью результатов, возможностью исследования одновременно большего числа проб, простотой постановки и учета реакции.

Учитывая сложившуюся эпизоотическую ситуацию по вирусным инфекциям и состояние сохранности поголовья скота в современных молочных комплексах впервые в РФ в ФГБУ «ФЦТРБ-ВНИВИ» разработана «Тест-система ИФА для серологической диагностики парвовирусной инфекции крупного рогатого скота и определения уровня поствакцинальных антител», предназначенная для выявления антител к парвовирусу типа I в сыворотке крови крупного рогатого скота в одном разведении (1:400) для установления иммунного статуса поголовья скота и количественного определения антител в четырех разведениях (1:800, 1:1600, 1:3200, 1:6400) в сыворотках крови инфицированных, переболевших и вакцинированных животных.

Соответствие диагностических параметров и показателей качества разработанной тест-системы ИФА требованиям международных стандартов (патент РФ № 2461008, рег. № ПВР-1-6.0/02620 от 30.08.10 г.), подтверждены испытанием ее в лабораторно-производственных условиях.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Сюрин В.Н., Самуйленко А.Я., Соловьев Б.В., Фомина И.В. Вирусные болезни животных. – М., 1998.
2. Dawid Sandals W.C. et al. // Can. J. Vet. Res. 1995. 59/ 81-86.
3. Durham P.J.K. et al. // J. Res. Vet. Sci. 1985. V. 38. 209-219.
4. Huck R.A. Woods D.W., Orr J.P. // J. Vet. Rec. 1975. V. 96. 155 -156.
5. Spahn G.J. et al. // J. Cornell Vet. 1966. V.56. 377-386.
6. Storz J., et al. // Am. J. Vet. Res. 1972. V.33. 269-272.
7. Vincent J. // Ann. Inst Pasteur. 1971. V.121. 811-814.

УДК: 616.988.21:625.4

**И.М. Жулидов, А.К. Никифоров, М.В. Антонычева, Е.Г. Абрамова,
О.А. Лобовикова, О.А. Волох, М.Н. Киреев**

ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт
«Микроб» Роспотребнадзора, г. Саратов, Россия

РАЗРАБОТКА ПРИЕМОВ БЕЗОТХОДНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ В ПРОИЗВОДСТВЕ ГЕТЕРОЛОГИЧНОГО АНТИРАБИЧЕСКОГО ИММУНОГЛОБУЛИНА

Проблема охраны окружающей среды от загрязнения отходами в последние десятилетия привлекает все большее внимание как в России, так и за рубежом. Особенно актуальной является проблема контроля промышленных отходов как наиболее токсичных, часто устойчивых к разложению и опасных для человека и среды его обитания.

Согласно биотехнологической схеме производства гетерологичного антирабического иммуноглобулина (АИГ), отходами, образующимися на

различных стадиях технологического процесса, являются эритроцитарная масса (ЭМ), фибрин и спиртосодержащий сток. Все перечисленные отходы в настоящее время уничтожаются различными способами.

Возможность переработки первого отхода – ЭМ, образующейся после сепарирования иммунной крови продуцентов, связана с высокой сорбционной емкостью эритроцитов, что позволяет выделять дополнительное количество специфического иммуноглобулина методом десорбции. Предложен прием обработки эритроцитарной массы неионными детергентами Tween 80 и Span 20 с последующим выделением гамма-глобулина риванол-спиртовым методом. Экспериментально было доказано, что оптимальным является десорбционный раствор, содержащий 0,9 % NaCl с 0,5 % неионного детергента Tween 80 (pH 8,2).

С применением данного детергента получены три экспериментальные серии АИГ, десорбированного с поверхности эритроцитов. При изучении основных качественных характеристик десорбированного АИГ зарегистрированы показатели, соответствующие таковым в фармакопейной статье на коммерческий препарат АИГ. Выявлено, что дополнительный выход иммуноглобулина после обработки эритроцитов десорбирующим раствором составил (19 ± 2) %.

Еще один способ переработки ЭМ – получение из нее ценной минеральной подкормки для лошадей-продуцентов. Была разработана биотехнологическая схема высушивания ЭМ методом распыления на установке марки КЯУЛ с подбором оптимальных параметров. Получены три экспериментальные серии сухих эритроцитов общим весом 19,2 кг из 300 дм³ жидкой ЭМ. При изучении динамики изменения показателей красной крови у лошадей-продуцентов, принимавшим в пищу в качестве кормовой добавки сухую ЭМ выявлена положительная динамика показателей гемоглобина у животных опытной группы, получавших в качестве пищевой добавки сухую ЭМ в количестве $(12,5 \pm 0,5)$ г в течение 3 мес..

За рабочий год (10 месяцев) от 100 лошадей можно получить примерно 2,5 т высокопитательного белкового корма-сырца или более 160 кг сухой эритроцитарной массы из 8000 л иммунной крови.

Следующим отходом после фракционирования гипериммунной плазмы является фибрин, содержащий полноценный по аминокислотному составу белок, а также необходимые для питания бактерий микроэлементы.

Для получения питательной основы фибрин подвергали гидролизу ферментами поджелудочной железы крупного рогатого скота при pH $(8,0 \pm 0,1)$. Содержание аминного азота в гидролизате фибрина составило от 0,5 до 0,7 %. Гидролизат использовали в качестве белковой основы питательных сред (ПС) для культивирования возбудителей особо опасных инфекций, в том числе и глубинного культивирования холерных вибрионов (патент № 2425866 РФ).

В целях ресурсосбережения провели концентрирование и конвекционное высушивание гидролизата фибрина. ПС на основе сухого ферментативного гидролизата фибрина (ФГФ) при культивировании на них тест-

штаммов холерного вибриона и чумного микроба по физико-химическим и биологическим показателям не уступали контрольным средам.

При глубинном культивировании производственных штаммов холерных вибрионов *V. cholerae* 569 В и *V. cholerae* М-41 на экспериментальных и контрольной средах на основе сухого ФГФ получены сопоставимые результаты как по способности накапливать биомассу, так и продуцировать О – антиген.

Учитывая, что за год от 100 лошадей возможно получить свыше 250 кг фибрина или 385 дм³ питательной основы, то, используя данный отход, можно ежегодно производить не менее 1000 дм³ питательного бульона для глубинного культивирования холерного вибриона.

Спиртосодержащий сток (отход), образующийся после осаждения гамма-глобулина этиловым спиртом, перерабатывали на оригинальной регенерационной установке, сконструированной на базе емкости-реактора РЗРЯ рн-6/0,63-1нж, с подбором оптимальных параметров регенерации. Объемная доля этилового спирта после процесса регенерации составила (93±1) %. При применении восстановленного спирта в качестве осадителя были получены три экспериментальные серии АИГ, по основным показателям соответствующего требованиям спецификации на препарат.

Ежегодно при производстве АИГ образуется свыше 20000 дм³ спиртосодержащих стоков, из которых возможно получить методом ректификации более 3600 дм³ этилового спирта с объемной долей (93±1) %, с последующим его вовлечением в замкнутую цепь производства гетерологичного АИГ.

Таким образом, разработаны биотехнологические приемы переработки отходов производства АИГ – эритроцитарной массы, фибрина и спиртосодержащих стоков. Показано, что продукты переработки отходов могут быть включены в биотехнологическую схему производства АИГ, а также служить сырьем для производства ПС. Помимо экономических приоритетов, настоящие разработки имеют и значимые экологические аспекты, поскольку ведут к снижению экологической нагрузки на окружающую среду.

УДК.: 619:615.9

А.А. Заболоцкая

Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии им.К.И. Скрябина, г. Москва, Россия

БЕЗОПАСНОСТЬ АЭРОЗОЛЬНОГО ПРИМЕНЕНИЯ ДЕЗИНФЕКТАНТА «АЛКОПЕРИТ»

Одним из основных требований, предъявляемых к дезинфекционным средствам, является их безопасность для организма животных и человека. На кафедре биотехнологии ФГБОУ ВПО МГАВМиБ было создано дезинфицирующее средство для аэрозольного применения и доказана его высо-

кая эффективность в отношении бактерий, вирусов, микроскопических грибов. Аэрозольный способ применения препаратов предполагает непосредственное воздействие его на слизистые оболочки глаз и органов дыхания, а также кожу. Поэтому целью наших исследований явилось определение безопасности исследуемого препарата для животных при их аэрозольной обработке. Исследования проводили на лабораторных животных (белые мыши и кролики) а также в производственных условиях в птицеводческом хозяйстве.

Раздражающее действие дезинфектанта «АлкоПерит» на легкие определяли на мышах, после аэрозольной обработки рабочим раствором. Для этого проводили гистологические исследования тканей легких мышей (рис. 1) контрольной группы, не подвергавшихся обработке (А), легких животных через 10 минут после обработки (Б) и легких животных через 3 суток после обработки (В).

Органы фиксировали в 10 % растворе формалина, окрашивание гистосрезов проводили гематоксилином, срезы изучали под увеличением $\times 100$.

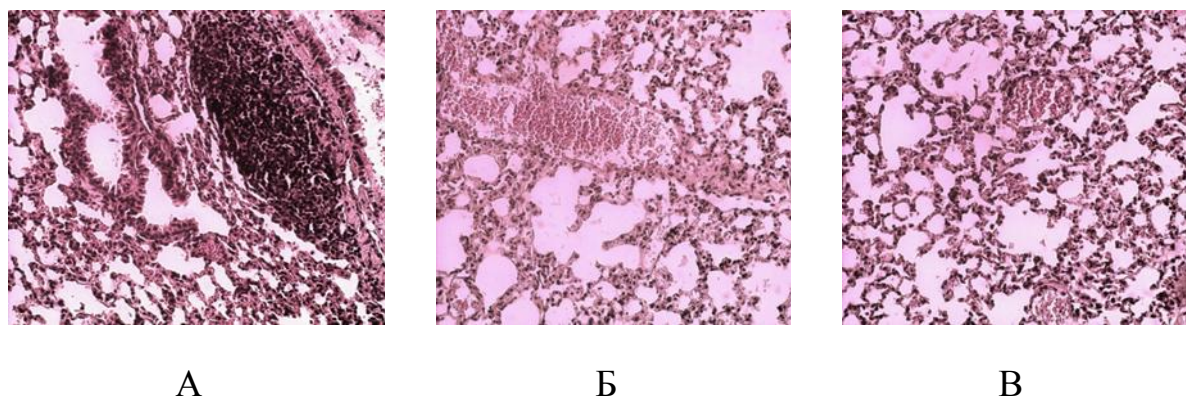


Рис. 1. Гистологическая картина срезов легких мышей (увеличение $\times 100$)

На основании проведенных исследований выявлено слабое раздражающее действие препарата, проявляющееся непосредственно после аэрозольной обработки животных, на третьи сутки после обработки, патологических изменений в легких обработанных животных не выявлялось.

Влияние исследуемого дезинфектанта на кожные покровы проводили на мышах опусканием хвоста животного в рабочий раствор дезинфицирующего средства. При однократном окунании хвоста животных в исследуемый раствор с концентрацией перекиси водорода 6 % на $2/3$ длины изменений кожного покрова не наблюдалось, поведенческие реакции животных не изменились, беспокойства животные не проявляли.

Действие дезинфектанта на слизистую оболочку глаза проводили на кроликах. Для этого одну каплю (0,05 мл) изучаемого препарата наносили на конъюнктиву правого глаза глазной пипеткой, а во второй глаз (контроль) – вносили каплю дистиллированной воды. Исследование проводили на 3 животных.

В первые несколько часов после применения отмечали слабую гиперемию конъюнктивы и слезотечение. Однако уже на третьи сутки состояние слизистой глаза нормализовалось.

Производственные испытания дезинфекционного средства для ветеринарного применения «АлкоПерит» для организма кур при многократной санации воздушной среды в их присутствии проводились в условиях ООО «Птицефабрика Челябинская».

В задачу исследований входило: изучить влияние дезинфекционного средства для ветеринарного применения «АлкоПерит» на состояние кур при дезинфекции помещений в их присутствии.

В соответствии с поставленной задачей был проведён производственный опыт, в ходе которого в двух птичниках вместимостью по 29000 голов в каждом исследовали кур-несушек породы «Ломан белый» со средней живой массой 2380 г.

Общее состояние подопытных животных оценивали по поведенческим реакциям, внешнему виду, приему пищи и воды, резистентности, лейкограмме и местному раздражающему действию на слизистые оболочки глаз.

После окончания экспонирования у некоторых птиц наблюдали незначительное покраснение века. Нарушения дыхания не отмечалось. Гибели животных в течение периода наблюдения не отмечено. За период наблюдения яйценоскость кур сохранилась на исходном уровне.

По классификации выраженности раздражающих свойств дезинфицирующего средства на глаза «АлкоПерит» он относится к 4 классу и не представляет опасности для кур.

Таким образом, исследуемое дезинфицирующее средство при аэрозольном применении не обладает выраженным токсическим действием на органы дыхания и кожу животных (белые мыши) а также является безопасным для организма птиц и может применяться для аэрозольной дезинфекции производственных помещений в их присутствии.

УДК 544.77.023.5

Д.А. Заярский¹, В.А. Журвиков¹, Н.В. Беспалова²

¹Саратовский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского, г. Саратов, Россия

²Саратовский государственный технический университет имени Гагарина Ю.А., г. Саратов, Россия

ФОРМИРОВАНИЕ СТРУКТУР «ЯДРО-ОБОЛОЧКА» НА ОСНОВЕ НАНОРАЗМЕРНЫХ АГРЕГАТОВ ФЛАВОНОИДОВ

Развитие современных биотехнологий в совокупности с нанотехнологиями значительно расширяет возможности фармацевтики и медицины.

Создание структур «ядро – оболочка» на основе биосовместимых материалов является задачей решаемой многими научными коллективами.

Формирование структур «ядро – оболочка» чаще всего ведется методом последовательной адсорбции полиэлектролитов на поверхность твердого ядра. В качестве ядра может быть использовано любое твердое вещество, нерастворимое в воде и имеющее размеры от нескольких микрон до нескольких десятков нанометров. Для формирования оболочки применяются биосовместимые полиэлектролиты обладающие низкой токсичностью значение LD₅₀ у которых обычно превышающим 3 г/кг.

В данной работе велась отработка технологии формирования субмикронных агрегатов флавоноидов с последующей их стабилизацией полиэлектролитом. Наноагрегаты флавоноидов формировались из прополиса при помощи технологии высокоэффективной экстракции при различных температурных режимах, их структура и размеры контролировались при помощи методов атомносиловой микроскопии и динамического рассеяния света. Полученные агрегаты стабилизировались полидиметилдиаллиламмоний йодидом сахарозы путем формирования полиэлектролитной оболочки на поверхности агрегата. Формирование полиэлектролитной оболочки контролировалось при помощи измерения электрокинетического потенциала, а так же по характеристическим пикам в спектрах комбинационного рассеяния.

В ходе выполнения работы был определен оптимальный интервал температур, в котором достигается максимальный выход активных веществ из исходного сырья, а так же показано что введение полиэлектролитных стабилизаторов в состав среды, в которую ведется экстракция, значительно повышает выход экстрагируемого вещества. Данные показатели контролировались по величине оптической плотности экстрактов и по массе сухого остатка.

Использование технологических режимов, определенных в ходе исследований, позволяет повысить массу сухого остатка в экстракте до 12 мг/мл, что в 6 раз превосходит стандартные методики экстракции и сохранить размер агрегатов порядка 100 нм, что невозможно в обычных технологических процессах.

УДК 619 : 579.842.23

С.В. Иващенко, А.А. Щербаков, А.А. Першина

Саратовский государственный аграрный университет
имени Н.И. Вавилова, г. Саратов

ВЕТЕРИНАРНЫЕ ПРЕПАРАТЫ НА ОСНОВЕ МЕМБРАННЫХ БЕЛКОВ ИЕРСИНИЙ

Псевдотуберкулёз и кишечный иерсиниоз играют большую роль в патологии человека и животных. Однако диагностика данных инфекций у живот-

ных тормозится их скрытым течением, трудоёмкостью лабораторной диагностики и отсутствием ветеринарных диагностических препаратов [1, 2, 3]. Высокая антигенная активность мембранных белков иерсиний была продемонстрирована при испытании эритроцитарного антигенного диагностикума на основе мембранных белков *Yersinia pestis*. Диагностикум выявлял родственные антитела в титрах 1:16000-1:128000 [4].

Нами была предпринята попытка создания эритроцитарных антигенных диагностических препаратов на основе мембранных белков псевдотуберкулезного и кишечной иерсиниозного микробов.

Для получения белков были использованы штаммы *Yersinia pseudotuberculosis* III сероварианта и *Yersinia enterocolitica* O:3 сероварианта, выделенные от сельскохозяйственных животных с признаками диареи, а также *Yersinia pseudotuberculosis* III и IV серовариантов и *Yersinia enterocolitica* O:3; O:5; O:6 и O:9 серовариантов из музейной коллекции кафедры микробиологии, вирусологии и биотехнологии Саратовского государственного аграрного университета.

Созданные препараты имели значительно большую чувствительность по сравнению с коммерческими препаратами, полученными на основе липополисахарида (ЛПС) иерсиний и выпускаемыми по лицензии Минздрава РФ (С.-Петербургский НИИВС). Так, экспериментальные псевдотуберкулезные диагностикумы выявляли в реакции непрямой гемагглютинации (РНГА) с диагностической агглютинирующей псевдотуберкулезной поливалентной сывороткой антитела в титрах 1:25600-1:204800, а коммерческий псевдотуберкулезный диагностикум – в титре 1:3200. Экспериментальные кишечной иерсиниозные диагностикумы показали в РНГА с диагностической агглютинирующей кишечной иерсиниозной сывороткой к O:3 сероварианту наличие антител в титрах 1:6400-1:51200, с сывороткой к O:9 сероварианту – в титрах 1:51200-1:204800, а коммерческие кишечной иерсиниозные диагностикумы O:3 и O:9 серовариантов реагировали с родственными кишечной иерсиниозными сыворотками в титрах 1:1600 и 1:3200 соответственно.

Установлено, что экспериментальные препараты созданные на основе свежевыделенных штаммов проявляют более высокую чувствительность, чем препараты из музейных штаммов. Так, в процессе испытаний экспериментальный диагностикум на основе свежевыделенного штамма псевдотуберкулезного микроба выявлял в РНГА антитела в титре 1:204800, а экспериментальные диагностикумы, полученные из музейных штаммов, в титре 1:25600. Экспериментальный кишечной иерсиниозный диагностикум, созданный на основе белков свежевыделенного штамма микроба, показал наличие антител в диагностических агглютинирующих кишечной иерсиниозных O:3 и O:9 сыворотках в титрах 1:12800-1:204800, а экспериментальные кишечной иерсиниозные диагностикумы из музейных штаммов микробов 1:6400-1:102400.

Чувствительность экспериментальных кишечной иерсиниозных диагностикумов, созданных на основе белков музейных штаммов микробов O:3, O:5, O:6 и O:9 серовариантов в РНГА с моновалентными кишечной иерсини-

ниозными сыворотками оказалась различной. Высокую чувствительность со всеми использованными в опыте кишечной иерсиниозными сыворотками проявил экспериментальный диагностикум, сконструированный на основе О:6 сероварианта *Yersinia enterocolitica*. Его чувствительность составила с сывороткой к О:3 сероварианту микроба титр 1:51200, с сывороткой к О:5 сероварианту – титр 1:25600, с сывороткой к О:6 сероварианту – титр 1:3200, с сывороткой к О:9 сероварианту – титр 1:51200.

Испытания специфичности созданных диагностических препаратов проводились на псевдотуберкулёзной, эшерихиозной, сальмонеллёзной, бруцеллезной, холерной гипериммунных поливалентных сыворотках и на кишечной иерсиниозных сыворотках к О:3 и О:9 серовариантам.

Установлено, что специфичность экспериментального псевдотуберкулёзного диагностикума полученных на основе III сероварианта микроба выше в сравнении с аналогичным препаратом из IV сероварианта. У препарата на основе свежесделанного штамма III сероварианта псевдотуберкулёзного микроба в РНГА отмечалось наличие перекрестных реакций с кишечной иерсиниозной О:3 сероварианта и эшерихиозной сыворотками в титре 1:400.

Экспериментальные эритроцитарные кишечной иерсиниозные диагностикумы реагировали только с псевдотуберкулёзной сывороткой в титре 1:1600.

Таким образом, на основе мембранных белков созданы высокочувствительные эритроцитарные диагностикумы для диагностики иерсиниозных инфекций у сельскохозяйственных животных.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Зыкин Л.Ф., Щербаков А.А. Кишечный иерсиниоз и псевдотуберкулёз в патологии сельскохозяйственных животных / Матер. научно-производ. конфер. по актуал. проблемам ветеринарии и зоотехнии. – Казань, 2001. – Ч. 1. – С. 35–38.
2. Иерсиниозы / Ющук Н.Д. [и др.] – М: Медицина, 2003. – 208 с.
3. Псевдотуберкулёз / Шурыгина И.А. [и др.]. – Новосибирск: Наука, 2003. – 320 с.
4. Щербаков А.А. [и др.] Диагностикум эритроцитарный антигенный на основе мембранных белков чумного микроба / Генетика и микробиология природноочаговых инфекций. – Саратов, 1984. – С. 22–27.

УДК 619:616-0089:612.015:636.2

И.И. Калюжный, Н.Д. Баринев, Д.С. Логинова

Саратовский государственный аграрный университет
имени Н.И. Вавилова, г. Саратов, Россия

КЛИНИКО-БИОХИМИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ МЕТАБОЛИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ У ИМПОРТНОГО СКОТА

Задача изучения клинико-биохимических показателей возникла в связи с необходимостью оценки последствий высокого уровня производства молока и особенностями импортного поголовья скота, завезенного из Европы.

Исследования проводили в различных хозяйствах Ростовской, Пензенской, Самарской, Саратовской областей и Краснодарского края на коровах и нетелях импортного скота голштино-фризской породы, завезенных в Россию. Общее их количество – 2850 голов. Для исследования были взяты животные, приобретенные в Германии, Венгрии, Канаде и других странах.

Клинико-диагностические исследования поголовья скота осуществляли как до, так и после отела, а затем в течение 6 лет вели наблюдения. Особое внимание уделяли изучению клинических показателей животных. Проводили глубокое биохимическое исследование крови, содержимого рубца, мочи и кала. Патологоанатомические исследования осуществлялись путем вскрытия спонтанно павших и вынужденно убитых животных, с целью гистологического и бактериологического изучения брали кусочки органов и тканей.

Кроме того, изучали динамику надоя молока от каждой коровы; анализировали его качество, биохимические показатели полученного молока.

При клиническом обследовании животных в большинстве случаев отмечается в разной степени выраженности гипотония преджелудков, слабость скелетной и гладкой мускулатуры. У животных отмечаются язвенные дерматиты, а также высокий процент некробактериозного поражения копыт.

Температура тела у животных в пределах нормы, а в некоторых случаях наблюдается значительное ее повышение.

У животных, оформленных как первотелки, отмечается значительное рассасывание 13-го ребра. Перкуссия маклаков, седалищных бугров, костей плюсны и пясти болезненна и вызывает беспокойство животных.

Исследование частоты пульса выявляет, что он учащен и слабого наполнения. Аускультацией сердца установлены: аритмия, ослабление, расщепление, приглушение тонов, а у 37 % коров раздвоение тонов сердца. При тахикардии частота сердечных сокращений достигает до 127 ударов в минуту, при норме 50–60.

Часть животных – с учащенным дыханием (67 движ/мин.), при норме – 12–25; другие – наоборот, частоту дыхательных движений имеют даже несколько ниже – до 11.

При исследовании преджелудков отмечается гипотония, число сокращений рубца составляет 2–3 за 5 минут. Жвачка у животных укороченная и нерегулярная.

При лабораторном исследовании выявлены различные изменения в рубцовом пищеварении:

- рубцовое содержимое неприятно-кислого запаха;
- значительное изменение в количественном и качественном составе микрофлоры рубца. Так, количество инфузорий составляет 50000–70000 в мл, основная масса которых (90 %) очень мелкого размера, а подвижность инфузорий оценивается в 2–3 балла (норма – 4–5);
- ферментативная активность рубцовой микрофлоры очень низкая, и в некоторых пробах отсутствует.

Соотношение ЛЖК в рубцовом содержимом у обследуемых животных имеет явный дисбаланс и выглядит следующим образом: уксусной кислоты – 47 %, пропионовой – 14 %, масляной – до 38 %.

Практически у всех обследуемых животных отмечается диарея, кал – жидкой консистенции, кислого запаха. В каловых массах обнаружено большое содержание непереваренных частиц корма (зерна, клетчатки).

Методом перкуссии установлено увеличение границ печени и болезненная реакция животного.

Анализ КОС (кислотно-основное состояние) и минерального обмена свидетельствует, что в большинстве случаев (до 74 % поголовья) отмечается декомпенсированный метаболический ацидоз, а у другой части животных – компенсированный метаболический ацидоз.

В крови установлено снижение уровня глюкозы и повышенное содержание кетоновых тел.

При исследовании мочи отмечается повышенное содержание кетоновых тел, удельного веса, рН мочи кислый и имеет нехарактерный запах для данного вида животных.

Молоко имеет повышенную кислотность, водянистую консистенцию, кормовой запах. Лабораторными исследованиями в молоке выявляются кетоновые тела.

Таким образом, исследования, проведенные в течение 2005–2011 гг., позволяют сделать вывод о глубоких нарушениях метаболических процессов в организме высокопродуктивных коров и первотелок импортного скота.

Данные, представленные в статье, – это лишь часть проделанной нами исследовательской работы. Но они позволяют задуматься о целесообразности импорта скота и об улучшении селекционно-племенной работы в стране по созданию высокопродуктивных и устойчивых к болезням стад животных.

УДК 615.371/.372:663.15:66.081.63

*А.В. Комиссаров, А.К. Никифоров, С.А. Еремин, О.В. Громова,
Ю.А. Алешина, Ю.Г. Васин, О.А. Волох, В.С. Бронникова,
О.А. Лобовикова, С.Н. Задохин, Л.Ф. Ливанова, А.В. Гаева*

ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, г. Саратов, Россия

МОДЕЛИРОВАНИЕ ПРОЦЕССОВ ПРОИЗВОДСТВА ВАКЦИНЫ ХОЛЕРНОЙ БИВАЛЕНТНОЙ ХИМИЧЕСКОЙ ТАБЛЕТИРОВАННОЙ

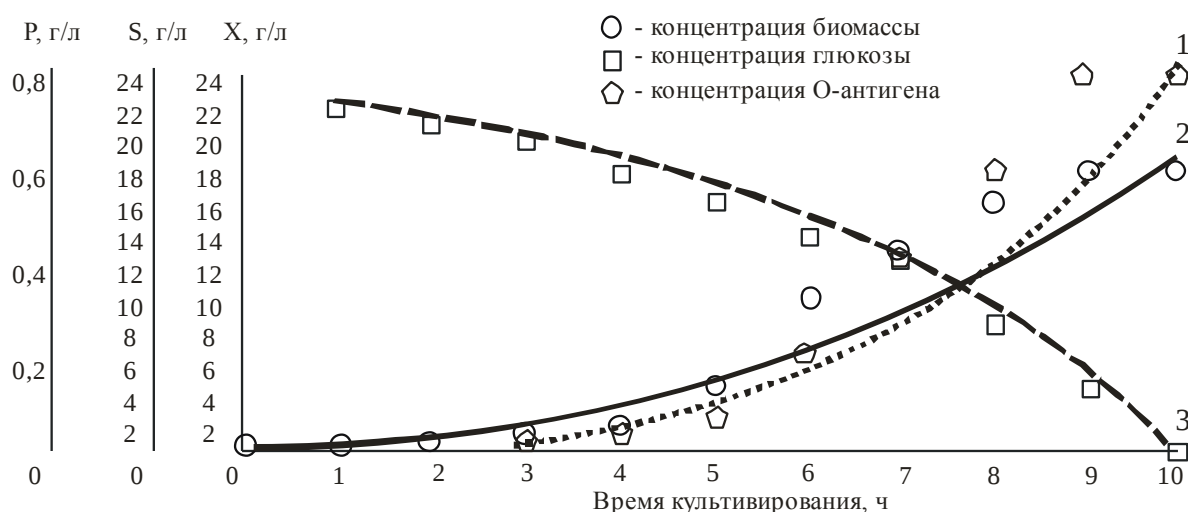
Важнейшей проблемой биотехнологии является математическое моделирование биотехнологических процессов и их оптимизация. Использование методов математического моделирования ускоряет решение задачи проектирования производства, позволяет оптимизировать работу действующих установок. Математическому описанию процессов выращивания

микроорганизмов и биосинтеза продуктов посвящено достаточно большое количество исследований (Винаров, 1969; Музыченко, 1974; Бирюков, 1985, 2004; Mori, 1972; Bajpai, 1980; Ettler, 1980). Между тем работ, посвященных математическому описанию процессов биосинтеза протективных антигенов (ПА) холерных вибрионов, нам обнаружить не удалось. Поэтому исследования, направленные на разработку математических моделей накопления ПА холерных вибрионов, являются актуальными.

Была разработана математическая модель синтеза О-антигена (О-АГ) в ходе периодического глубинного культивирования *V. cholerae* М-41 Огава с лимитацией по углеродному субстрату. Был рассмотрен вариант, когда скорость роста клеток не лимитируется содержанием в среде растворенного кислорода и определяется концентрацией углеродного субстрата (глюкозы). В качестве уравнения, учитывающего влияние субстрата и продукта на скорость роста биомассы было выбрано уравнение Моно-Иерусалимского.

Модель кинетики процесса была сформирована, исходя из условий идеального смешения в реакторе, и состоит из дифференциальных уравнений, учитывающих изменение концентрации биомассы, концентрации глюкозы в питательной среде и продукта синтеза (О-АГ) во времени.

На основе анализа экспериментальных данных и с использованием разработанного программного обеспечения в среде Mathcad 15.0, на которое получено свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ, был произведен расчёт системы дифференциальных уравнений и получены значения кинетических параметров. Результаты моделирования полного периодического процесса представлены на рисунке.



Сопоставление экспериментальных значений и данных, полученных в ходе моделирования: 1 – динамика накопления О-АГ (Р); 2 – кривая роста холерного вибриона (S); 3 – динамика потребления глюкозы (X)

Был произведен анализ отклонений расчетных значений от экспериментальных. Относительная ошибка для различных кривых составила от

5 до 15 %, что является удовлетворительной величиной для микробиологических процессов. Таким образом, показано, что разработанная математическая модель адекватно описывает процесс биосинтеза О-АГ. Таким образом, при проведении теоретических и экспериментальных исследований получены результаты, позволяющие получить частное решение дифференциальных уравнений, описывающих кинетику синтеза ПА, и (или) уточнить входящие параметры и величины в существующие решения указанных уравнений.

УДК 615.371/.372:663.15:66.081.63

А.В. Комиссаров, А.К. Никифоров, С.А. Еремин, О.В. Громова, Ю.А. Алешина, Ю.Г. Васин, О.А. Волох, В.С. Бронникова, О.А. Лобовикова, С.Н. Задохин, Л.Ф. Ливанова, А.В. Гаева
ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, г. Саратов, Россия

ТЕХНОЛОГИЯ КОНЦЕНТРИРОВАНИЯ И ВЫДЕЛЕНИЯ ПРОТЕКТИВНЫХ АНТИГЕНОВ ХОЛЕРНЫХ ВИБРИОНОВ МЕТОДОМ ТАНГЕНЦИАЛЬНОЙ УЛЬТРАФИЛЬТРАЦИИ

Медицинские иммунобиологические препараты (МИБП) являются наиболее эффективными средствами профилактики холеры (Кутырев и др., 2006). В 2001 г. в России вакцинация против холеры была включена в календарь профилактических прививок по эпидемическим показаниям.

Отечественная холерная бивалентная химическая вакцина, разработанная в РосНИПЧИ «Микроб» и содержащая основные протективные антигены (ПА) *Vibrio cholerae* O1 классического биовара: холероген-анатоксин (ХА), а также O1 антиген сероваров Инаба и Огава не уступает по эффективности зарубежным холерным вакцинам (Кутырев и др., 2006; Щуковская и др., 2009).

К одним из недостатков существующей технологии производства отечественной холерной химической вакцины можно отнести многоступенчатые и затратные этапы выделения ПА холерных вибрионов (Дятлов и др., 2001; Нижегородцев, 2003). В 90-х годах была показана принципиальная возможность концентрирования и очистки О-антигена (О-АГ) холерного вибриона с использованием ультрафильтрации на полых волокнах (Громова и др., 1999), что позволило разработать масштабируемую технологию концентрирования одного из компонентов холерной химической таблетированной вакцины – О-АГ холерного вибриона штамма М41 серовара Огава с использованием ультрафильтрационных модулей на полых волокнах (Дятлов и др., 2001; Нижегородцев, 2003). Однако используемый метод имеет существенный недостаток, связанный с тем, что фильтрация протекает в тупиковом режиме, это – низкая удельная скорость фильтрации.

Выделение других компонентов вакцины – О-АГ и ХА холерного вибриона 569В серовара Инаба осуществляется осаждением сульфатом аммония непосредственно из безмикробного детоксицированного центрифугата, что приводит к значительному расходу осадителя.

Промышленная технология получения вакцины холерной бивалентной химической таблетированной, в соответствии с которой получают ХА, включает следующие технологические стадии: концентрирование нативных ХА и О-АГ; осаждение О-антигенсодержащей фракции; отделение О-антигенсодержащей фракции центрифугированием; осаждение ХА; отделение ХА центрифугированием; диализ; сепарирование ХА. Недостатком данного способа является большая продолжительность технологического процесса получения ХА и многостадийность производственного процесса.

Одним из перспективных направлений, применяемых в технологиях производства химических вакцин, является выделение и концентрирование ПА тангенциальной ультрафильтрацией. Использование мембранных модулей с разными номинальными отсечками по молекулярной массе позволяет выделять и концентрировать антигены с различной молекулярной массой, практически без потерь целевого продукта, при этом существует возможность сокращения времени проведения технологического процесса и уменьшения количества стадий производства (Красильников и др., 2001; Скотникова, 2010).

Таким образом, актуальность научных исследований по разработке технологии концентрирования и выделения ПА холерных вибрионов методом тангенциальной ультрафильтрации является очевидной.

Нами был разработан способ концентрирования нативного О-АГ *Vibrio cholerae* с применением мембраны с номинальной отсечкой по молекулярной массе 500 кДа в режиме проточной (тангенциальной) фильтрации с давлением 0,24-0,26 МПа, средней удельной скоростью фильтрации (79 ± 2) $\text{дм}^3/\text{м}^2/\text{ч}$. Преимущество данного способа, на который получен патент на изобретение, заключается в увеличении производительности процесса и снижении потери О-АГ на 40 %, с сохранением показателей качества препарата.

Кроме того, был экспериментально обоснован способ предварительного концентрирования нативных ХА и О-АГ, полученных при глубинном культивировании холерного вибриона штамма серовара 569 В Инаба и отделенных от биомассы центрифугированием, которое осуществляют на пористых мембранах в режиме проточной (кросс-флоу) фильтрации. Концентрирование проводят через мембраны с номинальной отсечкой по молекулярной массе 50 кДа в режиме проточной (кросс-флоу) фильтрации с давлением 0,23–0,25 МПа, средней удельной скоростью освобождения нативных ХА и О-АГ от балластных примесей – 60–70 $\text{дм}^3/\text{м}^2/\text{ч}$ с коэффициентом кратности концентрирования фильтруемого материала по объему, равным 10. Далее балластные фракции двукратно осаждают сульфатом аммония. Использование способа позволяет повысить выход ХА и О-АГ в 1,2 раза и уменьшить количество используемого для осаждения балласт-

ных фракций сульфата аммония в 10 раз. На данный способ также получен патент на изобретение.

Проведены предварительные исследования по фракционированию ХА методом тангенциальной ультрафильтрации, которые дают основания говорить о том, время технологического процесса получения ХА будет существенно ниже в сравнении с существующим способом.

Выводы

1. Впервые разработана технология концентрирования ПА штаммов холерных вибрионов 569В серовара Инаба и М-41 серовара Огава методом тангенциальной ультрафильтрации и оптимизированы ее параметры.

2. Впервые разработана технология выделения ХА штамма холерного вибриона 569В серовара Инаба методом тангенциальной ультрафильтрации.

УДК 615.371/.372:663.15:66.081.63

*А.В. Комиссаров, А.К. Никифоров, С.А. Еремин, О.В. Громова,
Ю.А. Алешина, Ю.Г. Васин, О.А. Волох, В.С. Бронникова,
О.А. Лобовикова, С.Н. Задохин, Л.Ф. Ливанова, А.В. Гаева*

ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт
«Микроб» Роспотребнадзора, г. Саратов

ТЕХНОЛОГИЯ ОБЕССОЛИВАНИЯ И СТЕРИЛИЗУЮЩЕЙ ФИЛЬТРАЦИИ ПРОТЕКТИВНЫХ АНТИГЕНОВ ХОЛЕРНЫХ ВИБРИОНОВ

Одним из недостатков промышленной технологии получения вакцины холерной бивалентной химической таблетированной можно назвать вероятность попадания в диализуемые продукты нежелательных примесей. Исследователями (Дятлов и др., 2002; Нижегородцев, 2003) была показана возможность обессоливания О-антигенных компонентов вакцины ультрафильтрацией на полых волокнах.

Был апробирован процесс обессоливания диафильтрацией в периодическом режиме. Технологические режимы проведения процесса диафильтрации были следующие: давление на входе и выходе фильтрационной установки – $(2,5 \pm 0,1)$ и $(0,5 \pm 0,1)$ кгс/см² соответственно. Для обессоливания О-антигена (О-АГ) были апробированы ультрафильтрационные модули с номинальной отсечкой по молекулярной массе 30 кДа с площадью фильтрации 0,02 м², холерогена-анатоксина (ХА) – 300 кДа с площадью фильтрации 0,1 м².

Количество обессоливаемых продуктов насыщенных сульфатом аммония, полученных после центрифугирования составило: О-АГ холерного вибриона 569В Инаба и О-АГ штамма холерного вибриона М-41 Огава – по 100 граммов; ХА штамма холерного вибриона 569В Инаба – 25 граммов.

Центрифугаты выделенных антигенов были растворены, в соответствии с регламентом производства, в дистиллированной воде до величины оптической плотности равной $0,6 \pm 0,2$ при измерении в кювете с рабочей длиной 20 мм и длиной волны 590 нм. Полученные объемы составили: О-АГ холерного вибриона 569В Инаба и О-АГ штамма холерного вибриона М-41 Огава – по $1,0 \text{ дм}^3$; ХА штамма холерного вибриона 569В Инаба – $0,01 \text{ дм}^3$. Полученные полупродукты подвергали десятикратному разбавлению дистиллированной водой и концентрировали до исходного объема. Количество дистиллированной воды, израсходованной на обессоливание, время проведения технологического процесса, средняя удельная скорость фильтрации представлены в таблице.

Проведенные исследования по оценке показателей качества обессоленных препаратов, показали, что они не уступают полученным по регламентной технологии.

Значения параметров, определенных при обессоливании

Наименование продукта	Значения параметров		
	Количество воды, дм^3	Время, ч	Средняя удельная скорость фильтрации, $\text{дм}^3/\text{м}^2/\text{час}$
О-АГ 569В Инаба	16,0	2,5	64
О-АГ М-41 Огава	15,0	3,0	50
ХА 569В Инаба	2,6	2,0	65

Основываясь на полученных значениях средней удельной скорости фильтрации, представленных в таблице, и количестве получаемых продуктов за один производственный цикл произвели расчет площади ультрафильтрационных модулей необходимой для обессоливания антигенов в течение 5–6 часов. Для обессоливания ХА 569В Инаба необходима фильтрующая поверхность до 4 м^2 , О-АГ М-41 Огава до 5 м^2 , О-АГ 569В Инаба до 4 м^2 .

В настоящее время основным промышленным методом, используемым для стерилизации белковых компонентов МИБП, к которым относится ХА, в силу их специфичности, является мембранный метод микрофильтрации. В соответствии с теорией гелевой поляризации Майклса-Блатта, по достижении у поверхности мембраны концентрации гелеобразования на мембране образуется слой геля (студня). Он обуславливает резкое падение проницаемости и сопровождается ростом задерживающей способности микрофильтрационных мембран, что приводит к снижению их пропускной способности и, соответственно к большему количеству мембран, требуемого для стерилизации продукта. Это, в свою очередь, ведет к увеличению технологических потерь препаратов. Увеличение пропускной способности возможно с повышением температуры фильтруемого раствора. Для этого

были изучены следующие температурные режимы стерилизации: $(8\pm 2)^\circ\text{C}$, $(20\pm 2)^\circ\text{C}$ и $(37\pm 2)^\circ\text{C}$.

Нестерильный ХА стерилизовали через микрофилтрационные фильтры с размером пор, равным 0,22 мкм. На установке, снаряженной мембраной, определялась зависимость пропускной способности от температуры стерилизуемого раствора.

Проведенные исследования показали, что увеличение температуры стерилизуемого раствора от $(8\pm 2)^\circ\text{C}$ до $(20\pm 2)^\circ\text{C}$ и $(37\pm 2)^\circ\text{C}$ сопровождалось повышением пропускной способности микрофилтрационных мембран соответственно до 30 % и 50 % соответственно. Изучение свойств стерильных растворов ХА, полученного по вышеописанным температурным режимам стерилизации, показало на полное соответствие образцов препарата требованиям нормативных документов.

Выводы:

1. Разработана технология обессоливания ПА холерных вибрионов 569В серовара Инаба и М-41 серовара Огава диафилтрацией в периодическом режиме с использованием метода тангенциальной ультрафилтрации.

2. Впервые в технологии выпуска холерной вакцины на стадии стерилизующей филтрации ХА обоснованы оптимальные температурные режимы процесса стерилизации.

УДК 636.59.084.1

А.А. Кретов, О.Г. Сидоренко

Луганский национальный аграрный университет, г. Луганск, Украина

СОВРЕМЕННЫЕ АСПЕКТЫ ТЕХНОЛОГИИ ДИФФЕРЕНЦИРОВАННОГО КОРМЛЕНИЯ МОЛОДНЯКА ПЕРЕПЕЛА ЯПОНСКОГО

Актуальность темы. Одним из важнейших условий успешного разведения перепелов и получения прибыли от перепеловодства является организация их полноценного кормления и разработка научно обоснованных норм питательности веществ их рациона. Обеспечение птицы питательными веществами в необходимом количестве будет способствовать максимальному проявлению продуктивности при сохранении высокого качества продукции.

Анализ литературных данных и постановка проблемы. На сегодняшний день общепринятой считается следующая схема кормления молодняка перепелов, которая состоит из 2 периодов: 1 период – 1–4 неделя и 2 период – 5–6 неделя развития. Рацион для перепелят до 4-недельного возраста предусматривает высокий уровень протеина 24–28 % и обменной энергии 2980–3000 ккал/кг. На 5–6 неделе количество протеина снижают до 17–18 % с уровнем обменной энергии 2750 ккал/кг [1].

По результатам морфологических и гистологических исследований органов пищеварения у перепела японского [2] были установлены закономерности их развития, что позволило внести изменения в общепринятую схему кормления молодняка перепелов.

Результаты собственных исследований и их обсуждение. Новая схема дифференцированного кормления молодняка, предусматривает 3 периода: «детский» период – с 1 по 7 сутки, «подростковый» период – с 8 по 21 сутки и период «формирования» – с 22 по 35 сутки.

Детский период характеризуется началом формирования органов пищеварения. В возрасте с 3 по 5 сутки у перепелят наблюдается активный рост органов пищеварительной трубки и формирование структурных элементов, что дает основание назвать этот период критическим. В связи с чем в детском периоде следует выделять 2 фазы: начальную (1–3 сутки) и основную (4–7 сутки). Первые 3 дня, кормление перепелят должно ассоциироваться с предшествующим питанием, поэтому рекомендуем кормить вареным и измельченным со скорлупой перепелиным яйцом в смеси (1:1) с манной или пшенной крупами с размерами частиц корма не более 2 мм. С 4 дня перепелят следует переводить на специализированный многокомпонентный стартовый комбикормом с высоким уровнем обменной энергии – 3000–3050 ккал/кг (содержащий мясокостную муку и сухое молоко) и добавлением легкодоступных незаменимых аминокислот (лизина до уровня 1,41 %, метионина+цистина – 1,03 %, триптофана – 0,99 %), что компенсирует недоразвитие органов пищеварения.

Подростковый период (с 8 по 21 сутки) характеризуется началом активного функционирования органов пищеварения, которые достигают определенной степени зрелости. Перепелята в этот период имеют высокий уровень энергии роста всех систем органов и к 21 дню достигают половой зрелости. В этом периоде следует выделять 2 фазы: начальную (8–11 сутки) и основную (12–21 сутки). С 8 по 11 сутки перепелят кормят смесью детского стартерного комбикорма и подросткового комбикорма в соотношении (3:1, 1:1, 3:1), что позволит перепелятам адаптироваться к подростковому комбикорму. С 12 по 21 сутки перепелятам следует скармливать подростковый комбикорм, содержащий высокий уровень протеина - до 27 % (за счет жмыхов и шротов) и повышенное количество витаминов: ретинола (витамина А – 15 млн ИЕ или 5 г/кг) и рибофлавина (витамина В₂ – до уровня 7 мг/кг), что позволит обеспечить высокий уровень энергии роста.

Период формирования самок (с 22 по 35 сутки) характеризуется активным формированием органов половой системы у самок в связи с чем, необходимо снизить питательность рациона и обеспечить поступление необходимых стимулирующих веществ (витаминов и минеральных веществ). В этом периоде следует выделять 2 фазы: начальная (22–25 сутки) и основная (26–35 сутки). С 22 по 25 сутки самок перепела японского кормят смесью подросткового комбикорма и обедненного комбикорма в соотношении (3:1, 1:1, 3:1), что позволит перепелам адаптироваться к периоду формирования. С 26 по 35 сутки самкам скармливают обедненный комби-

корм, который отличается низким уровнем обменной энергии (275 ккал/кг) и сырого протеина (17 %) и оптимальным уровнем витаминов и минеральных веществ (витамина Е в дозе 20 г/кг). Кроме этого обязательно добавление ракушки размером 1–1,5 мм.

Период формирования у самцов (с 22 по 35 сутки) характеризуется началом развития у самцов половых органов и активным формированием мышечной массы, поэтому рацион должен обеспечивать поступление в организм самцов полноценного белка (для роста мышечной массы) и веществ, обеспечивающих развитие половых органов (витаминов и минеральных веществ). В этом периоде следует выделять 2 фазы: начальную (22–25 сутки) и основную (26–35 сутки). С 22 по 25 сутки самцов перепела японского кормят смесью подросткового комбикорма и откормочного комбикорма в соотношении (3:1, 1:1, 3:1). С 26 по 35 сутки самцам скармливают откормочный комбикорм, который должен содержать высокий уровень энергии (305 ккал), достаточный уровень протеина (21 %) и оптимальный уровень витаминов и минеральных веществ. Обязательно добавление ракушки размером 1–1,5 мм.

Выводы и предложения. Представленная схема кормления позволит создать оптимальные условия для развития органов у перепела японского и в дальнейшем, будет способствовать максимальному проявлению их продуктивности и получению экологически чистой продукции.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Варигина Е.С.* Особенности кормления перепелов / Е.С. Варигина, Т.Н. Ленкова // Эффективне птахівництво. – 2008. – № 7 (43). – С. 41–45.
2. *Кретов О.А.* Вікова динаміка росту кишечника перепілки японської в ранньому постнатальному періоді онтогенезу / О.А. Кретов, О.Г. Сидоренко // Науковий вісник Луганського національного аграрного університету. – Серія «Біологічні науки». – Луганськ: Елтон-2, 2011. – № 28. – С. 19–22.

УДК 615.281

Л.П. Лазурина, А.А. Евглевский, К.В. Хорляков, О.В. Хорлякова

Курский государственный медицинский университет, г. Курск
Курский научно-исследовательский институт агропромышленного производства Россельхозакадемии, Курская обл., п. Черемушки, Россия

ВЛИЯНИЕ СОЧЕТАНИЯ ЛЕВАМИЗОЛА С ЯНТАРНОЙ КИСЛОТОЙ ДЛЯ СТИМУЛЯЦИИ ИММУНОМЕТАБОЛИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ У БЕЛЫХ МЕШЕЙ

Цель исследования: теоретическое и практическое обоснование сочетаний левамизола с янтарной кислотой и изучение эффективности ком-

плексного действия на стимуляцию иммунометаболических процессов в эксперименте.

Методы исследования: логический, графоаналитический, статистический.

Янтарная кислота активизирует энергетический обмен в тканях, оказывает иммуномодулирующее действие. Она обладает свойством повышать активность клеточного дыхания, укрепляет иммунитет и защищает от различных токсических отравлений, в том числе алкогольного.

Изучение влияния янтарной кислоты на снижение токсичности левамизола проведено на белых мышах. В опыт отбирали белых мышей (самцов) живой массой в среднем 18–20 г. Всего было проведено 3 серии опытов.

Установлено, что внутрибрюшное введение фармакопейного левамизола 7,5–10 % -ной концентрации в объеме 0,25 мл вызывало быстрое, в течение одной минуты развитие судорог и гибель мышей. При этом гибель мышей при введении 10 %-ного левамизола наступала в течение 40–70 секунд, а при введении 7,5 %-ного левамизола вызвала гибель мышей в течение 2–3 минут при тех же симптомах.

Первоначально была апробирована схема отдельного применения янтарной кислоты (сукцинат натрия) и фармакопейного левамизола. Растворы сукцината натрия (рН=5,5–6,0) содержали 0,5; 1,0; 1,5; 2,5 %-ную концентрацию янтарной кислоты.

С учетом быстроты развития клинических признаков и гибели белых мышей растворы сукцината натрия вводились за 30 и 5 минут до введения левамизола. Оба препарата вводились в объеме 0,25 мл.

При введении сукцината натрия каких-либо симптомов в поведении экспериментальных животных отмечено не было. Напротив, введение левамизола сопровождалось быстрым развитием хорошо выраженных клинических симптомов с разной интенсивностью их проявления. Наиболее выраженные клинические симптомы судорог, как и следовало ожидать, наблюдались в контрольной группе. Симптомы судорог у экспериментальных животных начали развиваться уже на первой минуте и достигали максимальной выраженности на второй минуте эксперимента. На второй минуте гибель экспериментальных животных – 2 особи, а на третьей минуте – 1 особь.

На фоне хорошо выраженных судорог экспериментальных животных контрольной группы, у особей из других экспериментальных групп клинический эффект на введение левамизола проявлялся заметно слабее. Развитие симптомов судорог наблюдалось не у всех экспериментальных животных. У остальных особей наблюдали лишь периодические вздрагивания без проявления судорог, гибель мышей наступала в течение первых 2–3 минут после введения левамизола.

Таким образом, анализ полученных результатов позволил установить, что янтарная кислота, представленная сукцинатом натрия, обеспечивает выраженное снижение токсичности фармакопейного левамизола. Наименее выраженный защитный эффект янтарная кислота оказала в 0,5 % -ной концентрации. Защитный эффект 1 %-ной янтарной кислоты не уступал по

эффективности более концентрированным раствором. Поэтому эта концентрация янтарной кислоты рекомендуется нами к использованию как базовая при проведении дальнейших экспериментов.

УДК 615.281

*Л.П. Лазурина, К.В. Завидовская, В.О. Устименко, М.В. Рымарова,
Т.В. Осташко*

Курский государственный медицинский университет, г. Курск, Россия

ВЛИЯНИЕ НОВЫХ КОМПЛЕКСНЫХ СОЕДИНЕНИЙ НА АНТИГИПОКСИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Гипоксия представляет собой универсальный патологический процесс, сопровождающий и определяющий развитие самой разнообразной патологии.

Цель работы заключалась в изучении влияния новых комплексных соединений на антигипоксическую активность в эксперименте.

Проведенные исследования выполнены согласно «Руководства по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ» (В.П. Фисенко, Е.В. Арзамасцев, Э.А. Бабаян), «Руководства по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ (под редакцией Хабриева Р.У.).

Изучение фармакологической активности иммобилизованных форм проводили в эксперименте с использованием адекватных экспериментальных моделей лабораторных животных. Экспериментальные исследования были выполнены на теплокровных животных: белые мыши массой 18–20 г, белые крысы линии Wistar массой 120–150 г.

Для решения поставленной задачи применен комплекс современных фармакологических, микробиологических и математических методов.

Для оценки антигипоксической активности изучаемых новых комплексных соединений использовали следующие модели гипоксии: острая гипоксическая гипоксия (гипоксия с гиперкапнией в гермообъеме); острая гемическая гипоксия; острая гистотоксическая гипоксия и модель адреналинового отека легких.

Контролем служили интактные животные, которым вводили физиологический раствор натрия хлорида. Контроль проводили одновременно с опытом. При этом в гермокамеры параллельно сажали опытных и контрольных животных, регистрировали время выживания (ВВ), время реституции (ВР) и рассчитывали соотношение ВВ:ВР как интегральный показатель резистентности. По этим данным судили об эффективности исследуемых комплексных соединений.

Во всех сериях опытов действие исследуемых веществ оценивали с использованием следующих критериев: времени жизни животных в опыте, контроле и на фоне введения эталонного препарата – натрия оксibuтирата.

Анализ полученных данных позволил сделать вывод, что комплексные соединения оказывают защитный эффект, проявляя более выраженное антигипоксическое действие при острой гемической гипоксии (продолжительность жизни подопытных животных увеличивалась почти в 3 раза по сравнению с контролем) и острой гистотоксической гипоксии (превышали эффект препарата сравнения в 1,5 раза).

При гипоксии с гиперкапнией в гермообъеме и на модели адреналинового отека легких антигипоксическую активность проявляли комплексные соединения сравнимую с препаратом сравнения. Продолжительность жизни животных при этих видах гипоксии увеличилась в 2,0–3,5 раза по отношению к контролю.

Таким образом, установлено, что комплексные соединения в своем антигипоксическом действии незначительно уступают препарату сравнения (натрия оксibuтират) при моделировании адреналинового отека легких и острой гипоксической гипоксии, но при острой гемической гипоксии и острой гистотоксической гипоксии их антигипоксическое действие превосходит препарат сравнения (оксibuтират натрия).

УДК 615.322+547.963.61.001.6

*М.В. Лахтин¹, С.С. Афанасьев¹, В.М. Лахтин¹, А.В. Алешкин¹,
В.Ф. Корсун²*

¹Московский научно-исследовательский институт
имени Г.Н. Габричевского, г. Москва, Россия

²Российский университет дружбы народов, г. Москва, Россия

ФИТО- И ДРУГИЕ ПРОБИОТИЧЕСКИЕ ЛЕКТИНЫ В КОМБИНАЦИОННОЙ ТЕРАПИИ

Исследовали пробиотические (полезные для человека) лектины (Л) фитопрепаратов (ЛФ), пробиотических микроорганизмов (ЛПМ) и Л млекопитающих [1–5], эффективные в субагглютинирующих дозах, действующие синергично и каскадно против патогенов человека [5–8]. ЛФ и ЛПМ подавляли рост гемолитических популяций *S.aureus*, измененных дисбиотических лактобацилл, стабилизировали пробиотические лактобациллы [7, 9]. Л лапчатки и звездчатки обладали антимикробными активностями, свойственными и Л-ферментным препаратам [4]. В группе добровольцев и пациентов исследовали терапевтическое действие ЛФ- и ЛПМ-содержащие препараты и эритропоэтина (ЭПО) с лектиновыми свойствами. Л из купены, картофеля, маклеи, эвкалипта в составе свечей Ректофит [ИП Калинин-ченко] (первый курс до 14 суток) в комбинации с ампициллином (первые 7

дней) нормализовали воспаленный увеличенный придаток яичника (устранение кокковой инфекции, диагноза гинеколога), а последующее применение клотримазола (1 неделя) устраняло остаточную грибковую инфекцию (контроль на кандиды). Антидисбиотические свечи с ЛФ не вызывали зуда и местной гиперемии, не ослабляли действие антибиотиков, в отличие от других применяемых внутриванально и внутривагинально препаратов. ЛПМ-содержащие препараты обладали противовоспалительным, антихейлитным, защитным от радиации действием (антизагарным, отбеливающим кожу). Они были эффективны при терапии инфицированной и воспаленной урогенитальной слизистой (снятие красноты, отека; устранение избыточного экссудата; негативный анализ на кокки и кандиды, диагноз уролога). Предложены новые лектиновые методы диагностики ЭПО в моче. ЛФ- и ЛПМ-содержащие препараты использовались повторно (через 2–4 недели) для исключения рецидивов инфекции. Терапевтические препараты ЭПО человека в комбинации с гликоконъюгатами, антителами и ферментами проявляли новые перспективные свойства. Заключение, что ЛФ- и ЛПМ-содержащие препараты и лектиновый ЭПО перспективны в сочетанной комбинационной терапии инфекционных болезней.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Лахтин М.В., Лахтин В.М., Алешкин А.В., Байракова А.Л., Афанасьев С.С., Алешкин В.А., Корсун В.Ф. Пробиотические лектины – ингредиенты биопрепаратов, БАД и лекарственных форм // *Практ. фитотер.* – 2012. – № 1. – С. 4–11.
2. Lakhtin M., Lakhtin V., Aleshkin A., Bajrakova A., Afanasiev S., Aleshkin V. Lectin systems imitating probiotics: potential for biotechnology and medical microbiology // In: “Probiotics”, ed. Rigobelo E.C. – InTech, 2012. – P. 417-432; www.intechopen.com; <http://dx.doi.org/10.5772/3444>. ISBN 978-953-51-0776-7.
3. Корсун В.Ф., Лахтин В.М., Корсун Е.В., Мицконас А. Фитолектины. Руководство по клинической фитотерапии. – М.: Практическая медицина. – 2007. – 285 с.
4. Лахтин М.В., Лахтин В.М., Алешкин В.А., Афанасьев С.С., Алешкин А.В. Лектины и ферменты в биологии и медицине. – М.: Издательство «Династия», 2010. – 496 с.
5. Лахтин М.В., Лахтин В.М., Алешкин В.А., Афанасьев С.С., Пожалостина Л.В., Поспелова В.В., Корсун В.Ф. Фито- и пробиотические лектины – синергичные антипатогены // *Практ. фитотер.* – 2010. – № 1. – С. 5–11.
6. Лахтин М.В., Афанасьев С.С., Лахтин В.М., Алешкин В.А. Прогнозирование выживания и гибели ассоциатов микробных патогенов в присутствии лектинов пробиотических бактерий: значение для терапии // *Бюлл. ВСНЦ СО РАМН.* – 2012. – № 5 (87); Ч. 1. – С. 254–256.
7. Лахтин М.В., Лахтин В.М., Афанасьев С.С., Кахановская Н.А., Пожалостина Л.В., Корсун В.Ф. Лечебный и пробиотический потенциал лектинсодержащих фитопрепаратов // *Практ. фитотер.* – 2009. – № 1. – С. 5–12.
8. Lakhtin M.V., Alyoshkin V.A., Lakhtin V.M., Afanasyev S.S., Pozhalostina L.V., Pospelova V.V. Probiotic *Lactobacillus* and bifidobacterial lectins against *Candida albicans* and *Staphylococcus aureus* clinical strains: New class of pathogen biofilm destructors // *Probiotics & Antimicro. Prot.* – 2010. – V. 2. – P. 186–196.
9. Лахтин М.В., Байракова А.Л., Лахтин В.М., Алешкин А.В., Афанасьев С.С., Алешкин В.А. Кофункционирование лектинов мультикомпонентного пробиотика и потенциального пробиотического компартмента биотопа на примере ауторегуляторной лактобациллярной системы // *Бюлл. ВСНЦ СО РАМН.* – 2012. – № 5 (87); Ч. 1. – С. 250–253.

И.А. Лукьянова, В.И. Плешакова

Омский государственный аграрный университет имени П.А. Столыпина,
г. Омск, Россия

СПОСОБ ПОВЫШЕНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ СПЕЦИФИЧЕСКОЙ ПРОФИЛАКТИКИ ВИРУСНЫХ РЕСПИРАТОРНЫХ БОЛЕЗНЕЙ ТЕЛЯТ

В последние годы в хозяйствах Омского региона практически всех форм собственности возникла и резко обострилась проблема увеличения и поддержания высокой продуктивности, сохранности здоровья, предотвращения заболеваний, преждевременной выбраковки и гибели животных. Основную роль в возникновении респираторных инфекций телят играют вирусы инфекционного ринотрахеита (ИРТ), парагриппа-3 (ПГ-3), вирусной диареи – болезни слизистых оболочек (ВД-БС), в различных сочетаниях [1, 2]. Полиэтиологичная природа респираторных болезней телят, возрастные особенности, а также иммунодефицитные состояния не позволяют традиционным способом вакцинации обеспечивать надежную защиту от инфекций [2, 3]. В данных условиях все большее внимание исследователей привлекают иммунокорректирующие препараты на основе нуклеиновых кислот.

Цель исследований – разработка способа повышения эффективности специфической профилактики вирусных респираторных болезней телят с применением средств, обладающих иммуномодулирующей активностью.

Материалы и методы исследований. Исследования проводили на 15 клинически здоровых телятах 5–7 дневного возраста черно-пестрой породы в условиях стационарно неблагополучного по вирусным респираторным болезням хозяйства. В качестве средства специфической профилактики применяли эмульсионную инактивированную вакцину против ПГ-3, ИРТ, ВД-БС (ФГУ «ВНИИЗЖ»). В качестве иммуномодуляторов использовали препараты Вестин и Провест, представляющие собой комплекс рибонуклеиновых кислот (дсРНК), полученных из киллерных дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*, с добавлением поливинилпирролидона.

Для проведения исследований по принципу аналогов сформировали 3 группы телят по 5 голов в каждой. Телятам первой группы (опыт) внутримышечно вводили препарат Вестин в дозе 8 мг, на физрастворе (4 мл) один раз в день, в течение 5 дней. Животным второй группы (опыт) вводили Провест в дозе 0,5 мг/кг, на физрастворе трехкратно с интервалом 2 дня. Телята третьей группы (контроль) были подвергнуты только вакцинации. Эффективность вакцинопрофилактики оценивали по иммунобиологическим показателям крови в динамике. Взятие крови у телят для иммунологических исследований проводили до вакцинации, через 21 день после вакцинации. Критериями оценки эффективности служили показатели клеточного и гуморального иммунитета, включающие Т- и В-лимфоциты, Т-киллеры, функ-

циональную активность нейтрофилов (НСТ-тест). Уровень поствакцинальных антител к вирусам ПГ-3, ИРТ и ВД-БС изучали в РНГА и РТГА.

Результаты исследований. Сочетанное введение индукторов эндогенного интерферона Вестин и Провест и вакцины против ПГ-3, ИРТ и ВД способствовало повышению иммунного статуса телят.

При анализе иммунологических показателей крови телят опытных и контрольной групп на начало проведения вакцинации и введения иммуномодуляторов (Вестин и Провест), существенных различий по количеству Т-лимфоцитов, В-лимфоцитов и Т-килеров не отмечено. Так через 21 день после введения препаратов отмечены изменения в следующих показателях: в группе телят, где применяли Вестин отмечено увеличение Т-лимфоцитов, на 80,0 % больше, в сравнении с контрольной, а у телят, второй группы, данный показатель увеличился на 7,2 %. Отмечено увеличение В-лимфоцитов в первой (опыт) группе на 14,5 % больше, чем в контроле. У телят, второй группы, количество В-лимфоцитов увеличилось на 54,8 %, в тоже время в контроле достоверных изменений выявлено не было. Под действием препаратов установлено увеличение количества Т-килеров: на 23,3 % у телят первой группы и на 43,6 % во второй соответственно, в контроле достоверных изменений не выявлено. Установлено повышение функциональной активности нейтрофилов крови в спонтанном тесте: на 8,6 % в первой группе и на 10,2 % во второй (опыт) группе, чем в контроле.

Как видно из данных, представленных в таблице № 1, титр вируснейтрализующих антител к ПГ-3, ИРТ и ВД-БС в опытных группах телят, где вводились Вестин и Провест, был выше контрольной в 1,5–3 раза. Сохранность телят в контрольной группе составила 84,2 %, а в опытных – 100 %.

Группа животных	№ п/п	Титр вируснейтрализующих антител		
		ПГ-3	ИРТ	ВД
Препарат Вестин (опыт 1)	1	1:128	1:128	1:128
	2	1:128	1:128	1:256
	3	1:1024	1:128	1:128
	4	1:1024	1:256	1:256
	5	1:1024	1:512	1:256
Препарат Провест (опыт 2)	1	1:128	1:256	1:128
	2	1:512	1:256	1:128
	3	1:512	1:256	1:256
	4	1:512	1:256	1:256
	5	1:512	1:256	1:256
Контроль	1	1:64	1:64	1:16
	2	1:64	1:128	1:64
	3	1:128	1:64	1:64
	4	1:128	1:32	1:32

Применение иммуномодуляторов Вестин и Провест в сочетании с вакциной против ПГ-3, ИРТ и ВД-БС способствует увеличению Т и В-лимфоцитов, Т-килеров, функциональной активности нейтрофилов, обеспечивает повышение прироста живой массы и сохранности телят.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Лисицын В.В.* Проблемы респираторных болезней молодняка крупного рогатого скота и пути их решения / В.В. Лисицын // Ветеринария сельскохозяйственных животных. – 2010. – № 5. – С. 12–16.
2. *Сисягина Е.П.* Влияние зоолана и гликопина на эффективность специфической профилактики вирусных респираторных инфекций телят / Е.П. Сисягина, Г.Р. Реджепова // Актуальные проблемы диагностики, профилактики и лечения болезней сельскохозяйственных животных: Сб.науч.трудов. - Нижний Новгород, 2008. – С. 151–156.
3. *Сисягина Е.П.* Повышение специфической профилактики вирусных респираторных болезней /Е.П. Сисягина, И.А. Убитина, Ю.Р. Юлдашов //Ветеринария сельскохозяйственных животных. – 2012. – № 9. – С. 17–21.

УДК 619:579

Е.А. Ляшенко, С.Н. Золотухин, Д.А. Васильев

Ульяновская государственная сельскохозяйственная академия
имени П.А. Столыпина, г. Ульяновск, Россия

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ БИОПРЕПАРАТА ДЛЯ ФАГОДИАГНОСТИКИ КИШЕЧНОЙ ИНФЕКЦИИ ТЕЛЯТ, ПРОТЕКАЮЩЕЙ С УЧАСТИЕМ БАКТЕРИЙ РОДА *KLEBSIELLA*

Актуальность исследования. В последние годы, благодаря работам отечественных и зарубежных исследователей, расширилось представление об этиологической роли условно-патогенных бактерий рода *Klebsiella* в патологии животных и человека.

Клебсиеллезные инфекции известны как малоизученные инфекционные заболевания, характеризующиеся тяжелым течением, а нередко и смертью. Представители рода *Klebsiella* вызывают у людей и животных пневмонию, острые кишечные инфекции, менингит и септицемию. Контаминируя пищевое сырье и продукты питания, клебсиеллы способны вызывать тяжело протекающие токсикоинфекции. Особого внимания заслуживают работы разных ветеринарных исследователей по изучению роли этого микроорганизма в этиологии инфекционной диареи молодняка животных [2].

В связи с вышеизложенным возникла необходимость в разработке эффективного и доступного для лабораторий разного уровня метода диагностики кишечной инфекции телят, протекающей с участием бактерий рода *Klebsiella*. Одним из таких методов является фагодиагностика, а именно индикация бактерий рода *Klebsiella* непосредственно в исследуемом материале.

Цель исследования. Таким образом, целью наших исследований стала оценка эффективности использования биопрепарата для фагодиагностики кишечной инфекции телят, протекающей с участием бактерий рода *Klebsiella*, с помощью реакции нарастания титра фага (РНФ).

Материалы и методы исследования. Материалом исследования были 13 проб фекалии, полученные от телят с признаками диареи, принадлежащих частным хозяйствам Чердаклинского района Ульяновской области в возрас-

те от 2 – 15 суток. Отбор материала осуществляли в соответствии с правилами, изложенными в «Методических указаниях по бактериологической диагностике смешанной кишечной инфекции молодняка животных, вызываемой патогенными энтеробактериями», утвержденными Департаментом ветеринарии МСХ и П 11 октября 1999 года. Индикацию бактерий рода *Klebsiella* в объектах ветеринарного надзора и патологическом материале проводили с помощью реакции нарастания титра фага по методике описанной В.Д. Тиماковым, Д.М. Гольдфарбом (1961), В.Я. Ганюшкиным (1988).

Результаты исследования. Обнаружение бактерий рода *Klebsiella* проводили с помощью реакции нарастания титра фага и бактериологическим методом.

Результат реакции учитывали по количеству образовавшихся негативных колоний фага в опытных и контрольных чашках. Положительная реакция характеризовалась увеличением количества корпускул хотя бы одного штамма фага по сравнению с контролем в 5 и более раз. Результаты исследований представлены в таблице.

Результаты исследования фекалий больных телят с помощью РНФ и бактериологическим методом

№ пробы	№ фага	Количество негативных колоний		Увеличение негативных колоний (раз)	Результат РНФ	Результат бактериологического исследования
		контроль	опыт			
		(M ± m)				
1	10	70 ± 2,88	65 ± 7,63	—	отрицательный	отрицательный
	81	79 ± 1,00	75 ± 2,64	—	отрицательный	
2	10	70 ± 2,88	74 ± 2,00	1,06	отрицательный	отрицательный
	81	79 ± 1,00	72 ± 3,60	1,03	отрицательный	
3	10	70 ± 2,88	78 ± 4,35	1,11	отрицательный	отрицательный
	81	79 ± 1,00	70 ± 4,04	—	отрицательный	
4	10	70 ± 2,88	63 ± 5,68	—	отрицательный	отрицательный
	81	79 ± 1,00	70 ± 5,03	—	отрицательный	
5	10	70 ± 2,88	405 ± 2,88	5,79	положительный	отрицательный
	81	79 ± 1,00	649 ± 4,93	8,22	положительный	
6	10	70 ± 2,88	72 ± 2,00	1,03	отрицательный	отрицательный
	81	79 ± 1,00	69 ± 3,21	—	отрицательный	
7	10	70 ± 2,88	627 ± 4,72	8,96	положительный	отрицательный
	81	79 ± 1,00	768 ± 4,16	9,72	положительный	
8	10	70 ± 2,88	570 ± 2,51	8,14	положительный	положительный
	81	79 ± 1,00	391 ± 3,78	4,95	слабо положительный	
9	10	70 ± 2,88	57 ± 5,13	—	отрицательный	отрицательный
	81	79 ± 1,00	720 ± 4,61	9,11	положительный	
10	10	70 ± 2,88	60 ± 2,51	—	отрицательный	отрицательный
	81	79 ± 1,00	109 ± 4,16	1,38	отрицательный	
11	10	70 ± 2,88	135 ± 2,88	1,92	отрицательный	положительный
	81	79 ± 1,00	407 ± 8,02	5,15	положительный	
12	10	70 ± 2,88	120 ± 2,15	1,71	отрицательный	отрицательный
	81	79 ± 1,00	105 ± 3,60	1,32	отрицательный	
13	10	70 ± 2,88	111 ± 2,08	1,58	отрицательный	отрицательный
	81	79 ± 1,00	85 ± 2,08	1,07	отрицательный	

Использование биопрепарата состоящего из индикаторных бактериофагов (К – 10 и К – 81) для фагодиагностики кишечной инфекции позволило обнаружить бактерии рода *Klebsiella* в 38 % случаях (5 проб). Время исследования составило 22 часа. Бактериологическим методом данные бактерии были обнаружены в 15 % случаях (в 2 пробах) за 96 часов (4 суток).

Результаты производственных испытаний доказывают высокую чувствительность при использовании биопрепарата для фагодиагностики кишечной инфекции телят, протекающей с участием бактерий рода *Klebsiella*, с помощью реакции нарастания титра фага (РНФ) в сравнении с бактериологическим методом исследования с меньшей затратой времени, реактивов и посуды.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бульканова Е.А. Выделение и изучение основных биологических свойств бактериофагов *Klebsiella*, конструирование на их основе биопрепарата: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Саратов, 2006. – 21 с.
2. Золотухин С.Н. Создание и разработка схем применения диагностических биопрепаратов на основе выделенных и изученных бактериофагов энтеробактерий: Автореф. дис. ... доктр. биол. наук. – Ульяновск, 2007. – 39 с.

УДК 615.21

Ю.А. Мазур, Е.А. Федотова

Саратовский филиал Самарского медицинского института «РЕАВИЗ»,
г. Саратов, Россия

АНАЛИЗ НООТРОПНЫХ ПРЕПАРАТОВ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКОГО ГЕНЕЗА, ПРЕДЛАГАЕМЫХ АПТЕКАМИ САРАТОВА

XXI век – век новых технологий, бурного научно-технического прогресса и, как следствие, стремительного ритма жизни. Но насколько адаптирован к таким «стремительным» условиям человек? Современная цивилизация безусловно оказывает колоссальное давление на высшую нервную деятельность человека, причем это не только психоэмоциональные нагрузки в виде стрессов, но и непрерывно увеличивающиеся потоки информации, неблагоприятная экологическая обстановка и т.д. Нельзя сбрасывать со счетов и повышающуюся год от года травмоопасность проживания в урбанистическом обществе. Все вышеперечисленное приводит к увеличению числа людей с патологиями центральной нервной системы и сосудистыми заболеваниями головного мозга.

Одним из наиболее часто встречающихся проявлений хронических цереброваскулярных заболеваний являются нарушения когнитивных функций. Ведущее место в структуре цереброваскулярных заболеваний занима-

ет дисциркуляторная энцефалопатия – ее распространенность составляет 70–100 человек на 1000 населения. В связи с этим практически важным является разработка новых подходов (и препаратов) для лечения данного ряда патологий.

Наиболее значимыми в этом плане являются ноотропные препараты (*греч. noos ум, разум + tropos направление*) – психотропные лекарственные средства, улучшающие память и умственную деятельность, и стимулирующие процессы обучения, нарушенные различными повреждающими воздействиями.

В 1963 г. бельгийскими фармакологами С. Giurgea и V. Skondia был синтезирован первый препарат этой группы – *пирацетам (ноотропил)*, в химическом плане представляющий собой циклический аналог γ-аминомасляной кислоты (ГАМК).

На сегодняшний день аптечные сети могут предложить широкий ассортимент ноотропных препаратов, отличающихся как своей структурой, так и методом получения. Как выбрать оптимальный вариант? Безусловно, следует оценивать механизм и конкретику действия, но не стоит забывать и о возможных побочных эффектах и противопоказаниях к применению того или иного препарата.

Побочное действие у отдельных ноотропных препаратов, причем, как правило, химического генеза, проявляется неодинаково, хотя для многих из них наиболее характерными признаками являются аллергические реакции, повышенная раздражительность, беспокойство и бессонница. Например, пирацетам может вызывать диспептические расстройства и обострение коронарной недостаточности, мексидол – аллергические реакции, тахикардию и гиперемию. Пиридитол может вызывать тошноту и головную боль, а у детей – психомоторное возбуждение. Для побочного действия инстенона характерны кратковременная тахикардия, неприятные ощущения в области сердца, гиперемия лица, незначительная головная боль.

Следует отметить, что в последнее время пациенты останавливают свой выбор на препарате «Кортексин», так как он является продуктом современных биотехнологий, хорошо переносится пациентами, не вызывает побочных реакций, его применение не оказывает негативного влияния на гомеостаз и метаболизм. Кортексин (*Cortexin*) – отечественный препарат пептидной структуры, полученный путем ферментативного гидролиза тканей мозга телят или свиней, содержит комплекс аминокислот и пептидов с молекулярной массой от 1 до 10 кДа. Кортексин был разработан в начале 1980-х гг. коллективом ученых Военно-медицинской академии под руководством академика РАМН Ф.И. Комарова, прошел широкую доклиническую и клиническую проверку на мощной экспериментальной базе кафедр, НИИ и клиник Военно-медицинской Академии, а затем был успешно применен в ходе боевых действий в Афганистане. В настоящее время, как фармакологи, так и практические клиницисты единодушны во мнении, что именно «Кортексин» является ведущим препаратом для лечения мозга и большого количества сопутствующих заболеваний нейронного происхождения.

Что же еще интересного (в биотехнологическом плане) предлагают аптеки г. Саратова? Наше внимание привлекли препараты на основе алкалоидов растения барвинка малого (*Vincaminor*), семейства кутровых (*Arosupaseae*) – винкамин и винпоцетин. Однако среди их побочных эффектов – снижение артериального давления с возможной экстрасистолой и тахикардией.

Кроме того, одна из популярнейших торговых марок предлагает биологическую активную добавку на основе растения гинкго билоба (*Ginkgobiloba*), семейства гинкговые (*Ginkgoaceae*). По статистике, в той же Франции и Германии до 70 % пожилых пациентов принимают средства на основе экстракта гинкго. А что предпочитают посетители саратовских аптек?

Ответ на этот вопрос дает наше исследование, проведенное на базе одной из аптек сети «Имплозия». Установлено, что из 279 покупателей ноотропных препаратов за исследуемый период времени (один месяц) 75 % выбрали препарат «Кортексин», 15 % выбрали препараты церебральных вазодилататоров (инстенон, винкамин, винпоцетин), а 10 % отдали предпочтение препаратам, относящимся к группе биологически активных добавок (на основе гинкго билоба).

Итак, нами проанализирован современный ассортимент ноотропных препаратов, установлено, что наиболее популярными и перспективными являются препараты биотехнологического генеза.

УДК 619:615.341

К.С. Маловастый

Брянская государственная сельскохозяйственная академия,
Брянская обл., с. Кокино, Россия

БУДУЩЕЕ ХИМИЧЕСКИМ ВАКЦИНАМ

Для иммунизации животных в настоящее время используются живые вакцины, которые загрязняют окружающую среду видоизменёнными и вирулентными возбудителями болезней, вызывают поствакцинальные осложнения у животных и человека. После вакцинация убитыми или живыми вакцинами организм животных и человека вырабатывает антитела на десятки антигенов. Давно пора готовить химические вакцины из протективного (иммуногенного) антигена возбудителей болезней животных [3–6].

Сибирская язва – уникальная инфекционная болезнь животных и человека. Ареал распространения сибирской язвы охватывает все континенты. Общая обстановка по сибирской язве за последние 30 лет наблюдения, с точки зрения географии мало в чем изменились. По данным ФАО ВОЗ сибирская язва – одна из наиболее опасных и широко распространённых заболеваний [1].

С целью профилактики сибирской язвы в течение многих лет широко применяются вакцины из живых аттенуированных безкапсульных штаммов микроорганизмов с разной вирулентностью. Вакцинопрофилактика, являлась основным средством борьбы с сибирской язвой, способствовала резкому снижению заболеваемости животных.

Детальная перепроверка архивных образцов вакцины СТИ на Орловской биофабрике не только по требованиям ГОСТа, но и значительно расширенному диапазону их показала, что ряд серий вакцины СТИ контаминирован спорами вирулентного штамма возбудителя сибирской язвы от единиц до сотен спор на одну дозу вакцинного [2].

При проведении иммунизации животных часть вакцины попадает в почву (выливается из шприца, разносится с флаконами после вакцинации и т.д.), бацилла размножается в ней и образуются новые очаги сибирской язвы там, где её никогда не было. Поэтому и другим причинам во всем мире увеличивается количество неблагополучных сибиреязвенных очагов, которые такими остаются независимо от срока давности. На этих территориях нельзя выпасать животных, проводить земляные работы, строить водохранилища и т.д.

В связи с этим возникла необходимость создания инактивированных противосибиреязвенных химических вакцин, которые, с одной стороны, позволили бы создать достаточно напряжённый иммунитет, а с другой – имели максимально сниженные нежелательные эффекты живой вакцины. Такую вакцину удалось приготовить и изучить её свойства на основе протективного антигена бацилл сибирской язвы. Причём химические вакцины, активирующие в опытах на животных ту или иную сторону иммуногенеза, позволяли создать защиту от экспериментального заражения на уровне живой вакцины и даже выше. Гуморальная система, отвечая быстрой и высокой реактивностью на введение препаратов, в короткие сроки переходила к нормаргии, причём иммунная память сохранялась при введении вирулентных микроорганизмов, провоцировалась более быстрая и интенсивная выработка антител, а снижение их уровня происходило лишь по мере деструкции и элиминации возбудителя [3–6].

Приготовленная нами химическая вакцина из протективного антигена возбудителя сибирской язвы не заставляет организм животных вырабатывать антитела против десятков антигенов, которые не нужны животным для защиты от инфекции. Отсутствие балластных веществ способствует снижению токсичности, пирогенности, аллергенности вакцины и быстрому формированию напряженного иммунитета. Позволяет прекратить работу с высоковирулентной сибирской язвой (среди видов бактериологического оружия она на 1 месте) в условиях биофабрик, предотвратить разнос инфекции при приготовлении вакцин, утилизации флаконов от вакцин, иммунизации животных и недопустить заражения почвы и окружающей территории на сотни лет.

Химические вакцины упрощают диагностику сибирской язвы у иммунизированных ранее животных, так как после введения химической вакци-

ны в организм не поступают сибиреязвенные бациллы. Иммунизированных животных можно направлять на убой через сутки после вакцинации (в настоящее время убой животных разрешается проводить через 14 суток после вакцинации). После вакцинации протективным антигеном отсутствуют поствакцинальные осложнения, которые возникают после применения живых вакцин из-за наличия большого количества вирулентных спорных микроорганизмов, ослабления, заболевания животных.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бакулов Н.А., Гаврилов В.А., Селиверстов В.В. Сибирская язва (АНТРАКС); Новые страницы в изучении «старой» болезни. – Владимир, 2001. – 280 с.
2. Бакулов Н.А., Гаврилов В.А., Косяченко Н.С. Современные воззрения на безопасность живых сибиреязвенных вакцин. //Ветеринария. – 1993. – № 4. – С. 22–23.
3. Маловастый К.С. Влияние дибиомицина и бициллина-3 на формирование иммунитета у морских свинок вакцинированных сибиреязвенным протективным антигеном. В. кн.: Ветеринария в животноводстве Сибири и Дальнего Востока. Научно-технический бюллетень. – Новосибирск, 1979. – Вып. 15. – С. 25–27.
4. Маловастый К.С. Влияние антибиотиков на формирование иммунитета против сибирской язвы. // Сибирский вестник сельскохозяйственной науки. – 1982. – № 3. – С. 86–91.
5. Маловастый К.С. Противосибиреязвенный иммуноморфогенез у животных в условиях применения антибиотиков //Науч. труды. ВАСХНИЛ. /Проблемы ветеринарной иммунологии – М., 1985. – С. 87–90.
6. Маловастый К.С. Эффективность противосибиреязвенных препаратов. /Материалы Международной научно-производственной конференции «Актуальные проблемы эпизоотологии на современном этапе». – СПб, издательство СПб ГАВМ, 2004. С. 83–85.

УДК 619: 616. 98:579.873.21

Н.М. Мандро

Дальневосточный государственный аграрный университет,
г. Благовещенск, Россия

ВЛИЯНИЕ ПРЕПАРАТА ИЗ КОСТНОГО МОЗГА ЛИСИЦ НА ГУМОРАЛЬНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ КРОВИ ЖИВОТНЫХ

Костный мозг – один из источников иммунокомпетентных клеток, производными которых являются белки, применяемые в качестве модуляторов для повышения резистентности организма животных [1, 2]. В настоящее время охарактеризован гуморальный фактор костного мозга и изучены его некоторые физико-химические свойства [4]. Получение биологически активных веществ из костного мозга домашних и сельскохозяйственных животных изучено по многим направлениям. Однако костный мозг диких животных Дальнего Востока и возможность использования его биологически активных веществ изучены не достаточно[3]. Научные исследования био-

логически активных субстанций костного мозга диких животных в создании новых препаратов для быстрой и направленной стимуляции выработки антител в организме и изучении воздействия данных препаратов на формирование повышенной резистентности и иммунитета являются актуальными.

Объектом исследования были здоровые лабораторные животные – беспородные белые мыши одной линии, находящиеся в одном физиологическом состоянии: самцы, в одной возрастной категории (5–6 месяцев), массой $18,8 \pm 0,3$ грамма. В эксперименте использовано 72 животных. Группы формировали из 6 контрольных и 6 подопытных животных в каждом исследовании (в трех повторениях). Животных помещали в одинаковые условия после иммунизации подопытных и наблюдали за их клинико-физиологическим состоянием до появления первого иммунного ответа на введенный антиген.

Активные белковые фракции из костного мозга лисиц, которые были получены по разработанной нами методике (патент № 2298939; заявл. 2005119822/13, 27.06.2005), вводили в подушечку одной из задних конечностей подопытной мыши в различных дозах (0,01 мл, 0,02 мл и 0,03 мл на мышь). Контрольным животным вводили физиологический раствор в аналогичных дозах в те же точки. На 8-е сутки проводили оценку иммунного ответа организма животных. Кровь у исследуемых мышей брали методом декапитации на 8-й день после иммунизации.

В сыворотке крови иммунизированных животных препаратом из костного мозга в дозе 0,02 мл, которая обладала наибольшей эффективностью, обнаружено значительное повышение уровня общего белка (табл.) на 72,5 % по сравнению с контролем, что подтвердилось статистически. Препарат стимулирует синтез альбуминов в крови мышей. Этих протеинов стало больше, чем у контрольных животных на 108,3 % ($P < 0,001$).

Сравнивая α_1 и α_2 – глобулины крови опытной и контрольных групп по таблице отметили, что действие препарата в незначительной мере сказалось на содержании фракции α_1 – глобулинов – на 62,8 %, а на α_2 – глобулинов – на 60,2 % у иммунизированных мышей.

Влияние изготовленного препарата из костного мозга лисиц на содержание общего белка и его фракций у мышей

Показатели электрофореза г/л		Лабораторные мыши				Разница показателей (%)
		контроль		опыт		
		M±m	%	M±m	%	
Общий белок		49,5±0,91	100,0	85,4±1,32	172,5	72,5
Альбумины		12,0±0,64	100,0	25,0±1,41	208,3	108,3
Глобулины	α ₁	7,0±0,40	100,0	11,4±0,43	162,8	62,8
	α ₂	7,3±0,28	100,0	11,7±0,85	160,2	60,2
	β	9,1±0,33	100,0	10,3±0,72	113,1	13,1
	γ ₁	10,3±0,26	100,0	20,3±0,73	197,0	97,0
	γ ₂	3,2±0,13	100,0	6,4±0,42	200,0	100,0
γ ₁ + γ ₂		13,6±0,18	100,0	26,8±0,41	197,0	97,0
%Σ γ ₁ + γ ₂		27,6±0,43	100,0	31,4±0,59	113,7	13,7

На 13,1 % повысилось содержание β – глобулиновой фракции, но указанное различие было недостоверным. На уровень γ_1 и γ_2 – глобулинов в сыворотке подопытной группы животных препарат оказал достоверно иницирующее действие на 97 и 100 % соответственно.

Таким образом, изготовленный препарат в дозе 0,02 мл эффективно воздействует на белковый состав крови белых мышей и достоверно повышает количество общего белка на 72,5 %, альбуминов на 108,3 %, и глобулинов ($\gamma_1 + \gamma_2$) на 97 % в сравнении с контролем. Меньшее количество изменений установлено у фракции β – глобулинов (с $9,1 \pm 0,33$ г/л их стало $10,3 \pm 0,72$ г/л), которая является наиболее стабильной, мало зависящей от воздействия костномозгового препарата.

Использование этого препарата в иммунокоррекции поможет решить один из вопросов проблемы современной иммунологии, связанной с иммунодефицитами.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Прокофьева, Н.Г. К вопросу о фракционировании суспензии клеток животного происхождения и оценке функциональной активности отдельных фракций / Н.Г. Прокофьева, М.М. Анисимов // Биологические и медицинские исследования на Дал. Востоке. – Владивосток, 1971. – С. 168–174.
2. Федоров, Ю.Н. Иммунокоррекция: применение и механизм действия иммуномодулирующих препаратов / Ю.Н. Федоров // Ветеринария. – 2005. – № 2. – С. 3–6.
3. Зарицкая В.В. К вопросу о биологических особенностях костного мозга диких животных Дальнего Востока / В.В. Зарицкая, Н.М. Мандро. // Сельскохозяйственная биология. – 2006. – № 6. – С. 114–115.
4. Петров, Р.В. Изучение природы гуморального фактора костного мозга / Р.В. Петров, В.И. Новиков, Л.А. Захарова // Бюлл. экспер. биол. и мед. – 1978. – № 11. – С. 563–566.

УДК 637.5:636.2.054.082

И.В. Миронова

Башкирский государственный аграрный университет, г. Уфа, Россия

ПОКАЗАТЕЛИ ЕСТЕСТВЕННОЙ РЕЗИСТЕНТНОСТИ БЫЧКОВ БЕСТУЖЕВСКОЙ ПОРОДЫ И ЕЕ ПОМЕСЕЙ С ПОРОДАМИ САЛЕРС И ОБРАК

Организм животного в процессе роста и развития подвергается постоянному воздействию факторов внешней среды. При помощи механизмов адаптации животное старается противостоять им. Способность животного организма противостоять воздействию факторов внешней среды, являющихся в отдельных случаях сильнодействующими стресс-факторами, называется естественной резистентностью. Состояние естественной резистентности определяют неспецифические факторы организма животных, органично связанные с их видом, конституциональными и индивидуаль-

ными особенностями и формирующими иммунитет. В оценке уровня резистентности большое значение имеет определение гуморальных факторов защиты, таких как бактерицидная активность сыворотки крови, содержание лизоцима и бета-лизинов, а также изменение их качества и соотношения в связи с сезоном года.

Научно-хозяйственный опыт проводился в 2010–2011 гг. в СПК – колхоз «Алга» Чекмагушевского района Республики Башкортостан. Для опыта подбирали коров бестужевской породы по 3–5 отелу, которые осеменялись согласно схеме опыта спермой высококлассных быков соответствующих пород. При этом были сформированы 3 группы животных:

- I – бычки бестужевской породы;
- II – бычки помеси $\frac{1}{2}$ салерс х $\frac{1}{2}$ бестужевская;
- III – $\frac{1}{2}$ обрак х $\frac{1}{2}$ бестужевская.

В связи с тем, что иммунологическая реактивность организма сельскохозяйственных животных непостоянна и меняется в зависимости от ряда факторов исследования на чистопородных и помесных бычках проводились по сезонам года (табл.).

Показатели естественной резистентности

Показатель	Группа		
	I	II	III
Зима			
Бактерицидная активность сыворотки крови, %	68,53±0,60	73,83±0,48***	72,37±0,59**
Лизоцим, мкг/мл	3,37±0,06	3,67±0,10**	3,50±0,04
Бета-лизины, %	16,97±0,59	20,97±0,28***	18,00±0,15
Лето			
Бактерицидная активность сыворотки крови, %	63,50±0,37	67,37±0,27***	66,23±0,37**
Лизоцим, мкг/мл	2,30±0,08	2,73±0,08**	2,53±0,06
Бета-лизины, %	15,10±0,31	18,27±0,14***	16,37±0,17*

* – $P < 0,05$; ** – $P < 0,01$; *** – $P < 0,001$

Анализ полученных данных свидетельствует, что у бычков всех групп показатели бактерицидной активности сыворотки крови зимой были выше, чем летом. Это обусловлено активизацией иммунной защиты молодняка в зимний период в ответ на воздействие неблагоприятных факторов внешней среды. В летний период условия внешней среды более благоприятные, и судя по уровню бактерицидной активности сыворотки крови, защитные силы организма снижаются. При этом уменьшение величины изучаемого показателя у бычков I группы составляло 5,03 %, II группы – 6,46 %, III – 614 %. Характерно, что преимущество по бактерицидной активности во все сезоны года было на стороне помесных бычков. Достаточно отметить, что чистопородные бычки уступали салерс х бестужевская помесям в зимний период по уровню БАСК на 5,3 %, в летний период на 3,87 %, обрак х бестужевская помесям соответственно на 3,84 и 2,73 %.

Известно, что лизоцим является одним из важнейших факторов естественного иммунитета животных. Полученные нами данные свидетельствуют о достаточно высоком его содержании в сыворотки крови бычков всех групп. При этом отмечено снижение его уровня в летний период по сравнению с зимним, у молодняка всех групп. Так, у бычков I группы величина изучаемого показателя к лету снизилась на 1,07 мкг/мл (46,52 %, $P < 0,001$), II группы – на 0,94 мкг/мл (34,43 %, $P < 0,001$), III – на 0,97 мкг/мл (38,34 %, $P < 0,001$). Установлены и межгрупповые различия по уровню лизоцима как зимой, так и летом. Во всех случаях преимущество было на стороне помесных животных.

Так, молодняк I группы уступал по величине изучаемого показателя в зимний период бычкам II группы на 0,3 мкг/мл (8,90 %, $P < 0,01$), а летом – на 0,43 мкг/мл (18,70 %, $P < 0,01$), бычкам III группы – на 0,13 мкг/мл (3,86 %) и 0,23 мкг/мл (10,0 %, $P < 0,05$) соответственно.

Сезонная динамика изменения активности бета-лизинов аналогична изменениям бактерицидной активности сыворотки крови и лизоцима. Так, у молодняка I группы их активность в летний период по сравнению с зимним снизилась на 1,87 %, II группы – на 2,7 %, III группы – на 1,63 %. При этом лидирующее положение по величине изучаемого показателя занимал помесный молодняк. Достаточно отметить, что чистопородные животные уступали в зимний период по активности бета-лизинов салерс х бестужевская сверстникам на 4,0 %, обрак х бестужевская – на 1,03 %, летом на 3,17 % и 1,27 % соответственно.

Таким образом, иммунологические показатели, характеризующие состояние защитных сил организма, свидетельствуют, что животные всех групп отличались высокой лабильностью защитных механизмов и адаптационной способностью. Факторы неспецифической защиты помесных животных, полученных в результате скрещивания бестужевского скота с породами салерс и обрак, находились на сравнительно высоком уровне и не выходили за пределы физиологической нормы при статистически достоверной разнице с чистопородными особями.

УДК 619:615.36:615.33:636.4

С.В. Михайлова, Л.В. Ческидова

ГНУ Всероссийский НИВИ патологии, фармакологии и терапии
Россельхозакадемии, г. Воронеж, Россия

ПРИМЕНЕНИЕ ЛИПОТОНА С КОМПЛЕКСНЫМ АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫМ ПРЕПАРАТОМ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ АССОЦИАТИВНОЙ ИНФЕКЦИИ У ПОРОСЯТ

Применение только антимикробной терапии при инфекциях у поросят не может устранить все причины их патологического состояния, так как в большинстве случаев оно является следствием нарушения метаболизма в

организме, что сопровождается снижением иммунологической резистентности. В то же время тканевые препараты способствуют восстановлению нарушенного обмена веществ и повышают устойчивость организма к неблагоприятным факторам внешней среды. Поэтому целью наших исследований явилась оценка терапевтической эффективности нового комплексного антибактериального препарата ФК-1 в сочетании с тканевым препаратом липотон при ассоциативной инфекции у поросят.

Для исследований были отобраны поросята 3-4 дневного возраста, у которых в результате лабораторных исследований была обнаружена кишечная инфекция, возбудителями которой являлись *E.coli* и *Enterococcus faecalis*.

Поросята первой группы служили контролем, им применяли тилозин-50. Животным опытной группы – ФК-1 внутримышечно в дозе 0,1 мл/кг двукратно с интервалом 48 часов и липотон-500 внутримышечно в дозе 0,015 мл/кг трехкратно с интервалом 24 часа.

При оценке результатов установлено, что терапевтическая эффективность в опытной группе по сравнению с контрольной была на 24,3 % выше, сроки выздоровления короче на 10,9 %, а среднесуточные привесы выше на 17,4 %.

Таким образом, проведенные испытания показали, что ФК-1 с липотоном обладает высокой терапевтической эффективностью при лечении ассоциативной бактериальной инфекции подсосных поросят.

УДК: 636.5.033:636.087.7

С.И. Николаев, А.К. Карапетян

Волгоградский государственный аграрный университет, г. Волгоград, Россия

ВЛИЯНИЕ ПРЕМИКСОВ НА ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ЦЫПЛЯТ-БРОЙЛЕРОВ

Накопленный к настоящему времени отечественный и зарубежный опыт показывает, что наиболее высокий эффект от биологически активных веществ и кормовых добавок в комбикормах можно получить при комплексном их применении в виде премиксов [1, 2].

Целью наших исследований явилось изучение влияния премиксов «Кондор», содержащих незаменимые аминокислоты, ферменты, лекарственные препараты, витамины, минеральные вещества на живую массу цыплят-бройлеров и использование азота рациона.

Для опыта были сформированы в 7-суточном возрасте 3 группы цыплят (одна контрольная и две опытные) по 50 голов в каждой группе. Цыплят в группы подбирали по методу аналогов с учетом кросса, возраста, живой массы, развития. Условия содержания, фронт кормления и поения, параметры микроклимата во всех группах были одинаковыми и соответствовали рекомендациям ВНИТИП.

В период роста к основному рациону (ОР) который включал пшеницу и ячмень, контрольной группе, 1- и 2-опытной группам вводили соответственно 0,5, 1, 1,5 % премикса 168-1П5-2, который содержал лизин, метионин, треонин, витамины, минеральные вещества, кокцисан, бацихилин 120, антиоксидант. В период роста в 100 г комбикорма, контрольной группы содержалось обменной энергии 308,76, сырого протеина – 22,68 % , а в 1 и 2 опытной соответственно обменной энергии 309,7 и 312,1 ккал, сырого 22,75–22,78 %. В период финиша к основному рациону (ОР) который включал пшеницу и ячмень, контрольной группе, 1- и 2-опытной группам вводили соответственно 0,5, 1,0, 1,5 % премикса 168-1П5-3, который содержал лизин, метионин, витамины, минеральные вещества, фитазу, антиоксидант. В финишный период в 100 г комбикорма содержалось в контрольной группе обменной энергии – 310,9 ккал, сырого протеина – 21,15 %, а в 1 и 2 опытной соответственно обменной энергии 314,3 и 317,4 ккал, сырого протеина 21,52 и 21,9 %.

Живая масса является важным показателем роста и развития цыплят-бройлеров, отличающихся большой интенсивностью роста. По результатам взвешивания подопытных цыплят-бройлеров, к 42-дневному возрасту в контрольной группе, средняя живая масса составила 2145 г, а среднесуточный прирост – 57,3 г. В опытных группах средняя живая масса составила 2264–2290 г, а среднесуточный прирост 60,65–61,41 г, что превышало показатель контрольной группы соответственно на 5,5–6,8 и 5,8–7,2 %.

Изучению баланса и использования азота в организме птицы придают большое значение при проведении научных исследований. По балансу азота определяют использование (усвоение) протеина корма, прирост или убыль белка в теле птицы.

Использование азота от принятого в контрольной группе составило 43,69 %, во 2-опытной группе – 47,73, что выше, чем в контроле на 4,04 %, в 3- опытной – 45,52 %, что выше, чем в контроле на 1,83 %.

Следовательно, в кормлении цыплят-бройлеров целесообразно использовать в период роста премикс 168-1П5-2 в дозе 1,0 % и в период финиша премикс 1ПК5-3 в дозе 1,0 %.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Мухина, Н.В. и др. Корма и биологически активные кормовые добавки для животных / Н.В. Мухина, А.В. Смирнова, З.Н. Черкай, И.В. Талалаева; Под общей ред. Н.В. Мухиной. – М.: КолосС, 2008. – 271 с.
2. Теняев, А. Премиксы Ровимикса / А. Теняев // Комбикорма. – 2000. – № 7. – С. 50–51.

Е.Ю. Осипенко, Н.О. Карачевцева, Е.Ю. Водолагина, Л.А. Воронцова
Дальневосточный государственный аграрный университет,
г. Благовещенск, Россия

БЕЛКОВЫЙ СОСТАВ ПЕРВОГО УДОЯ МОЛОЗИВА В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СЕЗОНА ГОДА

Для выполнения всех физиологических функций организма телят, сохранения их здоровья и получения максимальной продуктивности необходимы корма как источники энергетического и пластического материала. Особое внимание уделяется поиску и изучению биологически активных веществ (БАВ), усиливающих рост и развитие животных. Интерес исследователей привлекают иммуноглобулины крови и молозива животных, в связи с их участием в формировании иммунитета [3, 5].

Молозиво является основным связующим звеном в критический период перехода теленка от внутриутробного плацентарного питания к питанию в условиях внешней среды, являясь единственным источником питательных веществ теленка в первые часы и дни жизни. Молозиво обеспечивает основные потребности животных в энергии, пластических и минеральных веществах, витаминах [2, 4].

Следует отметить, что особенностью молозива является то, что оно содержит большое количество белков (15–16 %), которые по составу приближаются к крови, в нём находится до 20,09 % общего протеина, в том числе 12,5–13 % глобулина. В молозиве много альбумина, который усваивается организмом новорожденного лучше, чем казеин [1].

Белки молозива являются одним из главных компонентов. В связи со специфической ролью их в поддержании жизни новорожденного количество и соотношение белков подвержено резким изменениям от удоя к удою. Высокая концентрация общего белка в 1-м удое быстро снижается уже ко 2 дню после отела.

Большинство исследователей, изучавших сезонные различия белкового состава молозива и молока, сходятся на том, что самое низкое содержание общего белка, казеина и иммунного глобулина наблюдается весной (табл.).

Наиболее важными белками молозива являются иммуноглобулины, составляющие основную часть белков молозивной сыворотки (70–80 % в первых удоях). Этот белок, как указывалось, выполняет важнейшую функцию иммунологической защиты в период формирования собственных иммунозащитных сил новорожденного.

По нашим данным, изменения концентрации этого белка по сезонам года наиболее заметными были лишь в первые два дня после отела. Так, в 1 удое и в 1 день лактации меньше всего иммуноглобулина было в весеннем молозиве и больше в летнем.

Белковый состав первого удоя молозива в зависимости от сезона года

Показатели	Летне-осеннее	Зимне-весеннее	Различия %
общий белок (г/л)	149,2±2,11	127,2±2,31	14,7**
казеин (г/л)	72,5±3,81	52,3±3,28	27,9**
белки сыворотки (г/л)	76,7±2,77 100 %	66,2±1,46 100 %	13,7**
иммуноглобулины (г/л)	59,1±2,21 77,04 %	43,7±0,99 66,12 %	26,1**
α-лактальбумины (г/л)	5,6±0,23 7,37 %	7,9±0,17 11,91 %	-41,1**
β-лактоглобулины (г/л)	9,7±0,88 12,62 %	12,3±0,79 18,55 %	-26,8**
сывороточный альбумин (г/л)	2,3±0,08 2,97 %	2,3±0,07 3,42 %	0,0

Примечание: * P<0.05; ** P<0.01; – показатели достоверности различий

Наличие в весеннем молоке низкого уровня иммунных глобулинов привело к заболеваниям новорожденных телят.

В первом удое и в первый день лактации весеннее молозиво по содержанию иммуноглобулинов является наиболее бедным, чем в остальные сезоны года. Это подтверждает сравнение уровня иммуноглобулинов от содержания общего белка в разные сезоны года. Иммунные глобулины в первом удое весной составляли всего 26,7 % от общего белка молозива, тогда как летом – 45,4 %.

Многие исследователи указывают на более качественный белковый состав молозива и молока в летне-осеннее время, в т.ч. и по содержанию иммунных глобулинов. Наши данные, полученные в эти периоды года, особенно по содержанию иммуноглобулинов согласуются с литературными.

Таким образом, проведенные нами исследования состава молозива первого удоя и в разные сезоны года позволили считать, что на жизнеспособность новорожденных телят оказывает наибольшее влияние молозиво первых удоев. Влияние состава молозива на выживаемость телят связано, прежде всего, с содержанием в нем иммуноглобулинов. Весеннее молозиво коров в Амурской области, отличающееся более низким содержанием иммунных глобулинов и низким уровнем кислотности, ухудшает резистентность новорожденных телят в отношении желудочно-кишечных заболеваний и понижает их выживаемость.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Горбатова, К.К. Биохимия молока и молочных продуктов / К.К. Горбатова. – СПб.: ГИОРД, 2004. – 218 с.
2. Коробко, А.В. Влияние различных биопрепаратов на сохранность телят / А.В. Коробко // Молочное и мясное скотоводство. – 2000. – № 2. – С. 28–29.
3. Лебедева, Е.П. Защитные свойства молозива в первые 10 дней лактации коров / Е.П. Лебедева, Н.В. Кленина, В.С. Антонов // Проблемы ветеринарной иммунологии. – М., 1985. – С. 58–60.

4. Шуканов, А.Д. Выращивание телят в условиях адаптивной технологии / А.Д. Шуканов, В.Г. Семенов // Ветеринария. – 2000. – № 10. – С. 48–51.

5. Hermansen, John E. Effects of dietary protein supply on caseins, whey proteins, proteolysis and renneting properties in milk from cow's grazing cover or N fertilized grass / John E. Hermansen, Steen Ostensen, Niels Justensen // J. Dairy Res. – 1999. – 66, № 2. – P. 193–205.

УДК 619:579

Н.А. Парамонова, Д.А. Викторов, Д.А. Васильев, С.Н. Золотухин

Ульяновская государственная сельскохозяйственная академия
имени П.А. Столыпина, г. Ульяновск, Россия

РОЛЬ БАКТЕРИЙ *FLAVOBACTERIUM PSYCHROPHILUM* В ПАТОГЕНЕЗЕ РЫБ

Бактериальная холодноводная болезнь, вызванная *F. psychrophilum*, встречается во всем мире [4], преимущественно у лососевых при искусственном выращивании. Способность возбудителя холодноводной болезни приобретать устойчивость к антибиотикам, вероятно, приводит к быстрому развитию резистентности к лечебным препаратам, а также к рецидивирующим инфекциям [9]. В настоящее время лечение рыб от данной инфекции является малоэффективным методом [3].

Вирулентные формы условно-патогенных бактерий *F. psychrophilum* вызывают эпизоотии и массовую гибель при неблагоприятных или стрессовых для рыб условиях, способствующих повышению восприимчивости гидробионтов к инфекциям и усиливающих приспособляемость бактерий [2].

F. psychrophilum удавалось выделять из патологического материала лососевых, сомовых, карпа, карася [5] и некоторых аквариумных рыб при температуре воды 4–10 °С. При холодноводной болезни у личинок рыб происходит коагуляция желтка, эрозия кожных покровов и желточного мешка. Гибель личинок может достигать 50 %. У мальков отмечают потемнение окраски тела, появление характерных поражений в виде белых пятен. У сеголетков отмечают эрозию спинного и хвостового плавников, гиперемии в области анального отверстия, некроз спинного плавника, хвостового стебля с оголением скелета, нижней челюсти. У годовиков выявляют разрушение кожи с оголением мышц на голове, челюстях, на разных участках тела, анемию и геморрагии жабр. Больные рыбы отказываются от корма. Гибель мальков, сеголетков и годовиков достигает 10–20 %. У форели первым поражается жировой плавник, который постепенно обесцвечивается к основанию. Хвостовой плавник рыбы приобретает грязно-белый цвет. Иногда разрушение хвостового плавника развивается до такой степени, что обнажаются мышцы и позвоночник. У балтийского лосося поражения кожи могут начинаться на спине. У кижуча часто поражаются го-

лова, рот и почки. Повышение температуры воды до 15–16 °С ведет к прекращению заболевания.

F. psychrophilum способны к образованию желтого пигмента, а также протеолитических ферментов, которые вызывают прямое повреждение тканей и расширение зоны поражения, что является одним из предлагаемых факторов вирулентности бактерии [6], а также выделяет эндотоксин.

При исследовании поражённой кожи рыб *F. psychrophilum* выявлялись только на микротравмах, причем интактные участки кожи оставались неинфицированными. Бактерии имеют сродство к коллагену, благодаря чему при попадании на кожу мигрируют в миосепты через соединительную ткань. Впоследствии поражение распространяется на основную мускулатуру, что приводит к развитию некротического миозита и формированию открытых язв [7].

Установлено, что бактерии могут передаваться от родителей потомству через инфицированное внутреннее содержимое икринки – так называемая вертикальная передача – и выживать даже после ее дезинфекции [8].

Имеются данные о выделении *F. psychrophilum* из внутреннего содержимого оплодотворенной икринки, а также из внутренних органов рыб-производителей. Поэтому очень важно проведение бактериологического обследования производителей перед закладкой икры на инкубацию [1].

Подавляющее большинство выделенных штаммов бактерий *F. psychrophilum* чувствительны к эритромицину и тетрациклину – 83,3 и 80 % соответственно. Рост половины изолятов подавляла оксолиновая кислота. Более слабую чувствительность отмечали в отношении стрептомицина и гентамицина. Все выделенные штаммы *F. psychrophilum* были устойчивы к канамицину. Устойчивость к антибиотикам бактерий *F. psychrophilum* в настоящее время является серьезной проблемой [2].

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Дзюба, Е.В. Апробация системы высокочувствительной детекции патогенных микроорганизмов в аквакультуре обыкновенного карпа *cyprinus carpio linnaeus*, 1758 / Е.В. Дзюба [и др.] // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. – 2012. – Т. 14, № 1 (8). – С. 1883–1886.
2. Устименко, Е.А. Бактериальные инфекции у тихоокеанских лососей при искусственном воспроизводстве на камчатке // Автореф. дис. ...канд. биол. Наук. – 2012. – 22 с.
3. Barnes M.E. A Review of *Flavobacterium psychrophilum* Biology, Clinical Signs, and Bacterial Cold Water Disease Prevention and Treatment /, M.E. Barnes, M.L. Brown//The Open Fish Science Journal - 2011, 4 – P. 1–9.
4. Groff JM, LaPatra SE. In: Lim CE, Webster CD. Nutrition and Fish Health New York: Haworth Press 2001; pp. 11–78.
5. Lehmann J., Mock D., Sturenberg F.J. & Bernardet J.F. (1991) First isolation of *Cytophaga psychrophila* from a systemic disease in eel and cyprinids. Diseases of Aquatic Organisms 10, 217–220.
6. Madsen, L. Comparative studies of Danish *Flavobacterium psychrophilum* isolates: ribotypes, plasmid profiles, serotypes and virulence / L. Madsen, I. Dalsgaard// J. Fish Dis. 2000. Vol. 23. P. 211–218.

7. *Miwa, S.* Pathogenesis of experimentally induced bacterial cold water disease in ayu *Plecoglossus altivelis* /S. Miwa, C. Nakayasu // *Dis. Aquat. Org.* 2005. Vol.67. P. 93–104.
8. *Kumagai A.* Bacterial coldwater disease in coho salmon. *Journal of the Japanese Society of Fisheries Science* 2005; 71: 645–649.
9. *Sundell, K., and T. Wiklund.* Effect of biofilm formation on antimicrobial tolerance of *Flavobacterium psychrophilum*. *J Fish Dis* 2011; 34: 373–83.

УДК 619:617.3

Ю.В. Пичугин¹, С.Н. Золотухин¹, Г.А. Шевалаев²

¹ Ульяновская государственная сельскохозяйственная академия
имени П.А. Столыпина, г. Ульяновск, Россия

² Ульяновский государственный университет, г. Ульяновск, Россия

ОПЫТ ПРИМЕНЕНИЯ НАНОСТРУКТУРНОГО БИОКОМПОЗИТНОГО МАТЕРИАЛА «ЛитАр» В СОЧЕТАНИИ С ПИОБАКТЕРИОФАГОМ ПРИ ЛЕЧЕНИИ ПЕРЕЛОМОВ В ВЕТЕРИНАРНОЙ ТРАВМАТОЛОГИИ

Актуальность исследования. Применение наноструктурного биокompозитного материала «ЛитАр» в клинической практике гуманитарной медицины начато с 1994 г. в клинике травматологии, ортопедии и экстренной хирургии Самарского государственного медицинского университета. Уникальной особенностью композита «ЛитАр» является возможность его инъекционного применения. В некоторых случаях это позволяет обеспечивать сращение костных фрагментов при замедленной консолидации или ложном суставе, не прибегая к интраоперационному введению. [1]

Одним из проблемных вопросов при любом оперативном вмешательстве и в послеоперационном периоде является профилактика гнойных осложнений. Традиционно для этих целей используются антибиотики, которые смешиваются изначально с биокompозитными материалами. Как показывает практика, применение антибиотиков может повлечь ряд негативных последствий: возникновение и развитие аллергических реакций, развитие дисбактериоза, иммунодепрессивное действие на организм пациента и, наконец, селекция антибиотикорезистентных штаммов микроорганизмов. В литературе имеются данные об успешном применении для этих целей специфических бактериофагов, которые не вызывают аллергических реакций и безвредны даже в больших дозах [3]. Ранее нами было установлено, что бактериофаги при контакте с материалом «ЛитАр» не снижают свою литическую активность [4].

Поэтому **целью** нашей работы было изучение возможности применения в качестве антимикробного препарата, в альтернативу антибиотикам, пиобактериофага при лечении костно-суставной патологии животных методом наружной фиксации костных отломков и интрамедуллярного остеосинтеза.

Материал и методы исследований. Работу выполняли в ветеринарной поликлинике межкафедрального научного центра ветеринарной медицины ФГБОУ ВПО «Ульяновская ГСХА». При лечении переломов трубчатых костей нами были применены методики наружной фиксации костных фрагментов спицевыми и спице-штифтовыми аппаратами.

Результаты и выводы исследования. Было прооперировано 20 животных разных видов (из них: перелом плечевой кости у телёнка в возрасте 6 месяцев – 1 случай, перелом голени у козы в возрасте 8 месяцев – 1 случай (рис. 1–5), огнестрельный перелом плечевой кости крыла у лебедя-шипунa – 1 случай (рис. 6–7), огнестрельный перелом костей предплечья в нижней трети у лайки в возрасте 7 лет – 1 случай, огнестрельный перелом обеих костей предплечья в верхней трети у лайки в возрасте 2 лет – 1 случай), перелом костей предплечья у собак разных пород – 3 клинических случая, перелом костей голени у кошек – 5 случаев, перелом бедра и голени у собак и кошек – 3 случая, перелом бедра у собак и кошек 4 случая.

Все животные были прооперированы по методике открытого или закрытого репозиционирования костных отломков и наложения аппарата внешней фиксации в зону перелома укладывали достаточный кусочек стандартной навески гидроксиапатитколлагенового биокомпозитного материала «ЛитАр» в сочетании с комплексным жидким пиобактериофагом производства ФГУП «НПО Микроген» (Россия, г.Москва, ул. 1-ая Дубровская, дом 15). При закрытой репозиции сочетание биокомпозита и бактериофага в зону перелома вводилось инъекционным способом с помощью специального устройства (патент Российской Федерации на полезную модель № 40187). Антибиотики не применяли.

Результаты и выводы исследования. В течение первых суток после операции животные, как правило, отказывались от приёма пищи, практически не передвигались, через 3–5 часов после операции пили воду. Из наблюдений в послеоперационном периоде отмечалось образование интенсивного отека прооперированной конечности в течение первых 3 суток. Затем отёчность спадала и большинство животных постепенно, с признаками хромоты и оберегания конечности начинали передвигаться по вольеру. На 12–15 сутки животные начинали опираться на поврежденную конечность, а к моменту снятия аппарата достаточно активно использовали ее опорную функцию. Показаниями к снятию аппарата служили клинические и рентгенологические признаки формирования адекватной костной мозоли. К случаям неудачного опыта мы отнесли погибшего лебедя и убежавшего от владельцев и пропавшего кота в возрасте 8 лет с переломом обеих костей правой голени.

Таким образом, результаты проведенных исследований показали:

- применение комплексного жидкого пиобактериофага позволяет обходиться в течение всего времени лечения животного без инъекций антибиотиков и без угрозы осложнений в виде гнойно-воспалительных процессов;

- срок биodeградации материала составляет 12–15 суток. Адекватный костный фрагмент репарации нативной костной ткани начинал формироваться на 14 день после оперативного вмешательства;

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Литвинов С.Д., Краснов А.Ф., Куликов. Применение композита «ЛитАр» в случае замедленной консолидации перелома и ложного сустава // Бюллетень ВСЦН СО РАМН. – 2006. – № 5 (51). – С. 122–127.
2. Литвинов С.Д., Серёгин А.С., Пуштова Т.Б., Оленникова М.М. Перспективы применения материала «ЛитАр» для восстановления хрящевой перегородки носа у детей // Российская оториноларингология. – 2006. – № 3. – С. 22.
3. Золотухин С.Н. Создание и разработка схем применения диагностических биопрепаратов на основе выделенных и изученных бактериофагов энтеробактерий // Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. – Ульяновск, 2007. – 39 с.
4. Золотухин С.Н., Пичугин Ю.В., Сапожников А.В., Шевалаев Г.А. Применение биокомпозитного материала «ЛитАр» в сочетании с бактериофагами при лечении переломов конечностей у животных. // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. – Ульяновск. – 2011. – № 3 (15). – С. 45–49.

УДК 636.082.4

С.Г. Пищан, Л.А. Литвищенко

Днепропетровский государственный аграрный университет,
г. Днепропетровск, Украина

МОЛОЧНАЯ ПРОДУКТИВНОСТЬ ГОЛШТИНСКИХ ПЕРВОТЕЛОК В УСЛОВИЯХ ИНТЕНСИВНОЙ ТЕХНОЛОГИИ ЭКСПЛУАТАЦИИ

Исследование закономерностей адаптации лактационной функции коров одного стада в условиях интенсивной эксплуатации имеет важное теоретическое и практическое значение [3]. Раскрытие закономерностей физиологической активности организма продуктивных животных создает основу для управления их лактационной функцией. При этом необходимо учитывать, что молочная продуктивность коров молочного направления продуктивности – это комплексный полигенный признак.

Материал и методика исследований. Исследование проведено методом ретроспективного анализа по материалам зоотехнического и племенного учета на молочном комплексе, где эксплуатировались коровы голштинской породы импортной селекции.

В материалы исследований включены животные, которые были импортированы, впервые отелились и лактировали в условиях промышленного производства молока с трехкратным выдаиванием на доильной установке типа «параллель», потреблением консервированного корма с кормового стола и отдыхом в боксах безвыгульного коровника. Выборка насчитывала

1074 голов первотелок, которые имели полную информацию по законченной лактации.

В исследованиях учитывали показатели живой массы первотелок, продолжительность первого продуктивного периода, величину молочной продуктивности за полную лактацию и за 305 суток, содержание молочного жира и белка в молоке. Поскольку животные отличались по показателю содержания жира в молоке для объективной их оценки продуктивных качеств и как эталон брали 4 %-ное молоко.

Результаты исследований. Доведено, что при прочих равных условиях уровень молочной продуктивности животных определяется не только развитием организма но и, в не последнюю очередь, показателем их массы. Как показывают анализ (табл.), на промышленном комплексе живая масса у первотелок была достаточно высокой, что указывало на хорошую программу выращивания ремонтного молодняка и подготовку их к лактации. Так, средний этот показатель у всех подопытных первотелок был достаточно высоким и не опускался ниже 585 кг. На выравнивание этих значений у всех 1074 голов указывал коэффициент вариации, который не превышал 4,2 %.

Продуктивные качества голштинских первотелок в условиях интенсивной технологии эксплуатации (n=1074)

Показатель	Значение
Живая масса, кг	585,4±0,74
Продолжительность лактации, суток	455,2±5,36
Удой за лактацию, кг	9339,6±104,89
То же в 4 %-ном молоке	9119,0±101,26
Удой за 305 суток лактации, кг	7106,0±46,83
То же в 4 %-ном молоке	6935,7±44,24
Массовая доля жира, %	3,86±0,01
Массовая доля белка, %	3,30±0,01
Молочный жир за 305 суток лактации, кг	272,9±1,75
Молочный белок за 305 суток лактации, кг	233,5±1,54

Следовательно, хорошие показатели роста и развития ремонтного молодняка обеспечивают достаточно высокую живую массу нетелей, поэтому после отела в первый продуктивный период их живая масса была близка к 600 кг.

Известно, что валовой удой у коров будет тем больше, чем длительнее лактационный период. Анализ уровня удоя в первый продуктивный период голштинских коров на промышленном комплексе показал, что он был достаточно высок и приближался к 10000 кг. Так, за полную лактацию от каждой первотелки было получено 9339,6 кг физического или 9119 кг 4 %-ного молока. При этом в пересчете на 10 месяцев лактации эти показатели соответственно составляли 7106 и 6935,7 кг, что на 2233,6 и 2183,3 соответственно меньше показателя полной лактации.

Если рассматривать интенсивные показатели лактационной функции молодых коров, то здесь четко прослеживалась повышенная функциональная активность лактирующего организма в первые 10 месяцев. Так, если на один день полной лактации приходилось 20,03 кг 4 %-ного молока, то в пересчете на 10 месяцев лактации этот показатель уже составил 22,74 кг, то есть был выше на 3,1 %.

После 10 месяцев лактации на протяжении почти 150 суток от каждой первотелки еще было получено 2183,3 кг 4 %-ного молока. Но в этот период интенсивность лактации у них была крайне низкой. Так, на один день удлиненного лактационного периода уже приходилось лишь 14,54 кг 4 %-ного молока, что уступало показателю 10-месячного лактационного периода на 36,1 %. А это значит, что после 10 месяцев лактации у коров значительно тормозятся синтетические процессы в вымени, что определяется усталостью паренхимы и общим снижением физиологической активности организма к эффективному использованию питательных веществ корма.

Выводы. Импортированный ремонтный молодняк молочной голштинской породы характеризуется высокими приспособительными способностями, поэтому интенсивная эксплуатация на промышленных комплексах с природно-климатическими условиями восточной Украины позволяет получать от первотелок за полную лактацию в среднем 9339,6 кг молока с массовой долей жира на уровне 3,86 %, а белка – 3,30 %.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Иогансон И., Рендель Я., Граверт А. Генетика и разведение домашних животных / Пер. с нем. Л.А. Беляевой, Ю.С. Демина, И.В. Чудаковой. – М.: Колос, 1970. – 351 с.
2. Производство молока. Дж.Р. Кэмпбелл, Р.Т. Марал. / Пер. с англ. М.Н. Барабанщиков и др.; Под. ред. и с предисл. Н.В. Барабанщиков, А.П. Бегучева. – М.: Колос, 1980. – 670 с.
3. Гормональная регуляция размножения у млекопитающих. К. Остин, Р. Шорт / Пер. с англ. В.Л. Быкова, М.С. Морозова. – М.: Мир, 1987. – 305 с.

УДК 615.035

Ю.А. Подгорнова, С.В. Синькеев

Саратовский филиал Самарского медицинского института «РЕАВИЗ»,
г. Саратов, Россия

ИММУНОСУПРЕССИВНЫЕ ПРЕПАРАТЫ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКОГО ГЕНЕЗА, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ В ТРАНСПЛАНТОЛОГИИ

К иммуносупрессивным препаратам относятся препараты для искусственного подавления иммунитета, что крайне необходимо при трансплантации органов и тканей. Иммунодепрессивная терапия в современной меди-

цине необходима также в тяжёлых случаях аутоиммунных заболеваний и хронического иммунного воспаления. Это довольно разнообразная группа препаратов, с различными механизмами действия и различным профилем побочных эффектов. Рассмотрим некоторые из них, наиболее интересные с биотехнологической точки зрения.

В 1896 г. Гозио из культуральной жидкости *Penicillium* выделил кристаллическое соединение – микофеноловую кислоту, подавляющее рост бактерий сибирской язвы. В дальнейшем на основе микофеноловой кислоты был разработан препарат майфортин. Циклоспорин (сандиммун, сандиммун-неорал) был предложен как иммуносупрессивный препарат в 1982 г., впервые был выделен из некоторых видов грибов *Cyclindocaprum lucidum* и *Trichoderma polysporum*. По химической природе является циклическим пептидом, состоящим из 11 аминокислот. В 1984 г. был зарегистрирован в Японии в качестве препарата для лечения кризов отторжения пересаженной почкой мизорибин, выделенный из культуральной жидкости *Eupenicillium brefeldianum*. В 1985 г. были описаны иммуносупрессивные свойства циклического макролида, который был выделен из *Streptomyces sukubaensis* в Японии и получил название такролимус, или FK-506. В 1989 г. был предложен рапамицин (сиролимус) – циклический макролид с иммуносупрессивными свойствами, выделенный из *Streptomyces hydropiscus*. Известен также дезоксиспергуалин – естественный продукт *Bacillus lactosporus*.

Главной целью терапии иммуносупрессивными препаратами является обеспечение долгосрочной выживаемости трансплантата и улучшение качества жизни пациента. В качестве примера нами были изучены результаты лечения пациентки после трансплантации почки. Трансплантация почки была выполнена в апреле 1994 г. от живого родственного донора. В последующем в результате перенесенного криза отторжения функция трансплантата была утрачена. В ноябре 1995 г. выполнена трансплантация кадаверной почки, в течение длительного времени функция трансплантата была удовлетворительной. При очередной плановой госпитализации в 2010 г. функция трансплантата удовлетворительная (сроки после трансплантации – 15 лет). Из препаратов-иммуносупрессоров назначались майфортин, сандиммун и азатиоприн, а также глюкокортикоидный препарат метипред.

Итак, нами проанализированы иммуносупрессивные препараты биотехнологического генеза, показана их немаловажная роль при трансплантации органов и тканей.

Н.Н. Портенко

Саратовский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского,
г. Саратов, Россия

ПРАВОВОЕ РЕГУЛИРОВАНИЕ И ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗВИТИЯ БИОТЕХНОЛОГИИ В РФ

Биотехнология является базой развития для многих отраслей народного хозяйства и сфер деятельности – медицины, сельского хозяйства, пищевой и химической промышленности, энергетики, охраны окружающей среды.

Продукция, получаемая с помощью биотехнологии, имеет отношение ко всем базовым отраслям современного хозяйства: медицина, сельское хозяйство, пищевая промышленность, химическое производство, энергетика и т.д.

Однако, необходимо отметить, что по всем направлениям биотехнологической промышленности Российская Федерация значительно отстает от уровня и темпов развитых стран. Если в 1990 г. СССР занимал второе место в мире по развитию микробиологической промышленности, уступая лишь США, то сейчас Россия находится далеко позади: ее вклад в общий объем мирового производства сократился с 3–5 % до менее 1 %.

Биотехнологическая отрасль в России разрознена, отсутствует межведомственная координация и государственная промышленная политика в этой сфере.

Реформа технического регулирования, начатая с вступлением в силу 1 июля 2003 г. Федерального закона «О техническом регулировании», требует в дальнейшем осуществления значительных организационно-технических мероприятий по реализации разрабатываемых федеральных законов о технических регламентах в отношении биотехнологической продукции и процессов ее производства.

В связи с вышеизложенным необходимо отметить, что за последние годы принят ряд законов, способствующих развитию биотехнологической отрасли, защите прав потребителей. Среди основных законов, имеющих отношение к биотехнологии, следует отметить: ФЗ от 22.11. 1995. г. № 171-ФЗ «О государственном регулировании производства и оборота этилового спирта, алкогольной и спиртосодержащей продукции»; ФЗ от 23.08. 1996. № 127-ФЗ «О науке и государственной научно-технической политике»; ФЗ от 05.07. 1996. № 86-ФЗ «О государственном регулировании в области генно-инженерной деятельности»; ФЗ от 22.06. 1998.. № 86-ФЗ в редакции от 02.01. 2000 г. № 5-ФЗ «О лекарственных средствах»; ФЗ от 30.03.1999. № 52-ФЗ «О санитарно-эпидемиологическом благополучии населения»; ФЗ от 03.12. 2008. № 242-ФЗ «О государственной геномной регистрации в Российской Федерации» и ряд других.

Эти законы касаются биотехнологии только косвенно, и на сегодняшний день в России отсутствует единый закон, который бы регулировал данное направление.

До настоящего времени не разработан ни один технический регламент или национальный стандарт, необходимые для регулирования оборота биотехнологической продукции. В рамках существующих законов отсутствуют положения, обеспечивающие максимальное благоприятствование этой важной, но пока недостаточно динамично развивающейся отрасли.

Не охвачены законодательным регулированием такие важные направления биотехнологии, как деятельность по созданию измененных организмов в закрытых системах, формирование национального коллекционного фонда микробных биоресурсов для биотехнологии, обеспечение биобезопасности в области использования промышленных микроорганизмов, защита интеллектуальной собственности и др.

Таким образом, решение вышеуказанных проблем требует принятия комплексных мер государственного регулирования биотехнологической промышленности.

Несмотря на то, что действующие нормативно-правовые акты в целом позволяют отрасли функционировать, для ускорения ее развития целесообразно рассмотреть возможность комплексного совершенствования законодательства.

Ранее Госдума обсуждала проблемы законодательства в отрасли биотехнологии в формате Круглого стола (2005 г.), инициированного Обществом биотехнологии России. Это был важный и эффективный шаг, по итогам которого был создан специальный Экспертный совет по проблемам биотехнологической промышленности при Комитете Госдумы по промышленности, строительству и наукоемким технологиям. За последующие годы работы был решен целый ряд законодательных вопросов, которые позволили начать активное развитие биотехнологии в регионах и в России в целом.

При Комитете по промышленности Госдумы действует Экспертный совет по биотехнологической и фармацевтической промышленности, который регулярно рассматривает актуальные вопросы по законодательному и нормативно-правовому регулированию данных секторов промышленности.

Важнейшим условием эффективного развития биотехнологии в Российской Федерации является наличие соответствующей законодательной и нормативной базы. Отсутствие единого подхода к регулированию отрасли и несогласованность действующих законодательных и нормативно-правовых актов федерального, регионального, муниципального и отраслевого уровней препятствуют динамичному развитию биотехнологии в РФ. Поэтому необходимо устранить пробелы в регулировании и упорядочить существующее законодательство.

Помимо совершенствования системы законодательства в области биотехнологии, нужно обеспечить координацию действий на уровне исполнительной власти, для которой требуется эффективная организация системы управления и адекватные механизмы реализации правовых норм. Таким образом, на основании вышеизложенного можно сделать вывод о реальном потенциале РФ в плане развития биотехнологической промышленности. Требуется только активная государственная политика, направленная на ускоренный рост этой отрасли.

Е.В. Потапова

Саратовский филиал Самарского медицинского института «РЕАВИЗ»,
г. Саратов, Россия

СОВРЕМЕННЫЕ ПРОТИВОВИРУСНЫЕ ПРЕПАРАТЫ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКОГО ГЕНЕЗА

Вирусные заболевания, пожалуй, самые распространенные и хорошо известные среди населения. Действительно, какой осенне-зимний период обходится без волны гриппа? По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), ежегодно во время сезонных эпидемий заболевает гриппом до 20 % населения Земли, тяжелые формы отмечаются в 3–5 млн случаев, а летальные исходы имеют место в 250–500 тыс. случаев.

И это несмотря на то, что грипп давно и хорошо известен! Самые первые сведения о гриппе были сделаны Гиппократом приблизительно в 412 году до нашей эры, в средние века гриппоподобные вспышки заболевания получили название «итальянская лихорадка». Лечение сводилось к рекомендациям пить как можно больше жидкости, настоев на травах и мед. Естественно, такое «лечение» являлось малоэффективным и эпидемии гриппа охватывали не только отдельные города, но и страны, и даже континенты, приводя к массовой гибели людей.

Какие препараты рекомендуют врачи сейчас? Самыми «ранними» являются химиопрепараты, например амантадин, синтезированный в 1961 г., и ряд его производных (римантадин, мидантан, дейтифорин). Механизм действия основан на избирательном подавлении отдельных звеньев репродукции вирусов, без нарушения жизнедеятельности клетки макроорганизма. В настоящее время наиболее популярными препаратами являются регуляторы иммуногенеза. Один из них – широко известный «Арбидол», разработанный в 1974 г. В 2008 г. «Арбидол» занимал первое место по объемам продаж из всех лекарственных средств в России (2 326 млн рублей или 1,3 % всего рынка). На данный момент продажи «Арбидола» упали на треть, возможно это связано с противоречивыми отзывами о препарате, или с появлением новых, более совершенных стимуляторов защитных сил организма.

Хорошо известными являются препараты на основе интерферонов – белков со сходными свойствами, выделяемых клетками организма в ответ на вторжение вируса. Сейчас как в России, так и за рубежом выпускаются коммерческие препараты: человеческий лейкоцитарный, лимфобластный «Велферон» (Wellferon), интерфероны, полученные генно-инженерными методами: рекомбинантные α - (Лаферобион, Роферон, Реальдирон, Виферон, Гриппферон, Генферон и др.), β - и γ -интерферон (Гаммаферон). Отличительной особенностью рекомбинантных интерферонов является то, что

они получены вне организма человека (продуцируются бактерией *E. coli*, в ДНК которой встроен ген человеческого интерферона).

Интересным подходом является применение препарата – индуктора интерферона. Одним из самых современных является отечественный препарат «Кагоцел», вызывающий образование в организме человека так называемого позднего интерферона, являющегося смесью α - и β -интерферонов, обладающих высокой противовирусной активностью. Это новый препарат, представляющий собой иммобилизованный на молекуле карбоксиметилцеллюлозы госсипол – природное соединение, выделенное из хлопчатника. Следует отметить, что свободный госсипол обладает токсическими свойствами и негативно влияет на репродуктивные способности. Вследствие иммобилизации госсипола происходит связывание его альдегидных групп, причем настолько мощно, что не происходит высвобождение госсипола даже при длительном хранении или под действием ферментов организма человека.

На базе аптечной сети «Имплозия» г. Саратова нами установлено, что за три месяца эпидемии гриппа и ОРВИ в Саратове и области 198 человек из 360 заболевших приобретают именно противовирусные препараты, из них – 90 на основе «Кагоцела», остальные используют симптоматическую терапию, что может привести к серьезным осложнениям при отказе от лечения гриппа.

УДК 619:616.98:578.824.11

О.В. Провоторова, А.А. Нежута, Л.А. Неминущая, И.В. Бобровская, Н.К. Еремец

ГНУ ВНИТИБП Россельхозакадемии, г. Щелково, Московской обл., Россия

СУХИЕ ФОРМЫ ПРОБИОТИКОВ И ПРЕБИОТИКОВ – ПУТЬ К ПОВЫШЕНИЮ КАЧЕСТВА ПРОДУКЦИИ

Технологическая схема производства пробиотиков и пребиотиков включает основные стадии, обеспечивающие их качество:

- приготовление и контроль питательных сред;
- приготовление и контроль посевного материала;
- культивирование микроорганизмов;
- получения готовой формы препарата;
- физико-химический контроль, упаковка, маркировка и хранение [1].

В процессе изготовления готовой формы препарата осуществляется стабилизация его биологических и физико-химических свойств, стандартизация дозировки и придание ему свойств, задаваемых способом применения. В настоящее время про-, пре- и синбиотики изготавливаются в жидкой, сухой и мягкой (пасты и гели) формах.

Жидкие (нативные) формы препаратов по сравнению с сухими обладают более широким спектром активности за счет присутствия в их составе термолабильных биологически активных веществ, которые полностью или частично разрушаются при сублимационном или распылительном высушивании. Недостатком нативных форм препаратов являются трудности стандартизации, транспортировки, хранения. Жидкие формы менее стабильны, имеют более короткий срок и жесткие условия хранения, поэтому не всегда эффективны. Выпуск сухих препаратов, содержащих живые микроорганизмы, позволяет значительно увеличить срок их хранения и гарантировать стандартность [2].

Сухие препараты выпускаются в виде порошков различной дисперсности, гранул и таблеток. Традиционными методами получения сухих форм является сублимационное или распылительное высушивание. Сублимационное высушивание (замораживание и последующее высушивание в вакууме) используется для получения сухих форм термолабильных объектов (таких как лакто- и бифидобактерии). В настоящее время теоретические и практические основы метода детально разработаны, существуют алгоритмы разработки режимов сушки и подбора стабилизаторов [3]. Этот метод является очень энергоемким, что повышает себестоимость продукции на 30–40 %. Однако, в случае получения сухих форм термолабильных препаратов такие затраты оправданы. Особенно это необходимо при получении посевных материалов, для которых очень высоки требования к стабильности свойств / активности при хранении. Распылительное высушивание более экономично, но пригодно только для термостабильных препаратов (дрожжей, споровой формы пробиотика). Поэтому, в настоящее время активно ведутся исследования в направлении модификации существующих способов изготовления готовых форм и разработки новых.

Нами разработана технология производства сухих форм пробиотиков АВИЛИКТ-1К (молочнокислые бактерии *Lactobacillus acidophilus*, штамм 1 К), ЛАКТОПЛАНТ (молочнокислые бактерии *Lactobacillus plantarum*, шт. М-30), АВИСУБТИЛ (бациллы *Bacillus subtilis*, шт. В-1948) и пребиотических кормовых добавок ЦЕРЕВЕТ (инактивированная биомасса дрожжей – сахаромикетов *S.cerevisiae* (*diastaticus*) ВКПМ-γ-1218) и ЦЕРЕВЕТ-ПЛЮС (инактивированная биомасса дрожжей – сахаромикетов *S.cerevisiae* (*diastaticus*) ВКПМ-γ-1218+ биомасса мицелиального гриба *Fusarium sambucinum*, шт. МКФ 2001-3).

Для длительного хранения посевных материалов, которые использовали при изготовлении препаратов, применяли метод сублимационного высушивания с защитной средой, содержащей обезжиренное молоко.

Замораживание материала проводили в низкотемпературной холодильной установке при $T_{\text{возд.}} - (51 \pm 1) ^\circ\text{C}$, при достижении $T_{\text{мат.}}$ на уровне $-50 ^\circ\text{C}$ замораживание завершали. Высушивание проводили, контролируя с помощью датчиков температуру материала и остаточное давление в камере. При достижении давления в диапазоне 80–100 мкм рт. ст. включали нагрев полок и выводили температуру материала на уровень минус 32–30 $^\circ\text{C}$,

поддерживая ее на этом уровне не менее 10 часов. Затем включали нагрев полка на плюс 24–25 °С, выводили температуру материала на заданный уровень и поддерживали ее в течение 5–6 часов при давлении в камере не выше 90 мкм рт. ст. Остаточная влажность материала после высушивания 2,0–2,5 %. Полученные серии посевных материалов хранили при температуре (8±2)°С в течение 18 месяцев. Стабильность материалов при хранении определяли с использованием теста ускоренного старения. Сублимационное высушивание опытно-промышленных серий пробиотиков осуществляли наливным методом в кассетах при соблюдении режимов замораживания и сушки приблизительно тех же, что и для посевного материала длительного хранения.

При получении сухой формы пребиотических добавок использовали метод распылительного высушивания: при сушке биомассы дрожжей температура газа на входе в сушильную камеру – 130 °С, на выходе – 95 °С; биомассу гриба высушивали в две ступени (первая ступень – температура на входе – 65 °С, на выходе 60 °С, вторая ступень – температура на входе 100 °С, на выходе 95 °С).

В результате получение сухой формы пробиотиков ЛАКТОПЛАНТ, АВИЛАКТ-1К и АВИСУБТИЛ методом сублимационного высушивания обеспечивало концентрацию бактерий в препаратах не менее 3×10^9 , 5×10^9 и 5×10^{10} КОЕ/г (соответственно). Срок их хранения (по сравнению с жидкой формой) увеличивался с 3 до 9 (для лактобактерий) и с 10 до 18 месяцев (для бацилл) при температуре 8–10°С.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Самуйленко, А.Я. Основы технологии производства ветеринарных биологических препаратов /Самуйленко А.Я., Рубан Е.А.// М: Россельхозакадемия. – Т. 1.–2. – М.: РАСХН, 2000. – 781 с.
2. Панин, А.Н. Биотехнологические аспекты изготовления сухих пробиотических препаратов /Панин А.Н., Малик Н.И., Авылов Ч.К. // Науч.основы пр-ва вет.биол.препаратов: сб. науч. тр. – Щелково, 2000. – С. 343–345.
3. Нежута, А.А. Научное обоснование и методика разработки и совершенствования промышленной технологии сублимационного высушивания биопрепаратов: автореф. дис. ... д-ра биологических наук / Нежута А.А. – М., 2003. – 44 с.

УДК 619:579

Ю.С. Пчелинцева, Е.Н. Ковалева, Д.А. Васильев

Ульяновская государственная сельскохозяйственная академия
имени П.А. Столыпина, г. Ульяновск, Россия

ИНДИКАЦИЯ И ИДЕНТИФИКАЦИЯ ЛИСТЕРИЙ

Листерия относится к числу природно-очаговых инфекций, проявляющийся у людей чаще спорадически, а так же встречаются описание много-

численных вспышек пищевого листериоза и внутрибольничных заболеваний в родильных домах.

Бактерии рода *Listeria* относятся к группе грамположительных подвижных бактерий, широко распространенных в окружающей среде и размножающихся в почве, воде, на растениях, в пищевых продуктах. Известны семь видов листерий: *L.monocytogenes*, *L.innocua*, *L.ivanovii*, *L.grayi*, *L.murrayi*, *L.seeligeri* и *L.welshimeri*. Эпидемиологическое значение имеют *L.monocytogenes*, *L.innocua* и *L.ivanovii* в связи с наиболее частой контаминацией пищевых продуктов [2].

Однако уже были зафиксированы случаи заражения человека видами *L.ivanovii* и *L. seeliger*. До недавнего времени считалось, что вид *L.ivanovii* вызывает листериоз только у животных. В настоящее время в литературе появились единичные сообщения о заболеваниях у людей и о вовлечении в инфекционный процесс других видов листерий, считающихся непатогенными видами. Например, описан случай острого гнойного менингита у взрослого пациента, вызванный *L.seeligeri*, у которого спустя год после выздоровления развились тяжелые неврологические осложнения (эпилепсия, гидроцефалия). Сообщается и о смертельном случае 62-летней пациентки после септицемии, вызванной *L.innocua* на фоне холангита. В литературе описан первый случай выделения *L.welschimeri* у взрослого пациента [3].

Листерии широко распространены во внешней среде. Встречаются в почве, воде, растениях. Чаще всего листерии выделяли из почвы тех полей, где травы не скашивались несколько лет, поскольку увядшая и разложившаяся трава способствует их размножению. Листерии живут в достаточно широком температурном диапазоне (3–45 °C). Листерии – психрофилы, то есть, способны к активному размножению при низких температурах (4 – 10 °C). Поэтому их численность активно увеличивается весной и осенью, летом же в почве отмечается значительное уменьшение концентрации листерий. Зимнее промерзание почвы не оказывает отрицательного влияния на их жизнеспособность. Листерии выделяют также из сточных вод, речной воды, ила, навозной жижи. Листерии способны проникать в вегетативные органы растений через корневую систему и сохраняться там в высокой концентрации в течение месяца. Таким образом, эти микроорганизмы способны адаптироваться к существованию в широком диапазоне условий внешней среды. Им свойственна способность перехода от сапрофитического образа жизни к паразитическому, и наоборот [2, 1, 4].

Поэтому чрезвычайно актуальной задачей является организация скрининга бактерий рода *Listeria* с использованием высокоспецифичных и простых методов определения. Основными методами диагностики листериоза являются бактериологический, серологический и аллергологический. К недостаткам серологического исследования можно отнести проведение анализа с интервалом 10–14 дней. Таким образом, метод является длительным, трудоемким и имеют меньшую степень достоверности поставленного диагноза, так как антигенное родство листерий со стафилококками, энтерококками и др. бактериями затрудняет диагностику. Универсальным методом является бак-

териологический посев. Однако он продолжителен по времени (от 14 до 30 дней), поэтому нередко результаты исследования имеют лишь ретроспективную значимость. Кроме того, метод недостаточно чувствителен, может не дать положительного результата при внутриклеточном паразитировании листерий [2, 4].

В мире постоянно появляются или обнаруживаются новые неизвестные микроорганизмы и, возможно, от скорости их идентификации будет зависеть жизнь людей. Основная задача микробиологического исследования – индикация и идентификация возбудителя. Основная проблема, которую придется решать микробиологическим лабораториям, будет связана с быстрой, эффективной и недорогой дифференциацией микроорганизмов в объектах окружающей среды.

На наш взгляд, это возможно с использованием иммуноферментного анализа и метода полимеразной цепной реакции для обнаружения возбудителей листериоза в почве, сточных водах, кормах и других предметах внешней среды, которые являются факторами передачи. Иммуноферментный анализ дает возможность идентифицировать антигены микроорганизмов в низких и очень низких концентрациях без выделения чистой культуры возбудителя. А за счет несомненных преимуществ (удобства в работе, скорости, объективности за счет автоматизации учета результатов) ИФА займет важное место в экспресс индикации микроорганизмов. Высокая чувствительность и специфичность, непосредственное обнаружение инфекционного агента и возможность проведения генотипирования создает высокие перспективы применения метода ПЦР в профилактике листериоза.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Гершун, В.И. Экология листерий и пути их циркуляции в природном очаге / В.И. Гершун // в сб.: Экология возбудителей сапронозов. – М., 1988. – С. 80 – 85.
2. Листерии и листериоз / И.А. Бакулов, Д.А. Васильев, Д.В. Колбасов [и др.] // монография. – Ульяновск, УГСХА, 2008. – 168 с.
3. Тартаковский, И.С. Листерии: роль в инфекционной патологии человека и лабораторная диагностика / И.С. Тартаковский // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2000. – Т. 2. – № 10. – С. 167–175.
4. Эпидемиологические аспекты экологии бактерий / В.Ю. Литвин, А.Л. Гинцбург, В.И. Пушкарёва [и др.]. – М.: Фармарус-принт, 1998. – 145 с.
5. Эпидемиология и профилактика листериоза. Методические указания 3.1.7.1104-02, 2002.

А.М. Рахманов

Федеральный центр охраны здоровья животных, г. Владимир, Россия

ПРОФИЛАКТИЧЕСКАЯ ВАКЦИНАЦИЯ ЖИВОТНЫХ ПРОТИВ ЯЩУРА В ПРИВОЛЖСКОМ ФЕДЕРАЛЬНОМ ОКРУГЕ

Ящур относится к числу высококонтагиозных заболеваний животных, способных вызывать массовые эпизоотии и большой ущерб. В соответствии с современной международной классификацией он включен МЭБ в список болезней, подлежащих обязательному декларированию, в категорию «Болезни разных видов животных» вследствие того, что им могут болеть сельскохозяйственные и дикие животные более 100 видов [1].

Анализ официальных материалов свидетельствует о том, что, несмотря на предпринимаемые меры, эпизоотическая ситуация по ящуру в мире в последние годы остается довольно напряженной. Всего, по официальным данным, неблагополучными по ящуру в 2010–2011 гг. были 68 стран, в том числе 34 азиатских, 30 африканских, 2 южноамериканских и 2 европейских. Из них в 39 странах установлен ящур типа О, в 17 – А, в 7 – Азия-1, в 6 – САТ-1, в 9 – САТ-2, а в 21 стране возбудитель не был типирован [2, 3].

В 2010 г. особенно неблагоприятной была ситуация в азиатских странах, где в ряде государств отмечалось значительное распространение ящура после их длительного благополучия (Монголия, Северная и Южная Корея, Япония и др.). Продолжалась с 2005 г. эпизоотия ящура типов О, А и Азия-1 в Китае. Вспышка ящура типа О отмечена также в Кокчетавской области Казахстана.

В 2011 г. ящур был зарегистрирован в Западно-Казахстанской и Восточно-Казахстанской областях Казахстана, в Таджикистане, Киргизии, Китае, Южной Корее, Тайване, Южной Осетии, в Болгарии, Израиле, Ливане, Замбии, Намибии, ЮАР, Ботсване, Зимбабве, Мозамбике, Парагвае и др. В 2012 г. опубликованы сообщения МЭБ о вспышках ящура в Восточно-Казахстанской, Алматинской и Джамбулской областях Казахстана, Китае, Тайване, Палестине, Египте, Ливии, ЮАР, Ботсване, Парагвае и др.

Ящур был широко распространен в СССР. Осуществление комплекса разработанных противоящурных мероприятий на основе научных разработок ВНИИИ и других институтов обеспечило к концу 70-х годов ликвидацию эпизоотий ящура на территории СССР, а к 90-м годам позволило добиться устойчивого благополучия большинства регионов страны. На территории Приволжского федерального округа ящура не регистрировали более 30 лет.

Россия после ликвидации ящурных очагов типа Азия-1, возникших в 2005–2006 гг. в Амурской и Читинской областях, в Хабаровском и Приморском краях вследствие заноса из Китая, с мая 2006 г. являлась благополучной страной, осуществляющей зональную вакцинацию. Однако через 4

года в 2010 г. в Забайкальском крае вблизи границ с Китаем и Монголией были установлены 2 вспышки ящура, в 2011 г. – еще 1 вспышка. В 2012 г. в Приморском крае РФ вблизи границы с Китаем были зарегистрированы еще 2 вспышки ящура. При лабораторных исследованиях патматериала от животных из двух последних очагов установлено, что выделенные изоляты относятся к генетической линии Пан Азия типа О и генетически родственны изолятам, вызвавшим ящур в Китае и в Восточном Казахстане в 2011 г. Следовательно, упомянутые вспышки были обусловлены заносом возбудителя из соседних неблагополучных стран.

В России в соответствии с принятой стратегией и существующими планами осуществляется систематическая профилактическая вакцинация животных против ящура типов А, О, Азия-1 в южных регионах страны, граничащих с Азербайджаном, Грузией, Китаем, Монголией и Казахстаном.

Благодаря достижениям биотехнологии, в стране выпускаются достаточные объемы инаktivированных противоящурных культуральных моно- и поливалентных сорбированных вакцин (производители ФГБУ «ВНИИЗЖ» и ФГУП «Щелковский биокомбинат»). За счет федерального бюджета они поставляются бесплатно госветслужбам субъектов РФ, включенных в противоящурную буферную зону. В эту зону протяженностью от Черного моря до Тихого океана по южной границе РФ включены 34 региона. В частности, в нее входят южные районы 3-х субъектов Приволжского федерального округа: Саратовской (6 районов), Самарской (3 района) и Оренбургской (16 районов) областей, граничащих с Казахстаном. В 25 пограничных и приграничных районах этих областей ежегодно осуществляют плановую профилактическую вакцинацию против ящура КРС и МРС. Ветеринарными службами этих районов и областей выполняется большой объем работы. Так, по данным ФГБУ «Центр ветеринарии» МСХ РФ, в 2011 г. в Саратовской области было сделано 284,9 тыс. прививок КРС (107,2 % годового плана) и 529,3 тыс. – МРС (189,2 %), в Самарской – 44,3 тыс. (118,1 %) и 21,8 тыс. (124,1 %), в Оренбургской – 669,6 тыс. (89,5 %) и 428,8 тыс. (75,9 %) соответственно. Примерно такие же показатели выполнения плана отмечены и в 2012 г. План 6 месяцев по вакцинации против ящура КРС в Саратовской области выполнен на 94,5 %, МРС на 103,8 %, в Самарской – на 100,4 % и 117,4 %, в Оренбургской области – на 80,4 % и 76,9 %.

По распоряжению Россельхознадзора в стране выполняется специальная мониторинговая программа, в соответствии с которой в буферной зоне систематически осуществляется отбор сывороток крови от вакцинированных животных и исследование их в ФГБУ «ВНИИЗЖ» с целью контроля противоящурного иммунитета.

Следовательно, осуществление разработанной и принятой системы противоящурных мероприятий позволяет минимизировать потери в случае заноса возбудителя и, несмотря на неблагоприятную эпизоотическую ситуацию в мире, обеспечивать благополучие подавляющего большинства регионов России по ящуру.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. МЭБ. Кодекс здоровья наземных животных. – 20-е изд. – Т. 1–2. – Париж, 2011. – 803 с.
2. OIE. World Animal Health in 2010. – Vol. 1-2. – Paris, 2011. – 1077 p.
3. OIE. Disease Information. – 2011. – Vol.24. – № 1 – 52 p.
4. OIE. Disease Information. – 2012. – Vol.25. – № 1–45 p.

УДК 636.087.73

Л.В. Римарева, Т.И. Лозанская, Н.М. Худякова

ГНУ ВНИИ пищевой биотехнологии Россельхозакадемии, г. Москва, Россия

БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ СПОСОБ ОБОГАЩЕНИЯ ЗЕРНОВОЙ БАРДЫ β -КАРОТИНОМ

Получение этилового спирта из зернового сырья предполагает образование отхода – барды, промышленную переработку которой в сухой кормовой продукт обязаны обеспечить все спиртовые заводы России.

Известно, что одним из направлений ликвидации дефицита животного белка при достижении экологической безопасности в производстве продуктов питания для людей является наиболее полное обеспечение животноводства кормовым белком. С белком связано образование иммунных тел и защита организма от внедрения инфекции. Огромное влияние на обмен веществ в организме сельскохозяйственных животных и птицы имеет соотношение белка и каротина, определяющее уровень продуктивности и воспроизводства.

Провитамину А – каротину принадлежит ведущая роль в окислительно-восстановительных реакциях организма. Каротин оказывает влияние на обмен и синтез белка, при его недостатке нарушается использование азота корма, что ведет к снижению синтеза белковых веществ.

Сотрудниками института разработана безотходная биотехнология переработки зерновой барды в сухие кормовые дрожжи СКДЦ (патент на изобретение № 2203315 «Способ производства белково-витаминного корма»). Для получения СКДЦ используют всю зерновую барду спиртового завода, что дает возможность получить высокобелковый, обогащенный β -каротином кормовой продукт и полностью решить проблему промышленной переработки барды.

Используемый в производстве СКДЦ непатогенный штамм кормовых дрожжей *Rhodospiridium diobovatum* 115, продуцирует не только белок, но и β -каротин, ассимилируя углеродсодержащие соединения барды, не представляющие кормовой ценности. Проведение направленного биосинтеза кормовых дрожжей позволяет получить кормовой продукт с содержанием β -каротина более 60 мг/кг (до 180 мг/кг), качество которого соответствует

ГОСТ 20083-74 и ТУ 9296-224-00008064-98. Используемый штамм кормовых дрожжей не является патогенным и разрешен в производстве кормового белка, что делает производство экологически чистым и безопасным для здоровья людей. Исследования, проведенные ОАО «Всероссийский научный центр по безопасности биологически активных веществ» показал, что дрожжи кормовые, обогащенные β -каротином, относятся к нетоксичным веществам.

Переработка цельной послеспиртовой барды в сухие кормовые дрожжи СКДЦ состоит из следующих стадий: приготовление питательной среды, выращивание посевной культуры и товарных дрожжей, деэмульгирование, термолиз и сушка дрожжевой суспензии. Для высушивания дрожжевой суспензии используется распылительная сушилка, в качестве сушильного агента – природный газ. Проведенные исследования показали, что 1 г сухого вещества биомассы кормовых дрожжей, обогащенных β -каротином содержит, мкг:

- тиамина (B_1) – от 31,0 до 75,3;
- рибофлавина (B_2) – от 7,5 до 15,0;
- никотиновой кислоты (B_3) – от 657,9 до 842,1;
- пиридоксина (B_6) от 10,5 до 21,1;
- биотина (B_7) – от 0,52 до 1,32.

Научно-хозяйственные опыты при откорме свиней показали высокую эффективность применения кормовых дрожжей, обогащенных β -каротином: увеличение среднесуточного прироста живой массы свиней составило от 12,1 до 40,2 %. Применение кормового продукта в животноводстве и птицеводстве позволяет повысить мясную продуктивность животных на 15–20 %, увеличить удои молока и его жирность на 0,4–0,6 %, повысить яйценоскость кур на 20–50 %, а также сократить падеж молодняка.

На 10-й юбилейной российской агропромышленной выставке «Золотая осень – 2008» данная разработка отмечена золотой медалью. Кормовые дрожжи, обогащенные β -каротином, используют комбикормовые заводы, птицефабрики, их можно смешивать с сухими концентратами, добавлять в сочные или зеленые корма, получая кормовые смеси.

УДК 615.015.4; 620.3; 546,72

Т.Н. Родионова, Э.К. Добринский, М.П. Мариничева, А.А. Кузнецов

Саратовский государственный аграрный университет
имени Н.И. Вавилова, г. Саратов, Россия

ПОЛУЧЕНИЕ И РАЗРАБОТКА ПРЕПАРАТА «ФЕРРОСОЛ» НА ОСНОВЕ ВЫСОКОДИСПЕРСНОГО ПОРОШКА ЖЕЛЕЗА

Нанотехнологии XXI века признаны основной движущей силой науки и техники, они ориентированы на получение дешевых устройств и веществ с заданной атомарной структурой.

Одним из основных направлений современных нанотехнологий является химический синтез металлов, в основе которого лежит восстановление ионов металлов до атомов и ионов с образованием наночастиц.

В связи с этим весьма актуальным является изучение влияния нанокристаллических порошков металлов на организм сельскохозяйственных животных, их обмен веществ, энергию роста и разработку технологии их применения.

Материалы и методы

Для опытов использовался нанопорошок железа, полученный плазменным методом. Плазменные методы при хорошей производительности позволяют получать порошки более узкого фракционного состава, чрезвычайно химически активные, что и является определяющим при их дальнейшем использовании.

Для переконденсации порошковых материалов железа в нанопорошок была использована плазменная установка с реактором мощностью 25 кВт. Основные стадии процесса переконденсации включают в себя:

- подготовку сырья (сушка, размол);
- его дозировку;
- испарение сырья;
- конденсацию паров перерабатываемого материала;
- отделение нанопорошка от крупной фракции;
- улавливание нанопорошка.

Нанопорошок имел черный цвет, без запаха, основное вещество составляло больше 98 %, форма частиц сферическая, средний размер частиц $A^\circ \sim 420(300-800)$, удельная поверхность $\text{м}^2/\text{г}$ 14 (10–25), насыпная плотность $\text{кг}/\text{дм}^3 - 0,4$.

В связи с высокой химической активностью (пирофорностью) порошок поставляется в инертной атмосфере – аргоне, азоте, а также с капсулированными полимерами или жидкими углеводородами.

Микроскопию проводили на электронно-сканирующем микроскопе Li-bra-120 (zeiss). Электронная микроскопия высокого разрешения выявила, что типичная биологическая активная наночастица железа размером 30–80 нм имеет ядро из α -железа и окружена оксидной капсулой толщиной примерно 5 нм. Толщина окружающей наночастицу железа оксидной капсулы практически не зависит от размера наночастицы. Таким образом с помощью нанотехнологий получен препарат железа с размером частиц 30–80 нм.

Результаты исследований

В дальнейшем на основе нанопорошка железа была разработана лекарственная форма препарата для лечения и профилактики нарушений обмена железа у животных под названием Ферросол.

Для этого лекарственную форму ферросол согласно изобретению готовили следующим образом. Навеску нанопорошка железа в органическом растворителе, доводили до гомогенной консистенции при постоянном перемешивании. В качестве органического растворителя использовали

транскутол, к полученному раствору добавляли ПАВ(поверхностно-активное вещество). Композицию перемешивали до полного растворения с постепенным прогреванием до 40 °С. В качестве ПАВ использовали Cretomor EL. К полученному раствору при постоянном перемешивании добавляли загуститель глицерин. К полученной эмульсии добавляли дистиллированную воду до 100 % и перемешивали с помощью магнитной мешалки в течении 15–20 минут.

Определение стерильности при помощи метода подсчета колоний на плотных питательных средах в чашках Петри показало полное отсутствие патогенной и непатогенной микрофлоры в препарате. Показатели качества препарата ферросол приведены в таблице.

Физико-химические и биологические показатели ферросола для инъекций

Показатель	Характеристика и норма
Внешний вид, цвет, запах	Суспензия от темно-серого до черного цвета, без запаха
Растворимость	Нерастворим в воде
Наличие посторонних примесей	Не допускается
Наличие осадка	Допускается наличие осадка и расслоение исчезающее при взбалтывании
pH	7,1–7,4
Наличие ионов железа	Не допускается
Содержание суммарного железа в препарате, мг/мл	10±0,5

Таким образом, разработанная лекарственная форма имеет ряд принципиальных отличий от известных железосодержащих препаратов: действующее вещество препарата представлено железом, а не его соединением; действующее вещество находится в наноразмерном состоянии; железо в составе лекарственной формы находится в электронейтральном состоянии.

Изучение фармако-токсикологических свойств препарата показало, что однократное подкожное введение его белым крысам в виде инъекции в интервале 10–5000 мг/кг массы тела не вызвало гибели опытных животных. Что и позволило отнести препарат к 4-му классу опасности и к группе малотоксичных веществ (согласно ГОСТ 12.1.007.-76) с большой широтой токсического воздействия и со слабовыраженным кумулятивным действием. Препарат не обладает раздражающим, кожно-резорбтивным и аллергизирующим действием. Установлено, что максимально переносимой дозой является доза 250 мг/кг массы тела по действующему веществу.

При изучении механизма биологического действия препарата на белых крысах в дозах 100, 150 мг/кг массы тела увеличивается эритро- и гемопоез. Количество эритроцитов по сравнению с контролем закономерно возросло на 6 и 28,6 %, уровень гемоглобина повысился на 18 и 28,4 %, количество лейкоцитов на 10 и 37,9 %, цветовой показатель составил 0,9–1. Уровень железа в крови повысился в 2,5–2,7 раза относительно контроля.

Заключение

Разработан новый лекарственный препарат ферросол на основе наноразмерных частиц от 10–100 нанометров (нм), содержащий нанопорошок железа, поверхностно-активное вещество (Cremofoг EL), органический растворитель (транскутол), загуститель (глицерин), растворитель (вода для инъекций). Готовый препарат представляет собой водно-дисперсионную суспензию от темно-серого до черного цвета. При хранении допускается расслоение, исчезающее при взбалтывании.

УДК 504.73

В.Б. Руденко-Травин, С.М. Бобров

Саратовское отделение Государственного научно-исследовательского института озерного и речного рыбного хозяйства, г. Саратов, Россия

ИНОЕ ПРИМЕНЕНИЕ ТИПОВОЙ ШКАЛЫ ОЦЕНКИ РОСТА РЫБ

В 2011 г. вышла в свет работа В.П. Ермолина «Типовая шкала оценки роста рыб». Во введении сказано: «Необходимо подчеркнуть, что ТШОР (типовая шкала оценки роста рыб) строится для оценки роста, анализа условий нагула рыб в привязке к плотности популяции, обеспеченности кормом, конкурентным отношениям и другим важным аспектам продуктивности водоема и мониторинга биоресурсов» (Ермолин, 2011, с. 5).

Однако, несмотря на короткий срок после выхода работы, совершенно ясно, что она имеет более широкий диапазон применения. В частности, она с успехом может быть применена для оценки влияния антропогенного фактора на водоем, что в настоящее время имеет большое значение. Поясним сказанное конкретными примерами на основе сведений, приводимых в работе.

В работе представлены данные по оценке роста основных промысловых рыб – леща и густеры Волгоградского водохранилища. Было показано, что лещ в р. Волге на участке современного Волгоградского водохранилища имел благоприятные условия нагула и рос очень быстро. С образованием водохранилища рост его сильно замедлился. Так, если в речных условиях лещ достигал длины 40 см за 7–8 лет, то в искусственном водоеме (водохранилище) – за 11–12 лет, рост которого укладывается в средний интервал типовой оценки скорости роста. Указанный темп роста данного вида сохраняется и в настоящее время. Исключение составляет лещ, обитающий в озерах поймы искусственного водоема, рост которого в отдельные периоды снижается до класса (категории) очень медленного роста (Ермолин, 2011, с. 29 и 30).

Иная картина наблюдается у густеры. Рыбы в возрасте от 2 до 8 лет в р. Волга росли медленно, на первом году и старше 8 лет – средне. На 9–12 годы существования водохранилища показатели роста рыб всех возрастных групп выравниваются и попадают в средний класс роста. По мере

дальнейшего старения водоема условия нагула и рост рыб продолжают улучшаться. Так, в 2003–2006 гг. показатели роста густеры в 4-летнем возрасте и старше соответствуют категории «быстрого», а более младших рыб – «очень быстрого» роста (Ермолин, 2011, с. 33 и 34).

Аналогичные материалы были получены по оценке роста с применением типовой шкалы оценки роста основных промысловых рыб (леща, плотвы, и густеры) в реке Волге на участке современного Саратовского водохранилища и водохранилище (Ермолин, 2010). Было показано, что лещ в условиях реки имел благоприятные условия нагула и хорошо рос. С образованием водохранилища рост его сильно замедлился. Так, если в речных условиях лещ достигал длины 40 см за 8–9 лет, то в искусственном водоеме – за 12–13 лет. Указанный темп роста данного вида сохраняется и в настоящее время. Исключение составляет молодь до 3–4-летнего возраста и рыбы старше 14 лет, рост которых укладывается в средний интервал типовой оценки скорости роста.

Иная картина наблюдается у плотвы. В р. Волге она имела неблагоприятные условия нагула и плохо росла. В водохранилище ее рост постепенно улучшается. Например, в 1974–1976 гг. рост 2–6-летних особей уже характеризовался как средний. В 2006–2007 гг. показатели роста рыб старше 4 лет полностью попадают в средний класс, а более младших – в класс «хорошего» роста.

Густера в реке росла неравномерно. Рыбы в возрасте до 7 лет росли медленно, более старшие – относительно интенсивно. На 7–9-й годы существования водохранилища показатели роста рыб всех возрастных групп выравниваются и попадают в средний класс. По мере дальнейшего старения водоема условия нагула и рост рыб продолжают улучшаться. В 2006–2007 гг. показатели роста густеры в 4-летнем возрасте и старше соответствуют категории «быстрого», а более младших рыб – «очень быстрого» роста.

Приведенные примеры достаточно убедительно показывают причины изменений речных ихтиоценозов в водохранилищах Волги, выражающихся в снижении роли леща и повышении – густеры и плотвы. Так, по данным А.Н. Яковлевой (1956, 1962), на долю леща в промысловых уловах в р. Волге приходилось 46 %, на долю густеры и плотвы совместно – 13 %. В Волгоградском водохранилище 2010–2011 гг. соответственно – 21 и 33 % (Фонды Саратовского отд. ФГБНУ «ГосНИОРХ»).

Как следует из приведенных примеров, типовая шкала оценки роста рыб может быть с успехом применена не только для оценки роста рыб, но и для анализа общих современных тенденций в динамике ихтиоценозов с позиции экосистемного подхода и установления причин происходящих изменений, в том числе и антропогенного влияния.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ермолин В.П. Типовая шкала оценки роста рыб. – С.-Пб., 2011. – 108 с.

2. Ермолин В.П. Оценка роста основных промысловых рыб в Саратовском водохранилище. Водные экосистемы: трофические уровни и проблемы поддержания биоразнообразия. Материалы Всероссийской конференции с международным участием «Водные и наземные экосистемы: проблемы и перспективы исследований» (Вологда, Россия. 24–28 ноября 2008 г.). – Вологда, 2008. – С. 280–281.

3. Яковлева А.Н. Промысел леща в Нижней Волге и прогноз его численности в Сталинградском водохранилище // Тр. Саратов. отд. ГосНИОРХ. – 1956. – Т. 4. – С. 128–154.

УДК 619:616.981.42:615.372

**К.М. Салмаков, А.М. Фомин, Г.М. Сафина, А.Н. Чернов, М.А. Косарев,
Р.Р. Хабибуллин, Н.Ю. Федорова**

Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности (ФГБУ «ФЦТРБ-ВНИВИ»), г. Казань, Россия

ИЗУЧЕНИЕ НА МОРСКИХ СВИНКАХ ВЗАИМОСВЯЗИ МЕЖДУ ИММУНОГЕННОСТЬЮ ВАКЦИН ИЗ ШТАММОВ В. ABORTUS 82 И В. MELITENSIS РЕВ-1 И КОНЦЕНТРАЦИЕЙ БРУЦЕЛЛ ПРИ ИХ γ -ОБЛУЧЕНИИ

В лаборатории по изучению бруцеллеза ФГБУ «ФЦТРБ-ВНИВИ» г. Казань проводятся исследования по изысканию более технологичной и эффективной противобруцеллезной вакцины для овец.

В задачу данной работы входило изучить на морских свинках иммуногенные свойства вакцин из штаммов В. abortus 82 (SR-форма, слабоагглютиногенный) и В. melitensis Рев-1 (S-форма, агглютиногенный) в зависимости от концентрации взвеси микробных клеток бруцелл при их γ -облучении.

Материалы и методы. В эксперименте было использовано 88 голов морских свинок. Готовили бактериальную массу бруцелл штаммов 82 и Рев-1 на фосфатном забуференном физрастворе в концентрациях 50-100-150-200 млрд м.к./мл. Расфасовывали ее в стеклянные флаконы по 10 мл, закрывали резиновыми пробками и обкатывали алюминиевыми колпачками.

Флаконы со взвесями бруцелл облучали на гамма установке «Исследователь» Со 60 с экспозиционной мощностью 14кГр/час в дозе 30 кГр. Полноту инаktivации взвесей бруцелл устанавливали путем их посева на элективные питательные среды (печеночный и триптозный агары).

По окончании контроля вакцин на полноту инаktivации микробных клеток проводили вакцинацию морских свинок в оптимальных иммунизирующих дозах – вакциной из штамма 82 в дозе 5 млрд. м.к., из штамма Рев-1 – 100 млн м.к.

В качестве контролей использовали живые вакцины из тех же штаммов в дозах соответственно 1 млрд. м.к. и 500 тыс. м.к. В группах было по 8 морских свинок. Вводили вакцины в области паха, подкожно, в объеме 1 мл.

Спустя 15 суток, 1 и 2 месяца со дня вакцинации у 3-х морских свинок из каждой группы брали кровь из ушной вены для проведения серологического исследования в РБП, РА и РСК с единым бруцеллезным (S-) антигеном и РСК с R-антигеном ВНИВИ.

Через 2 месяца после вакцинации животных заражали культурой вирулентного штамма *B. melitensis* 16-М в дозе 50 м.к. (10-ти кратная минимальная инфицирующая доза), подкожно, в области паха, со стороны противоположной месту введения вакцины, в объеме 1 мл. При этом осуществляли контроль дозы заражения путем высева взвеси бруцелл на чашки Петри с триптозным агаром (определяли количество колониеобразующих единиц – КОЕ).

**Результаты изучения на морских свинках иммуногенных свойств
γ-инактивированных вакцин из штаммов *B. abortus* 82 и *B. melitensis* Рев-1
в зависимости от концентрации взвеси бруцелл в процессе ее облучения**

Вакцина, Конц. м.к. при облуче- нии	Колич. голов	ИВС	Рез-ты бактериол. исслед. (М±м)			Заразилось (го- лов)				Иммунных (голов)			
			Выдел. к- р бруцелл		ИИ (%) вирул. к-рой	Ген.	Лок.	Рег.	Всего	Стер.	Нестр.	Всего	%
			Вакц	Вир.									
Из шт. 82 живая	5	2,66± 0,26	5	-	-	-	-	-	-	4	1	5	100,0
82-γ 50 млрд./мл	3	2,72± 0,47	-	-	-	-	-	-	-	3	-	3	100,0
82-γ 100 млрд./мл	6	2,16± 0,12	-	6	10,0	1	-	-	1	5	-	5	83,3
82-γ 150 млрд./мл	5	2,21± 0,26	-	5	10,0	1	-	1	2	3	-	3	60,0
82-γ 200 млрд./мл	5	2,38± 0,22	-	10	20,0	1	-	1	2	3	-	3	60,0
Из шт. Рев-1 живая	6	1,90± 0,08	-	-	-	-	-	-	-	6	-	6	100,0
Рев-1-γ 50 млрд./мл	5	2,27± 0,43	-	8	16,0± 11,6	2	-	-	2	3	-	3	60,0
Рев-1-γ 100 млрд./мл	6	2,28± 0,24	-	12	20,0± 16,1	1	1	1	3	3	-	3	50,0
Рев-1-γ 150 млрд./мл	6	1,85± 0,18	-	-	-	-	-	-	-	6	-	6	100,0
Рев-1-γ 200 млрд./мл	6	2,16± 0,33	-	4	6,7± 4,9	1	-	1	2	4	-	4	66,7
<i>B. melitensis</i> 16-М 50 м.к. (кон- троль)	5	1,53± 0,09	-	29	58,0± 8,9	5	-	-	5	-	-	-	0,0

Через 25–26 суток после заражения морских свинок подвергали эвтаназии с проведением серологического и бактериологического исследований. Выделенные культуры бруцелл типировали в РА на стекле с бруцеллезными S- и R-сыворотками, а также путем высева на питательную среду с 10 ЕД пенициллина на 1 мл. среды.

По результатам обсеменения организма животных вирулентной культурой бруцелл определяли иммуногенные свойства вакцин.

Результаты исследований. Исследования на морских свинках по изучению иммуногенных свойств вакцин из штаммов *B. abortus* 82 и *B. melitensis* Рев-1 в зависимости от концентрации взвеси бруцелл в процессе ее облучения показали (табл.), что вакцину из штамма 82 целесообразно облучать в концентрации 50-100 млрд. м.к., а из штамма Рев-1 в концентрации 150 млрд. м.к./мл. При этом вновь отметили, что у морских свинок, привитых как живой, так и γ -инактивированной вакциной из штамма 82, РА и РСК с единым бруцеллезным антигеном были отрицательными практически у всех животных во все сроки исследований, при положительной РСК с R-антигеном.

Кроме того, в очередной раз было подтверждено положение о том, что только при прорыве иммунитета морские свинки, привитые вакциной из штамма 82, начинали реагировать в РА и РСК с единым бруцеллезным антигеном, а устойчивые к заражению животные реагировали положительно только в РСК с R-антигеном. Что является важным показателем при дифференциально-диагностическом исследовании животных на бруцеллез в производственных условиях.

УДК 619.615.9

Э.И. Семёнов, А.А. Иванов, В.И. Степанов, А.В. Канарский

Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности, г. Казань, Россия

ПОЛУЧЕНИЕ АДСОРБЕНТА МИКОТОКСИНОВ ИЗ ДРОЖЖЕЙ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*

Микроскопические грибы поражают микотоксинами зерновые и масличные культуры, фрукты и овощи, делают их непригодными для употребления человеком и животными. При скармливании животным кормов, контаминированных микотоксинами, регистрируются отдаленные последствия, снижение продуктивности, повышение заболеваемости и массовая гибель животных (Иванов А.В., Тремасов М.Я., Папуниди К.Х., 2008).

Идеальным адсорбентом микотоксинов, на наш взгляд, может стать клеточная стенка дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*. Дрожжи *Saccharomyces cerevisiae* являются непатогенными, широко применяются в хлебопечении. Клеточная стенка дрожжей составляет около 25 % сухой массы

клетки. Полисахариды клеточной стенки (маннаны, глюкоманнаны) относятся к неперевариваемым. β -(1,6)-глюканы дрожжей являются рецепторами киллер-токсинов, играющих, как известно, важную роль во взаимоотношениях между микроорганизмами (Вагабов В.М., 1988).

Целью работы было – определение адсорбции клеточных стенок *Saccharomyces cerevisiae* высокотоксичных метаболитов микроскопических грибов – микотоксинов. В опыте использовалась микробная масса *Saccharomyces cerevisiae* обработанная различными способами. Полученные адсорбенты оценивались по содержанию сырого протеина и белка, удельной поверхности, активных центров и адсорбции Т-2 токсина в условиях имитирующих желудочно-кишечный тракт.

Результаты. Примененные методы обработки дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* приводят к существенному изменению химического состава полученных адсорбентов, их структурных и адсорбционных свойств. Эффективность адсорбции Т-2 токсина адсорбентом, полученного автолизом дрожжевой биомассы, практически соответствует адсорбции Т-2 токсина исходными дрожжами (34,7–35,0 %).

Ферментативная обработка желудочным соком приводит к заметному увеличению содержания сырого протеина. Удельная поверхность, количество активных адсорбционных центров, общий объем микропор в адсорбенте практически сохраняется на уровне значений этих показателей в адсорбенте, полученным автолизом, при этом эффективность адсорбции Т-2 токсина снизилась (26,0 %).

Обработка в две стадии – автолизом и ферментативным гидролизом позволяет эффективно удалять азотсодержащие вещества, наблюдается снижение удельной поверхности, в тоже время, количество активных адсорбционных центров ниже, при этом общий объем микропор выше, чем у адсорбентов, полученных автолизом и ферментативным гидролизом желудочным соком. При этом адсорбция Т-2 токсина этим адсорбентом увеличивается до 3 раз (81,4 %). Удаление белков приводит к увеличению содержания в адсорбенте клеточных стенок, составной частью которых являются полисахариды. Общий объем микропор в адсорбенте, полученным двухстадийным способом обработки дрожжей выше, чем в адсорбенте, полученным одностадийным способом обработки дрожжевой биомассы. Видимо, на адсорбцию Т-2 токсина повлияли эти параметры структуры, увеличив доступность Т-2 токсина к активным центрам полисахаридов клеточной стенки.

Таким образом, адсорбенты, содержащие клеточные стенки *Saccharomyces cerevisiae*, обладают большей эффективностью адсорбции Т-2 токсина, что позволяет их использовать их как кормовая или пищевая добавка для профилактики отравлений микотоксинами. Для получения эффективного адсорбента Т-2 токсина на основе клеточных стенок дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* необходимо как увеличение объема микропор и удельной поверхности, так и снижение содержания в нём белка.

Т.Е. Сорокина, Л.А. Фоменко

Саратовский государственный аграрный университет
имени Н.И. Вавилова, г. Саратов, Россия

ВЛИЯНИЕ МАЛОАМПЛИТУДНЫХ ФИЗИЧЕСКИХ ПОЛЕЙ НА ИОННЫЙ ПЕРЕНОС В МОДЕЛЬНЫХ БИОМЕМБРАНАХ

Мембранные структуры и перенос вещества в мембранах играют огромную роль в биологических и биотехнологических процессах, при этом в любом из них присутствует перенос заряженных ионов через белково-жировые (липидные) мембраны. При этом кинетику трансмембранного переноса ионов во многом определяют электрохимические факторы [1], а воздействия малоамплитудных физических полей (электрических, магнитных, электромагнитных, ультразвуковых и т.д.) способны его интенсифицировать. Важным практическим аспектом такого индуцированного переноса является медицинская и ветеринарная физиотерапия. Поэтому разработка теоретических моделей этого процесса представляется весьма актуальной проблемой.

Изучена проницаемость модельных биомембран по анионам антибиотиков как под действием собственной электрической асимметрии межфазных границ с физиологическими жидкостями, так и при ускоряющем действии малоамплитудных физических полей в рамках модифицированной модели «рыхлого квазикристалла», хорошо известной в теории трансмембранной диффузии в небиологических мембранах [2].

В реальных биологических системах диффузия будет происходить преимущественно по двум каналам проводимости и будет модулироваться либо потоком «кинков» через липидную фракцию биомембран, либо последовательными флуктуациями α -спиралей интегральных мембранных белков. Следует ожидать величин коэффициентов диффузии и энергий ее активации $D \approx 10^{-8} \text{ см}^2/\text{с}$ и $A_d \approx 12 \text{ кДж/моль}$ – для ионного переноса в липидной фазе и $D = 10^{-9} - 10^{-13} \text{ см}^2/\text{с}$ и $A_d = 20 - 30 \text{ кДж/моль}$ – для ионного переноса в белковой фазе.

В качестве модельного объекта исследований использовались препарированные в формалине плацентарные мембраны, толщиной $\lambda \approx 0,1 \text{ мм}$. Электролитом служил изотонический раствор 0,9 % NaCl с отдельно вводимыми добавками 0,2 % (по массе) левомицетина, бензилпенициллина и оксациллина. Эксперименты выполнялись в стеклянной двухкамерной ячейке, термостатируемой термостатом MLW при температуре $T_0 = 309,7 \text{ К}$. В нижнюю камеру ячейки помещался чистый изотонический раствор, а в верхнюю – изотонический раствор с добавкой антибиотика. Растворы разделялись плацентарной мембраной. Концентрация антибиотика в пробах, отбираемых из подмембранного пространства, определялась фотометрически в диапазоне длин волн 265–300 нм. В качестве источников малоампли-

тудных полевых воздействий применялись приборы Б5-43, «Атос», ЛТН-101, УЗУ-0,25 с заменой одного из трех НЧ-излучателей УЗ колебаний на ВЧ-излучатель. Влияние СВЧ-излучения моделировалось термостатическим нагревом ячейки с 309,7 до 317 К.

Экспериментальные результаты исследования кинетики проницаемости плацентарных мембран по аниону левомецетина показали, что при временах экспозиции $\tau \geq 10$ -15 мин экспериментальные точки укладывались на прямые в теоретических координатах $\ln C_\lambda / (C_\lambda - C_0) \cdot \tau^{-1}$ и все малоамплитудные полевые воздействия ускоряют перенос левомецетина. Установлено, что плацентарные мембраны, изготовленные из различных частей одной и той же плаценты, обладают значительной индивидуальностью, «выпрямляющими» свойствами по отношению к постоянному электрическому полю разных знаков, артефактом в виде преобладания ускоряющего влияния постоянного магнитного поля «северной» N ориентации над влиянием поля «южной» S ориентации, температурной зависимостью переноса с $A_D = 12,5$ кДж/моль при $\tau_0 = 3,6 \cdot 10^{-10}$ с; чувствительностью к ИК-лазерному облучению и, особенно, к двухчастотному ультразвуку. Аналогичные результаты получены и для бензилпенициллина и оксациллина.

Выявлены корреляции между скоростью переноса и эффективным зарядом анионов антибиотиков: анион бензилпенициллина переносится быстрее, чем анион левомецетина, несмотря на большую молекулярную массу, что объясняется увеличением эффективного заряда аниона бензилпенициллина до $z=1,2$ за счет частичного гидролитического расщепления β -лактамного цикла, тогда как вклад диссоциации по второй ступени в эффективный заряд аниона левомецетина не столь велик и $z=1,09$. В случае оксациллина расщепление β -лактамного цикла затруднено из-за его экранирования объемными заместителями, поэтому эффективный заряд аниона оксациллина $z=1,0$. Исключение составляет действие ультразвука, где ускорение коррелирует с молекулярной массой антибиотиков: левомецетин > бензилпенициллин > оксациллин, так как в этом случае преобладают механическая стимуляция диффузии и размерный фактор.

Обработка экспериментальных данных показала, что перенос анионов антибиотиков идет преимущественно по липидным «кинковым» каналам проводимости с коэффициентом диффузии $D = 2,6 \cdot 10^{-8}$ - $2,6 \cdot 10^{-7}$ см²/с, энергией активации транскорпоральной ионной диффузии $A_D = 7,9$ - $13,4$ кДж/моль, коэффициентом ускорения $K_y = 1,2$ - $13,5$ при удельной электропроводности плацентарных мембран $2,04 \cdot 10^{-7}$ См/см и ускоряющем сдвиге потенциалов асимметрии $\Delta\varphi_{ам}$ порядка нескольких единиц и десятков милливольт.

Таким образом, можно констатировать по крайней мере качественное согласие модели «рыхлого квазикристалла» с экспериментами *in vitro*, показавшими преобладание липидных транспортных каналов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Богуславский Л.И. Биоэлектрoхимические явления и граница раздела фаз. – М.: Наука, 1978. – 360 с.
2. Николаев Н.И. Диффузия в мембранах. – М.: Химия, 1980. – 232 с.

УДК 619:616-091:616.636.2

Г.Н. Спиридонов, А.Ф. Махмутов, А.Г. Спиридонов, Д.Д. Насертдинов
Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности, г. Казань, Россия

АНАЭРОБНАЯ ЭНТЕРОТОКСЕМИЯ И ЭШЕРИХИОЗНАЯ ДИАРЕЯ ТЕЛЯТ: ЭТИОЛОГИЯ, ЛЕЧЕНИЕ И СПЕЦИФИЧЕСКАЯ ПРОФИЛАКТИКА

Проведены клинико-эпизоотологические, бактериологические и вирусологические исследования в 50 хозяйствах Среднего Поволжья, неблагополучных по желудочно-кишечным заболеваниям телят. Установлено, что в этиологии этих болезней участвуют как бактериальные, так и вирусные агенты. Из бактериальных агентов в 86 % случаях выделены энтеропатогенные штаммы *E.coli*, в 48 % случаях – бактерии рода *Streptococcus*, в 46 % случаях – бактерии *Cl. perfringens*, в 28 % случаях – *Proteus vulgaris*, в 12 % случаях – *Klebsiella*, в 8 % случаях – *Pseudomonas aeruginosa*. Кроме бактерий, в 26 % случаях обнаружены коронавирусы, в 24 % случаях – герпесвирусы и в 20 % случаях – ротавирусы крупного рогатого скота. Во всех обследованных хозяйствах наблюдалась смешанная инфекция, вызванная в одних случаях несколькими видами бактерий, в других случаях – вирусами и бактериями. Смешанная бактериальная инфекция наблюдалась в 19 (38 %) хозяйствах, а в остальных – смешанная вирусно-бактериальная инфекция.

Анаэробная энтеротоксемия установлена в 23 хозяйствах, из них в 18 (78,2 %) хозяйствах она протекала совместно с эшерихиозом, в 12 (52,1 %) – совместно с вирусной (рота-, корона-, герпесвирусная) инфекцией, в 4 (17,4 %) – совместно с псевдомонозом, в 3 (13,1 %) – с протейной инфекцией. Возбудителем анаэробной энтеротоксемии в 15 (65,2 %) случаях признаны бактерии *Cl. perfringens* серотипа А, в 7 (30,4 %) случаях – бактерии *Cl. perfringens* серотипа Д и в 1 (4,3 %) случае – бактерии *Cl. perfringens* серотипа С. Серотип Д выявлен в хозяйствах, где долгое время занимались разведением овец. Средств для специфической профилактики и лечения анаэробной энтеротоксемии телят в РФ не разработаны. Следовательно, изыскание вакцины и гипериммунной лечебно-профилактической сыворотки против этой болезни является актуальной задачей ветеринарной науки и практики.

В ФГБУ «ФЦТРБ-ВНИВИ» разработана ассоциированная вакцина против анаэробной энтеротоксемии и эшерихиозной диареи телят на основе антигенов бактерий *СI. perfringens* (серотипы А, С, Д) и *E. coli* (K99 и A20) (патент РФ № 2428202). Лабораторно-производственные испытания ее на лабораторных животных и крупном рогатом скоте показали, что она стерильна, безвредна для животных, обладает высокой антигенной и иммуногенной активностью.

Установлено, что после вакцинации происходит достоверное повышение титров специфических антител у коров в крови и молозиве, а у новорожденных телят в крови после приема молозива от вакцинированных коров. Так, через 14 дней после вакцинации титры специфических антител к бактериям *СI. perfringens* составили у коров в сыворотке крови $13,0\text{--}13,4 \log_2$ в ИФА, к *E. coli* – $8,7\text{--}9,1 \log_2$ в РА; в молозиве $13,2\text{--}13,6 \log_2$ и $8,5\text{--}8,7 \log_2$ соответственно. Титры специфических антител в сыворотке крови у телят через 24 ч после приема молозива составили к бактериям *СI. perfringens* $13,2\text{--}13,4 \log_2$, к *E. coli* – $8,3\text{--}8,5 \log_2$.

После иммунизации у животных наблюдается увеличение содержания в периферической крови Т- лимфоцитов с $51,4\pm 0,57$ до $57,4\pm 0,44$ и В-лимфоцитов с $17,4\pm 0,67$ до $25,2\pm 0,63$, повышение фагоцитарной активности нейтрофилов с $59,0\pm 0,79$ до $79,5\pm 1,14$ % и фагоцитарного индекса с $5,0\pm 0,5$ до $7,5\pm 0,25$. Следовательно, после вакцинации у животных наблюдается активизация как клеточных, так и гуморальных факторов иммунитета.

Производственное испытание экспериментальных серий ассоциированной вакцины проводили в ООО им. Тимирязева Балтасинского и КФХ «Сулейманов А.И.» Нурлатского районов РТ, стационарно неблагополучных по анаэробной энтеротоксемии и эшерихиозной диареи телят. Специфическую профилактику диареи телят начали с иммунизации стельных коров и нетелей, которым вакцину в дозе 10 см^3 вводили подкожно двукратно за 50–60 дней до отела с интервалом 14 дней. Всего вакцинировано 2829 коров и нетелей. Телят, полученных от вакцинированных коров, иммунизировали двукратно в возрасте 18–20 дней в дозе 3 см^3 с интервалом 14 дней. Эффективность вакцины оценивали по количеству заболевших и павших телят от анаэробной энтеротоксемии и эшерихиозной диареи, сравнивая эти показатели до и после начала применения вакцины в хозяйстве. Анализ полученных результатов показал, что вакцина безвредна для глубокостельных коров и нетелей, обладает выраженными иммуногенными свойствами. Так, после начала применения ассоциированной вакцины заболеваемость новорожденных телят желудочно-кишечными заболеваниями в этих хозяйствах снизилась с 92,1 % до 19,9 %, т.е. в 4,6 раза, повысилась сохранность телят с 77,8 % до 94,3 %, т.е. на 16,4 %.

Нами проведены исследования по получению гипериммунной лечебно-профилактической сыворотки против аэробной энтеротоксемии и эшерихиозной диареи телят на быках-продуцентах. При этом в качестве иммуногена были использованы инаktivированные формалином антигены *СI. perfringens* и *E. coli*. Животных иммунизировали четырехкратно с интервалом

14 дней в нарастающих дозах. Сыворотку от животных получали после завершения цикла иммунизации путем отстаивания крови при температуре 4 °С в течение 48 ч. Каждая серия сыворотки проверялась на стерильность, безвредность и активность. Лечебно-профилактические свойства сыворотки изучали на новорожденных телятах непосредственно в хозяйстве. Предварительные результаты исследований показали, что сыворотка безвредна для новорожденных телят, не обладает реактогенностью, позволяет повысить сохранность телят в стационарно-неблагополучных хозяйствах до 96 %.

УДК 619:579

Е.В. Сульдина, Е.Н. Ковалева, М.А. Имамов, Д.А. Васильев

Ульяновская государственная сельскохозяйственная академия
имени П.А. Столыпина, г. Ульяновск, Россия

ИЗУЧЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ БАКТЕРИОФАГОВ *LISTERIA*

В настоящее время листериоз рассматривается как одна из важнейших пищевых инфекций [2]. В отечественной медицине и ветеринарии для диагностики данного заболевания используют ряд методов (бактериологические, серологические, молекулярно-генетические), однако, наиболее эффективным и экономичным из них является метод фагодиагностики, так как бактериофаги позволяют обнаружить возбудителя даже без выделения чистой культуры. На данный момент существует три штамма бактериофагов *Listeria* – L2A, L4A, P100, которые применяются для профилактики и диагностики листериозной инфекции.

Целью наших исследований было изучение биологических свойств существующих листериозных бактериофагов.

Материалы и методы. Объектами исследования являлись 3 бактериофага *Listeria* – L2A, L4A (ВНИИВВиМ, г. Покров, Россия) и P100 (Голландия).

В качестве исследуемых бактерий использовали 50 штаммов; 17 штаммов бактерий рода *Listeria* (33 – *L.monocytogenes* 10 – *L.innocua*, 2 – *L.seeligeri*, 3 – *L.welshimeri*, 4 – *L.grayi*, 3 – *L.ivanovii*) и референс-штаммы других родов из музея кафедры микробиологии, вирусологии, эпизоотологии и ветеринарно-санитарной экспертизы Ульяновской ГСХА им. П.А. Столыпина (1 штамм бактерий рода *Erysipelothrix*, 2 – *Jonesia*, и 6 штаммов бактерий рода *Staphylococcus*). Бактерии обладали типичными для данных родов и видов биологическими свойствами.

Изучение биологических свойств бактериофагов проводили по методам, предложенным М. Адамсом, М.Р.Дж. Clokie, А.М. Kropinski [1, 3].

Результаты. Морфологию негативных колоний бактериофагов изучали при посевах фагов методом агаровых слоев по Грациа. Учет результатов проводили через 24 часа инкубации при температуре 37 °С.

Негативные колонии, образуемые изучаемыми бактериофагами, имели схожую морфологию: колонии округлой формы с ровными краями, в диаметре от 1 до 2 мм, прозрачные, без вторичного роста и зоны неполного лизиса.

Активность бактериофагов оценивали по их способности вызывать лизис бактериальной культуры в жидких и на плотных питательных средах и выражали максимальным разведением, в котором испытуемый фаг проявил свое литическое действие. Литическую активность бактериофагов определяли методами Аппельмана (метод серийных разведений в жидких питательных средах) и Грациа (метод агаровых слоев на плотных питательных средах).

Проведенные исследования показали, что исследуемые бактериофаги обладали разной литической активностью в диапазоне от 10^{-5} до 10^{-8} , по методу Аппельмана и от 2×10^6 до 1×10^9 фаговых корпускул в 1 мл по методу Грациа (табл. 1).

Таблица 1

Литическая активность листериозных бактериофагов

Бактериофаги	Литическая активность	
	по методу Аппельмана	по методу Грациа
L2A	10^{-6}	1×10^7
L4A	10^{-5}	2×10^6
P100	10^{-8}	1×10^9

Спектр литической активности является характерной особенностью штаммов фага. Определение спектра литической активности проводили методом нанесения фага на газон бактериальной культуры [1].

Опыты показали, что спектр лизиса гомологичных микроорганизмов находился в пределах от 9 % до 100 % из числа изучаемых штаммов.

Специфичность – одно из основных свойств бактериофага, определяющее возможность его применения для идентификации культур возбудителя. Специфичность исследуемых фагов изучали методом нанесения фага на газон гетерологичных бактериальных культур.

В результате изучения бактериофагов L 2A, L 4A и P100 по отношению к представителям других родов (*Erysipelothrix*, *Jonesia*, *Staphylococcus*) и видов рода *Listeria* (*L.innocua*, *L.seeligeri*, *L.welshimeri*, *L.grayi*, *L.ivanovii*) установлено, что данные фаги лизировали большую часть испытуемых культур, что говорит о низкой специфичности исследуемых фагов. Показатели диапазона литического действия и специфичности бактериофагов *Listeria* представлены в таблице 2.

Таким образом, на основании полученных данных, можно сделать вывод о том, что фаги L2A, L4A и P100 не являются видоспецифичными, что затрудняет их применение для фагоидентификации отдельных видов листерий.

Таблица 2

Спектр литической активности и специфичность фагов листерий

Род (вид) бактерий	Количество исследуемых штаммов	Бактериофаги		
		L 2A	L 4A	P100
		Процент лизируемых культур		
<i>L.monocytogenes</i>	33	78,8	9	100
<i>L.innocua</i>	10	—	40	100
<i>L.ivanovii</i>	3	—	66,6	100
<i>L.grayi</i>	4	—	—	—
<i>L.welshimeri</i>	3	33,3	33,3	66,6
<i>L.seeligeri</i>	2	—	50	—
<i>Erysipelothrix insidiosa</i>	1	—	—	—
<i>Jonesia dentrificans</i>	2	—	50	—
<i>Staphylococcus</i>	6	—	—	—

*Примечание: «—» - отсутствие лизиса

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Адамс М. Бактериофаги. – М.: Медгиз, 1961. – 521 с.
2. Листерии и листериоз / И.А. Бакулов, Д.А. Васильев, Д.В. Колбасов [и др.] // монография. – Ульяновск, УГСХА, 2008. – 168 с.
3. Clokie, M.R.J. Bacteriophages: methods and protocols, volume 1: isolation, characterization, and interactions / M.R.J. Clokie, A.M. Kropinski, 2009, Humana Press, 301 p.

УДК 636:612.82

Т.В. Федоренко

Дальневосточный государственный аграрный университет,
г. Благовещенск, Россия

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА КЛЕТОЧНОГО СОСТАВА КОСТНОГО МОЗГА РАЗЛИЧНЫХ ВИДОВ ЖИВОТНЫХ

В литературных источниках можно найти информацию об использовании тканевых биостимуляторов, в которой описывается возможность использования костного мозга как продуцента стимуляторов гуморальной защиты иммунитета [4]. В костном мозге находится основная часть стволовых кроветворных клеток, происходит развитие клеток лимфоидного и миелоидного рядов. Здесь же осуществляется универсальное кроветворение [2]. На этом основании можно утверждать об актуальности использования костного мозга.

Наиболее полное представление о состоянии кроветворной системы дает цитологическое исследование костного мозга, которое играет большую роль в медицинской и ветеринарной практике. Поэтому целью нашего исследования стало изучение состава и структуры костного мозга сибирской косули и сравнение её показателей с домашними видами животных (крупный рогатый скот, мелкий рогатый скот). В задачу нашего исследования вошло проведение цитологического исследования костного мозга домашних и диких животных, дополнение морфологических характеристик сибирской косули, сравнить полученные данные.

Материалом для данного исследования послужили клеточные популяции костного мозга домашних животных (коров, коз) и диких животных (сибирской косули). Мазки костного мозга готовили общепринятым методом. Окрашивание проводили по методу Паппенгейма. Препараты исследовали под иммерсионным объективом по методу Аринкина [3].

Анализируя миелограммы сельскохозяйственных и диких животных (сибирской косули) выяснили, что наибольшее количество лимфоцитов и моноцитов отмечается у коров (8,9 % и 1,6 %); эритробластов и нейтрофилов у сибирской косули (0,7 и 27,5 % соответственно); плазматических клеток у коров (0,7 %).

Костномозговой индекс у исследованных животных находится в пределах нормы, у крупного рогатого скота составляет $0,44 \pm 0,02$, у коз $0,26 \pm 0,03$ и у сибирской косули $0,39 \pm 0,01$, что подтверждается статистически ($P < 0,01$).

Изучение клеточного состава костного мозга домашних и диких животных по содержанию миелобластических клеток показало, что большее количество клеток миелобластического ряда содержалось в костном мозге сибирской косули – 42,9 %, меньше обнаружено у крупного рогатого скота – 34,5 %, и в меньшей степени у коз 24,9 %. Однако анализ клеточного состава позволил выявить некоторые особенности. У сибирской косули обнаружилось большее содержание в костном мозге молодых форм клеток, чем у домашней козы, а именно промиелоцитов на 0,5 %, миелоцитов на 1,0 %, но меньше чем у коров на 0,1 % и 0,7 % соответственно. Метамиелоциты в костном мозге у сибирской косули составляют 5,4 %. Содержание эозинофилов у сибирской косули больше чем у коз на 2,6 % и больше чем у коров на 0,6 %. Содержание базофилов в большем количестве наблюдается у сибирской косули (0,5 %).

Проведя сравнение по эритробластическому ряду, можно отметить, что наибольшее содержание клеток отмечается у сибирской косули (46,6 %), у коров меньше на 21,6 %, а у коз эритроидные элементы не обнаружены, что может быть связано с индивидуальными особенностями, климатическими условиями и кормовыми факторами. Из всех представленных клеток эритроидного ряда наиболее ценными для иммунологии являются эритробласты, в клетках которых имеется комплекс Гольджи, необходимый для синтеза глобулинов, и при анализе данных наибольшее их количество наблюдается у сибирской косули и составляют 0,7 % ($P < 0,01$).

Моноциты образуют самостоятельную клеточную линию моноклеарной фагоцитирующей системы и в тесном взаимодействии с лимфоцитами выполняют ведущую роль во всех видах иммунных реакций. а плазмоциты синтезируют различные классы иммуноглобулинов. Поэтому содержание этих клеток в костном мозге очень важно при подборе материала для приготовления иммуностимулирующих препаратов [1].

Изучение особенностей состава костного мозга по содержанию клеток моноцитарного и лимфоцитарного ростка диких и домашних животных в сравнении показало, что лимфоцитов и моноцитов у коров больше чем у сибирской косули на 2,0 и 0,5 % соответственно.

Таким образом, цитологические исследования животных позволили дополнить морфологические характеристики клеток костного мозга сибирской косули, сравнить данные показатели с домашними видами животных, определить их степень зрелости и функциональную активность.

Клеточный состав костного мозга всех исследованных животных имеет физиологическое обоснование. В миелограмме крупного рогатого скота преобладающим являются лимфоциты и миелограмма лимфоцитарного характера, а у диких животных цитологический состав костного мозга достаточно разнообразен, и он перспективен в плане использования в ветеринарной практике. Таким образом, для получения стимуляторов антигенных популяций целесообразно брать клеточные популяции сибирской косули и коров, содержащие наибольшее количество иммунокомпетентных клеток.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Атлас ветеринарной гематологии. /В.Дж. Риган, Т.Г. Сандерс, Д.Б. Деникола / Пер. с англ. Евг.Махиянова. – М.: ООО «АКВАРИУМ ЛТД», 2000 – 136 с.
2. Иммунология. /Е.С. Воронин, А.М. Петров, М.М. Серых. – М.:Колос-Пресс, 2002. – 408 с.
3. Колоколов, Г.Р. Анализы. Полный справочник /Г.Р. Колоколов, Е.В. Герасина, О.Л. Ананьев, С.Ю. Шашлова. – М.: Эксмо, 2007. – 786 с.
4. Федоров Ю.Н. Иммунокоррекция: применение и механизм действия иммуномодулирующих препаратов // Ветеринария. – 2005. – № 2. – С. 3–6.

УДК 636 .235.23.082

Е.В. Четвертакова, А.И. Голубков

Красноярский государственный аграрный университет, г. Красноярск, Россия

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНА КАППА-КАЗЕИНА И ЕГО ВЛИЯНИЕ НА РОСТ И МОЛОЧНУЮ ПРОДУКТИВНОСТЬ КОРОВ КРАСНО-ПЕСТРОЙ ПОРОДЫ

Применение методов молекулярной генетики дают возможность быстро определить генотип особей и прогнозировать продуктивность на ранних

сроках развития. Эти достижения биотехнологии могут значительно ускорить селекционный процесс.

Целью нашей работы было установление влияния генотипов по гену каппа-казеина на показатели роста тёлочк красно-пёстрой породы енисейского типа от рождения до 18-месячного возраста и в дальнейшем оценке коров-первотелок по показателям молочной продуктивности.

Для этого в лаборатории молекулярной генетики ВНИИплем, методами ДНК-технологий были определены генотипы 106 телок красно-пёстрой породы енисейского типа ОАО Племязавода «Красный Маяк» Канского района Красноярского края. Было установлено, что 63 тёлочки имеют генотип АА, 38 – АВ и 5 – ВВ и в зависимости от этого было сформировано три опытные группы. В нашей исследуемой группе животных частота аллеля А составила 0,78, а В - 0,22. Данные аллели наследуются кодоминантно.

Условия содержания и кормления были одинаковые, все животные содержались в пределах одного хозяйства. Учитывались удои за 305 дней лактации, содержание белка и жира в молоке.

При рождении тёлочки с генотипом по гену каппа-казеина АВ имели живую массу 38 кг, что на 1 кг больше телочек с генотипом АА и на 1,5 кг телочек с генотипом ВВ (табл. 1).

Таблица 1

Динамика роста живой массы тёлочк красно-пёстрой породы енисейского типа с различными генотипами по локусу гена каппа - казеина

Возраст, мес.	Генотип каппа-казеина		
	АА (n=63)	АВ (n=38)	ВВ (n=5)
	М ± m	М ± m	М ± m
При рождении	37,0±0,30	38,0±0,43	36,5±0,72
3	105,0±0,62	107,0 ±0,43	108,0±0,78
6	164,0±1,13	167,0±1,02	170,0±0,83
9	228,0±1,71	230,0±1,02	233,0±2,81
12	280,0±1,90	283,0±3,11	286,0±1,49
15	353,3±1,98	357,0±2,70	360,8±2,07
18	390,9±2,20	393,0± 2,60	398,2±5,70

В возрасте трёх месяцев тёлочки с генотипом АА уступали по живой массе на 2 кг тёлочкам с генотипом АВ ($P>0,99$) и на 3 кг тёлочкам с генотипом ВВ ($P>0,999$) и в возрасте 6 месяцев тёлочки с генотипом АВ и ВВ имели более высокую живую массу по сравнению с тёлочками гомозиготными по гену А. Установили, что телочки с генотипом АА уступали тёлочкам с генотипом АВ на 3 кг и с генотипом ВВ на 6 кг ($P>0,999$).

В 9-месячном возрасте эта тенденция сохраняется, хотя достоверных различий по этому показателю между группами установлено не было. В возрасте 12-месяцев тёлочки с генотипом ВВ были тяжелее своих сверстниц с генотипом АА на 6 кг ($P>0,99$) и на 3 кг тёлочек с генотипом АВ. Эту же закономерность мы наблюдали и в 15-месячном возрасте. Тёлочки

имеющие генотип ВВ на 7,5 кг были тяжелее, чем тёлочки генотипа АА ($P>0,99$) и 3,7 кг тёлочек с генотипом АВ. В 18-месячном возрасте тёлки с генотипом АВ и ВВ имели живую массу 393,0 и 398,2 кг, что на 2,1 и 7,3 кг больше, чем у животных с генотипом АА.

В результате проведенных исследований установили, что тёлочки с генотипом ВВ отличаются более высокой динамикой роста по сравнению с тёлочками генотипов АА и АВ. Ген по локусу каппа-казеина не оказывает отрицательного влияния на показатели роста и развития телочек енисейского типа красно-пестрой породы.

При сравнении групп первотелок по удою за 305 дней лактации установили, что коровы с генотипом АА имеют удой в среднем меньше, чем коровы с генотипом АВ на 58 кг, но больше чем коровы гомозиготные по гену В на 455 кг ($P>0,95$) (табл.2). Сравнение коров генотипа АВ с гомозиготными животными по гену В показало, что животные с генотипом АВ также имеют более высокую молочную продуктивность, чем животные с генотипом ВВ на 513 кг ($P>0,95$).

Таблица 2

Показатели молочной продуктивности коров первотелок в зависимости от генотипа по гену каппа-казеина

Показатели	Генотип по гену каппа-казеина		
	АА n=63	АВ n=38	ВВ n=4
Удой за 305 дней лактации	5807,49±114,58	5865,78±143,77	5352,00±181,06
% жира в молоке	3,90±0,009	3,93±0,015	4,01±0,058
% белка в молоке	2,97±0,006	2,97±0,009	2,99±0,016

Сравнивая группы коров-первотелок по содержанию жира в молоке установили, что коровы с генотипом ВВ превосходили своих сверстниц с генотипом АА на 0,11 % ($P>0,95$) и коров с генотипом АВ на 0,08 %.

По содержанию белка в молоке достоверных различий между коровами разных генотипов выявлено не было, хотя есть тенденция к увеличению этого показателя у коров гомозиготных по гену каппа-казеина В на 0,02 % по сравнению с коровами генотипов АА и АВ.

Таким образом, проанализировав полученные результаты, установили, что коровы-первотелки красно-пестрой породы с генотипами по гену каппа-казеина АА и АВ имеют более высокую молочную продуктивность за 305 дней лактации по сравнению с коровами генотипа ВВ, но по содержанию жира и белка в молоке уступают коровам этой группы.

В нашей исследуемой группе животных частота аллеля А составила 0,78, а В – 0,22.

Г.А. Шевалаев¹, И.М. Ефремов², Ю.В. Пичугин², Д.Г. Сверкалова

¹Ульяновский государственный университет, г. Ульяновск, Россия

²Ульяновская государственная сельскохозяйственная академия
имени П.А. Столыпина, г. Ульяновск, Россия

АКТИВНОСТЬ СТАФИЛАКОККОВОГО ФАГА В СОЧЕТАНИИ С КОМПОНЕНТАМИ КОСТНОГО ЦЕМЕНТА *SYNICEM 1*

Введение. Костный цемент *Synicem 1* широко используются в медицине для коррекции костных дефектов. В последнее время появились сообщения об использовании указанных систем в комплексе с как антибактериальными препаратами (гентамицином), так и различными поливалентными бактериофагами, хотя исследований о влиянии указанных компонентов систем и их смесей на бактериофаги не изучалось.

В связи с чем была определена цель работы – установить влияние компонентов костного цемента *Synicem 1* и их композиции на активность стафилококкового бактериофага, входящего в состав комплексного поливалентного бактериофага «Секстафаг».

Материалы и методы. Секстафаг, полевая культура *S. aureus*, костный цемент *Synicem 1*, пипетки градуированные по ГОСТ 1770-64, чашки Петри по ГОСТ 25336-82, весы DIGITAL SCALE 100g×0,01g, агар бактериологический (Испания), питательный бульон для культивирования микроорганизмов (СПБ) (Махачкала). Метод агаровых слоев по Грация.

Постановка опыта. В стерильных условиях было сделано первое рабочее разведение компонентов костного цемента *Synicem 1*. Жидкая фракция в количестве 0,5 см³ асептически внесена в 4,0 см³ стерильного мясопептонного бульона, акриловый рентгеноконтрастный порошок асептически отвешен и внесен в 4,0 см³ стерильного мясопептонного бульона в количестве 0,5 г, и 0,5 г порошка и 0,5 см³ жидкой фракции помещена в 3,0 см³ стерильного мясопептонного бульона (СПБ). В каждую из пробирок с рабочими разведениями указанных веществ и дополнительно в пробирку с 4,5 см³ стерильного мясопептонного бульона (для контроля), внесено по 0,5 см³ секстафага. Затем был сделан ряд последовательных десятикратных разведений до десятого. На каждое разведение использовалась новая стерильная пипетка, с последнего разведения 0,5 см³ «сбрасывались» в дезинфицирующий раствор. Фаг находился в рабочем разведении под воздействием компонентов и композиции костного цемента более часа.

С каждого разведения производился посев методом агаровых слоев по Грация следующим образом: из каждой пробирки с разведениями забиралось по 1 см³ взвеси и помещалось в пробирку с 0,7 % расплавленным мясопептонным агаром, температурой 45 °С, сюда же вносился 0,2 см³ суточной культуры *S. aureus*. Все содержимое перемешивалось вращением между ладонями, и выливалось на поверхность 2 % мясопептонного агара в

чашках Петри, равномерно распространялось по поверхности 2 % агара круговыми вращениями чашки Петри в закрытом виде по поверхности стола.

Когда верхний слой агара сформировывался, посеы инкубировали в термостате при 37 °С дном чашек вверх, в течении суток. Опыт поставлен трехкратно.

Результаты исследований. Результаты определения активности стафилококкового бактериофага, входящего в состав «Секстафага» представлены в таблице 1.

Результат определения активности стафилококкового фага в результате воздействия на него компонентов и композиции костного цемента *Synicet 1*

Субстраты	Время экспозиции	Количество фаговых корпускул по Грациа
Жидкая фракция, СПБ, суточная культура <i>S. aureus</i>	Более 1 часа	$3,7 \times 10^6 \pm 0,1 \times 10^6$
Акриловый рентгеноконтрастный порошок, СПБ, суточная культура <i>S. aureus</i>	Более 1 часа	$3,2 \times 10^6 \pm 0,2 \times 10^6$
Композиция из жидкой фракции и акрилового рентгеноконтрастного порошка, СПБ, суточная культура <i>S. aureus</i>	Более 1 часа	$3,1 \times 10^6 \pm 0,3 \times 10^6$
СПБ, суточная культура <i>S. aureus</i>	Более 1 часа	$3,7 \times 10^6 \pm 0,1 \times 10^6$

Таким образом, из полученных данных видно, что активность стафилококкового фага, входящего в состав «Секстафага» при выдержке его более часа в 12,5 % растворах компонентов и композиции костного цемента *Synicet 1* существенно не меняется.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Герхарда Ф. Общая микробиология. – М.: Мир, 1984. – Т. 3. – С. 356–358.
2. Гольдфарб Д.М. Бактериофагия. – М.: Медгиз, 1961. – 297 с.
3. Электронный ресурс. [Режим доступа]: <http://riomedica.ru>.

УДК 619:579.25

Г.А. Шевалаев¹, Ю.В. Пичугин², Д.Г. Сверкалова²

¹Ульяновский государственный университет, г. Ульяновск, Россия

²Ульяновская государственная сельскохозяйственная академия имени П.А. Столыпина, г. Ульяновск, Россия

ПОДБОР ХИМИОТЕРАПЕВТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ ПАДЕЖА СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ ОТ УСЛОВНО-ПАТОГЕННОЙ МИКРОФЛОРЫ

Введение. Нами было исследовано два животноводческих хозяйства Ульяновской области. Одно – свиноводческое, другое – крупнорогатого скота.

Причиной начала работы было обращение ветеринарного врача хозяйств с просьбой подобрать наиболее эффективные химиотерапевтические препараты для подавления бактериальных ассоциаций циркулирующих среди поголовья поднадзорных ему животноводческих объектах.

Материалы и методы. Выделенные ассоциации бактериальных культур от поросят и крупнорогатого скота, пипетки градуированные по ГОСТ 1770-64, чашки Петри по ГОСТ 25336-82, питательный бульон для культивирования микроорганизмов (СПБ) (Махачкала), среда АГВ (Махачкала). Набор дисков с химиотерапевтическими препаратами НИЦФ им. Пастера Санкт-Петербург, *Hi media*. Диско-диффузный метод определения антибиотикочувствительности.

Постановка опыта. С одной из баз свиноводческого хозяйства было взято три трупа поросят недельного возраста. С фермы по содержанию крупного рогатого скота – труп теленка недельного возраста, а так же были отобраны пробы молока от коровы № 2940 больной маститом и пробы молозива от коровы № 1662.

Посевы от исследуемых проб культивировались при 37 °С 24 часа, после чего, без разделения на чистые культуры «газоном» высевались на поверхность среды АГВ в чашках Петри и раскладывались диски. Диски использовались производства НИЦФ им Пастера, *Hi media*, а также изготавливались самостоятельно из предоставленных хозяйствами применяемых ветеринарных препаратов.

Учет результатов проводили путем измерения линей кой зон задержки роста. Если вокруг диска образовывалось несколько зон, то учитывали ту, что наименьшего диаметра.

Результаты исследований. Результаты определения чувствительности к химиотерапевтическим препаратам представлены в таблицах 1, 2.

Для проведения терапии врачу ферм были предложены химиотерапевтические препараты, имеющие зону задержки роста не менее 15 мм и подавляющие рост ассоциаций во всех исследуемых пробах отобранных с конкретной фермы.

В результате проведенного анализа данных таблицы 1 по чувствительности ассоциаций бактериальных культур к химиотерапевтическим препаратам, наиболее эффективные были предложены врачу ферм как препараты выбора. Так:

- препарат выбора со 100 % эффектом – амикацин;
- препарат выбора с 75,7 % эффектом – цефотаксим;
- препараты выбора с 66,7 % эффектом – гентамицин, цефтазидим, мастиен-форте, пенстреп, колексин;
- препарат выбора с 50 % эффектом – ципрофлоксацин;
- препарат выбора с 33,3 % эффектом – колистин.

**Результат определения чувствительности выделенных от поросят ассоциаций
бактериальных культур к химиотерапевтическим препаратам**

№	Препарат	Зона задержки роста на среде АГВ, мм.		
		Поросенок 1	Поросенок 2	Поросенок 3
		Кишечник (смесь культур)	Кишечник (смесь культур)	Кишечник (смесь культур)
1	колистин (колимицин)	0	0	15
2	klindamycin	0	0	0
3	цефоперазон	0	0	0
4	эритромицин	0	0	0
5	тетрациклин	0	0	0
6	амфотерин В / амбизом	0	0	0
7	гентамицин 4 %	14	0	17
8	амикацин	18	25	30
9	цефотаксим	0	20	23
10	зинаприм*	0	0	0
11	ампициллин	0	0	0
12	синулокс*	0	0	0
13	цефтазидим	15	0	22
14	левомицетин	0	0	0
15	имипинем	0	0	0
16	оксациллин	0	0	0
17	ципрофлоксацин	15	0	20
18	неомицин	0	0	0
19	фуроданин	14	0	0
20	бицилин	0	0	0
21	мастиен-форте*	0	20	17
22	деспаркол*	0	0	0
23	амоксциллин*	0	0	0
24	пенстреп*	14	19	0
25	колексин	0	20	20
26	chloramfenicol	0	0	0
27	римфапицин	0	0	0

0 – отсутствие задержки роста на среде АГВ;

* - диски изготовленные самостоятельно.

Полученные данные о чувствительности выделенных культур от животных фермы крупного рогатого скота, отраженные в таблице 2, дали основание рекомендовать врачу фермы препараты выбора: гентамицин, амикацин, ципрофлоксацин, мастиет-форте, так как данные препараты вызывали зоны задержки роста более 15 мм у всех ассоциаций бактериальных культур.

Г.А. Шевалаев¹, Ю.В. Пичугин², Д.Г. Сверкалова²

¹Ульяновский государственный университет, г. Ульяновск, Россия

²Ульяновская государственная сельскохозяйственная академия
имени П.А. Столыпина, г. Ульяновск, Россия

ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ АССОЦИАЦИЙ БАКТЕРИАЛЬНЫХ КУЛЬТУР, ВЫДЕЛЕННЫХ ОТ МЕЛКИХ ДОМАШНИХ ЖИВОТНЫХ К ХИМИОТЕРАПЕВТИЧЕСКИМ ПРЕПАРАТАМ

Введение. В настоящее время особое внимание уделяется вопросу возникновения и распространения штаммов бактерий, устойчивых к химиотерапевтическим препаратам, ведется учет их распространения. Всемирная организация здравоохранения заинтересована в новых данных по чувствительности полевых штаммов к давно существующим и новым химиотерапевтическим препаратам.

Проблема рационального применения химиотерапевтических препаратов остро стоит в Российской Федерации особенно в ветеринарной практике. Все чаще от владельцев животных можно слышать: «Мы лечим, лечим отит, вагинит, эндометрит и т.д. и все безрезультатно». Отсутствие лечебного эффекта от применения химиотерапевтических препаратов напрямую связано с возросшей устойчивости циркулирующих ассоциаций бактерий мелких домашних животных.

К сожалению, не все ветеринарные клиники могут определить чувствительность выделенных от больных животных культур к химиотерапевтическим препаратам и на основании этого назначить лечение.

Материалы и методы. Выделенные ассоциации бактериальных культур от 30-ти собак и 7-ми кошек, пипетки градуированные по ГОСТ 1770-64, чашки Петри по ГОСТ 25336-82, питательный бульон для культивирования микроорганизмов (СПБ) (Махачкала), среда АГВ (Махачкала). Диско-диффузный метод определения антибиотикочувствительности. Набор дисков с химиотерапевтическими препаратами НИЦФ им Пастера Санкт-Петербург.

Постановка опыта. На базе кафедры микробиологии, вирусологии и ветеринарно-санитарной экспертизы было проведено определения чувствительности ассоциации бактериальных культур выделенных от мелких домашних животных к химиотерапевтическим препаратам за период с 2010–2012 гг.

Определение проводили диско-диффузным методом. Пробы отбирались с пораженных участков кожи, конъюнктивы, собиралось содержимое абсцессов, отделяемое уретрального, цервикального каналов и слухового канала при соблюдении всех правил асептики в пробирку со стерильным мясопептонным бульоном. Посевы культивировались в течение 24-х часов, и затем, не разделяя ассоциации бактерий на чистые культуры, проводился

посев «газоном» на поверхность среды АГВ и раскладывались диски с химиотерапевтическими препаратами. Посевы выдерживались в термостате при 37 °С в течение 24-х часов, по истечении которых, проводился учет чувствительности к химиотерапевтическим препаратам путем измерения линейкой зоны задержки роста.

Результаты исследований. Полученные результаты разбили на четыре группы, в зависимости от размера зоны задержки роста выделенных ассоциаций бактериальных культур:

- к первой группе отнесли химиотерапевтические препараты, вызывающие зону задержки роста до 10 мм;
- ко второй группе отнесены химиотерапевтические препараты, вызывающие зону задержки роста от 11 до 15 мм;
- к третьей группе отнесены химиотерапевтические препараты, вызывающие зону задержки роста от 15 до 25 мм;
- к четвертой группе отнесены химиотерапевтические препараты, вызывающие зону задержки роста выше 25 мм.

Выделенные от мелких домашних животных ассоциации бактериальных культур нечувствительны в 75 % к оксацилину, в 69 % к имипинему, в 55 % к левомецетину, в 45 % к ампицилину, в 39 % к тетрациклину, в 30 % к синилоксу, в 17 % к амикацину, в 8 % к гентамицину, в 5 % к зинаприму.

Бактериальные ассоциации малочувствительны (зона задержки роста 11–15 мм) к имипинему, синилоксу, амикацину в 3 % случаев, в 16 % к ампицилину, в 9 % к эритромицину, в 6 % цефотаксиму, в 4 % к тетрациклину, в 5 % к левомецетину.

Исследуемые ассоциации бактериальных культур чувствительны (зона задержки роста от 15 до 25 мм) в 44 % случаев к амикацину, в 42 % к тетрациклину, в 41 % к гентамицину, в 33 % к цефотаксиму, в 32 % к левомецетину, в 30 % к зинаприму и синилоксу, в 26 % к ампицилину, в 23 % к оксацилину и эритромицину, к имипинему в 14 %.

Ассоциации бактериальных культур в 49-ти % случаев высокочувствительны к препарату гентамицину (зона задержки роста более 25 мм), в 39 % к амикацину; в 35 % к синилоксу, в 15 % к тетрациклину, в 14 % к имипинему и эритромицину, в 12 % к цефотаксиму и цефотаксиму, в 11 % к зинаприму, в 13 % к ампицилину, в 9 % к левомецетину, в 3 % к оксацилину.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. МУК 4.2.1890-04 «Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам».
2. Козлов Р.С., Сивая О.В., Кречикова О.И., Иванчик Н.В. Динамика резистентности *Streptococcus pneumoniae* к антибиотикам в России за период 1999–2009 гг. // Клиническая Микробиология и Антимикробная Химиотерапия. – 2010. – № 12 (4). – С. 329–341.
3. Электронный ресурс. [Режим доступа]: <http://www.vgnki.ru/news/2012/79>.

Т.И. Яковлева, О.В. Никитина, Д.В. Клочков

Саратовский филиал Самарского медицинского института «РЕАВИЗ»,
г. Саратов, Россия

ОПЫТ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ФЕРМЕНТНЫХ ПРЕПАРАТОВ В СТОМАТОЛОГИИ

Среди всех лекарственных препаратов, на наш взгляд, одними из самых перспективных являются препараты биотехнологического генеза. Это обусловлено и широким спектром действия препаратов, и экономически выгодными способами получения. В стоматологии наиболее часто применяют ферментные препараты, ингибиторы ферментов, и, несомненно, антибиотики.

Какие же ферменты и ферментные препараты привлекают стоматологов? Это прежде всего препараты литического действия, относящиеся к третьему классу ферментов и катализирующие реакции гидролиза (протеазы, нуклеазы и др.). Положительный эффект таких препаратов обусловлен тем, что они, очищая раневую поверхность от некротических тканей, уничтожают питательную среду для бактерий и тем самым создают хорошие условия для заживления. В литературе имеются сведения об успешном использовании трипсина и химотрипсина в терапии периодонтитов и пульпитов – в частности, Н.Д. Извековой с соавторами предложен метод лечения хронических периодонтитов трипсин-электрофорезом корневых каналов. Далее – И.М. Старобинский с соавторами наблюдали хорошие результаты при лечении пародонтита с использованием рибонуклеазы, К.Laniszevska использовала гиалуронидазу для лечения периодонтитов, М.Baranska-Gachouska – щелочную фосфатазу для лечения пульпита; Г.Ф. Катауровой и Р.В. Точильской отмечен положительный эффект использования внутриканального введения лизоцима при лечении периодонтита и т.д.

Хотелось бы поделиться собственным опытом использования ферментных препаратов в стоматологии.

Примером «классических» ферментов является *трипсин* (*Trypsin*) – протеолитический фермент, получаемый из поджелудочной железы крупного рогатого скота, при местном воздействии расщепляет некротизированные ткани, разжижает вязкие секреты, экссудаты, сгустки крови, инактивирует некоторые бактериальные токсины. В нашей практике мы использовали водный раствор трипсина для обработки корневых каналов. В качестве растворителя применяли изотонический раствор натрия хлорида или 0,5–2 % раствор новокаина. При труднопроходимых изогнутых корневых каналах для введения трипсина использовали электрофорез. Лекарственные дозы трипсина вводили с отрицательного полюса в системы макро- и микроканалов, а также в периапикальные ткани. Для электрофореза применяли

трипсин, разведенный в буфере (борная кислота 2,5 г, калия хлорид 7,4 г, едкий натр 3 г, дистиллированная вода 500 мл) или изотоническом растворе натрия хлорида, которые обеспечивают щелочную реакцию среды (рН 8,0–10,0), оптимальную для биологической активности трипсина. Время воздействия до 15 мин. Количество процедур зависит от степени деструктивных изменений в периодонте. При фиброзном периодонтите достаточно 2 процедур, при гранулематозном и гранулирующем – от 3 до 6 процедур.

Более интересным на наш взгляд является *лизозим* (*Lysocitum*), или *мурамидаза* – гидролитический фермент, разрушающий клеточные стенки бактерий путём гидролиза пептидогликанамуреина. Лизозим в основном получают из белка куриных яиц. Однако следует отметить, что в больших количествах лизозим содержится и в слюне, чем объясняются её антибактериальные свойства. Лизозим мы применяли для медикаментозной обработки корневого канала при периодонтите, 0,1 % раствор лизозима, приготовленный на изотоническом растворе натрия хлорида. Для электрофореза содержимое флакона растворяли в 2–3 мл изотонического раствора натрия хлорида или 0,25 % раствора новокаина (вводят с анода). Интересно отметить, что лизозим входит в состав паст для пломбирования корневых каналов при гранулирующем и гранулематозном периодонтите. При лечении периодонтита лизозимом усиливается неспецифическая реактивность тканей пародонта и ускоряется репарация костной ткани.

Еще одним из ферментов, используемых в стоматологии, является *лизоамидаза* (*Lysoamidasa*) – протеолитический фермент, продуцируемый бактериальной культурой из семейства *Pseudomonodaceae*. Лизоамидаза как протеолитический препарат способствует очищению ран от гнойно-некротических масс, ускорению образования свежих грануляций и улучшению условий для заживления ран, как бактериолитическое средство – способен разрушать клеточные стенки грамположительных бактерий. Лизоамидазу мы использовали для лечения заболеваний слизистой оболочки рта (многоформная экссудативная эритема, рецидивирующий афтозный стоматит, язвенно-некротический гингивостоматит Венсана, вирусный стоматит и др.) Препарат накладывали на пораженную слизистую оболочку рта в виде аппликаций на 15–30 мин.

Итак, нами рассмотрены ферментные препараты, используемые в стоматологии, а также механизм их действия, на собственном опыте из стоматологической практике показан положительный эффект применения ферментных препаратов при ряде заболеваний ротовой полости.



УДК 579.22

С.А. Аленькина, В.Е. Никитина

Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН,
г. Саратов, Россия

ВЛИЯНИЕ ЛЕКТИНОВ АЗОСПИРИЛЛ НА БИОХИМИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ В КОРНЯХ ПРОРОСТКОВ ПШЕНИЦЫ

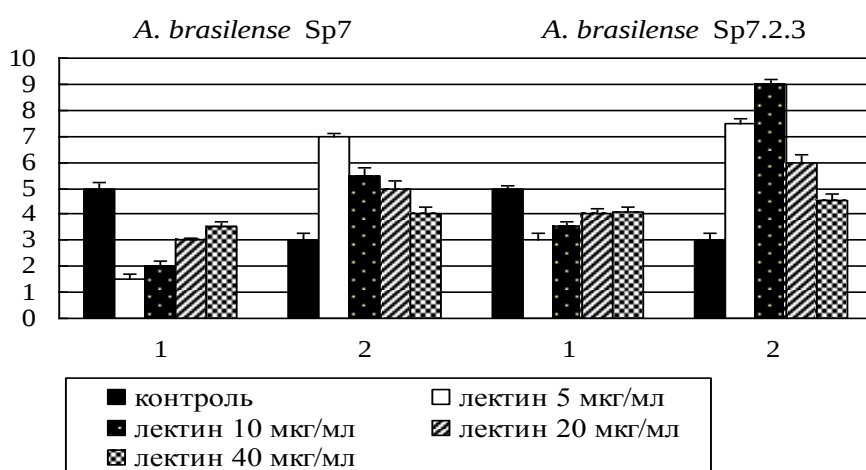
Необходимым условием развития экологического земледелия является создание методов и технологий формирования, поддержания эффективно-го функционирования высокоинтегрированных микробно-растительных систем, сочетающих в себе полезные свойства и растений, и микроорганизмов. В настоящее время информации о функционировании ассоциативных симбиозов пока еще недостаточно для глубокого понимания этого явления, и многие вопросы остаются пока неясными. Кроме общепризнанных ведущих факторов, синтеза фитогормонов и вклада в азотное питание растений за счет фиксации молекулярного азота, несомненно, существует и ряд других аспектов позитивного воздействия микропартнера ассоциативного симбиоза на жизнедеятельность макропартнера. Учитывая функциональные особенности гемагглютинирующих белков азоспирилл, было выдвинуто предположение, что лектины наряду с другими поверхностными структурами способны участвовать не только в адгезии бактерий на корнях растений, но и влиять на метаболизм растительной клетки.

Частью защитных реакций растений является увеличение уровня салициловой кислоты (СК) в растительной клетке. Известно, что под воздействием различных биогенных факторов содержание СК в тканях растений может возрастать в десятки раз (Васюкова Н.И. с соавт., 2007).

Целью исследований явилось изучение влияния лектинов двух штаммов азоспирилл – *Azospirillum brasilense* Sp7 и мутантного штамма *A. brasilense* Sp7.2.3 (Аленькина С.А. с соавт., 1998) на содержание СК в корнях проростков пшеницы.

Для исследований были взяты четыре концентрации лектинов – 5, 10, 20, 40 мкг/мл. В ходе проведенных экспериментов измеряли количество свободной и конъюгированной форм СК, поскольку формы СК легко переходят одна в другую и при этом обладают разной биохимической и физиологической активностью. Результаты показали, что лектины изменяли содержание СК лишь через час инкубации с корнями. Оба лектина вызывали увеличение концентрации свободной и уменьшение концентрации конъюгированной форм СК при всех изучаемых концентрациях. Для лектина ро-

дительского штамма наблюдалось снижение эффекта с увеличением концентрации лектина. Максимум увеличения свободной СК отмечался при концентрации 5 мкг/мл. Для лектина мутантного штамма максимальное значение наблюдалось при 10 мкг/мл. Что касается связанной формы СК, то для обоих штаммов с увеличением концентрации происходило снижение оказываемого лектинами эффекта. Максимальное снижение происходило при концентрации лектинов – 5 мкг/мл.



Содержание конъюгированной (1) и свободной (2) форм СК в корнях проростков пшеницы в контроле и при предобработке лектинами *A. brasilense* Sp7 и *A. brasilense* Sp7.2.3.

Лектин мутантного штамма по сравнению с лектином родительского штамма наиболее эффективно увеличивал количество свободной СК и менее эффективно изменял содержание связанной формы СК. В связи с тем, что количество образовавшейся свободной СК и количество гидролизованной связанной СК неравнозначно, особенно в случае с лектином мутантного штамма, определяли активность фермента, ответственного за синтез СК – фенилаланин-аммиак-лиазы.

Как показали результаты, индукция активности ФАЛ происходила как в случае с лектином родительского, так и мутантного штамма, но лектин мутантного штамма в данном случае проявлял большую активность, особенно при концентрации – 10 мкг/мл. Из рисунка и таблицы видно, что при воздействии лектина мутантного штамма прослеживается очень четкая корреляция между изменением содержания свободной СК и активностью ФАЛ в корнях для изучаемых концентраций лектина, что не отмечается для лектина родительского штамма.

Таким образом, изменение содержания салициловой кислоты в корнях проростков пшеницы после воздействия лектинов азоспирилл свидетельствуют о том, что лектины способны выступать в качестве индукторов адаптационных процессов. Лектины изучаемых штаммов азоспирилл имеют различную функциональную активность. Лектин родительского штамма обладает большей регулирующей активностью по отношению к β -

глюкозидазе, которая превращает конъюгированную форму СК в свободную, лектин же мутантного штамма – к ФАЛ, отвечающую за синтез СК.

**Активность ФАЛ в корнях проростков после инкубации с лектинами
A. brasilense Sp7 и Sp7.2.3**

Обработка	Активность ФАЛ, %
Вода (контроль)	100 ± 3
Лектин <i>A. brasilense</i> Sp7 – 5 мкг/мл	115 ± 5
Лектин <i>A. brasilense</i> Sp7 – 10 мкг/мл	105 ± 4
Лектин <i>A. brasilense</i> Sp7 – 20 мкг/мл	110 ± 6
Лектин <i>A. brasilense</i> Sp7 – 40 мкг/мл	120 ± 3
Лектин <i>A. brasilense</i> Sp7.2.3 – 5 мкг/мл	150 ± 4
Лектин <i>A. brasilense</i> Sp7.2.3 – 10 мкг/мл	210 ± 3
Лектин <i>A. brasilense</i> Sp7.2.3 – 20 мкг/мл	110 ± 9
Лектин <i>A. brasilense</i> Sp7.2.3 – 40 мкг/мл	105 ± 3

УДК 57.085.23: 633.491

Н.В. Бойкова, О.В. Ткаченко

Саратовский государственный аграрный университет
имени Н.И. Вавилова, г. Саратов, Россия

**ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ МЕРИКЛОНОВ КАРТОФЕЛЯ И БАКТЕРИЙ
AZOSPIRILLUM BRASILENSE В УСЛОВИЯХ *IN VITRO* И *EX VITRO***

Бактерии рода *Azospirillum* относятся к ростостимулирующим ризобактериям и являются одним из наиболее интенсивно исследуемых ассоциативных партнеров растений. Доказано их положительное влияние на рост и развитие растений в культуре *in vivo*. Сравнительно мало работ по влиянию азоспирилл на растения *in vitro*. Примером может служить работа украинских ученых из Института сельскохозяйственной микробиологии (г. Чернигов) (Волкогон и др., 2006). По их данным, азоспириллы, интродуцированные в зону корней картофеля в культуре *in vitro*, вызывают интенсивное развитие растений.

Целью данного исследования, проводимого совместно с сотрудниками Института физиологии и биохимии растений РАН (г. Саратов), являлось изучение возможности и условий создания ассоциаций двух штаммов бактерий *Azospirillum brasilense* с мериклонами картофеля в культуре *in vitro*. Определяли изменение морфологических параметров растений в процессе культивирования *in vitro* и (*ex vitro*). Ассоциации бактерий с корнями растений определяли методами иммунофлуоресцентной микроскопии и иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием специфических антител к клеткам *A. brasilense*.

В результате исследований было установлено, что бактерии оказывали положительное влияние на рост микропобегов, вызывали усиленное ветвление корней. При этом наблюдались различия в эффективности взаимодействия бактерий и микроклонов картофеля в условиях оптимального и недостаточного питания.

УДК 633.11«324»: 533.9.082.74(571.17)

Н.В. Вербицкая, И.В. Егорова, Е.П. Кондратенко, О.М. Соболева

Кемеровский государственный сельскохозяйственный институт,
г. Кемерово, Россия

ВЛИЯНИЕ ПРЕДПОСЕВНОЙ ОБРАБОТКИ МИКРОВОЛНОВОЙ СВЧ- ЭНЕРГИЕЙ НА ПОСЕВНЫЕ КАЧЕСТВА ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ

Введение. Важнейшей задачей растениеводства на современном этапе развития является поиск способов и приемов повышения посевных качеств семян.

Особое значение для зернового хозяйства страны имеет пшеница. Соблюдение агротехники возделывания пшеницы является обязательным требованием для получения высокого урожая. Свой вклад в повышение урожайности вносит предпосевная обработка семян.

К основным приемам предпосевной обработки семян относятся воздушно-тепловой обогрев, применение химических и биологических препаратов, физическое воздействие. В настоящее время приоритетным направлением является использование нанoeлектротехнологий, то есть методов стимулирования семян электрофизическими способами без применения пестицидов, стимулирование всхожести, энергии прорастания и силы роста электромагнитными полями [3].

Перспективной является технология обработки семян энергией СВЧ-поля: она сочетает в себе электрические и тепловые процессы воздействия на семена и позволяет осуществить их регулирование. Основная цель СВЧ-обработки – активизировать ростовые процессы в семенах, снять семенную инфекцию и обеспечить производство экологически чистой продукции [1]. При прорастании семян обработанных физическими факторами, существенным моментом является ускорение процесса набухания – пускового момента прорастания и повышения водоудерживающей способности проростков, изменение проницаемости протоплазмы и активизация процесса поступления веществ в клетку. В семенах активизируется деятельность ферментов, гидролиз запасных питательных веществ, изменяется углеводный обмен, фракционный состав фосфоросодержащих соединений, аминокислотный обмен. Проростки больше накапливают сухих веществ, отли-

чаются более быстрыми темпами роста, большим количеством зародышевых корешков [4].

В зависимости от дозы обработки ферментативные реакции могут вызывать стимулирующее или ингибирующее действие. Стимулирующие дозы вызывают активацию ростовых процессов, изменение физико-химического состояния клеток, темпов дыхания и других метаболических реакций. Повышенные дозы вызывают нарушения внутриклеточных структур, что требует определенных затрат на их восстановление [2].

Целью наших исследований явилось выявление влияния предпосевной обработки микроволновой СВЧ энергией на энергию прорастания и лабораторную всхожесть озимой мягкой пшеницы.

Материалы и методы исследований. Лабораторные опыты с озимой пшеницей проводили на базе Кемеровского государственного сельскохозяйственного института, на кафедре технологии хранения и переработки сельскохозяйственной продукции. Объект исследований – озимая мягкая пшеница сорта Новосибирская 40.

В опыте изучалось несколько вариантов воздействия СВЧ-обработки на энергию прорастания и всхожесть семян, контрольная проба обрабатывалась водой. В опытном варианте семена обрабатывали на микроволновой установке «Rolsen» (частота магнетрона 2450 МГц) в режимах мощности от 80, 240 и 400 Вт, время обработки 10 и 20 секунд для каждого режима мощности. Энергию прорастания семян пшеницы и лабораторную всхожесть определяли в соответствии с требованиями ГОСТ 12038-84.

Результаты исследований. При СВЧ-обработке семян озимой пшеницы выявлено его действие на их посевные качества. Результаты, полученные при обработке озимой мягкой пшеницы сорта «Новосибирская 40», представлены в таблице.

Результаты СВЧ-обработки семян озимой мягкой пшеницы сорта «Новосибирская 40»

Параметры опыта	Энергия прорастания, %	Всхожесть, %
Контроль	70,0	70,6
СВЧ 80Вт/10 сек	78,6	78,8
СВЧ 80 Вт/20 сек	83,6	84,8
СВЧ 240Вт/10 сек	94,2	95,0
СВЧ 240 Вт/20 сек	94,8	95,8
СВЧ 400Вт/10 сек	80,0	80,4
СВЧ 400 Вт/20 сек	77,4	77,6

Анализ результатов исследования, показал что, во всех вариантах предпосевной СВЧ-обработки семян озимой мягкой пшеницы сорта «Новосибирская 40» энергия прорастания и всхожесть превышает показатели контрольной пробы от 7 до 25 %

Таким образом, наилучшие результаты выявлены в вариантах с режимом мощности 240 Вт при обработке 10 и 20 секунд. По сравнению с кон-

тролем энергия прорастания выше на 24,2 % и 24,8 %, всхожесть на 25 % и 25,8 % соответственно.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Бастрон А.В.* Технология и технические средства обеззараживания семян энергией СВЧ-поля / А.В. Бастрон, А.В. Мещеряков, Н.В. Цугленок // Вестник КрасГАУ. – 2007. – № 1. – С. 268.
2. *Исмаилов Э.Ш.* Биофизическое действие СВЧ-излучений. – М.: Энергоатомиздат. – 1987. – 189 с.
3. *Нижарадзе Т.С.* Сравнительная эффективность физического и биологического методов предпосевной обработки семян яровой пшеницы // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. – 2010. – № 3 (65). – С. 41–43.
4. *Трифонов М.Ф.* Морфофизиологические основы действия физических факторов на продуктивность растений // Аграрный вестник Урала – 2005. – № 6 (30). – С. 3–4.

УДК 581.6

Е.О. Видягина^{1,2}, Ю.А. Ковалицкая¹, К.А. Шестибратов¹

¹Филиал Федерального бюджетного учреждения науки института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Московская обл, г. Пущино, Россия

²Пущинский государственный естественно-научный институт, Московская обл. г. Пущино, Россия

СУПЕРЭКСПЕРССИЯ КСИЛОГЛЮКАНАЗЫ SP-XEG КАК СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ РАСТЕНИЙ ОСИНЫ С УВЕЛИЧЕННЫМИ ПОКАЗАТЕЛЯМИ ПРОДУКТИВНОСТИ

Ксилоглюкан является полисахаридом гемицеллюлозы растительной клеточной стенки, который поперечно сшивает прилегающие микрофибриллы целлюлозы, обеспечивая формирование прочного каркаса. Разделение микрофибрилл при росте клетки растения обеспечивают ферменты, расщепляющие ксилогликаны и ослабляющие связи между микрофибриллами. В настоящее время суперэкспрессия ферментов, расщепляющих ксилоглюкан, рассматривается как перспективный способ модификации фенотипа и увеличения продуктивности древесных растений. В связи с этим нами были созданы и охарактеризованы трансгенные растения осины с конститутивной экспрессией рекомбинантной ксилоглюканазы sp-Xeg из гриба *Penicillium canescens*.

Трансформацию растений осины проводили с использованием растительного материала Pt (*Populus tremula*) с помощью агробактериального переноса. В результате впервые нами были получены 25 линий трансгенных растений осины. Конститутивная экспрессия гена sp-Xeg на уровне транскрипции подтверждена методом ОТ-ПЦР.

Проведённый биометрический анализ показал увеличение скорости роста трансгенных растений по сравнению с нетрансгенным генотипом. Значительное увеличение высоты побега на 25 % отмечено для линий PtXVXeg1b, PtXVXeg1a, PtXIVXeg1a (рис. 1). Отмеченное нами увеличение скорости роста взаимосвязано с изменением числа междоузлий. Наибольшее отличие от контроля (Pt) на 18 % было у растений клона PtXIVXeg1a.



Рис. 1. Растения контрольных и трансгенных клонов осины (слева на право: контроль – Pt, клон с увеличением скорости роста на 25 % – PtXVXeg1a). На рисунке представлены среднестатистические представители группы растений

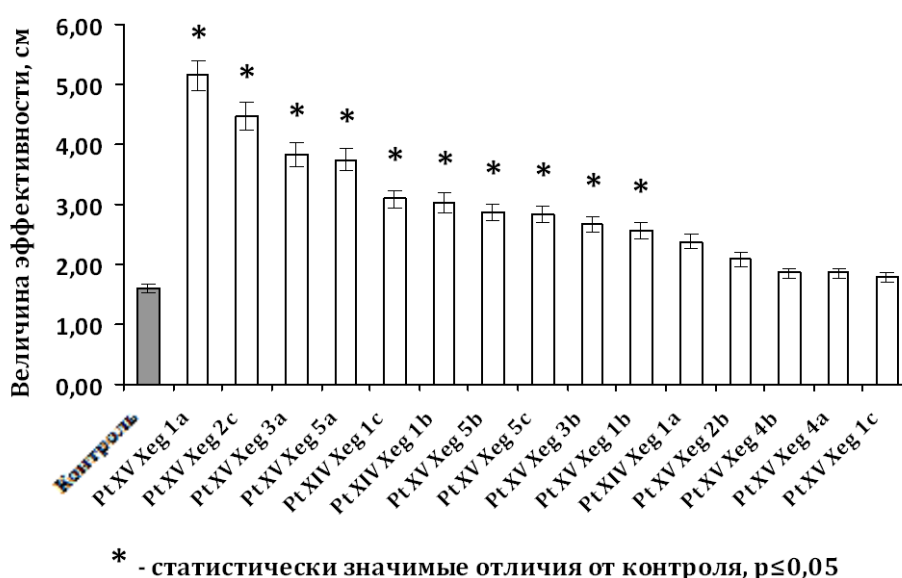


Рис. 2. Анализ эффективности укоренения трансгенных растений

Кроме увеличения скорости роста, так же происходило изменение ризогенеза. Эффективность укоренения всех трансгенных линий была выше, чем у контроля. У клонов PtXVXeg1a она превышала контрольное значение в 3,2 раза (рис. 2). Повышению эффективности укоренения в условиях *in vitro* соответствовало увеличение биомассы корневой системы. Биомасса корней в

условиях открытого грунта у части клонов (PtXVXeg1b, PtXVXeg4b, PtXVXeg5b) увеличилась примерно на 20–25 % по сравнению с контролем.

Анализ экстрактов из листьев тепличных растений показал увеличение активности ксилоглюканазы в 1,4 и 2 раза у клонов PtXVXeg1b и PtXVXeg1c. Также был проведен анализ содержания пентозанов - основного компонента гемицеллюлозы. Во всех линиях трансгенных растений отмечено снижение содержания пентозанов в древесине. Максимальное снижение составило 31 % (рис. 3). Полученные данные ксилоглюканазной активности и содержания пентозанов в целом коррелируют с данными высоты побега и повышением ризогенеза.

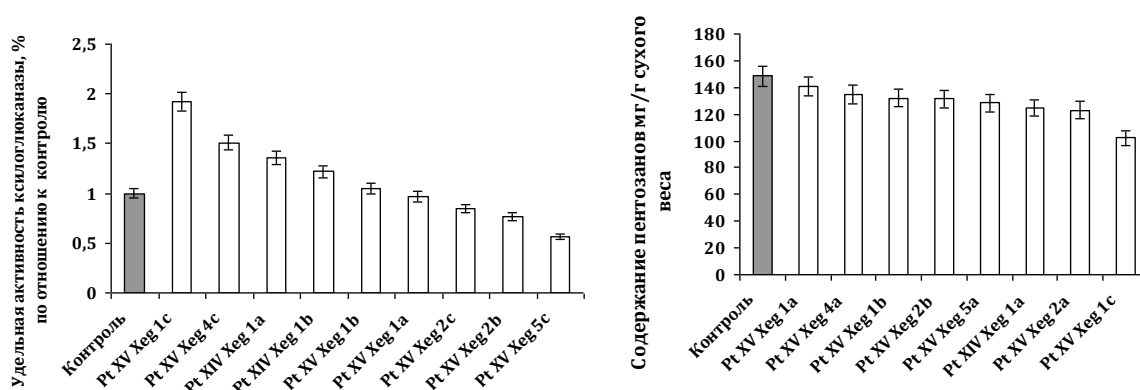


Рис. 3. Биохимический анализ трансгенных растений осины. Слева на право: анализ ксилоглюканазной активности в листьях тепличных растений; анализ удельного содержания пентозанов в древесине трансгенных линий и контрольных растениях осины

На основании проведённых анализов в качестве наиболее перспективных и продуктивных линий отобраны PtXIVXeg1a, PtXVXeg1a, PtXVXeg1b. Выделенные нами клоны обладают рядом преимуществ перед растениями дикого типа и другими клонами: повышение скорости роста, эффективность укоренения, а также снижение содержания гемицеллюлозы. В дальнейшем планируется проведение исследований по изучению биологии данных клонов в условиях открытого грунта.

УДК: 663.258.21 (045)

М.А. Емельянова, Е.В. Аверьянова

Бийский технологический институт (филиал) Алтайского государственного технического университета имени И.И. Ползунова, г. Бийск, Россия

КИСЛОТНОСТЬ СОРТОВ ВИНОГРАДА КУЛЬТИВИРУЕМЫХ В ПРЕДГОРНОЙ ЗОНЕ АЛТАЯ

Как известно, являясь субтропической культурой, виноград традиционно культивируют в России на юге европейской части страны (Северный Кавказ, Ростовская область и др.). Но еще в конце позапрошлого века

И.В.Мичуриным были предприняты успешные попытки выращивать виноград в средней полосе. Потом выращивали и выращивают сейчас виноград и в Подмосковье, и на северо-западе, на Урале, на юге Сибири и Дальнего Востока. Есть положительный опыт даже в Архангельской области, где казалось бы, он не может расти даже теоретически.

Предгорная зона Алтая имеет ряд отличий от других регионов в выращивании винограда. Самым существенным отличием считается значительное охлаждение почвы в зимний период. Однако насколько сложным не было бы выращивание этой культуры, имеются ощутимые успехи сибирских виноградарей. В настоящее время на территории предгорной зоны Алтая культивируют технические сорта винограда, такие как Гуна, Зилга, Мускат Катунский, Фиолетовый ранний, Таёжный и другие.

Как показали, исследования сорта хорошо зарекомендовали себя при производстве столовых вин. Одним из отходов виноградных вин является винный камень, из которого можно выделить винную кислоту, применяемую в пищевой промышленности (пищевая добавка Е334), в медицине, в аналитической химии для обнаружения альдегидов, сахаров и др. В связи с этим представлялось интересным определить содержание винной кислоты в сортах винограда культивируемого на Алтае и выделение её из густых осадков.

Исследования проводились на местных сортах винограда собранных в 2010, 2011, 2012 гг. Сравнить эти годы представлялось интересно, в 2010 г. были очень сложные погодные условия, зима выдалась чрезвычайно суровой, буквально «вырубившая» большую часть штамбовых плодовых культур виноградарства. В 2011 г. количество солнечных дней было минимально, а 2012 г. в сравнении со среднестатистическими годами выдался жаркий и очень благоприятный для винограда.

Сорт винограда	Количество сахара, г\дм ³			Общая кислотность в пересчёте на винную, г\дм ³		
	2010 г.	2011 г.	2012 г.	2010 г.	2011 г.	2012 г.
Татьяна	174	103	173	5,5	7,6	6,3
Гуна	111	108	114	4,6	5,3	8,4
Зилга	171	150	155	5,7	7,9	8,0
Мускат Донской	124	135	148	10,1	11,5	11,8
Фиолетовый ранний	152	114	146	4,2	5,06	4,6
Загадка Шарова	134	129	132	4,9	4,2	4,9
Таёжный	138	134	144	11,2	10,5	10,7
ЧБЗ	139	114	204	13,9	13,7	10,7
Шварцрислинг	132	126	106	14,8	11,4	11,0
Дорн Фельдер	71	120	147	14,8	10,9	10,1
Леонленл.	154	159	185	11,3	11,1	10,6
Московский устойчивый	125	138	146	11,3	10,3	9,3
Каберне Северный	155	157,5	175	12,3	15,3	13,6
Киш-миш	153	123	151 (194)	11,1	10,4	12,2 (12,7)
Степняк	78	116	158 (199)	17,8	15,0	12,3 (12,7)
Альфа	120	130	175	28,7	31,98	24,6

Уровень кислотности в сортах зависит в первую очередь от погодных условий, так как по мере вызревания винограда содержание кислот в плодах снижается, и ягоды становятся слаще. Несмотря на прогнозируемое увеличение кислотности в 2010 г. по сравнению с 2011 и 2012 гг., увеличение кислотности наблюдается в 31,25 % случаях. Максимальная кислотность по анализируемым сортам стабильна у винограда сорта Альфа. Это технический сорт винограда, среднего периода созревания. Ягоды средние, округлые, чёрные с красновато – бурым или фиолетовым оттенком, покрыты обильным восковым налётом. Используется, для консервирования и домашнего приготовления вина по плодово-ягодному типу. Материал из этого винограда может служить источником для получения винной кислоты.

УДК 632.3.01/.08

**А.Н. Игнатов¹, М.В. Сухачева¹, Е.И. Шевердина¹, М.В. Егорова²,
К.П. Корнев², Е.С. Мазурин²**

¹Центр «Биоинженерия» РАН, г. Москва, Россия

²Центр Карантина растений, п. Быково, Московская обл., Россия

ИЗУЧЕНИЕ ГЕНОМНОГО ПОЛИМОРФИЗМА У ФИТОПАТОГЕННОГО РОДА БАКТЕРИЙ *XANTHOMONAS*

Культурные растения поражаются многими видами бактерий рода *Xanthomonas* Ram. (Dow.). Этот род делится на виды, патоварианты, серотипы и клональные группы (Alvarez et al., 1994; Vicente et al., 2002). Группы бактерий рода *Xanthomonas* различаются как по поражаемым растениям, так и по вызываемым симптомам болезней. Целью данной работы была оценка разнообразия нескольких представительных штаммов ксантомонад, выделенных из разных культур методом MLST/MLSA и сравнение с предварительным фенотипическим анализом.

Распространение фитопатогенных бактерий рода *Xanthomonas* на культурных растениях в регионах Российской федерации было изучено в процессе сбора коллекции фитопатогенных микроорганизмов во ВНИИ фитопатологии (п. Большие Вяземы, Московская обл.), в рамках выполнения проектов МНТЦ №1771 (2001–2005) и № 3431 (2006–20012). Только патогенные штаммы использовались в последующих экспериментах. Для выделения ДНК использовали набор «Минипреп» (Силекс ООО, Россия) в соответствии с инструкцией производителя. Концентрацию и чистоту ДНК определяли флуориметрией при 260/280 нм, используя Nanodrop® ND-1000, и разводили до 20 нг/мкл.

Штаммы Хс были изучены с помощью MLST/MLSA в соответствии с протоколом, описанным Young et al. (2008), включая секвенирование фрагментов генов *gyrB*, *dnaK*, *fyuA* и *groD*. Полученные последовательности были объединены с почти 100 гомологичными фрагментами, предста-

вительными для всех патовариантов и видов ксантомонад. Четыре других консервативных гена были использованы в соответствии с работой Ignatov et al (2007) и неопубликованным данным E. L. Schuenzel. Праймеры были разработаны для последовательности полного генома штамма *X. campestris* 10451T (AE008922) с помощью программы Primer Express 3.0 (Applied Biosystems, Foster City, CA).

Анализируемые дополнительно гены включали белок активатора транскрипции *ahyR*, бета субъединицу РНКдифосфат редуктазы, аденилсукцинат синтетазу *purA*, и цитрат синтетазу *prpC*. Дополнительно, были амплифицированы фрагменты гена белка конденсации льда (ice nucleation protein - *inp*) с праймерами для 3'-конца гена, и межгенный фрагмент между двумя тандемными копиями tRNA *ala*-tRNA_{Glu} находящимися на терминальной части хромосомы и рекомендованный В.С Зотовым (2012) как «универсальный» маркер для многих видов бактерий.

Результат сравнения последовательностей изученных фрагментов генов показал, что штаммы *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*, выделенные в Японии, США, Великобритании, Танзании, Таиланде, и России из коммерческих культур (капуста, цветная капуста) принадлежали гомогенной «эпидемической» группе по большинству изученных генов. Штаммы, выделенные в РФ из масличных крестоцветных клатеризовались в основном отдельно от «эпидемической» группы. Исключения из этого правила были показаны для генов *rpoD* и *purA* у штаммов из Японии и для гена *fyuA* у штаммов из Танзании, группировавшимися с рапсовыми штаммами. Некоторые другие штаммы из рапса, выделенные в России были определены как *X. raphani*, *X. hortorum* и *X. arboricola*. Некоторые штаммы имели сходство с *X. campestris* по последовательности гена *gyrB* (порядковый номер гена 4, близко к сайту начала репликации хромосомы, защищенному от рекомбинаций связью с клеточной мембраной), но были сходны с *X. arboricola* по другим генам. Интересно, что штаммы 1343 и 1344 имели только ген *nrdF* альтернативного типа, в то время как штаммы 1363-1367 отличались от *X. campestris* по всем генам кроме гиразы Б. Штаммы 1368 и 1372 были кластеризованы вне группы Хсс по гену *rpoD*, а штаммы 1704-1708 были сгруппированы с *X. hortorum* по гену *dnaK*. В то же время, штаммы S2 и S4 из подсолнечника, определенные как *X. arboricola* по ряду генов, были помещены в кластер Хсс по гену *dnaK*.

Ранее, мы нашли, что ряд штаммов *X. arboricola*, патогенных для капустных, зерновых и подсолнечника, выделенных в Московской области и Южном регионе РФ имели ген *cytP450* идентичный *X. campestris*, и предположили наличие горизонтального переноса генов между *X. campestris* и *X. arboricola*. Таким образом, мы нашли дальнейшее подтверждение этой гипотезы. Перенос генов теоретически может увеличить адаптивность бактерий к новым поражаемым растениям. Нам не удалось найти в литературе описание фактов межвидового переноса генов у ксантомонад.

Только несколько штаммов из масличных культур имели ген конденсации льда (*inp*), в отличие от штаммов из овощных капустных. Вероятно

данный ген играет важную роль в адаптации к овощным капуста, и штаммы из рапса не используют кристаллы льда для разрушения растительной ткани.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Young JM et al. (2008) A multilocus sequence analysis of the genus *Xanthomonas*. Syst Appl Microbiol 31: 366–377.
2. Зотов В.С. и др. (2012) Новый таксономический маркер клубеньковых бактерий рода *Rhizobium* и его эволюция. Экологическая генетика. Т. 10. – № 2. – С. 50–61.

УДК 60:547.426.1:633.13:665.3

С.В. Ковалева

Саратовский государственный аграрный университет
имени Н.И. Вавилова, г. Саратов

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ГЛИЦЕРИН-СОДЕРЖАЩЕГО ОТХОДА ПРОИЗВОДСТВА БИОДИЗЕЛЯ ДЛЯ СТИМУЛЯЦИИ ПОСЕВНЫХ КАЧЕСТВ ОВСА

В настоящее время актуальной задачей для развития биотехнологий в России является внедрение наиболее доступных технологий, направленных на повышение экономической и экологической эффективности производств, на комплексное полное использование отходов, новых технологических процессов получения продуктов глубокой переработки, таких как биодизельное топливо. Следует подчеркнуть, что рентабельность производства биодизеля может быть значительно повышена за счет использования глицерин-содержащего отхода.

Основная цель нашего исследования состояла в том, чтобы получить биодизельное топливо из растительного масла, отходов жировых комбинатов (фуза и соапстока), а также оценить возможность использования образующейся глицерин-содержащей фракции для стимуляции посевных качеств овса посевного.

Биодизельное топливо было получено нами из триглицеридов масложирового сырья переэтерификацией с этанольным раствором гидроксида калия. Образовавшийся в результате реакции глицерин-содержащий отход отделяли, затем проводили качественную реакцию на наличие глицерина. Далее семена контрольной группы замачивали на 2 ч в дистиллированной воде, опытной – в 0,5 % растворе неочищенного глицерина.

Нами впервые установлено, что 0,5 % раствор глицериновой фракции биодизельного топлива увеличивает энергию прорастания семян овса посевного в 2 раза, всхожесть – на 3,4 %, дружность прорастания – на 19,6 %, сокращает сроки прорастания на 33,9 %, по сравнению с семенами, обработанными водой.

В.В. Козулин, А.А. Щербаков

Саратовский государственный аграрный университет
имени Н.И. Вавилова, г. Саратов, Россия

БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ОЛИГОСАХАРИДОВ ФИТОПАТОГЕННЫХ БАКТЕРИЙ *XANTHOMONAS CAMPESTRIS*

Спектр действия бактерии рода *Xanthomonas* охватывает большинство семейств сельскохозяйственных культур. Экономический ущерб, наносимый заболеваниями, вызываемыми бактериями этого рода, достигает высоких цифр. В связи с этим поиск эффективных средств защиты для борьбы с болезнями, возбудителями которых являются микроорганизмы данного рода, выявление механизмов фитопатогенеза становится одним из приоритетных направлений научных работ в этой области.

Объектом наших исследований являлись полисахаридсодержащие биополимеры бактерий *Xanthomonas campestris*. Ранее другими исследователями были установлены факты биологической активности олигосахаридных производных биополимеров фитопатогенных микроорганизмов. В связи с этим возникло предположение об участии олигосахаридов в фитопатогенезе крестоцветных. Для проверки этого предположения нами были проведены эксперименты по воздействию смеси низкомолекулярных продуктов, полученных после гидролиза углеводсодержащих биополимеров из культуральной жидкости бактерий рода *Xanthomonas*, на листья капусты и контрольных растений, взятых из нескольких семейств.

Полученные результаты исследований позволяют сделать вывод, что олигосахариды и модифицированные моносахариды, выделенные из различных по составу полисахаридсодержащих комплексов бактерий *X. campestris* pv. *campestris* шт. В 610, 8183^а, и олигосахариды из экзополисахарида шт. В 611 оказывают фитотоксическое действие на растение-хозяина. При этом их действие проявляется морфологическими изменениями, характерными для специфических симптомов сосудистого бактериоза.

*Е.П. Кондратенко, Д.В. Сандрыкин, Н.В. Вербицкая, Д.А. Соловьева,
Е.З. Маликова*

Кемеровский государственный сельскохозяйственный институт,
г. Кемерово, Россия

ГУМИНОВЫЕ ВЕЩЕСТВА КАК ФАКТОР ОПТИМИЗАЦИИ УСЛОВИЙ РОСТА И РАЗВИТИЯ ЯРОВОЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ В УСЛОВИЯХ СТЕПНОЙ ЗОНЫ КУЗНЕЦКОЙ КОТЛОВИНЫ

Введение. Повышение эффективности производство зерна является главной задачей, стоящей как перед сельскохозяйственными товаропроизводителями, так и перед государством (Насыров, 2010).

Основным направлением сельскохозяйственного развития Кемеровской области остается производство зерна. В области яровая мягкая пшеница является основной продовольственной культурой, однако ее урожайность по годам сильно варьирует. Одним из резервов стабилизации и увеличения продуктивности культуры возможно за счет повышения устойчивости растений к стрессовым факторам. Введение в технологию возделывания яровой мягкой пшеницы препаратов с антистрессовым действием позволит уменьшить воздействие пестицидов на почву, повысить продуктивность зерновых культур и качество продукции (Л.В. Касимова). Проблема эффективного использования препаратов с иммуностимулирующим и антистрессовым действием для повышения адаптивности и продуктивности пшеницы является актуальной.

Цель работы – изучить влияние биопрепаратов из торфа на продуктивность яровой мягкой пшеницы для повышения устойчивости культуры к стрессовому воздействию абиотических факторов.

Объекты и методы исследований. Исследования проводились в 2012 г. на опытном поле Промышленновского района Кемеровской области, который относится к степной зоне Кузнецкой котловины. Почва опытного поля представлена черноземом выщелоченным с содержанием гумуса 9,7 %, гранулометрический состав легкосуглинистый.

Общая площадь делянки 9 м², повторность трехкратная, размещение вариантов методом рендомизированных повторений. Опыты включали следующие варианты: контроль (без применения гуминовых препаратов), обработка растений в фазе кущения пшеницы очищенным гумастимом (концентрация 0,1 % и 0,05 %) и гумастимом с добавлением CaCl₂ такой же концентрации. В качестве объекта изучения была яровая мягкая пшеница сорта Баганская 95. Яровую пшеницу во все годы исследования выращивали по чистому пару. Посев осуществляли в агротехнические сроки во второй декаде мая. Норма высева – 6,0 млн всхожих зерен на гектар. Глубина заделки семян – 4–5 см, посев узкорядный. Для посева использовали

семена переходящего фонда 1-й репродукции. Уборку урожая проводили в фазу полной спелости зерна в конце августа.

Наблюдения и учеты в опытах проводили по методике Госкомиссии по сортоиспытанию сельскохозяйственных культур (1982). Структуру урожая определяли путем разбора сноповых образцов, отобранных с площади 1 м² за один-два дня до начала уборки. В снопе подсчитывали число растений, стеблей, в т.ч. продуктивных. У 25 растений, отобранных методом средней пробы из снопового образца, измеряли высоту растений, определяли длину колоса, количество колосков в колосе, количество и массу зерна с колоса. Массу 1000 зерен определяли по ГОСТ 10842-89.

Метеорологические условия в 2012 г. были экстремальными: ГТК составил 0,4, что свидетельствует о сильной засухе.

Результаты исследований. Результаты анализа структуры урожая растений свидетельствует о положительном действии обработки адаптогенами на плотность продуктивного стеблестоя, длину колоса, его озерненность, массу зерна с колоса и массу 1000 зерен (табл.).

Влияние обработок пшеницы гуминовыми препаратами из торфа на высоту растений и элементы структуры урожая, 2012 г.

Вариант	Высота растений, см	Число продуктивных стеблей шт/м ²	Длина колоса, см	Число колосков в колосе шт.	Число зерен в колосе, шт.	Масса зерен с колоса, г	Масса 1000 зерен, г	Биологическая урожайность, ц/га
Контроль	45,0	478	3,80	6,30	8,14	0,212	22,5	10,13
Очищенный гумастим, 0,1 %	55,0	505	5,95	9,56	14,0	0,480	28,1	24,24
Очищенный гумастим, 0,05 %	60,0	525	6,09	9,65	14,32	0,595	29,3	31,23
Гумастим + CaCl ₂ , 0,05 %	55,0	509	5,00	7,50	10,0	0,315	27,1	16,03
Гумастим + CaCl ₂ , 0,1 %	55,0	510	6,52	9,10	9,24	0,435	24,8	22,10
Гумастим, 0,05 %	50,0	506	5,00	8,00	10,0	0,400	28,6	20,24
Гумастим, 0,1 %	48,0	470	3,95	6,00	10,2	0,537	22,8	25,20

При обработке посевов пшеницы в фазу кущения раствором очищенного гумастима (концентрация 0,05 %) выявлено его действие на среднюю высоту растений и элементы структуры урожая. По сравнению с контролем, высота увеличилась на 15 см, число растений на 1 м² на 9,8 %, биологическая урожайность на 21,1 ц/га. Масса 1000 зерен увеличилась с 22,8 г на контроле до 29,3 г. Аналогичная тенденция уменьшения стрессового воздействия наблюдается при обработке другими гуминовыми препаратами, выделенными из торфа.

При обработке пшеницы в фазу кущения раствором гумастима (концентрация 0,1 %) наблюдалось также увеличение числа и массы зерен с

колоса, в результате чего возросла биологическая урожайность культуры на 15,07 ц/га.

Таким образом, обработка биопрепаратами из торфа посевов пшеницы Баганская 95, за счет уменьшения стрессового эффекта, приводит к стимуляции ростовых процессов растений на 3–13 см, увеличению длины колоса на 0,15–2,29 см, числа колосков 1,2–3,35 шт., числа зерен с колоса – 1,86–6,18 шт., массы зерна с одного колоса на 0, 103–0,383 г и массы 1000 семян – 0,3–6,8 г, в результате чего возрастает продуктивность культуры.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Насыров З.И. Экономическая эффективность производства зерна в условиях Нечерноземной зоны Республики Башкортостан // Достижения науки и техники АПК. – 2010. – № 10. – С. 7–10.
2. Влияние гуминовых стимуляторов из торфа на урожайность пшеницы [Электронный ресурс] / Л.В. Касимова [и др.]. Режим доступа: <http://www.humus.msn.ru>.

УДК 631.44/.45:631.82

В.И. Лопушняк

Львовский национальный аграрный университет, г. Львов, Украина

СИСТЕМА УДОБРЕНИЯ КАК ФАКТОР ВЛИЯНИЯ НА ФИТОСАНИТАРНОЕ СОСТОЯНИЕ ТЁМНО-СЕРОЙ ОПОДЗОЛЕННОЙ ПОЧВЫ ЗАПАДНОЙ ЛЕСОСТЕПИ УКРАИНЫ

Современное представление о почве и её экологических функциях в биосфере опирается на способностях живой фазы почвенного комплекса противостоять дестабилизирующим воздействиям. Благодаря физико-химическим и в почве обеспечивается высокая экологическая устойчивость почвенного покрова. Однако длительное антропогенное воздействие на почву, неоправданное применение различных агрохимических средств и пестицидов обуславливает ухудшение состояния почвенного покрова, усиливает его деградацию. Поэтому, в современных стратегиях применения удобрений целесообразно принимать во внимание влияние агрохимических средств на микробиологическое сообщество почвы, изменение его количественного и качественного состава.

Целью исследований проведённых в условиях стационарного полевого опыта при кафедре почвоведения, земледелия и агрохимии Львовского НАУ было изучение влияния различных систем удобрений на микробиологическое и фитосанитарное состояние тёмно-серой оподзоленной почвы, а также динамику её биологических показателей.

Схема стационарного полевого опыта предусматривала шесть вариантов: контроль (без удобрений) минеральную систему удобрения, органо-минеральную с постепенным насыщением органическими удобрениями (от

6,25 т/га до 15,0 т/га площади севооборота) и органическую с насыщением 17,5 т/га площади севооборота. В качестве органических удобрений использовался подстилочный навоз КРС, сидераты и солома озимой пшеницы.

В вариантах, где вносили удобрения, сумма NPK составляла 1030 кг/га ($N_{390} P_{210} K_{430}$).

Исследование проводили в полях коротко ротационного зерно – пропашного плодосменного севооборота с таким чередованием культур: озимая пшеница – сахарная свекла – яровой ячмень – клевер.

Исследованиями установлена зависимость динамики количественного состава почвенных микроорганизмов от применяемых систем удобрений. Под влиянием удобрений повышалось содержание практически всех таксономических групп микроорганизмов. Однако под влиянием минеральной системы повышалось содержание грибов и актиномицетов, а под влиянием органической и органоминеральной целюлозоразлагающих бактерий и нитрификаторов. Наиболее численная группа – аммонификаторы также изменялась под влиянием удобрений. Органические удобрения содействовали повешению численности аммонификаторов перед окончанием вегетации сельскохозяйственных культур на 19,2 % в сравнении с контролем и на 16, 0 % в сравнении с минеральной системой удобрения. Анализ индекса Шеннона показал что органоминеральная и органическая система удобрения с насыщением 15,0–17,25 т/га площади севооборота способствовала большему биоразнообразию микробиологического сообщества почвы, а следовательно большей его экологической пластичности, в сравнении с минеральной системой удобрения и контрольным вариантом на 5–6 %.

В наших исследованиях отмечено позитивное влияние органоминеральной и органической систем удобрений на улучшение фитосанитарного состояния, поскольку под их влиянием показатель почвоутомления характеризовался как низкий. В тоже время на варианте с минеральной системой удобрения и на контроле фитосанитарное состояние почвы было неудовлетворительным.

В процессе исследований нами установлено позитивное влияние органической и органоминеральной системы удобрения, в отличие от минеральной, на биологическое состояние тёмно-серой оподзоленной почвы Западной Лесостепи Украины.

Е. З. Маликова, Е.П. Кондратенко

Кемеровский государственный сельскохозяйственный институт,
г. Кемерово, Россия

ОСОБЕННОСТИ ФОРМИРОВАНИЯ ПОСЕВНЫХ КАЧЕСТВ СЕМЯН ЯРОВОЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ ПОД ВЛИЯНИЕМ ЭЛЕКТРОМАГНИТНЫХ ВОЛН

Актуальность проблемы. Яровая пшеница в Кемеровской области является одной из основных продовольственных культур. Посевные площади ее за последние годы увеличились. Между тем, учитывая сложные метеорологические условия выращивания пшеницы, особенно в период созревания урожая, получить качественные семена этой культуры не всегда удается.

При выращивании в поле для развития растений существенное значение имеет оптимальная густота стояния и площадь питания, что определяется нормой высева семян и их всхожестью. Использование семян с высокой всхожестью позволяет снизить норму их высева, а также заложить основу для нормального роста и развития растений.

Способность растений сохранять высокую продуктивность в экстремальных условиях существования зависит от надежности функционирования всех защитных систем, которые должны обеспечивать его приспособляемость к определенным интервалам колебаний факторов среды. Активность систем, обеспечивающих нормальное прорастание семян при воздействиях факторов среды различной природы, зависит от степени устойчивости семян к этим факторам.

В связи с этим изучение приемов повышения жизнеспособности, энергии прорастания и всхожести семян, выращенных в условиях Кемеровской области, представляется весьма важной научной и практической задачей.

Целью наших исследований являлось изучение влияния электромагнитных полей на лабораторную всхожесть и энергию прорастания семян яровой мягкой пшеницы.

Объекты и методики исследования. Объектом исследования являлись 2 сорта яровой пшеницы: среднеспелый Баганская 95 и среднеранний Ирень. Лабораторные исследования были проведены на базе Кемеровского государственного сельскохозяйственного института, на кафедре технологии хранения и переработки сельскохозяйственной продукции.

Схема опыта:

- 1 Контроль – семена не обрабатывали
- 2 Опытные образцы обрабатывали электромагнитными волнами в течение 5;15;25;60 секунд.

Энергию прорастания и всхожесть определяли по ГОСТ 12038-84 «Семена сельскохозяйственных культур. Методы определения всхожести»

Результаты исследований. Были исследованы эффекты воздействия микроволнового электромагнитного поля на посевные качества семян пшеницы с целью определения экспозиции воздействия, положительно влияющей на энергию прорастания и всхожесть. Результаты исследования представлены в таблице.

Влияние СВЧ-энергии на посевные качества семян мягкой яровой пшеницы

Экспозиция воздействия, сек	Баганская 95		Ирень	
	Энергия прорастания, %	Всхожесть, %	Энергия прорастания, %	Всхожесть, %
5	95,45	97,80	94,70	95,00
15	91,70	90,55	95,35	96,25
25	87,20	88,75	76,50	80,25
60	47,95	67,35	37,40	53,25
контроль	90,50	92,15	92,75	94,25

Результаты наших исследований показали, что максимальные энергия прорастания и всхожесть семян пшеницы сорта Баганская 95 наблюдались при воздействии электромагнитного поля в течение 5 секунд, а у сорта Ирень при 15 секундном воздействии. Минимальная энергия прорастания и всхожесть наблюдалась при воздействии на семена в течение одной минуты.

Выводы:

1. Выявлена сортовая чувствительность семян пшеницы на электромагнитное воздействие. Для прорастания среднеспелого сорта Баганская 95 лучшими условиями была экспозиция воздействия 5 сек, а для среднераннего сорта Ирень – 15 сек.

2. Установлено, что увеличение времени экспозиции до 60 секунд приводит к понижению посевных качеств семян пшеницы.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Гончаров Н.П., Гончаров П.Л. Методические основы селекции растений. – Новосибирск: Академическое издательство «Гео», 2009. – 427 с.
2. Головина Т.А. Влияние СВЧ-поля на фитопатогенный комплекс и качественные показатели зерна пшеницы. Красноярск, 2004. – 158 с. диссертация кандидата биологических наук : 03.00.16 Красноярск, 2004. – 158 с.
3. Афонин М.И., Юрмос М.А. Эффективность предпосевного облучения семян гамма-лучами. «Теоретические и практические аспекты использования ионизирующего излучения в сельском хозяйстве». – Кишинев, 1976. – С. 76–103.
4. Влияние электромагнитного стимулирования на начальный рост пшеницы / MarinkovicBranko, MalesevicMiroslav, CrnobaracJovan [и др.] // Die WirkungelektromagnetischerStimulationaufdenKeimungsprozessvonweizen GesundePflanz. – 2003. – N 6. – С. 187–190.

А.В. Масиленко, Д.А. Васильев, В.А. Исайчев

Ульяновская сельскохозяйственная государственная академия
имени П.А. Столыпина, г. Ульяновск

ПЕРСПЕКТИВЫ МЕТОДОЛОГИИ БИОЭКОЛОГИЧЕСКОГО МОНИТОРИНГА И КОНТРОЛЯ ФИТОПАТОГЕННЫХ ВИДОВ *Erwinia* (на примере *E. herbicola*)

В настоящее время *Erwinia* – род, объединяющий как эпифитные и эндофитные микроорганизмы, так и бактериальные патогены растений. На основе совокупности морфологических, биохимических, серологических и генетических свойств род включен в семейство *Enterobacteriaceae*.

Патогенные виды вызывают различные заболевания растений: *E. amylovora* – бактериальный ожог плодовых деревьев, *E. alni* – рак коры клена, *E. pyrifoliae* – поражения грушевых деревьев, *E. carotovora* (в наст. вр. *P. carotovorum* subsp. *carotovorum*) – мокрые гнили овощей и картофеля, *E. uredo* – зерновую ржавчину и т.д. Характерной чертой патогенности возбудителей является секреция пектинолитических ферментов, ответственных за деградацию растительной клеточной стенки [3].

В то же время некоторые представители эпифитных и эндофитных видов, таких, например, как *E. herbicola*, являются природными антагонистами фитопатогенных бактерий [6].

E. herbicola – сапрофитный микроорганизм, который чаще всего обнаруживается на поверхности растений (эпифитным). Эпифиты не наносят вреда растению, и, вместе с тем, главной их особенностью является защита растения от фитопатогенных бактериальных видов путем прямой конкуренции или с помощью секреции специфических антибиотиков.

Следует отметить, что *E. herbicola* является своеобразным инструментом контроля качества зерна. Так при соблюдении режима хранения зерна, на его поверхности исследователи обнаруживают до 80 % *E. herbicola*, т.е. можно назвать этот вид биосенсором нормальной биоты зерна.

Однако в последнее время все больше стало появляться публикаций, связанных с поражением культурных растений некоторыми штаммами *E. herbicola*, получивших в своём фенотипе вектор патогенности [1, 2, 4, 5]. Так, Van Doorn and De Witte (1997) в своих исследованиях идентифицировали *E. herbicola* на пораженных незрелых коробочках хлопчатника, Moline and Kulik (1997) – плодах капусты, Abdel-Gowad et al. (2001) – гнили персика, абрикоса, сливы и яблока, Galal et al. (2003) – гнили томата.

В процессе размышления над причинами появления патогенности некоторых штаммов *E. herbicola* можно рассматривать два направления: либо факторы патогенности изначально заложены в генотипе вида, однако по каким-либо причинам не экспрессируются, и не проявляются в фенотипе, либо факторы патогенности привнесены извне участками хромосом пато-

генных видов бактерий (например, в процессе конъюгации) или в составе генетического материала бактериофагов.

Поэтому с одной стороны *E. herbicola* может быть использован в качестве биоиндикатора нормобиоты растительной ткани или почвы, с другой – появление патогенных штаммов этого вида позволяет отнести его к возбудителям заболеваний растений. Тогда очевидна необходимость разработки методов биоэкологического мониторинга наличия *E. herbicola* в почве и на поверхности растительной ткани сельскохозяйственных культур, которые должны включать в себя и идентификацию некоторых штаммов этого вида, получивших в ходе своей жизнедеятельности вектор фитопатогенов.

E. herbicola является представителем семейства Enterobacteriaceae, поэтому, до настоящего времени основным методом индикации и идентификации этого микроорганизма являлся микробиологический. Однако видового типирования, по нашему мнению, чаще всего оказывается недостаточно, особенно при учете появления некоторых штаммов *E. herbicola*, проявляющих фитопатогенные свойства.

Одними из перспективных методов в идентификации представителей рода *Erwinia*, в том числе и *E. herbicola* являются молекулярно-генетический и метод фагодиагностики. Первый из них позволяет обнаруживать участки геномной ДНК или её транскриптов (РНК), соответствующих определенным экспериментальным целям: видовая идентификация, индикация наличия островков патогенности штаммов вида, уровень экспрессии определенных генов. Использование бактериофагов в наших исследованиях открывает перспективы как индикации и идентификации *E. herbicola* в целом, как вида, так и типирование на уровне фаговариантов, а также использование их в качестве биоиндикаторов в мониторинге состояния микробиоты почвы, сельскохозяйственных культур, зерно- и овощехранилищ.

Исходя из этого, нашими задачами в разработке методологической основы биоэкологического мониторинга фитопатогенных видов *Erwinia* (на примере *E. herbicola*) являются:

- разработка микробиологической схемы дифференциации фитопатогенных штаммов *E. herbicola*, и штаммов, входящих в нормоценоз почв и растительной ткани;
- разработка схемы типирования фитопатогенных и непатогенных фаговариантов *E. herbicola*, с помощью бактериофагов;
- разработка схемы генотипирования фитопатогенных и непатогенных штаммов *E. herbicola* с помощью молекулярно-генетических методов (полимеразной цепной реакции – по наличию островков патогенности, а также рестрикционного анализа (ПДРФ) участков ДНК бактериальной хромосомы).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Abdel-Gawad, T. I., S. A. El-Sadek, A. Galal, and J. D. Janse. Isolation and characterization of the bacterium *Erwinia herbicola* associated with internal rot of peach fruits. Egypt // J. Microbiol., 2001, Vol. 36(4), p.477-495.

2. Galal, A. A. Internal necrosis of immature cotton bolls in Egypt // Assuit J. Agri. Sci., 2001, Vol. 24(5), p. 1–12.
3. Hugouvieux-Cotte-Pattat, N., Condemine G, Nasser W, Reverchon S. Regulation of pectinolysis in *Erwinia chrysanthemi* // Annu. Rev. Microbiol., 1996, Vol.50, p. 213–57.
4. Moline, H. E. and M. M. Kulik. Contamination and deterioration of alfalfa sprouts caused by seed-borne isolates of *Erwinia herbicola* // J. Food Qual., 1997, Vol.20, p. 53–60.
5. O'Brien, I. E. Comparison of *Malus* infection by the pathogen *Erwinia amylovora* and colonization by the saprophytic *E. herbicola* by electron microscopy // New Zealand J. Crop Hort. Sci., 1993, Vol.21, p. 33–38.
6. Sturz, A. V., B. R. Christie, B. G. Matheson, W. J. Arsenault, and N. A. Buchanan. Endophytic bacterial communities in the periderm of potato tubers and their potential to improve resistance to soil-borne plant pathogens // Plant Pathol., 1999, Vol.48, p. 360–369.

УДК 57.084.2

В.Н. Пищик¹, Н.И. Воробьев², В.Г. Сурин¹, К.Г. Мусеев¹

¹ГНУ Агрофизический институт, Санкт-Петербург, Россия

²ГНУ ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии, Санкт-Петербург

ФИТОДИАГНОСТИКА ПОСЕВА ЯРОВОЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ ПРИ ИНОКУЛЯЦИИ БАКТЕРИЯМИ *BACILLUS SUBTILIS* ПО СПЕКТРАМ ОПТИЧЕСКИХ СИГНАЛОВ, ОТРАЖЕННЫХ ОТ ЛИСТОВОЙ ПОВЕРХНОСТИ РАСТЕНИЙ

Фитодиагностика посева яровой мягкой пшеницы сорта «Красноуфимская», выращенной при разных дозах азотных удобрений проведена на базе ГНУ АФИ (пос. Меньково, Гатчинский район Ленинградской области). Почва на опытных делянках – дерново-подзолистая окультуренная (агрозем темный). Площадь опытных делянок была 10 м², повторность-трехкратная. Аммиачная селитра вносилась из расчета 0, 60, 90, 120, 150 и 180 кг/га по действующему веществу традиционно перед посевом. Ассоциативные ризобактерии *Bacillus subtilis* N2 изолированы из черноземной почвы Курской области. Они обладают фитогормональной активностью и способностью ускорять рост корней проростков за счет активация Н⁺-помпы плазмалеммы клеток корня пшеницы (Pishchik et al., 2011). Инокуляция бактериями производилась с помощью штангового ранцевого распылителя в фазы кущения и выхода в трубку, с коррекцией даты внесения по величине оптических индексов показаний спектрофотометра. Мониторинг физиологического состояния посева пшеницы проводился на разных фенологических фазах развития растений полевым дистанционным спектрофотометром АДТ разработанным в ГОИ им. С.И. Вавилова, Санкт-Петербург (Kuvaldin E.V., Surin V.G., 1998). Для учета максимального отражения с листовой поверхности вегетирующих растений при минимальном влиянии отражения от поверхности почвы нами был выбран простой вегетационный индекс VI. Величина VI определяется

простым отношением отражения в двух спектральных областях ($VI=NIR/RED$) (Sellers, 1985), где NIR и RED — соответственно отражение при 750 и 680 нм. В фазы кушения, выхода в трубку, цветения, молочной, восковой и полной спелости со всех вариантов отбирались образцы растений для определения накопления биомассы растений и содержания азота. Азот в растениях и зерне пшеницы определялся методом Кьельдаля, содержание хлорофилла спектрофотометрическим методом (Lichtenthaler, 1987). Проведен факторный анализ результатов эксперимента (см. табл. 1, 2). Факторный анализ решает задачу поиска ортогональной системы координат в пространстве измеряемых признаков. Множественная регрессия является значимой, если коэффициент детерминации больше 0.75.

Таблица 1

Коэффициенты множественной регрессии (C_s), отражающие связь характеристик растений со световыми приборными показаниями

	NIR	RED	NDVI	VI	Коэффициент детерминации
N в растении	0,105	0,113	-0,313	1,036	0,95
Хлорофилл	0,323	-0,278	0,021	0,859	0,91
Биомасса	-0,892	1,481	-0,973	1,372	0,87
Продуктивная кустистость	-1,687	1,169	-0,218	1,627	0,81
N в зерне	-1,302	1,438	-0,568	1,517	0,80
Вес 1000 зерен	1,482	-3,113	2,476	-1,144	0,76
Кол-во зерен в колосе .	-3,754	3,576	-1,107	2,571	0,67
Высота растений	-59,717	75,820	-36,432	35,684	0,63
Урожай	54,077	-69,508	33,700	-31,658	0,62

Достоверная регрессия наблюдается в зависимостях, где функцией от данных светового прибора являются (табл.1):

- количество N в растениях, содержание хлорофилла;
- биомасса растений;
- продуктивная кустистость;
- содержание азота в зерне;
- вес 1000 зерен.

Достоверная регрессия наблюдается также в зависимостях, где функцией от экологических данных являются:

- количество N в зерне (табл. 2);
- высота растений;
- число зерен в колосе;
- масса растений.

Урожайные данные аппроксимированы по экологическим данным недостоверно. Это означает, что на урожай растений в первую очередь влияют неконтролируемые факторы. Достоверно установлено, что дозы N одинаково влияют на массу растений и содержание азота в растениях, как и применение бактерий ($C_s = 0.572, 0.365$ – для бактерий; $C_s = 0.592, 0.519$ –

для доз N). На количество зерен в колосе дозы азота практически не влияют ($C_s = 0.044$), а на высоту растений дозы азота влияют отрицательно ($C_s = -0.431$). Увеличение плотности сложения почвы сказывается отрицательно практически на всех измеряемых признаках растений. Углерод почвы положительно влияет на показатели продуктивности растений, накопление хлорофилла и практически не влияет на высоту растений.

Таблица 2

Коэффициенты множественной регрессии (C_s), отражающие связь характеристик растений с экологическими характеристиками окружающей среды

	Плотность сложения	Углерод, %	Бактерии	дозы N	Коэффициент детерминации
N в зерне	-0,235	0,218	0,572	0,592	0,91
Высота растений	-0,877	-0,055	0,404	-0,431	0,84
Кол-во зерен в колосе	-0,335	0,229	0,898	0,044	0,81
масса г/м ²	-0,259	0,417	0,365	0,519	0,76
Хлорофилл	-0,623	0,882	0,282	-0,234	0,61
Продуктивная кустистость	-0,046	0,016	0,389	0,898	0,61
Урожай	-0,386	0,896	0,820	-0,799	0,55
N в растении	-0,379	0,727	0,221	0,173	0,53
Вес 1000 зерен	1,579	-6,237	0,204	6,379	0,37

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Pishchik V.N., Ktitorova I. N., Skobeleva O.V., Mirskaya G.V., Vorobyov N.I. Method of instrumental assessment of plant-bacterial interaction in agricultural system in forecasting the yield//EИТА/WCCA. Proc. 8th European Federation of Information Technology in Agriculture, Food and the Environment/ World Congress on Computers in Agriculture, Prague, Czech Republic 11–14 July 2011, p. 597–605.
2. Sellers P.S. 1985. Canopy reflectance, photosynthesis and transpiration. Int. J. Remote Sensing, 6, 1335–1372.
3. Kuvaldin E.V., Surin V.G. Specialized photometer for measuring pathological and physiological changes in plants. 1998. J. Opt. Technol. 65 (5): 362–365.
4. Lichtenthaler H.G. 1987. Chlorophylls and carotenoids pigments of photosynthetic biomembranes. Methods Enzymol. 148. 350–382

УДК 633.367:621.385.6

Д.А. Соловьева, А.С. Пименов, Е.П. Кондратенко

Кемеровский государственный сельскохозяйственный институт,
г. Кемерово, Россия

ВЛИЯНИЕ СВЧ-ВОЗДЕЙСТВИЯ НА ПОСЕВНЫЕ КАЧЕСТВА СЕМЯН ЛЮПИНА

Значение люпина в современном земледелии России объективно возрастает, что обусловлено его высокими кормовыми достоинствами, относи-

тельно низкой энергоёмкостью возделывания и разнообразным использованием. Кроме того люпин характеризуется нетребовательностью к плодородию почвы и накоплением в почве значительного количества биологически фиксированного азота. Высокий биологический и экономический потенциал люпина делает возможным его выращивание и использование во многих регионах России.

Люпиновый белок – высококачественный и один из дешевых среди других его источников. Современные сорта люпина почти сравнялись с соей по содержанию белка и соотношению аминокислот. В люпине практически отсутствуют ингибиторы трипсина, что значительно повышает его питательную ценность.

В полеводстве люпин – отличный предшественник. Это одна из лучших культур сидерального назначения, а в последние годы он находит всё большее применение в пищевой промышленности и медицине, рассматриваются его возможности как средства биологической рекультивации природно- и техногеннозагрязненных почв.

Площади посева кормового люпина в России составляют один миллион гектаров. В Кемеровской области практически не ведется семеноводство кормового люпина.

Основной задачей растениеводства является обеспечение населения страны продуктами питания. При решении данной проблемы большую роль играет урожайность сельскохозяйственных культур, во многом зависящая от качества посевного материала и технологии возделывания. Объективная реальность такова, что в силу ряда причин, как физиологических, так и из-за наличия патогенных факторов, до 40 % семян в полевых условиях либо не прорастают, либо дают редкие всходы, а выросшие растения экологически неустойчивы. Существующие методы подготовки семян к посеву весьма разнообразны и включают различные технологические операции физического и химического воздействия на семена.

Исследования, проведенные рядом ученых, показали, что применение электромагнитных полей сверхвысокой частоты является эффективнейшим дополнением к существующим способам подготовки семян к посеву и обладают рядом существенных преимуществ по сравнению с другими методами: являются экологически чистыми, позволяют решить задачу подготовки семян к посеву, не оказывая вредного воздействия на окружающую среду.

Цель исследований заключалась в изучении эффективности воздействия СВЧ – энергии на предпосевную обработку семян люпина сорта «Надежда».

Материалы и объекты исследований. Объектом исследований служили семена люпина сорта «Надежда», предоставленные Кемеровским НИИ сельского хозяйства. Лабораторные исследования были проведены на базе Кемеровского государственного сельскохозяйственного института на кафедре «Технология хранения и переработки сельскохозяйственной продукции».

В чашки Петри были заложены обработанные семена в количестве 100 штук. Экспозиция воздействия СВЧ- энергии составляла 5, 10, 15, 20 и 60 сек. при мощности 2400 МГц. Контрольный образец не обрабатывали.

Через 3 дня после посева определяли энергию прорастания, через 7 дней – всхожесть по ГОСТ 12038-84 «Семена сельскохозяйственных культур, методы определения всхожести».

Результаты исследований. На основе теоретических данных мы провели исследования, облучая семена люпина на установке SamsungMW 71ER. Образцы различались временем воздействия на семена. Также отдельно был поставлен необлученный контрольный образец. Результаты, полученные в ходе исследований, представлены в таблице

Влияние СВЧ – воздействия на посевные качества семян люпина

Экспозиция, сек	Энергия прорастания, %	Всхожесть, %
5	96	96
10	90	90
15	95	95
20	89	89
60	0	0
Контроль	53	50

Всхожесть семян люпина колебалась в пределах от 50 до 96%, в зависимости от экспозиции. Максимальная всхожесть и энергия прорастания у семян люпина наблюдалась при воздействии электромагнитных волн в течение 5 сек. Отклонения от контроля составили 46%. Установлено, что при воздействии на семена рапса СВЧ-энергии в течении 60 сек, они полностью теряли лабораторную всхожесть.

Выводы:

1. Установлено, что при воздействии СВЧ-энергии на семена люпина в течение 5 сек. энергия прорастания и всхожесть были максимальны и составили 96 %.
2. Воздействие СВЧ – энергии в течение 60 сек. на семена люпина вызвало их гибель.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Новицкий Ю.И.* О некоторых особенностях действия постоянного магнитного поля на прорастание семян. // В.Ю. Стрекова, Ю.И. Новицкий, Г.А. Тараканова// Говорят молодые ученые. – М.: Московский рабочий, 1966. – С. 47.
2. *Бородин Р.В.* Исследование и разработка методов и систем программного обеспечения анализа данных, характеризующих радиационное загрязнение окружающей среды: Автореф. дис. на соискание учен. степени канд. техн. наук. – М., 1996. – 22 с: ил- Библиогр.: с. 21–22.
3. *Бернацкая М. Л.* Физиолого-биохимические и генетические аспекты селекции гороха и люпина желтого на качество: Автореф. дис. на соискание учен. степени д-ра с.-х. наук. – М., 1996. – 55 с: ил- Библиогр.: С. 50–55

Н.Ш. Темиргалиева

Российский научно-исследовательский и проектно-технологический институт сорго и кукурузы, г. Саратов, Россия

БИОХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ ПОЛОВЫ СОРТООБРАЗЦОВ ЧЕЧЕВИЦЫ

По содержанию белка в семенах и усвояемостью организмом человека чечевица наряду с фасолью превосходит все зерновые бобовые культуры. Содержание белка изменяется в интервале 25,2–32,5 % и 1,6–4,2 мг витамина В. Вегетативные части растения содержат свыше 23 % протеина и 16 % белка, даже в соломе еще имеется до 9 % протеина. В зеленом виде чечевица является сочным кормом для животных, солома и мякина ее по питательности не уступают хорошему луговому сему. В связи с этим, в институте ФГБНУ РосНИИСК «Россорго» было проведено изучение сортообразцов чечевицы коллекции ВИР.

Материал и методика. На однорядковых делянках длиной 5,5 м высевали 133 сортообразца чечевицы. Повторность трёхкратная. Размещение делянок рендомизированное. Ширина междурядий 70 см. Посев проводили кассетной сеялкой СКС-6-10. Глубина заделки семян 5–6 см. Сроки сева оптимальные – первая декада мая. Полевые учёты и наблюдения выполняли по методике Государственной комиссии по сортоиспытанию сельскохозяйственных культур (1989). Биохимические анализы выполнены в ФГБНУ РосНИИСК «Россорго» (отдел биохимии, биоконверсии и новых технологий).

В опыте технология возделывания чечевицы включает следующие приёмы: ранневесеннее боронование, предпосевная культивация почвы, прикатывание почвы, широкорядный способ посева, довсходовое и после всходовое боронование, своевременная и тщательная, сортовая и видовая прополка. Чечевицу убирали вручную, а после обмолота семена очистили на лабораторных решётах.

Результаты исследования. В ходе биохимического анализа половы (соломы) чечевицы были выделены сортообразцы различающиеся по содержанию хозяйственно-полезных веществ. Наибольшее содержание протеина выявлено у следующих сортообразцов: К-69, Луна 09, Анфия. Сырого жира оказалось больше у сортообразцов К-69, № 1ФРГ, № 2ФРГ. По содержанию клетчатки выделились сортообразцы Красноградская 250, Петровская 4/105, К-60. Сортообразцы Нарядная 3, № 1ФРГ, Петровская 4/105 содержат больше золы. Высокое содержание БЭВ отмечено у сортообразцов К-69, К-2213, Веховская.

**Содержание хозяйственно-полезных веществ в половине сортообразцов чечевицы,
2011 г.**

№ п/п	№ ката- лога ВИР	Сортообразец	Сырой проте- ин, %	Сырой жир, %	Клет- чатка, %	Зола, %	БЭВ, %	Валовая энергия в 1 кг, МДж
1.	к-69		10,25	2,90	23,00	9,72	54,13	16763
2.	к-1695	Луна 09	10,60	0,78	28,08	10,02	50,52	15023
3.	к-1701	Нарядная-09	8,73	2,06	30,53	10,52	48,16	16388
4.	к-2849	Нива-95	8,99	2,32	27,78	10,10	50,81	16517
5.	к-2213	Ленка	7,94	1,03	26,25	8,74	56,04	16373
6.		№ 1ФРГ	7,12	2,85	29,74	10,96	49,33	16380
7.	к-210	Дымчатая	9,66	0,79	29,03	8,77	51,75	16448
8.	к-1701	Нарядная 3	9,31	2,57	27,12	11,24	49,76	16397
9.	к-2867	Пауза	8,86	1,83	30,08	7,41	51,82	16867
10.		Анфия	10,95	1,45	26,33	7,68	53,59	16849
11.		Веховская 1	8,32	2,30	28,50	8,41	52,47	16758
12.	к-60		7,85	1,81	30,62	8,89	50,83	16549
13.		Веховская	10,00	2,00	26,33	8,13	53,54	16834
14.		№ 2ФРГ	7,49	2,86	28,50	8,04	53,11	16892
15.		Надежда	9,05	2,05	29,36	7,59	51,95	16895
16.		Петровская зеленозёрная	8,71	2,84	28,30	10,17	49,98	16608
17.	к-1700	Изумрудная	9,55	0,89	29,80	9,89	49,87	16279
18.	к-2422	Красноградская 250	7,52	2,57	30,75	8,66	50,50	16328
19.	к-1734	Петровская 4/105	9,03	1,27	30,71	11,47	47,52	16070
20.		№ 3ФРГ	7,72	2,68	30,14	8,38	51,08	16820

Содержание валовой энергии в 1 кг половины сортообразцов чечевицы варьирует в интервале 15023–16895 Кдж. Минимальная доля вклада сырого протеина в валовую энергию выявлена у сортообразца № 1ФРГ-1680 Кдж (10 %), максимальная доля отмечена у сортообразца Анфия –2584 КДж (15 %). Минимальная доля сырого жира определена у сортообразца Луна 09-309 Кдж (2 %), максимальная – у сортообразца К-69-1148 Кдж (7 %). Минимальный вклад клетчатки в валовую энергию выявлен у сортообразца Луна 09-3675 Кдж (24 %), максимальный – у сорта Красноградская 250 – 5412 Кдж (33 %). Наибольшая доля валовой энергии в 1кг половины приходится на БЭВ. У сортообразца Петровская 4/105 отмечен минимальный эффект БЭВ-8031 Кдж (50 %), максимальный – у сортообразца К-2213 КДЖ (58 %).

По результатам исследования биохимического состава половины сортообразцов чечевицы установлено сбалансированное содержание хозяйственно-полезных веществ: в половине выявлено высокое содержание сырого протеина (до 11 %), что позволяет обеспечить полноценность грубых кормов.

К.А. Трутнева, С.А. Аленькина, В.Е. Никитина

Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН,
г. Саратов, Россия

ВЛИЯНИЕ ЛЕКТИНОВ АЗОСПИРИЛЛ НА АКТИВНОСТЬ КАТАЛАЗЫ КОРНЕЙ ПРОРОСТКОВ ПШЕНИЦЫ

В настоящее время сельскохозяйственные растения постоянно находятся в условиях экологического стресса, поскольку страдают от болезней и вредителей, бесконтрольного применения пестицидов, переизбытка или недостатка удобрений. Никакие пестициды не могут заменить иммунную систему, а в ряде случаев способны ее подавить. Таким образом, химическое и инфекционное давление на растения часто превышает порог их возможной адаптации. Неудивительно, что иммунная система, которая защищает растения от болезней и стрессов, в настоящий момент сама нуждается в защите. Поэтому сейчас особенно важна разработка различных средств фитоиммунокоррекции. Одним из наиболее многообещающих способов защиты растений является индуцирование их устойчивости, основанное на индуцировании естественного потенциала растительной ткани. Важную роль в формировании иммунитета у растений играют ферменты антиоксидантной системы растений.

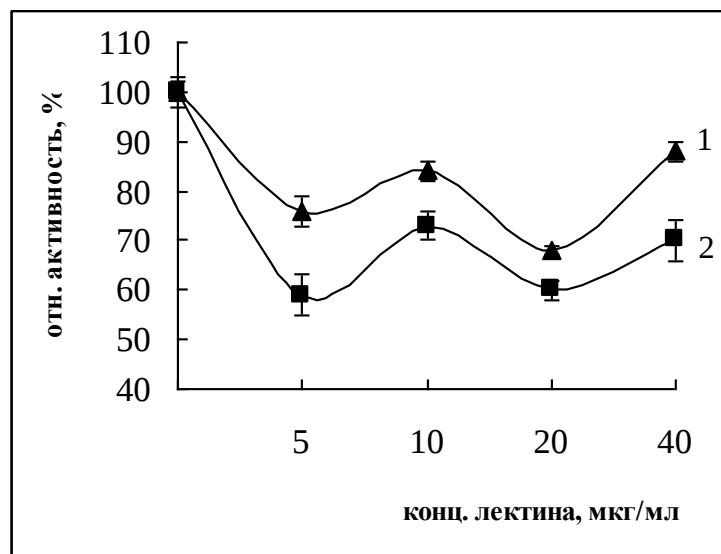
Для корней проростков пшеницы одним из биогенных факторов являются находящиеся в прикорневой зоне азотфиксирующие ассоциативные бактерии рода *Azospirillum*, стимулирующие рост и развитие растений. Установлено, что со стороны азоспирилл в инициации взаимодействия бактерий с корнями участвуют лектины, находящиеся на поверхности клетки. Ранее были выделены и охарактеризованы лектины двух штаммов *A. brasilense* Sp7 и Sp7.2.3 (мутант по лектиновой активности) [1]. Было показано, что лектины в различной степени участвуют в адгезии бактерий на корнях растений, регулируют синтез цАМФ, оксида азота [2, 3].

Одним из ферментов, ответственных за количественное содержание перекиси водорода в растительной клетке, является каталаза.

Целью данной работы была оценка способности лектинов *Azospirillum brasilense* Sp7 и его мутанта по лектиновой активности *A. brasilense* Sp7.2.3 оказывать регулирующее воздействие на активность каталазы в корнях проростков пшеницы.

Воздействие лектинов родительского и мутантного штаммов в течение 1 ч на корни проростков пшеницы приводило к ингибированию активности каталазы для всех исследуемых концентраций (5–40 мкг/мл), но наблюдалось два пика – при 5 и 20 мкг/мл. Необходимо отметить, что эффект для мутантного штамма проявлялся в большей степени, чем для родительского. Одной из возможных причин угнетения каталазной активности может

быть влияние салициловой кислоты, индукцию синтеза которой вызывают лектины азоспирилл.



Активность каталазы в корнях проростков после экспозиции с лектинами *A. brasilense* Sp7(a) и Sp7.2.3(б).

Контроль: корни проростков пшеницы - 4 мл $O_2 \cdot g^{-1} \cdot min^{-1}$

Известно, что лектины азоспирилл способны к специфическому связыванию с фукозой и галактозой. С целью доказательства участия углеводсвязывающих участков или сайтов лектинов в проявлении эффекта лектинами, нами была проведена обработка лектинов специфическими гаптенами перед инкубированием с корнями проростков. В результате было продемонстрировано уменьшение эффекта, оказываемого лектинами на активность каталазы, но полного ингибирования эффекта не было ни в одном случае. Неполное ингибирование эффектов в результате предобработки клеток специфическими гаптенами лектина было показано и ранее при изучении адгезии азоспирилл к корням пшеницы и агрегации бактерий [4]. Несомненно, углеводсвязывающие свойства лектинов играют роль в проявлении обнаруженного эффекта, так как предобработка лектинов специфическими гаптенами вносит изменения в картину эффекта, но они не определяют качество эффекта. Эти результаты свидетельствуют об участии неспецифических связей.

Известно, что Ca^{2+} , как универсальный внутриклеточный мессенджер, принимает участие в регуляции многих стрессовых реакций растительных клеток, в т.ч. в изменении про-/антиоксидантного равновесия [5]. Было показано, что внесение кальция (1мМ $CaCl_2$) частично нивелировало эффект лектинов по отношению к каталазе для обеих концентраций лектинов (эксперименты проводились с концентрациями лектинов -5 и 20 мкг/мл). Для лектина родительского штамма эффект был более выраженным.

При добавлении Ca^{2+} в среду инкубации лектинов с корнями, вероятно, происходит связывание ионов с лектинами, следствием чего является из-

менение регулирующей активности молекулы. С большей вероятностью делать такое утверждение позволяют данные о том, что для проявления биологической активности лектинов азоспирилл необходимы ионы двухвалентных металлов, в том числе кальция [2].

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Аленькина С.А., Матора Л.Ю., Никитина В.Е. // Микробиология. – 2010. – Т. 79. – С. 856–858.
2. Аленькина С.А., Никитина В.Е. // Доклады РАСХН. – 2011. – Т. 79. – № 6. – С. 12–14.
3. Аленькина С.А., Петрова Л.П., Никитина В.Е. // Микробиология. – 1998. – Т. 67. – С. 782–787.
4. Никитина В.Е., Аленькина С.А., Пономарева Е.Г., Савенкова Н.Н.// Микробиология. – 1996. – Т. 65. – С. 165–170.
5. Колупаев Ю.Е., Акинина Г.Е., Мокроусов А.В. // Физиология растений. – 2005. – Т. 52. – С. 227–232.



УДК 602.3:579.8

*Д.А. Васильев¹, С.Н. Золотухин¹, Н.А. Феоктистова¹, Д.А. Виктор¹,
М.А. Юдина¹, Т.А. Гринева¹, А.М. Артамонов¹, А.В. Алешкин²*

Ульяновская государственная сельскохозяйственная академия
имени П.А. Столыпина, г. Ульяновск, Россия

²Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии
и микробиологии имени Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора,
г. Москва, Россия

РАЗРАБОТКА СХЕМЫ УСКОРЕННОЙ ИНДИКАЦИИ БАКТЕРИЙ РОДОВ *PSEUDOMONAS* И *BACILLUS*, ВЫЗЫВАЮЩИХ ПОРЧУ ПРОДУКТОВ ПИТАНИЯ

Проблема разработки недорогой, быстрой и высокочувствительной методики индикации в пищевом сырье и продуктах питания патогенных микроорганизмов с последующей их дифференциацией, учитывая расширение пищевых производств, остается актуальной и возможным её решением является использование бактериофагов [1, 7].

Благодаря методу РНФ (реакции нарастания титра фага) становится возможным определить вид микроорганизма, который находится в том или ином биологическом субстрате, при этом сократить сроки исследования до 18–25 часов. Для стандартных бактериологических исследований на эти цели затрачивается несколько суток. Использование бактериофагов не требует существенных материальных вложений и текущих расходов, для этого необходимо несколько пробирок, чашек Петри и набор соответствующих питательных сред. При использовании аналога – ПЦР требуется дорогостоящая аппаратура, реактивы и специалисты [3].

Бактериофаги позволяют также осуществлять более детальную дифференциацию отдельных биотипов бактерий, создавая фаговары внутри вида. Возможность фагоидентификации вытекает из специфичности действия бактериофагов, которая может быть настолько выражена, что позволяет дифференцировать не только отдельные виды, но и серологически неотличимые штаммы в пределах одного вида. Поэтому все большее число исследователей предпочитают разрабатывать фаговые препараты и тесты, как высокоспецифичный метод, способный дифференцировать близкородственные штаммы [1, 2, 3].

Цель и задачи исследования. Разработать методы практического использования бактериофагов для индикации и идентификации бактериаль-

ных агентов, вызывающих порчу продуктов, сырья, и являющихся возбудителями пищевых инфекций.

В результате проведенных нами исследований из образцов пищевого сырья и продуктов, подвергнутых бактериальной порче, были выделены и селекционированы бактериофаги, активные в отношении бактерий *P. putida*, *P. fluorescens* и *B. mesentericus*. Были изучены их основные биологические свойства: морфология негативных колоний, литическая активность, спектр литической активности, специфичность действия, температурная устойчивость и устойчивость к хлороформу. По критериям литической активности, специфичности и спектра лизируемых культур, отобраны бактериофаги, наиболее перспективные для конструирования биопрепаратов: Psp101-УГСХА, Pf01F1-НИИЦМиБ, Bm-20 УГСХА.

Была разработана схема реакции нарастания титра фага, позволяющая обнаружить названные виды бактерий в исследуемом субстрате менее чем за 25 часов. Чувствительность реакции составляла от 10^2 – 10^3 м.к. в 1 г исследуемых субстратов. Разработанные схемы были апробированы на образцах пищевого сырья и продуктов животного происхождения (мясо говяжье, мясо свинины, мясо рыбы, яйца куриные, молоко коровье нормализованное).

Выводы. В результате проведенных исследований были выполнены поставленные задачи. Доказана возможность применения реакции нарастания титра фага с целью индикации и идентификации бактериальных агентов, вызывающих порчу продуктов, сырья, и являющихся возбудителями пищевых инфекций. Усовершенствованные методы позволяют существенно сократить время исследования, уменьшить расход питательных сред и лабораторной посуды, повысить эффективность обнаружения бактерий в пищевом сырье и продуктах.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Викторов, Д.А. Выделение бактериофагов бактерий *Pseudomonas putida* и их селекция в целях создания биопрепарата для диагностики псевдомоноза рыб / Д.А. Васильев, Д.А. Викторов, И.И. Богданов // Естественные и технические науки. – 2011. – № 2 (52). – С. 79–82.
2. Ганюшкин В.Я. Бактериофаги сальмонелл и их применение в ветеринарии. – Ульяновск, 1988. – С. 45.
3. Золотухин, С.Н. Смешанная кишечная инфекция телят и поросят, вызываемая патогенными энтеробактериями / С.Н. Золотухин, Л.С. Каврук, Д.А. Васильев // Ульяновск, 2005. – С. 20–25.
4. Малофеева, Н.И. Выделение и изучение основных биологических свойств бактериофагов *Escherichia coli* O157 и их применение в диагностике / Н.И. Малофеева // Автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Саратов, 2004. – С. 7–9.
5. Ревенко И.П. Бактериофаги и их использование в ветеринарной практике. – Киев: Урожай, 1978. – С. 41–88.
6. Тимаков, В.Д. Реакция нарастания титра фага (РНФ) / В.Д. Тимаков, Гольдфарб Д.М. // М., 1962. – С. 65–71.
7. Феоктистова, Н.А. Разработка фаговых препаратов индикации и идентификации бактерий рода *Bacillus* в пищевом сырье и продуктах питания / Д.А. Васильев, А.Х. Мустафин, А.И. Калдыркаев // Материалы Всероссийского симпозиума с международ-

ным участием «Биологически активные вещества микроорганизмов прошлое, настоящее, будущее», посвященного 90-летию Заслуженного профессора Московского университета Н.С. Егорова 27–29 января 2011 г. – М., 2011. – С. 86.

УДК 619:579

**Д.А. Викторов, Т.А. Гринева, Д.А. Васильев, С.Н. Золотухин,
А.М. Артамонов**

Ульяновская государственная сельскохозяйственная академия
имени П.А. Столыпина, г. Ульяновск, Россия

ВЫЯВЛЕНИЕ ЛИЗОГЕННОГО СОСТОЯНИЯ У ШТАММОВ БАКТЕРИЙ РОДА *PSEUDOMONAS*

Актуальность темы. Бактерии рода *Pseudomonas* играют существенную роль в патогенезе рыб, в том числе промысловых [1]. Комплекс научных разработок коллектива авторов направлен на усовершенствование методов диагностики псевдомонозов рыб с применением специфичных тест-систем на основе бактериофагов, а также на конструирование лечебных и профилактических фаговых биопрепаратов. Одним из способов выделения бактериофагов является индукция профага из генетического аппарата лизогенной бактериальной культуры [4]. Кроме того, выявление лизогении среди штаммов из коллекции бактериальных патогенов рыб, позволит судить об эффективности применения биопрепаратов на основе бактериофагов для лечения и профилактики заболеваний, обусловленных псевдомонадами, поскольку лизогенное состояние бактериальной культуры обеспечивает её резистентность к той или иной группе бактериофагов [2].

Цель исследования: выявление лизогенного состояния у штаммов бактерий рода *Pseudomonas*.

Состояние лизогении исследовалось у 27 тест-штаммов *P. fluorescens*, выделенных нами из водных источников и патологического материала рыб. В качестве индикаторной культуры использовался референс-штамм *P. fluorescens* ATCC 13525. Исследования проводились с применением ультрафиолетового излучения в качестве индуцирующего мутагенного воздействия в три этапа по следующей схеме: 0,5 мл 24-часовой культуры тест-штаммов *P. fluorescens* наносили сплошным газонем на отдельные чашки Петри с мясопептонным агаром и подсушивали в термостате при температуре 28 °С 15–30 минут. Затем на бактериальный газон в чашках воздействовали ультрафиолетовым излучением с длиной волны 250 нм с расстояния 1,0 м в течение 5 минут.

Облученную таким образом чашку инкубировали в термостате 24 ч при температуре 28 °С. Через указанный срок чашку просматривали на наличие бактерий. На поверхности агара наблюдался рост отдельных колоний. Затем с помощью шпателя Дригальского растирали выросшую бактериаль-

ную массу по поверхности среды агара до получения однородного слоя. Второй этап заключался в повторном воздействии ультрафиолетовым излучением на чашки с тест-штаммами с расстояния 1,0 м в течение 10 минут и последующем инкубировании в термостате при аналогичных условиях (28 °С, 24 ч). На третьем этапе снова растирали бактериальную массу по поверхности агара, проводили облучение в течение 15 минут с расстояния 1,0 м и инкубировали чашки 24 ч при 28 °С.

Затем проводили смыв с поверхности агара мясопептонным бульоном в количестве 5,0 мл, фильтровали полученную суспензию через мембранный фильтр с диаметром пор 0,2 мкм для удаления бактериальных клеток, и переносили суспензию в пустую стерильную пробирку для дальнейших исследований на наличие в ней активных фаговых корпускул. Для этого сначала проводили накопление бактериофага. В пробирку с 4,5 мл мясопептонного бульона добавляли 0,2 мл 24-часовой индикаторной бульонной культуры штамма *P. fluorescens* ATCC 13525 и 1,0 мл исследуемой суспензии, инкубировали 24 ч при 28 °С, после чего освобождали суспензию от бактериальных клеток фильтрованием и исследовали на наличие фага методом стекающей капли на чашках со сплошным газоном штамма *P. fluorescens* ATCC 13525. Посевы инкубировали при 28 °С 24 ч. При наличии фага в суспензии на сплошном бактериальном газоне индикаторной культуры должна наблюдаться дорожка лизиса или отдельные негативные колонии бактериофага. В случае отсутствия фага газон на чашках однородный, без признаков выраженного лизиса или задержки роста. Опыт был повторён в трёхкратной последовательности для достоверности полученных результатов. Время индукции и расстояние до облучаемого объекта рассчитаны экспериментально. Полученные методом индуцированного мутагенеза изоляты умеренных бактериофагов изучались по основным биологическим свойствам.

Результаты исследования и выводы. Состояние лизогении было выявлено у 4 из 27 «полевых» штаммов *P. fluorescens* (14,8 %). Полученные таким образом 4 изолята умеренных бактериофагов проявляли активность в отношении 19 (из 28) штаммов *P. fluorescens*, в том числе в отношении референс-штамма *P. fluorescens* ATCC 13525, то есть спектр их литической активности составил 67,9 %. Полученные фаги обладали видовой специфичностью. Литическая активность по Грациа колебалась от $2,7 \pm 0,2 \times 10^7$ до $4,9 \pm 0,9 \times 10^{10}$ фаговых корпускул в 1 мл. Отличительной особенностью морфологии негативных колоний полученных умеренных бактериофагов являлось наличие выраженного вторичного бактериального роста в зоне лизиса. Выделенные бактериофаги целесообразно использовать в качестве компонентов полифагового биопрепарата для диагностики, лечения и профилактики псевдомонозов рыб, а так же, наряду с выявленными лизогенными штаммами бактерий, в качестве модели для изучения умеренных бактериофагов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Васильев, Д.А. Выделение бактериофагов бактерий *Pseudomonas putida* и их селекция в целях создания биопрепарата для диагностики псевдомоноза рыб / Д.А. Васильев, Д.А. Виктор, И.И. Богданов // Естественные и технические науки. – 2011. – № 2 (52). – С. 79–82.
2. Гольдфарб Д.М. Бактериофагия / Д.М. Гольдфарб // М.: Медгиз. – 1961. – 225 с.
3. Каттер Э. Бактериофаги : биология и практическое применение / Э. Каттер, А. Сулаквелидзе; пер. с англ.: коллектив пер.; науч. ред. рус. изд. А.В. Летаров. – М.: Научный мир, 2012. – 636 с.
4. Хейс У. Генетика бактерий и бактериофагов / У. Хейс – М.: «Мир», 1965. – С. 288–294.

УДК 619:579

И.Г. Горшков, Н.Г. Куклина, Д.А. Виктор, Д.А. Васильев

Ульяновская государственная сельскохозяйственная академия
имени П.А. Столыпина, г. Ульяновск, Россия

ИССЛЕДОВАНИЕ СЕЛЕКТИВНЫХ ДОБАВОК ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕД ДЛЯ БАКТЕРИЙ РОДА *AEROMONAS*

Актуальность исследования. В настоящее время для идентификации аэромонад предлагается несколько дифференциальных сред. Все они значительно отличаются друг от друга по составу. Так Сидоров М.А. с соавт. (1995) [2] рекомендует для выделения *Aeromonas hydrophila* среду Шмитца-Шанделье, Министерством здравоохранения рекомендована двухстадийная схема идентификации аэромонад, включающая питательные среды А-1 (жидкая среда накопления) и А-2 (плотная дифференциально-селективная среда) [1]. Также производителями диагностических сред предлагается питательная среда для аэромонад, представляющая собой модифицированный вариант XLD – агара.

Однако в настоящее время ветеринарные и санитарные учреждения нуждаются в более совершенных, по критериям специфичности и чувствительности, питательных средах для бактерий рода *Aeromonas*.

Цель исследования. Подбор селективного компонента питательных сред для бактерий рода *Aeromonas* на основании сравнения ингибирующих свойств некоторых красителей и индикаторов.

Объектом исследования явились штаммы бактерий *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas putida*, *Proteus mirabilis*, *Yersinia pseudotuberculosis*, *Yersinia enterocolitica*, *Bordetella bronchiseptica*, *Bacillus cereus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Aeromonas hydrophila*, полученные из коллекции кафедры микробиологии, вирусологии, эпизоотологии и ветеринарно-санитарной экспертизы Ульяновской ГСХА. В качестве селективных компонентов были рассмотрены следующие красители и индикаторы:

конго красный, кристаллический фиолетовый, бромтимоловый синий, бромфеноловый синий, бриллиантовый зеленый, феноловый красный, метиленовый оранжевый, фуксин.

Для исследования суточную бактериальную культуру вышеперечисленных штаммов засеивали газоном на отдельные заранее подсушенные в термостате чашки Петри с мясопептонным агаром. После подсыхания суспензии посредством пробойника в агаре каждой чашки были выполнены лунки, в которые затем поочередно стерильными пипетками были внесены растворы исследуемых красителей и индикаторов объемом 0,01 мл в концентрации 0,01 г/л. После чего чашки были помещены в термостат на 24 часа при температуре, оптимальной для исследуемых штаммов.

Учет результатов проводился по отсутствию или наличию зоны угнетенного роста бактериального газона вокруг лунок с красителями и индикаторами. Результаты представлены в таблице 1.

Сравнение ингибирующих свойств красителей и индикаторов

	Конго красный	Кристаллический фиолетовый	Бромтимоловый синий	Бромфеноловый синий	Бриллиантовый зеленый	Феноловый красный	Метиленовый оранжевый	фуксин
<i>Aeromonas hydrophila</i>	—	—	+ (d 6 мм)	—	+ (d 6 мм)	—	—	—
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Pseudomonas putida</i>	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Serratia marcescens</i>	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Proteus mirabilis</i>	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Bordetella bronchiseptica</i>	—	—	—	—	+(d 18 мм)	—	—	—
<i>Bacillus cereus</i>	—	+(d 10 мм)	—	—	+(d 18 мм)	—	—	—
<i>Yersinia pseudotuberculosis</i>	—	—	—	—	—	—	—	—

Примечания: «+» - исследуемый штамм чувствителен к селективному компоненту, в скобках указан диаметр зоны угнетения роста,

«-» - исследуемый штамм устойчив к селективному компоненту.

Следует отметить, что бриллиантовый зеленый, хотя и угнетал рост исследуемого штамма *Aeromonas hydrophila*, зона задержки роста вокруг лунки с данным красителем была минимальна (диаметр зоны угнетения роста до 6 мм) в сравнении с угнетением роста возможных ассоциантов (до 18 мм), что указывает на чувствительность исследуемого штамма *Aeromonas hydrophila* лишь к высоким концентрациям бриллиантового зеленого.

Выводы. Наиболее перспективными красителями при разработке селективных сред для бактерий рода *Aeromonas* являются бриллиантовый зеленый и кристаллический фиолетовый, так как они способны эффективно ингибировать рост большого спектра бактерий-ассоциантов (из рассматриваемых нами штаммов).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Методические указания по санитарно-бактериологической оценке рыбохозяйственных водоемов. Указание министерство Здравоохранения РФ. 27 сентября 1999 г. № 13-4-2/1742.
2. Сидоров М.А., Скородумов Д.И., Федотов В.Ф. // Определитель зоопатогенных микроорганизмов, справочник – М., 1995 – С. 227.
3. Bergey's Manual Of Systematic Bacteriology Second Edition. USA 2007.
4. Bonadonna L., *Aeromonas* in acque potabili: Un rischio reale o potenziale? / Bonadonna L., Di Girolamo L // Ig. e sanità pubbl. – 1994. – 50, № 2–3. – С. 81–90. – Ит.; рез. фр., англ., нем.
5. Knut Karst. Vorkommen von vermehrungsfähigen *Aeromonas*-Arten in Rohrinkrustationen eines städtischen Wasserversorgungssystems. // Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades der Zahnmedizin des Fachbereichs Humanmedizin der Johann Wolfgang Goethe Universität Frankfurt am Main, 2001.

УДК 619:579

И.Г. Горшков, Н.Г. Куклина, Д.А. Викторов, Д.А. Васильев

Ульяновская государственная сельскохозяйственная академия
имени П.А.Столыпина, г. Ульяновск, Россия

КОНСТРУИРОВАНИЕ СЕЛЕКТИВНОЙ ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЫ ДЛЯ БАКТЕРИИ *AEROMONAS SOBRIA*

Бактерии рода *Aeromonas* были описаны еще в конце XIX века Санарелли [3]. Род *Aeromonas* вместе с *Oceanimonas* и *Tolumonas* образует семейство *Aeromonadaceae*. Клетки бактерий рода *Aeromonas* грамотрицательны, имеют палочковидную форму с округленными концами, диаметр клеток от 0,3 до 1 мкм, длина от 1 до 3,5 мкм. В природе встречаются в виде одиночных палочек, попарно или в виде коротких цепей. Большинство видов подвижны: *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas caviae*, *Aeromonas eucrenophila*, *Aeromonas schubertii*, *Aeromonas sobria*, *Aeromonas veronii*. Но есть и неподвижные виды, в частности, *Aeromonas salmonicida* [1].

Существуют трудности в идентификации различных видов аэромонад. Эти трудности связаны с незначительными различиями между видами, которые, по данным Bonadonna L., Di Girolamo L (1994), можно обнаружить только молекулярно-биологическими методами [2].

Цель исследования: разработка селективной среды для идентификации бактерий рода *Aeromonas*, и анализ её специфичности.

Объектом исследования явились штаммы бактерий *Aeromonas hydrophila*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis*, *Yersinia pseudotuberculosis*, *Yersinia enterocolitica*, *Bordetella bronchiseptica*, *Bacillus cereus*, *Klebsiella pneumoniae*, полученные из коллекции кафедры микробиологии, вирусологии, эпизоотологии и ветеринарно-санитарной экспертизы Ульяновской ГСХА, а также «полевой» штамм *Aeromonas sobria*, выделенный из объектов окружающей среды.

Нами был проведен ряд исследований, направленных на разработку селективной среды, обладающей надлежащими характеристиками. В итоге была сконструирована авторская питательная среда A.sobr1-УГСХА следующего состава:

Вода дистиллированная – 1000 мл. Сульфат магния – 0,2 г, гидрофосфат калия – 1,0 г, хлорид натрия – 5,0 г, крахмал растворимый – 2,0 г, пептон ферментированный – 10,0 г, хлорид бария – 2,0 г, агар-агар – 15 г, 0,1 % спиртовой раствор бриллиантового зеленого – 10 мл.

Для стерилизации среда автоклавировалась при 0,5 атм. в течение 15 минут. После стерилизации к среде в асептических условиях добавляется 2 мл 10 % водного раствора трифенилтетразолия хлорида. Готовая среда имеет светло зеленый цвет. Для подсушки и контроля стерильности чашки Петри со средой помещали в термостат на 24 ч при 37 °С.

Крахмал растворимый в данной среде служит источником углеродного питания бактерий, пептон ферментированный – источником азота, сульфат магния и гидрофосфат калия – для биохимических процессов в клетках аэромонад, хлорид бария – для подавления роста псевдомонад, бриллиантовый зелёный является ингибитором грамположительной микрофлоры, трифенилтетразолия хлорид – в качестве субстрата, бактериальное расщепление которого сопровождается изменением цвета.

Для исследования на чашки с готовой селективной средой были засеяны выше перечисленные штаммы бактерий и помещены на 48 часов в термостат при 37 °С. Учет результатов проводился двукратно: после 24 и 48 часов культивирования.

На чашках с *Aeromonas hydrophila* и *Aeromonas sobria* наблюдался рост отдельных колоний красного цвета круглой формы с ровным краем, без изменений на вторые сутки.

На чашках, засеянных штаммами бактерий *Pseudomonas aeruginosa*, *Yersinia pseudotuberculosis*, *Yersinia enterocolitica*, *Bordetella bronchiseptica*, *Bacillus cereus* роста не наблюдалось ни через 24, ни через 48 часов.

На чашках с посевами *Proteus mirabilis* и *Klebsiella pneumoniae* на первые сутки наблюдался угнетенный рост, с частичным просветлением среды вокруг мелких росинчатых колоний. После 48 часов – наблюдался активный рост бактериальной культуры. Колонии *Klebsiella pneumoniae* приобрели яркий красный цвет.

По результатам исследований были сделаны выводы, что разработанная селективная среда для идентификации бактерий рода *Aeromonas* обладает селективными свойствами. Возможная ассоциативная микрофлора на данной

среде не способна к росту или её довольно легко отличить визуально от бактерий рода *Aeromonas* по форме и цвету колоний и общему характеру роста.

Наши дальнейшие исследования будут направлены на улучшение селективных свойств данной среды путем введения в её состав дополнительных ингибиторов роста посторонней микрофлоры, в частности, для подавления роста бактерий родов *Klebsiella* и *Proteus*.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology Second Edition. USA 2007.
2. Bonadonna L., *Aeromonas* in acque potabili: Un rischio reale o potenziale? / L. Bonadonna, L. Di Girolamo // Ig. e sanità pubbl. – 1994. – V. 50, N 2–3. – P. 81–90.
3. Knut Karst. Vorkommen von vermehrungsfähigen *Aeromonas*-arten in Rohrinkrustationen eines städtischen Wasserversorgungssystems. // Dissertation zur Erlangung des Doctorgrades der Zahnmedizin des Fachbereichs Humanmedizin der Johann Wolfgang Goethe Universität Frankfurt am Main, 2001.

УДК 619:579

Т.А. Гринева, Д.А. Викторов, Д.А. Васильев,

Ульяновская государственная сельскохозяйственная академия
имени П.А. Столыпина, г. Ульяновск, Россия

РАЗРАБОТКА ПЛОТНЫХ СЕЛЕКТИВНЫХ ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕД ДЛЯ ВЫДЕЛЕНИЯ И ИДЕНТИФИКАЦИИ РАЗЖИЖАЮЩИХ ЖЕЛАТИН ПСЕВДОМОНАД

Актуальность исследования. Флюоресцирующая группа псевдомонад представляет большой научный и практический интерес. Представители этой группы вызывают псевдомоноз промысловых рыб (лосось, форель, карп) [1], порчу продуктов овощеводства [2], мясной промышленности [3], доказана значимость микроорганизмов в протеолитической порче молока [4].

Являются антагонистами широкого спектра фитопатогенов, благодаря способности синтезировать сидерофоры, феназины [5].

Целью данной работы являлась разработка селективных питательных сред для выделения и идентификации разжижающих желатин псевдомонад.

Материалы и методы исследования.

При конструировании сред в качестве единственного источника азота использовался желатин [6]. Калий фосфорнокислый двузамещенный применялся для буферизации среды, магний сернокислый – для поддержания оптимального осмотического давления среды и обеспечения биохимических процессов в клетках. Для индикации снижения pH при образовании кислоты использовался индикатор бромтимоловый синий. Ингибитором посторонней микрофлоры, после тестов на антибиотикочувствительность, был выбран фурадонин. Концентрации компонентов подбирались экспериментально. В ка-

честве источника углевода для каждой из трёх разработанных сред служил один из следующих сахаров: глюкоза, галактоза и трегалоза.

В результате проведенных экспериментов были разработаны три селективных питательных среды следующего состава:

- желатин – 7 г;
- углевод (глюкоза, галактоза или трегалоза) – 10 г;
- калий фосфорнокислый двузамещенный – 0,1 г;
- магний сернокислый – 0,1 г;
- бромтимоловый синий – 0,03 г;
- агар-агар – 15 г;
- фурадонин – 0,2 г;
- вода дистиллированная 1000 мл.

Способ приготовления: все компоненты кроме фурадонина смешивали, кипятили и автоклавировали при 0,5 атм 20 минут. Затем в остывшую до 50 °С основу вносили фурадонин, рН доводили до 7,1–7,2. Готовые среды имели травянисто-зеленый цвет. В результате три разработанных нами селективных питательных среды имели аналогичный состав, за исключением углевода. Для каждой из сред использовался отдельный углевод: глюкоза, галактоза или трегалоза.

Для тестирования готовых сред использовали следующие бактериальные штаммы: *P. fluorescens* ATCC 13525, *P. fluorescens* 011art, *P. fluorescens* 038am, *P. chlororaphis* 012 blon, 022 brn. Посевы культивировали при 28 °С в течение 72 часов.

Результаты исследования. Рост *P. fluorescens* и *P. chlororaphis* на среде с глюкозой и галактозой в течение 72 часов был схожим. Бактерии образовывали на средах круглые, гладкие, влажные, блестящие колонии с ровными краями, диаметром до 1–1,5 мм. Цвет среды изменялся с первых до третьих суток инкубации с травянисто-зеленого до желтого, за счет снижения рН при окислении глюкозы или галактозы. В местах интенсивного роста в толще среды наблюдалось помутнение, очевидно обусловленное процессом денатурации желатина.

Рост *P. fluorescens* и *P. chlororaphis* на среде с трегалозой после 24 часов инкубации не выявлялся. После 48–72 часов инкубации бактерии образовывали прозрачные, блестящие колонии с ровными краями, диаметром до 1 мм. Цвет среды не изменялся, помутнения не наблюдалось.

Выводы. Из полученных данных был сделан вывод, что разработанные нами селективные питательные среды на основе желатина в качестве источника органического азота, и глюкозы или галактозы в качестве источника углевода целесообразно применять при выделении и идентификации разжижающих желатин псевдомонад, в частности, *P. fluorescens* и *P. chlororaphis*.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Consensus Document on Information Used in the Assessment of Environmental Applications Involving *Pseudomonas*. Environment Directorate Organisation for Economic Cooperation and Development. Paris 1997.
2. R ta Tekorien, Albinas Lugauskas, Milda Vasinauskien. Bacteria of the *Pseudomonas migula* genus on stored vegetables. Hortorum Cultus 2(2) 2003, 153–160.
3. Peneau S, Chassaing D, Carpentier B: First evidence of division and accumulation of viable but nonculturable *Pseudomonas fluorescens* cells on surfaces subjected to conditions encountered at meat processing premises. Applied and Environmental Microbiology 2007, 73:2839–2846.
4. Wang L, Jayarao BM: Phenotypic and genotypic characterization of *Pseudomonas fluorescens* isolated from bulk tank milk. Journal of Dairy Science 2001, 84:1421–1429.
5. Joyce E. Loper et al. Comparative Genomics of Plant-Associated *Pseudomonas* spp.: Insights into Diversity and Inheritance of Traits Involved in Multitrophic Interactions. PLoS Genet. 2012 July; 8(7).
6. Palleroni N. Genus I. *Pseudomonas*. In Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, 2nd edition. 2005. Volume 2. p. 323–379.

УДК 619:579

Т.А. Гринева, Д.А. Викторов, Д.А. Васильев,

Ульяновская государственная сельскохозяйственная академия
имени П.А. Столыпина, г. Ульяновск, Россия

СХЕМА ВЫДЕЛЕНИЯ И ИДЕНТИФИКАЦИИ БАКТЕРИИ *PSEUDOMONAS CHLORORAPHIS*

Бактерии *Pseudomonas chlororaphis* представляют собой мелкие подвижные грамотрицательные палочки. Спор не образуют. Аэробы, гетеротрофы с окислительным типом обмена веществ. Мезофилы с оптимальным температурным диапазоном роста 20–28 °С и pH 6.3–7.5 [3].

Нашли широкое применение в агротехнике при биоконтроле за грибковыми инфекциями, поражающими ризосферу растений [5]. Способны к биодеструкции органических соединений, используются для фиторемедиации почв после комбинированного загрязнения органическими соединениями и тяжелыми металлами [2]. Используется в промышленном производстве акриламида [6]. Имеются сведения о способности *P. chlororaphis* вызывать заболевания промысловой рыбы (форели, лосося) в концентрациях, превышающих естественный фон в водоёмах. Однако являясь представителем нормальной микрофлоры кишечника рыб, способны антагонистически воздействовать на *Aeromonas sobria* [4]. Таким образом *P. chlororaphis* является перспективным объектом для изучения и биотехнологического использования.

Целью исследования является разработка схемы выделения и системы тестов для идентификации *P. chlororaphis*.

Данная цель достигалась путём предварительного изучения биологических свойств бактерии, подбора имеющихся тестов и питательных сред. Образцами для исследования являлись сточные воды города Ульяновска, образцы почвы и прудовой воды. Первоначальным этапом схемы выделения мы предлагаем посев 1 мл исследуемого субстрата на 5 мл разработанной нами ранее накопительной среды Psp-A-УГСХА следующего состава: сукцинат натрия – 4,0 г; нитрат калия – 0,5 г; фосфат калия двузамещённый – 0,5 г; фосфат калия однозамещённый – 0,1 г; сульфат магния – 0,2 г; хлорид кальция – 0,1 г; вода дистиллированная – 1 л [1].

После 24 часов культивирования при 28 °С, наблюдалось образование взвеси бактериальной массы, которую пересевали на чашки Петри с селективной средой Psp-S-УГСХА следующего состава: фурадонин – 160,0 мг; глюкоза 10,0 г; пептон – 2,0 г; калий фосфорнокислый двузамещённый – 0,05 г; магний сернокислый – 0,1 г; бромтимоловый синий – 0,03 г; агар-агар – 15,0 г; вода дистиллированная – 1 л [1].

После культивирования в течение 24 часов при 28 °С, с её поверхности отщипывали колонии различной морфологии, утилизирующие глюкозу путём окисления (изменение цвета среды с зеленого на желтый).

После получения чистых культур микроорганизмов, все штаммы изучались по следующим признакам: оксидаза, каталаза, тинкториальные свойства, подвижность, рост при 4 °С и 41 °С, рост на агаре с хлоридом бария, желатиназа, денитрификация, образование левана из сахарозы, пигментообразование.

Результаты исследований представлены в таблице.

Результаты тестов, проведённых на 65 выделенных штаммах

Тест (в скобках указана реакция, характерная для <i>P. chlororaphis</i>)	Количество штаммов с положительными для <i>P. chlororaphis</i> результатами
Рост на бульоне с сукцинатом натрия (+)	28
Реакция на селективной среде с глюкозой и фурадоном (+)	28
Оксидаза (+)	28
Каталаза (+)	28
Рост на агаре с 0,2% хлоридом бария (-)	28
Окраска по Граму (-)	28
Подвижность (+)	21
Рост при 4°С (+)	27
Рост при 41°С (-)	28
Тест на желатиназу (+)	28
Тест на денитрификацию (+)	15
Образование левана (+)	10
Флюоресцеин (+)	23
Пиоцианин (-)	28
Зеленый водонерастворимый пигмент (хлорофин) (+)	5

Вывод: исходя из полученных данных, нами был сделан вывод, что из 65 выделенных культур, 5 штаммов (7,7 %) проявляли аналогичные свойства (табл.), что позволяет отнести их к виду *P. chlororaphis*.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Викторов Д.А. Усовершенствование методов выделения, идентификации и индикации бактерий *Pseudomonas putida* // Автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Саратов, 2011 – 22 с.
2. Сизова О.И., Кочетков В.В., Боронин А.М. «Ризосферные бактерии *Pseudomonas aureofaciens* и *Pseudomonas chlororaphis*, окисляющие нафталин в присутствии мышьяка». // Прикладная биохимия и микробиология. – 2010. – Т. 46. – № 1. – С. 45–50.
3. Bodelier PL, Wijnhuizen, AG, Blom, CW and Laanbroek, HJ. "Effects of photoperiod on growth of and denitrification by *Pseudomonas chlororaphis* in the root zone of *Glyceria maxima*, studied in a gnotobiotic microcosm." Plant and Soil. Volume 190:1. 1997. p.91–103.
4. Gobeli S, Goldschmidt-Clermont E, Frey J, Bur SE. «*Pseudomonas chlororaphis* strain JF3835 reduces mortality of juvenile perch, *Perca fluviatilis* L., caused by *Aeromonas sobria*.» J Fish Dis. 2009 Jul; 597–602.
5. Tombolini Riccardo, Gaag Dirk Jan Gerhardson, Berndt and Jansson Janet. Colonization Pattern of the Biocontrol Strain *Pseudomonas chlororaphis* MA 342 on Barley Seeds Visualized by Using Green Fluorescent Protein. Applied and Environmental Microbiology. Aug. 1999. 3674–3680.
6. Yamada, Hideaki and Michihiko Kobayashi. "Nitrile Hydratase and Its Application to Industrial Production of Acrylamide." Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry. 1996. Volume 60 (9).

УДК 579.22

**О.И. Гулий¹, О.А. Караваева¹, С.С. Макарихина¹, С.А. Павлий¹,
Д.Ю. Володин¹, О.Н. Сивко¹, В.Д. Бунин², О.В. Игнатов¹**

¹ Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов
Российской академии наук, г. Саратов, Россия

² EloSystems GbR, г. Берлин, Германия

ОПРЕДЕЛЕНИЕ СПЕКТРА ЛИТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ БАКТЕРИОФАГОВ С ПОМОЩЬЮ МЕТОДА ЭЛЕКТРООПТИЧЕСКОГО АНАЛИЗА КЛЕТОЧНЫХ СУСПЕНЗИЙ

Препараты бактериофагов имеют большие перспективы для использования в качестве антибактериальной терапии. Основным условием успешного применения бактериофагов является определение чувствительности возбудителя к соответствующему фагу. Процедура определения фагочувствительности культуры клеток достаточно длительна, поэтому создание метода экспрессного анализа чувствительности микробных клеток к используемому бактериофагу является чрезвычайно важным. Целью работы являлось изучение возможности использования метода электрооптического (ЭО) анализа клеточных суспензий примере коллекционных штаммов *E.*

coli для определения чувствительности или устойчивости микробных клеток на к фаговой инфекции.

Изучены изменения электрооптических (ЭО) свойств клеточных суспензии *E. coli* коллекционных штаммов XL-1, BL-Ril, TG-1, K-12, B-878 и BL-21 (DE) при их инфекции бактериофагом M13K07. Установлено, что специфические изменения ЭО параметров клеточных суспензий под действием фага происходят только у микробных клеток *E. coli* штаммов XL-1, TG-1 и K-12, у суспензий клеток *E. coli* штаммов BL-Ril, B-878, BL-21 (DE) изменений ЭО параметров под действием фага не происходит. Проведены контрольные эксперименты инфицирования клеток бактериофагом с помощью стандартного посева на плотные питательные среды.

Таким образом, показана возможность использования метода ЭО анализа клеточных суспензий для определения чувствительности микробных клеток к бактериофагу. Традиционные микробиологические методы определения фагочувствительности микробных клеток путем анализа фагов по способности развиваться на газоне тестовых бактерий длительны и трудоемки, поэтому использование метода ЭО анализа клеточных суспензий для оперативного решения данного вопроса имеет большие перспективы.

УДК 579.22

**М.Н. Денисова¹, Г.Е. Рысмухамбетова¹, Е.Н. Бухарова¹,
И.В. Суровцова², Л.В. Карпунина¹**

¹Саратовский государственный аграрный университет
имени Н.И. Вавилова, г. Саратов, Россия

²ООО «Научно-инновационная компания «ВИКДОГ», г. Саратов, Россия

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ЭКЗОПОЛИСАХ АРИДА *XANTHOMONAS CAMPESTRIS* НА ОРГАНИЗМ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ

Полисахариды растительного, животного и микробного происхождения в последние десятилетия являются объектом внимания интенсивно развивающейся отрасли производства - биотехнологии. Области их применения многочисленны: медицина, фармацевтика, косметика, металлургия, добыча нефти, пищевая промышленность. Традиционно применяются растительные полисахариды, реже – животного происхождения (хитозан), однако наиболее перспективны и экономичны микробные экзополисахариды (ЭПС) [1].

В нашей стране полисахариды востребованы в различных отраслях; их закупают в больших количествах в других странах. Особенно велика потребность в развитии производства отечественных полисахаридов пищевого и медицинского назначения. С целью определения перспектив практического применения нами проведены исследования по влиянию на организм лабораторных животных ЭПС *Xanthomonas campestris* В 610/1 (ксантомонана), полученного нами ранее [2].

Экзополисахарид ксантомнан вводили перорально белым лабораторным мышам в дозах 0,06; 0,7; 3 и 4 г на 1 кг массы тела животного. Контрольной группе мышей вводили физиологический раствор в объеме, соответствующем объему раствора ЭПС (1 мл). Поведение мышей после введения экзополисахарида в дозе 0,06–0,7 г/кг не отличалось от поведения животных в контрольной группе. При введении высоких доз ксантомнана (3 и 4 г/кг) в течение 1 часа у животных наблюдалась вялость, после чего поведение возвращалось к норме. Доза 4 г/кг вызывала гибель каждого четвертого животного. При снижении дозы до 3 г/кг гибели животных не наблюдалось. Визуальных изменений в состоянии внутренних органов ни в одной группе отмечено не было. Изменения массы тела во всех группах животных соответствовали изменениям массы в контрольной группе.

В процессе исследований было показано, что пероральное введение ксантомнана в дозах 0,06–0,7 г/кг вызывает повышение общего количества микроорганизмов в толстом кишечнике мышей в 1,5 раза по сравнению с контролем; количество молочнокислых бактерий увеличивается в 20–25 раз. При этом в первые трое суток наблюдалось повышение количества лактобактерий и снижение количества бифидобактерий.

В предыдущих наших исследованиях [3] была рассмотрена целесообразность применения ЭПС *X. campestris* В 610/1 (ксантомнана) в качестве пищевой добавки. Результаты данной работы свидетельствуют о перспективности исследований по применению ксантомнана в пищевой отрасли при условии тщательного соблюдения доз. В малых дозах (0,06–0,7 г/кг) ЭПС *X. campestris* В 610/1 положительно влияет на микрофлору кишечника и не оказывает отрицательного действия на организм животного; высокие дозы (3 и 4 г/кг) опасны из-за высокой вязкости полисахарида.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Гринберг Т.А., Пирог Т.П., Малащенко Ю.Р. Микробный синтез экзополисахаридов на C1-C2 соединениях. Киев: Наукова думка, 1992. – 211 с.
2. Рысмухамбетова Г.Е., Карпунина Л.В., Бухарова Е.Н., Жемеричкин Д.А. Выделение и очистка экзополисахаридов из ксантомнад // Вестник Саратовского государственного университета им. Н.И. Вавилова. – № 4. – 2008. – С. 42–45.
3. Рысмухамбетова Г.Е., Бухарова Е.Н., Карпунина Л.В. Перспективы пищевого применения бактериальных экзополисахаридов // Химия и биохимия углеводов: Материалы IV Всероссийской школы-конференции. Саратов, 14–16 сентября 2011. – С. 70–71.

А.И. Калдыркаев, А.В. Алешкин, Н.А. Феоктистова, Д.А. Васильев

Ульяновская государственная сельскохозяйственная академия
имени П.А.Столыпина, г. Ульяновск, Россия

БИОХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА БАКТЕРИЙ *BACILLUS CEREUS*

Известно, что, в отличие от близкородственных микробов, бактерии *Bacillus anthracis*, не обладают способностью вырабатывать щелочную фосфатазу. На этом принципе основано использование питательной среды Ставропольского научно-исследовательского института вакцин и сывороток для выделения и одновременной дифференциации возбудителя сибирской язвы. В агаровую питательную среду при температуре 45–55 °С добавляют прогретый до 65 °С в течение 20 мин. фенолфталеинфосфат натрия до конечной концентрации 0,01 % в среде. На мясо-пептонном агаре через 16–20 часов вырастают серовато-матовые колонии. Для дифференциации сибиреязвенного микроба и сапрофитных микроорганизмов на крышку чашки Петри наносят 2–3 капли 10 % водного раствора аммиака и чашку закрывают. Сапрофиты, особенно *Bacillus cereus*, вырабатывают щелочную фосфатазу, которая разлагает фенолфталеинфосфат натрия с образованием индикатора фенолфталеина. Поэтому при добавлении аммиака, имеющего щелочную реакцию, колонии через 10–20 с окрашиваются в яркий красный или малиновый цвет. Колонии *Bacillus anthracis* остаются серыми или слегка розовеют и их отбирают для пересевов и дальнейшей идентификации. Некоторые исследователи считали тест на щелочную фосфатазу одним из наиболее достоверных для отличия *Bacillus anthracis* от *Bacillus cereus* [1].

Целью данной работы было изучение биохимических свойств штаммов *Bacillus cereus*.

Материалом для выделения штаммов *Bacillus cereus* служили пищевые продукты: грибы, пряности и приправы, мясо-растительные консервы. Взятие проб для бактериологического исследования проводилось по ГОСТ 26669 – 85 «Продукты пищевые и вкусовые. Подготовка проб для микробиологических анализов», выделение культур проводилось на питательной среде Ставропольского научно-исследовательского института вакцин и сывороток для выделения и одновременной дифференциации возбудителя сибирской язвы и тестам, предложенным R. Gordon [3]. Чистые культуры выделенных штаммов изучали:

- на подвижность, окраску по Граму, наблюдали рост 75 % желточном агаре;
- определяли подвижность;
- образование аммиака, индола, сероводорода;
- определение гидролиза мочевины;

- определяли редукцию нитратов и гидролиз казеина;
- разложения тирозина;
- гидролиз крахмала;
- продукция каталазы;
- продукция лецитиназы;
- продукция газов из нитратов в анаэробных условиях;
- определение утилизации углеводов;
- кислотообразование;
- продукция аргининдигидролазы;
- рост в анаэробных условиях;
- утилизация цитрата и пропионата.

В процессе исследования было выделено 30 штаммов *Bacillus cereus*. Из них 20 из пряностей и приправ, 8 из грибов, 2 из мясо-растительных консервов.

Суточные бульонные культуры представляли собой грамположительные палочки; клетки одиночные или соединенные в короткие цепочки, цитоплазма клеток зернистая, клетки большей частью подвижные, споры овальные. Расположены эксцентрично. Колонии на мясо-пептонном агаре толстые, морщинистые, со складчатым центром и ворсинчатыми краями. На мясо-пептонном бульоне через 1–2 суток появлялись помутнения и, как правило, пристенное кольцо с последующим образованием крошковидной мути и пленки на поверхности среды.

Хорошо разжижали желатину (полное разжижение наступало на 3-и сутки) – 100 % выделенных штаммов. Определение сахаролитической активности проводилось по общепринятой методике (с использованием сред Гисса: концентрация углеводов 1 %, индикатор Андреде). Наиболее интенсивно штаммы *Bacillus cereus* ферментировали из углеводов сахарозу и глюкозу – 95 %. Лактозу, маннит, сорбит разлагали только 4 штамма, выделенные из пряностей и почвы. Полученные данные значительно разнятся с данными Полховского [2]. Но рост питательной среде Ставропольского научно-исследовательского института вакцин и сывороток для выделения и одновременной дифференциации возбудителя сибирской язвы с добавлением 10 % водного раствора аммиака (образование малиновой окраски колоний), доказывает, что выделенные бациллы вырабатывают щелочную фосфатазу, которая разлагает фенолфталейнфосфат натрия с образованием индикатора фенолфталейна. Сероводород не образовывал ни один выделенный штамм. При изучении лецитиназной и гемолитической активности были получены 100 % положительные результаты. Также у всех выделенных штаммов присутствует каталаза. Исследования на наличие уреазы дали в 95 % случаев положительный результат. Штаммы бактерий вида *Bacillus cereus*, выделенные из различных природных источников, характеризовались выраженными биохимическими свойствами. Наиболее постоянными являлись: подвижность, лецитиназная активность, гемолитическая активность, наличие каталазы, выработка щелочной фосфатазы, ферментация сахарозы,

ферментация глюкозы, наличие уреазы, разжижение желатина, отсутствие ферментации маннита, лактозы, сорбита, адонита, арабинозы.

Однозначной зависимости между источником выделения *Bacillus cereus* и принадлежностью штамма к определенному биохимическому типу не наблюдали.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Груз Е.В. Изучение и рационализация некоторых лабораторных методов индикации и идентификации *Bac.anthraxis* // Автореф. дис. канд. мед. наук. – Одесса, 1965. – С. 10.
2. Полховский В.А. Биохимические типы *Bacillus cereus*, выделенных из различных природных источников // Журн. микробиол. – 1970. – № 2. – С. 82–86.
3. Gordon R. The genus *Bacillus* // In: Handb. Microbiol. Cleveland (Ohio), 1973. V.1. P.71-88.

УДК 602.3:579.8

А.И. Калдыркаев, А.В. Алешкин, Н.А. Феоктистова, Д.А. Васильев

Ульяновская государственная сельскохозяйственная академия
имени П.А. Столыпина, г. Ульяновск, Россия

ВЫЯВЛЕНИЕ КАПСУЛЫ У БАКТЕРИЙ РОДА *BACILLUS*

В настоящее время методы дифференциации бактерий рода *Bacillus* основаны на ряде признаков, и одним из критериев отличия считают процесс образования капсулы. Долгое время считали, что бактерии *Bacillus cereus* и *Bacillus thuringiensis* не продуцируют капсулу, в отличие от бактерий *Bacillus anthracis*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus licheniformis*, имеющих капсулу содержащую поли-γ-D-глутаминовую кислоту, и *Bacillus mycoides*, *Bacillus circulans*, *Bacillus pumilus*, продуцирующих полисахаридную капсулу [1, 3]. А.Р. Hoffmaster, J.J. Ravel J, et al. (2004) исследовал 45 штаммов *Bacillus cereus* выделенных в США в период с 1954 по 2000 г., от людей с различными заболеваниями (гнойно-воспалительные и респираторные инфекции, пищевых токсикоинфекции). Было установлено, что бактерии *Bacillus cereus* содержат сходные кольцевые плазмиды – pBCXO1, отвечающие за токсинообразование на 99,6 % сходные с плазмидой *Bacillus anthracis* – pXO1, отвечающей за кодирование токсина. Гомологов плазмиды *Bacillus anthracis* – pXO2, отвечающей за капсулообразование не найдено. Но была выявлена ранее неизвестная плазмида pBC218, отвечающая, по мнению исследователей, за образование полисахаридной капсулы *Bacillus cereus*. Кроме того 1 из 4 штаммов *Bacillus cereus*, образующих капсулу был возбудителем пневмонии с летальным исходом [2, 4].

Цель и задачи исследований. В связи с этим нами была поставлена цель, провести эксперимент по выявлению капсулы *in vitro* у референс- и

полевых штаммов *Bacillus cereus*, а также бактерий видов *Bacillus mycoides*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus mesentericus*, *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*.

Результаты исследований и их обсуждение. Материалы для исследования. Референс-штаммы *Bacillus cereus* № 96, № 8035, № 2527, 42 полевых штамма *Bacillus cereus*, выделенных из проб почвы и пищевых продуктов, *Bacillus mycoides* № 537, *Bacillus subtilis* № 6633, *Bacillus megaterium* № 182, *Bacillus mesentericus* № 66, *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*, полученные из музея НИИЦМиБ ФГБОУ ВПО «Ульяновская ГСХА им. П.А. Столыпина». Для получения капсул использовали питательный агар с добавлением 1 % бикарбоната натрия и 12 % крови барана обработанной антикоагулянтом – гепарином. Культивирование проводили при 36 °С в эксикаторе с содержанием CO₂ 15–20 %. Просматривали посевы через 18–24 ч. При учете результатов все культуры имели нестандартную переходную S-R форму (рис. 1), слизистых колоний не наблюдалось. Мазки окрашивали по Бурри-Гинсу (рис. 2). Микроскопическая картина: фон черный, клетки бактерий красные, капсулы неокрашенные (красители не воспринимают).



Рис. 1. Культуры рода *Bacillus* на 1 % бикарбонатном кровяном агаре

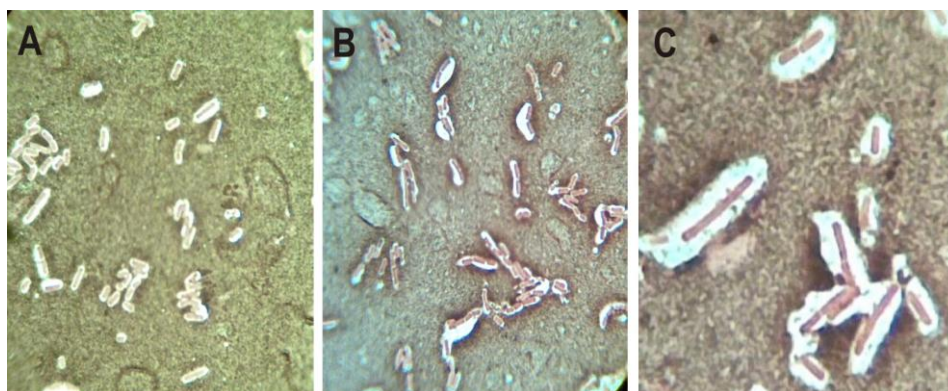


Рис. 2. Окраска капсулы по Бурри-Гинсу: *Bacillus cereus* № 8035 (А), *Bacillus cereus* № 96 (В) и *Bacillus cereus* № 7 (С)

В результате проведенных исследований было установлено, что бактерии *Bacillus cereus* № 96, № 8035, № 2527 и 42 полевых штамма *Bacillus ce-*

reus, выделенных из проб почвы и пищевых продуктов имеют явно выраженную капсулу. Описание инкапсулирующих свойств штаммов *Bacillus cereus* показывает, что классическая система типирования *Bacillus cereus*, не всегда может быть достоверной. Следует обратить внимание на опасность диагностики исключительно по одному или нескольким фенотипическим признакам. Бактерии *Bacillus subtilis* № 6633, *Bacillus mesentericus* № 66, *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*, полученные из музея НИИЦМиБ ФГБОУ ВПО «Ульяновская ГСХА» также имели капсулу, четко окрашиваемую по методике Бурри-Гинсу. Однако, у штаммов бактерий *Bacillus mycoides* № 537, *Bacillus megaterium* № 182 не было выявлено капсул. Принимая во внимание вышесказанное, при идентификации штаммов рода *Bacillus*, необходимо давать характеристику каждому выделенному изоляту с использованием максимального числа дифференциальных тестов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Comparative analysis of *Bacillus anthracis*, *Bacillus cereus*, and related species on the basis of reverse transcriptase sequencing of 16S rRNA / C. Ash, J. A. Farrow, M. Dorsch [et al.] // Int. J. Syst. Bacteriol. 1991. V. 41. P. 343–346.
2. Capsule Production in *Bacillus cereus* Strains Associated with Severe Pneumonia / D. Sue, Al. Hoffmaster, T. Popovic, P. Wilkins // J. Clin. Microbiol. 2006. V. 44(9). P. 3426–3428.
3. Homoduplex and heteroduplex polymorphisms of the amplified ribosomal 16S-23S internal transcribed spacers describe genetic relationships in the «*Bacillus cereus* group» / D. Daffonchio, A. Cherif, S. Borin // Environ. Microbiol. 2000. V.4. P. 23.
4. Identification of anthrax toxin genes in a *Bacillus cereus* associated with an illness resembling inhalation anthrax / A. R. Hoffmaster, J. Ravel, D. A. Rasko [et. al.] // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2004. №1. P. 8449–8454.

УДК 619:579.25

**Н.Н. Карамышева, Д.А. Васильев, С.Н. Золотухин, А.В. Морозов,
А.Л. Игнатов**

Ульяновская государственная сельскохозяйственная академия
имени П.А. Столыпина, г. Ульяновск, Россия

ЗАВИСИМОСТЬ СКОРОСТИ КОРРОЗИИ СТАЛИ ОТ ВВЕДЕНИЯ В СРЕДУ БИОПРЕПАРАТА БАКТЕРИОФАГОВ СУЛЬФАТРЕДУЦИРУЮЩИХ БАКТЕРИЙ

Введение. Бактерии вида *D. desulfuricans* имеют высокую физиолого – биохимическую активность в отношении сульфата железа (FeSO_4), содержащегося в воде, почве и донных отложениях, который вовлекается в биогеохимический цикл серы, образуя сульфид железа (FeS) [2]. Образовавшийся сульфид агрессивен по отношению к металлу, вызывая коррозионное поражение его поверхности [1]. Целью нашего исследования было определение влияния биопрепарата бактериофага сульфатредуцирующих

бактерий, полученного в ходе экспериментов на кафедре микробиологии, вирусологии, эпизоотологии и ветеринарно–санитарной экспертизы Ульяновской ГСХА им. А.П. Столыпина на скорость коррозии металла. Исходя из цели, была поставлена задача: определить интенсивность влияния биопрепарата бактериофагов на скорость коррозии металла.

Материалы и методы. Штаммы бактерий вида *D. desulfuricans*; биопрепарат на основе бактериофагов Ddu 48 – УГСХА и Ddr 57 – УГСХА; образцы стали, используемой в нефтяной промышленности, для нефтепроводов.

Постановка опыта. В ходе эксперимента в 3 видах коррозионной среды были имитированы приблизительные условия эксплуатации нефтепроводов с присутствием активных коррозионных агентов, представленных бактериями вида *D. Desulfuricans*, в их отсутствие и с добавлением биопрепарата бактериофагов.

В качестве контроля были созданы условия без дополнительных факторов коррозии: Время испытаний (τ) составляет 240 ч, площадь образцов (S) 0,003 м².

Результаты исследований. В контрольной среде развивается сплошная (равномерная) коррозия, тогда как в среде с присутствием бактерий вида *D. desulfuricans* наблюдается неравномерная коррозия пятнами (питтинги). В среднем поражено 55,3 % площади поверхности стали. В среде с бактериями вида *D. desulfuricans* и биопрепаратом бактериофагов Ddu 48 и Ddr 57 – УГСХА наблюдается равномерная коррозия и незначительные поражения пятнами – площадь поражения составляет 12,0 %.

Скорость коррозии (V_k) вычисляли по формуле:

$$V_k = (m_1 - m_2) / S \cdot \tau,$$

где: V_k – показатель коррозии массы, г/ (м²·ч¹);

m_1 – начальная масса образца, г;

m_2 – масса образца после испытаний, г;

S – площадь поверхности образца, м²;

τ – время испытаний, ч.

(W.P. Iverson , 1972)

Результаты испытаний образцов стали

№	Коррозионная среда	Потери массы образца $m_1 - m_2$, (г)	Скорость коррозии V_k г/м ² ·ч
1	№1 нефть – вода (контроль)	0,002 ± 0,0002	0,0103 ± 0,0007
2	№ 2 нефть – вода – <i>D. desulfuricans</i>	0,006 ± 0,0002	0,0311 ± 0,0012
3	№ 3 нефть – вода - <i>D. desulfuricans</i> - бактериофаги Ddu 48 и Ddr 57 –УГСХА	0,001 ± 0,0001	0,0051 ± 0,0005

Скорость коррозии стали без добавления в среду биопрепарата бактериофагов и с биопрепаратом отражена в таблице и на рисунке.



Зависимость скорости коррозии от наличия в среде биопрепарата

Выводы

Введение биопрепарата в нефтеводную среду, содержащую СРБ, приводит к значительному снижению скорости неравномерной коррозии, вследствие подавления активности *Desulfovibrio desulfuricans*.

Таким образом, целесообразно использовать биопрепарат бактериофага сульфатредуцирующих бактерий для защиты стали от коррозии.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Perez E. J., Sierra R. C., Gonzales J., Vives F. R. Influence of *Desulfovibrio* sp. biofilm on SAE1018 carbon steel corrosion in synthetic marine medium // Corrosion Science. 2007. 49. P. 3580 – 3597.
2. Mehanna M., Basseguy R., Delia M.-L., Bergel A. Role of direct microbial electron transfer in corrosion of steels // Electrochem. Commun. 2009. 11. P. 568 – 571.
3. Iverson W.P. Biological corrosion // Adv. Corros. Sci. And Technol. 1972. Vol. 2. P. 1 – 42.ф

УДК 619:579.25

Н.Н. Карамышева, Д.А. Васильев, С.Н. Золотухин, Масиленко А.В.

Ульяновская государственная сельскохозяйственная академия
имени П.А. Столыпина, г. Ульяновск, Россия

ЭЛЕКТРОФОРЕЗ ДНК ФАГОВ, ЭКСТРАГИРОВАННЫХ ИЗ ШТАММОВ БАКТЕРИЙ *DESULFOVIBRIO DESULFURICANS*

Введение. Трудность и длительность культивирования штаммов *D. desulfuricans*, а также сложность их видовой идентификации подтолкнули нас к поиску быстрых методов, которые после проведения опытов по индукции профага сульфатредуцирующих бактерий могли бы свидетельствовать о наличии бактериофагов. Цель наших исследований: найти ДНК предполагаемого профага бактериальной клетки. Пути решения постав-

ленной задачи: с помощью электрофореза выявить наличие ДНК.

Постановка опыта. Одним из таких методов является обнаружение наследственного материала индуцированных бактериофагов – нуклеиновых кислот с помощью электрофореза в агарозном геле. Суть метода состоит в детекции фрагментов ДНК размером значительно меньше размеров хромосомной ДНК самой бактерии после экстракции тотальной ДНК бульонной культуры *D. desulfuricans* с культурой бактериофага. В качестве контролей были использованы:

- культура *D. desulfuricans* без бактериофага (чистая культура);
- бактериофаги коммерческого производства (синегнойный и сальмонеллезный).

Учет результатов состоял в следующем: наличие фрагментов ДНК длиной меньше длины хромосомной ДНК самих бактерий в пробах с индуцированным профагом и отсутствие таковых в пробе с чистой культурой (без воздействия на нее бактериофагов), на наш взгляд, свидетельствует о наличии в исходных пробах бактериофагов. В качестве подтверждения этого, а также для сопоставления размеров ДНК бактериофагов, были использованы в качестве положительных контролей бактериофаги коммерческого производства (синегнойный и сальмонеллезный) с содержанием бактериофагов 10^9 /мл.

Результаты исследований. Результаты исследований представлены на рисунках 1 и 2.

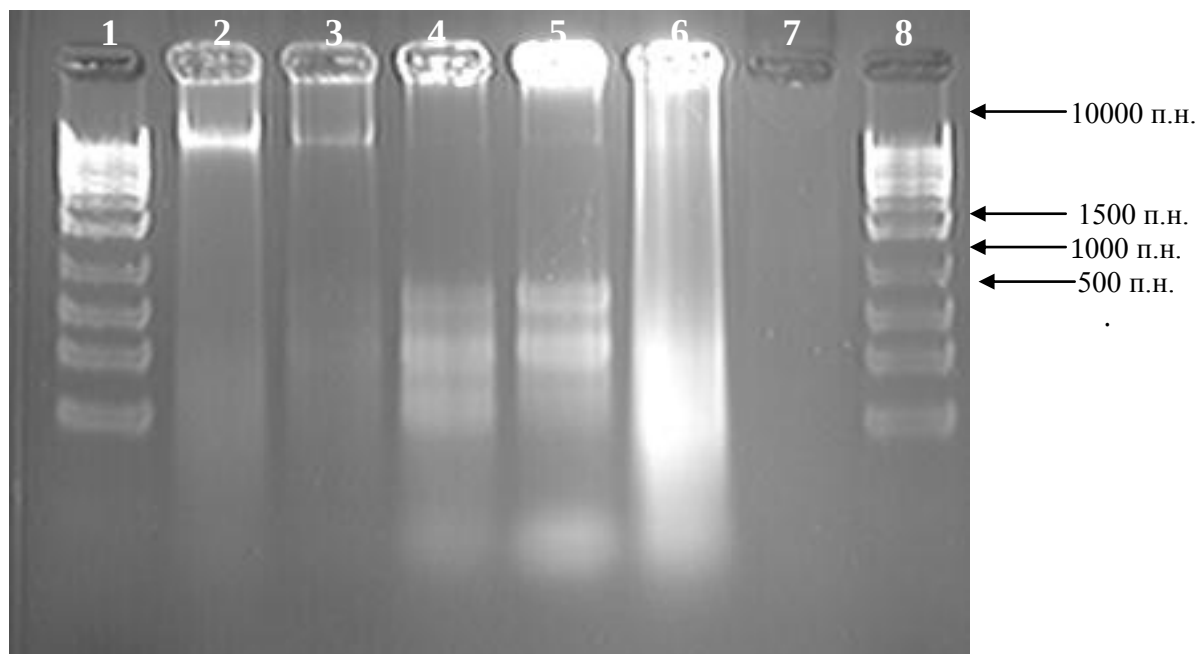


Рис. 1. Электрофореграмма ДНК бактериофагов *Desulfovibrio desulfuricans*
Примечание. 1, 8 – маркер молекулярного веса; 2–6 – ДНК предположительного фага в бактериальной культуре *Desulfovibrio desulfuricans*; 7 – ДНК чистой культуры *Desulfovibrio desulfuricans*.

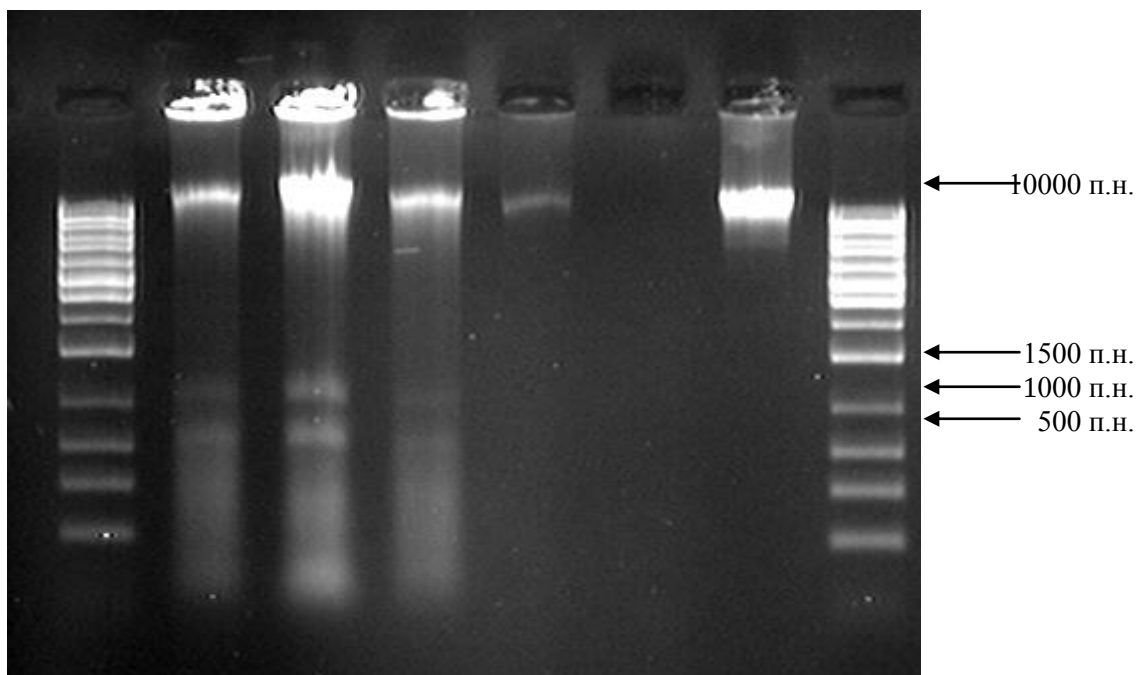


Рис. 2. Электрофореграмма ДНК бактериофагов *Desulfovibrio desulfuricans*, коммерческих синегнойного и сальмонеллезного бактериофагов.

Примечание. 1, 8 – маркер молекулярного веса; 2–4 – ДНК бактериофагов *Desulfovibrio desulfuricans* проба № 2, № 3, № 4; 5 – синегнойный фаг; 6 – сальмонеллезный фаг; 7 – синегнойный фаг

В результате проведенных экспериментов по электрофорезу ДНК бактериофагов, полученных с использованием индукции, а также коммерческих бактериофагов *Pseudomonas aeruginosa* и *Salmonella spp.* мы обнаружили во всех пробах с предположительным бактериофагом *D. desulfuricans* фрагменты нуклеиновых кислот размером около 10000 п.н.; ДНК коммерческих синегнойного и сальмонеллезного бактериофагов также имеют длину около 10000 п.н. Таким образом, фрагменты нуклеиновых кислот размером около 10000 п.н. в исходных пробах, на наш взгляд, свидетельствуют о наличии бактериофагов *D. desulfuricans*.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Bodily H., Updyke E.L., Mason J.O. (ed). Diagnostis procedures for bacterial, mycotis and parasitis infections, 5 th ed., American Public Health Association, Inc., New York, 2007.
2. Back A.E., Oberhoter T.R., J.Clin Microbiol. 2008. P. 312 – 313.
- 3.Kamimura K. Isolation and Characterization of a Bacteriophage Lytic for *Desulfovibrio salexigens*, a Salt-Requiring, Sulfate-Reducing Bacterium / K. Kamimura and M.Araki //Appl. Envirion. Microbiol. 1989. P. 645.

**Н.В. Кичемазова¹, И.А. Бухарова², Е.Н. Бухарова¹, И.В. Суровцова³,
Л.В. Карпунина¹**

¹Саратовский государственный аграрный университет
имени Н.И. Вавилова, г. Саратов, Россия

²Саратовский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского,
г. Саратов, Россия

³ООО «Научно-инновационная компания «ВИКДОГ», г. Саратов, Россия

БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ЭКЗОПОЛИСАХАРИДА *XANTHOBACTER XYLOPHILUS*

Создание штаммов бактерий, продуцирующих экзополисахариды (ЭПС) – перспективная отрасль современной биотехнологии. Не менее актуален поиск бактерий-продуцентов ЭПС в природе, производящих экзополисахариды в значительных количествах или с уникальными свойствами. Культура *Xanthobacter xylophilus* Z-0055 впервые выделена из гниющей древесины ели сотрудниками Института микробиологии им. С.Н. Виноградского РАН [1]. ЭПС *X. xylophilus* Z-0055 (ксилофила) был выделен и охарактеризован нами ранее [2].

Известно, что бактериальные ЭПС могут выполнять различные функции: защищать клетки от различных абиотических и биотических факторов, служить запасным питательным веществом [3]. Изучение роста культуры и продукции ЭПС *X. xylophilus* Z-0055 (ксилофила) показало, что в условиях недостатка питательных веществ в поздней стационарной фазе роста культуры клетки используют накопленный в среде полисахарид в пищу, что вызывает повторный рост культуры. Было показано, что добавление ЭПС *X. xylophilus* Z-0055 в концентрации 1 г/л усиливает рост бактерий сходных местообитаний (*Singulisphaera mucilaginosus* Z-0071, *Ancylobacter abiegnus* Z-005), а также *Pseudomonas aeruginosa* 27533 и *Klebsiella pneumoniae* K2. На рост некоторых других микроорганизмов (*Escherichia coli* O1, *Staphylococcus aureus* 209, *Bacillus cereus* 8035, *Candida albicans* 230) ксилофила в такой же концентрации влияния не оказывал. Добавление ксилофила в концентрации 1 г/л к культуре инфузорий *Colpoda stenii* вызывало гибель 100 % клеток через 30 минут, через 50 минут в поле зрения наблюдали только фрагменты клеток. Исследование влияния ксилофила в дозах 0,06–3,00 г/кг на белых лабораторных мышах показало, что он относится к умеренно токсичным веществам.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Зайчикова М.В., Берестовская Ю.Ю., Акимов В.Н., Кизилова А.К., Васильева Л.В. *Xanthobacter xylophilus* sp.nov. – представитель ксилотрофного мико-бактериального сообщества ультрапресных вод // Микробиология. – 2010 – Т. 79. – № 1. – С. 89–95.

2. Кичемазова Н.В., Бухарова Е.Н., Жемеричкин Д.А. Берестовская Ю.Ю., Васильева Л.В., Карпунина Л.В. Экзополисахариды бактерий-диссипотрофов. Химия и биохимия углеводов: Материалы конференции / IV Всероссийская школа-конференция. Саратов, 14–16 сентября 2011 – С. 60–61.

3. Елинов Н.П. Некоторые микробные полисахариды и их практическое применение // Успехи микробиологии. – М.: Наука, 1982. – С. 158–177.

УДК 57.047: 579.852.11

Е.Г. Климентова¹, Т.Г. Юдина²

¹Ульяновский государственный университет, г. Ульяновск, Россия

²Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, г. Москва, Россия

ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ НЕКОТОРЫХ УСЛОВНО ПАТОГЕННЫХ БАКТЕРИЙ К АНТИБИОТИЧЕСКОМУ ДЕЙСТВИЮ δ -ЭНДОТОКСИНОВ *BACILLUS THURINGIENSIS*

Белки параспоральных кристаллов энтомопатогенной бактерии *B. thuringiensis* (δ -эндотоксины, Cry- и Cyt-белки) являются основным токсическим компонентом ряда биопестицидов, применяемых в защите растений и, кроме того, гены, кодирующие токсинообразование (cry-гены), встроены в генетически модифицированные растения (*Bt*-растения), которые синтезируют большие количества δ -эндотоксинов, что защищает их от вредителей, но, в то же время, способно оказывать негативное воздействие на растительноядных животных, а также на почвенную микробиоту [4]. Установлено, что белки параспоральных кристаллов *B. thuringiensis* subsp. *thuringiensis*, *alesti*, *kurstaki*, *finitimus*, *galleriae*, *dendrolimus* и других проявляют антибиотическую активность в отношении ряда архей, аэробных и анаэробных бактерий [3].

Изучение биологической активности белков параспоральных кристаллов *B. thuringiensis* в отношении микроорганизмов-симбионтов желудочно-кишечного тракта теплокровных животных и человека весьма своевременно и актуально, так как компоненты биопестицидов и *Bt*-растений могут попадать в конечную продукцию и повлиять на микробиоценозы желудочно-кишечного тракта. Так, показано, что растворы δ -эндотоксинов *B. thuringiensis* в достаточно высоких концентрациях (выше 50 мкг/мл) приводят к формированию дисбиотических изменений в кишечнике теплокровных животных [1]. Одной из возможных причин, приводящих к изменениям в составе микробиоты теплокровных животных, может быть антибиотическое действие δ -эндотоксинов на микроорганизмы.

Целью данной работы явилось изучение антибиотического влияния δ -эндотоксинов *B. thuringiensis* на бактерий, являющихся частью микробиоты белых мышей, выделенных из прямого отдела толстого кишечника.

Объекты и методы исследования. В работе был использован штамм Z-52 *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki*, смесь параспоральных белков получали, используя известные методики [3]. Полученные растворы (в концентрации от 5 до 300 мкг/мл) использовали для определения антимикробной активности δ - эндотоксинов с помощью модифицированного метода диффузии в агаре [3] в отношении культур *E. coli*, *Salmonella spp.*, *Proteus spp.*, *Citrobacter spp.*, *Klebsiella spp.*, *St. epidermidis*, *Morganella morganii*, *Yersinia enterocolitica* и *St. aureus*. Активность выражали в относительных единицах, учитывая отношение диаметра зоны подавления роста микроорганизмов (в мм $\times 10^2$) к концентрации раствора белков (мкг/л). Все исследования были выполнены в 10 повторностях.

Результаты и обсуждение. Было установлено, что чувствительность к антибиотическому действию растворов δ -эндотоксинов *B. Thuringiensis* проявили бактерии разных систематических групп: энтеробактерии *E. coli* и *Salmonella spp.*, а также стафилококки – *St. aureus*, *St. epidermidis*. Другие культуры оказались нечувствительны к растворам δ -эндотоксинов в использованных концентрациях. Различия в действии белков по отношению к разным группам микроорганизмов обусловлены, вероятно, как особенностями строения оболочек их клеток, так и способностью δ -эндотоксинов по-разному связываться с оболочками бактерий, подобно некоторым антибиотикам и бактериоцинам [2]. Как показали результаты нашего исследования, величина относительной антибиотической активности растворов белков была примерно в 2-4 раза выше для грамотрицательных энтеробактерий *E. coli* и *Salmonella spp.*, чем для грамположительных стафилококков *St. aureus* и *St. epidermidis* (табл.1).

Антибиотическая активность δ -эндотоксинов *B. thuringiensis*, отн.ед.

Тест-микроорганизмы			
<i>E.coli</i>	<i>Salmonellasp.</i>	<i>St. aureus</i>	<i>St. epidermidis</i>
16,0 $\pm$ 4,2	13,6 $\pm$ 2,5	3,9 $\pm$ 0,9	5,8 $\pm$ 1,2

Энтеробактерии оказались восприимчивы к сравнительно более низким концентрациям эндотоксинов, и на газоне этих тест-культур формировались зоны ингибирования роста большего диаметра (бактериостатический эффект), чем на газоне грамположительных стафилококков. Бактериостатический эффект действия спустя некоторое время (через 3–4 суток) исчезал, и затем наблюдали слабый вторичный рост газона микроорганизмов. Более выраженное действие токсина в отношении грамотрицательных энтеробактерий требует, несомненно, дальнейшего изучения.

Таким образом, было установлено, что представители групп условно патогенных бактерий, выделенных из толстого кишечника теплокровных животных, чувствительны к антибиотическому действию δ -эндотоксинов *B. thuringiensis*, причём такая чувствительность сходна у двух разных групп исследованных бактерий.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 12-04-97016-р_поволжье_а.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Климентова, Е.Г. Изменение микрофлоры толстого кишечника у мышей при длительном пероральном введении δ -эндотоксина *Bacillus thuringiensis* /Е.Г. Климентова, А.А. Купцова, Л.К. Каменек, В.В. Гулий //Сельскохозяйственная биология. — 2011. — № 4. — С. 115–120.
2. Юдина, Т.Г. Действие дельта-эндотоксинов четырёх подвигов *B.thuringiensis* на различных прокариот /Т.Г.Юдина, Л.И.Бурцева // Микробиология. — 1997. — Т. 66. — № 1. — С. 25–31.
3. Юдина, Т. Г. Антимикробная активность и экологическая роль белковых включений бактерий - представителей родов *Bacillus*, *Xenorhabdus*, *Photorhabdus*. Дисс. докт. биол. наук. — Москва, 2006. — 87 с.
4. Юдина, Т.Г. Антибиотическое влияние δ -эндотоксинов *Bacillus thuringiensis* на бактерии и дрожжи/Т.Г. Юдина, Годаньян, А.И. Нетрусов //Сборник статей «Актуальные проблемы биологической безопасности» — 2011. — Брянск. — С. 154–162.

УДК 619:579

Н.Г. Куikliна, И.Г. Горшков, Д.А. Викторов, Д.А. Васильев
Ульяновская государственная сельскохозяйственная академия
имени П.А. Столыпина, г. Ульяновск, Россия

КОНСТРУИРОВАНИЕ ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕД ДЛЯ ВЫДЕЛЕНИЯ И ИНДИКАЦИИ БАКТЕРИЙ РОДА *AEROMONAS*

Бактерии рода *Aeromonas* представляют собой палочку с округленным концом. Большинство видов подвижны благодаря наличию жгутиков. Оптимальный диапазон температуры — 22–28 °С. Обычно положительны по аргининдигидролазе и отрицательны по орнитиндекарбоксилазе. По ДНКазе и желатиназе положительны. Восстанавливают нитрат [3].

Целью исследования является конструирование питательных сред для бактерий рода *Aeromonas*.

Объектами исследования явились образцы воды из водоемов Ульяновской области.

В результате серии экспериментов, направленных на оптимизацию состава среды накопления АН1-УГСХА, мы остановились на следующей прописи: вода дистиллированная — 100 мл; сульфат магния — 0,02 г; фосфат калия 2-замещенный — 0,1 г; хлористый натрий — 0,5 г; глюкоза — 0,5 г; бромтимоловый синий — 0,003 г; стерилизация при 0,5 атм 15 мин, после стерилизации асептически добавляли 0,5 мг ампициллина.

Источником углерода в данной среде служит глюкоза, доступная в качестве питательного субстрата для бактерий рода *Aeromonas*. Фосфат калия двузамещенный, сульфат магния и хлорид кальция необходимы для обеспечения биохимических процессов в клетках бактерий рода

Aeromonas. Ампициллин используется в качестве селективной добавки [2]. Бромтимоловый синий является индикатором снижения pH среды при окислении глюкозы.

Для культивирования аэромонад на разработанной среде накопления АН1-УГСХА были рекомендованы следующие параметры: для *Aeromonas hydrophila* – 37 °С в течение 24 ч; для *A. salmonicida* – 20–22 °С в течение 24 ч; для *A. media*, *A. caviae*, *A. sobria* – 25–28 °С в течение 24 ч.

После культивирования наблюдалось помутнение прозрачного бульона, образование поверхностной плёнки, осадка, рост аэромонад сопровождался изменением окраски среды с голубой на желто-зеленую.

В случае обнаружения роста, с накопительной среды АН1-УГСХА производили посев по методу Дригальского на чашки Петри с разработанной нами плотной селективной средой АН2-УГСХА следующего состава: вода дистиллированная – 100 мл; агар-агар – 1,5 г; пептон – 0,5 г; дрожжевой экстракт – 0,3 г; сульфат магния – 0,02 г; калий 2-замещенный – 0,1 г; глюкоза – 0,5 г; хлорид бария – 0,5 г; стерилизация при 0,5 атм 15 мин, после стерилизации асептически добавляли: трифенилтетразолий хлорид – 2 мл 10 %-ного раствора; ампициллин – 0,5 мг.

Калий фосфорнокислый двузамещенный и магний сернокислый обеспечивают электролитный состав среды, необходимый для биохимических процессов, пептон является источником аминокислот. В качестве ингибитора посторонней микрофлоры был выбран ампициллин. Хлорид бария в указанной концентрации эффективно ингибирует рост бактерий-ассоциантов рода *Pseudomonas* [1]. После культивирования на данной среде в течение 24 часов при рекомендованных температурных параметрах, на ее поверхности были обнаружены однородные блестящие колонии бордового цвета округлой формы с ровными краями, плотной консистенции размером от 1 до 5 мм.

Нами были проведены исследования по определению специфичности разработанных питательных сред. Для данных целей были взяты штаммы следующих видов бактерий: *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas putida*, *Proteus mirabilis*, *Yersinia pseudotuberculosis*, *Yersinia enterocolitica*, *Bordetella bronchiseptica*, *Bacillus cereus*, *Klebsiella pneumonia*, *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas sobria*, *Aeromonas caviae*, *Aeromonas salmonicida*, которые засевали на среду накопления АН1-УГСХА и на плотную селективную среду АН2-УГСХА и культивировали при оптимальной для них температуре. Результаты определения специфичности разработанных питательных сред приведены в таблице.

Вывод: Разработанные нами среды – АН1-УГСХА и АН2-УГСХА обладают выраженными селективными и дифференциально-диагностическими свойствами и позволяют проводить выделение и индикацию аэромонад за 48–72 часа.

Специфичность разработанных селективных сред

Питательная среда	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	<i>Pseudomonas putida</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Yersinia pseudotuberculosis</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i>	<i>Bordetella bronchiseptica</i>	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Aeromonas hydrophila</i>	<i>Aeromonas sobria</i>	<i>Aeromonas caviae</i>	<i>Aeromonas salmonicida</i>
АН1-УГСХА	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
АН2-УГСХА	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
МПА (контроль)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Блинов А.И., Глушанова Н.А. Аэромонады: выделение, идентификация и дифференциация, учебно-методические рекомендации. – Новокузнецк, 1997
2. Методические указания по санитарно-бактериологической оценке рыбохозяйственных водоемов. Указание министерство Здравоохранения РФ. 27 сентября 1999 г. № 13-4-2/1742.
3. Определитель Берджи в 2-х томах. : Пер. с англ. /Под ред. Дж. Хоулта, Н. Крига, П. Снита, Дж. Стейли, С. Уилльямса. – М.: Мир, 1997. – 432 с.

УДК 616.316.5-002-053.2:616.8

**В.М. Лахтин, А.В. Алешкин, М.В. Лахтин, С.С. Афанасьев,
В.А. Алешкин**

Московский научно-исследовательский институт
имени Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора, г. Москва, Россия

ПЕРЕНОСЕНИЕ ЛЕКТИН-ГЛИКОКОНЬЮГАТНЫХ МАКРОПОДХОДОВ НА ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ СИСТЕМ «БАКТЕРИОФАГИ–МИКРОБЫ»

Бактериофаги (БФ), как гликоконъюгаты (ГК)-связывающие, сходны с лектинами (Л), макроформами Л и ГК. Мы полагаем, что системы «БФ—Бактерии» функционируют, подобно системам «Л—ГК», с вовлечением ферментативных активностей [1–4]. Принципы систем «Л—ГК» реализуются в системах «БФ—Условно патогенные микробы»:

- БФ – нанороботы с мобильными механически и химически взаимодействующими компартментами (сцепленная деградация/сшивки, аффинные сборки с включением/переключением активностей);
- вовлечение комплементарных мишеней клеточной поверхности, мембраны, цитозоля, органелл) в сборки БФ (активные ассиметричные,

латентные симметричные) с реализацией «а» (каскад временных неустойчивых БФ);

- множественность и разнообразие событий биоузнавания (ранжирование биоузнавания как вариантов БФ—Мишени со стороны партнеров с реализацией «б»; межпаттерновое узнавание);

- достаточная неопределенность/определенность БФ (множественность частиц и активностей БФ; популяции БФ с массивированной и каскадной атаками мишеней путем, сорбцией/десорбцией, делегализацией БФ и их элементов в рамках общего мозаичного ландшафта БФ).

Предложенные первые принципы позволяют описать новые феномены и механизмы антимикробного действия БФ, конструировать системные препараты БФ для биоконтроля, профилактики и терапии.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Lakhtin V., Lakhtin M., Alyoshkin V. Lectins of living organisms. The overview // Anaerobe. – 2011. - V. 17; No 6. – P.452-455, doi: 10.1016/j.anaerobe.2011.06.004.
2. Lakhtin M., Lakhtin V., Alyoshkin V., Afanasyev S. Lectins of beneficial microbes: system organization, functioning and functional superfamily // Beneficial Microbes. - 2011. – V. 2(2). – P. 155 – 165. DOI: 10.3920/BM2010.0014.
3. Lakhtin M., Lakhtin V., Aleshkin A., Bajrakova A., Afanasiev S., Aleshkin V. Lectin systems imitating probiotics: potential for biotechnology and medical microbiology // In: “Probiotics”, ed. Rigobelo E.C. – InTech, 2012. – P. 417-432; www.intechopen.com; <http://dx.doi.org/10.5772/3444>. ISBN 978-953-51-0776-7.
4. Лахтин М.В., Лахтин В.М., Алешкин В.А., Афанасьев С.С., Алешкин А.В. Лектины и ферменты в биологии и медицине. - М.: Издательство «Династия», 2010. – 496 с. ISBN 978-5-98125-076-7.

УДК 339.13.012

Е.С. Малинов, А.Г.Шестаков, Д.А. Васильев

Ульяновская государственная сельскохозяйственная академия
имени П.А. Столыпина, г. Ульяновск, Россия

БАКТЕРИАЛЬНЫЕ БИОПЛЕНКИ И МЕТОДЫ ИХ ПОЛУЧЕНИЯ

Образование биопленок – это сложный комплексный динамический процесс, состоящий из нескольких этапов: адгезии клеток на поверхности и перераспределения клеточной массы; активного деления клеток для создания клеточных кластеров; образования экзополимерного слизистого матрикса (Расе, 2006).

Проблема повышенной резистентности бактерий в биопленках к действию антимикробных препаратов заключается в нескольких аспектах:

- диффузионный барьер;
- способность бактерий накапливать в матриксе внеклеточные ферменты, разрушающие антибиотики;

- агрегационная природа биопленок, связанная с уменьшением площади открытой поверхности клеток – физическая недоступность молекул;
- и, собственно, резистентный фенотип клеток (Hoibya, 2010; Jian, 2002; Lewis, 2001).

Для нас представляют интерес биопленки, образованные представителями вида *Pseudomonas aeruginosa*, так как отмечена высокая резистентность бактерии данного вида к антибиотикам и антимикробным веществам (Nikaido, 1978; Илюхин, 1985).

Образование биопленок штаммами *Pseudomonas aeruginosa* (Пронина Е.А. и др.) изучали с помощью определения способности к адгезии на поверхности 96-луночного полистеролового планшета (Штейн, 1989).

В наших опытах для образования биопленок использовали способность бактерий *Pseudomonas aeruginosa* утилизировать сукцинат натрия в присутствии аргинина. Указанная соль янтарной кислоты, является источником углерода для клеток *Pseudomonas aeruginosa*.

В качестве источника азота, необходимого для продукции ферментов и белков, а также для анаэробного роста был выбран L-аргинин. Фермент аргининдегидролаза продуцируется вирулентными микроорганизмами и является одним из факторов патогенности. Соли KH_2PO_4 , K_2HPO_4 , MgSO_4 , NaCl обеспечивают биохимические процессы и стабилизируют осмотическое давление в клетках *Pseudomonas aeruginosa*. В качестве ингибитора посторонней микрофлоры был выбран фурадонин, в концентрации 150 мг/л. Все компоненты среды, кроме аргинина и фурадонина смешивались в 1 л дистиллированной воды, автоклавировались при 1,1 атм 121 °С в течение 15 мин. Затем в остывшую до 45 °С вносились навески аргинина и фурадонина. Концентрация сукцината натрия в среде, по результатам исследований, составила 20г/л, она позволяет выявить бактериальные клетки *Pseudomonas aeruginosa* в количестве 10 м.к./мл. рН готовой среды 7,0 (Шестаков, 2010).

При культивировании *Pseudomonas aeruginosa* на этой среде в течение 24, 48 и 96 часов наблюдался рост поверхностной пленки с усиленной адгезией к стеклу и увеличение вязкости среды, что говорит о формировании биопленочного матрикса.

Указанную среду можно использовать в качестве модели формирования биопленок, т.к. возможна визуальная оценка роста биопленки, возможность изучения различных воздействий на биопленку, кроме того метод менее дорогостоящ и более прост в исполнении в сравнении с существующими аналогами.

Дальнейшей перспективой наших научных исследований является разработка схем учета различных стадий образования биопленок *Pseudomonas aeruginosa in vitro* и методов их деструкции.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Biofilms, Infection, and Antimicrobial Therapy / ed. J.L. Pace, [et. al.]. – Boca Raton: Taylor & Francis Group, 2006. – 495 p.

2. Hoibya N. Antibiotic resistance of bacterial biofilms / Niels Hoibya, [et. al.] // Int. J. of Antimic. Agents. – 2010. – №35. – P. 322–332.
3. Jian L. Bacterial Resistance to Antimicrobials: Mechanisms, Genetics, Medical Practice and Public Health / L. Jian, [et. al.] // Biot. Let. – 2002. – Vol.24, №10. – P. 801–805.
4. Lewis K. Riddle of Biofilm Resistance / K. Lewis // J. Antimicrob. Chemother. – 2001. – Vol. 45, № 4. – P. 999–1007.
5. Отбор микроорганизмов, синтезирующих щелочную липазу / И.В. Штейн [и др.] // Биотехнология. – 1989. – Т. 5. – № 2. – С. 133–136.
6. Пронина Е.А., Швиденко И.Г., Шуб Г.М. Формирование бактериальных биопленок под воздействием электромагнитного излучения // Фундаментальные исследования. – 2010. – № 10. – С. 42.
7. Шестаков А.Г. Разработка бактериологической схемы выделения, идентификации и индикации бактерий *Pseudomonas aeruginosa* / Автореф. дис. канд. биол. наук. – Ульяновск. – 2010. – С. 10–11.
8. Nikaido, H. Outer membranes of gram-negative bacteria. XIX. Isolation from *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 and use in reconstitution and definition of the permeability barrier / H. Nikaido, R.E. Hancock // J. Bacteriol. – 1978. – V. 136, №1. – P. 381–390.
9. Илюхин В.И. Псевдомонадные инфекции в патологии человека. // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 1985. – № 2. – С. 110–114.

УДК 339.13.012

Е.С. Малинов, А.Г.Шестаков, Д.А. Васильев

Ульяновская государственная сельскохозяйственная академия
имени П.А. Столыпина, г. Ульяновск

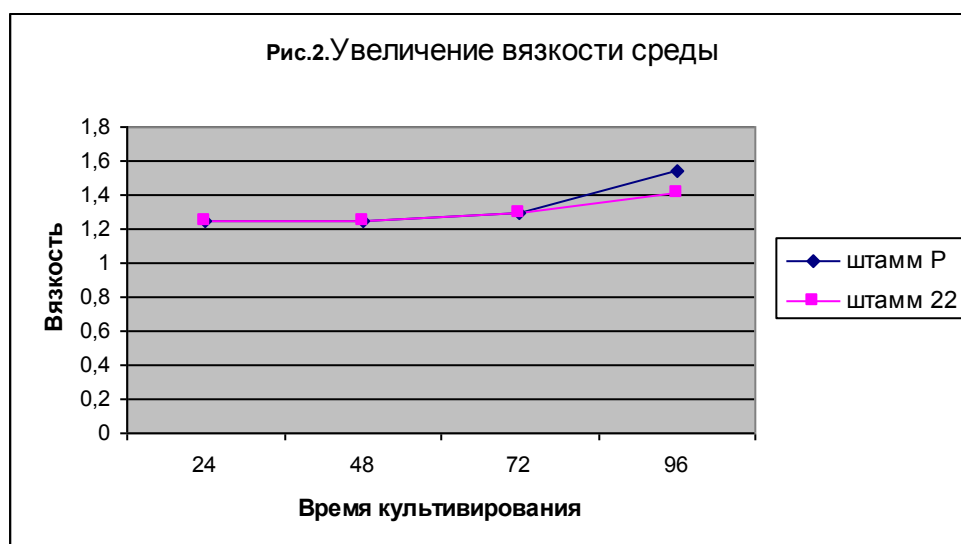
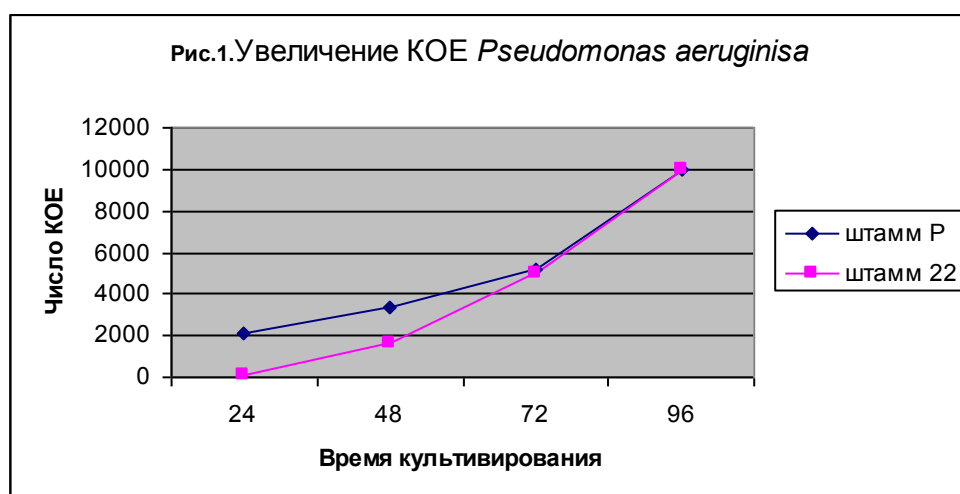
КОРРЕЛЯЦИЯ ВЯЗКОСТИ И КОЕ ОБРАЗОВАННЫХ БИОПЛЕНКАМИ *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*

Биопленка – микробное сообщество, характеризующееся клетками, которые прикреплены к поверхности или друг к другу, заключены в матрикс синтезированных ими внеклеточных полимерных веществ и демонстрируют изменение фенотипа, выражающееся в изменении параметров роста и экспрессии специфичных генов [1, 2]. Применение лазерной конфокальной микроскопии, сканирующей электронной микроскопии, позволило установить, что биопленки имеют сложную трехмерную структурную организацию. После необратимой адгезии популяция микроорганизма начинает интенсивно пролиферировать с образованием многоклеточных слоев и обильно синтезировать компоненты экзополимерного матрикса, это один из ключевых моментов образования биопленок [3]. В химическом отношении матрикс неоднороден и различается у разных таксонов [4, 5, 6, 7]. В целом же экстрацеллюлярный слой содержит полисахариды, эта фракция наиболее выражена и составляет порядка 40–95 % [8]. *P.aeruginosa* в биопленках обильно синтезирует свой полисахарид альгинат (кодирующий генный кластер – *algACD*), штаммы со сверхэкспрессией гена *algA* обычно образуют слизистые колонии с выраженными свойствами вирулентности [9].

Альгинат химически связывает аминогликозиды за счет инактивации гидрофильных и положительно заряженных групп в молекуле [6, 7]. Матрикс биопленки способен препятствовать скорости диффузии некоторых антибиотиков и других биоцидных препаратов, это зависит от его биохимического состава и метаболической активности популяции.

При исследовании корреляции вязкости и КОЕ использовалось два штамма бактерии *Pseudomonas aeruginosa* (Р, 22), которые культивировали на авторской среде с сукцинатом натрия (далее жидкая среда накопления для идентификации биопленок).

Приготовленную суточную культуру указанных выше штаммов вносили в жидкую среду накопления для идентификации биопленок, которая была разлита в три колбы по 500 мл, каждый штамм вносили в свою колбу. Далее все помещали в термостат при 37 °С. Сбор результатов осуществляли через 24, 48, 72, 96 часов культивирования. Определение вязкости проводили вискозиметром ВПЖ-2 размер капилляра 1,31 мм. Определение КОЕ осуществляли десятикратным разведением полученной культуры в физиологическом растворе с последующим посевом на сухой питательный агар 1 % из пятого и шестого разведения. Результаты исследования показаны на рисунке 1 и рисунке 2.



Как видно из выше указанных графиков в процессе культивирования в жидкой среде накопления для идентификации биопленок количество клеток бактерии *Pseudomonas aeruginosa* и вязкость среды увеличивается.

Выводы. Увеличение количества клеток биопленки *Pseudomonas aeruginosa* увеличивает вязкость среды за счет выделения альгинатов, что может быть использовано как один из показателей выявления биопленки *Pseudomonas aeruginosa in vitro*.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Кузнецов О.Ю. Бактериальная колония как сложное организованное сообщество клеток // Журнал микробиология. – 2005. – № 2. – С. 3–7.
2. Смирнова, Н.И. Эволюция геномов патогенных холерных вибрионов / Н.И. Смирнова, В. В. Кутырев // Молекулярная генетика. – 2004. – № 4. – С. 3–10.
3. Manos J. Transcriptome analyses and biofilm-forming characteristics of a clonal *Pseudomonas aeruginosa* from the cystic fibrosis lung / J. Manos, [et. al.] // J. of Med. Microb.-2008. – №57. – P.1454–1465.
4. Biofilms, Infection, and Antimicrobial Therapy / ed. J.L. Pace, [et. al.]. – Boca Raton: Taylor & Francis Group, 2006. – 495 p.
5. Mohamed J.A. Biofilm formation by enterococci / J.A. Mohamed, D.B. Huang // J. of Med. Microb. – 2007. – №56. – P.1581–1588.
6. Moons P. Bacterial interactions in biofilms / P. Moons, [et. al.] // Crit. Rev. Microbiol. – 2009. – Vol. 35, №3. – P. 157–168.
7. Xavier J. B. Biofilm-control strategies based on enzymic disruption of the extracellular polymeric substance matrix – a modelling study / J.B. Xavier, [et. al.] // Microbiology. – 2005. – № 151. – P. 3817–3832.
8. Qiu D. ClpXP proteases positively regulate alginate overexpression and mucoid conversion in *Pseudomonas aeruginosa* / D. Qiu, [et. al.] // Microbiology. – 2008. – №154. – P. 2119–2130.
9. Oglesby L. L. Membrane topology and roles of *Pseudomonas aeruginosa* Alg8 and Alg44 in alginate polymerization / Lashanda L. Oglesby, [et. al.] // Microbiology. – 2008. – № 154. – P. 1605–1615.

УДК 579: 616.992.282: 57. 063.8

Т.А. Проценко, Л.С. Назарова

Саратовский государственный аграрный университет
имени Н.И. Вавилова, г. Саратов, Россия

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ НЕКОТОРЫХ БИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ МУЗЕЙНОГО ШТАММА И КЛИНИЧЕСКИХ ИЗОЛЯТОВ *CANDIDA ALBICANS*

В предыдущей работе нами было установлено, что клинические изоляты *C. albicans* способны образовывать биопленку на пластиковой поверхности, состоящую из жизнеспособных дрожжевых клеток, гифальных форм и органического матрикса, включающего в основном кислые мукопо-

лисахариды и небольшое количество других органических молекул – белков, ДНК и РНК (Проценко, Назарова, 2011).

Целью настоящей работы было исследование биологических свойств музейного штамма *C. albicans* в сравнении с клиническими изолятами кандид этого вида.

Исследовали музейный штамм *C. albicans* 130 и 5 клинических изолятов *C. albicans* 2, 6, 8, 11 и 23. У всех штаммов моделировали биопленку согласно разработанной методике (Проценко, Назарова 2011). Изучали биохимические свойства – ферментацию сахаров (сахарозы и мальтозы) исходных штаммов и клеток, находящихся в жидкой питательной среде после инкубации на полистироловых чашках в течение 2 суток с добавлением нанопорошков (Zn, Cu и Si), нистатином и флуконазолом и без них. Параллельно исследовали чувствительность этих клеток к антибиотикам диско – диффузионным методом (Проценко, Назарова 2012).

В результате проведенных исследований установлено, что все клинические изоляты *C. albicans* образовывали биопленку, а музейный штамм этим свойством не обладал, поскольку через 2 суток на полистироловой поверхности были обнаружены только единичные гифы и дрожжевые клетки. Полисахариды и другие вещества матрикса практически отсутствовали.

Ферментативная активность дрожжевых клеток, присутствующих в надосадочной жидкости (планктонных клеток) у клинических изолятов была ниже, чем у исходных вариантов, а у музейного штамма *C. albicans* 130 не изменялась.

При определении чувствительности этих клеток к антибиотикам установлено, что у музейного штамма *C. albicans* 130, выращенного на чашках куда вносили нанопорошки Zn, Cu, Si и флуконазол, клетки, находящиеся в питательной среде, после определения их чувствительности к антибиотикам диско-диффузионным методом, имели зоны отсутствия роста только вокруг дисков с нистатином ($d = 17 \pm 3$ мм), а выращенные на чашках с нистатином были резистентны к этому и другим антибиотикам, взятым в опыт. Совместная инкубация клинических изолятов кандид со всеми препаратами, как и в контроле привела к снижению чувствительности к антибиотикам у планктонных клеток, за некоторым исключением.

У планктонных клеток клинических изолятов *C. albicans* зоны отсутствия роста при наложении дисков с нистатином составляли 12 ± 1 мм после инкубации с флуконазолом, а с нанопорошками кремния, цинка -15 ± 2 мм. Однако инкубация с нанопорошком Cu у *C. albicans* 23 приводила к значительной чувствительности планктонных клеток к нистатину и появлению чувствительности к клотримазолу, в обоих случаях $d = 20 \pm 2$ мм. У всех других штаммов инкубированных с медью зоны отсутствия роста были 10 ± 1 мм.

Таким образом, установлено, что у музейного штамма *C. albicans* 130, в отличие от клинических изолятов, не было массовой адгезии клеток на полистироловую поверхность, а они находились в основном в надосадочной жидкости. При этом у этих кандид не изменялась как у планктонных клеток клинических изолятов, ферментативная активность, и была выше чув-

ствительность к нистатину при внесении в питательную среду всех изученных препаратов, за исключением совместной инкубации с нистатином, к которому они оказались нечувствительными. Это свойство также отличает музейный штамм *C. albicans* 130 от клинических изолятов.

УДК 637.13

Т.С. Ситникова¹, Я.Б. Древко¹, А.М. Буров², Б.И. Древко¹

¹Саратовский государственный аграрный университет имени Н.И. Вавилова, г. Саратов, Россия

²Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН, г. Саратов, Россия

ОБРАЗОВАНИЕ НАНО- И МИКРОЧАСТИЦ СЕЛЕНА ИЗ ПРЕПАРАТА ДАФС-25 В ПРИСУТСТВИИ КУЛЬТУРЫ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* В ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЕ RPMI-1640

Известно, что ветеринарный препарат ДАФС-25 (диацетофенилселенид) может применяться не только для восполнения дефицита селена в организме человека и животных, но и как добавка к различным продуктам питания, часто включающим в свой состав микроорганизмы [1, 2]. Однако исследования о продуктах взаимодействия препарата ДАФС-25 с микроорганизмами изучены недостаточно, что может привести к тяжелым последствиям, так как продукты биотехнологической переработки препарата могут обладать высокой токсичностью. Поэтому в качестве объекта исследования нами были выбраны препарат ДАФС-25 и *Saccharomyces cerevisiae*, которые культивировались в питательной среде RPMI-1640 для установления продуктов взаимодействия данного соединения с модельными микроорганизмами.

Для исследований брали 100 мл RPMI-1640 и при интенсивном перемешивании добавляли 1 мл спиртового раствора ДАФС-25 в концентрации 16 мг/мл и 5 г *Saccharomyces cerevisiae*. Через 30 мин. проводили экстракцию 50 мл бензола. Бензольные вытяжки сушили 2 часа над безводным сульфатом натрия.

Методом ГХ/МС (анализ проводился приборе HP5890/5972: $T_{\text{инж}} = 200\text{ }^{\circ}\text{C}$; $t_{\text{нач}} = 3\text{ мин}$; $T_{\text{нач}} = 50\text{ }^{\circ}\text{C}$; $T_{\text{кон}} = 280\text{ }^{\circ}\text{C}$; $\Delta T = 10\text{ }^{\circ}\text{C/мин}$; газ-носитель гелий, $v = 1\text{ мл/мин}$, капиллярная колонка HP-5MS) установлено образование ацетофенона, который отсутствовал при анализе данной среды с *Saccharomyces cerevisiae* в отсутствии препарата ДАФС-25, что позволяет сделать вывод о образовании в результате биотехнологического восстановления препарата.

Методом ВЭЖХ с УФ детектором установлено, что через 30 мин. концентрация ДАФС-25 понизилась до 13 % от первоначальной.

При исследовании бензольных вытяжек на просвечивающем электронном микроскопе Zeiss марки Libra 120, установлено образование nano (рис. 1) и микрочастиц (рис. 2), содержащих селен.

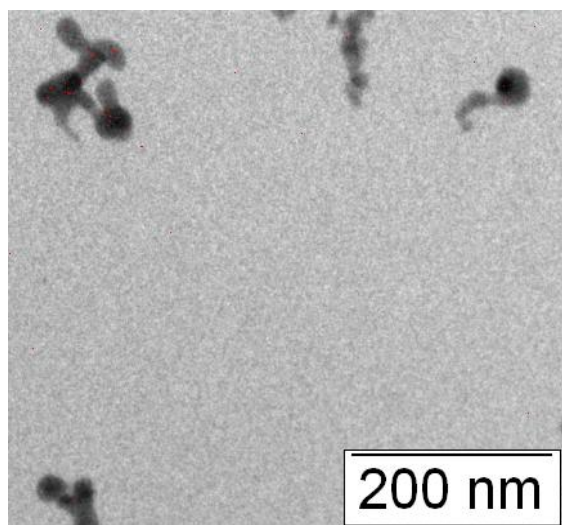


Рис. 1. Нано частицы селена.

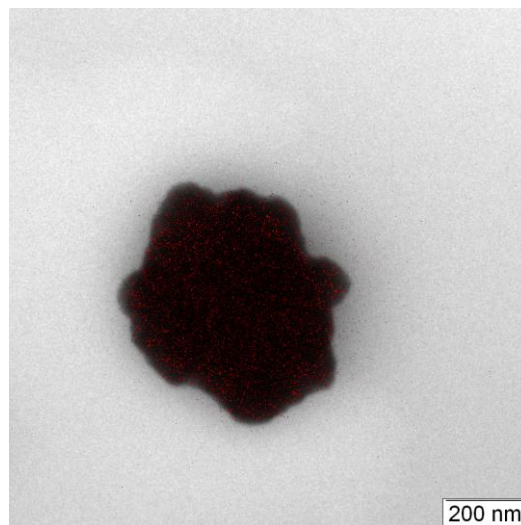


Рис. 2. Микрочастицы селена

Установлено, что препарат ДАФС-25 под воздействием *Saccharomyces cerevisiae* в среде RPMI-1640 преобразуется в наночастицы размером 15-50 нм, и микрочастицы размером до 500 нм и ацетофенон.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Пат. № 2051681 РФ. Средство для лечения и профилактики болезней вызываемых недостаточностью селена. / Древко Б.И., Антипов В.А., Жуков О.И. и др. / Оpubл. Б.И. 1996, № 1.
2. Пат. № 2171110 РФ. Средство для лечения и профилактики инфекционных заболеваний и отравлений. / Древко Б.И., Древко Р.И., Антипов В.А. и др. / Оpubл. Б.И. 2001, № 21.

УДК 339.13.012

Е.Ф. Соболева, Л.П. Антонюк

Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН,
г. Саратов, Россия

БЕЛКИ КЛЕТОЧНОЙ ПОВЕРХНОСТИ МИКРОСИМБИОНТА ПШЕНИЦЫ *AZOSPIRILLUM BRASILENSE* SP245

Урожай возделываемых культур во многом зависит от микробного состава ризоценоза, т.к. ризобактерии способны продуцировать для растения-хозяина фитогормоны и другие, биологически активные вещества, улучшать его азотное питание за счет азотфиксации, повышать стрессоустойчивость расте-

ний и защищать их от патогенов. Выяснение закономерностей формирования эффективных ризосимбиозов – важная задача для разработки биотехнологий, основанных на использовании рост-стимулирующих ризобактерий.

При изучении молекулярных взаимодействий пшеницы и ее природного эндофита *Azospirillum brasilense* Sp245 было установлено, что агглютинин зародышей пшеницы (АЗП) – лектин, экскретируемый корнями в места скопления азоспирилл, изменяет метаболизм этой бактерии, стимулируя те бактериальные процессы, которые важны для рост-стимулирующего действия микросимбионта [1]. АЗП рецептируется на поверхности клетки и индуцирует плеiotропный ответ бактерии на лектиновый сигнал, усиливая, в том числе продукцию фитогормона ИУК, азотфиксацию и изменяя клеточную поверхность (возрастает гемагглютинирующая и индуцируется гемолитическая активность клеток). В задачи данной работы входило выделение двух поверхностных белков *A. brasilense* Sp245 – АЗП-связывающего (глико)протеина и гемагглютинина с молекулярной массой 42 кД, а также определение специфичности последнего.

Клетки *A. brasilense* Sp245 выращивали в жидкой культуре на малатно-солевой среде в течение 18 часов. Схема выделения и очистки включала: экстракцию поверхностных полимеров по методу Эшдата, фракционирование сульфатом аммония (45 %) и хроматографию на колонке DEAE-Toyopearl 650M (Toyo Soda, Japan) [2]. Для элюции полимеров использовали фосфатно-солевой буфер (ФСБ, pH 7,2) и 0,1 N CH₃COOH (pH 3,8). Выход белковых фракций регистрировали на приборе Uvicord SII (LKB, Sweden) при 278 нм. Элюированные с колонки белки тестировали в реакции гемагглютинации с нативными и трипсинизированными эритроцитами кролика [2] и методом дот-анализа. При дот-анализе 1,5 мкл образца наносили на нитроцеллюлозную мембрану (Schleicher & Schuell); блокировка свободных сайтов была проведена с использованием 0,05 % полиэтиленгликоля 20000. В качестве метки использовали АЗП, конъюгированный с коллоидным золотом или с пероксидазой хрена (Sigma).

Хроматограмма содержала 4 хорошо разрешенных пика. Белковая фракция, проявляющая АЗП-связывающую активность, обнаруживалась во 2-м пике (она элюировалась при использовании ФСБ). При смене элюента на 0,1 N CH₃COOH с колонки смывалась фракция, содержащая гемагглютинирующую активность (соответствовала 4-му пику хроматограммы). Для оценки степени очистки выделяемых полимеров полученные в ходе хроматографии препараты анализировали в денатурирующем электрофорезе. Препарат гемагглютинина был электрофоретически гомогенным и представлял собой термоустойчивый гликопротеин с молекулярной массой около 42 кДа. Анализ углеводов-связывающей специфичности гемагглютинина показал, что он, как и АЗП, обладает высоким сродством к N-ацетил-D-глюкозамину. Электрофорез выявлял во фракции с АЗП-связывающей активностью ряд полипептидных полос, т.е. препарат содержал балластные белки и нуждался в дальнейшей очистке.

Таким образом, разработана схема очистки, позволяющая выделять сразу два поверхностных белка *A. brasilense* Sp245. Разработанная схема позволяет получить полностью очищенный, т.е. электрофоретически гомогенный лектин азоспириллы и частично очищенный (глико)протеин, связывающий АЗП с высокой аффинностью.

В более ранних экспериментах [2] установлено, что клетки *A. brasilense* Sp245, спустя несколько часов после взаимодействия с АЗП, имеют в 4–8 раз более высокую гемагглютинирующую активность, чем клетки контрольной культуры. Предполагается, что этот эффект АЗП обусловлен экспонированием на клеточной поверхности азоспириллы собственного 42-килодальтонного лектина. Тот факт, что лектин *A. brasilense* Sp245, аналогично АЗП, специфичен к N-ацетил-D-глюкозамину, позволяет также предположить, что в условиях симбиоза «пшеница–азоспирилла» бактериальный лектин может выполнять те же функции, что и растительный (АЗП). Известно, что лектин азоспириллы, подобно АЗП, экскретируется в окружающую среду [2]. С другой стороны, целым рядом исследователей подтверждено, что активность АЗП как молекулярного сигнала обусловлена его специфичностью к N-ацетил-D-глюкозамину и другие лектины с такой же специфичностью вызывают у азоспирилл, такие же эффекты, как и АЗП.

Ясное понимание механизма установления молекулярных основ взаимоотношений симбионтов, позволило бы лучше познать многообразие связей между организмами в азотфиксирующем симбиотическом микробно-растительном сообществе.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Антонюк Л.П., Игнатов В.В. О роли агглютинаина зародышей пшеницы в растительно–бактериальном взаимодействии: гипотеза и экспериментальные данные в ее поддержку // Физиология растений. – 2001. – Т. 48. – № 3. – С. 427–433.
2. Соболева Е.Ф., Антонюк Л.П., Остахина Н.В. Игнатов В.В. Изучение гемагглютинаина эндофитной бактерии *Azospirillum brasilense* Sp245. в связи с рецепцией лектина пшеницы на поверхности азоспириллы // Вопросы биологии и экологии, химии и методики обучения. – Саратов. – 2001. – Вып. 4. – С. 68–71.

УДК 577.113.083

К. А. Тимошенко, А.А. Красноштанова

Российский химико-технологический университет
имени Д.И. Менделеева, г. Москва, Россия

ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОЦЕССА ЭКСТРАЦИИ НУКЛЕИНОВЫХ КОМПОНЕНТОВ ИЗ БАКТЕРИАЛЬНОЙ БИОМАССЫ *METHYLOCOCCUS CAPSULATUS*

Одной из актуальных проблем современности является неблагоприятное действие факторов окружающей среды отрицательно влияющих на

иммунную систему и вызывающих иммунодефициты. Одним из основных способов поддержания нормального функционирования иммунной системы и восстановления иммунитета является применение иммуномодуляторов – природных и синтетических веществ, причем в настоящее время широкое применение нашли иммуномодуляторы на основе нуклеиновых кислот и их производных. Для получения иммуномодуляторов на основе производных нуклеиновых кислот в основном используются химически синтезированные нуклеиновые компоненты. Однако синтез нуклеиновых компонентов достаточно дорог и приводит к образованию побочных продуктов, что требует тщательной очистки препарата. Поэтому в настоящее время большое внимание уделяется разработке альтернативных путей получения нуклеиновых компонентов, например, из природного сырья – ДНК микроорганизмов и животных.

В данной работе было проведено сравнение эффективностей экстракции НК из нативной бактериальной биомассы *Methylococcus capsulatus* и биомассы, освобожденной от липидной фракции. На первом этапе было изучено влияние продолжительности процесса. Анализ полученных данных показал, что оптимальное время экстракции как для нативной, так и для биомассы, освобожденной от липидной фракции, составляет 4 ч, т. к. дальнейшее проведение процесса приводит к падению концентрации ДНК (рис 1). Для предотвращения деструкции ДНК необходимо сократить время процесса при сохранении высокой степени извлечения НК. Из литературы известно, что наличие в исходном экстрагенте ионов калия и кальция приводит к расширению пор в мембране клеток, что может способствовать увеличению скорости извлечения НК в раствор.

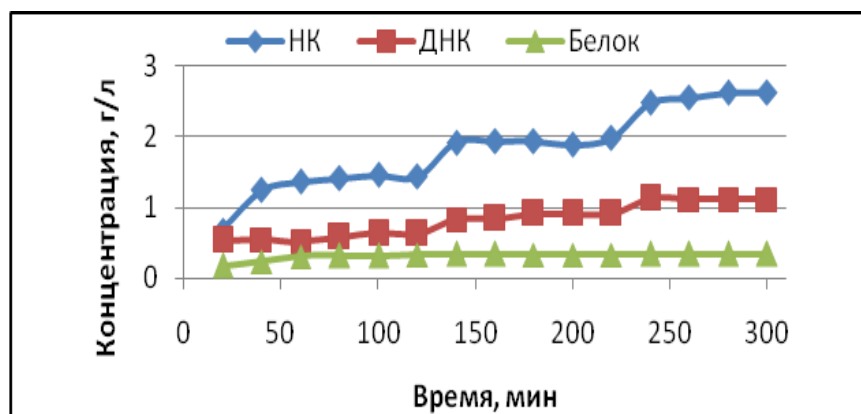


Рис. 1. Определения оптимального времени экстракции нуклеиновых компонентов из бактериальной биомассы *Methylococcus capsulatus*

Результаты исследования процесса экстракции НК в присутствии вышеупомянутых ионов представлены на рисунке 2, из которых видно, что наибольшее влияние оказывает присутствие в среде ионов калия, что позволяет сократить продолжительность экстракции до 3,5 часов для нативной биомассы и до 2,5 часов для освобожденной от липидной фракции.

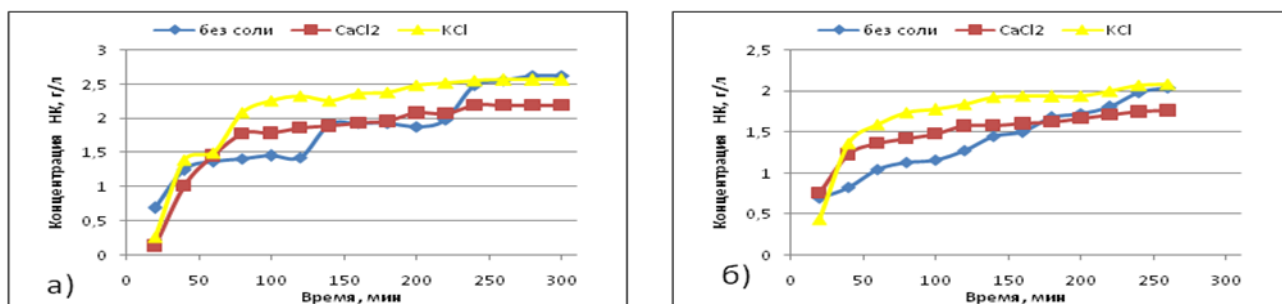


Рис. 2. Исследование влияния присутствия катионов кальция и калия на процесс экстракции нуклеиновых компонентов из биомассы *Methylococcus capsulatus* ; а) без предварительной подготовки и б) освобожденной от липидной фракции.

Далее было изучено влияние концентрации ионов калия на экстракцию нуклеиновых компонентов из бактериальной биомассы *Methylococcus capsulatus*, при этом анализировалась экстракция не только общих нуклеиновых компонентов, но и ДНК (см. рис. 3). Как видно из представленных данных оптимальной концентрацией соли является 3 г/л, т.к. дальнейшее увеличение содержания ионов калия приводит к снижению эффективности экстракции НК и ДНК. В результате проведенных исследований было также отмечено, что выделение из биомассы ДНК сопровождается экстракцией РНК. Для их разделения смеси ДНК и РНК был выбран метод ультрафильтрации, в результате после осаждения концентрата был получен осадок ДНК с примесью РНК 10%.

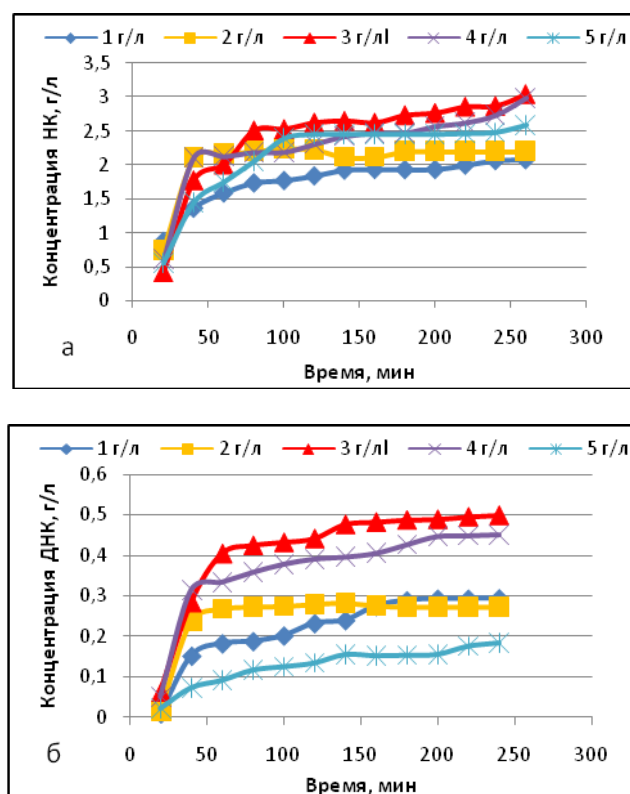


Рис. 3. Влияние концентрации ионов калия на экстракцию общих нуклеиновых компонентов (а) и ДНК (б) из биомассы *Methylococcus capsulatus*

С целью снижения содержания примесной РНК в препарате ДНК была оценена эффективность экстракции раствором двузамещенного фосфата аммония. Оптимальное время процесса как для нативной, так и для биомассы, освобожденной от липидов, составило 2,5 часа. При этом при последовательной ультрафильтрации селективность относительно ДНК заметно возросла. Таким образом, при проведении экстракции вторым методом был получен осадок ДНК, не содержащий РНК.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Мельников Д.Ю. Применение иммуноконъюгатов Дерината в химиотерапии онкологических больных // Использование препарата Деринат в различных областях медицины: Мат-лы 1-й Всерос. конф. – М., 2000. – С. 6–8.
2. Петров В.И., Онищенко Н.В., Ананьева О.Ю., Новиков М.С., Озеров А.А. Соотношение психотропных и антивирусных свойств в ряду производных 9-(2-феноксипропил)аденина. // Успехи современного естествознания. – 2004. – № 9. – С. 59–60.
3. Эллиот В., Эллиот Д. Биохимия и молекулярная биология. – М.: МАИК «Наука/Периодика», 2002. – С. 444.
4. Кнорре Д. Г., Мызина С. Д. Биологическая химия. – 3. – М.: Высшая школа, 2000. – 479 с.

УДК 602.3:579.8

Н.А. Феоктистова, А.И. Калдыркаев, А.В. Алешкин, Д.А. Васильев
Ульяновская государственная сельскохозяйственная академия
имени П.А. Столыпина, г. Ульяновск, Россия

ОСНОВНЫЕ БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ФАГОВ БАКТЕРИЙ *BACILLUS CEREUS*

К основным биологическим свойствам фагов *Bacillus cereus*, которые необходимо изучить для разработки технологических параметров изготовления и контроля фаговых биопрепаратов относятся следующие показатели: морфология негативных колоний, специфичность, спектр литического действия, литическая активность [3].

Цель и задачи исследования. Изучить основные биологические свойства бактериофагов *Bacillus cereus* (морфология негативных колоний, специфичность, спектр литического действия, литическая активность).

Результаты исследований и их обсуждение.

Морфологию негативных колоний мы изучали на плотных питательных средах для дифференциации их на умеренные и вирулентные, согласно классификации Ревенко [2]. Для проведения исследования мы высевали бактериофаги методом агаровых слоев [1]. Экспериментальным путем было установлено, что негативные колонии, образуемые 57 изолятами фагов *Bacillus cereus*, были неоднотипными – это прозрачные негативные коло-

нии округлой формы, 0,4–2,0 см в диаметре; полупрозрачные негативные колонии с зоной вторичного роста, округлой формы 0,6–1,8 см.

Важнейшей характеристикой фага, входящего в состав биопрепарата, является его специфичность в пределах вида. Изучение специфичности 57 выделенных изолятов бактериофагов *Bacillus cereus* мы проводили на культурах гомологичного рода: *Bacillus subtilis* – 35 штаммов, *Bacillus mycoides* – 15 штаммов, *Bacillus megaterium* – 14 штаммов, *Bacillus mesentericus* – 22 штамма, *Bacillus thuringiensis* – 4 штамма. Наиболее важной для нас характеристикой выделенных фагов была специфичность по отношению к штаммам *Bacillus cereus* и отсутствие способности лизировать культуры *Bacillus mycoides* и *Bacillus thuringiensis*, которые по биохимическим свойствам сходны с исследуемыми культурами. Эксперимент ставили, используя методику «стекающая капля» [2]. На чашках Петри, засеянных культурами *Bacillus subtilis*, *Bacillus mycoides*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus mesentericus*, *Bacillus thuringiensis*, зон лизиса при нанесении выделенных и селекционированных нами фагов *Bacillus cereus* на газон культур, обнаружено при визуальном осмотре не было. Полученные результаты свидетельствуют, что выделенные и селекционированные нами бактериофаги, строго специфичны в пределах вида *Bacillus cereus*.

Литическую активность выделенных бактериофагов оценивали по их способности вызывать лизис бактериальной культуры на плотной питательной среде методом агаровых слоев [1]. Для статистической обработки каждый эксперимент проводили тоекратно. Эталонные культуры бактерий *Bacillus cereus* выращивали на мясо-пептонном бульоне в течение 18 часов. Учет результатов проводили через 18 часов инкубирования посевов в термостате при 37 °С, используя формулу:

$$X = Y \times N, \quad [1]$$

где Y – количество негативных колоний фага, выросших на чашке Петри;
N – фактор разведения.

Результаты проведенных исследований, свидетельствуют о том, что выделенные бактериофаги *Bacillus cereus* обладали различной активностью. Ее показатели были выявлены в диапазоне от $2,0 \times 10^6 \pm 0,4 \times 10^6$ до $3,3 \times 10^9 \pm 0,5 \times 10^9$ корпускул в 1 мл фага.

Важной характеристикой выделенных фагов *Bacillus cereus* является диапазон их действия на штаммы бактерий в пределах вида. Для изучения спектра литического действия селекционированных фагов использовали 103 штаммов бактерий *Bacillus cereus*, выделенных нами из проб пищевого сырья и продуктов питания и 2 штамма, полученных из музея кафедры микробиологии, вирусологии, эпизоотологии и ВСЭ ФГБОУ ВПО «Ульяновская ГСХА им. П.А. Столыпина». Исследования проводили методом нанесения фага на газон бактериальной культуры методом «стекающая капля» [2]. Экспериментальным путем установлено, что изучаемые специфичные бактериофаги имеют различный диапазон действия по отношению к 105 изучаемым штаммам *Bacillus cereus*. Опыты демонстрируют, что выделенные нами бактериофаги в основной своей массе лизируют по одной

культуре, максимально по две культуры. Установлено, что фаги не обладают перекрестным лизисом. Была выделена группа культур, которые не лизировались селекционированными нами бактериофагами. Таким образом, встал вопрос о разработке схемы фаговаров бактерий *Bacillus cereus*, которую можно будет использовать для идентификации и мониторинга данного микроорганизма.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Гольдфарб Д.М. Бактериофагия. – М., Медгиз, 1961. – С. 14–17.
2. Васильев Д.А., Викторов Д.А., Богданов И.И. Выделение бактериофагов бактерий *Pseudomonas putida* и их селекция в целях создания биопрепарата для диагностики псевдомоноза рыб / Д.А. Викторов, // Естественные и технические науки. – 2011. – № 2 (52). – С. 79–82.
3. Русалеев В.С. Фагочувствительность аэробных спорообразующих бактерий // Ветеринария. – 1990. – № 8. – С. 29–30.

УДК 579.22

**Д.В. Хрящевская¹, Е.Н. Бухарова¹, И.В. Суровцова²,
Г.Е. Рысмухамбетова¹, Л.В. Карпунина¹**

¹Саратовский государственный аграрный университет
имени Н.И. Вавилова, г. Саратов, Россия

²ООО «Научно-инновационная компания «ВИКДОГ», г. Саратов, Россия

ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ ЭКЗОПОЛИСАХАРИДА *LACTOBACILLUS DELBRUECKII* SSP. *BULGARICUS* И ПЕРСПЕКТИВЫ ЕГО ПРАКТИЧЕСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ

Среди молочнокислых бактерий значительная роль принадлежит бактериям *Lactobacillus bulgaricus*. В организме человека они стимулируют развитие других пробиотических бактерий (*Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus lactis*, *Bifidobacterium* и др.) и замедляют развитие патогенных бактерий путем конкурентных взаимоотношений [1]. Изучение экзополисахаридов (ЭПС), выделяемых клетками *Lactobacillus bulgaricus* во внешнюю среду, имеет большое научное и практическое значение.

Целью настоящей работы явилось изучение действия экзополисахарида, продуцируемого *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus* на организм лабораторных мышей и оценка перспектив практического применения этого биополимера. Получение и характеристика ЭПС *L. delbrueckii ssp. bulgaricus* были описаны нами ранее [2]. ЭПС вводили в организм лабораторных мышей перорально (однократно и двукратно) в количестве 0,7 и 4 г вещества на 1 кг массы тела.

В процессе исследований было показано, что поведение животных после введения бактериальных ЭПС не изменялось и оставалось в пределах физио-

логической нормы. При введении в организм мышей ЭПС в дозе 0,7 г/кг однократно у подопытных животных сохранялась двигательная активность, через 30-35 минут животные принимали пищу. При введении данной дозы двукратно с промежутком в 46 часов животные проявляли большую двигательную активность по сравнению с животными, получавшими дозу однократно. При увеличении дозы до 4 г/кг двигательная активность появлялась гораздо раньше, уже через 5–10 минут с момента введения ЭПС; животные приступали к приему пищи через 20–25 минут. Изменение массы тела опытных животных в процессе эксперимента соответствовало изменению массы тела в контрольной группе.

По окончании эксперимента (через 5 суток) проводили вскрытие мышей по общепринятой методике [3]. После вскрытия проводили визуальную оценку морфологии внутренних органов и микробиологический анализ кишечного содержимого по методике [4].

Исследования показали, что введение ЭПС в организм мышей не приводило к изменениям со стороны внутренних органов.

Результаты микробиологического анализа кишечного содержимого мышей представлены в таблице. Полученные данные свидетельствуют о том, что разные дозы ЭПС оказывали различное влияние на состояние кишечного содержимого животного.

Микробиологический анализ кишечного содержимого мышей

ЭПС, г/кг	Общее микробное число	Количество молочнокислых бактерий
0,7	$6 \cdot 10^{11}$	$5 \cdot 10^{10}$
4,00	$1 \cdot 10^{12}$	$2 \cdot 10^{10}$
Контроль	$7 \cdot 10^{11}$	$2 \cdot 10^9$

Так, из приведенных в таблице данных видно, что при введении мышам ЭПС в дозе 0,7 г/кг общее микробное число не изменилось по сравнению с контрольным; количество молочнокислых бактерий возросло в 25 раз. При введении ЭПС в дозе 4 г/кг общее микробное число в кишечнике мышей возросло в 1,6 раз, а количество молочнокислых бактерий увеличивалось в 10 раз.

Таким образом, обе дозы приводили к значительному увеличению количества молочнокислых бактерий, что позволяет рассматривать ЭПС *L. delbrueckii ssp. bulgaricus* в качестве возможного пребиотического средства. Причем, невысокая вязкость раствора ЭПС в изучаемых концентрациях, как было показано нами ранее [2], не требует столь тщательного соблюдения дозы, которое требуется при использовании высоковязких ЭПС (например, ксантанов).

На международном уровне молочнокислым бактериям, которые используются *in situ*, присвоен статус безопасности – GRAS, что подтверждает возможность применения этих микроорганизмов в производстве безопасных продуктов питания [5]. Ранее нами была показана целесообразность

применения ЭПС лактобацилл в производстве изделий из дрожжевого сдобного теста из муки со слабой клейковиной для повышения их качества и сохранности изделия [6]. ЭПС *L. delbrueckii ssp. bulgaricus* оказывал положительное влияние на органолептические качества булочных изделий, на структурно-механические и физико-химические показатели, что позволяет рекомендовать его в хлебопекарное производство в качестве улучшителя.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Яковенко Э.П. Инновационные пробиотики – ключ к управлению функциями нормальной кишечной микрофлоры // Лечащий врач. – 2012. – № 7. – С. 20–25.
2. Полукаров Е.В. Экзополисахариды молочнокислых бактерий и их функциональная значимость в организме животных: автореф. дисс. ... канд. биол. наук.– Саратов, 2009. – 21 с.
3. Меркулов Г.А. Курс патологистологической техники. – Л.: Медгиз., 1956. – 263 с.
4. Зыкин Л.Ф., Хапцев З.Ю., Спирихина Т.В. Современные методы в ветеринарной микробиологии. – М.: КолосС, 2011. – 109 с.
5. Рожкова Т.В. Биотехнология стартовых культур на основе молочнокислых бактерий, синтезирующих полисахариды: дисс. ... канд. техн. наук. – М., 2006 – 159 с.
6. Бухарова Е.Н., Рысмухамбетова Г.Е., Полукаров Е.В., Карпунина Л.В. Применение бактериальных экзополисахаридов при производстве продуктов питания // Биотехнология: состояние и перспективы развития: Материалы Четвертого Московского международного конгресса. Москва, 12–16 марта 2007. – С. 158.



УДК 664.6:637.146.4

С.Н. Буришина, А.Д. Иргалиева

Саратовский государственный аграрный университет
имени Н.И. Вавилова, г. Саратов, Россия

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ КОЛЛАГЕНА В ПРОИЗВОДСТВЕ ХЛЕБОБУЛОЧНЫХ ИЗДЕЛИЙ

Основным белком соединительной ткани, представляющим интерес для пищевой промышленности, является коллаген. На его долю приходится от 25 до 33 % всех белков позвоночных. Он присутствует практически во всех тканях – коже, сухожилиях, хрящах, стенках сосудов и т.д. Интересным является аминокислотный состав коллагена – именно в нем находятся две нестандартные аминокислоты – оксипролин и оксилизин. Многие специалисты считают, что ряд заболеваний сердечно-сосудистой системы, костей, кожи связан именно с пониженным синтезом в организме оксипролина.

Однако широкое использование коллагенсодержащего сырья затрудняет фибриллярная структура белка, в связи с чем требуется его предварительный гидролиз. Поэтому весьма актуальной является разработка новых подходов в использовании коллагенсодержащего сырья в питание.

Целью нашей работы являлось изучение возможности использования коллагенсодержащего сырья в хлебопечении. Работа выполнена на базе кафедры «Биотехнология и химия» СГАУ им. Н.И.Вавилова.

В качестве коллагенсодержащего сырья использовали свиные шкурки, предварительно в лабораторных условиях получали гель коллагена. Основными этапами данной технологии являются обработка, промывка, гомогенизация исходного сырья. При данном способе из 1 кг шкурок мы получили 3 литра геля. Затем был проведен анализ белоксодержащего сырья. Гель коллагена представляет собой белую желеобразную консистенцию со специфическим запахом и вкусом. Что же касается протеина, то его концентрация в геле составила – $24,55 \pm 0,08$ %.

Далее проводили контрольную выпечку, органолептический и физико-химический анализ хлебобулочных изделий. Хлеб выпекали по рецептуре хлеба «Украинский». Нами были изготовлены четыре образца хлеба: первый образец являлся контрольным (без добавления белка), в опытных образцах была проведена частичная замена сырья (муки и воды) на гель коллагена, соответственно дополнительно в рецептуру вводили – 1,5; 5; 10 % белка. Гель коллагена вводили на стадии замеса теста.

Все полученные образцы хлеба с гелем коллагена имели правильную форму, цвет от коричневого до темно-коричневого. Образцы хлеба с 1,5 % белка практически не отличались по вкусу от контрольного образца, в то время как образцы с 5,0 и особенно с 10,0 % белка имели привкус вводимого белка. Введение белка повлияло на липкость и поверхность хлеба, с увеличением его концентрации мякиш становится более липким, а поверхность готовых изделий более ровной. Титруемая кислотность всех образцов хлеба колебалась в пределах $7,85 \pm 0,08$ – $9,25 \pm 0,02$ °Т, что соответствует требованиям ГОСТа на данный продукт. Пористость контрольного образца составила 52,15 %, достаточно высокой она была в образце с 1,5 % – 53,5 %, а в хлебе с 10,0 % заменой муки на белок пористость снизилась до 49,5 %. Следует отметить, что диаметр пор у контрольного образца и образца 1,5 % также был больше, чем у 5,0 и 10,0 %, последние, имели более уплотненную структуру.

Важной составной частью нашей работы было определение содержания протеина в готовой продукции. В контрольном образце содержание протеина было 6,1 %. У опытных образцов в зависимости от объема вводимого белка этот показатель составил 7,9 – 8,3 % – 14,5–12,5 %.

Итак, в результате лабораторных исследований было установлено, что введение коллагенсодержащего сырья в виде геля способствует протеинизации хлебобулочных изделий. Исходя из результатов органолептического и физико-химического анализа, наиболее оптимальной является 1,5 % замена муки на белок.

УДК 637.1

Е.Ю. Водолагина, Е.И. Решетник, Е.Ю. Осипенко

Дальневосточный государственный аграрный университет,
г. Благовещенск, Россия

ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ ДАЛЬНЕВОСТОЧНОГО РЕГИОНА В ПРОИЗВОДСТВЕ КИСЛОМОЛОЧНОГО ПРОДУКТА

Проблема сохранения здоровья населения России в настоящее время тесно связана с необходимостью производства на научной основе полноценных пищевых продуктов общего и специального назначения. Правительством РФ на период до 2020 г. принята Концепция развития молочного хозяйства, где особое внимание уделяется разработке и внедрению технологий продуктов питания, отличающихся высоким качеством, безопасностью на основе комплексного использования молочного сырья.

В нашей стране накоплен положительный опыт промышленной переработки молочной сыворотки. Сыворотку и ее ингредиенты используют при выработке различных продуктов питания. Однако молочная промышлен-

ность имеет существенные резервы сыворотки, что указывает на актуальность поиска новых способов ее переработки. Следует отметить, что по своему составу сыворотка может служить хорошей основой для получения продуктов питания, в том числе продуктов многофункционального назначения с регулируемым составом белков, витаминов, полиненасыщенных жирных кислот, минеральных веществ, пищевых волокон и других ценных компонентов пищи.

Перспективным в создании новых продуктов является направление по комбинированию молочного и растительного сырья. Это обеспечивает возможность взаимного обогащения получаемых продуктов незаменимыми веществами, а также позволяет регулировать их состав в соответствии с основными положениями теории сбалансированного питания.

С целью создания комбинированных продуктов и повышения их пищевой ценности целесообразно использовать разнообразное сырье растительного происхождения, в частности плоды груш.

Целью настоящей работы являлось исследование возможности использования плодов груш, выращенных на территории Амурской области для обогащения кисломолочного продукта.

В качестве растительного сырья были использованы плоды груш сортов «Память Госенченко», «Модница», «Соперница», выведенные в г. Благовещенске, агрономами Дальневосточного государственного аграрного университета Ф.И. Глинщиковой и Г.И. Госенченко, выращенные в Амурской области в период 2011–2012 гг. Это сырье отличается хорошими технологическими свойствами, содержит разнообразные биологически активные вещества (витамины, балластные углеводы, минеральные элементы). Кроме того, оно дешево, общедоступно, повсеместно произрастает на территории Амурской области и является значительным сырьевым резервом для пищевой промышленности.

В таблице приведены сведения по химическому составу плодов груш, выращенных в Дальневосточном регионе.

Содержание основных пищевых веществ в плодах груш

Наименование	Массовая доля, %		
	«Память Госенченко»	«Модница»	«Соперница»
Вода	75,81±11,02	73,33±13,39	72,64±12,40
Углеводы	11,20±2,44	10,60±1,02	10,20±1,04
Органические кислоты	0,8±0,38	0,60±0,13	0,8±0,32
Зола	0,65±0,13	0,70±0,15	0,59±0,12

Установлено, что углеводы занимают основную долю в сухих веществах растительного сырья. Они являются динамогенными поставщиками энергии, используемыми в организме в процессе мышечной деятельности, а также играют важную роль в синтезе нуклеиновых кислот, аминокислот, глюкотеидов, мукополисахаридов и других жизненно необходимых веществ.

Из органических кислот в растительном сырье обнаружены лимонная, яблочная, фолиевая. Фолиевой кислоты в грушах больше, чем в черной

смородине, а определенное сочетание сахаров, витаминов и минералов делает их более сладкими. Фруктозы в грушах мало, поэтому их рекомендуют употреблять больным сахарным диабетом и ожирением.

Учитывая актуальность проблемы комплексного использования сырьевых ресурсов молочной промышленности, в настоящей работе реализована возможность использования молочной сыворотки и растительного сырья для создания технологии новых видов сывороточно-растительных продуктов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Горбатова К.К. Биохимия молока и молочных продуктов. – СПб.: ГИОРД, 2004. – 218 с.
2. Зобкова З.С. Пищевые волокна // Молочная промышленность. – 2006. – № 5 – С. 42.
3. Петровский К.С., Ванханен В.Д. Гигиена питания. – М.: Медицина, 1982. – 528 с.
4. Просеков А.Ю., Разумникова И.С., Менх Г.В. Разработка технологии молочных продуктов на основе молочной сыворотки и растительного сырья // Молодежная наука – пищевой промышленности: Материалы II Международной научной конференции: СевКавГТУ. – 2011. – С. 149–151.

УДК 576

Г.С. Волкова, Е.В. Куксова

ГНУ ВНИИ пищевой биотехнологии Россельхозакадемии, г. Москва, Россия

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ БИОКОНСЕРВАНТОВ ОРГАНИЧЕСКОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ ДЛЯ ХРАНЕНИЯ ПЛОДООВОЩНОЙ ПРОДУКЦИИ

Удовлетворение потребностей населения в высококачественных продуктах растительного происхождения – одна из важнейших проблем современной науки и практики. В нашей стране вопросам решения этой проблемы уделяется особое внимание.

Предусмотрены меры по улучшению снабжения населения плодоовощной продукцией не только в результате дальнейшего увеличения производства и повышения их качества, а также резкого сокращения потерь продукции на пути следования от поля до потребителя. Для успешного выполнения этой задачи требуется на основе научных разработок и практических достижений совершенствовать и внедрить прогрессивные технологии обработки и хранения плодоовощной продукции.

Известно, что в основе всех практических мероприятий по хранению свежих плодов и овощей лежит управление физиолого-биохимическими процессами, происходящими в овощной продукции, для предотвращения серьезных изменений в составе содержащихся в них веществ, а также для их защиты от болезней и преждевременного прорастания.

Переход на индустриальную технологию производства плодоовощной продукции выдвигает все больше требований к мероприятиям по сокращению потерь продукции на всех этапах – от производства до ее реализации,

так как является огромным резервом увеличения продовольственного фонда и планомерного снабжения населения продуктами питания. Рациональное использование сырья и сокращение потерь обходится в 2–2,5, а в отдельном случае в 8–10 раз дешевле производства их эквивалентного объема.

С целью сохранения пищевой ценности сырья растительного происхождения в ГНУ ВНИИ пищевой биотехнологии проведена работа по созданию научно обоснованной технологии получения натуральных биоконсервантов, используемых при производстве замороженных фруктов, употребляемых непосредственно в пищу или при производстве продуктов питания без дополнительной тепловой обработки. Технология позволяет обеспечить длительное хранение плодоовощной продукции, сохраняет ее полезные свойства и сокращает необратимые изменения ценных веществ.

Натуральные биоконсерванты являются продуктами органического происхождения и представляют собой растворы, полученные после ферментации кислотообразующих бактерий, содержащие молочную, уксусную кислоты и биомассу бактерий. В частности, использовали раствор натурального спиртового уксуса, содержащий биомассу уксуснокислых бактерий и раствор молочной кислоты, содержащий молочнокислые бактерии. Благодаря наличию бактериоцинов, такие биоконсерванты обеспечивают антиокислительный, антисептический и пробиотический эффекты.

Характерными особенностями используемых натуральных биоконсервантов является их органическое происхождение, безвредность для организма человека, отсутствие резкого запаха и влияния на вкусовые качества обрабатываемого сырья, а также минимальное время воздействия для достижения защитного эффекта.

Для получения биоконсервантов были проведены ферментации с целью получения культуральных жидкостей, определены показатели, характеризующие их защитно-профилактические свойства, подготовлены образцы для оценки действия полученных консервантов на сроки хранения и качество различной плодоовощной продукции.

Исследовали различные варианты состава биоконсервантов с содержанием органических кислот 0,5–1,5 % и по наличию или отсутствию биомассы бактерий. Обработку плодоовощного сырья раствором биоконсервантов проводили после мойки сырья проточной водой путем погружения или разбрызгивания, с выдержкой, обеспечивающей достаточную эффективность обработки.

Предзакладочная обработка моркови растворами биоконсервантов и хранение при температуре 2–5 °С позволили сократить потери до 4–5 %. При этом достигается сохранность свежих корнеплодов без признаков микробиологической порчи до 10 месяцев.

Наилучшие результаты получены при использовании 1 %-ного водного раствора спиртового уксуса, содержащего *Lactobacillus plantarum* B-578/2 – продукт ферментации уксуснокислых бактерий и 1 %-ный водный раствор молочной кислоты, содержащего *Propionibacterium freudenreichii* subsp. *shermani* Ac-103/12 – продукт ферментации молочнокислых бактерий.

При анализе микробиологических показателей до и после обработки отмечено отсутствие в обработанных образцах плесеней, по сравнению с контролем и подтверждено соответствие требованиям СанПиН 2.3.2.1078.

Предлагаемый способ сохранения исследуемой плодоовощной продукции показал высокую эффективность для сохранения качества, а также удлинения сроков ее хранения. Он может быть востребован в условиях плодоовощных баз и предприятий, не имеющих морозильных мощностей промышленного объема. В свою очередь, применение натуральных биоконсервантов позволяет отказаться от синтетических и химических аналогов и исключить приемы жесткой термической обработки пищевых продуктов.

УДК: 665.944.2 (045)

Е.К. Гладышева, Е.В. Аверьянова, М.Н. Школьников

Бийский технологический институт (филиал) Алтайского государственного технического университета имени И.И. Ползунова, г. Бийск, Россия

ИЗУЧЕНИЕ СОВМЕСТИМОСТИ РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ ДЛЯ ОПТИМИЗАЦИИ РЕЦЕПТУР БАЛЬЗАМОВ

В последние годы в Алтайском крае расширяется производство многокомпонентных напитков на основе растительного сырья – бальзамов, имеющее большое экономическое значение и социальную значимость на региональном уровне. При этом большинство производителей стараются привлечь потребителей, включая в состав бальзамов 30 и более видов растительного сырья. Целенаправленный подбор растительного сырья с учетом действующих начал, совместимости и безопасности позволяет получать бальзамы заданной физиологической ценности, определяя их назначение и полезность для потребителей.

В многокомпонентных напитках происходит ряд сложных биохимических превращений между классами химических веществ отдельных компонентов, что необходимо учитывать при составлении рецептов бальзамов (рис. 1).

В связи с этим, целью данного исследования является оптимизация рецептов бальзамов, которая заключается в сокращении сырьевых затрат при сохранении физиологической ценности. На первом этапе работы для выявления частоты использования лекарственно-технического сырья, произрастающего в Алтайском крае и Республике Алтай, проведен мониторинг рецептов бальзамов, в ходе которого выделен ряд видов сырья, приведенных в таблице 1, на основе которых получены индивидуальные настои с гидромодулем 1:10 при $T=20\pm 2$ °С в течение 14 дней при первом и при втором заливе. Экстрагирующим агентом являлась водно-этанольная смесь крепостью 40 % об. В полученных настоях определено содержание веществ: экстрактивных, дубильных, флавоноидов, аскорбиновой кислоты, свободных органических кислот (табл.).



Типы химических взаимодействий БАВ растительного сырья
Содержание БАВ в индивидуальных настоях

Настой	Массовая доля				
	флаво- ноид*, %	дубиль- ных ве- ществ**, %	аскорби- новой ки- слоты, %	свободных органиче- ских ки- слот***, %	экстрак- тивных веществ, %
<i>Корни и корневища</i>					
Аира болотного	-	0,021	0,102	2,50	11,63
Копеечника забытого	0,289	0,302	0,106	3,30	7,00
Родиолы розовый	0,989	0,330	0,093	4,60	18,40
Валерианы лекарств.	0,499	0,013	0,046	3,20	11,80
Левзеи сафлоровидной	0,417	0,058	0,133	2,50	1,80
<i>Трава и листья</i>					
Бадана толстолистного	1,794	0,131	0,101	5,00	7,10
Мяты перечной	2,066	0,086	0,074	4,70	7,00
Душицы обыкновенной	2,400	0,112	0,097	5,40	9,20
Зверобоя продырявленного	2,600	0,097	0,077	6,20	4,60
Мелиссы лекарственной	1,285	0,183	0,080	3,05	11,40
Тимьяна ползучего	0,026	0,064	0,071	3,90	2,30
Тысячелистника обыкновенного	1,206	0,035	0,085	2,50	4,60
Пустырника пятилопастного	1,974	0,041	0,115	3,70	2,30
<i>Плоды</i>					
Боярышника обыкновенного	0,288	0,033	0,085	2,80	7,00
Рябины черноплодной	0,655	0,029	0,095	3,50	23,50
Черемухи обыкновенной	-	0,019	0,082	3,30	14,00
Шиповника майского	0,826	0,055	0,141	4,00	5,00
<i>Цветки</i>					
Календулы лекарственной	0,356	0,067	0,131	3,90	1,40
Ромашки аптечной	1,363	0,025	0,078	2,80	7,00
Примечание: Массовая доля в пересчете: * флавоноидов – на рутин; ** дубильных веществ – на танин; *** свободных органических кислот – на яблочную кислоту.					

Как и предполагалось максимальное содержание аскорбиновой кислоты в плодах шиповника; дубильных веществ в корнях и корневищах родиолы розовой и в листьях бадана; флавоноидов в траве зверобоя продырявленного.

В ранее проведенных нами исследованиях для выявления взаимного влияния веществ полифенольной природы были приготовлены модельные смеси настоев из травы тысячелистника и плодов шиповника, с гидромодулем 1:20, содержащие максимальное и минимальное количество БАВ в следующих массовых соотношениях 1:1, 1:2, 1:3, 2:1, 3:1. Опытным путем было установлено, что при сочетании двух видов растительного сырья во всех экстрактах наблюдается такой механизм взаимодействия, как синергетическое усиление. Поэтому рассмотрев физико-химические показатели всего спектра растительного сырья, считаем целесообразным выделить такие объекты для приготовления купажей, как трава зверобоя продырявленного, плоды шиповника, корневища родиолы розовой и листья бадана.

УДК 637.146.2:637.18

Е.Н. Зеленцова

Саратовский государственный аграрный университет
имени Н.И. Вавилова, г. Саратов, Россия

ВЛИЯНИЕ СТЕВИИ НА КАЧЕСТВО ТВОРОГА

Очень важно, чтобы в желудке и кишечнике человека поддерживалась особая микрофлора. Наилучшим средством поддержания оптимальной среды для развития полезных бактерий являются кисломолочные продукты, в том числе творог – белковый молочнокислый продукт, вырабатываемый сквашиванием пастеризованного молока чистыми культурами молочнокислых бактерий и удалением части сыворотки. Полезные свойства обуславливаются его целебным составом: содержит белок-казеин, полный набор незаменимых для организма аминокислот, различные витамины, кальций, фосфор, железо, магний, молочный сахар, липотропные вещества.

В нашей стране ассортимент творога ограничивается лишь видами, отличающимися по степени жирности. Поэтому практически важным и актуальным является получение более ценных сортов этого продукта, в частности, путем введения в его состав стевиозида (Фиточай «Стевия»).

Стевия или медовая трава (*Stevia rebaudiana*) – это уникальное лекарственное растение, прекрасный и полезный для здоровья природный заменитель сахара, т.е. лист стевию в 25 раз слаще сахара. Сладость стевию обеспечивает сложная молекула – стевиозид, которая является гликозидом, состоящим из глюкозы, софорозы и стевиола. Стевиозид усваивается в организме без помощи инсулина и является незаменимым продуктом для больных сахарным диабетом. Кроме дитерпеновых гликозидов, в листьях стевию обнаружены эфирные масла, основные из которых кариофиллен и спатуленол. Присутствие этих веществ позволяет использовать листья стевию для

усиления и модифицирования запаха композиций, которые используются при производстве напитков и других продуктов (Цанава и др. 1989, 1991).

Фиточай стевии использовался нами для получения отвара, который вводился сразу после стадии заквашивания в расчете 6–7 капель на 500 мл молока. Объектом исследований служил творог «Классический» 18 % жирности. Данный образец являлся контрольным и имел следующие органолептические характеристики: масса молочно-белого цвета с равномерным кремовым оттенком; консистенция мягкая, мажущаяся с незначительным выделением сыворотки; вкус и запах чистые, кисломолочные. Кислотность составляла $178,20 \pm 1,15^{\circ}\text{T}$; влажность – $71,00 \pm 0,46$ %; жирность – $17,80 \pm 0,42$ % и белка $15,92 \pm 0,13$ %.

Опытный образец, имеющий в своем составе растительную добавку, наряду с традиционным для творога кисломолочным запахом приобретал приятный слабовыраженный аромат медовой травы. Цвет молочно-белый со светло-зеленым оттенком. Стевия не влияла на процессы молочнокислого брожения при введении в молочную основу, при этом гликозиды стевии не являются питательным субстратом для молочнокислой микрофлоры. Поэтому биодобавка повлияла и на вкусовые качества продукта, т.е. приготовленный творог имел сладковатый вкус со слегка выраженным привкусом, свойственным вносимому наполнителю.

В результате физико-химических исследований было установлено, что введение в рецептуру творога пребиотика не повлияло на влажность готового продукта, содержание жира и белка. Однако, творог с наполнителями отличался меньшей кислотностью, она в опытном образце составила $150,66 \pm 0,68^{\circ}\text{T}$ ($P < 0,001$), что было ниже контроля на 15,45 %.

Итак, использование отвара стевии при выработке творога положительно влияет на органолептические показатели, придает приятный, сладкий вкус, повышает его питательную ценность за счет обогащения пребиотиками, расширяет спектр оздоровительных свойств продукта при сахарном диабете и ожирении, а также даёт возможность увеличить ассортимент выпускаемой продукции.

УДК 606:612.3

Е.В. Золотоверх, М.Н. Антонюк, Л.Ю. Арсеньева

Национальный университет пищевых технологий, г. Киев, Украина

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ БАКТЕРИАЛЬНЫХ СУХИХ ЗАКВАСОК ДЛЯ ПРОИЗВОДСТВА ПРОБИОТИЧЕСКИХ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ

В последние годы все большее внимание исследователей привлекает разработка пищевых продуктов с использованием биодобавок живых культур микроорганизмов, прежде всего, продуктов на молочной основе.

Для получения заквасок, стабильно сохраняющих свойства и позволяющих получать продукты с ранее заданными показателями, создаются консорциумы микроорганизмов с целью применения в производстве пищевых продуктов пробиотического действия.

Целью нашей работы было обосновать целесообразность использования сухих пробиотических заквасок в производстве продукции массового питания. В работе использованы бактериальные сухие закваски VIVO (ТУ У 15.5-3060300036-001:2009) производства украинского предприятия бактериальных заквасок – Технологического института молока и мяса «АЛББА-ТИММ». Эти закваски содержат дружественные человеку чистые культуры молочнокислых бактерий и бифидобактерий, специально отобранных по синергетическим свойствам и антагонистичною активностью к патогенной и условно патогенной микрофлоре желудочно-кишечного тракта. Очень важно, что микрофлора заквасок VIVO характерна для нормального кишечного биоценоза населения Украины, а следовательно, не имеет противопоказаний и побочных эффектов.

В работе использованы четыре вида заквасок, представляющих собой концентраты бифидо-, лакто-, пропионовокислых и уксуснокислых бактерий: «Симбилакт VIVO», «Симбалакт VIVO с лактулозой», «Йогурт VIVO», «Йогурт VIVO с лактулозой». Лактулоза в неизменном виде достигает толстой кишки и избирательно стимулирует рост и жизнедеятельность эндогенной микрофлоры (бифидо- и лактобактерий).

Сублимация гарантирует длительный срок годности с сохранением жизнеспособности бактерий заквасок «VIVO». Это делает препарат нечувствительным к длительному пребыванию вне холодильника.

В процессе сквашивания молока происходит размножение микрофлоры закваски, нарастает кислотность, коагулирует казеин и образовывается сгусток через 3–4 ч ферментации.

Проводили наблюдения за динамикой изменения титруемой и активной кислотности в процессе ферментации и за динамикой изменения во время хранения готового продукта. Ферментация ультрапастеризованного молока симбиотическим комплексом длится 6 ч, за это время достигается изоэлектрическое состояние белков ультрапастеризованного молока под влиянием смеси молочной и уксусной кислот, накопленных культурами симбиотиков при расщеплении сахаров – активная кислотность исследовательских образцов через 6 часов ферментации составляет 4,96–5,01 ед. рН.

Титруемая кислотность ферментированных образцов через 6 ч составляет 65–72 °Т. Низкий уровень титруемой кислотности по сравнению с традиционными кисломолочными продуктами (кефиром, ряженкой) объясняется тем, что уксусная кислота, образующаяся при ферментации сахаров культурами, входящими в состав симбиотической закваски, является более сильным электролитом, по сравнению с молочной кислотой.

В течение 21 суток хранения в исследованных образцах снижается уровень активной кислотности. Объясняется это сбраживанием части лактозы, содержащейся в готовом продукте, до уксусной и молочной кислот, по-

скольку культуры *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium longum*, *Lactococcus lactis* в процессе жизнедеятельности производят внеклеточную β -галактозидазу. Следует отметить, что в течение первых 14 суток хранения уровень активной кислотности остается стабильным.

Окислительно-восстановительный потенциал среды влияет не только на рост и размножение аэробных и анаэробных микроорганизмов, но и на их обмен веществ. Результаты свидетельствуют о том, что полученные с использованием сухих заквасок кисломолочные продукты и блюда с ними имеют практически нейтральные свойства, что способствует процессам обмена в микроорганизмах, а также процессам пищеварения в организме человека.

Кисломолочные продукты, приготовленные на сухих заквасках VIVO, содержат на 3 порядка больше живых микроорганизмов, чем биопродукция молокоперерабатывающих предприятий, реализуемая через торговую сеть.

Исследовали целесообразность использования кисломолочных продуктов «VIVO» для приготовления блюд на предприятиях массового питания: овощной окрошки и фруктового салата.

Установлено, что одновременное употребление готового пробиотического продукта с овощным сырьем в составе окрошки улучшает пробиотические свойства продукта в 1,5–2 раза.

Одновременное употребление готового пробиотического продукта с фруктовым сырьем в составе фруктового салата ухудшает пробиотические свойства продукта первых суток хранения в 14–25 раз.

Исследование пробиотической способности кисломолочных продуктов «VIVO» показали, что:

- количество микроорганизмов в полученных кисломолочных продуктах больше минимальной нормы на 3–4 порядка и составляет $2 \dots 5 \cdot 10^{11}$ КОЕ/г,
- антибиотики группы пенициллина, левомицетин, эритромицин и канамицин не действуют на молочнокислые бактерии, зоны отсутствия роста не обнаружены,
- показатели титруемой и активной кислотности готовой продукции соответствуют требованиям нормативной документации для группы кисломолочной продукции с пробиотическими свойствами.

***Б.А. Кареткин¹, Н.Г. Лойко², И.В. Шакир¹, В.И. Панфилов¹,
Г.И. Эль-Регистан²***

¹Российский химико-технологический университет
имени Д.И. Менделеева, г. Москва, Россия

² Учреждение Российской академии наук Институт микробиологии
имени С.Н. Виноградского РАН, г. Москва, Россия

ПЕРЕРАБОТКА КЛУБНЕЙ ТОПИНАМБУРА С ПОЛУЧЕНИЕМ ФРУКТАНОВ И ПРОБИОТИЧЕСКОГО ПРОДУКТА ДЛЯ ЖИВОТНЫХ

Хотя в настоящее время отсутствует общепринятое определение термина «пребиотики», обычно к ним относят компоненты питания, которые не перевариваются и не всасываются в тонком кишечнике, но положительно влияют на здоровье хозяина, селективно стимулируя рост и/или активность одного или ограниченного числа микроорганизмов кишечника. Пребиотический эффект установлен для олигосахаридов молока, лактулозы, галактоолигосахаридов, мальтоолигосахаридов, олигосахаридов сои (стахиозы и раффинозы), фруктоолигосахаридов и инулина и др. Пребиотический эффект фруктанов изучен наиболее полно. Они содержатся в цикории, топинамбуре, эхинацее, спарже, чесноке, гиацинте, козлороднике, агаве и ряде других растений, в основном, с. Сложноцветных, в качестве запасного вещества. Считается, что в корнях цикория преобладает именно высокомолекулярный инулин, в то время как остальные растения содержат смесь инулина и олигофруктанов в том или ином соотношении. Однако топинамбур имеет ряд агротехнических преимуществ при выращивании на территории России. В нашей стране получены сорта топинамбура с высокой урожайностью в нечерноземной полосе, например в условиях Верхневолжья сорт «Скороспелка» дает урожай до 35 т/га. Урожай клубней в южной полосе России может составлять до 50 т/га.

Одним из перспективных способов выделения БАВ из растительного сырья является экстракция ультразвуком. На первом этапе нашей работы изучено влияние на выход фруктанов и их концентрацию в экстракте гидромодуля, температуры и рН экстрагента, а также кинетика процесса экстракции водой в ультразвуковом поле. В работе использовали свежие клубни топинамбура, измельченные непосредственно перед экстракцией до размера частиц 3–5 мм или 0,5–1 мм. Установлено, что оптимальным для выделения фруктанов из клубней топинамбура с помощью ультразвуковой обработки является гидромодуль 12. Максимальный выход фруктанов наблюдали при температуре экстракции от 60 до 70 °С, однако и цветность экстракта в данных условиях была на 25–35 % выше, чем при меньших температурах. Варьирование рН экстрагента в интервале от 5,0 до 7,0 не оказывали влияния на выход фруктанов. Кинетика процесса экстракции

была схожа во всех вариантах опыта: увеличение концентрации углеводов прекращалось после 10–15 мин. обработки ультразвуком.

На следующем этапе работы были исследованы различные пути удаления из экстракта пигментных примесей. Применение катионитов оказалось нецелесообразным, т.к. вызывало снижение pH экстракта до 3,0–3,5, что может привести к спонтанному гидролизу биополимеров с образованием фруктозы, в результате понизится ценность продукта как пребиотика. Обработка активированными углями КАУ и АГ-3 не приводила к значительному снижению цветности раствора. Использование березового активированного угля ОУ-А позволяло снизить цветность на 86,4 %. При фракционировании экстракта на ультрафильтрационных мембранах установлено, что значительная часть пигментных примесей представляет собой высокомолекулярные вещества массой 10 кДа и более. Наибольшей селективностью по пигментным веществам обладала мембрана УПМ-10, однако она частично задерживала фракции фруктанов, вероятно, с высокой молекулярной массой. Мембраны УПМ-20 и УАМ-50 не обладали селективностью в отношении фруктанов, но селективность последней по пигментным веществам также была не высока.

Комбинирование ультрафильтрации с использованием мембраны УПМ-20 и обработки углем марки ОУ-А, позволило получить неокрашенный раствор, который может быть либо высушен и применен как продукт, содержащий смесь инулина и олигофруктанов, либо подвергнут дальнейшей переработке с целью разделения фракций высокомолекулярного инулина и олигофруктанов. В первом случае описанный процесс позволяет получить до 10 г сухого продукта с остаточной влажностью не более 10 % из 100 г свежих клубней.

После экстракции инулина из клубней топинамбура образуется жом, который традиционно подвергают повторной экстракции. Однако, при первой экстракции удается выделить до 75,2 % фруктанов от их общего содержания, а при повторной – не более 20 %. Нами исследован альтернативный метод утилизации жома, в котором он используется в качестве носителя для иммобилизации и дополнительного источника БАВ при глубинном гетерофазном культивировании лактобактерий. Подобраны состав среды и условия культивирования, а также штаммы МКБ. Показано, что выращивание МКБ в среде с жомом способствует сохранению жизнеспособности клеток при их длительном (8 недель, 5 °С) хранении, а также повышению устойчивости к стрессовым воздействиям (прогрев 50 °С, 15 мин; замораживание-оттаивание). При внесении в культуры МКБ бактериальных ауторегуляторов – алкилоксибензолов, наблюдаемые эффекты усиливались. С учетом предложенных приемов проведено успешное культивирование *Lactobacillus plantarum* в ферментере и получены лабораторные образцы пробиотического продукта с высоким титром клеток до $8,1 \times 10^9$ КОЕ/мл и хорошими биохимическими показателями. После хранения полученной культуры в течение 6 месяцев число жизнеспособных клеток МКБ составляло $4,2 \times 10^7$ КОЕ/мл.

В.Л. Кудряшов

ГНУ ВНИИ пищевой биотехнологии Россельхозакадемии, г. Москва, Россия

СКВОЗНОЙ АГРАРНО-ПИЩЕВОЙ КОМПЛЕКС ПО ПРОИЗВОДСТВУ КОРМОВ И ПИЩЕВЫХ ДОБАВОК ИЗ БИОМАССЫ ТРАВ С ПРИМЕНЕНИЕМ НАНОБИОТЕХНОЛОГИЙ

Перед АПК России стоит задача обеспечения населения недорогими сбалансированными продуктами питания и, прежде всего, по белкам, витаминам и пищевым волокнам (ПВ). Перспективным сырьем для производства этих биологически активных (ценных) веществ (БАВ) является листостебельная масса сеяных трав (биомасса) и прежде всего красного клевера, люцерны, топинамбура, амаранта, крапивы и др.

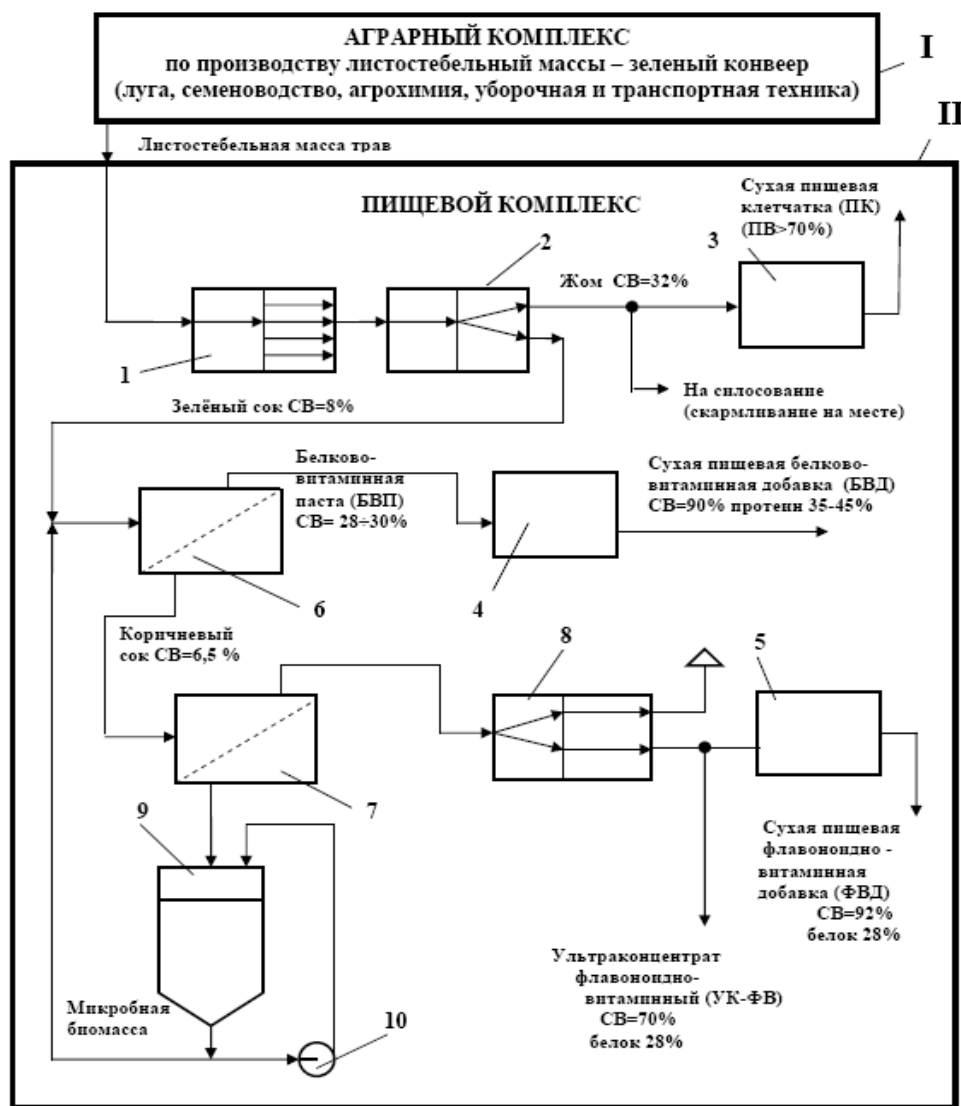
Это обусловлено тем, что практически на всей территории РФ выход названных БАВ по биомассе и белку значительно выше, чем в другом широко распространенном в мире сырье – сое. Зеленый сок люцерны и клевера, отжатый в период бутанизации содержит высокое количество белка (до 45 %), а также витаминов группы С, Е, К, В, Д и бета-каротина.

Наиболее ценными БАВ красного клевера являются флавоноиды, которые обладают спазмолитическими, капилляроукрепляющими, противовоспалительными и противоязвенными свойствами. Медиками доказано, что клевер является лучшим источником флавоноидов для лечения и профилактики болезней века – атеросклероза и гипертонии.

Разрабатываемый в лаборатории мембранных технологий (ЛМТ) ВНИИПБТ, представленный на рисунке комплекс, относится к сквозным аграрно-пищевым, так как основывается на прямой стыковке сельскохозяйственного (**аграрного, поз. I**) и **пищевого (поз. II)** комплексов. При этом аграрный комплекс (АК) и оборудование поз. 1 и 2 в комплексе II разрабатываются в ГНУ ВНИИ кормов им. В.Р. Вильямса по договору о научном сотрудничестве.

Комплекс является универсальным и рассчитан на производство как кормов, так и пищевых добавок, является бессточным и предусматривает получение БАВ как путем их отжима из трав, так и путем микробиосинтеза в поз. 9 не только микробного белка, но и витаминов В12, дефицитных аминокислот, пробиотиков и других БАВ.

Так проведенный в биореакторе биосинтез кормовых дрожжей *Candida tropicalis* СК-4 на пермеате, образующемся при фильтрации коричневого сока на **наночелленджерах** в поз. 7, показал высокий их выход, практически не отличающийся от выхода на типичной среде – зерновой барде.



1 – измельчитель; 2 – шнековый пресс; 3, 4 и 5 – сушилки;
6 и 7 – ультрафильтрационная (УФ) и нанофильтрационная (НФ)
мембранные установки; 8 – вакуум-выпарка; 9 – биореактор;
10 – роторно-пульсационный аппарат

Листостебельная масса трав сразу после скашивания через измельчитель поз. 1 подаётся в пресс поз. 2, где из неё отжимается так называемый зелёный сок. Жом скармливается КРС на месте, идёт на силосование или высушивается на сушильной установке поз. 3 с получением травяной муки.

Зелёный сок концентрируется на УФ-установке с получением (содержащей хлоропластовую фракцию биомассы) кормовой или пищевой белково-витаминной пасты (БВП) с концентрацией СВ=28÷30 %, а затем высушивается в поз. 4 с получением добавки БВД.

Коричневый сок (содержит цитоплазматическую фракцию биомассы) предварительно в (5 и более раз по объёму) концентрируется на НФ-установке поз. 7 и затем глубоко (до СВ порядка 70 %) доконцентрируется на выпарной установке поз. 8 с получением **пищевого** флавоноидно-витаминного ультраконцентрата (УК-ФВ) содержащего легкоусваиваемые

низкомолекулярные белки, полипептиды, аминокислоты, витамины, а главное флавоноиды. По требованию потребителей он может высушиваться в поз. 5.

В комплекс включен универсальный дрожжегенератор поз. 9, предназначенный для производства также и БАВ синтезируемых микроорганизмами на питательной среде, включающей НФ-пермеат коричневого сока.

Для обеспечения сырья в теплое время года (май-октябрь) в местности, прилегающей к комплексу, подбираются травы, сроки их посева и скашивания, обеспечивающие непрерывный зелёный конвейер.

С целью исключения перерыва работы ПК в межсезонье (холодное время года) он создается с гибкой структурой, переналаживаемой на переработку другого местного длительно сохраняемого растительного (топинамбура, цикория, стевии, свеклы, яблок, моркови, сушеных трав) и вторичного сырья (молочной сыворотки, зерновой барды, пивных дробины и дрожжей, картофельных сока и мезги, кукурузного экстракта, свекловичного жома и др.).

Разработанная технология обеспечивает себестоимость добавок БВД, БВП, УК-ФВ, ФВД и ПК не выше 6–10 тыс. руб/т, что значительно ниже аналогов.

УДК 60: 664.642: 664.66.

Г.А. Кутузова, М.К. Садыгова, Ю.А. Брысаева, И.В. Ищук, Т.А. Очёсова
Саратовский государственный аграрный университет
имени Н.И. Вавилова, г. Саратов, Россия

ИЗУЧЕНИЕ АКТИВНОСТИ ХЛЕБОПЕКАРНЫХ ДРОЖЖЕЙ РАЗЛИЧНЫХ ПРОИЗВОДИТЕЛЕЙ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ ЗАМОРОЖЕННОГО ТЕСТА

Особое место в производстве продуктов питания занимают быстрозамороженные полуфабрикаты из дрожжевого теста и готовые изделия из них, предназначенные для снабжения сети быстрого питания горожан. Причины очевидны, применение готового теста позволяет решить массу проблем, от организации работы персонала до экономии производственных площадей, что особенно актуально в условиях поточного пекарского производства. Ключевой проблемой в технологии глубокой заморозки дрожжевого теста является проблема выживания дрожжевых клеток во время замораживания, хранения при отрицательных температурах и последующей дефростации. Выбор дрожжей, а также поддержание их жизнеспособности во время заморозки и хранения тестовых полуфабрикатов обусловлен таким параметром, как штамм дрожжей. Оптимальный вариант – осмодрожжи. Этот штамм обладает природной криорезистентностью (холодоустойчивостью). Сегодня на рынке Саратова и Саратовской области представлен большой ассортимент прессованных и сухих дрожжей, что затрудняет выбор малых производителей которые не имеют собственного штамма.

Поэтому целью нашей работы было изучение устойчивости хлебопекарных дрожжей различных марок при использовании шоковой заморозки теста.

Объекты исследования: 2 вида прессованных дрожжей торговых марок «Люкс» и Пензенские и 2 вида сухих дрожжей торговых марок «Саф-Момент» и «Эстетика вкуса».

Рецептура хлеба из пшеничной муки высшего сорта в соответствии с методикой пробной лабораторной выпечки хлеба по ГОСТ 27669-88, рецептура студенческого батона с нутовой мукой 10 % по ТУ 9115-001-00493497-2010, разработанный на кафедре «Технология продуктов питания» ФГБОУ ВПО «Саратовский ГАУ». Нутовая мука обогащает хлебобулочные изделия микроэлементами, витаминами и белками, что служит также дополнительно питательной средой для дрожжей.

После двух часов брожения полуфабрикаты делили на куски равной массой и упаковывали в полиэтиленовые пакеты. Образцы помещали в морозильную камеру с температурой -18°C . По истечении семи суток хранения замороженных полуфабрикатов дефростация, расстойка и выпечка образцов проводилась в равных условиях.

Перед заморозкой и после дефростации определяли титруемую кислотность теста и количество дрожжевых клеток в тесте высевом на питательную среду Сабуро.

В результате при сравнении полученных данных, оказалось, что кислотность теста после разморозки увеличивалась на $0,1\text{--}0,3$ град. у пшеничного хлеба, а у студенческого батона на $0,1\text{--}0,4$ град. (табл. 1). Следует отметить, что кислотность батона была на $2\text{--}3$ градуса выше, чем пшеничного хлеба.

Таблица 1

Определение кислотности полуфабрикатов до и после заморозки (град.)

Время проведения анализа	Образцы теста							
	Хлеб пшеничный в/с				Батон студенческий			
	пресс. Люкс	пресс. Пензенские	сух. Эстетика вкуса	сух. Саф-Момент	пресс. Люкс	пресс. Пензенские	сух. Эстетика вкуса	сух. Саф-Момент
До заморозки	$4,6\pm 0,1$	$3,8\pm 0,03$	$4,0\pm 0,1$	$5,1\pm 0,2$	$7,1\pm 0,05$	$7,5\pm 0,2$	$6,7\pm 0,04$	$7,2\pm 0,03$
После дефростации	$4,8\pm 0,07$	$3,9\pm 0,3$	$4,2\pm 0,06$	$5,4\pm 0,09$	$7,2\pm 0,07$	$7,9\pm 0,1$	$6,7\pm 0,09$	$7,3\pm 0,1$

Возможно, это связано с тем, что кислотность нутовой муки значительно выше пшеничной и поэтому повышается кислотность теста и готового изделия. Также из полученных ранее нами данных известно, что добавление в рецептуру хлеба нутовой муки стимулирует процесс брожения теста. Поэтому полуфабрикат студенческого батона с нутовой мукой на момент формовки мог быть уже переброженным. Это доказывает меньшее содержание клеток дрожжей в тесте как до, так и после заморозки по сравнению

с тестом для пшеничного хлеба на 9 % с применением прессованных дрожжей и на 5 % с применением сухих дрожжей (табл. 2).

Таблица 2

Определение количества дрожжей в полуфабрикатах (КОЕ/г, 10⁴)

Время проведения анализа	Образцы теста							
	Хлеб пшеничный в/с				Батон студенческий			
	пресс. Люкс	пресс. Пензенские	сух. Эстетика вкуса	сух. Саф-Момент	пресс. Люкс	пресс. Пензенские	сух. Эстетика вкуса	сух. Саф-Момент
До заморозки	69±0,8	27±0,5	27±0,4	25,3±0,5	15±0,8	23,2±0,3	11,4±1,0	10,3±0,5
После дефростации	62±1,0	24±0,8	21,5±0,7	21,5±0,9	12,7±0,2	18±0,6	8,4±0,4	8,7±0,7

При сравнении устойчивости опытных хлебопекарных дрожжей, было установлено, что прессованные дрожжи выдерживают глубокую заморозку в обоих видах теста лучше, чем сухие. По полученным результатам для приготовления хлеба с помощью заморозки подходят хлебопекарные прессованные дрожжи марки «Люкс», а из сухих «Саф-Момент».

Следовательно, для производства пшеничного хлеба высшего сорта и батона студенческого с помощью глубокой заморозки полуфабрикатов рекомендуются прессованные дрожжи марки «Люкс».

УДК 60:664.642: 537.868

***И.А. Чесноков¹, Г.А. Кутузова², Н.А. Бушуев¹, А.С. Амельченко²,
А.А. Щербаков², Ю.Ю. Елисеев³, Е.П. Ляпина^{2,4}***

¹ОАО Научно-производственное предприятие «Алмаз», г. Саратов

²Саратовский государственный аграрный университет имени Н.И. Вавилова г. Саратов

³Саратовский государственный медицинский университет имени В.И. Разумовского, г. Саратов

⁴Саратовский НИИ сельской гигиены Роспотребнадзора, г. Саратов, Россия

ВОЗМОЖНОСТЬ АКТИВАЦИИ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* С ПОМОЩЬЮ НИ ЭМИ КВЧ ТИПА «БЕЛЫЙ ШУМ»

Электромагнитное излучение (ЭМИ) является физическим фактором среды, который оказывает существенное влияние на различные живые организмы.

Электрические, электрохимические, электробиологические процессы являются частью процессов функционирования живого организма. Электромагнитное излучение (ЭМИ) крайневых высокочастотного диапазона (КВЧ) эффективно используется в биологии, биотехнологии, фармакологии, экс-

периментальной медицине, ветеринарии, растениеводстве, пищевой промышленности и т.д.

Доказано, что КВЧ-излучение существенно влияет на различные физиологические процессы происходящие как в микроорганизмах, так и на биообъектах в целом. Известны данные о воздействии НИ ЭМИ КВЧ диапазона моночастотного на бактерии, актиномицеты, цианобактерии. Здесь положительный эффект действия ЭМИ выражается в стимуляции роста, ускорению процессов метаболизма, изменении биохимического состава клеток.

Целью настоящей работы явилось изучение возможности применения ЭМИ КВЧ в биотехнологическом производстве.

В нашей работе объектом исследования выбраны дрожжи *Saccharomyces cerevisiae* – хлебопекарные марки «Люкс».

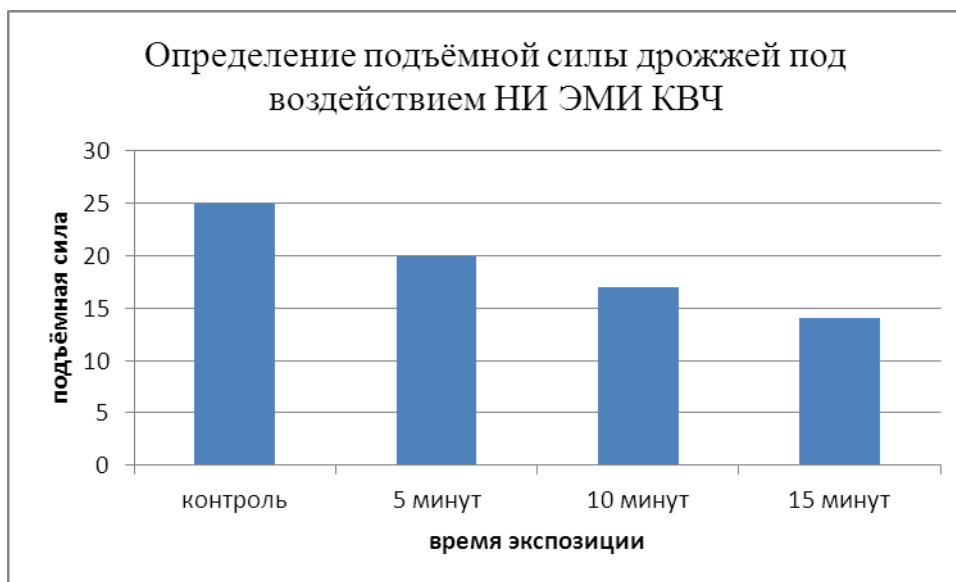
Для воздействия на дрожжевые клетки использовали генератор ЭМИ КВЧ диапазона частот $F=53,57 \div 78,33$ ГГц (длина волны $\lambda=5,6 \div 3,8$ мм) типа «белый шум», входящего в состав аппаратуры лечебно-диагностического комплекса с биологически обратной связью (ЛДКС БОС) разработки предприятия ОАО «НПП» Алмаз» [Патент № 62827 «Лечебно-диагностический комплекс»] генератор типа «Амфит-0,2/10-01» (предприятие-производитель ООО «ФизТех», г. Нижний Новгород, регистрационный номер Реестра 29/06030497/2014-01).

Равное количество дрожжей засевали в жидкую питательную среду Сабуро и культивировали в течение 24 часов при $t=32$ °С. При инкубировании трижды пробирки с культурами облучали НИ ЭМИ КВЧ по 20 минут через 8 часов. Контролем служили пробирки с культурой дрожжей без облучения. После чего проводили высеив на чашки Петри со средой Сабуро для дальнейшего подсчёта количества живых клеток *Saccharomyces cerevisiae*.

Также дрожжевую массу наносили тонким слоем на предметное стекло и облучали 5, 10 и 15 минут, после чего данные дрожжи исследовали на активность экспресс-методом.

В результате эксперимента установлено, что облучение НИ ЭМИ КВЧ способствует снижению количества живых дрожжевых клеток на 25 % по сравнению с контролем. Однако при изучении влияния КВЧ-излучения на подъёмную силу отмечается увеличение активности дрожжей прямопропорционально времени экспозиции (рис.).

Возможно снижение количества клеток сахаромикет в жидкой питательной среде после облучения к 24 часам связано с сокращением прохождения культурой фазы экспоненциального роста в связи со значительным увеличением биохимической активности что доказывает увеличение подъёмной силы дрожжей и к моменту учёта результатов культура находилась в фазе отмирания.



Подъёмная сила хлебопекарных дрожжей

Следовательно, можно сделать вывод, что использование НИ ЭМИ КВЧ типа «белый шум» позволяет значительно сократить сроки активации хлебопекарных дрожжей при производстве хлеба.

УДК 602.3:579.8

М.А. Юдина, Н.А. Феоктистова, Д.А. Васильев

Ульяновская государственная сельскохозяйственная академия
имени П.А. Столыпина, г. Ульяновск, Россия

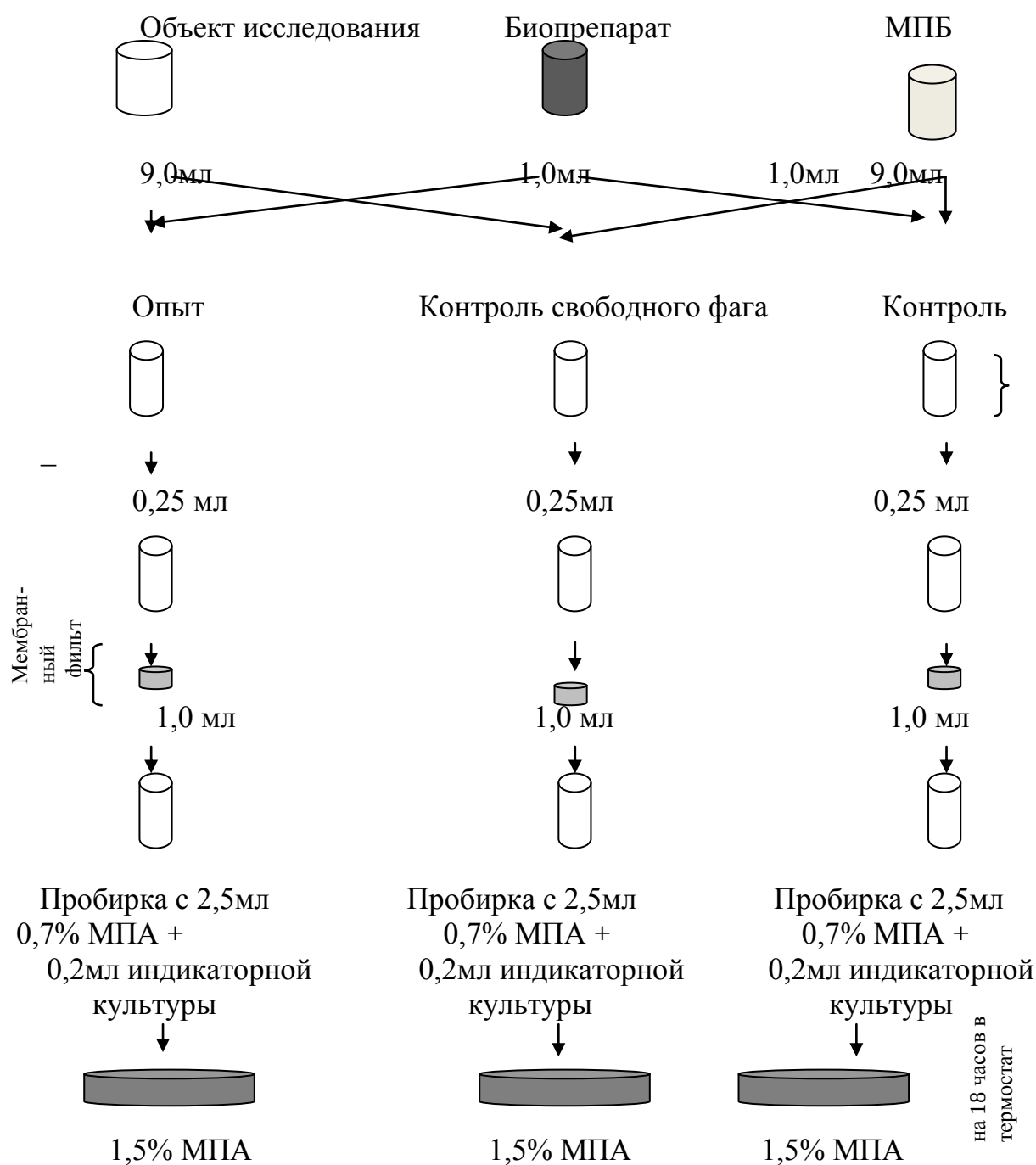
ПРИМЕНЕНИЕ РЕАКЦИИ НАРАСТАНИЯ ТИТРА ФАГА ДЛЯ ИНДИКАЦИИ БАКТЕРИЙ *BACILLUS MESPENTERICUS* В ПШЕНИЧНОЙ МУКЕ

Статистические данные, свидетельствуют, что растет количество случаев возникновения картофельной болезни хлеба – процент нестандартных проб в 2012 г. вырос, по сравнению с 2000 г., на 8,8 %. Общеизвестно, что бактерии *Bacillus mesentericus* и *Bacillus subtilis* входят в группу бацилл, вызывающих микробную порчу хлеба, называемую «картофельной болезнью». Чаще ими поражаются хлебобулочные изделия из пшеничной муки, так как они имеют более низкую кислотность. Вышеназванные бациллы активно размножаются при 30–40 °С в зерне, муке, хлебе, что резко ухудшает их органолептические свойства [2, 3].

Цель и задачи исследования. Разработать схему ускоренной индикации бактерий *B.mesentericus* в пшеничной муке методом реакции нарастания титра фага с использованием созданного биопрепарата.

Результаты исследований и их обсуждение. Для ускоренной индикации бактерий вида *B.mesentericus* в пищевом сырье и продуктах питания без выделения чистой культуры, нами была разработана модель постанов-

ки реакции нарастания титра фага (РНФ) на пшеничной муке. Подготовку и посев проб пищевых продуктов, подлежащих исследованию, проводили в соответствии ГОСТ 26669 – 85 «Продукты пищевые и вкусовые. Подготовка проб для микробиологических анализов». Пробы муки пшеничной (10 г) вносили в стерильные колбы объемом 100 мл, заливали стерильным мясопептонным бульоном (МПБ) из расчета 10 мл на 1 г. В опытные колбы вносили индикаторные культуры *B.mesentericus* 66 и *B.mesentericus* 2 в концентрации 10^1 - 10^4 м.к мл и контроль колбы с МПБ и пробой муки пшеничной, неконтаминированной бактериями *B. mesentericus*. Исследования проводили по схеме, отраженной на рисунке.



**Схема постановки реакции нарастания титра фага
с использованием биопрепарата**

Результаты исследований представлены в таблицах 1–2. Из данных таблиц видно, что увеличение титра фагов Вm–3 УГСХА и Вm–8 УГСХА в 5 раз произошло при концентрации 10^3 бактерий *B.mesentericus* в 1 г муки пшеничной. Реакция считалась положительной, если количество негативных колоний фага (НКФ), образовавшихся в контроле превышало количество (НКФ), образовавшихся в эксперименте в 5 и более раз [1]. Таким образом, в муке пшеничной, загрязненной бактериями *B.mesentericus*, с помощью РНФ данные бактерии обнаруживались в концентрации 10^3 м.к./г без выделения чистой культуры, при наличии посторонней микрофлоры. На обнаружение бактерий *B. mesentericus* в муке пшеничной с помощью РНФ затрачивалось не более 25 часов.

Таблица 1

Исследование муки пшеничной, загрязненной бактериями *B.mesentericus* 66, с помощью РНФ (фаг Вm–3 УГСХА)

Заражающая концентрация бактерий в 1 см ³	Контроль инди- каторного фага	Контроль сво- бодного фага	Опыт	Увеличение (раз)
	Количество негативных колоний фага			
10 ⁴	36±1,4	-	Полный лизис	Более 10
10 ³	36±1,4	-	120±10	5,3
10 ²	36±1,4	-	75 ± 4	2,1
10 ¹	36±1,4	-	45 ± 5	0,6

Таблица 2

Исследование муки пшеничной, загрязненной бактериями *B.mesentericus* 2, с помощью РНФ (фаг Вm–8 УГСХА)

Заражающая концентрация бактерий в 1 см ³	Контроль инди- каторного фага	Контроль сво- бодного фага	Опыт	Увеличение (раз)
	Количество негативных колоний фага			
10 ⁴	22±2,3	-	Полный лизис	Более 10
10 ³	22±2,3	-	211±14	6,8
10 ²	22±2,3	-	44±2	2,0
10 ¹	22±2,3	-	19±3	0,9

Исходя из полученных данных, необходимо отметить, что реакция нарастания титра фага является высокочувствительным методом, позволяющим обнаружить бактерии *B. mesentericus* в тех случаях, когда выделение культуры в чистом виде, практически невозможно из-за наличия большого количества посторонней микрофлоры, маскирующей рост бактерий *B. mesentericus*, в пороговой концентрации, позволяющей отбраковывать или отправлять на вторичную переработку муку пшеничную с использованием соответствующих технологий.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ганюшкин В.Я. Бактериофаги сальмонелл и их применение в ветеринарии. – Ульяновск, 1988. – С. 42–45.
2. Пельц О.В., Долгушина Е.Я., Аксенова Н.Н. [и др.] Гигиеническая оценка контаминации муки возбудителями картофельной болезни // Медицина в Кузбассе, спецвыпуск. – 2003. – № 5. – С. 74–75.
3. Электронный ресурс. [Режим доступа]: [www. bnkc. ru](http://www.bnkc.ru).



УДК 339.13.012

А.А. Ахметов, Н.В. Морозов, Е.Н. Григорьева

Казанский (Приволжский) федеральный университет, г. Казань, Россия

ИНТЕНСИФИКАЦИЯ БИОДЕСТРУКЦИИ НЕФТИ В СТОЧНЫХ ВОДАХ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННОГО ПРОИЗВОДСТВА СОРБЕНТАМИ РАСТИТЕЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

Среди соединений, обладающих биостимулирующим эффектом на нефтеокисляющие микроорганизмы в процессах биологической деструкции нефти и нефтепродуктов, наряду с витаминами, аминокислотами, органическими кислотами и др., также могут использоваться и легкоокисляемые органические субстраты. В качестве последних в настоящее время рекомендуется использование отходов сельскохозяйственного производства, а именно шелухи гречихи, овса посевного, пшеницы, ячменя, кукурузы и др.

Исходя из вышесказанного, целью исследований является выбор субстратов растительного происхождения, которые выступают одновременно иммобилизующей поверхностью для клеток углеводородокисляющих микроорганизмов (УОМ) и соокислителями ферментативного окисления нефти и нефтепродуктов.

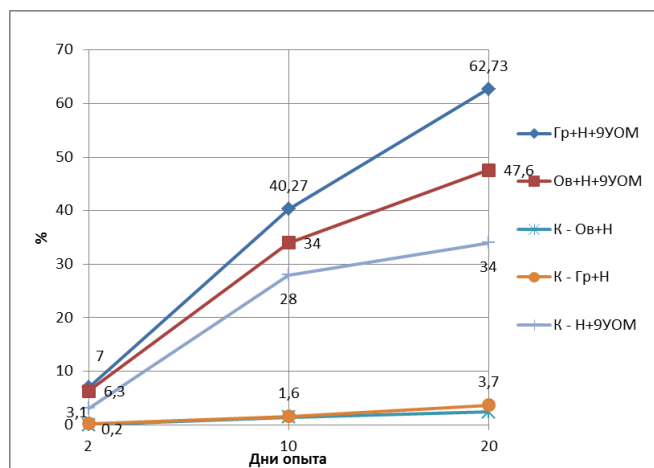
В качестве легкоокисляемых органических субстратов растительного происхождения выбраны гречишная и ячменная шелуха. Под влиянием данных субстратов товарная нефть уже на 2–3 день начала быстро разлагаться. На это указывало видимое изменение окраски нефтяной плёнки, которая переходила от тёмно-коричневого цвета в светло-коричневый, серый. В последующие дни биодеструкция усиливалась с переходом плёнки в светло-серый цвет, быстро исчезающий. Анализ общего числа бактерий, включая нефтеокисляющие, в данных вариантах опыта показал, что количество микроорганизмов по мере окисления нефти сначала возрастает, достигая максимума на 6–7 сутки. Ко времени интенсивного исчезновения нефти число микроорганизмов падает в 8–10 раз. Балансовые расчёты окисленной нефти выявили, что в опытах с шелухой гречихи и ячменя на 20 сутки эксперимента эффективность деструкции достигает 71 %. В контроле за эти сроки содержание нефти осталось неизменным.

Далее была предпринята попытка определения наименьшего размера фракции и концентрации исследованного субстрата (шелуха гречихи), способствующих наилучшей иммобилизации клеток углеводород-

окисляющих микроорганизмов и, тем самым, увеличивая степень эффективности окисления нефти. Из вариантов опыта установлено, что наиболее эффективной оказалась размерность фракции субстрата 0,071 мм (из вариантов 0,05, 0,071, 0,1 мм) и концентрация субстрата до 50 мг/л (из вариантов следы, 10, 20, 30, 40, 50, 100 мг/л). Эффективность деструкции нефти при этом составила 71,9 %. Количество клеток нефтеокисляющих микроорганизмов во всех вариантах опыта возрастает приблизительно на 6 день опыта и становится равным $162 \cdot 10^6$ кл/см³. В контрольных вариантах (без внесения клеток УОМ) степень биологической деструкции нефти не превышала 3 %.

С учётом минимальных концентраций субстратов и размерности фракции шелухи гречихи равной 0,071 мм, были рассмотрены варианты использования ячменя, пшеницы и овса (попытка применения их в качестве соокислителей). В результате исследований выявлено, что количество микроорганизмов во всех опытных вариантах становится максимальным на 6–8 день культивирования. В контрольном варианте (без внесения клеток углеводородоокисляющих микроорганизмов) изменения не существенны. По результатам гравиметрического анализа остаточного содержания нефти при биологической её деструкции, наиболее эффективными субстратами оказались шелуха гречихи и овса. Эффективность окисления нефти составляет 71 % и 54 % соответственно.

Для подтверждения полученных результатов были проведены сравнительные опыты наиболее эффективных субстратов шелухи гречихи и овса посевного и определена динамика изменения эффективности деструкции во временном промежутке 1–20 суток (рис.).



Динамика изменения эффективности деструкции нефти

Исходя из данных, представленных на рисунке видно, что процесс окисления нефти протекает лучше при использовании субстрата шелухи гречихи по сравнению с шелухой овса посевного и достигает 62,7 % на 20 суток против 47,6 % соответственно.

Таким образом, в результате проведённых исследований установлено, что высокоэффективным субстратом в процессе интенсификации

биodeградации нефти оказалась гречишная шелуха, которая является соокислителем и оказывает биостимулирующее воздействие на обмен веществ штаммов углеводородоокисляющих микроорганизмов, способствуя увеличению скорости процесса биodeградации нефти.

УДК 579.64:631.49.222.2.546.72/.74.91

А.Д. Бондаренкова, А.Ю. Муратова, О.В. Турковская

Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов
Российской академии наук, г. Саратов, Россия

ДЕСТРУКТИВНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ РИЗОСФЕРНЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ, УСТОЙЧИВЫХ К ТЯЖЕЛЫМ МЕТАЛЛАМ

Нефть и нефтепродукты, а также содержащееся в их составе значительное количество тяжелых металлов, являются одним из крупнейших источников комплексного загрязнения почв. Известно, что не все нефтеокисляющие микроорганизмы обладают наряду с деструктивной активностью устойчивостью к тяжелым металлам, что делает выделение и изучение штаммов, обладающих совокупностью этих признаков, важной задачей при разработке технологий биоремедиации.

С этой целью нами было исследовано 7 образцов ризосферной почвы, взятых с территории Саратовского нефтеперерабатывающего завода, с уровнем загрязнения нефтепродуктами от 38 до 78 г/кг. Проведенный микробный анализ этих образцов позволил создать коллекцию штаммов, проявляющих устойчивость к никелю, присутствующему в среде в концентрациях от 1 до 5 мМ. Определение минимальной ингибирующей концентрации (МИК) никеля при выращивании микроорганизмов в жидкой среде позволило отобрать 10 наиболее устойчивых штаммов, которые были идентифицированы на основании физиолого-биохимических признаков (табл. 1).

Согласно полученным результатам установлено, что для большинства штаммов максимально толерантной концентрацией никеля был диапазон от 2 до 4 мМ. Для 2 штаммов *Rhodococcus* sp. N3 и *Mycobacterium* sp. N7 концентрация никеля 5 мМ не являлась ингибирующей. Штамм *Acidovorax delafieldii* N4 ингибировался 1 мМ никеля.

Анализ деструктивной активности выявил пять штаммов способных разрушать дизельное топливо. В течение пяти суток культивирования этих штаммов исходная концентрация дизельного топлива (10 г/л) в минеральной среде Бушнела-Хааса снизилась на 23–45,5 % (табл. 2). Наиболее высокой деструктивной активностью отличался штамм *Rhodococcus* sp N7 – 45,5 %.

Влияние никеля на деструктивную активность микроорганизмов исследовано на примере штамма *Mycobacterium* sp. N7 с использованием в качестве субстрата для деградации алканового углеводорода гексадекана в концентрации 5 г/л в течение 5 сут. культивирования показали, что присутствие метал-

ла практически не отражалось на способности штамма разрушать гексадекан: 93 и 96 % в присутствии и отсутствие никеля соответственно.

Таблица 1

Устойчивость выделенных ризосферных штаммов к двухвалентному никелю (жидкая среда ТМС)

Штамм	Растение-хозяин	МИК Ni ²⁺ , мМ					
		0	1	2	3	4	5
<i>Mycobacterium komossense</i> N1	Спорыш (<i>Polygonum aviculare</i> L. s. l.)	+	+	+	+	–	–
<i>Arthrobacter</i> sp. N2	Горошек мышиный (<i>Vicia cracca</i> L.)	+	+	+	+	±	±
<i>Acidovorax delafieldii</i> N4	Тростник южный (<i>Phragmites australis</i> L.)	+	–	–	–	–	–
<i>Rhodococcus</i> sp. N5	Горошек мышиный (<i>Vicia cracca</i> L.)	+	+	+	+	+	–
<i>Rhodococcus</i> sp. N6	Мелколепестник канадский (<i>Erigeron canadensis</i> L.)	+	+	+	+	+	±
<i>Mycobacterium</i> sp. N7	Тростник южный (<i>Phragmites australis</i> L.)	+	+	+	+	+	+
<i>Mycobacterium komossense</i> N8	Горошек мышиный (<i>Vicia cracca</i> L.)	+	+	+	+	±	±
<i>Moraxella osloensis</i> N9	Мелколепестник канадский (<i>Erigeron canadensis</i> L.)	+	+	+	±	±	–
<i>Arthrobacter</i> sp. N10	Мелколепестник канадский (<i>Erigeron canadensis</i> L.)	+	+	+	+	±	±
<i>Rhodococcus</i> sp. N3	Неризосферная почва с мазутным загрязнением	+	+	+	+	+	+

«+» – рост, «–» – отсутствие роста, «±» – слабый рост

Таблица 2

Дегградация дизельного топлива (10 г/л) устойчивыми к никелю ризосферными штаммами

Штамм	Дегградация, %
<i>Mycobacterium komossense</i> N1	31,0±2,3
<i>Rhodococcus</i> sp. N 3;	23,0±4,5
<i>Rhodococcus</i> sp. N 6	34,4±1,1
<i>Mycobacterium</i> sp N 7	45,5±2,3
<i>Mycobacterium komossense</i> N8	27,0±1,4

Таким образом, были выделены и охарактеризованы штаммы микроорганизмов, обладающие необходимыми свойствами для их возможного дальнейшего использования в процессе фиторемедиации.

**Н.В. Веденеева¹, О.В. Нечаева², Д.А. Заярский³, В.А. Заматырина¹,
Е.И. Тихомирова¹**

¹Саратовский государственный технический университет
имени Гагарина Ю.А., г. Саратов

²Саратовский государственный медицинский университет
имени В.И. Разумовского, г. Саратов

³Саратовский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского,
г. Саратов, Россия

ИЗУЧЕНИЕ ФИЛЬТРУЮЩИХ СВОЙСТВ МОДИФИЦИРОВАННЫХ ОРГАНОБЕНТОНИТОВЫХ ГРАНУЛ В ОТНОШЕНИИ САНИТАРНО-ПОКАЗАТЕЛЬНЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ ВОДЫ

Актуальность разработки новых более экологичных и экономически выгодных способов очистки воды обусловлена необходимостью обеспечения экологической безопасности водопользования в отношении кишечных инфекций, распространяющихся водным путем. Перспективным направлением в решении этой проблемы является использование органобентонита. Органобентонит (бентон) представляет собой продукт взаимодействия естественных монтмориллонитовых глин (бентонитов) с олеофилизаторами, в частности, с четвертичными аммониевыми солями (ЧАС).

В ходе проведенных нами исследований были изучены фильтрующие свойства гранул органобентонита в отношении санитарно-показательных микроорганизмов водных источников. В качестве экспериментальной модели использовали грамотрицательные бактерии *E. coli* 113-13. Из суточной культуры исследуемого микроорганизма готовили взвесь в физиологическом растворе по оптическому стандарту мутности 10 Ед (ГИСК им. Тарасевича), а затем титровали ее до рабочей концентрации 1×10^3 м.к./мл.

В качестве фильтра использовали гранулы органобентонита в исходном виде, а также обработанные 1 % раствором полидиметилдиаллиламмония йодид сахарозы (ПДДАЙС). ПДДАЙС – это биосовместимый полимер с выраженной антимикробной активностью.

Фильтрацию осуществляли с помощью стеклянной колонки высотой 30 см, путем пропускания трех объемов по 100 мл взвеси микроорганизмов через колонку с гранулами. Подсчет колониеобразующих единиц (КОЕ) проводили на чашках Петри с мясо-пептонным агаром, после инкубирования в термостате при температуре 37 °С в течение 24 часов. В качестве контроля были посеы рабочей концентрации взвеси. Все эксперименты проводили в трехкратной повторности с последующей обработкой методами вариационной статистики с определением средних арифметических величин ($\bar{M}$) и средней ошибки средней арифметической (m).

После проведения фильтрации через гранулы органобентонита наблюдалась частичная механическая задержка кишечной палочки, причем количество КОЕ/мл достоверно не отличалось от контрольных значений. Количество выросших микробных клеток в контрольных посевах составляло 586 ± 67 ; количество клеток после фильтрации через гранулы органобентонита составило 473 ± 51 . Помимо этого в посевах фильтрата наблюдалось появление колоний, отличающихся по культуральным свойствам от исходных колоний кишечной палочки, что свидетельствовало об обсеменении гранул органобентонита сопутствующей микрофлорой.

При посеве фильтрата с использованием гранул органобентонита, обработанного полимером, наблюдалось уменьшение количества КОЕ/мл в среднем в 15 раз (с 586 ± 67 до $37 \pm 1,9$), причем было установлено, что на степень обеззараживания влияет скорость фильтрации.

Для определения сохранения клеток *E. coli* 113-13 на гранулах, обработанных полимером, через 24 часа после фильтрования взвеси через фильтр пропускали стерильный физиологический раствор. Затем полученный фильтрат высевали на поверхность плотной питательной среды. Через 24 часа культивирования в термостате на поверхности питательной среды рост отсутствовал.

В результате проведенного исследования удалось установить, что полимер, адсорбированный на гранулах, обладает бактерицидными свойствами в отношении санитарно-показательных микроорганизмов воды. Выявлена эффективность разработанной фильтрующей системы на основе гранул органобентонита и ПДДАЙС в отношении бактерий группы кишечной палочки.

УДК 628.39:544.723; 631.95:628.4

Н.Б. Градова

Российский химико-технологический университет
имени М.И. Менделеева, г. Москва, Россия

ТЕХНОЛОГИЯ ПОЛУЧЕНИЯ МНОГОФУНКЦИОНАЛЬНЫХ КОРМОВЫХ ДОБАВОК НА ОСНОВЕ БИОКОНВЕРСИИ ЦЕЛЛЮЛОЗОСОДЕРЖАЩЕГО СЫРЬЯ

Одним из приоритетных направлений развития биотехнологии является разработка способов рационального использования целлюлозосодержащих отходов АПК, лесной, пищевой и др., отраслей промышленности, как сырья для получения кормовых продуктов при одновременном снижении антропогенного воздействия на окружающую среду. Важнейшими проблемами в области обеспечения рационального питания человека и кормления животных является снижение белкового дефицита и коррекция дефицита микронутриентов (витаминов, микроэлементов и др. Наша страна имеет

большой опыт промышленного производства биомассы микроорганизмов на разных видах сырья и её использования в кормах животных и птицы. Широкие медико-биологические и санитарно-гигиенические исследования биомассы дрожжей, грибов и бактерий, показали их биологическую ценность и безвредность при использовании в качестве белково-углеводных и витаминных кормовых добавок при разработанных нормах введения в корма. Наиболее эффективным и научно-обоснованным путём решения проблемы снижения дефицита в трофических цепях микроэлементов, обладающих направленным физиологическим действием, является использование их не в минеральной форме, а в составе органических соединений в кормовых биологически активных добавках (БАД).

Целью исследований являлась разработка научных основ получения многофункциональных белково-углеводных кормовых добавок, обогащённых селеном, йодом, и обладающих пробиотическими свойствами, при использовании в качестве сырья целлюлозосодержащих отходов. В работе использовали отходы виноделия-гребни винограда, отходы производства стевиозита – шрот, стебли и листья стевии, зерновую дробину пивоваренного производства. Содержание клетчатки в сырье было достаточно близким, 33–38 %, но значительно различалось содержание белка, соответственно, 6.0; 13.0 и 21 % и лигнина 38, 18 и 10 %. Алгоритм разработки технологии включал следующие последовательные этапы:

1. Разработка способов подготовки целлюлозосодержащего сырья для осуществления способов его гидролиза: измельчение, термическая обработка.

2. Исследование способов гидролиза сырья с целью выбора наиболее эффективного, обеспечивающего наибольшую концентрацию редуцирующих сахаров (РВ) в гидролизатах. Исследовались процессы химического гидролиза, ферментативного прямого гидролиза при использовании грибов *Trichoderma viride* и бактерий *Bacillus cereus*, ферментативного непрямого гидролиза при использовании культуральной жидкости грибов *Trichoderma viride*, промышленных целлюлитических ферментов и специально созданных мультиэнзимных композиций (МЭК).

3. Подбор культур дрожжей и способов их культивирования. Исследовались способы глубинного и гетерофазного культивирования для обогащения субстрата белком, а также способы поверхностного культивирования грибов и бацилл.

4. Исследование закономерностей поступления и включения селена и йода в клетки дрожжей, разработка режимов обогащения дрожжей селеном и йодом, обеспечивающие их встраивание в органические соединения.

5. Исследование процессов автолиза микробной биомассы для повышения её биологической ценности и обогащения среды белковыми продуктами, необходимыми для роста молочнокислых бактерий.

6. Подбор культур молочнокислых бактерий активно развивающихся на гидролизатах и исследование их роста в условиях данной системы.

В результате проведенных исследований разработаны основы технологии биоконверсии целлюлозосодержащих субстратов, обеспечивающей по-

лучение **в одном аппарате** для культивирования микроорганизмов белково-углеводных кормовых добавок, обогащённых селеном, йодом и обладающих пробиотическими свойствами. В качестве критериев оценки исследуемых способов получения БАД использовали показатели, характеризующие качество получаемого продукта.

1. Последовательные процессы: аэробное гетерофазное культивирование дрожжей *Yarrowia lipolytica* на ферментативных гидролизатах (использовали МЭК, содержание РВ до 40г/л) пивной дробины при добавлении в питательную среду SeO_2 и KJ; - **автолиз** выросших клеток дрожжей – **анаэробное** культивирование молочнокислых бактерий *L.casei*.

Качество продукта:

- содержание сырого протеина – 33 %;
- сырой клетчатки 10 %;
- селена – 35 мг\кг;
- йода – 33 мг\кг;
- молочной кислоты 13.5 г/дм³;
- °T – 200.

2. Технология аналогична п.1. Субстрат – отходы стевиозита, ферментативный гидролиз МЭК, содержание РВ до 26г/л.

Качество продукта:

- сырой протеин – 29 %;
- сырая клетчатка – 15 %;
- содержание селена – 187 мг/кг;
- йода – 300 мг/кг;
- °T – 150.

3. Последовательные процессы: аэробное поверхностное культивирование *Tr.viride* на размельчённой пивной дробине (размер 0.5–1.5мм) – **автолиз** – **анаэробное** культивирование молочнокислых бактерий.

Качество продукта:

- сырой протеин – 33 %;
- сырая клетчатка – 13 %;
- селена – 30 мг/кг;
- йода – 300 мг/кг;
- титр молочнокислых бактерий 10⁶ КОЕ/г.

4. Анаэробное последовательное поверхностное культивирование бактерий *B.cereus* на размельчённой пивной дробине – автолиз – культивирование молочнокислых бактерий.

Качество продукта:

- сырой протеин – 30 %;
- сырая клетчатка – 8 %;
- молочная кислота – 7.5г\дм³;
- титр молочнокислых бактерий – 10⁸ КОЕ\г;
- °T – 150.

Наибольшие показатели по приросту белка на единицу используемого субстрата получены при гетеротрофазном культивировании дрожжей на ферментативных гидролизатах дробины (полученных при воздействии МЭК) – технология по п. 1. Наиболее низкие показатели по критерию удельных затрат на производство получены при твёрдофазном культивировании. При расчёте отношения удельных и капитальных затрат на единицу прироста белка эффективность способов при использовании твёрдофазной ферментации и гетерофазного культивирования близки.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Цугкиева Е.Б., Скаблов Н.С., Градова Н.Б. // Биотехнология. – 2007. – № 2. – С. 45–51.
2. Касаткина А.Н., Удалова Э.В., Градова Н.Б. // Биотехнология. – 2008. – № 2. – С. 59–64.
3. Касаткина А.Н., Градова Н.Б., Лещина Е.К. – Патент № 2391857, 2010 г.

УДК 546.06:631.871

Е.А. Гришина, С.Л. Белопухов

Российский государственный аграрный университет – Московская сельскохозяйственная академия имени К.А. Тимирязева, г. Москва, Россия

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ИЗВЛЕЧЕНИЯ ХИМИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ ИЗ ОТХОДОВ ЛЬНОПРОИЗВОДСТВА И ПРИМЕНЕНИЯ ИХ В АПК

Лен – это сельскохозяйственная культура, которую издавна выращивают в Нечерноземной зоне России. В связи с развитием льноводства в стране, увеличением посевных площадей и сборов льноволокна актуальной становится задача глубокой переработки отходов льноперерабатывающей промышленности. Для повышения рентабельности производства льна необходима комплексная переработка льноволокна, костры и семян. Основной объем отходов составляет льняная костра, невыполненные семена, остатки семенных коробочек после обмолота семян [1–3].

Объем костры после выделения волокна на льнозаводе, имеющем одну линию с мяльно-трепальным агрегатом, ежегодно составляет более 600 т. Также в отходах накапливается до 120 т остатков семенных коробочек. Более половины этой органической массы (более 350 т) скапливается в отвалах и постепенно подвергается гумификации. Нами предложено извлекать из гумифицированной костры наиболее ценный для последующего применения в качестве биологически активных веществ гуминово-фульватный комплекс (ГФК). В качестве экстрагента использованы 0,1 М растворы гидроксидов калия и аммония.

При экстракции можно извлекать до 12 % (ГФК). С использованием методов химического анализа, ИК- и УФ-спектроскопии, термогравиметрического и дифференциально-термического анализа установлено, что экстракты комплексов имеют разный химический состав и обладают различной физиологической активностью. В лабораторных условиях установлены оптимальные концентрации ГФК, обладающие ростстимулирующим действием.

Показано, что полученный таким способом препарат, обладает стимулирующим действием на семена льна-долгунца и льна масличного. Дополнительная обработка данным препаратом посевов льна в фазу всходов и в фазу елочки приводит к увеличению урожайности и качества льнопродукции (волокна и семян). Для оценки стимулирующего действия комплексов, во время полевого опыта проводили оценку морфологических характеристик: общей и технической длины стебля, диаметра стебля, числа коробочек на одном растении, формирование семян, осуществлялись фенологические наблюдения. Опыты проведены на полях Полевой опытной станции РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева в 2010–2011 гг.

Также ценным сырьем являются невыполненные семена льна, из которых могут быть извлечены различные органические соединения. Нами были проведены исследования химического состава невыполненных семян, определено содержание масла (16–18 %). Льняное масло было получено из льняных семян методом холодного отжима (ГОСТ 5791). Установлено, что в масле, полученном из невыполненных семян льна-долгунца, сумма насыщенных жирных кислот (пальмитиновой, стеариновой пентадеценовой, меристиновой, маргариновой, арахидиновой, бегеновой, лигноцериновой) составляет 6,8–10,2 %, моновенасыщенных (цис-7-гексадеценовой, пальмитолевой, олеиновой, вакценовой, цис-гадолеиновой) – 14–15,5 %, полиненасыщенных (транс-октадециловой, линолевой, линоленовой) – 74–78 %. Таким образом, преимущественно в льняном масле содержатся полиненасыщенные жирные кислоты. Содержание жиров и белков варьирует в пределах 32–42 % и 18–21 % соответственно.

Таким образом, отходы льноперерабатывающей промышленности (льняная костра, невыполненные семена, остатки семенных коробочек после обмолота семян) являются ценным сырьем, из которого можно получать различные химические соединения для медицинской, химической, лакокрасочной промышленности, строительного комплекса, а также физиологически активные вещества для использования в агропромышленном комплексе.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Белопухов С.Л., Сафонов А.Ф., Дмитриевская И.И., Кочаров С.А. Влияние биостимуляторов на химический состав продукции льноводства // Известия ТСХА, 2010. – Вып. 1. – С. 128–131.
2. Захаренко А.В., Белопухов С.Л., Дмитриевская И.И., Разумеева Л.Н. Влияние защитно-стимулирующих комплексов на урожай льна и качество волокна // Достижения науки и техники АПК. – 2009. – № 9. – С. 34–37.

3. Белопухов С.Л., Сафонов А.Ф., Дмитриевская И.И. Влияние биостимуляторов на морфологические показатели и урожайность льна-долгунца // Достижения науки и техники АПК. – 2010. – № 3. – С. 28–30.

УДК 631.81

Н.П. Засекин¹, В.И. Лопушняк², О.В. Повх³

¹Государственное учреждение Волынский центр Облгосплотдородие, г. Луцк, Украина

²Львовский национальный аграрный университет, г. Львов, Украина

³Национальный научный центр «Институт почвоведения и агрохимии имени О.Н. Соколовского», г. Харьков, Украина

ЭКОЛОГИЧЕСКИЕ ТЕХНОЛОГИИ ИЗГОТОВЛЕНИЯ НЕТРАДИЦИОННЫХ ВИДОВ ОРГАНИЧЕСКИХ УДОБРЕНИЙ

Использование природных ресурсов носит общий характер, поскольку любой вид деятельности людей вызывает изменения состояния окружающей среды. Осложнение взаимосвязей в естественных, производственных и социальных системах, рост приоритета природохозяйственных связей вызывают необходимость их регуляции. Поэтому появляются две взаимосвязанные проблемы:

- первая – влияние ограниченности природных ресурсов на их использование и развитие общественного производства, растущее загрязнение среды;
- вторая – необходимость разработки комплекса мероприятий по ликвидации этой опасности для последующего развития общества.

Веками отработывался на практике почти безотходный принцип в системе «почва-растение-животное-почва». Домашний скот всегда был источником органических удобрений, которые использовались в растениеводстве. Однако в последние годы связь между животноводством и растениеводством оказался нарушенным. Чтобы сделать современное сельскохозяйственное производство практически безотходным, нужно соединить эти разрознены сегодня отрасли сельского хозяйства, соединивши их современным производством органических удобрений и биогаза.

За последние годы в Волынской области увеличилось количество птицефабрик, которые выращивают кур – бройлеров или кур – несушек (торговые марки «Пан Курчак», «Наша Ряба»). Из-за этого остро появился вопрос о рациональном использовании жидких отходов, что в настоящий момент накапливается вблизи ферм и комплексов, утрудняет их нормальное функционирование и загрязняет окружающую среду. В период таяния снега теряется треть годового объема органики, в том числе больше трети имеющегося в ней фосфора и азота. Поэтому возникла острая необходимость разработать и внедрить эффективные способы обеззараживания и

утилизации этих отходов. При условии безопасного их обеззараживания разрешается одновременно две проблемы:

- во-первых, экологическая – птичий помет незагрязняющая окружающая среда;
- во-вторых, агрохимическая – в результате ферментации получают удобрения с высокими агроэкологическими показателями.

В Украине развивается новое направление производства удобрений и препаратов, которые изготовлены с помощью разных методов (ферментации, экстракции, компостирования, смешивания, синтеза, и тому подобное).

Новым видом органических удобрений, которые способствуют воссозданию плодородия почв, являются высокоэффективные, экологически безопасные, биологически активные удобрения универсального действия, которые производятся методом ферментации из естественного органического вещества. Преимуществом таких удобрений является то, что их приготовление в ферментационных камерах длится лишь 6–14 дней, что значительно снижает потери питательных элементов, особенно азота. Кроме этого, технология приготовления удобрений обеспечивает полное уничтожение патогенной микрофлоры и семян сорняков. Ферментация позволяет перерабатывать органические отходы и привлекать их в малый биологический круговорот элементов в форме химических соединений с высокой засвоиваемой способностью корневыми системами.

Органическое удобрение универсальное имеет темно-коричневый или черный цвет и в зависимости от исходного сырья, сыпучую структуру с размером частиц 2–5 мм, объемный вес продукта – 0,65–0,75 т/м куб.

Такие удобрения отмечаются также высокими теплоизоляционными свойствами и влагоудерживающей способностью, легко поддаются грануляции, приобретая при этом дополнительные позитивные свойства (возможность локального внесения в почву). За счет этого уменьшаются нормы внесения, улучшается технологичность использования, и тому подобное.

За своими агрохимическими свойствами ферментированные органические удобрения являются комплексными удобрениями, которые содержат макро- (азот, фосфор, калий) и микро- (медь, цинк, бор, магний) и другие элементы питания растений.

Результатами исследований Волынского центра «Облгосплодородие» и Полесской опытной станции ННЦ «Институт почвоведения и агрохимии имени О.Н. Соколовского» установлено, что использование ферментированных удобрений вместе с повышением плодородия почвы обеспечивает:

- рост урожайности клубней картофеля, в зависимости от нормы внесения на 15–70 %;
- дополнительный сбор 10,4–29,4 ц/гектара крахмала из единицы площади севооборота;
- накопления в почве азота, подвижных форм фосфора и обменного калия, в среднем на величину 5–31 мг/кг почве;

- уменьшение гидролитической кислотности, повышения показателя рН, на 0,2–0,7 единицы;
- усиление интенсивности микробиологических процессов, содействию росту численности полезной микрофлоры, до 5 раз.

Нашими исследованиями установлено, что применение ферментированного удобрения способствует росту содержимого N_{луж} на 10,6–15,3, P₂O₅ – 27,4–66,9, K₂O – 7,6–25,1 мг/кг, гумусу – 0,01–0,06 %, повышению показателя рН на 0,2–1,1 единицы, росту урожайности клубней картофеля на 14,2–96,0 процента, обеспечивает улучшение качественных показателей продукции.

Следовательно, проведенные полевые и лабораторные исследования указывают на реальные возможности изготовления и эффективного использования ферментированных удобрений в условиях Западного Полесья Украины. Целесообразно продолжить исследование в направлении совершенствования технологии изготовления ферментированного удобрения, определения оптимальных норм, сроков и способов применения, изучения влияния на показатели биологической ценности урожая.

УДК 579.64

Е.В. Иванова, О.Ю. Ксенофонтова

Саратовский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского,
г. Саратов, Россия

ПОЧВЕННЫЕ МИКРООРГАНИЗМЫ ДЕСТРУКТОРЫ «ПРОМЕТРИНА»

По масштабам производства и потребления одной из ведущих групп гербицидов являются препараты сим-триазинового ряда. В результате их многолетнего повсеместного применения и высокой персистентности реальна опасность стойкого загрязнения почвы, как сим-триазинами, так и продуктами их трансформации [1]. Поскольку эти гербициды на сегодняшний день остаются неотъемлемой частью сельскохозяйственных технологий, то очень остро стоит вопрос о выборе оптимальных стратегий трансформации и удаления их из окружающей среды.

Как известно, любой микроорганизм испытывает острую потребность в углероде, азоте, фосфоре, сере, а также других химических элементах [2]. Исследуемый пестицид сим-триазинового ряда «Прометрин» в своем составе имеет азот, углерод и серу, поэтому может выступать в качестве источника этих элементов, окисляться, а, следовательно, подвергаться деградации. Перспективным подходом при ремедиации загрязненных почв является применение биопрепаратов на основе микроорганизмов – деструкторов сим-триазинов.

Цель настоящего исследования – изучение деструктивных характеристик культур, использующих «Прометрин» в качестве единственного источника органических веществ.

Материалы и методы.

1. Пестицид «Прометрин», $C_{10}H_{19}N_5S$, 2-метилтио-4,6-бис-(изопропиламино)-симм-триазин – производное циануровой кислоты. Для проведения экспериментов использовали водный раствор гербицида.

2. Культуры микроорганизмов, полученные методом накопительных культур и пассировки культур на средах с возрастающими концентрациями пестицида (10 штаммов гетеротрофных бактерий) [3].

Изучение деструкции пестицидов проводили путем внесения чистых культур штаммов деструкторов в жидкую минеральную синтетической среде М9, в качестве единственного органического источника был добавлен «Прометрин» в концентрации 50 ПДК (25 мг/л).

Посевная доза бактерий в 100 мл среды составляла 1 мл взвеси суточных культур, приготовленной по стандарту мутности БАК-10 (ООО «ОР-МЕТ»). Рост культуры контролировали по изменению оптической плотности культуральной жидкости на спектрофотометре СФ102 (НПО ИНТЕР-ФОТОФИЗИКА) при длине волны $\lambda=600\text{nm}$ (ОП₆₀₀). Концентрацию клеток определяли по уравнению калибровочного графика зависимости ОП₆₀₀ от концентрации клеток в мл.

Концентрацию пестицида в среде культивирования деструкторов определяли сотрудники биотехнологической лаборатории НИИ ТОНХиБТ. Для записи спектров использовали спектрофотометр hr8452 A DIODE ARRAY (США).

Результаты и обсуждение. В результате проведенных исследований, наилучшие показатели роста культуры в среде М9 с Прометрином были отмечены у *P. solonacearum*, *P. putida* и *B. drentensis* (рис. 1).

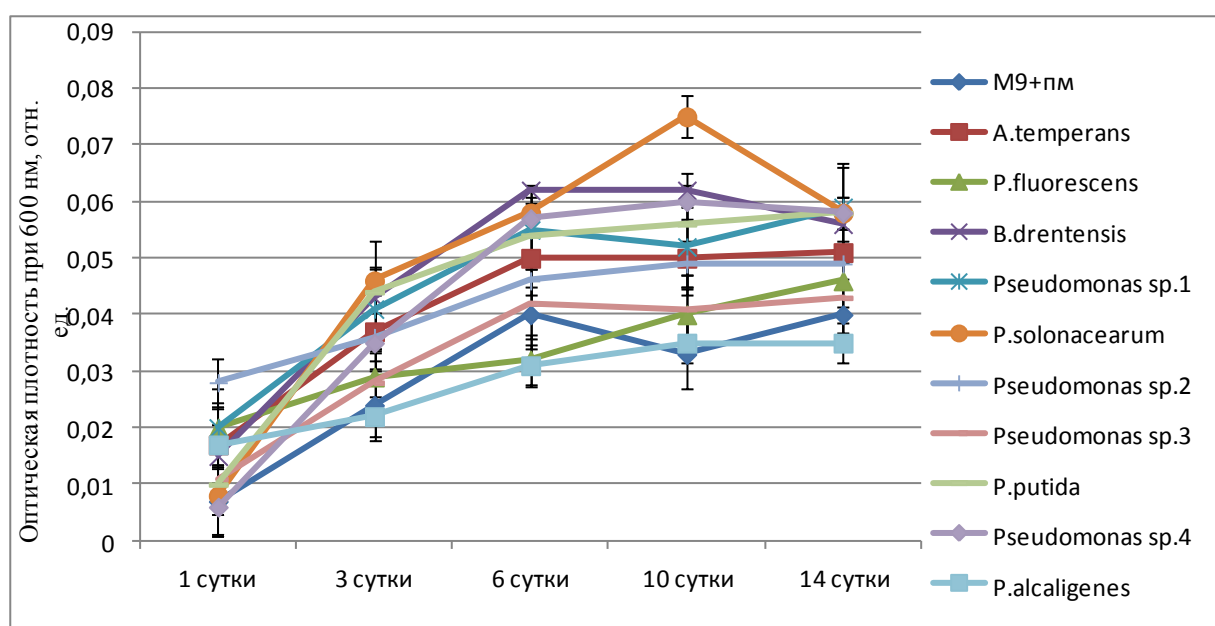


Рис. 1. Рост штаммов в среде М9 с Прометрином в концентрации 50 ПДК (25мг/кг)

Анализируя данные концентрации пестицида в среде, наиболее значимая скорость разложения пестицида была отмечена в среде культивирования штамма *Pseudomonas putida*, который в течение 9 суток снизил концентрацию Прометрина более чем на 70 % (рис. 2).

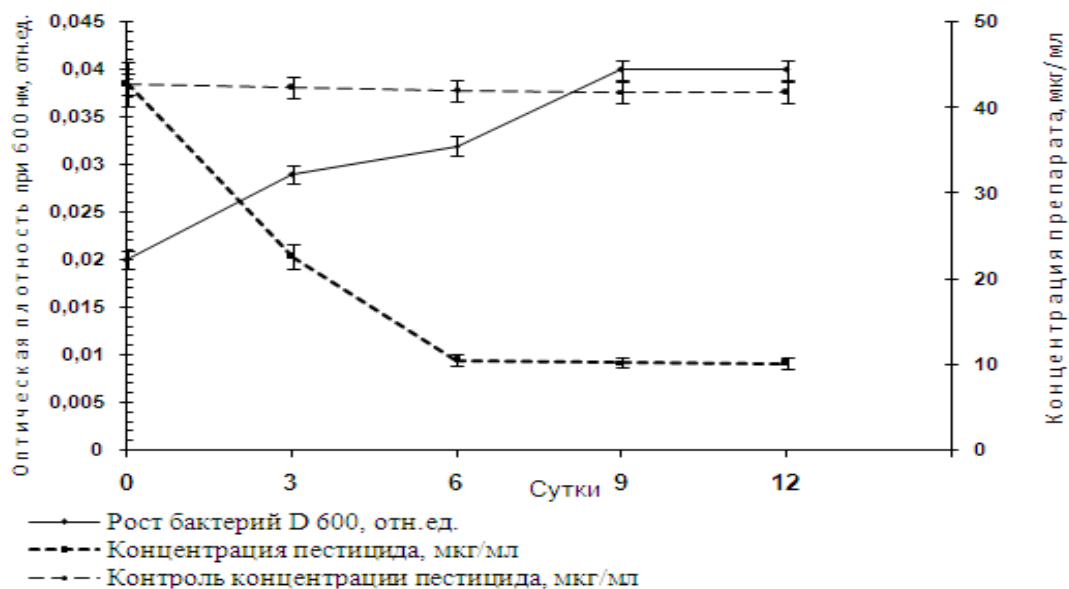


Рис. 2. Деструкция Прометрина бактериями штамма *Pseudomonas putida*

Вследствие отсутствия у *Pseudomonas putida* факторов патогенности и наличия высокой деструктивной активности можно считать данный штамм перспективным для использования в составе биопрепаратов, предназначенных для биоремедиации земель, загрязненных Прометрином.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Горбатова О.Н., Жердев А.В., Королева О.В. Триазиновые пестициды: структура, действие на живые организмы, процессы деградации // Успехи биологической химии. – 2006. – Т. 46. – № 2. – С. 323–348.
2. Звягинцев Д.Г., Бабьева И.П., Зенова Г.М. Биология почв. – М.: Изд-во МГУ, 2005. – 445 с.
3. Нетрусов А.И., Егорова М.А., Захарчук Л.М. и др. Практикум по микробиологии: Учеб. пособие для студ. высш. учеб. заведений. – М.: Издательский центр «Академия», 2005. – 608 с.

С.А. Киященко, Н.А. Линько, А.А. Беляченко, О.В. Абросимова

Саратовский государственный технический университет
имени Гагарина Ю.А., г. Саратов, Россия

ПРОСТРАНСТВЕННАЯ НЕОДНОРОДНОСТЬ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КАЧЕСТВА ВОДЫ МАЛЫХ РЕК САРАТОВСКОЙ ОБЛАСТИ

Поскольку вода используется при производстве любого вида продукции, а также непосредственно для питья, соответствие ее качества санитарно-микробиологическим показателям чрезвычайно важно. Водным путем могут передаваться кишечные инфекции – холера, брюшной тиф, сальмонеллез, дизентерия, гепатит А, и различные грибковые заболевания. В связи с этим основной целью санитарно-микробиологического исследования воды является определение наличия в воде числа микроорганизмов и их видовой принадлежности. Кроме того важно определить источник их попадания в воду малых рек для предупреждения распространения инфекционных заболеваний среди населения.

В ходе исследования был проведен анализ проб воды рек Чардым и Соколка вблизи сел Чернышевка, Первомайское и Лох. Пробы отбирались в 500 м выше по течению реки (точка 1), каждые 500 м в пределах населенного пункта (точка 2, 3, 4) и в 500 м ниже его границы (точка 5). Вода для анализа забиралась в объеме 0,5 л в стерильные стеклянные бутылки, закрытые ватно-марлевыми пробками и завязанные сверху бумажными колпачками [1, 2]. Анализ проводился с использованием трех питательных сред: Эндо (для выделения энтеробактерий), Чапека (для выделения микромицетов) и ГРМ-агар (для выделения гетеротрофов) по стандартным методикам [3]. Подсчет колоний микроорганизмов после инкубации на поверхности среды и в ее глубине проводился в трех повторностях. Полученные результаты выражали в колониеобразующих единицах в 1 мл воды (КОЕ/мл) (табл.).

На основании результатов эксперимента, приведенных в таблице, можно сделать следующие выводы: наибольшее число микроорганизмов отмечается в воде рек вблизи нижней по течению реки границы населенных пунктов. Это является результатом человеческой деятельности. Высокие показатели загрязнения могут быть обусловлены либо наличием фермы или частного подсобного хозяйства, или наличием стока бытовых отходов. Увеличение численности наблюдается во всех систематических группах микроорганизмов. При этом численность микроорганизмов быстро снижается при удалении от границ населенного пункта. Отмечено также, что в более крупном селе (с. Лох) колебания численности микроорганизмов в пробах более существенны.

**Оценка численности микроорганизмов в пробах воды
из рек Чардым и Соколка вблизи с. Чернышевка и с. Лох**

Место отбора пробы	Количество микроорганизмов, КОЕ/мл		
	энтеробактерии	микромикеты	гетеротрофы
с. Чернышевка, точка 1.	<u>10,0-24,0*</u> 17,7	<u>10,0-22,0</u> 15,7	<u>48,0-83,0</u> 65,0
с. Чернышевка, точка 2.	<u>0,0-1,0</u> 0,7	<u>9,0-12,0</u> 11,7	<u>6,0-12,0</u> 9,0
с. Чернышевка, точка 3.	<u>32,0-53,0</u> 41,2	<u>21,0-30,0</u> 26,0	<u>79,0-92,0</u> 85,0
с. Чернышевка, точка 5.	<u>4,0-21,0</u> 8,5	<u>23,0-65,0</u> 45,0	<u>65,0-78,0</u> 71,7
с. Лох, точка 1	<u>0,0-2,0</u> 0,7	<u>16,0-55,0</u> 30,7	<u>1,0-22,0</u> 11,0
с. Лох, точка 2	<u>0,0-0,0</u> 0,0	<u>22,0-61,0</u> 44,0	<u>5,0-46,0</u> 19,3
с. Лох, точка 3	<u>2,0-17,0</u> 9,0	<u>3,0-32,0</u> 13,0	<u>14,0-92,0</u> 51,3
с. Лох, точка 4	<u>0,0-9,0</u> 3,7	<u>103,0-221,0</u> 151,7	<u>1,0-16,0</u> 6,3
с. Лох, точка 5	<u>2,0-14,0</u> 6,0	<u>13,0-55,0</u> 25,7	<u>1,0-15,0</u> 7,7

**Примечание:* над чертой минимальное и максимальное значение числа колоний микроорганизмов на чашку Петри, под чертой – среднее значение.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Кузнецов С.И., Дубинина Г.А. Методы изучения водных микроорганизмов. – М.: Наука, 1989. – 288 с.
2. Методы санитарно-микробиологического анализа питьевой воды: Метод. Указания МУК 4.2.671-97. / Минздрав России. – М., 1997. – 36 с.
3. Практикум по микробиологии: Учеб. Пособие для студентов. Высш. Учеб. Заведений / А.И. Нетрусов, М.А. Егорова, Л.М. Захарчук и др. – М.: Академия, 2005. – 608 с.

УДК 577.151

М.А. Купряшина¹, С.В. Петров², В.Е. Никитина¹

¹Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН,
г. Саратов, Россия

²Саратовский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского,
г. Саратов, Россия

СТИМУЛЯЦИЯ ЛИГНИН- И Mn-ПЕРОКСИДАЗНОЙ АКТИВНОСТИ АЗОСПИРИЛЛ СОЕДИНЕНИЯМИ АРОМАТИЧЕСКОЙ ПРИРОДЫ

В настоящее время большое внимание уделяется проблеме биodeградации устойчивых к химическому разложению соединений ароматической

природы и полифенолов. Преимущество биологических методов деградации перед химическими и физическими заключается в их низкой капиталоёмкости и экологической безопасности. Разработка экологически чистых процессов биоконверсии и утилизации фенольных соединений, в том числе лигнинсодержащих материалов, способствовала интенсификации исследований механизмов деградации данных веществ и роли ферментов микроорганизмов в этом процессе. Ранее нами установлена свойство бактерий рода *Azospirillum* – наиболее исследуемых ассоциативных diaзотрофов, стимулирующих рост и развитие растения-хозяина – синтезировать мультиферментный комплекс фенолоксидазного действия [1]. Субстратная специфичность фенолоксидаз позволяет вовлекать в реакции окисления широкий ряд соединений, включающий *o*-, *p*-дифенолы, аминифенолы, ароматические амины, полифенолы и полиамины. В связи с этим, целью нашей работы явилось изучение способности лигнин- и Mn-пероксидазы окислять соединения ароматической природы, а также исследование стимуляции активности данных ферментов фенольными соединениями. Для настоящего исследования был выбран штамм *A. brasilense* Sp245 из коллекции микроорганизмов ИБФРМ РАН. Культивирование бактерий осуществляли на жидкой среде. Фенольные соединения вносили в среду выращивания при инокуляции, использовались: пирокатехин, азино-бис (3-этилбензотиазолин-6-сульфоната) (АБТС), 2,6-диметоксифенол (ДМОФ), сиригальдазин в концентрациях 0.1 мМ; 0.5 мМ и 1 мМ. Пробы для определения внеклеточной ферментативной активности отбирали через 24 и 36 часов после инокуляции (соответственно логарифмическую и стационарную фазу роста). Активность Mn-пероксидазы определяли спектрофотометрически при длине волны 468 нм по скорости окисления 2,6-диметоксифенола [2], лигнин-пероксидазы – при 310 нм по скорости окисления вератрилового спирта [3].

Результаты исследования показали, что *A. brasilense* Sp245 способен окислять соединения ароматической природы. Нами установлено, что процесс биodeградации фенольных соединений осуществляется уже на первые сутки выращивания, о чем свидетельствует изменение окраски культуральной жидкости, вследствие накопления продуктов реакции окисления, что подтверждается спектрофотометрически.

При изучении влияния различных концентраций пирокатехина, сиригальдазина, 2,6-диметоксифенола, АБТС на лигнин- и Mn-пероксидазную активность *A. brasilense* Sp245 нами установлено, что фенольные соединения способны стимулировать активность ферментов. При этом максимальная Mn-пероксидазная активность (в 3,3 раза превышающая контрольные значения) регистрировалась при содержании в среде культивирования 0,1 мМ сиригальдазина и 0,5 мМ пирокатехина (24 часа культивирования) и 0.1 мМ и 1 мМ АБТС (36 часов культивирования). Активность лигнин-пероксидазы *A. brasilense* Sp245 в 2 раза превышала контрольные значения в присутствии АБТС при всех исследуемых концентрациях через 24 часа культивирования и в 4 раза при содержании 1 мМ АБТС и 1 мМ 2,6-

диметоксифенола в среде через 36 часов. Следует отметить, что активность Mn-пероксидазы *A. brasilense* Sp245 в большей степени стимулируется присутствием фенольных соединений в среде культивирования, чем лигнин-пероксидазы. В связи с вышесказанным, мы можем предположить, что именно Mn-пероксидаза мультиферментного комплекса *A. brasilense* Sp245 ответственна за биodeградацию простых фенолов, тогда как лигнин-пероксидаза вероятнее всего участвует в окислении полифенолов.

На сегодняшний день для промышленного получения лигнин- и Mn-пероксидазы для биodeградации огромного количества веществ, обладающих слабой биодоступностью, таких как пестициды, минеральные удобрения, моющие средства, радионуклиды, синтетические красители, полиароматические углеводороды, используют базидиомицеты. Однако, принимая во внимание тот факт, что бактерии значительно быстрее, чем грибы, наращивают биомассу, являются более пластичными организмами, исследование фенолоксидаз азоспирилл может открыть большие перспективы их использования в биотехнологии.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Никитина В.Е. Фенолоксидазная активность бактерии рода *Azospirillum* // Микробиология. – 2010. – Т. 79. – № 3. – С. 344–351.
2. Paszczynski A. Manganese peroxidase of *Phanerochaete chrysosporium*: purification / A. Paszczynski, R. Crawford, V.B. Huynh // Methods Enzymol. – 1988. – Vol. 161. – P. 264–270.
3. Orth A. B., Royse D. J., Tien M. Ubiquity of lignin-degrading peroxidases among various wood-degrading fungi/ A.B. Orth, D.J. Royse., M. Tien // Appl. Envir. Microb. – 1993. – Vol. 59, №12. – P. 4017–4023.

УДК 581.1; 58.02

З.М. Курамина¹, Ю.В. Смирнова¹, Р.М. Хайруллин²

¹Стерлитамакский филиал Башкирского государственного университета, г. Стерлитамак, Россия

²Учреждение Российской академии наук, Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН, г. Уфа, Россия

ВЛИЯНИЕ ЭНДОФИТНЫХ БАКТЕРИЙ *BACILLUS SUBTILIS* НА *SINAPIS ALBA* ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ИОНОВ НИКЕЛЯ

Введение. Несмотря на то, что никель является эссенциальным элементом, для большинства растений высокие концентрации его токсичны. Фитотоксичность никеля обусловлена образованием в растительной клетке активных форм кислорода и развитием окислительного стресса.

В настоящее время все большее значение приобретают исследования в области биотехнологий, использующих микроорганизмы для повышения

устойчивости растений к различным стрессовым факторам, в том числе, к тяжелым металлам.

Ранее нами была показана возможность использования эндофитных бактерий *Bacillus subtilis* для повышения устойчивости растений к действию ряда тяжелых металлов. Однако, остается неясным вопрос о роли эндофитных бактерий в развитии окислительного стресса растений, вызванного тяжелыми металлами.

Цель настоящей работы заключалась в изучении влияния обработки семян *Sinapis alba* клетками *B. subtilis* штаммов 26Д и 11ВМ на рост растений, активность ферментов-антиоксидантов и образование малонового диальдегида (МДА) при стрессе, вызванном ионами никеля.

Методика. Объектом исследования служили растения горчицы белой (*Sinapis alba* L.). Семена перед экспериментом тщательно промывали мыльным раствором, затем выдерживали 1 мин. в 96 %-ном этаноле и трижды ополаскивали в стерильной дистиллированной воде.

В опытах использовали 20-часовую культуру бактерий, растущую на мясо-пептонном агаре при +37°C. Клетки бактерий отмывали раствором 0,001 М KCl. 1 г семян обрабатывали в ламинар-боксе 20 мкл суспензии клеток бактерий с титром 1 млрд/мл. Инокулированные и контрольные семена выращивали в чашках Петри (d=140 мм, h=24 мм) на фильтровальной бумаге, смоченной дистиллированной водой или раствором $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$. Раствор соли готовили в пересчете на содержание иона металла в концентрации 40 мг/л. Растения выращивали при температуре 18–20 °C. Измерение сырой массы и отбор проб для определения активности ферментов проводили на 5 сутки от начала эксперимента.

Активность каталазы определяли согласно методике Королук с соавторами (1988), основанной на способности перекиси водорода образовывать с солями молибдена стойкий окрашенный комплекс. Активность пероксидазы оценивали согласно методике Хайруллина с соавторами (2001), исходя из количества окисленного ортофенилендиамина. Содержание МДА измеряли, используя метод Costa с соавторами. Метод основан на образовании окрашенного комплекса между МДА и тиобарбитуровой кислотой при нагревании.

Все эксперименты проводили в трех биологических повторностях.

Результаты исследования. В ходе экспериментов было отмечено, что растения, обработанные клетками *B. subtilis*, имели лучшие показатели роста по сравнению с необработанными (контрольными) проростками. Так, сырая масса корней растений, инокулированных бактериями *B. subtilis* 26Д и 11ВМ, была больше контрольных на 9 % и 28 %, побегов – на 11 % и 25 %, соответственно.

У проростков горчицы, обработанных бактериями, были отмечены и более высокие показатели активности каталазы и пероксидазы по сравнению с необработанными растениями. Так, показатели активности ферментов каталазы и пероксидазы в побегах растений, обработанных *B. subtilis*

шт. 11ВМ, были выше на 87 % и 92 %, соответственно, по сравнению с контрольными.

При воздействии ионов никеля наблюдали уменьшение показателей сырой массы горчицы. Корневая система проростков была более чувствительна к действию ионов металла: угнетение роста корня составило 20 % по сравнению с растениями, выросшими на дистиллированной воде. У проростков, обработанных клетками бактерий, в присутствии ионов металла сырая масса была больше, чем у необработанных. Так, масса корней проростков, инокулированных бактериями *B. subtilis* 26Д и 11ВМ, была больше необработанных, выросших в растворе никеля, на 10 % и 27 %, а побегов – на 15 % и 19 %, соответственно.

Для анализа развития окислительного стресса, вызванного ионами никеля и изучения адаптационных свойств растений горчицы, была изучена активность ферментов-антиоксидантов (каталазы и пероксидазы) и продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ).

В ходе экспериментов было установлено, что в присутствии ионов никеля (40 мг/л) активность каталазы снижалась как в корнях, так и в побегах растений. Активность пероксидазы при воздействии металла снижалась только в побегах горчицы. У растений, обработанных клетками *B. subtilis*, при воздействии никеля активность каталазы и пероксидазы (за исключением корней) была выше в сравнении с необработанными растениями.

Окислительный стресс, вызванный ионами никеля, может инициировать ПОЛ и нарушение мембранных структур. О степени развития окислительного стресса судили по одному из продуктов ПОЛ – малонового диальдегиду. В растениях, инокулированных бактериями, при воздействии ионов никеля уровень МДА был ниже по сравнению с неинокулированными, что может свидетельствовать о меньшей интенсивности развития окислительного стресса.

Таким образом, обработка семян горчицы клетками бактерий *B. subtilis* ослабляла токсическое действие ионов никеля, что проявлялось в стимуляции роста, повышении активности ферментов и снижении концентрации МДА в растениях.

УДК 636.5.004.82

Л.Е. Матросова

Федеральный центр токсикологической, радиационной
и биологической безопасности, г. Казань, Россия

ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ДРОЖЖЕВЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ ДЛЯ УТИЛИЗАЦИИ ОРГАНИЧЕСКИХ ОТХОДОВ

В настоящее время отечественный и зарубежный рынок представлен широким ассортиментом биопрепаратов используемых для утилизации

различного вида органического сырья, рекультивации нефтезагрязненных почв и водных объектов и т.п. Однако, при интродукции не исключается снижение численности или гибель внесенных микробных популяций, вследствие вытеснения микроорганизмов-деструкторов местной микрофлорой, высокой кислотностью или щелочностью субстрата, содержанием токсических веществ. В связи с этим, поиск эффективных и устойчивых к различным воздействиям штаммов микроорганизмов-деструкторов, вместе с тем экологически безопасных, продолжает оставаться актуальной задачей.

Настоящая работа посвящена оценке возможности использования дрожжевых микроорганизмов для утилизации органических отходов птицеводства.

Объектами исследования явились дрожжи семейства *Saccharomycetaceae*, выделенные из антропогенно загрязненного почвенного грунта. Используемые микроорганизмы непатогенны (не вирулентные, не токсигенные, токсичностью не обладают), не проявляют фитопатогенных свойств. Одними из преимуществ их является быстрое наращивание биомассы, не требовательность к факторам роста, рост при температуре 4–45 °С, pH 2–10, в присутствии 10 % NaCl и химических загрязнителей, что позволяет вносить их в разнообразные субстраты, где другие микробные сообщества неспособны полноценно функционировать. Штаммы обладают каталазной, уреазной, амилалитической, целлюлозолитической, протеолитической, липазной активностью.

На модельных лабораторных опытах показана эффективность использования дрожжевых микроорганизмов для утилизации органических отходов птицеводства. Внесение данных микроорганизмов ускоряет процесс деструкции, обезвреживания органических отходов. На 30 сут опыта в обработанном субстрате отсутствуют патогенные микроорганизмы, в том числе микроорганизмы рода *Salmonella*. Отмечается значительное снижение бактерий группы кишечной палочки и энтерококков, в сравнении с исходным и контрольным образцом. Так, количество бактерии группы кишечной палочки и энтерококков составило менее 1 lg КОЕ/г. В контрольном образце (не обработанном образце) количество бактерий группы кишечной палочки было выше на 80 % ($P < 0,001$) и составило соответственно 5 lg КОЕ/г, энтерококков на 75 % ($P < 0,001$) – 4 lg КОЕ/г. Количество сальмонелл составило 3,3 lg КОЕ/г.

Обработанный субстрат представляет собой темно-коричневого цвета массу без неприятного специфического запаха, что объясняется способностью дрожжевых микроорганизмов к ассимиляции азота из мочевины, обезвреживанию субстрата от бактерий, вызывающих гнилостные анаэробные процессы, сопровождающиеся выделением вредных газов – аммиака, сероводорода и т.п.

Результаты проведенных исследований свидетельствуют о целесообразности использования дрожжевых микроорганизмов для утилизации и обезвреживания органических отходов, позволяющих устранить экологический риск функционирования птицеводческих предприятий. Внедрение данной техно-

логии позволит снизить экономические затраты на хранение и вывоз пометных масс, повысить плодородие почвы и получить экологически безопасные продукты питания и корма для сельскохозяйственных животных.

УДК 663.18

В.П. Молчанов, Э.М. Сульман, А.М. Сульман

Тверской государственный технический университет, г. Тверь, Россия

РАЗРАБОТКА РЕСУРСОСБЕРЕГАЮЩЕЙ ТЕХНОЛОГИИ БИОКАТАЛИТИЧЕСКОЙ УТИЛИЗАЦИИ ОРГАНОГЕННЫХ ОТХОДОВ С ПОЛУЧЕНИЕМ КОРМОВЫХ ДОБАВОК

В последние годы большое значение придается развитию производства кормовых добавок, необходимых для балансирования полноценных рационов сельскохозяйственных животных. В связи с бурным развитием биотехнологии и микробиологической промышленности появилась возможность получать кормовые добавки из органических отходов различного состава методом биокаталитической конверсии.

В работе был исследован процесс биоконверсии смеси органических отходов животного и растительного происхождения с дополнительным внесением в исходную смесь различных солей аскорбиновой кислоты. Выбор солей аскорбиновой кислоты в качестве биостимуляторов не случаен. Это связано с тем, что сама аскорбиновая кислота не является фактором роста для микроорганизмов, но она необходима для полноценной жизнедеятельности сельскохозяйственных животных. В то же время, микро- и макроэлементы, входящие в состав аскорбинатов в дозах, не превышающих нормы потребления их животными, способны оказывать благоприятное влияние на протекание процесса биоконверсии.

В многочисленных экспериментах при соответствующих повторах было изучено влияние на процесс биоконверсии аскорбинатов следующих металлов: кальция, калия, натрия, кобальта, марганца, магния, цинка и железа. В процессе биоферментации определяли развитие физиологических групп микроорганизмов, способных к преимущественному разрушению органических веществ.

Проведенные микробиологические исследования позволили сделать однозначный вывод о том, что внесение аскорбинатов положительно повлияло на процесс биоферментации – численность популяции микроорганизмов значительно возросла. Анализ полученных экспериментальных данных показывает, что 60-часовая выдержка органической массы приводит к прекращению экспоненциального роста численности микроорганизмов, и на фоне наиболее полной биотрансформации питательных компонентов субстрата осуществляется синтез вторичных метаболитов.

Выявление в продукте ферментации аминокислосинтезирующих микроорганизмов – опосредованный способ определения потенциальной ценности конечного продукта, рекомендуемого к использованию в качестве кормовой добавки. Относительное содержание аминокислосинтетиков достигало высоких значений в ходе всего процесса, что дало основания предполагать накопление в конечном продукте мономеров белковой субстанции – свободных аминокислот.

Весьма велика роль аминокислот, как основных компонентов протеина в кормлении животных. Для того чтобы в организме животных происходило постоянное образование и обновление белков, они должны получать с кормами нужное количество аминокислот в необходимом соотношении. Однако многие аминокислоты могут находиться в форме, недоступной для усвоения животными организмами. Именно поэтому определение наличия свободных аминокислот в продуктах ферментации имеет огромное значение.

Практически все использованные соли аскорбиновой кислоты существенно интенсифицировали процесс образования свободных аминокислот. Исключение составили эксперименты с аскорбинатами кобальта и натрия, в которых количество свободных аминокислот в конечном продукте было таким же, как и в контрольной пробе без биостимуляторов. Почти идентичные результаты микробиологических исследований и исследований аминокислотного состава конечного продукта были получены при внесении в исходную смесь аскорбинатов марганца и магния. Это может быть объяснено тем, что в целом ряде ферментативных реакций марганец действует как синергист или заместитель магния.

Однако особого внимания заслуживают опыты с аскорбинатами железа и цинка, поскольку в пробах с применением именно этих аскорбинатов наблюдался максимальный рост численности аминокислосинтезирующих микроорганизмов. В контрольной пробе без биостимуляторов происходило увеличение содержания свободных аминокислот в среднем в 14,5 раза. Исследования аминокислотного состава продукта показали увеличение общего содержания свободных аминокислот в 37,6 раза в опытах с аскорбинатом железа и в 35,9 раза в опытах с аскорбинатом цинка. Особое влияние последнего на синтез аминокислот может быть объяснено тем, что катионы цинка принимают активное участие в формировании структуры ДНК-матрицы белкового синтеза. Увеличение содержания свободных аминокислот при воздействии аскорбината железа объясняется тем, что железо необходимо для нормальной деятельности многих окислительно-восстановительных ферментов, для переноса кислорода и в других процессах метаболизма.

Многочисленные анализы конечного продукта биоконверсии доказывают возможность его использования в качестве премикса при разработке полноценных рационов для крупного рогатого скота и сельскохозяйственной птицы. Внося таким образом различные

биостимуляторы, возможно производить целевой биосинтез кормовых добавок с теми или иными заранее заданными свойствами. Выполненные исследования показывают, что использование биологически активных стимуляторов при производстве кормов и кормовых добавок, а вследствие этого достаточная концентрация необходимых аминокислот в них, приводит к увеличению привесов, уменьшению расхода кормов и даже улучшают физиологические показатели животных.

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 12-08-00015).

УДК 574.628.35

Н.В. Морозов, О.В. Жукова

Казанский (Приволжский) федеральный университет, г. Казань, Россия

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ШТАММОВ УГЛЕВОДОРОДОКИСЛЯЮЩИХ МИКРООРГАНИЗМОВ ДЛЯ ОЧИСТКИ СТОЧНЫХ ВОД СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ПРЕДПРИЯТИЙ ОТ НЕФТЕПРОДУКТОВ МАЛОЙ КАНАЛИЗАЦИИ

Сельскохозяйственная отрасль, использующая в значительных количествах нефтепродукты по глубине и многообразию негативных воздействий, остается в числе объектов, загрязняющих окружающую среду. Наиболее ощутимо эти воздействия проявляются в условиях широкой распространенности автозаправочных и машинотракторных станций, многочисленных автохозяйств и прочей техники (Хасанов И.Ю. и др., 2003).

Предотвращение поступления отходов данных производств в окружающую среду, утилизация загрязнений на конкретных объектах сброса нефтепродуктов со сточными водами – сложная эколого-инженерная задача. Многочисленные предприятия хранения и транспортировки нефтепродуктов, средние и малые предприятия сельскохозяйственной, автотранспортной, бытовой и других отраслей промышленности, использующие нефть и нефтепродукты, располагают, как правило, примитивными очистными сооружениями или вовсе их не имеют. Это приводит к неизбежному попаданию нефтепродуктов в окружающую среду, ухудшая санитарно-гигиеническое состояние почвы, водного и воздушного бассейнов и соответственно отрицательно влияя на растительный и животный мир. Поэтому очистка нефтесодержащих сточных вод, особенно мелких и средних предприятий, дающих в сумме огромное количество стоков, трудно поддающихся обработке обычными способами – актуальная задача.

Среди известных технологий по ликвидации углеводородных загрязнений особое место занимают технологии с использованием консорциумов и биопрепаратов, созданных на основе аборигенной микрофлоры, присутст-

вующей в очищаемой акватории или сточной воде. При оптимальном выборе консорциума микроорганизмов и концентрации биостимулирующих веществ удастся ускорить биологическое окисление нефтяных загрязнений в десятки и сотни раз и снизить остаточное содержание нефтепродуктов до конечных продуктов окисления – CO_2 и H_2O (Морозов Н.В., 2001).

Путем целенаправленной селекции нами создан консорциум штаммов нефтеокисляющих микроорганизмов, «работающих» во взаимосвязи направленного действия, конечная цель которого – достижение полноты биодеструкции нефти и разнообразных углеводов. Консорциум представляет собой, сформированные в ассоциацию девять штаммов углеводородокисляющих микроорганизмов со следующими свойствами:

- окислительная активность консорциума по конечному продукту окисления составляет 2041 мг CO_2 за 20 суток;
- способен расти на обедненной питательной среде, а также с высокой скоростью окислять нефть, включая ароматические углеводороды, содержащиеся в парафинах широкой фракции и тяжелой нефти, при 5–35 °С;
- устойчив в длительном непрерывном процессе очистки от нефти, растет в широком диапазоне рН от 2,5 до 10 единиц;
- простота технологии изготовления и жидкая форма препарата.

Одним из основных преимуществ нашего консорциума бактерий, является их уникальная способность адаптироваться к конкретным условиям применения. Практически на каждом предприятии есть труднодоступные участки и сети, очистка которых традиционными методами весьма проблематична. Бактерии, легко переносятся потоками воды и равномерно заселяют загрязненные территории, эффективно справляются со своей задачей даже на проблемных участках и объектах очистки. Благодаря тому, что бактерии адаптируются к условиям среды обитания защитная биологическая плёнка «настраивается» на работу в определённых условиях. Проще говоря, чем больше углеводов содержится в стоках, тем больше бактерий содержится в биоплёнке, так как углеводородные загрязнения – это основной источник для их питания.

Консорциум углеводородокисляющих микроорганизмов предназначен для глубокой очистки и доочистки углеводородсодержащих стоков:

- автономно-плавающих судов, автозаправочных станций, станций мойки и ремонта автомашин, автотранспортных хозяйств любой мощности, механизированных транспортных станций, машинотракторных станций, предприятий местной промышленности и объектов малой канализации;
- крупнотоннажных заводских стоков различных отраслей промышленности сельского хозяйства и быта с широким спектром остаточных нефтепродуктов и углеводов;
- подготовка высококонцентрированных углеводородсодержащих сточных вод локальных производств, цехов органического синтеза и хозяйств до нормы отвода в биологические очистные сооружения для полного их обезвреживания;

- очистка и доочистка промаслянных балластных сточных вод автономно-плавающих судов;
- доочистка крупнотоннажных технологических стоков от остатка нефтепримесей после биологической очистки сточных вод.

Консорциум не оказывает разрушающего действия и в отличие от агрессивных химических средств не ухудшают состав очищаемых вод, а наоборот, способствуют его значительному улучшению, являясь экологически безопасными и целесообразными.

Таким образом, применение консорциумов и биопрепаратов – это уникальная возможность очистки углеводородзагрязненных территорий для каждого конкретного предприятия, при минимальных экономических затратах.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Морозов Н.В.* Экологическая биотехнология: очистка природных и сточных вод макрофитами. – Казань, 2001. – 396 с.
2. *Хасанов И.Ю.* Проблемы экологической безопасности при добыче и транспорте нефти и пути их решения / И.Ю. Хасанов, Г.Х. Габитов, Н.С. Волочков, Е.Н. Сафонов, А.А. Калимуллин, Р.Ф. Каримов // Водное хозяйство. – 2003. – № 9. – С. 54.

УДК 628.352:628.33 + 628.34:628.352

Н.В. Морозов, В.Н. Морозов

Казанский (Приволжский) федеральный университет, г. Казань, Россия
ООО НПО «Биотехнология», г. Казань, Россия

РЕСУРСОСБЕРЕГАЮЩАЯ БИОТЕХНОЛОГИЯ УТИЛИЗАЦИИ СТОЧНЫХ ВОД ЖИВОТНОВОДЧЕСКИХ КОМПЛЕКСОВ – АГРОПРОМЫШЛЕННОМУ КОМПЛЕКСУ

Острота проблемы – охраны среды (воды, почвы), вызванная загрязнением водных и земельных ресурсов животноводческими сточными водами ставит задачу разработки наиболее применимых путей утилизации этих отходов. Тем более количество их в России возрастает из года в год и превышает более одного млн м³ [1, 2].

Проблема осложняется тем, что до настоящего времени отсутствуют данные об ущербе, оказываемыми животноводческими стоками на природные экологические системы, в том числе на сельскохозяйственные угодья, различных климатических зон, состав и плодородие почв, водные объекты, а главное на их санитарное состояние.

Гидрохимические, микробиологические и эпизоотологические анализы животноводческих сточных вод, выполненные по 14-ти хозяйствам страны, включая 9 объектов в Республике Татарстан, 1 объект в Республике Башкортостан, 1 в Республике Марий-Эл и 3 в Ленинградской области показали, что содержание органических веществ в них превышает 40 г/л (по

ХПК), сумма минеральных солей колеблется от 11,4 на фермах крупного рогатого скота (к.р.с.) до 19,9 г/л на свинокомплексах. В их составе содержится до 872 мг/л неорганического азота, в пределах 16,8–649,6 мг/л P_2O_5 , 24,0–176,8 мг/л K_2O , до 1704,5 мг/л хлор – иона, свыше 9447 мг/л сульфат – иона и других элементов. В зависимости от животноводческого комплекса в них определяется $0,19 \times 10^6$ – $23,1 \times 10^6$ кл/мл кишечной палочки и бактерий тифопаразитарной группы, в пределах $0,01 \times 10^6$ – $2,16 \times 10^6$ кл/мл бактерий дизентерийной группы, $0,8 \times 10^4$ – $1,15 \times 10^5$ кл/мл сальмонелл и др. Среди микроорганизмов выявлены сапрофиты, микробы-комменсалы, и патогенные формы. На долю последних приходится около 50 % микроорганизмов, способных вызвать секундарную инфекцию, колибактериоз, абсцессы, флегмону, острые и хронические энтериты. К ним можно отнести *Staphylococcus pyogenes*, *Clostridium perfringens*, *St. citreus*, *Salmonella typhimurium*, *S. choleraesuis* и др.

В России, причем повсеместно, сложилось удручающее положение с утилизацией отходов свинокомплексов, начиная от 4–5 тыс. до 60 тыс. голов, ферм к.р.с. от 800 голов и выше, многочисленных птицефабриках и зверофермах. Причина одна. Во всех хозяйствах во главу угла поставлена задача получения продукции животноводства любой ценой, а охрана среды от загрязнения вторична или сведена на нет. От этого низкое качество продукта, а главное экологическая среда, столь необходимое рядом живущему человеку в частности, а в целом населению отдельно взятых населенных пунктов, районов и даже целых регионов. В сложившихся условиях воздействие этих загрязнений (повышенное содержание органики, разнообразных солей, условно-патогенных и патогенных микроорганизмов и инвазий) будет возрастать в еще больших масштабах, например, только на территории Республики Татарстан в 2008–2012 гг. восстанавливается заново более 360 животноводческих комплексов различного назначения), а эффективных методов подготовки сточных вод для этих целей явно недостаточно.

Нами разработан новый экономически выгодный способ очистки и обеззараживания стоков любых животноводческих комплексов, позволяющий очистить сточные воды до норм оборотного водоснабжения хозяйств, орошения любых сельскохозяйственных культур и выращивания рыбной продукции. Последние могут явиться стимулом создания прочной кормовой базы этих же животноводческих комплексов.

Суть метода заключается в том, что осветленная сточная вода животноводческого комплекса (после механического разделения на твердую и жидкую фракции, 5–6-ти месячной карантинной выдержки в зимних депонентах – осветлителях и усреднения по солесодержанию) подвергаются предварительной очистке и обессаливанию в биоокислителе с зелеными микроводорослями и далее доочистки и обеззараживанию в двух – или трехступенчатых биологических прудах, заселенных отдельными видами водной растительности (макрофитами).

К настоящему времени завершены исследования по выбору основных видов микроводорослей и макрофитов, обладающих широким спектром

влияния на степень обезвреживания сточных вод (стимуляция биodeградации высоких концентраций органических веществ, детоксикации разнообразных солей и подавления жизнедеятельности инфекционных микроорганизмов и биогенов).

На базе этих исследований разработаны биотехнологические схемы очистки и обеззараживания сточных вод свиного комплекса, ферм крупного рогатого скота и птицефабрик, с проведением полу- и производственных испытаний технологии с выведением их на режим подготовки стоков до норм оборотного водоснабжения. Эффективность работы схем высока, и составляет по: органическим веществам 92–97,6 %, солям – 73,0–84,0 %, инфекционным микроорганизмам – 98,8–99,2 %.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Морозов Н.В.* Экологическая биотехнология: очистка природных и сточных вод макрофитами. – Казань: Изд. КГПУ, 2001. – 394 с.
2. *Морозов Н.В., Морозов В.Н.* Поверхностный сток сельскохозяйственных угодий, загрязненной биогенными элементами и ядохимикатами, биотехнология их изъятия и обезвреживания. Сб. «Природоохранные биотехнологии в XXI века». – Казань: Изд. ТГГПУ, 2001. – С. 10–24.

УДК 574.586:581.6

Ю.А. Пайдулова, О.В. Турковская

Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов
Российской академии наук (ИБФРМ РАН), г. Саратов, Россия

БИОРЕМЕДИАЦИОННЫЙ ПОТЕНЦИАЛ ВЫСШИХ ВОДНЫХ РАСТЕНИЙ ДЛЯ ОЧИСТКИ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ СТОКОВ

Водоемы представляют собой сложные экосистемы, в которых постоянно идут процессы адаптации биоценоза к изменяющимся условиям существования, направленные на достижения равновесия в экосистеме. Состояние равновесия может быть нарушено вследствие многих причин, в первую очередь в результате сброса хозяйственно-бытовых, промышленных и сельскохозяйственных сточных вод. Последние содержат большое количество таких поллютантов как пестициды; органические и неорганические удобрения, содержащие азот, фосфор, калий и др. Кроме этого в реки попадает большой объем фекалий и других органических отходов животноводческих и птицеводческих ферм.

Высшие водные растения успешно используются в практике очистки вод от биогенных элементов, фенолов, ароматических углеводородов, микроэлементов, нефтепродуктов, тяжелых металлов, в обеззараживании и доочистке стоков и т.д.

Ранее на примере элодеи канадской (*Elodea canadensis*) нами исследована способность высших водных растений разрушать такие токсичные органические соединения как фенол, толуол, бензол и нафталин (Тумайкина и др., 2008). Эта способность обусловлена не только присутствием перифитонных микроорганизмов, способных к деструкции отдельных соединений, но и наличием в элодее таких окислительных ферментов как тирозиназа, оксидаза, лакказа и пероксидаза.

Нами проанализирована активность окислительных ферментов у ряда высших водных растений, собранных в условно-чистом (река Латрык) и в загрязненном (река Волга, р-н Увека) водоемах Саратовской области. Объектами исследования были уруть колосистая (*Myriophyllum spicatum*), роголистник темно-зеленый (*Ceratophyllum demersum*), рдест пронзеннолистный (*Potamogeton perfoliatus* L.), рдест гребенчатый (*Potamogeton pectinatus* L.), элодея канадская (*Elodea canadensis*) и сусак зонтичный (*Butomus umbellatus*). Определение ферментативной активности проводили спектрофотометрическим методом по образованию продуктов окисления тестовых субстратов: пирокатехин (для оксидазы), DL-диоксифенилаланин (для тиразины), катехол (для пероксидазы) и ABTS (для лакказы).

**Активность ферментов (мкМ/мин/мг белка) водных растений,
собранных в реках Волга и Латрык**

Растения	Тирозиназа		Оксидаза		Пероксидаза		Лакказа	
	Волга	Латрык	Волга	Латрык	Волга	Латрык	Волга	Латрык
Уруть колосистая	20,00	-	2,37	-	9,95	-	0	-
Роголистник темно-зеленый	3,3	27,36	0,05	1,131	13,54	109,45	0,001	0
Рдест пронзеннолистный	2,4	7	1,66	0	17,89	86,97	0,015	0,02
Рдест гребенчатый	1,63	16,39	0,88	0,53	8,43	43,16	0,053	0,04
Элодея канадская	1,97	2,06	0,13	0,36	6,02	2,95	0,003	0,003
Сусак зонтичный	-	4,77	-	0,83	-	15,44	-	0,010

Как видно из таблицы, все исследованные водные растения из обоих водоемов содержат окислительные ферменты, способные принимать участие в детоксикации поллютантов. Максимальная активность ферментов выявлена у таких растений, как уруть колосистая, роголистник темно-зеленый, рдесты пронзеннолистный и гребенчатый. Наибольшую активность лакказы проявлял рдест гребенчатый, собранный как на р. Латрык, так и на р. Волга (0,04 и 0,053 мкМ/мин/мг белка соответственно). Активность тирозиназы – фермента, участвующего в окислении фенольных соединений – была максимальной у роголистника темно-зеленого и урути колосистой (27,36 и 20 мкМ/мин/мг белка соответственно).

Фермент пероксидаза, окисляющий большую часть органических токсичных соединений, широко распространен среди растений как наземных, так и водных (Квеситадзе и др., 2005). Следует отметить, что в нашем ис-

следовании пероксидаза проявила наибольшую активность в растениях из чистого водоема (у роголистника темно-зеленого – 109,45 мкМ/мин/мг белка), а не в загрязненном. Возможно, это объясняется хроническим загрязнением р. Волги на данном участке, вследствие чего снижен уровень самоочищения и активности ферментных систем макрофитов.

Таким образом, показано, что высшие водные растения обладают окислительными ферментами, способными принимать участие в деструкции органических соединений, и могут рассматриваться как потенциальные агенты для систем очистки сельскохозяйственных стоков.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Тумайкина Ю.А., Турковская О.В., Игнатов В.В. Деструкция углеводов и их производных растительно-микробной ассоциацией на основе элодеи канадской // Прикладная биохимия и микробиология. – 2008. – Т. 44. – № 4. – С. 422–429.
2. Квеситадзе Г.И., Хатисаишвили Г.А., Садуншвили Т.А., Евстигнеева В.Г. Метаболизм антропогенных токсикантов в высших растениях. – М.: Наука, 2005. – 199 с.

УДК 504.054

Е.И. Тихомирова¹, Е.С. Трояновская¹, Н.В. Веденеева¹, С.Э. Третьякова²

¹Саратовский государственный технический университет
имени Гагарина Ю.А., г. Саратов, Россия

²Научно-исследовательский институт технологий органической,
неорганической химии и биотехнологий, г. Саратов, Россия

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ КОМБИНАЦИЙ СОРБЕНТОВ В ТЕХНОЛОГИИ РЕМЕДИАЦИИ РАЗНЫХ ТИПОВ ПОЧВ, ЗАГРЯЗНЕННЫХ ТЯЖЕЛЫМИ МЕТАЛЛАМИ

Загрязнение почвенного покрова происходит практически при всех видах хозяйственной деятельности человека. Там, где загрязнение почв или массивов горных пород носит экологически угрожающий характер и где естественные процессы самоочищения почвы не могут обеспечить удаление загрязнителей, приходится использовать искусственные методы очистки. С каждым годом в мире разрабатывается все больше и больше технологий искусственной очистки почвы, основанных на разных принципах и механизмах воздействия.

Сорбционные методы занимающие лидирующее положение среди физико-химических методов, наиболее широко используемых при рекультивации почв.

Целью данной работы была оценка в лабораторных условиях эффективности сорбционной технологии ремедиации разных типов почв, загрязненных тяжелыми металлами, с использованием комбинаций сорбентов. В качестве объекта исследования были пробы чернозема обыкновенного, дер-

ново-подзолистой и каштановой почв Саратовской области. Тяжелые металлы вносили в пробы почв виде растворов солей никеля серноокислого, цинка серноокислого, кадмия серноокислого и свинца уксусноокислого из расчета 100 ПДК на кг почвы с учетом ее влагоемкости (60 %). В качестве сорбентов использовали КАУ, клиноптилолит, вермикулит и их комбинации. Учет эффективности сорбционной технологии проводили через 7, 14 и 30 суток после внесения в загрязненные пробы почв комбинаций сорбентов.

В ходе экспериментов оценивали потенциальную биологическую активность почвы, остаточное содержание загрязнителей и токсичность проб почвы, определяемую методами биотестирования на тест-объектах: хлорелле (*Chlorella vulgaris*) и дафниях (*Daphnia magna*).

Результаты химико-аналитического контроля содержания загрязнителей в процессе ремедиации позволили выявить стабильно высокое присутствие металлов в контрольных пробах почв на протяжении 30 суток наблюдения. Сравнительный анализ динамики содержания металлов в экспериментальных пробах почв, содержащих различные композиции испытуемых сорбентов, показал высокую эффективность их использования. Так, на 7 сутки после внесения всех композиций сорбентов содержание тяжелых металлов снижалось в среднем на 50 %, через 14 суток – на 75–80 %. К 30-м суткам в большинстве загрязненных проб почв отмечены остаточные количества металлов в пределах 1 ПДК и ниже. Для почв, загрязненных никелем, более эффективной оказалась композиция сорбентов: КАУ + вермикулит независимо от типа почв; при загрязнении другими металлами – КАУ + клиноптилолит.

Выявлена высокая токсичность контрольных зараженных проб почв до 30 суток исследования. В экспериментальных пробах почв, содержащих различные композиции сорбентов, токсичность сохранялась на 7 сутки ремедиации и на 14 сутки (только в пробах почв, загрязненных кадмием, и в отдельных пробах чернозема и каштановой почвы, загрязненных цинком и свинцом); на 30-е сутки все эти пробы почв были не токсичными. При учете результатов на хлорелле была определена степень токсичности каждой пробы почв в динамике ремедиации, что позволило рассчитать индексы токсичности.

Корреляционный анализ эффективности использования различных композиций сорбентов, проведенный по показателям остаточного содержания металлов в пробах почв и остаточной токсичности показал перспективность дальнейших испытаний комбинаций сорбентов:

- КАУ + клиноптилолит для всех типов почв, зараженных цинком и свинцом;
- КАУ + вермикулит – для каштановых почв, зараженных никелем.

Содержание

Биотехнология в животноводстве, ветеринарии и медицине

Алешкин А.В., Кулакова Ю.В., Киселева И.А., Агапова Ю.В., Воложанцев Н.В., Светоч Э.А., Лахтин М.В., Афанасьев С.С., Ефимова О.Г., Лахтин В.М. БАД на основе коктейля бактериофагов: влияние на нормофлору.....	3
Антипов В.А., Кузьмина Е.В., Будюк Р.Ю. Биотехнология получения и эффективность каротинсодержащих препаратов.....	4
Арушанян А.Я. Влияние гидрогемола на иммунобиологические показатели новорожденных телят.....	6
Бобровская И.В., Неминущая Л.А., Еремец Н.К., Провоторова О.В., Лихашерстова С.В., Еремец В.И., Самуйленко А.Я. Биотехнологии новых пробиотиков и синбиотических комплексов для сельскохозяйственных животных и птицы.....	8
Боровикова А.В., Гормакова А.Д., Дьяченко Н.А., Исаев Р.К., Коваленко Е.И., Солдатенко А.В. Биотехнология и медицина: точки пересечения.....	11
Вакараева М.М., Нечаева О.В., Заярский Д.А., Шуб Г.М., Беспалова Н.В. Биологическая активность наноразмерных агрегатов флавоноидов, стабилизированных полидиметил-диаллиламмонием йодид сахарозы.....	13
Вечкина Н.С., Матюхина А.А., Чечулина Е.А., Буришина С.Н. Анализ ассортимента современных антибиотиков.....	15
Волкова Г.С., Куксова Е.В. Производственный опыт использования послеспиртовой барды для выработки обогащенных белковых кормовых продуктов с пробиотическими свойствами.....	17
Востроилова Г.А., Близнецова Г.Н. Фармакологическое действие аминотона.....	19
Востроилова Г.А., Лободина Т.Е., Федорова Н.М. Физико-химические свойства продуктов криофракционирования плаценты свиной.....	21
Востроилова Г.А., Топольницкая А.В. Применение аминотона для профилактики эшерихиоза новорожденных телят.....	24
Генералов С.В., Абрамова Е.Г., Матвеева Ж.В., Жулидов И.М., Никифоров А.К., Свинцов Р.А., Савицкая Л.В., Галкина М.В., Михеева, Т.А. Комиссаров А.В. Получение антирабического иммуноглобулина из сыворотки крови лошади с применением культуральных технологий.....	26
Горельникова Е.А., Карпунина Л.В. Изучение влияния бактериального лектина на продукцию провоспалительных цитокинов при моделировании стафилококковой инфекции у мышей.....	28
Гулюкин А.М., Хисматуллина Н.А. Получение антивидовых пероксидазных конъюгатов.....	29
Еремин С.А., Алешина Ю.А., Ливанова Л.Ф., Комиссаров А.В., Миронова Н.П., Никифоров А.К. Выбор оптимальной температуры культивирования атоксигенных штаммов холерного вибриона.....	31
Еремина И.Ю. Применение хемилюминесцентного метода в селекции молочного скота.....	33
Еремина И.Ю., Терехина А.А. Возрастная динамика функциональной активности фагоцитирующих клеток крови собак породы немецкая овчарка.....	36
Ермолин В.П. Расчет ущерба водным биологическим ресурсам при выполнении взрывных работ на водоемах с целью ликвидации ледовых заторов.....	38
Ермолин В.П., Белянин И.А. Технология установления массы стерляди в зависимости от её длины.....	41
Ермолин В.П., Бобров С.М., Руденко-Травин В.Б. Стерлядь – объект вселения в водоемы Нижней Волги.....	43

Ермолин В.П., Зотова Е.А. Сазан – выбор навески в промвозврате при планировании восстановительных мероприятий.....	46
Ермолин В.П., Макаров С.Н. Возвратный коэффициент: определение, применение.....	49
Ермолин В.П., Руденко-Травин В.Б., Бобров С.М. Метод определения индекса кратности размножения рыб.....	51
Ефимова М.А., Гаффаров Х.З., Яруллин А.Я., Дуплева Л.Ш. Иммунологическая диагностика парвовирусной инфекции крупного рогатого скота.....	53
Жулидов И.М., Никифоров А.К., Антонычева М.В., Абрамова Е.Г., Лобовикова О.А., Волох О.А., Киреев М.Н. Разработка приемов безотходных технологий в производстве гетерологичного антирабического иммуноглобулина.....	54
Заболоцкая А.А. Безопасность аэрозольного применения дезинфектанта «алкоперит».....	56
Заярский Д.А., Журвиков В.А., Беспалова Н.В. Формирование структур «ядро-оболочка» на основе наноразмерных агрегатов флавоноидов.....	58
Иващенко С.В., Щербаков А.А., Першина А.А. Ветеринарные препараты на основе мембранных белков иерсиний.....	59
Калюжный И.И., Баринев Н.Д., Логинова Д.С. Клинико-биохимические аспекты метаболических нарушений у импортного скота.....	61
Комиссаров А.В., Никифоров А.К., Еремин С.А., Громова О.В., Алешина Ю.А., Васин Ю.Г., Волох О.А., Бронникова В.С., Лобовикова О.А., Задохин С.Н., Ливанова Л.Ф., Гаева А.В. Моделирование процессов производства вакцины холерной бивалентной химической таблетированной.....	63
Комиссаров А.В., Никифоров А.К., Еремин С.А., Громова О.В., Алешина Ю.А., Васин Ю.Г., Волох О.А., Бронникова В.С., Лобовикова О.А., Задохин С.Н., Ливанова Л.Ф., Гаева А.В. Технология концентрирования и выделения протективных антигенов холерных вибрионов методом тангенциальной ультрафильтрации.....	65
Комиссаров А.В., Никифоров А.К., Еремин С.А., Громова О.В., Алешина Ю.А., Васин Ю.Г., Волох О.А., Бронникова В.С., Лобовикова О.А., Задохин С.Н., Ливанова Л.Ф., А.В. Гаева А.В. Технология обессоливания и стерилизующей фильтрации протективных антигенов холерных вибрионов.....	67
Кретов А.А., Сидоренко О.Г. Современные аспекты технологии дифференцированного кормления молодняка перепела японского.....	69
Лазурина Л.П., Евглевский А.А., Хорляков К.В., Хорлякова О.В. Влияние сочетания левамизола с янтарной кислотой для стимуляции иммунометаболических процессов у белых мешей.....	71
Лазурина Л.П., Завидовская К.В., Устищенко В.О., Рымарова М.В., Осташко Т.В. Влияние новых комплексных соединений на антигипоксическую активность в эксперименте.....	73
Лахтин М.В., Афанасьев С.С., Лахтин В.М., Алешкин А.В., Корсун В.Ф. Фито- и другие пробиотические лектины в комбинационной терапии.....	74
Лукьянова И.А., Плешакова В.И. Способ повышения эффективности специфической профилактики вирусных респираторных болезней телят.....	76
Ляшенко Е.А., Золотухин С.Н., Васильев Д.А. Использование биопрепарата для фагодиагностики кишечной инфекции телят, протекающей с участием бактерий рода <i>Klebsiella</i>	78
Мазур Ю.А., Федотова Е.А. Анализ ноотропных препаратов биотехнологического генеза, предлагаемых аптеками Саратова.....	80
Маловастый К.С. Будущее химическим вакцинам.....	82
Мандро Н.М. Влияние препарата из костного мозга лисиц на гуморальные показатели крови животных.....	84

Миронова И.В. Показатели естественной резистентности бычков бестужевской породы и ее помесей с породами салерс и обрак.....	86
Михайлова С.В., Ческидова Л.В. Применение липотона с комплексным антибактериальным препаратом для лечения ассоциативной инфекции у поросят.....	88
Николаев С.И., Карапетян А.К. Влияние премиксов на физиологические показатели цыплят-бройлеров.....	89
Осипенко Е.Ю., Карачевцева Н.О., Водолагина Е.Ю., Воронцова Л.А. Белковый состав первого удоя молозива в зависимости от сезона года.....	91
Парамонова Н.А., Викторов Д.А., Васильев Д.А., Золотухин С.Н. Роль бактерий <i>Flavobacterium psychrophilum</i> в патогенезе рыб.....	93
Пичугин Ю.В., Золотухин С.Н., Шевалаев Г.А. Опыт применения наноструктурного биокompозитного материала «ЛитАр» в сочетании с пиобактериофагом при лечении переломов в ветеринарной травматологии.....	95
Пищан С.Г., Литвищенко Л.А. Молочная продуктивность голштинских первотелок в условиях интенсивной технологии эксплуатации.....	97
Подгорнова Ю.А., Синькеев С.В. Иммуносупрессивные препараты биотехнологического генеза, используемые в трансплантологии.....	99
Портенко Н.Н. Правовое регулирование и перспективы развития биотехнологии в РФ.....	101
Потапова Е.В. Современные противовирусные препараты биотехнологического генеза.....	103
Провоторова О.В., Нежута А.А., Неминущая Л.А., Бобровская И.В., Еремец Н.К. Сухие формы пробиотиков и пребиотиков – путь к повышению качества продукции.....	104
Пчелинцева Ю.С., Ковалева Е.Н., Васильев Д.А. Индикация и идентификация листерий.....	106
Рахманов А.М. Профилактическая вакцинация животных против ящура в Приволжском федеральном округе.....	109
Римарева Л.В., Лозанская Т.И., Худякова Н.М. Биотехнологический способ обогащения зерновой барды β-каротином.....	111
Родионова Т.Н., Добринский Э.К., Мариничева М.П., Кузнецов А.А. Получение и разработка препарата «Ферросол» на основе высокодисперсного порошка железа.....	112
Руденко-Травин В.Б., Бобров С.М. Иное применение типовой шкалы оценки роста рыб.....	115
Салмаков К.М., Фомин А.М., Сафина Г.М., Чернов А.Н., Косарев М.А., Хабибуллин Р.Р., Федорова Н.Ю. Изучение на морских свинках взаимосвязи между иммуногенностью вакцин из штаммов <i>B. Abortus 82</i> и <i>B. Melitensis</i> РЕВ-1 и концентрацией бруцелл при их γ-облучении.....	117
Семёнов Э.И., Иванов А.А., Степанов В.И., Канарский А.В. Получение адсорбента микотоксинов из дрожжей <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	119
Сорокина Т.Е., Фоменко Л.А. Влияние малоамплитудных физических полей на ионный перенос в модельных биомембранах.....	121
Спиридонов Г.Н., Махмутов А.Ф., Спиридонов А.Г., Насертдинов Д.Д. Анаэробная энтеротоксемия и эшерихиозная диарея телят: этиология, лечение и специфическая профилактика.....	123
Сульдина Е.В., Ковалева Е.Н., Имамов М.А., Васильев Д.А. Изучение биологических свойств бактериофагов <i>Listeria</i>	125
Федоренко Т.В. Сравнительная характеристика клеточного состава костного мозга различных видов животных.....	127
Четвертакова Е.В., Голубков А.И. Полиморфизм гена каппа-казеина и его влияние на рост и молочную продуктивность коров красно-пестрой породы.....	129

Шевалаев Г.А., Ефремов И.М., Пичугин Ю.В., Сверкалова Д.Г. Активность стафилакоккового фага в сочетании с компонентами костного цемента <i>Synicet</i> 1.	132
Шевалаев Г.А., Пичугин Ю.В., Сверкалова Д.Г. Подбор химиотерапевтических препаратов для профилактики падежа сельскохозяйственных животных от условно-патогенной микрофлоры.....	133
Шевалаев Г.А., Пичугин Ю.В., Сверкалова Д.Г. Чувствительность ассоциаций бактериальных культур, выделенных от мелких домашних животных к химиотерапевтическим препаратам.....	136
Яковлева Т.И., Никитина О.В., Клочков Д.В. Опыт использования ферментных препаратов в стоматологии.....	138

Биотехнология в растениеводстве

Аленькина С.А., Никитина В.Е. Влияние лектинов азоспирилл на биохимические параметры в корнях проростков пшеницы.....	140
Бойкова Н.В., Ткаченко О.В. Взаимодействие мериклонов картофеля и бактерий <i>Azospirillum Brasilense</i> в условиях <i>in vitro</i> и <i>ex vitro</i>	142
Вербицкая Н.В., Егорова И.В., Кондратенко Е.П., Соболева О.М. Влияние предпосевной обработки микроволновой СВЧ-энергией на посевные качества озимой пшеницы.....	143
Видягина Е.О., Ковалицкая Ю.А., Шестибратов К.А. Суперэксперсия ксилотолуканазы <i>sp-xeg</i> как способ получения растений осины с увеличенными показателями продуктивности.....	145
Емельянова М.А., Аверьянова Е.В. Кислотность сортов винограда культивируемых в предгорной зоне Алтая.....	147
Игнатов А.Н., Сухачева М.В., Шевердина Е.И., Егорова М.В., Корнев К.П., Мазурин Е.С. Изучение геномного полиморфизма у фитопатогенного рода бактерий <i>Xanthomonas</i>	149
Ковалева С.В. Использование глицерин-содержащего отхода производства биодизеля для стимуляции посевных качеств овса.....	151
Козулин В.В., Щербаков А.А. Биологическая активность олигосахаридов фитопатогенных бактерий <i>Xanthomonas Campestris</i>	152
Кондратенко Е.П., Сандрыкин Д.В., Вербицкая Н.В., Соловьева Д.А., Маликова Е.З. Гуминовые вещества как фактор оптимизации условий роста и развития яровой мягкой пшеницы в условиях степной зоны Кузнецкой Котловины.....	153
Лопушняк В.И. Система удобрения как фактор влияния на фитосанитарное состояние тёмно-серой оподзоленной почвы западной лесостепи Украины.....	155
Маликова Е.З., Кондратенко Е.П. Особенности формирования посевных качеств семян яровой мягкой пшеницы под влиянием электромагнитных волн.....	157
Масиленко А.В., Васильев Д.А., Исайчев В.А. Перспективы методологии биоэкологического мониторинга и контроля фитопатогенных видов <i>Erwinia</i> (на примере <i>E. herbicola</i>).....	159
Пищик В.Н., Воробьев Н.И., Сурин В.Г., Моисеев К.Г. Фитодиагностика посева яровой мягкой пшеницы при инокуляции бактериями <i>Bacillus subtilis</i> по спектрам оптических сигналов, отраженных от листовой поверхности растений.....	161
Соловьева Д.А., Пименов А.С., Кондратенко Е.П. Влияние СВЧ-воздействия на посевные качества семян люпина.....	163
Темиргалиева Н.Ш. Биохимический состав половы сортообразцов чечевицы.....	166
Трутнева К.А., Аленькина С.А., Никитина В.Е. Влияние лектинов азоспирилл на активность каталазы корней проростков пшеницы.....	168

Васильев Д.А., Золотухин С.Н., Феоктистова Н.А., Викторов Д.А., Юдина М.А., Гринева Т.А., Артамонов А.М., Алешкин А.В. Разработка схемы ускоренной индикации бактерий родов <i>Pseudomonas</i> и <i>Bacillus</i> , вызывающих порчу продуктов питания.....	171
Викторов Д.А., Гринева Т.А., Васильев Д.А., Золотухин С.Н., Артамонов А.М. Выявление лизогенного состояния у штаммов бактерий рода <i>Pseudomonas</i>	173
Горшков И.Г., Куклина Н.Г., Викторов Д.А., Васильев Д.А. Исследование селективных добавок питательных сред для бактерий рода <i>Aeromonas</i>	175
Горшков И.Г., Куклина Н.Г., Викторов Д.А., Васильев Д.А. Конструирование селективной питательной среды для бактерии <i>Aeromonas sobria</i>	177
Гринева Т.А., Викторов Д.А., Васильев Д.А. Разработка плотных селективных питательных сред для выделения и идентификации разжижающих желатин псевдомонад.....	179
Гринева Т.А., Викторов Д.А., Васильев Д.А. Схема выделения и идентификации бактерии <i>Pseudomonas chlororaphis</i>	181
Гулий О.И., Караваева О.А., Макарихина С.С., Павлий С.А., Володин Д.Ю., Сивко О.Н., Бунин В.Д., Игнатов О.В. Определение спектра литической активности бактериофагов с помощью метода электрооптического анализа клеточных суспензий.....	183
Денисова М.Н., Рысмухамбетова Г.Е., Бухарова Е.Н., Суровцова И.В., Карпунина Л.В. Изучение влияния экзополисах арида <i>Xanthomonas campestris</i> на организм лабораторных животных.....	184
Калдыркаев А.И., Алешкин А.В., Феоктистова Н.А., Васильев Д.А. Биохимические свойства бактерий <i>Bacillus cereus</i>	186
Калдыркаев А.И., Алешкин А.В., Феоктистова Н.А., Васильев Д.А. Выявление капсулы у бактерий рода <i>Bacillus</i>	188
Карамышева Н.Н., Васильев Д.А., Золотухин С.Н., Морозов А.В., Игнатов А.Л. Зависимость скорости коррозии стали от введения в среду биопрепарата бактериофагов сульфатредуцирующих бактерий.....	190
Карамышева Н.Н., Васильев Д.А., Золотухин С.Н., Мاستиленко А.В. Электрофорез днк фагов, экстрагированных из штаммов бактерий <i>Desulfovibrio desulfuricans</i>	192
Кичемазова Н.В., Бухарова И.А., Бухарова Е.Н., Суровцова И.В., Карпунина Л.В. Биологические свойства экзополисахарида <i>Xanthobacter xylophilus</i>	195
Климентова Е.Г., Юдина Т.Г. Чувствительность некоторых условно патогенных бактерий к антибиотическому действию δ -эндотоксинов <i>Bacillus thuringiensis</i>	196
Куклина Н.Г., Горшков И.Г., Викторов Д.А., Васильев Д.А. Конструирование питательных сред для выделения и индикации бактерий рода <i>Aeromonas</i>	198
Лахтин В.М., Алешкин А.В., Лахтин М.В., Афанасьев С.С., Алешкин В.А. Перенесение лектин-гликоконъюгатных макроподходов на функционирование систем «бактериофаги—микробы».....	200
Малинов Е.С., Шестаков А.Г., Васильев Д.А. Бактериальные биопленки и методы их получения.....	201
Малинов Е.С., Шестаков А.Г., Васильев Д.А. Корреляция вязкости и КОЕ образованных биопленками <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	203
Проценко Т.А., Назарова Л.С. Сравнительный анализ некоторых биологических свойств музейного штамма и клинических изолятов <i>Candida albicans</i>	205
Ситникова Т.С., Древко Я.Б., Буров А.М., Древко Б.И. Образование нано- и микрочастиц селена из препарата ДАФС-25 в присутствии культуры <i>Saccharomyces cerevisiae</i> в питательной среде RPMI-1640.....	207

Соболева Е.Ф., Антонюк Л.П. Белки клеточной поверхности микросимбионта пшеницы <i>Azospirillum brasilense</i> SP245.....	208
Тимошенко К.А., Красноштанова А.А. Исследование процесса экстракции нуклеиновых компонентов из бактериальной биомассы <i>Methylococcus capsulatus</i>	210
Феоктистова Н.А., Калдыркаев А.И., Алешкин А.В., Васильев Д.А. Основные биологические свойства фагов бактерий <i>Bacillus cereus</i>	213
Хрящевская Д.В., Бухарова Е.Н., Суровцова И.В., Рысмухамбетова Г.Е., Карпунина Л.В. Физиологическое действие экзополисахарида <i>Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus</i> и перспективы его практического применения.....	215

Биотехнология в переработке сельскохозяйственной продукции

Буршина С.Н., Иргалиева А.Д. Использование коллагена в производстве хлебобулочных изделий.....	218
Водолагина Е.Ю., Решетник Е.И., Осипенко Е.Ю. Перспективы использования растительного сырья Дальневосточного региона в производстве кисломолочного продукта.....	219
Волкова Г.С., Куксова Е.В. Использование биоконсервантов органического происхождения для хранения плодоовощной продукции.....	221
Гладышева Е.К., Аверьянова Е.В., Школьников М.Н. Изучение совместимости растительного сырья для оптимизации рецептур бальзамов.....	223
Зеленцова Е.Н. Влияние стевии на качество творога.....	225
Золотоверх Е.В., Антонюк М.Н., Арсеньева Л.Ю. Использование бактериальных сухих заквасок для производства пробиотических пищевых продуктов.....	226
Кареткин Б.А., Лойко Н.Г., Шакир И.В., Панфилов В.И., Эль-Регистан Г.И. Переработка клубней топинамбура с получением фруктанов и пробиотического продукта для животных.....	229
Кудряшов В.Л. Сквозной аграрно-пищевой комплекс по производству кормов и пищевых добавок из биомассы трав с применением нанобиотехнологий.....	231
Кутузова Г.А., Садыгова М.К., Брысаева Ю.А., Ищук И.В., Очёсова Т.А. Изучение активности хлебопекарных дрожжей различных производителей при использовании замороженного теста.....	233
Чесноков И.А., Кутузова Г.А., Бушуев Н.А., Амельченко А.С., Щербаков А.А., Елисеев Ю.Ю., Ляпина Е.П. Возможность активации <i>Saccharomyces cerevisiae</i> с помощью НИ ЭМИ КВЧ типа «Белый шум».....	235
Юдина М.А., Феоктистова Н.А., Васильев Д.А. Применение реакции нарастания титра фага для индикации бактерий <i>Bacillus mesentericus</i> в пшеничной муке..	237

Экологические биотехнологии в сельском хозяйстве

Ахметов А.А., Морозов Н.В., Григорьева Е.Н. Интенсификация биодеструкции нефти в сточных водах сельскохозяйственного производства сорбентами растительного происхождения.....	241
Бондаренкова А.Д., Муратова А.Ю., Турковская О.В. Деструктивные характеристики ризосферных микроорганизмов, устойчивых к тяжелым металлам.....	243
Веденеева Н.В., Нечаева О.В., Заярский Д.А., Заматырина В.А., Тихомирова Е.И. Изучение фильтрующих свойств модифицированных органобетонитовых гранул в отношении санитарно-показательных микроорганизмов воды.....	245
Градова Н.Б. Технология получения многофункциональных кормовых добавок на основе биоконверсии целлюлозосодержащего сырья.....	246
Гришина Е.А., Белопухов С.Л. Оценка эффективности извлечения химических веществ из отходов льнопроизводства и применения их в АПК.....	249

Засекин Н.П., Лопушняк В.И., Повх О.В. Экологические технологии изготовления нетрадиционных видов органических удобрений.....	251
Иванова Е.В., Ксенофонтова О.Ю. Почвенные микроорганизмы деструкторы «Прометрина».....	253
Киященко С.А., Линько Н.А., Беляченко А.А., Абросимова О.В. Пространственная неоднородность микробиологических показателей качества воды малых рек Саратовской области.....	256
Купряшина М.А., Петров С.В., Никитина В.Е. Стимуляция лигнин- и тп-пероксидазной активности азоспирилл соединениями ароматической природы....	257
Кураמיшина З.М., Смирнова Ю.В., Хайруллин Р.М. Влияние эндофитных бактерий <i>Bacillus subtilis</i> на <i>Sinapis alba</i> при воздействии ионов никеля.....	259
Матросова Л.Е. Перспективы использования дрожжевых микроорганизмов для утилизации органических отходов.....	261
Молчанов В.П., Сульман Э.М., Сульман А.М. Разработка ресурсосберегающей технологии биокаталитической утилизации органогенных отходов с получением кормовых добавок.....	263
Морозов Н.В., Жукова О.В. Использование штаммов углеводородокисляющих микроорганизмов для очистки сточных вод сельскохозяйственных предприятий от нефтепродуктов малой канализации.....	265
Морозов Н.В., Морозов В.Н. Ресурсосберегающая биотехнология утилизации сточных вод животноводческих комплексов – агропромышленному комплексу...	267
Пайдулова Ю.А., Турковская О.В. Биоремедиационный потенциал высших водных растений для очистки сельскохозяйственных стоков.....	269
Тихомирова Е.И., Трояновская Е.С., Веденеева Н.В., Третьякова С.Э. Использование комбинаций сорбентов в технологии ремедиации разных типов почв, загрязненных тяжелыми металлами.....	271

Научное издание

БИОТЕХНОЛОГИЯ: РЕАЛЬНОСТЬ И ПЕРСПЕКТИВЫ В СЕЛЬСКОМ ХОЗЯЙСТВЕ

**Материалы Международной
научно-практической конференции**

К 100-летию СГАУ имени Н.И. Вавилова

Компьютерная верстка *Ю.М. Проной*

Сдано в набор 17.12.12. Подписано в печать 10.01.13.
Формат 60×84 1¹/₁₆. Бумага офсетная. Гарнитура Times New Roman.
Печ. л. 17,75. Уч.-изд. л. 16,507. Тираж 200. Заказ № 1078.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего профессионального образования
«Саратовский государственный аграрный университет им. Н.И. Вавилова»
410012, Саратов, Театральная пл., 1.

ООО Издательство «КУБиК»
410056 г. Саратов, ул. Чернышевского, 94а
тел.: (845 2) 60 33 20



ОБЩЕСТВО С ОГРАНИЧЕННОЙ ОТВЕТСТВЕННОСТЬЮ «ГРУППА ФОКИНА»

ООО «Группа Фокина» на рынке ветеринарной продукции с 2004 г.

Фирма разрабатывает, производит, реализует ветеринарные препараты, средства дезинфекции, дезинсекции, дератизации для птицеводства, животноводства, звероводства, мясной и молочной промышленности.

Генератор паров йода «Диксам» используется в птицеводстве для лечения и профилактики респираторных заболеваний. Зарегистрирован в Украине, Беларуси, Казахстане.

Инсекто-акарицидное средство «Генсек» в виде термического генератора инсектицидного аэрозоля хорошо зарекомендовал себя при борьбе с зоофильными мухами, иксодовыми, саркоптоидными клещами и другими насекомыми.

Эффективное дезинфицирующее средство «Смейк-ПАВ», содержащее в своём составе четвертичное аммониевое соединение и глутаровый альдегид, обладает широким спектром действия в отношении возбудителей инфекционных болезней бактериальной, вирусной и грибковой этиологии, в том числе возбудителя африканской чумы свиней.

Разработанное совместно с ВНИИ мясной промышленности им. Горбатова В. М. и ВНИИ молочной промышленности (ВНИМИ) дезинфицирующее средство с моющим эффектом «Смейк-ДЭЗ» обеспечивает эффективную дезинфекцию и мойку оборудования, инвентаря, тары и поверхностей производственных помещений на предприятиях мясной и молочной промышленности.

Ветеринарные гигиенические средства «Гикор-Д» и «Гикор-П» для обработки сосков и вымени лактирующих животных, содержащие в своём составе дозинфицирующие, смягчающие, заживляющие, увлажняющие компоненты, способствуют сохранности молочного поголовья.

Родентицидное средство «Стирк-концентрат» гарантирует избавление от грызунов.

Предприятие располагает квалифицированными кадрами химиков, биологов, ветеринарных врачей с опытом работы 20–30 лет, производственными, лабораторными, складскими помещениями, службой доставки продукции.

Контакты:

412950 Саратовская обл.,

г. Шиханы, ул. Полещикова, дом 29

Тел./факс: 8(84593) 4-00-52; 4-01-30; 4-00-72

gruppafokinaooo@yandex.ru

Директор: Фокин Андрей Иванович



Нита-Фарм уже 20 лет успешно работает в отрасли ветеринарной фармацевтики и на сегодняшний день является ведущим разработчиком и производителем инновационных профессиональных ЛС для ветеринарии. В основе деятельности компании лежат приверженность «чистым технологиям» и обеспечение доступности лучших профессиональных решений широкому кругу потребителей.

Н и т а - Ф а р м о б л а д а е т высокотехнологичным фармацевтическим производством, современной научно-исследовательской инфраструктурой для разработки новых продуктов, а также широкой сетью торговых партнеров, представленных в 14 странах мира.

Продукция:

В компании осуществляется разработка и производство всех основных видов лекарственных форм. Выпускаются лекарственные средства всех основных фармакологических групп для эффективного ветеринарного обеспечения животноводческих и птицеводческих комплексов. Сегодня в продуктовой портфеле Нита-Фарм 47 препаратов для профессиональной ветеринарии, а производственная мощность составляет 100 тыс. ед. продукции в смену, научный потенциал компании - это команда профессионалов в области химии, биологии и ветеринарии, включающая 12 докторов и кандидатов наук. Ежегодно разрабатываются и предлагаются потребителю новые лекарственные средства, многие из которых (Ивермек, Нитокс 200, Йодопен, Неозидин М, Ферран, Флоридокс и др.) являются уникальными разработками наших специалистов.

Качество:

Основное внимание Нита-Фарм уделяет надежности и терапевтической эффективности своих продуктов и выгоды их применения. Уровень качества обеспечивается тесным сотрудничеством с ведущими научно-исследовательскими учреждениями России и стран СНГ.

На предприятии успешно функционирует система менеджмента качества, соответствующая требованиям стандартов серии ISO 9001. Процессы производства и контроля качества продукции отвечают правилам GMP.

Продуктовый портфель Компании “Нита-Фарм”

Действующее вещество Препарат Способ применения



Противопаразитарные препараты

Альбендазол	Альвет® Альвет®-суспензия	Орально Орально
Ивермектин	Ивермек® Ивермек®-гель Ивермек®-спрей	Инъекционно Наружно Наружно
Клозантел	Клозатрем®	Инъекционно
Левамизол основание	Левамизол 75	Инъекционно
Диминазен, феназон	Неозидин®	Инъекционно
Диминазен, феназон	Неозидин® М	Инъекционно
Цифлутрин	Цифлунит®	Наружно



Антибактериальные препараты

Амоксициллин	Амоксициллин 150	Инъекционно
Сульфадимезин, триметоприм	Дитрим® Дитрим® порошок	Инъекционно, орально Орально
Доксициклин	Доксилоск®	Инъекционно
Метронидазол	Метронид 50	Инъекционно, орально
Окситетрациклин	Нитокс® 200	Инъекционно
Тилмикозин	Пневмотил®	Орально
Тиамулин	Тиалонг™	Инъекционно
Тилозин основание	Тилозин 50, 200	Инъекционно
Флорфеникол, доксициклин	Флоридокс®	Инъекционно
Флорфеникол	Флорокс®	Инъекционно
Цефтиофур	Цефтонит®	Инъекционно
Энрофлоксацин, колистин	Энронит™ Энронит™ ор	Инъекционно Орально



Акушерско-гинекологические препараты

Поливинилпирролидон йода	Йодопен® Септогель®	Внутриматочно Интрацистернально
Бензилпенициллин, стрептомицин, сульфадимезин	Мастисан-А	Интрацистернально
Гентамицин, клиндамицин, лидокаин	Мастомицин®	Интрацистернально
Хлоргексидин гидрохлорид, пропранолол	Сепранол™	Внутриматочно
Пропранолол	Утеротон®	Инъекционно



Витаминно-минеральные комплексы

Витамин Е, селенит натрия	Е-селен® Е-селен® ор	Инъекционно Орально
Витамин А, D ₃ , Е	Комплекс витаминов А, D ₃ , Е	Инъекционно, орально
Витамин А, D ₃ , Е, С	Нитамином® Нитамином® ор Тетрагидровит®	Инъекционно, орально Орально Инъекционно, орально
Витамин А, D ₃ , Е, F	Тетравит	Инъекционно, орально
Декстран железа, витамины В ₁₂ , В ₉	Ферран®	Инъекционно



Симптоматические препараты

Кальция глюконат, борная кислота, натрия тетраборат	Кальция борглюконат	Инъекционно
Кофеина бензоат натрия	Кофеина бензоат натрия	Инъекционно
Флуниксин	Флунекс®	Инъекционно



Другие

Глутаровый альдегид, глиоксаль, катаПАВ	ГАН™	Влажная, аэрозольная дезинфекция
Антисептический и смягчающий фитокомплекс	Гелерон®	Наружно
Ментол, эвкалипт, прополис, перец красный	Гель двойного действия	Наружно
Поливинилпирролидон йода	Септогель® туба Септо-спрей™	Наружно Наружно
Ксилазин	Ксиланит®	Инъекционно



ООО «ФармПромВет»

ООО «ФармПромВет» производит ует лекарственные препараты для объектов ветнадзора.

Опыт работы позволяет сказать, что наши препараты эффективнее аналогичных препаратов импортного и отечественного производителя в отношении всех вирусов и бактерий, а также не имеют аналогов по стоимости рабочего раствора.

Наши препараты прошли проверку и хорошо используются на ряде фабрик: «Куриное царство», «Приосколье», «Белая птица», «Русское поле», «Шекснинская» и др., которые оценили преимущества использования нашей продукции.

Продукция

Средство «Глюдезив», представляет собой бесцветную или светло-желтую жидкость, расфасованного в полимерные емкости объемом 1 л и 5 л, обладает антимикробной активностью в отношении грамотрицательных и грамположительных бактерий, в том числе микобактерий туберкулеза и анаэробных споровых бактерий, а так же вирусов и грибов.

Средство «Глюдезив» предназначено для:

- профилактической и вынужденной (текущей и заключительной) дезинфекции животноводческих помещений 0,1 % раствором (1 л средства на 999 л воды) с нормой расхода 0,25–0,3 л/м²;
- профилактической и вынужденной дезинфекции птицеводческих помещений 0,2 % раствором (1 л средства на 499 л воды) с нормой расхода 0,25–0,3 л/м²;
- профилактической дезинфекции 20 % раствором (1 л средства на 4 л воды) с нормой расхода 2 мл/м³ или 2 % раствором (1 на 49 л воды) с нормой расхода 25 мл/м³;
- профилактической аэрозольной дезинфекции парами средства при помощи генераторов холодного и горячего тумана 2 % раствором (1 л на 49 л воды) с нормой расхода 25 мл/м³.

При аэрозольной возгонке средство «Глюдезив» держится в воздухе до 3х часов, что в свою очередь пролонгирует его действие (способствует продолжительной дезинфекции воздуха). Средство представляет собой прозрачную бесцветную или светло-желтого цвета жидкость, расфасованное в полимерные канистры объемом по 1 и 5 л. Преимуществом средства «Глюдезив» перед аналогичными препаратами является его малый расход в приготовлении рабочих растворов.

Средство «Клиодезив», представляет собой порошок темного цвета расфасованного в полимерные флаконы, весом: 25 гр., 50 гр. и 125 гр. При применении средства «Клиодезив» выделяются пары кристаллического йода от фиолетового до светло-коричневого цвета, за счет конвекционных потоков, йод равномерно распределяется по всему объему обрабатываемого помещения.

Средство «Клиодезив» предназначенное для:

- дезинфекции объектов ветнадзора (птицеводства и животноводства), зернохранилищ с нормой расхода 1 флакон 25 грамм на 250 м³,
- лечения легочных заболеваний (ларинготрахеит, инфекционный бронхит, аспергиллез, инфекционный ларинготрахеит, бронхит и бронхопневмония) у птицы и животных с нормой расхода 1 флакон 25 грамм на 375 м³,
- санации воздуха в присутствии животных (крупного рогатого скота, свиней, птиц) с нормой расхода 1 флакон 25 грамм на 750 - 1000 м³.

Адрес: 410033, г. Саратов, пр-кт 50 лет Октября, д. 101, а/я 3000.

Тел./факс: 8(8452)34-44-26, 8(8452)45-18-42

E-mail: farmpromvet@mail.ru; www.farmvet.ru

Директор: Кузьмичев Николай Львович

