

Сервис виртуальных конференций Pax Grid

ИП Синяев Дмитрий Николаевич

**Биотехнология.
Взгляд в будущее.**

III Международная научная Интернет-конференция

Казань, 25-26 марта 2014 года

Материалы конференции

**В двух томах
Том 1**

**Казань
ИП Синяев Д. Н.
2014**

УДК 663.1(082)

ББК 41.2

Б63

Б63 Биотехнология. Взгляд в будущее.[Текст] : III Международная научная Интернет-конференция : материалы конф. (Казань, 25-26 марта 2014 г.) : в 2 т. / Сервис виртуальных конференций Pax Grid ; сост. Синяев Д. Н. - Казань : ИП Синяев Д. Н. , 2014.- Т. 1. - 176 с.- ISBN получается.

ISBN: получается

Сборник составлен по материалам, представленным участниками III международной Интернет-конференции "Биотехнология. Взгляд в будущее". Конференция прошла 25 - 26 марта 2014 года. Издание освещает широкий круг вопросов в области медицинской биотехнологии, взаимодействия растений и микроорганизмов. Представлены работы по перспективным биологически активным веществам, а так же рассмотрены вопросы применения биотехнологии в решении хозяйственных задач. Книга рассчитана на преподавателей, научных работников, аспирантов, учащихся соответствующих специальностей.

УДК 663.1(082)

ББК 41.2

Материалы представлены в авторской редакции

ISBN получается (т.1)

ISBN получается

© Система виртуальных конференций Pax Grid, 2014

© ИП Синяев Д. Н., 2014

© Авторы, указанные в содержании, 2014

Секции конференции

- Микробиологические производства
- Медицинская биотехнология
- Растения и микроорганизмы
- Перспективные биологически активные вещества
- Биотехнология в решении народно- хозяйственных задач

Оргкомитет

Председатель

- Багаева Татьяна Вадимовна - профессор д.б.н., зав. кафедрой биотехнологии, ФГАОУ ВПО "Казанский (Приволжский) федеральный университет

Программный комитет

- Чиков В.И. - д.б.н. Каз НЦ РАН
- Каримова Ф.Г. - д.б.н. Каз НЦ РАН
- Черезов С.Н. - к.б.н. доц. ФГАОУ ВПО "Казанский (Приволжский) федеральный университет
- Хусаинов М.Б. - к.б.н. ст. преп. ФГАОУ ВПО "Казанский (Приволжский) федеральный университет
- Якушенкова Т.П. - к.б.н. ст. преп. ФГАОУ ВПО "Казанский (Приволжский) федеральный университет

ВЛИЯНИЕ СОЛЕВОЙ НАГРУЗКИ НА ИЗМЕНЕНИЕ УРОВНЯ ЭКСПРЕССИИ мРНК БЕЛКА NAR-22 В ПОЧКАХ У КРЫС СО СПОНТАННОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ (ЛИНИЯ SHR)

Альдекеева А.С., Корнева Н.А., Зюбко Т.И.

ФГБУН Институт физиологии им. И. П. Павлова РАН,
ФГБУН Институт аналитического приборостроения РАН

Уникальный код статьи: 532ad963e9efd

Белок NAR-22 обнаруживается в различных органах при онкологических, сердечно-сосудистых и почечных заболеваниях на фоне генетически детерминированных нарушений обмена Са в клетке. Мы исследовали уровень экспрессии мРНК этого белка в почках в условиях сочетания артериальной гипертензии и солевой нагрузки, поскольку при этом наблюдаются одновременно гипертензивная нефропатия и почечная недостаточность.

У таких животных избыточное потребление соли оказывает неблагоприятное воздействие на сердечно-сосудистую систему, независимо от уровня артериального давления. При этом наблюдается резкое ухудшение функции почек, нарушение почечной гемодинамики и клубочковой динамики. В этом случае в развитии гипертензии основную роль играют задержка натрия и последующее увеличение объема внеклеточной жидкости, при этом изменяется фильтрационно-абсорбционная функция почек. В качестве контроля использовали крыс линии WKY, у которых при достаточном поступлении экзогенного кальция не наблюдается повышенного артериального давления. У всех животных до начала действия солевой нагрузки и после нее измеряли артериальное давление (АД) манжеточным методом.

У крыс линии SHR уровень экспрессии мРНК NAR-22 в почках исходно был достоверно выше, чем у крыс линии WKY. При солевой нагрузке у всех гипертензивных животных он достоверно снижался, при том, что уровень АД у них практически не изменялся.

У крыс линии WKY исходно уровень экспрессии мРНК NAR-22 был ниже, и солевая нагрузка также снижала этот показатель, вплоть до полного исчезновения у некоторых животных. Одновременно у них наблюдалось повышение артериального давления до уровня средней гипертензии.

Видимо, у крыс линии WKY, в отличие от крыс линии SHR, в почках

имеются компенсаторные механизмы, защищающие клетки канальцев от повреждающего действия нарушений абсорбционно-фильтрационных процессов, которые могут привести к апоптозу, с развитием которого и связана экспрессия белка NAP-22. У них также более эффективно функционирует система натрий-калиевой, натрий-кальциевой АТФ-аз и другие механизмы компенсации перегрузки цитозоля канальцевого эпителия натрием и кальцием. В то же время солевая нагрузка запускает действие альдостерон-ренин-ангиотензиновой системы, результатом чего и является подъем артериального давления, которое через некоторое время возвращалось к норме. Следовательно, у крыс SHR при солевой нагрузке более страдают внутриклеточные механизмы почечных структур, а у крыс WKY – системные механизмы регуляции артериального давления. Это следует учитывать при рассмотрении диетарных ограничений для разных форм артериальной гипертензии. Чем больше участие в патогенезе конкретной формы АГ генетически детерминированных нарушений клеточных механизмов, тем тяжелее последствия для организма повышения уровня поступления в организм ионов натрия, с одной стороны, и снижения поступления ионов кальция, с другой.

БАД «ЯГЕЛЬ ДЕТОКС» В КОМПЛЕКСНОЙ ТЕРАПИИ САХАРНОГО ДИАБЕТА 2 ТИПА

Аньшакова В.В., Сыдыкова Л.А., Степанова А.В., Смагулова А.Ш.,
Васильев П.П., Кершенгольц Б.М., Шаройко В.В.

Северо-Восточный федеральный университет им. М.К. Аммосова

Уникальный код статьи: 530be7ed840d7

По определению Международной Диабетической Федерации и ВОЗ сахарный диабет (СД) характеризуется как эпидемия, поэтому профилактика, лечение СД и его осложнений является одной из первостепенных задач биомедицинской науки и здравоохранения. В связи с этим, несмотря на наличие на фармацевтическом рынке множества препаратов для лечения СД, активно проводится поиск новых терапевтических возможностей. Известно что, в народной медицине, широко используются растения (*Coccinia indica* (плющевидная тыква), *Silibum marianum* (молочный чертополох) и др.), обладающие гипогликемическими свойствами [1]. В частности, из растения *Galega officinalis* (французская лилия) был получен один из широко используемых препаратов при СД2 - метформин.

Для расширения ассортимента материалов растительного происхождения с целью коррекции метаболических нарушений при СД нами разработан БАД на основе лишайников р. *Cladonia* [2], полученный механохимической биотехнологией. Результаты клинических испытаний влияния БАД на основе ягеля на биохимические показатели крови пациентов с исходно повышенным уровнем глюкозы и холестерина установили, что после трехнедельного приема препарата у пациентов статистически значимо снижается уровень глюкозы, холестерина и коэффициента атерогенности. Исследуемые БАД могут рассматриваться как профилактическое средство, наряду со стандартной терапией, для снижения риска сердечно-сосудистых осложнений при СД2.

Литература

1. Mark DA. Chromium picolinate supplementation attenuates body weight gain and increases insulin sensitivity in subjects with type 2 diabetes // Diabetes Care. 2006 Dec; 29(12):2764.
2. Биологически активная добавка к пище "ЯГЕЛЬ ДЕТОКС"

//Свидетельство о государственной регистрации
RU.77.99.11.003.Е.003704.05.13

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПРОДУКТА МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОГО СИНТЕЗА ПРИ ВЫРАЩИВАНИИ МОЛОДНЯКА КРС

Бабичева И.А.

ФГБОУ ВПО «Оренбургский государственный аграрный университет»

Уникальный код статьи: 530ebd402a4ba

Одним из многих способов снижения себестоимости продукции животноводства при максимальной скорости роста молодняка и минимальных затратах наряду с совершенствованием методов отбора племенного молодняка, механизации процессов обслуживания животных является внедрение в практику различных соединений с высокой биологической активностью.

В настоящее время в животноводстве применяют самые разнообразные соединения с повышенной биологической активностью: про- и пребиотики, премиксы, антиоксиданты, микроэлементы, электрохимически активированные растворы и многое другое. Содержащиеся в таких средствах соединения влияют на весь организм в целом [2,3].

Целью нашего исследования было выявление действия продукта микробиологического синтеза Сел-Плекса на физиологическое состояние, развитие бычков при дорастивании и откорме, а также установление оптимальной дозы препарата для формирования высокой продуктивности животных.

Сел-Плекс представляет собой источник органического селена (микро-элемента, являющегося частью многих ферментов), вырабатываемого специальными штаммами дрожжей, которые выращиваются в контролируемых условиях на среде, обогащенной селеном и с пониженным содержанием серы, благодаря чему дрожжи используют селен вместо серы в процессе формирования клеточных компонентов, включая белки.

Сел-Плекс содержит 1000 мг/кг селена, более 98% которого представлено селенометионином, селеноцистеином, т. е. биологически активными формами этого микроэлемента, обнаруженными в природе (пшеница, соя и др.) [1,4]. Предварительно нами было учтено содержание селена в кормах региона. Оно составляло примерно 0,17 – 0,20 мг/кг СВ. Для реализации оптимальной концентрации селена в организме, в норме оно должно быть выше в пределах 0,3 – 0,5 мг/кг СВ.

Исследования проводились в условиях откормочного животноводче-ского комплекса и включали физиологический и научно-хозяйственный опыты. Для проведения научно-хозяйственного опыта были подобраны 75 бычков симментальской породы в возрасте 9 мес, из которых по принципу аналогов сформированы пять групп - контрольная и четыре опытные.

Различие по группам заключалось в том, что бычки опытных групп дополнительно к основному рациону получали Сел-Плекс в дозах соответст-венно 100, 150, 200 и 250 мг/кг СВ в сутки. Контрольные животные получали основной рацион.

Основному периоду опыта, продолжительностью 210 суток, предшест-вовал 30-дневный подготовительный.

С учетом поедаемости кормов бычки контрольной группы потребляли 1705,6 корм.ед., I опытной - 1712,1, II - 1727,5, III - 1722,5 и IV опытной - 1715,8 корм.ед., обменной энергии - соответственно 17754, 17817, 17983, 17931 и 17860 МДж, переваримого протеина - 198,4; 199,3; 201,4; 200,7 и 199,8 кг.

Наиболее высокие коэффициенты переваримости питательных веществ корма отмечались у бычков, получавших Сел-Плекс в дозах 150 и 200 мг/кг СВ. Использование испытуемого препарата при выращивании молодняка крупного рогатого скота способствовало лучшему росту (табл.1).

Таблица 1. Живая масса и ее прирост у подопытных животных

Показатель	Группа				
	контрольная	I опытная	II опытная	III опытная	IV опытная
Живая масса, (кг) в возрасте, мес: 9	286,3±1,77	285,7±2,1	285,9±2,0	287,0±2,2	286,6±2,5
Живая масса, (кг) в возрасте, мес: 12	367,5±2,80	369,1±2,4	375,2±3,0	374,7±3,4	371,8±3,0
Живая масса, (кг) в возрасте, мес: 16	478,4±5,40	488,7±3,9	509,5±3,6	501,3±4,0	492,9±4,2
Абсолютный прирост, кг	192,1	203,2	223,6	214,3 206,3	
Среднесуточ-ный прирост, г	889±17,8	939±13,2 1035±9,8	992±12,6	955±15,4	

Бычки базового варианта по живой массе уступали особям опытных

групп в возрасте 12 мес соответственно на 1,6 (0,5 %), 7,7 (2,1 %; $P<0,05$), 7,2 (2,0 %; $P<0,05$) и 4,3 кг (1,2 %), в 16 мес – на 10,3 (2,1 %), 31,1 (6,1 %; $P<0,01$), 22,9 (4,6 %; $P<0,01$) и 14,5 кг (3,0 %; $P<0,05$).

Наибольшей интенсивностью роста обладали животные II опытной группы. По среднесуточному приросту живой массы они превосходили контрольных животных на 146 г (16,4 %; $P<0,001$), I опытной – на 96 г (10,2 %; $P<0,001$), III – на 43 г (4,3 %) и IV опытной – на 80 г (8,3 %; $P<0,05$).

Относительная скорость роста у подопытного молодняка составляла соответственно по группам 50,25; 52,43; 56,22; 54,38 и 52,94 %. Об изменении физиологического состояния организма бычков в связи с введением в кормовой рацион селеносодержащего препарата можно судить по морфологическим и некоторым биохимическим показателям крови. В опыте нами установлена положительная связь между продуктивностью животных и гематологическими показателями.

В пределах границ физиологической нормы в крови бычков опытных групп по сравнению с контролем больше содержалось эритроцитов на 1,57-5,35 %, гемоглобина – на 0,51-2,81 %, общего белка – на 0,58-4,80 %, кальция – на 2,7-9,3 %, фосфора – на 4,0-8,4 % с большими значениями изучаемых показателей в пользу особей, получавших Сел-Плекс в дозе 150 мг/кг СВ. У них также была выше кислотная емкость сыворотки крови и активность ферментов переаминирования АСТ и АЛТ.

Таким образом, морфологический и биохимический состав крови подопытных животных находился в пределах физиологической нормы и имел прямую положительную связь с интенсивностью роста.

Более высокими убойными качествами характеризовались бычки опытных групп, особенно получавших селеносодержащую кормовую добавку Сел-Плекс в дозе 150 мг/кг СВ рациона.

Последние превосходили сверстников контрольной, I, III и IV опытных групп по массе парной туши на 20,7 (8,4 %), 15,0 (6,0 %), 6,3 (2,4 %) и 10,0 кг (3,9 %), внутреннего жира – на 2,5 (17,8 %), 1,7 (11,5 %), 0,3 (1,8 %) и 1,5 кг (10,0 %), убойному выходу – на 1,1; 0,9; 0,3 и 0,5 %, массе мякоти туши – на 18,0 (9,4 %), 13,0 (6,6 %), 5,7 (2,8 %) и 8,3 кг (4,1 %), индексу мясности туши – на 4,1; 2,7; 0,9 и 0,9 %.

В мякоти туши бычков опытных групп был выше выход сухого вещества соответственно на 3,3; 13,3; 9,7 и 7,7 %, белка – на 3,1; 8,8; 6,1 и 5,7 %, жира – на 3,6; 19,8; 15,0 и 10,5 %, энергии – на 3,4; 15,7; 11,7 и 8,8 %.

Мышечная ткань животных, получавших Сел-Плекс, отличалась более высокой биологической ценностью, большей влагоудерживающей

способностью и меньшей увариваемостью.

Использование продукта микробиологического синтеза оказало положительный эффект на рост и развитие подопытных животных, причем с оптимальной дозой введения 150 мг/кг сухого вещества в сутки.

Литература

1. Ахметова И.Н. Влияние органического селена на переваримость питательных веществ рациона бычков // Зоотехния. – 2008. - № 7. – С.12-13.
2. Левахин В.И., Сиразетдинов Ф.Х., Калашников В.В., Горлов И.Ф. Основные аспекты повышения эффективности производства говядины и улучшения ее качества / Монография. – М.: Россельхозакадемия, 2008. – 388 с.
3. Горлов И.Ф., Волколупов Г.В., Левахин В.И. и др. Современные ресурсосберегающие технологии производства конкурентоспособной говядины. – Волгоград: Волгоградское книжное издательство, 2008. – 247 с.
4. Левахин В., Бабичева И., Поберухин М., Петрунина Ю. Эффективность использования БАВ при выращивании мясных бычков // Молочное и мясное скотоводство. – 2010. - № 7. – С.22-24.

СИНТЕТИЧЕСКИЙ АНТИОКСИДАНТ АРКУСИТ В КОРМЛЕНИИ МОЛОДНЯКА НОРОК

Багдонас И.И., Балакирев Н.А.

ФГБОУ ВПО МГАВМиБ имени К.И. Скрябина

Уникальный код статьи: 5329cb219f31d

На протяжении нескольких десятилетий в звероводстве достаточно часто стали использовать биологически активные добавки. Их действие на организм разнообразно: повышение показателей воспроизводства, уменьшение отхода молодняка до регистрации, увеличение суточного прироста молодняка, улучшение показателей размера и качества шкурок. Биологически активные добавки также используют для профилактики и лечения некоторых заболеваний, улучшения обмена веществ в организме.

Под действием внешних факторов, такие как кислород, температура, влажность и свет, происходит окисление жиров, которое оказывает негативное влияние на животных, их здоровье и продуктивность. Для уменьшения влияния и подавления процессов окисления в корм можно добавлять различные антиоксиданты, повышая тем самым антиокислительную активность кормосмеси (Балакирев Н.А, 1991).

Рядом исследователей было доказано положительное влияние различных биологически активных веществ, в том числе и антиоксидантов, на продуктивные качества и показатели здоровья сельскохозяйственных животных, птицы и пушных зверей (Сенько А.Я., 2000; Рапопорт О.Л., 1980; Балакирев Н.А. и др., 2000; Швиндт В.И., 2008; Кононенко С.И., 2008 и др.).

Целью наших исследований было оценить возможность и целесообразность применения синтетического антиоксиданта Аркусит при выращивании молодняка норок.

В данной работе мы изучали влияние Аркусита на рост зверей, а именно живую массу и линейные показатели роста – длину тела и обхват груди за лопатками, размер и качество шкурок, площадь шкурок.

Научно-хозяйственные опыты по изучению влияния Аркусита на определение оптимальной дозировки, рост, размер и качество шкурковой продукции проводились в течение трех лет. В 2011 году испытывались следующие дозировки Аркусита: 5, 10 и 15 мг/кг на голову в сутки, в 2012 году – 3, 5 и 7 мг/кг на голову в сутки и в 2013 году – 3, 5 и 7

мкг на голову в сутки. Количество животных в группах составляло по 40 голов. Животные сформированы по методу пар-аналогов.

Таблица 1. Сводные данные за три года исследований по применению Аркусита в рационах убойного молодняка норок: по живой массе, размеру, площади, качеству шкурок норок

Группа	Год	Доза Аркусита, мкг/гол в сутки	Живая масса в конце опыта, г	Размер и качество шкурок					
				п	Пл. шкурок, дм ²	Ос. Кр А, %	Бездефектные шкурки, %	Зачет по качеству, %	Цена 1 шкурки, рублей
1 Контр.	2011	-	2421,9 ± 22,9	37	10,5 ± 0,2	60,2	52,5	118	2360
2 Подоп.		5	2424,1 ± 24,0	39	11,0 ± 0,1	82,1	69,2	129,4	2588
3 Подоп.		10	2469,9 ± 33,4	33	11,1 ± 0,2	87,9	36,4	126,6	2531
4 Подоп.		15	2427,1 ± 31,4	33	11,1 ± 0,2	84,8	39,4	116,6	2332
1 Контр.	2012	-	2405,2 ± 56,0	27	10,2 ± 0,2	66,7	40,7	115,1	2418
2 Подоп.		3	2242,1 ± 47,6	34	10,8 ± 0,2	73,5	50	123,6	2596
3 Подоп.		5	2295,1 ± 57,2	32	10,9 ± 0,2	78,1	28,1	122,3	2569
4 Подоп.		7	2280,4 ± 47,1	35	10,4 ± 0,1	85,7	51,4	122,5	2572
1 Контр.	2013	-	2266,8 ± 29,5	38	10,2 ± 0,2	52,6	68,4	121,5	2673
2 Подоп.		3	2310,0 ± 38,4	34	10,5 ± 0,2	79,4	67,6	127,8	2812
3 Подоп.		5	2281,5 ± 25,8	36	10,7 ± 0,2	63,9	75	129,7	2853
4 Подоп.		7	2264,0 ± 30,4	36	10,4 ± 0,1	80,6	66,7	128,8	2834
1 Контр.	2013	-	2301,3 ± 16,6	89	10,5 ± 0,1	70,8	71,9	130,1	2862
2 Подоп.		5	2354,5 ± 22,1	83	10,8 ± 0,1	83,1	71,1	136,4	3001

В научно-хозяйственных опытах и производственной проверке (2011-2013 годы) были получены данные, свидетельствующие о положительном влиянии Аркусита на рост и качество шкурок убойного молодняка норок, особенно в дозе 5 мкг на голову в сутки.

Комиссионная оценка показала, что применение Аркусита положительно влияло на показатели шкурок норок. Площадь шкурок подопытных зверей, получавших Аркусит, была выше по сравнению с контрольной группой. В 2011 г площадь шкурок подопытных групп была выше шкурок контроля на 0,5-0,6 дм². В 2012 г этот показатель составил в среднем 0,2-0,7 дм², а в 2013 году – 0,2-0,5 дм². В опыте по апробации, применение Аркусита в дозе 5 мкг на голову в сутки дало увеличение шкурок в среднем на 0,3 дм².

Количество особо крупных шкурок (от 70 см) в группах получавших Аркусит было выше значения контрольной группы. В 2011 году это увеличение составило 24,6-27,7% от показателя контрольной группы. В 2012 году разница в особо крупных шкурках была в пользу опытных групп на 6,8-19,0%. В 2013 году при перепроверке доз увеличение числа особо крупных шкурок составило 11,3-28,0% от числа контрольной группы. При применении Аркусита в дозе 5 мкг/гол в сутки количество шкурок от 70 см было выше контрольной группы в среднем на 12,3%.

Количество бездефектных шкурок разнонаправлено, хотя в основном их количество больше в подопытных группах, получавших Аркусит в разных дозах. В 2011 году разница опытных групп с группой контроля составила от -16,1 до +16,7%. В 2012 году разность в показателях бездефектных шкурок среди групп составила -12,6...10,7%. В 2013 году этот показатель был скромнее: от -1,7 до 6,6%. При апробации Аркусита была выявлена незначительная разница в количестве бездефектных шкурок – уменьшение в сравнении с контролем на 0,8%.

Зачет по качеству шкурок в подопытных группах, несмотря на скромное количество бездефектных шкурок, в течение трех лет, был выше по сравнению с контрольной группой. В 2011 году, где давалась доза Аркусита в размере 15 мкг на голову в сутки – тогда зачет по качеству подопытной группы был ниже значения контрольной группы на 1,4%. В 2012-2013 гг. и на апробации, показатель подопытных групп превышал таковой в среднем на 6,3 – 8,5%. На апробации общий зачет по качеству повысился на 6,3%.

В связи с этим цена каждой шкурки, рассчитываемая по зачету по качеству превысила показатель опытных групп в отличие от контроля. Кроме 2011 года, где скармливали Аркусит в дозе 15 мкг/гол/сутки, уменьшение чистого дохода составило 28 рублей. В 2012 и 2013 году увеличение прибыли в среднем на каждую шкурку составило 139-180 руб.

При введении в кормосмесь Аркусита в различных дозах от 3 до 15 мкг на голову в сутки выяснено, что он не имеет негативного влияния на

показатели массы внутренних органов и патологические изменения в них.

Таким образом, установлено, что для повышения размера, площади и качества шкурок рекомендуется вводить в рационы убойного молодняка норок в период с июля по октябрь Аркусит в дозе 5 мкг на голову в сутки (3,5 мкг на 1 кг живой массы (2,1-5,6 мкг за июль-октябрь) или 18,5 мкг на кг корма), предварительно растворив его в воде до необходимой концентрации.

Литература

1. Балакирев Н.А. Биологически активные вещества в технологии кормления норок: Автореф. на соиск. учен. степени д-ра с.-х. наук: 06.02.02. / Н.А. Балакирев; НИИ пушного звероводства и кролиководства – М., 1991.
2. Балакирев Н.А. Методические указания проведения научно-хозяйственных опытов по кормлению пушных зверей / Балакирев Н.А., Юдин В.К. – М.: Россельхозиздат, 1994.
3. Балакирев Н.А. Нетрадиционные корма и биологически активные вещества в рационах зверей и кроликов / Балакирев Н.А., Мухамедянов М.М. – Киров, 2000.
4. Кононенко С.И. Балансирование рационов свиней с использованием белковых кормов и биологически активных веществ: Автореф.на соиск. учен. степени д-ра с.-х. наук: 06.02.02. / Кононенко С.И.; Краснодар - 2008. - С. 41.
5. Киселев В.Л. Воздействие витаминов и биологически активных веществ на организм пушных зверей / Киселев В.Л. // ВСХИЗО, сб.науч.тр. – М., 1995. – С. 98-99.
6. Рапопорт О.Л. Пути повышения полноценности кормления пушных зверей в условиях Крайнего Севера: Автореф. на соиск. учен. степени д-ра с.-х. наук: 06.02.02. / Рапопорт О.Л. – Норильск, 1970. – С. 18.
7. Сенько А.Я. Повышение продуктивных и воспроизводительных качеств птицы при использовании нетрадиционных кормов и кормовых добавок: Автореф. на соиск. учен. степени докт. с.-х. наук: 06.02.04, 06.02.02. / Сенько А.Я. – Оренбург, 2000. – С. 45.
8. Швиндт В.И. Научно-практическое обоснование использование нетрадиционных кормов, кормовых добавок и биологически активных веществ при производстве говядины: Автореф. на соиск. учен. степени докт. С.-х. наук: 06.02.04, 06.02.02. / Швиндт В.И. – Волгоград, 2008. – С. 54.

СОДЕРЖАНИЕ СЕЛЕНА В ЧЕСНОКЕ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ ПРИРОДНЫХ ИСТОЧНИКОВ ГОРНОЙ ЗОНЫ СЕВЕРНОГО КАВКАЗА

Бекузарова С.А., Кесаев А.Т.

Горский государственный аграрный университет

Уникальный код статьи: 53244e9cafd51

Альтернативным методом обогащения растений чеснока селеном, согласно нашим исследованиям, является экологически безопасный способ путем применения природных стимуляторов роста - сероводородной минеральной воды горных источников и цеолитсодержащей глины диалбекулит. Иные применяемые в настоящее время методы выращивания чеснока представляют определенную опасность загрязнения микроэлементами почвы. Растения аккумулируют не более 10% от вносимой дозы микроэлементов. В работе оцениваются особенности выращивания чеснока в горных и предгорных условиях Северной Осетии и его полезные свойства.

An alternative method of enrichment plant garlic selenium is an environmentally safe way through the use of natural growth promoters - hydrogen sulphide mineral water from mountain springs and zeolite clay dialbekulit. Other currently used methods for growing garlic represent a danger of contamination of soil micronutrients . Plants accumulate no more than 10 % of the carrier portion of the trace elements. In this study, the features of cultivation of garlic in the mountains and foothills of North Ossetia and the conditions of its beneficial properties.

Введение

Для получения экологически безопасных продуктов питания большое значение имеют микроэлементы, определяющие устойчивость живых организмов к стрессовым факторам [1-3]. Одним из таких элементов является селен, который содержится в некоторых овощных культурах, в том числе в чесноке *Allium sativum* L. [4]. Учитывая эту особенность, во многих странах выращивают эту селеносодержащую культуру. По доле выращивания чеснока Россия занимает четвертое место в мире после Китая, Индии, Южной Кореи [5]. Общая потребность в чесноке в нашей стране около 300 тысяч тонн в год, но фактически производится 254 тысячи тонны. Слабым местом при выращивании чеснока является его

плохая приживаемость в новых условиях выращивания [5]. Поэтому в горных условиях в течение многих сотен лет возделывают местные популяции, приспособленные к данной местности. В чесноке содержатся витамины, макроэлементы, фитонциды. Чеснок является основным поставщиком для организма человека такого важного элемента, как селен [6-8]. Разработаны способы обогащения чеснока и овощей селеном [2-4]. Селен входит наряду с цинком, кальцием и калием в состав более 200 гормонов и ферментов. Растения способны усваивать и трансформировать различные формы селена: неорганические в органические и обратно [7].

Ценным свойством чеснока является способность выделять фитонциды длительное время - около 70 часов после измельчения [5, 6]. Фитонциды чеснока в значительной степени подавляют размножение различных патогенных микроорганизмов. В связи с этими свойствами чеснок широко применяется в медицине [8, 9]. При участии селена у человека образуется 80% энергии, замедляется процесс старения, запускается антиоксидантная защита и многие другие, жизненно важные процессы [9]. Среди различных способов обогащения селеном растений наиболее распространенным являются внесение селената или селенита натрия в почву [10] и опрыскивание посевов растворами солей селена [11, 12]. Селенит натрия (Na_2SeO_3) в концентрации 0.1% водного раствора, введенный в состав глины, имеющей высокие сорбционные свойства. Глина обогащается селеном, который является антагонистом тяжелых металлов, способствует накоплению витаминов, повышает устойчивость растений чеснока к водному стрессу, соле- и засухоустойчивости [4, 11].

Материалы и методология

С целью повышения продуктивности чеснока озимого и увеличения содержания селена в нем, зубки чеснока замачивали в смеси Закинской минеральной воды и глины диалбекулит (место происхождения - пойма реки Урсдон-приток реки Терек РСО-Алания), с последующим мульчированием после посадки той же смесью в соотношении 2 : 1. Между рядами (30 см) высевали однолетний клевер откритолевый (*Trifolium apertum* L.).

Опыт 1 закладывали в горной зоне на высоте 2000 м над уровнем моря (село Закка, Северная Осетия). Готовили смесь из расчета на 1 га почвы 50 кг глины диалбекулит и 25 л Закинской минеральной воды. Смешивали компоненты и выдерживали 2-3 часа для полного сорбирования состава. Через 2-3 часа семенной материал (зубки или бульбочки чеснока) опускали в приготовленную смесь. Содержание

селена в чесноке определяли в Институте Агроэкологии Горского ГАУ. После посадки зубков или бульбочек мульчирование осуществляли тем же составом слоем в 3-5 см.

Опыт 2 - возделывание чеснока на склоновых землях. Высевают многолетние злакобобовые травы из расчета на 1 гектар 5 кг тимофеевки луговой и 15 кг клевера лугового. Эту смесь высевают поперек склона сплошным способом. В конце вегетации их скашивают на сено. К концу 1-го года жизни травы закрепляются на склонах благодаря мощной корневой системе. К весне второго года жизни к первому укосу (2-я декада мая) травы достигают высоты 50-70 см, что значительно снижает процессы эрозии почвы. Зеленую массу скашивают на зеленый корм и после укоса культиватором образуют из сплошного посева широкорядный (междурядья 45 см). В междурядья высевают фасоль кустовой формы с коротким вегетационным периодом. К осени фасоль созревает, освобождая участки для озимой посадки чеснока. Перед посадкой озимой культуры междурядья рыхлят, образуя бороздки, куда вносят цеолитсодержащую глину диалбекулит слоем 5-6 см. Предварительно, за 6-10 дней до посадки измельченную глину замачивают в водном растворе селенитом натрия концентрации 0.1%.

Результаты и обсуждение

Глина диалбекулит по сравнению с другими известными цеолитсодержащими глинами (ирлит, лескенит, аланит) характеризуется более легким удельным весом ($1.4 - 1.45 \text{ г/см}^3$), что обуславливает наличие в ней большого количества гидрослюд. Диалбекулит содержит заметное количество водорастворимых солей, приближаясь по этому показателю к низко минерализованным иловым сульфидным глинам, обладающим высокими сорбционными свойствами. Диалбекулит содержит (в %): кремний - 46,5; железо - 7,1; кальций - 37; цинк 1,1; калий - 1,1; никель 1,7; фосфор 1,7; кобальт - 0,1. За счет высокого содержания кальция реакция среды глины щелочная ($\text{pH} = 9,1$).

Растворенный в Закинской воде диалбекулит обладает сорбционными свойствами, обогащается веществами, содержащимися в минеральной воде (мг/л): кальций 320; магний 96; сульфаты - 118; хлориды - 180; нитраты - 89,4; сероводород - 120; калий - 2,1, $\text{pH} - 6.14$ (13)

При совмещении двух компонентов с различной реакцией среды ($\text{pH}=9,1$ и $\text{pH}=6,1$) pH приготовленной смеси составляет 7.6.

Содержащаяся в воде сера (в составе сероводородной воды) блокирует заболевания чеснока. Известно [6, 7], что селен, замещает серу в аминокислотах метионин и цистеин. При этом первоначально синтезируется селенометионин, который далее преобразуется в

селеноцистеин, селеноцистатин или при деметилировании - в селенометилселеноцистеин. Последний, взаимодействуя с глутамином, образует глутамилселено-метионинселеноцистеин. Активный синтез этих небелковых аминокислот наиболее характерен для растений - аккумуляторов селена (в данном случае чеснока). В накапливающих сверхвысокие концентрации селена растениях, кроме перечисленных выше, обнаружены [6, 7]: селенометилцистеин, селеногомоцистеин, глутаминселено-метилселеноцистеин, диметилдиселенид. Образующийся селен присутствует в ряде окислительно-восстановительных ферментов вместе с железом, содержащимся в диалбекулите - 7.1%.

Селен участвует в реакциях образования хлорофилла, синтезе трикарбоновых кислот, а также в метаболизме длинноцепочных жирных кислот. Все это свидетельствует об активном участии серы (в составе Закинской минеральной воды) в процессе фотосинтеза. Большое участие серы и селена в образовании токоферола, обнаружено в растении чеснока [7],

Функция серы в растительном организме состоит в поддержании уровня окислительно-восстановительного потенциала клетки за счет обратимости реакций цистеин-цистин-SH-глутатион-SS-глутатион. Сера является также компонентом коэнзима А и витаминов (липоевой кислоты, биотина, тиамин), играющих существенную роль в дыхании и липидном обмене [6, 7]

Обоснование выбранных параметров (экспозиция в Закинской воде в смеси глиной диалбекулит 2-3 часа) объясняется высокой сорбционной способностью глины при взаимодействии с минеральной водой, и последующим ее пролонгирующим действием в почве, обеспечивая синергизм всех необходимых элементов для питания растений.

Обволакивание смесью глины диалбекулит и минеральной воды местного происхождения не только снижает затраты на удобрения, применяемые в других работах, но и способствует нормальному физиологическому процессу в растениях. Комплекс макро- и микроэлементов способствует хорошей приживаемости растений, обеспечивает высокий синергизм действия. За счет щелочной реакции среды (средняя pH=7.6) обеспечивается лучшая приживаемость, особенно на кислых почвах горной зоны.

Глина диалбекулит обладает высокой теплоемкостью, тем самым защищая зубки чеснока от осенних заморозков в период прорастания, сохраняет влагу при весенней засухе.

Мульчирование толщиной 3-5 см) после посадки зубков чеснока

защищает посевной материал от воздействия низких температур, частых в горных условиях, привносит в почву необходимые элементы питания, а также ограничивает испарения почвенной влаги, сохраняет микроэлементы в почве, предотвращает заболевания фузариозом и шейковой гнилью. Температура в зоне семенного ложа за счет приготовленной смеси и мульчи была выше, чем на поверхности почвы, на 1.5-2°C. В зимнее время такие посевы меньше подвергаются воздействию низких температур. Смесь минеральной воды и глины диалбекулит снабжает необходимыми элементами посадочный материал. Сохраняя теплоемкость, смесь в оболочке семени и мульча на поверхности почвы создает благоприятные условия для развития чеснока и накопления селена [13, 14]. Высеваемый в междурядьях чеснока однолетний вид клевера открытосевого, обеспечивает подпитку растений биологическим азотом за счет клубеньковых бактерий, расположенных на корневой системе.

Предлагаемая ниже таблица показывает, что комплекс Закинской минеральной воды, мульчирование и междурядный посев клевера совместно повышают содержание селена в чесноке, продуктивности чеснока, зимостойкость, устойчивость к болезням.

Из приведенных в таблице данных следует, что при экспозиции минеральной Закинской воды и глины диалбекулит в течении 2-3 часов и в течение 3.5-4 часов снижается заболеваемость чеснока по сравнению с контролем, повышается содержание селена с 7.2 на контроле до 16.8 мг/кг на оптимальном варианте, увеличиваются как зимостойкость с 84.8% до 92.8 %, так и масса луковиц - от 29.2 до 39.2 грамм. Результаты опытов свидетельствуют о том, что предлагаемые нами методы приводят к увеличению продуктивности чеснока и повышению его качества.

Мульчирующий слой глины 5-6 см, насыщенный селенитом натрия, обеспечивает питанием высаженные зубки чеснока. Фасоль, посеянная до посадки чеснока, выделяет колины, препятствующие заболеванию зубков фузариозом и поражение нематодой.

Оставшиеся пожнивные остатки фасоли и скошенная масса трав, используемая в качестве мульчи, надежно предохраняет высаженные зубки от низких зимних температур, потери влаги и защищают почву от эрозии.

Таблица 1. Влияние Закинской минеральной воды и глины диалбекулит на продуктивность и качество чеснока озимого

Вариант опыта	Масса луковиц, г	Заболеваемость, %		Содержание селена, мг/кг	Зимостой- кость, %
		фузариоз	шейковая гниль		
Посадка чеснока зубками - контроль	29.2	4.6	5.2	7.2	82.4
Замачивание зубков в минеральной воде воде 2-3 часа	26.7	4.1	4.8	5.6	80.5
Обволакивание зубков глиной диалбекулит	23.8	3.8	4.2	4.9	84.8
Посев клевера в междурядья чеснока	19.8	5.2	5.8	3.6	76.6
Минеральная вода + глина диалбекулит без экспозиции	27.5	4.8	5.6	7.1	82.8
Минеральная вода + глина диалбекулит, экспозиция 2-3 часа	28.6	4.0	3.8	8.2	8.4
Минеральная вода + глина диалбекулит экспозиция 2-3 часа + мульчирование	32.6	3.0	2.4	12.6	89.5
Минеральная вода + глина диалбекулит + мульчирование + посев клевера в междурядья чеснока	39.2	2.4	1.8	16.8	92.8
Замачивание в минеральной воде и глине 1-1.5 часа + мульчирование	30.5	3.2	2.8	11.6	87.3
Замачивание в минеральной воде и глине диалбекулит 3.5-4 часа + мульчирование	31.5	2.2	1.2	13.8	90.9

Выводы

1. Посадка чеснока в горной зоне с использованием природных источников сырья - минеральной воды и цеолитсодержащей глины приводит к понижению заболеваемости и повышению урожайности чеснока.

2. Содержание селена в луковицах увеличилось со 7.2 до 16.8 мкг/кг на оптимальном варианте. Заболеваемость фузариозом снизилась с 4,6 до 2.2 %

3. На склоновых землях применяемый способ посева многолетних бобовых трав, прореживание его для размещения культуры фасоли с

последующей осенней высадкой чеснока озимого и с использованием пожнивных остатков для мульчирования обеспечивает не только повышение урожая, но и его качество, сохраняя плодородие почв за счет снижения эрозионных процессов.

Литература

1. Серегина И.Н. Продуктивность и адаптивная способность сельскохозяйственных культур при применении микроэлементов и регуляторов роста. PhD diss. PhD Author's Abstract of the Biological Sciences.
<http://www.dissercat.com/content/produktivnost-i-adaptivnaya-sposobnost-selskokhozyaistvennykh-kultur-pri-primenenii-mikroele#ixzz2s4JepSk6>
2. Серегина И.И., Ниловская Н.Т. Биологическая роль селена в растениях // *Агрохимия*. - 2002. - №10. - С.76-85.
3. Голубкина Н.А., Конофеева Н.И., Павлов Л.В. и др. Способ обогащения селеном овощей / Патент РФ №2218764. Опубликовано 20.12.2003.
4. Голубкина Н.А., Соколов Я.А., Соколова А.Я., и др. Способ обогащения чеснока и корнеплодов селеном / Патент РФ № 2189155. Опубликовано 20.09.2002.
5. Сузан В.Г. Гринберг Е.Г. Штайнерт Т.В. Производство чеснока в Сибири и на Урале: проблемы и перспективы // *Картофель и овощи*. - 2013. - №9. - Р. 9-11.
6. Шеуджен А. Х., Лебедевский И.А., Бондарева Т.Н. Биогеохимия и агрохимия селена // *Научный журнал Кубанского Государственного Университета*. - 2013. - № 92 (08). - Р. 1-11.
7. Шеуджен А.Х. Биогеохимия / Майкоп. - Издательский дом «Адыгея». - 2003. - 1028 р.
8. Анисимова О. Аптечка от природы: чеснок // *Российские аптеки: журнал*. Москва. Группа компаний «Ремедиум», - 2007. - № 22.
9. Гмошинский И.В. Селен в питании человека / Материалы XVI сессии Академической школы-семинара имени А.М. Уголева «Современные проблемы физиологии и патологии пищеварения» // *Приложении №14 к Российскому журналу гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии*. - 2001. - Т. XI. - №4. - С. 121-127.
10. Голубкина Н.А., Никульшин В. П., Хрыкина Ю. А. Особенности внекорневого способа обогащения растений чеснока селеном // *Сельскохозяйственная биология. Серия Биология растений*. - 2007. - № 1. - Р. 82-85.
11. Yli Halla M. Influence of selenium fertilization on soil selenium status //

- Proceedings Twenty years of selenium fertilization (September 8-9, 2005, Helsinki, Finland,) Agrifood Research Reports, vol. 69, MTT Agrifood Research Finland, Jokioinen, p. 25-32.
12. Workshop: Twenty years of selenium fertilization / Proceedings Twenty Years of selenium fertilization (September 8-9, 2005, Helsinki, Finland) Agrifood Research Reports, vol. 69, MTT Agrifood Research Finland, Jokioinen.
 13. Бекузарова С. А., Алборов И. Д., Кесаева З. А. и др. Способ повышения селена в чесноке горной зоны // Патент РФ №2494593. Опубликовано 10.10.2013.
 14. Качмазов Д.Г. Особенности возделывания чеснока озимого в горных и предгорных условиях республики Северная Осетия-Алания. Автореферат диссертации. Владикавказ. - 2010. - 22 р.
 15. Цаболов П. Х. Влияние фиторегуляторов на продуктивность и качество луковиц чеснока // Известия Горского ГАУ.- 2012. - Т. 49, часть 3. - Р. 37-40.

ФОТОХРОМНЫЕ МЕТКИ НА ОСНОВЕ СПИРОПИРАНОВ

Беликов Н.Е., Демина О.В., Лукин А.Ю., Левин П.П.,
Варфоломеев С.Д., Ходонов А.А.

Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН,
Московский государственный университет тонких химических
технологий им. М.В. Ломоносова

Уникальный код статьи: 532b0c0e21f82

Актуальным направлением биоорганической химии является синтез биологически активных молекул, обладающих фотохромными свойствами. Ранее нами был открыт новый класс ингибиторов агрегации тромбоцитов - 5-замещенные 3-пиридилизоксазолы и разработаны методы их синтеза. Нами получена библиотека 3,5-замещенных изоксазолов и их 4,5-дигидропроизводных, содержащих 2-, 3- и 4-пиридинильный фрагменты в С3-положении и заместители различной природы в С5-положении изоксазольного кольца [1,2]. Для исследования механизма действия этого класса ингибиторов агрегации тромбоцитов человека нами были синтезированы три соединения (SP1-SP3), содержащие «молекулярный адрес» в различной пространственной ориентации к фрагменту фотохромной метки из ряда спиропиранов. Преимущество фотохромных меток на основе спиропирана заключается в том, что они обладают бинарным набором двух типов аналитических сигналов: поглощение в области 560-600 нм и индукция флуоресценции.

Синтез 3,5-замещенных изоксазолов, содержащих фрагмент спиропиранового фотохрома в С3- или С5-положении кольца, выполняли, взяв в качестве исходного соединения 6-нитроспиропиран, который избирательно формилировали по С5'-положению индолинового фрагмента в условиях реакции Даффа с выходом 86%, согласно запатентованному нами методу [3]. Затем 6-нитро-5'-формилспиропиран был трансформирован при помощи олефинирования по Виттигу в 5'-винил-6-нитропроизводное с выходом 76% или в смесь оксимов. Далее, для получения целевых соединений (SP1-SP3) нами была использована реакция [3+2]-циклоприсоединения нитрилоксидов к алкинам или алкенам. Нитрилоксиды генерировали одним из трех методов: 1) "in situ МФК" из соответствующих оксимов действием водного раствора гипохлорита натрия в условиях межфазного катализа (NaOCl водн./ CH_2Cl_2

/Aliquat 336); 2) “one-pot” хлорированием смеси оксимов под действием NCS с образованием гидроксимоилхлорида, из которого далее при дегидрогалогенировании триэтиламинном образуется нитрилоксид; 3) “in situ Huisgen” при дегидрогалогенировании 3-пиридингидроксимоилхлорида медленным добавлением триэтиламина. В подобранных нами условиях реакция [3+2]-циклоприсоединения протекала исключительно региоселективно, с образованием 3,5-региоизомера, согласно данным ^1H -ЯМР-спектроскопии.

Исследования спектрально-кинетических характеристик и фотохромизма соединений (SP1-SP3) были проведены в растворах толуола, DMSO, этанола и смеси DMSO-вода. Также было проведено изучение процесса их связывания с рецепторами мембраны тромбоцитов человека. Детектирование образования комплексов соединений (SP1-SP3) с рецепторами мембраны тромбоцитов проводили спектрофотометрически, измеряя интенсивность фотоиндуцированной флуоресценции мероцианиновой формы метки и величины ее оптического поглощения. Было показано, что соединение (SP3), содержащее полный фармакофорный фрагмент в качестве «молекулярного адреса», связывается с тромбоцитами намного лучше, чем соединение (SP2). Эксперимент по связыванию соединения (SP3) с использованием избытка немеченного аналога – 3-(3-пиридил)-5-фенил-4,5-дигидроизоксазола показал, что оба соединения связывались с одной и той же мишенью – рецептором тромбоксана A_2 .

Работа была частично поддержана грантом РФФИ (проект 14-04-01701) и грантом Президента Российской Федерации для молодых ученых - кандидатов наук (проект № МК-6901.2013.4).

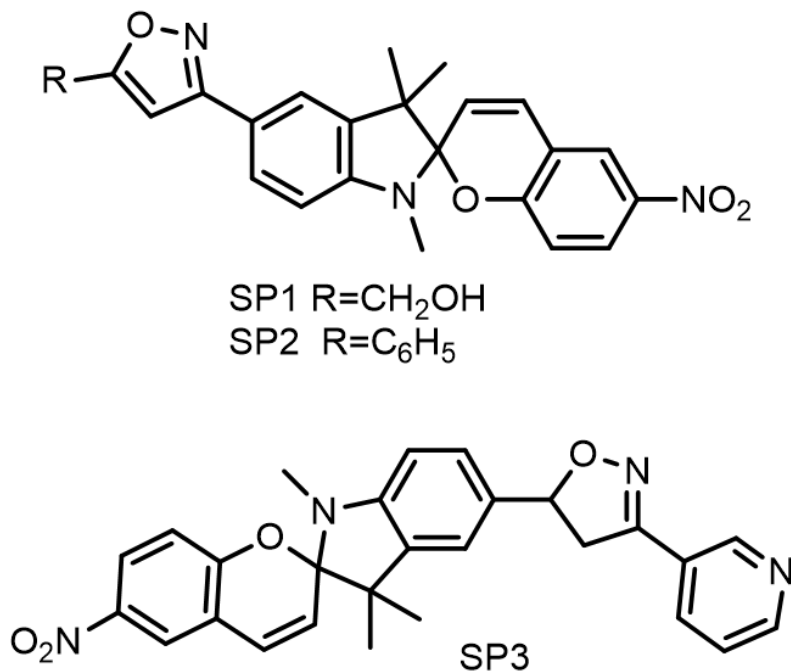


Рис. 1.

Литература

1. Демина О.В., Варфоломеев С.Д., Вржещ П.В., Татаринцев А.В. Патент РФ № 2088229, 1997.
2. Демина О.В., Ходонов А.А., Швец В.И., Варфоломеев С.Д. Биологические мембраны, 2002, 10, 115-152.
3. Лаптев А.В., Лукин А.Ю., Беликов Н.Е., Швец В.И., Демина О.В., Барачевский В.А., Ходонов А.А. Патент РФ № 2358977, 2009.

РАЗРАБОТКА ПРОТОТИПОВ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ КОЛЛОИДНЫХ НАНОЧАСТИЦ СЕЛЕНА И ВЫСОКОМОЛЕКУЛЯРНЫХ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ

Благова Ю.В., Староверов С.А., Волков А.А., Козлов С.В., Двоенко А.В.

Саратовский государственный аграрный университет им. Н.И. Вавилова,
ООО «НаноФарм-про», г. Саратов

Уникальный код статьи: 532488f07da52

Введение. Как известно, биофармацевтическая промышленность является одной из важнейших отраслей биотехнологии и основными направлениями в данной отрасли являются: разработка эффективных и безопасных лекарственных средств, обладающих комплексным профилактическим и терапевтическим потенциалом [1,2,6], конструирование нановакцин [8], создание средств адресной доставки биологически активных веществ во внутриклеточное пространство [3,4,7], а так же разработка современных экспресс методов диагностики заболеваний различной этиологии [5,9,10].

По имеющимся данным, большинство традиционных лекарственных форм уже не отвечают современным требованиям, а их производство и применение в значительной степени тормозит развитие медицины, а также фармацевтической науки и индустрии. Поэтому необходим поиск безопасного средства для внутриклеточной доставки биологически активных веществ к органам мишеням и клеткам, и конструирование на его основе нового поколения лекарственных препаратов.

Материалы и методы. Для разработки эффективного средства для внутриклеточной доставки биологически активных веществ, нами была синтезирована нано конструкция несущая нано структурированный коллоидный селен в качестве основы (транспортной наноплатформы) и биоактивные вещества в качестве внешней оболочки. Средство для внутриклеточной доставки биологически активных веществ содержит в качестве наночастиц (наноплатформы) специально подготовленный коллоидный селен и дополнительно – стабилизатор. Селен, содержащийся в продукте (композиции), находится в наноразмерном состоянии (от 40 до 100 нм).

В качестве биологически активного вещества средство может содержать высокомолекулярное природное соединение, в частности –

белок сыворотки молока, пептидные фрагменты белка сыворотки молока, белок вируса трансмиссивного гастроэнтерита свиней, и биологически активное низкомолекулярное соединение, в частности - силимарин, гентамицин и другие (в зависимости от поставленной врачебной задачи).

Результаты. Нами был разработан прототип иммуномодулирующего лекарственного препарата «Иммуно-Safe», созданного путём конъюгирования комплекса кислотоустойчивых белков сыворотки молока (лактоферрин, лактоальбумин, лактоглобулин) и коллоидного селена, используемого в качестве нано размерного носителя. рН полученного прототипа препарата - 7,2 ед., что соответствует физическим параметрам инъекционных растворов для парентерального введения.

Для определения равномерности и однородности распределения компонентов иммуностимулирующей композиции определяли спектр в диапазонах длин волн от 200 до 1000 нм, с шагом 1 нм. Было установлено, что раствор имеет достаточно однородную среду поглощения света в диапазоне от 200 до 650 нм.

Размер частиц коллоидного селена определяли при помощи электронного микроскопа LIBRA 120 (Carl Zeiss, Германия) (рисунок 2 а). На рисунке видно, что описанный выше синтез позволяет создать коллоидный раствор, содержащий частицы селена от 60 до 100 нм.

Одновременно была проведена электронная микроскопия полученного нами препарата. Исследования проводили на электронном микроскопе LIBRA 120 (Carl Zeiss, Германия) с приставкой для элементного анализа (спектрометр с омега фильтром) с возможностью записи спектра энергетических потерь электронов для идентификации селена.

Для подтверждения способности коллоидного селена доставлять биоактивные вещества во внутриклеточное пространство, проводили исследование на клеточной линии HeLa. Для обнаружения комплекса кислотоустойчивых белков сыворотки молока (КБСМ) во внутриклеточном пространстве проводили мечение данного комплекса белков флуоресцинизоцианатом (рисунок 1,2).

На рисунке 1 отмечается интенсивное зеленое свечение, что свидетельствует о свободном проникновении во внутриклеточное пространство наноконъюгата - КБСМ (меченного ФИТЦ), конъюгированного с наночастицами селена. Напротив, на рисунке 2 наблюдается едва заметное слабое зеленое свечение, указывающее лишь на частичное проникновение КБСМ, меченных ФИТЦ во внутриклеточное пространство.

Таким образом, белки сыворотки молока, конъюгированные с коллоидным селеном свободно проникают во внутриклеточное пространство. Отдельно же (без наночастиц селена) данные белки практически не проникают во внутриклеточное пространство.

При изучении биологической активности на клеточной линии SPEV-2, было установлено, что культивирование клеток в присутствии прототипа иммуномодулирующего лекарственного препарата «Иммуно-Safe» приводит к повышению дыхательной активности почти в 4 раза. Что свидетельствует о способности препарата активировать окислительные процессы клеточного метаболизма.

Влияния прототипа препарата «Иммуно-Safe» на неспецифические факторы иммунитета определяли в тесте с нитротетразолевым синим на перитонеальных клетках белых нелинейных крыс. Было установлено, что разработанный прототип заметно стимулирует клеточную систему иммунитета, что выражается в усилении митохондриального дыхания перитонеальных макрофагов, в зависимости от концентрации препарата.

Выводы и обсуждение. Разработана технология синтеза, позволяющая создавать коллоидный раствор, содержащий частицы селена размером от 60 до 100 нм, несущие на своей поверхности высокомолекулярные биологически активные вещества. Доказано свойство коллоидных частиц селена проникать во внутриклеточное пространство и свободно переносить конъюгированные на их поверхности биологически активные вещества. Был разработан прототип иммуномодулирующего препарата и установлено, что он оказывает стимулирующее действие на неспецифические факторы иммунитета, что выражается в повышении активности фагоцитоза и усилении митохондриального дыхания перитонеальных макрофагов.

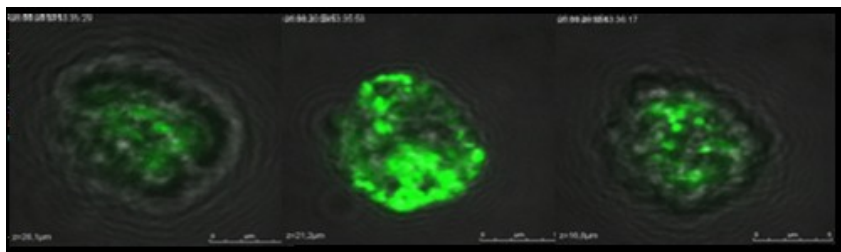


Рис. 1. Конфокальная микроскопия клеток линии HeLa, культивированных в присутствии коллоидного селена и комплекса кислотоустойчивых белков сыворотки молока меченных ФИТЦ (интенсивное зеленое свечение)

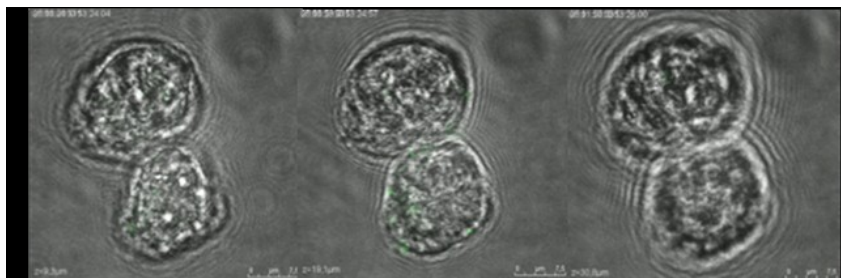


Рис. 2. Конфокальная микроскопия клеток линии HeLa, культивированных в присутствии кислотоустойчивых белков сыворотки молока меченных ФИТЦ коллоидного селена (слабое зеленое свечение)

Литература

1. Башкирова Е.В., Путина С.Н., Волков А.А., [и др.] Конструирование инъекционной формы на основе силимарина и изучение ее биодинамических и токсикологических свойств. Вестник Саратовского госагроуниверситета им. Н.И. Вавилова. 2013. № 08. С. 4-6. - Режим доступа: <http://elibrary.ru/item.asp?id=20253696>
2. Енгашев С.В., Староверов С.А., Волков А.А., [и др.] Сравнительная характеристика биодинамики хелатного и декстранового комплексов железа // Ветеринария. 2013. № 6. С. 50-52. - Режим доступа: <http://elibrary.ru/item.asp?id=19393579>
3. Исаева А.Ю., Староверов С.А., Волков А.А. [и др.]. Изучение биологических свойств наноразмерной структуры на основе коллоидного селена in vitro // Ветеринарная патология. 2012. № 3 (41). С. 111-114. - Режим доступа: <http://elibrary.ru/item.asp?id=18047494>
4. Исаева А.Ю., Староверов С.А., Волков А.А. [и др.]. Конструирование наноразмерной структуры на основе коллоидного селена // Ветеринарная патология. 2012. № 3 (41). С. 114-117. - Режим доступа: <http://elibrary.ru/item.asp?id=18047495>
5. Староверов С.А., Фомин А.С., Волков А.А., [и др.] Использование фаговых мини-антител для определения концентрации ферритина в сыворотке крови животных // Российский ветеринарный журнал. Сельскохозяйственные животные. 2012. № 4. С. 30-33. - Режим доступа: <http://elibrary.ru/item.asp?id=18236798>
6. Сазыкина К.И., Енгашев С.В., Волков А.А., [и др.]. Конструирование комплексного антибактериального препарата на основе доксицилина, лактулозы и бромгексина // Ветеринарная патология.

2013. № 4 (46). С. 83-87.
7. Козлов С.В., Фомин А.С., Степанов В.С. [и др.] Конструирование коллоидного комплекса селена с лактоферрином и изучение его биодинамических свойств // Актуальные вопросы ветеринарной биологии. 2012. № 1. С. 27-32. - Режим доступа: <http://elibrary.ru/item.asp?id=17362200>
 8. Меженный П.В., Староверов С.А., Волков А.А., Козлов С.В., Ласкавый В.Н., Дыкман Л.А., Исаева А.Ю. Конструирование конъюгатов коллоидного селена и коллоидного золота с белком вируса гриппа и изучение их иммуногенных свойств // Вестник Саратовского госагроуниверситета им. Н.И. Вавилова. 2013. № 02. С. 29-32.
 9. Фомин А.С., Малинин М.Л., Василенко О.А., [и др.] Изучение механизмов токсического воздействия туберкулина PPD на клетки иммунной системы лабораторных животных // Ветеринарная патология. 2011. № 3. С. 78-84. - Режим доступа: <http://elibrary.ru/item.asp?id=16920839>
 10. Vasilenko O.A., Yermilov D.N., Dykman L.A., Staroverov S.A., Pristensky D.V., Shchyogolev S.Yu. Obtainment of polyclonal antibodies to clenbuterol with the use of colloidal gold / Immunopharmacology and Immunotoxicology. 2007. Т. 29. № 3-4. С. 563-568.

ВЛИЯНИЕ СЕЛЕНИЗИРОВАННЫХ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ПРЕПАРАТОВ НА БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ПОЧВЫ

Блинохватов А.А., Зиновьев С.В., Сывороткина К.А., Меркулова И.В.

ПензГТУ

Уникальный код статьи: 5322b5c2016d3

Микрофлора почвы характеризуется большим разнообразием микроорганизмов, которые принимают участие в процессах почвообразования и самоочищения почвы, кругооборота в природе азота, углерода и других элементов. В почве обитают бактерии, грибы, лишайники (симбиоз грибов с цианобактериями) и простейшие.

Состав микрофлоры почвы меняется в зависимости от типа и состояния почвы, состава растительности, температуры, влажности и т.д. В почве живут бактерии, способные усваивать молекулярный азот (азотфиксирующие), относящиеся к родам *Azotobacter*, *Azomonas*, *Mycobacterium* и др.

Азотфиксирующие разновидности цианобактерий, или сине-зеленых водорослей, применяют для повышения плодородия рисовых полей. Такие бактерии, как псевдомонады, активно участвуют в минерализации органических веществ, а также восстановлении нитратов до молекулярного азота.

Почва служит местом обитания спорообразующих палочек родов *Bacillus* и *Clostridium*. Непатогенные бациллы (*Bac. megatherium*, *Bac. subtilis* и др.) наряду с псевдомонадами, протеем и некоторыми другими бактериями являются аммонифицирующими, составляя группу гнилостных бактерий, осуществляющих минерализацию белков.

В почве находятся также многочисленные представители грибов. Грибы участвуют в почвообразовательных процессах, превращениях соединений азота, выделяют биологически активные вещества, в том числе антибиотики и токсины.

Микрофауна почвы представлена простейшими, количество которых колеблется от 500 до 500000 на 1 г почвы. Питаясь бактериями и органическими остатками, простейшие вызывают изменения в составе органических веществ почвы.

В результате исследований были выявлены изменения в структурно-функциональной организации микробной части почвенно-биотического комплекса под влиянием исследуемых

бактериальных препаратов.

Результаты исследований, проведенных с образцами, отобранными в фазу бутонизации сои, свидетельствуют о высоком положительном действии изучаемых бактериальных препаратов и селена на численность и групповой состав целлюлозоразлагающих микроорганизмов. (Таблица 1) Обработка ризоторфином и агрикой привела к увеличению общей численности микроорганизмов на 0,9 и 1,1 млн. на 1г почвы соответственно. При использовании селенизированных препаратов наблюдалось еще более значительное увеличение численности микроорганизмов на 1,4 и 1,6 млн. на 1г почвы соответственно. Обработка семян селеном привела к увеличению общего числа микроорганизмов на 0,86 млн. на 1г почвы.

Влияние на различные группы микроорганизмов было неоднозначным: применение бактериальных препаратов и селена вызывало снижение численности грибов в сравнении с контролем на 0,20-0,66 млн. на 1г почвы, тогда как общее количество актиномицетов и бактерий увеличилось. Максимальное увеличение численности актиномицетов наблюдается в варианте с селенизированным ризоторфином - на 0,33 млн. на 1г почвы в сравнении с контролем, а бактерий при обработке селенизированной агрикой - на 1,33 млн. на 1г почвы.

Данная тенденция прослеживается и в отношении экспериментальных данных полученных при отборе проб в фазу образования бобов. На фоне уменьшения содержания влаги произошло сокращение численности грибов и бактерий и возрастание общего количества актиномицетов.

Влияние на различные группы микроорганизмов было неоднозначным: применение бактериальных препаратов и селена вызывало снижение численности грибов в сравнении с контролем на 0,20-0,66 млн. на 1г почвы, тогда как общее количество актиномицетов и бактерий увеличилось. Максимальное увеличение численности актиномицетов наблюдается в варианте с селенизированным ризоторфином - на 0,33 млн. на 1г почвы в сравнении с контролем, а бактерий при обработке селенизированной агрикой - на 1,33 млн. на 1г почвы.

Данная тенденция прослеживается и в отношении экспериментальных данных полученных при отборе проб в фазу образования бобов. На фоне уменьшения содержания влаги произошло сокращение численности грибов и бактерий и возрастание общего количества актиномицетов.

Ферменты – биологические катализаторы белковой природы, образуемые микроорганизмами и характеризующиеся мощностью, лабильностью и специфичностью действия. Ферменты играют важную роль в обмене веществ, они обуславливают скорость и направленность биохимических процессов. В почве содержатся различные экзо- и эндоферменты, выделяемые после лизиса растительных и микробных клеток. Поэтому ферментативная активность является показателем, отражающим активность микрофлоры. Ферментативная активность почвы представлена в таблице 2.

Активность протеазы, катализирующей гидролитическое расщепление белковых веществ, была максимальной в контрольном варианте. В вариантах с применением бактериальных препаратов и селена активность протеазы была ниже на 0,18-0,28 мг аминного азота за 72 часа/г почвы, что говорит о влиянии изучаемых препаратов на темпы минерализации органического вещества.

Активность уреазы, инвертазы, полифенолоксидазы, пероксидазы была максимальной в варианте с предпосевной обработкой семян сои селенизированной агрикой, что связано с усилением микробиологической активности в целом.

Уреаза - фермент, катализирующий гидролиз мочевины. Учет активности уреазы показал, что наибольшее влияние оказала предпосевная обработка семян сои селенизированной агрикой, которая позволила увеличить активность на 21 мг $\text{NH}_3/10$ г почвы за 24 часа. Применение агрики в чистом виде привело к увеличению данного показателя на 6 мг $\text{NH}_3/10$ г почвы за 24 часа. Использование для предпосевной обработки семян ризоторфина и селена снизило активность уреазы на 12 и 6 мг $\text{NH}_3/10$ г почвы за 24 часа соответственно. В варианте с применением селенизированного ризоторфина изменения активности уреазы не наблюдалось.

Инвертаза – фермент, участвующий в гидролизе сахарозы. Наблюдения за динамикой изменения активности в образцах различных вариантов показали, что наибольшая активность, превышающая контроль на 0,9 мг глюкозы/г почвы за 24 часа отмечается при обработке семян селенизированной агрикой. Применение селенизированного ризоторфина вызвало увеличение активности инвертазы на 0,82 мг глюкозы/г почвы за 24 часа в сравнении с контролем. В вариантах с использованием ризоторфина и агрики в чистом виде превышение над контролем составило 0,55 и 0,41 мг глюкозы/г почвы за 24 часа соответственно. В варианте с применением селена увеличение составило 0,28 мг глюкозы/г почвы за 24 часа.

Полифенолоксидаза участвует в превращении органических соединений ароматического ряда в компоненты гумуса в почве. Увеличение активности полифенолоксидазы наблюдается только в варианте с применением селенизированной агрики на 2,3 мг пурпурогаллина/г почвы. Остальные исследуемые препараты и селен вызывали снижение активности фермента на 1,8-4,9 мг пурпурогаллина/г почвы в сравнении с контролем, где активность равна 37,7 мг пурпурогаллина/г почвы.

Пероксидаза участвует в реакции конденсации веществ при образовании молекул гуминовых кислот, а также принимает участие в окислительно-восстановительных процессах в почве. Наибольшее увеличение пероксидазной активности отмечено в вариантах с использованием селенизированных бактериальных препаратов. Так обработка ризоторфином обеспечила увеличение активности на 2,3 мг пурпурогаллина/г почвы, а агрикой - на 1,4 мг пурпурогаллина/г почвы. Использование ризоторфина в чистом виде обеспечило незначительное увеличение активности - на 0,2 мг пурпурогаллина/г почвы. В вариантах с агрикой и селеном наблюдалось снижение активности пероксидазы на 0,5 и 0,9 мг пурпурогаллина/г почвы соответственно.

Изменение группового состава целлюлозоразлагающих микроорганизмов при инокуляции семян сои бактериальными удобрениями

Варианты опыта	Фаза бутонизации								Фаза образования бобов							
	Общее количество микроорганизмов в 1 г почвы (на МПА), млн. шт.	Количество в 1 г почвы						Общее количество микроорганизмов в 1 г почвы (на МПА), млн. шт.	Количество в 1 г почвы							
		грибов		актиномицетов		бактерий			грибов		актиномицетов		бактерий			
		млн. шт.	%	млн. шт.	%	млн. шт.	%		млн. шт.	%	млн. шт.	%	млн. шт.	%		
Контроль (без обработки)	5.1	0.50	9.8	0.80	15.7	3.80	74.5	4.5	0.42	9.3	1.18	26.2	2.90	64.5		
Ризоторфин	6.0	0.46	7.7	1.10	18.3	4.44	74.0	5.3	0.37	7.0	1.59	30.0	3.34	63.0		
Ризоторфин +Se	6.5	0.48	7.4	1.17	18.0	4.85	74.6	5.8	0.38	6.6	1.73	29.8	3.69	63.6		
Агрика	6.2	0.42	6.7	1.05	17.0	4.73	76.3	5.4	0.33	6.1	1.54	28.5	3.53	65.4		
Агрика +Se	6.7	0.44	6.6	1.13	16.8	5.13	76.6	6.0	0.35	5.8	1.66	27.7	3.99	66.5		

Таблица 1.

Ферментативная активность почвы, соя

Варианты опыта	Протеаза, в мг аминного азота за 72 часа/г почвы	Уреаза, мг NH ₃ /10 г почвы за 24 часа	Инвертаза, мг глюкозы/г почвы за 24 часа	Полифенол- оксидаза, мг пурпурогаллина/г почвы	Пероксидаза, мг пурпургаллина/г почвы	Каталаза, O ₂ см ³ /г за 1 мин
Контроль (без обработки)	1,15	165	4,79	37,7	24,8	2,6
Ризоторфин	0,87	153	5,34	32,8	25,0	2,0
Ризоторфин +Se	0,94	165	5,61	35,5	27,1	2,3
Агрика	0,92	171	5,20	35,9	24,3	1,8
Агрика +Se	0,97	186	5,69	40,0	26,2	1,9
Se	0,90	159	5,07	33,3	23,9	1,9

Таблица 2.

Литература

1. Фарниев А.Т., Посыпанов Г.С. Биологическая фиксация азота воздуха, урожайность и белковая продуктивность бобовых культур в Алании.-Владикавказ: Иростон, 1996.-211с.
2. Селен в биосфере/Под ред. А.Ф. Блинохвотова.-Пенза: РИО ПГСХА,2001.-С.324.
3. Шлома Т.М. Влияние биологически активных препаратов на продуктивность гороха /резервы повышения продуктивности кормовых угодий в республике Беларусь (Материалы республиканской научно-практической конференции) Горки 2002.
4. Коваль И.М. Применение биологических препаратов на посевах бобовых культур / Проблемы питания растений и использование удобрений в современных условиях (Материалы научно-практической конференции) Минск 2000.

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ЧЕТЫРЕХ ПОПУЛЯЦИЙ *PINUS SYLVESTRIS* L. НА РУССКОЙ РАВНИНЕ

Видякин А.И., Пришнинская Я.В., Нечаева Ю.С., Бобошина И.В.,
Боронникова С.В.

Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения РАН,
Сыктывкар,
Пермский государственный национальный исследовательский
университет, Пермь

Уникальный код статьи: 5329357786de4

Для решения современных проблем лесоводства необходима оценка биоразнообразия лесных экосистем, важным элементом которой является изучение генофонда основных лесобразующих пород. Леса с доминированием сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) занимают около 17 % общей лесопокрытой площади России, произрастают почти во всех подзонах страны от крайней северной тайги до Закавказья и от самых западных до восточных границ [1]. Одним из основных методов изучения динамики состояния генофондов является молекулярно-генетический анализ полиморфизма ДНК [2].

Для молекулярно-генетического анализа *P. sylvestris* нами был избран ISSR-метод (Inter Simple Sequence Repeats). Метод основан на использовании полимеразной цепной реакции (ПЦР) с одним или несколькими праймерами длиной 15-24 нуклеотида, состоящих из тандемных коротких 2-4 нуклеотидных повторов и одного селективного нуклеотида на 3'-конце праймера [3]. Концентрацию ДНК определяли с помощью спектрофотометра SmartSpec™ Plus Nano Drop («BioRad», USA). Праймеры для ПЦР синтезированы в ЗАО "Синтол" (Москва). Хвоя *P. sylvestris* была собрана в четырех популяциях, расположенных в республике Коми в районе поселка Мордино (*Ps_1*) и в районе поселка Визинга (*Ps_2*), в Архангельской области в районе поселка Красноборск (*Ps_3*) и в Вологодской области в районе города Великий Устюг (*Ps_4*).

Геномная ДНК выделена из хвои 188 особей с использованием модифицированной нами методики выделения ДНК С.О. Роджерса и Э. Дж. Бендича [4] (с использованием в качестве сорбента PVPP) [5]. При выделении ДНК из хвои брали навеску 100 мг. Для ПЦР-анализа использовали пробы с концентрацией 5 нг/мкл. Амплификацию проводили в амплификаторе GeneAmp PCR System 9700 (Applied

Biosystems, USA) по типичной для ISSR-метода программе [6].

Таблица 1. Характеристика амплифицированных ISSR-методом фрагментов ДНК *P. sylvestris*

ISSR-прайм меры	Нуклео тидная последо ватель ность (5'→ 3')	Длина фрагме нтов, пн	Число ISSR-фрагментов в популяциях									
			Ps_1		Ps_2		Ps_3		Ps_4		На общую выборку	
			все го	поли морф ных	все го	поли морф ных	все го	поли морф ных	все го	поли морф ных	все го	поли морф ных
ISSR-1	(AC) ₈ T	1115-220	15	11 (0,733)	14	12 (0,857)	15	13 (0,867)	16	15 (0,937)	16	16 (1,0)
CR-212	(CT) ₈ TG	1400-250	17	12 (0,706)	16	12 (0,750)	20	16 (0,800)	19	17 (0,895)	23	21 (0,913)
CR-215	(CA) ₆ GT	1280-150	21	18 (0,857)	20	18 (0,900)	19	16 (0,842)	18	15 (0,833)	23	21 (0,913)
M27	(GA) ₈ C	1020-150	17	11 (0,647)	14	9 (0,642)	16	12 (0,750)	16	13 (0,812)	19	15 (0,789)
X10	(AGC) ₆ C	1400-200	18	13 (0,722)	23	21 (0,913)	19	16 (0,842)	19	16 (0,842)	25	25 (1,0)
Всего	(частота)		88	65 (0,739)	87	72 (0,827)	89	73 (0,820)	88	76 (0,864)	106	98 (0,924)

Примечание: в скобках указана доля полиморфных локусов; Ps_1 – популяция, расположенная в республике Коми в районе поселка Мордино, Ps_2 – популяция, расположенная в республике Коми в районе поселка Визинга, Ps_3 – популяция, расположенная в Архангельской области в районе поселка Красноборск, Ps_4 – популяция, расположенная в Вологодской области в районе города Великий Устюг.

Температура отжига в зависимости от G/C-состава праймеров варьировала от 46 до 64°C. Для проверки достоверности полученных ДНК-спектров опыт повторяли не менее двух раз. В качестве отрицательного (К-) контроля в реакционную смесь для проверки чистоты реактивов добавляли вместо ДНК 5 мкл деионизированной воды. Продукты амплификации разделяли путем электрофореза в 1,7% агарозном геле в 1x TBE буфере. Гели окрашивали бромистым этидием и фотографировали в проходящем ультрафиолетовом свете в системе Gel-Doc XR («Bio-Rad», USA). Для определения длины фрагментов ДНК использовали маркер молекулярной массы (100 bp +1.5 + 3 Kb DNA Ladder) («ООО-СибЭнзим-М», Москва). Определение длин фрагментов проводилось с использованием программы Quantity One в системе

гель-документации Gel-Doc XR («Bio-Rad», США). На основе матрицы бинарных признаков была рассчитана матрица генетических различий [7], на основании которой невзвешенным парно-групповым методом (UPGMA - unweighed pair-grup method using arithmetic average) была построена дендрограмма, отражающая степень родства исследуемых популяций по ISSR-спектрам при помощи компьютерных программ Treecon 1.3b с применением 100 реплик бутстрепа и POPGENE 1.31 [8].

При анализе фрагментов ДНК, амплифицированных в результате ПЦР с использованием полиморфизма ISSR-маркеров в изученных популяциях выявлено всего 106 ISSR-маркеров, из которых 98 были полиморфными. Число амплифицированных ISSR-фрагментов варьировало в зависимости от праймера от 9 (праймер M27) до 21 (праймер X10) а их размеры - от 150 до 1400 пн. В среднем при ISSR-анализе один праймер инициировал синтез 17,6 фрагментов ДНК. Число полиморфных фрагментов в суммарной выборке растений варьировало от 15 до 25. Доля полиморфных локусов в выборке в зависимости от ISSR-праймера колебалась от 0,642 до 0,937 и в среднем составила 0,812. Праймер M27 выявил самые низкие значения полиморфизма в популяциях, а праймер X10 - самые высокие (табл.1).

Гетерозиготность (H_e) является самой распространенной мерой генетической изменчивости в популяции. Ожидаемая гетерозиготность по локусам в общей выборке составила 0,232, в популяции Ps_1 этот показатель минимальный (0,205), а в популяции Ps_2 максимальный - 0,250 (табл. 2). Эффективное число аллелей (n_e) является функцией от доли полиморфных локусов, числа аллелей на локус и выравнивания частот аллелей и, таким образом, является мерой генетического разнообразия популяции или вида. Эффективное число аллелей оценивает величину, обратную гомозиготности, и представляет собой такое число аллелей, при одинаковой частоте которых в популяции ожидаемая гетерозиготность будет равна фактической [9]. Абсолютное число аллелей на локус (в нашем случае на фрагмент ДНК) на общую выборку (n_a) составило 1,934. Этот параметр наивысший в популяции Ps_4 ($n_a=1,717$), в популяции Ps_1 он наименьший ($n_a=1,613$). Эффективное число аллелей на локус (n_e) на общую выборку равно 1,467. Большее значение этого показателя в популяции Ps_2 ($n_e=1,428$), а наименьшее значение в популяции Ps_1 ($n_e=1,344$). Для характеристики генетической структуры популяций полезны редкие, то есть встречающиеся с частотой менее 5% аллели. С помощью ISSR-метода анализа полиморфизма ДНК в Ps_2 выявлено наибольшее число уникальных фрагментов ($R=4$), характерных лишь для особей этой популяции.

Таблица 2. Генетическое разнообразие четырех популяций *P. sylvestris* на основании полиморфизма ISSR-маркеров

Популяция	H_E	n_a	n_e	R
Ps_1	0,205 (0,019)	1,613 (0,489)	1,344 (0,363)	0
Ps_2	0,250 (0,019)	1,698 (0,461)	1,428 (0,360)	4 (0,046)
Ps_3	0,244 (0,019)	1,707 (0,457)	1,412 (0,360)	3 (0,034)
Ps_4	0,228 (0,019)	1,717 (0,453)	1,380 (0,357)	2 (0,023)
На общую выборку	0,232 (0,019)	1,934 (0,249)	1,467 (0,329)	9 (0,085)

Примечание: H_E – ожидаемая гетерозиготность; n_a – абсолютное число аллелей на локус; n_e – эффективное число аллелей на локус; у всех вышеуказанных параметров в скобках даны стандартные отклонения; R – число редких фрагментов, в скобках указана их доля от общего числа фрагментов; Ps_1 – популяция, расположенная в республике Коми в районе поселка Мордино, Ps_2 – популяция, расположенная в республике Коми в районе поселка Визинга, Ps_3 – популяция, расположенная в Архангельской области в районе поселка Красноборск, Ps_4 – популяция, расположенная в Вологодской области в районе города Великий Устюг.

Таблица 3. Параметры генетической структуры и дифференциации четырех популяций *P. sylvestris*

ISSR-праймер	Нуклеотидная последовательность (5' → 3')	H_T	H_S	G_{ST}
ISSR-1	(AC) ₈ T	0,332 (0,025)	0,275 (0,016)	0,173
CR-212	(CT) ₈ TG	0,243 (0,034)	0,215 (0,028)	0,117
CR-215	(CA) ₆ GT	0,263 (0,023)	0,243 (0,022)	0,075
M27	(GA) ₈ C	0,238 (0,023)	0,199 (0,015)	0,163
X10	(AGC) ₆ C	0,324 (0,016)	0,234 (0,010)	0,278
Среднее		0,280 (0,024)	0,233 (0,018)	0,161

Примечание: H_T – ожидаемая доля гетерозиготных генотипов как мера общего генного разнообразия во всей популяции; H_S – ожидаемая доля гетерозиготных генотипов в субпопуляции, как мера ее внутривидового разнообразия или среднее выборочное генное разнообразие по всем локусам; G_{ST} – доля межпопуляционного генетического разнообразия в общем разнообразии или показатель подразделенности популяций; в скобках даны стандартные отклонения.

В Ps_3 и Ps_4 выявлено 3 и 2 уникальных фрагмента ДНК соответственно, а в Ps_1 редких аллелей не выявлено (табл. 2).

При изучении генетической структуры популяций установлено, что ожидаемая доля гетерозиготных генотипов как мера общего генного разнообразия в общей выборке *P. sylvestris* (H_T) составила 0,280, а ожидаемая доля гетерозиготных генотипов в субпопуляции, как мера ее внутривидового разнообразия (H_S) равна 0,233. Коэффициент подразделенности популяций (G_{ST}) показывает, что на межпопуляционную компоненту приходится 0,161 разнообразия (табл. 3).

Невзвешенным парно-групповым методом (UPGMA) была построена дендрограмма, отражающая степень родства исследуемых ценопопуляций по ISSR-спектрам (рис.1).

Наиболее генетически близки между собой популяции Ps_3 и Ps_4 , образующие первый кластер, а популяции Ps_1 и Ps_2 генетически различаются с достаточной поддержкой бутстрепа в 54 % и так же образуют общий кластер.

Таким образом, молекулярно-генетический анализ выявил 106 ISSR-маркеров *P. sylvestris* и позволил установить высокий уровень генетического разнообразия ($P_{95}=0,924$). Изученные популяции дифференцированы не сильно, так как на долю межпопуляционного разнообразия приходится 16,14 %.

Работа выполнена при финансировании задания №2014/153 на выполнение государственных работ в сфере научной деятельности в рамках базовой части государственного задания Минобрнауки России и при финансовой поддержке гранта РФФИ №12-04-00062-а.

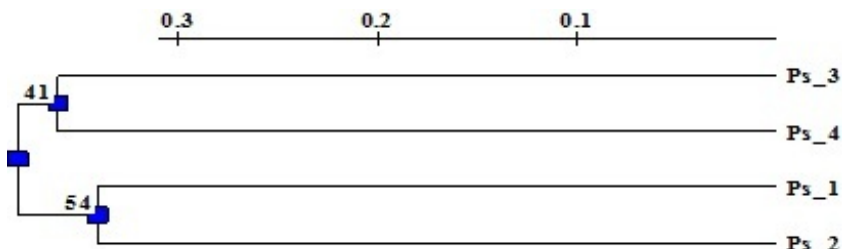


Рис. 1. UPGMA-дендрограмма генетического сходства популяций *P. sylvestris*, построенная на основании полиморфизма ISSR-маркеров. Шкала сверху - генетические дистанции по Ней и Ли [8]. На дендрограмме цифрами указаны значения бутстрепа (в %).

Литература

1. Абдулина Д.С., Петрова И.В. Дифференциация популяций сосны обыкновенной по фенотипическим признакам на северо-восточном пределе Ареала// Аграрный вестник Урала. 2012. №9. С. 34 – 36.
2. Динамика популяционных генофондов при антропогенных воздействиях / под ред. Ю.П. Алтухова. – М.: Наука, 2004. – 619 с.
3. Zietkiewicz E., Rafalski A., Labuda D. Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification // Genomics. 1994. V. 20. P. 176-183.
4. Rogers S. O. & Bendich A. J. Extraction of DNA from milligram amounts of fresh, herbarium and mummified plant tissues./ S. O. Rogers & A. J. Bendich // Plant Molecular Biology. 1985. V. 5. P. 69-76.
5. Оптимизация методик выделения ДНК некоторых хвойных видов растений Пермского края / Ю.С. Нечаева, Н.Н. Бельтюкова, Я.В. Пришнинская, К.Е. Тайман // Синтез знаний в естественных науках. Рудник будущего: проекты, технологии, оборудование: материалы междунар. науч. конф. Т.2. – Пермь: Изд-во Перм. гос. нац. иссл. ун-та, 2011. С. 278-282.
6. Молекулярная генетика: учеб.-метадическое пособие / под ред. М75 Боронниковой; Пер. ун-т. Пермь, 2007. – 150 с.
7. Nei, M. Genetic distance between populations // Amer. Naturalist. 1972. V. 106. P. 283-292.
8. Nei M., Li W.-H. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1979. V. 76. P. 5269 – 5273. – ISSN 0027-8424.
9. Шереметьева И.Н. Оценка генетического разнообразия островных и материковых популяций дальневосточной полевки *Microtus fortis* (Rodentia, Cricetidae): данные RAPD-PCR анализа / И.Н. Шереметьева, Г.Н. Челомина. // Биол. исследования на островах северной части Тихого океана. Владивосток. 2003. №9. С. 1-18.

РОЛЛЕРНОЕ КУЛЬТИВИРОВАНИЕ ВИРУСА БЕШЕНСТВА «МОСКВА 3253» В КУЛЬТУРЕ КЛЕТОК VERO

Генералов С.В., Абрамова Е.Г., Матвеева Ж.В., Жулидов И.М.

ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт
«Микроб» Роспотребнадзора

Уникальный код статьи: 532c16ddd64de

Для масштабированного культивирования вируса на клеточной культуре оптимальным решением является использование роллерного способа культивирования, при котором клеточный монослой располагается по всей внутренней цилиндрической поверхности горизонтально вращающихся роллерных бутылей и периодически омывается питательной средой. Такой подход позволяет сочетать возможность максимального накопления вируса бешенства на клеточной культуре и эффективность технологического обслуживания процесса культивирования.

Целью настоящего исследования явилось экспериментальное обоснование условий масштабированного культивирования клеток Vero и фиксированного вируса бешенства штамма «Москва 3253» роллерным способом для приготовления рабического антигена.

Культивирование клеток и вируса проводили в закрытых роллерных сосудах для культивирования клеточных культур с площадью поверхности 850 и 1700 см². Для выращивания клеток Vero использовали среду Игла MEM с добавлением 10% сыворотки крупного рогатого скота. Эффективность репродукции исследуемого штамма вируса бешенства оценивали методом иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием набора для лабораторной диагностики вируса бешенства (ФГУ «ФЦТРБ ВНИВИ», г. Казань, Россия) , а также титрованием вируса на белых мышах.

Установлено, что роллерное культивирование производственного штамма фиксированного вируса бешенства «Москва 3253» в клеточной культуре Vero целесообразно осуществлять при температуре 32 °С, в течение 4-5 суток при начальной дозе заражения 0,1 LD₅₀/кл с использованием поддерживающей среды 199 с добавлением 0,1% ЧСА либо 2% сыворотки КРС. Подобные условия обеспечивают получение до 5 л культуральной жидкости с титром вируса бешенства 1:256 — 1:512

($4,6 \pm 0,3$ LD₅₀/мл). Увеличение заражающей дозы, удлинение процесса культивирования вируса во времени не способствовало заметному увеличению активности вируса. Культивирование вируса бешенства при температуре 37 С приводит к тенденции снижения уровня его накопления до 1:128 ($4,0 \pm 0,3$ LD₅₀/мл), что, возможно, связано с частичной температурной инактивацией.

Разработанный способ культивирования штамма вируса бешенства «Москва 3253» рекомендован к применению в производстве антирабического иммуноглобулина на этапе получения иммунизирующего материала для продуцентов антирабической сыворотки.

MOBILAB: МОБИЛЬНАЯ ПЦР-ЛАБОРАТОРИЯ НА СТРАЖЕ ЗДОРОВЬЯ И ПИЩЕВОЙ БЕЗОПАСНОСТИ

Горелов П.В.

AWTech

Уникальный код статьи: 532477f4d891f

Ежегодно сотни тысяч людей во всем мире заболевают в результате пищевых отравлений. Безопасность пищевых продуктов беспокоит каждого жителя планеты. Над этой проблемой работают различные специалисты: микробиологи, химики, технологи.

В задачи санитарно-эпидемиологической и ветеринарной служб входят выявление пищевых патогенных организмов и видовая идентификация тканей животных в продуктах питания и кормах для животных. Строгий контроль необходим для защиты потребителя от некачественной и фальсификационной продукции.

Мобильная ПЦР-лаборатория Mobilab создана для простого и быстрого определения часто встречающихся патогенных микроорганизмов, что особенно ценно в период массовых острых отравлений или эпидемий.

Наиболее часто встречающийся вид пищевой токсикоинфекции – это отравления, связанные с употреблением в пищу испорченных белковых продуктов. Число таких отравлений возрастает в летний период из-за жаркой погоды. Причина подобного рода заболеваний чаще всего недоброкачественные рыба, мясо или яйца, так как бактерии, пищей которым служит животный белок, так же хорошо чувствуют себя и в человеческом организме.

Пищевые отравления чаще всего вызывают бактерии сальмонелла, кампилобактер и листерия. Сальмонелла – самая частая причина кишечных заболеваний как в нашей стране, так и зарубежом. Свежий пример – массовое отравление 45 детей в детском саду города Киева в июне 2013 года. Причиной отравления детей и взрослых государственная санитарно-эпидемиологическая служба назвала сальмонеллу. Кампилобактер паразитирует на мясе кур и провоцирует одну из самых распространенных форм пищевого отравления. Листерия встречается в замороженных продуктах, готовом мясе курицы и салями. Этот вид бактерий особенно опасен для беременных. У зараженного человека он вызывает гриппоподобные симптомы, которые могут

привести к менингиту, заражению крови и даже гибели плода.

Установление видовой принадлежности мясного продукта – один из важнейших этапов в стандартном анализе по контролю качества мясных продуктов питания и сырья для их производства. Анализ позволяет определить источник животного белка и выявить фальсификаты продуктов питания и кормов, и оградить потребителей от некачественной, а порой и опасной продукции. Обычно подменяют говяжьи полуфабрикаты, которые выше ценятся россиянами, изделиями, полученными из баранины, свинины.

Определение следов свинины в мясе очень важно для религиозно ориентированных производств так называемых «халяльных» и «кошерных» продуктов. Например, в Европе в начале 2013 года разразился «мясной скандал». Выяснилось, что производители мяса добавляли в свою продукцию конину и свинину, выдавая её за стопроцентную говядину. Этот факт привлек внимание СМИ и общественности: 15 января 2013 года было объявлено об обнаружении ДНК лошадей в замороженных бифбургерах, продававшихся в некоторых супермаркетах Британии и Ирландии. В продуктах, подвергавшихся термической обработке, определить пищевые патогены и видовую принадлежность животного белка значительно труднее, чем в нативных мясопродуктах. Это связано с денатурацией белков при термической обработке.

В отличие от белков, ДНК более устойчива и не утрачивает своей информативной структуры. Сегодня наиболее приемлемым методом для определения пищевых патогенов и видовой принадлежности животных белков в составе продуктов питания и кормов, подвергавшихся термической обработке, следует считать специфическую амплификацию нуклеиновых кислот *in vitro*. Такую технологию предлагает компания Analytik Jena – это мобильная ПЦР- лаборатория MobiLab. Мобильная диагностика при помощи MobiLab – совершенно новая диагностическая платформа для быстрого и эффективного обнаружения определенных последовательностей нуклеиновых кислот.

Впервые система позволяет провести быструю реакцию амплификации с последующей гибридизацией продуктов амплификации согласно так называемой РАН-технологии (Rapid Amplification Hybridization). MobiLab представляет собой комбинацию экстрактора нуклеиновых кислот, термального шейкера и амплификатора для экспресс-ПЦР. Это закрытая система, представляющая собой кейс со встроенным анализатором (см. рис.) с набором реагентов для определения бактерий: *Salmonella* (*S. enterica*, *S. Bongori*), *Listeria*, *E. coli*

O157, *Campylobacter*, *E. coli* O104, *Shigella* Toxin II и тканей свиней *Sus scrofa*. Анализ может осуществляться как в лаборатории, так и в полевых условиях: на производстве, в точках продаж, объектах общественного питания, на таможенных пунктах досмотра и др.

Перечислим преимущества работы с мобильной лабораторией MobiLab. Это:

- высокая чувствительность и специфичность;
- простая процедура пробоподготовки;
- контроль эффективности анализа каждой исследуемой пробы благодаря неконкурентному внутреннему контролю;
- высокая скорость получения результата - за 2 часа от взятия пробы до выдачи результата;
- отсутствие необходимости в дополнительном оборудовании: центрифуг, дозаторов, боксов, ламинаров, термошейкеров, компьютера и розеток;
- работа от аккумулятора 3-4 часа.

В качестве объектов для анализа используются сырые и термически обработанные мясные продукты (части туши, фарш, колбасные изделия), сырье и ингредиенты для продуктов питания, сухие и консервированные корма для животных и птиц, комбикорма, вода, культуры, смывы и др. Возможности мобильной лаборатории MobiLab не ограничиваются только определением пищевых патогенов и видовой принадлежности мяса. С помощью этой технологии возможна также точная молекулярная диагностика гриппа A/H1N1, микоплазм, клещевого энцефалита (боррелий, бабезий, риккетсий, анаплазм) и др.



ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ФИТОРЕМЕДИАНТА *TARGETES ERECTA* НА ПРОЦЕССЫ ОЧИЩЕНИЯ ПОЧВОГРУНТА НЕФТЕШЛАМОВОГО АМБАРА ПРИ ЕГО ЛИКВИДАЦИИ

Григориади А.С., Амирова А.Р.

Башкирский государственный университет

Уникальный код статьи: 532ab913d5e21

Загрязнение почвы отходами нефтедобычи и переработки будет оставаться актуальной долго время, т.к. основным источником энергии по прежнему служит жидкое топливо, получаемой из нефти. В результате попадания нефтесодержащих отходов в окружающую среду начинаются процессы деградации. Для реабилитации почвенных экосистем после залповых и хронических загрязнений существует немало методик, однако они постоянно требуют доработок, необходимых для увеличения эффективности очистки и восстановления почвы и связанных с уникальностью природных условий каждой нарушенной территории.

Целью исследования являлась оценка эффективности посевов фиторемедианта *Tagetes erecta* L. на восстановление и очищение грунта ликвидированного нефтешламового амбара.

Объектом изучения служил почвогрунт ликвидированного нефтешламового амбара, расположенного на территории Туймазинского района республики Башкортостан. В предыдущий сезон на участке проводили технический этап рекультивации, территория нефтешламового амбара была засыпана чистой почвой, после чего перепахана и оброботана микробным препаратом. После первого этапа рекультивации было проведено определение содержания остаточных нефтепродуктов. Установленные концентрации от 0,3 до 6% от массы почвенной навески. Однако в течение всего теплого периода года происходило загрязнение почвы со дна амбара. В качестве контроля использовали незагрязненную почву, засеянную растениями. Устойчивость растения к действию нефти и обоснование выбора вида фиторемедианта были показано ранее [1]. Учет численности микроорганизмов проводили через 30 и 60 сут с момента загрязнения по общепринятой методике посева почвенной суспензии на соответствующие питательные среды [2]. Содержание остаточных углеводов в почве измеряли весовым методом [3]. Повторность

опыта 3-х кратная.

Через 30 суток после высадки растений отмечалось относительное увеличение общей численности сапротрофных микроорганизмов, что является нормальным явлением при действии нефтяного загрязнения. Однако спустя 60 суток в образцах с загрязнением 1-6% отмечалось снижение численности микроорганизмов на 20% относительно контроля в течение всего времени проведения исследований.

В почве под посевами бархатцев увеличивалась численность углеводородокисляющих микроорганизмов. Наибольшее увеличение численности отмечалось через 30 суток после постановки опыта, для почв с концентрацией поллютанта 0,3 и 1%. Через 60 суток численность микроорганизмов снижалась, но оставалась выше контрольных значений для почв загрязненных в различной концентрации (рис.1). Следует заметить, что нефтешламный амбар представляет собой территорию с хроническим характером загрязнения, что говорит о возможном наличии в почве микроорганизмов потенциально способных к деструкции углеводородов нефти. Высадка фиторемедианта позволила активизировать деятельность микроорганизмов деструкторов.

Выращивание фитомелиорантов на почвах, загрязненных нефтью и нефтепродуктами, способствовало интенсификации процессов разложения остаточных углеводородов. Этот процесс напрямую связан с активизацией микробиоты почвы, способной к деградации нефтяных углеводородов. Основная масса поллютанта на этапе фиторемедиации была удалена в течение первого месяца после высадки растений – порядка 20-30% от первоначального содержания. Скорее всего, это связано с увеличением интенсивности испарения ряда легких нефтепродуктов вследствие улучшения аэрации почв под посадками растений, а также с активацией микробиологической активности почвогрунта.

Скорость деструкции нефтяных углеводородов изменялась в зависимости от начальной концентрации поллютанта. Так в течении первых 30 суток эксперимента деструкция нефтяных углеводородов составила 38% для почвы с начальным загрязнением 1%, 23% для почвы с загрязнением 3%, 20% для почвы с начальным загрязнением 6%. Спустя 60 суток после высадки растений фиторемедиантов деградация нефтепродуктов составляла для участка с концентрацией поллютанта 3 и 6% - 27, 25 % соответственно. В период между третьим и четвертым отбором проб (60 и 90 суток) отбором проб произошло вторичное загрязнение исследуемых участков, что повлияло на результаты эксперимента. На 90 день после высадки растений деградация

остаточных нефтяных углеводородов составила 34%, 30%, 27%, 25% для участков с первоначальным загрязнением 0,3, 1, 3, 6% соответственно.

Таким образом, в условиях рекультивируемого нефтешламового амбара было отмечено повышение биологической активности почвы под посевами *Tagetes erecta* L. За счет увеличения численности микроорганизмов способных к окислению нефтяных углеводородов. Культивирование растений *Tagetes erecta* L. на загрязненном почвогрунте существенно ускорило процесс разложения поллютантов, о чем свидетельствует снижение содержания остаточных нефтепродуктов. Однако предпринятые мероприятия не привели к полному очищению территории, что предполагает продолжение биоремедиационных работ, возможно при совместном использовании как микробных препаратов, так и фиторемедиантов.

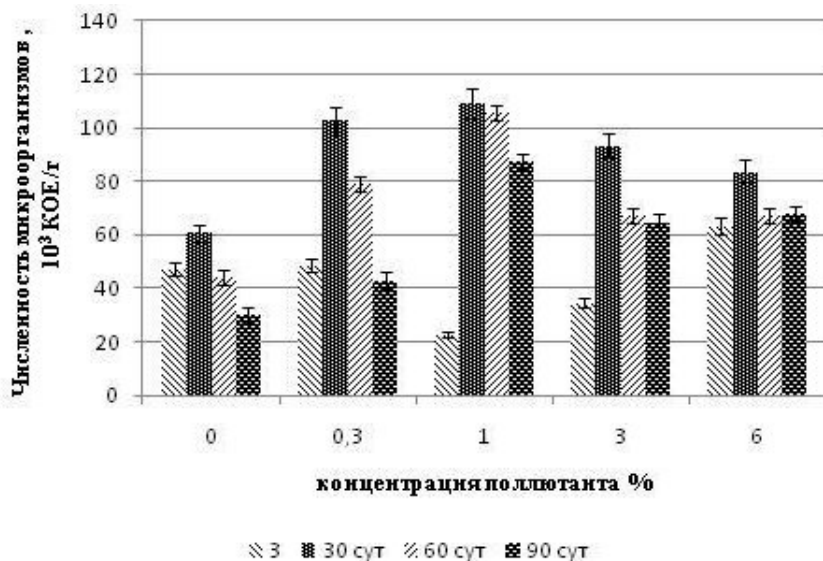


Рис. 1. Численность углеводородокисляющих микроорганизмов под посевами *Tagetes erecta* на нефтешламовом амбаре

Литература

1. Киреева Н.А., Новоселова Е.И., Григориади А.С. Влияние загрязнения почв нефтью на некоторые физиологические показатели растений и ризосферную микробиоту // Агрохимия. - 2009. - №7. - С. 71-80.
2. Методы почвенной микробиологии и биохимии / Под. ред.

Д.Г.Звягинцева. - М.: МГУ, 1991. 304с.

3. McGill, W.B. Determination content of oil comtaminated soil / W.B. McGill, M.J. Rowell // Sci. Total. Environ. 1980. V. 14. №3. P. 245-253.

СОЗДАНИЕ ОСНОВЫ БИОПРЕПАРАТА ДЛЯ БОРЬБЫ С АЛЬТЕРНАРИОЗОМ В АСТРАХАНСКОЙ ОБЛАСТИ

Гридина Т.С.

АГТУ

Уникальный код статьи: 530f92500e585

Микроорганизмы, ассоциированные с растениями, стали объектом активных исследований только с середины 70-х годов и изучены значительно меньше, чем симбиотические или фитопатогенные. Ассоциативные микроорганизмы по средствам различных механизмов, таких как биоконтроль фитопатогенов и индуцирование системной защиты растений, повышение устойчивости растений к стрессовым факторам (Белимов, 2008).

В статье приведены экспериментальные данные по взаимодействию суспензии изолята ТРЗ, выделенного с поверхности томата сорта «Королевский», с растениями сем. Пасленовые. Для проведения эксперимента использовалась культура плесневого гриба рода *Alternaria* sp. Так же использовалась суспензию изолята ТРЗ, выделенная с поверхности томата сорта «Королевский» и обладающий фитостимулирующим и антагонистическим свойствами (Пономарева, 2012). Для возможного использования основы для биопрепарата с фунгицидными свойствами изучали его токсичность и фитостимулирующую активность для растений. Используемые семена томатов сорта «Новичок», перца «Сладкий подарок», баклажан «Черный принц», кабачок «Черный красавец», семена тыквы «Биг мун» были отобраны в соответствии с ГОСТ РФ 50260-92.

Анализ полученных данных показывает, что наибольшие значения средней длины корня при обработки семян томата составила 57 мм, при обработки семян кабачка составило 37,4 мм, для семян перца составила 35,1 мм, а для семян баклажана – 28,2 мм.

Таким образом, в ходе проведенного эксперимента можно заключить, что наибольший фитостимулирующий эффект обнаруживается в варианте опыта с концентрацией клеток 10^9 КОЕ/мл без искусственного заражения (прирост составил 39,9%).

Литература

1. Мельченко, А.И. Влияние глубины внесения ^{90}Sr в почву на его накопление в органах и тканях яблони на примере сорта Супер-Прекос [Текст] / Вестник Южного научного центра., том 3, № 4, – 2007, 65-69 с.
2. Дзержинская, И. С. Питательные среды для выделения и культивирования микроорганизмов [Текст] : учебное пособие / – Астрахань : Изд-во АГТУ, 2008. – 348 с.
3. Пономарева, Т.С. [Текст] Микроорганизмы ассоциированные с растениями сем Пасленовых (на примере томата сорта «Королевский» / Естественные науки АГУ. – 2012.
4. Практикум по микробиологии [Текст] : учеб.пособие для студ. высш. учеб. заведений / А. И. Нетрусов, М. А. Егорова, Л. М. Захарчук и др. ; под ред. А. И. Нетрусова. - М. : Академия, 2005.
5. Теппер, Е. З. Практикум по микробиологии [Текст]: Учебники и учеб. пособия для высш. учеб. заведений / под ред. В. К. Шильниковой. – 5-е изд., перераб. и доп. – М. : Дрофа, 2004.
6. Дзержинская, И.С. , Коряжкина М.Ф. Исследования фунгицидной активности представителей рода *Bacillus*[Текст] / Естественные науки АГУ. – 2009
7. Защита растений от вредителей [Текст] : учебник для вузов / под ред. И. И. Исачева. – М. : Колос, 2004.
8. Надыкта, В. Д. Перспективы биологической защиты растений от фитопатогенных микроорганизмов [Текст] / Защита и карантин растений. – 2004. - № 6. - С. 26 — 30.

БИОПРЕПАРАТЫ БАКТЕРИОФАГОВ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ И ПРОФИЛАКТИКИ БАКТЕРИАЛЬНЫХ БОЛЕЗНЕЙ РЫБ

Гринева Т.А., Викторов Д.А., Горшков И.Г., Куклина Н.Г.,
Логинова Е.Г., Васильев Д.А.

ФГБОУ ВПО «Ульяновская государственная сельскохозяйственная
академия им. П.А. Столыпина»

Уникальный код статьи: 5324aaed644e7

Бактериальные патогены рыб вызывают значительные экономические потери как в морской, так и пресноводной аквакультуре. Экономические потери связаны с тремя основными факторами: повышенные уровни смертности рыбы, уменьшение темпов роста рыбы из-за инфекции и потеря товарного вида.

Среди многочисленных возбудителей, вызывающих заболевания рыб, наибольшую значимость имеют бактерии *Aeromonas* spp., *Flavobacterium psychrophilum*, *Yersinia ruckeri*, *Pseudomonas* spp., *Vibrio anguillarum*, *Streptococcus iniae*, *Lactococcus garviae*.

Аэромонозы рыб – это опасное заболевание, нередко встречающееся на рыбоводческих хозяйствах. Аэромоноз протекает молниеносно, остро, подостро и хронически. Молниеносное течение характеризуется внезапной и быстро нарастающей гибелью рыб без резко выраженных признаков болезни. Рыбы становятся вялыми, держатся у поверхности воды вдоль берега, корм не принимают. Кожный покров иногда приобретает темную окраску. Острое течение проявляется септициемией и расстройством пищеварения, сопровождающимся выделением экскрементов с примесью крови. На кожных покровах и жабрах, у основания грудных плавников появляются пятнистые кровоизлияния. На месте геморрагии образуются припухлости, пропитанные кровяным экссудатом. В таком состоянии больные рыбы или погибают (в течение 1-3 дней), или заболевание принимает подострое течение. При подостром течении на воспаленных участках кожи образуются фурункулы, глубоко проникающие в мышечный слой, мягкие на ощупь. При вскрытии фурункулов во внешнюю среду изливается экссудат, а на их месте образуются красноватые язвы. Отмечается бледность жабр и пучеглазие. Подострое течение продолжается 3-7 дней, вызывая значительную гибель рыб. При хроническом течении на теле рыб появляются обширные участки сапролегниоза, чаще расположенные на

пораженных участках кожи и прилегающих зонах. Отмечают потерю чешуи, разрушение плавников, темную окраску тела, общее истощение. У некоторых особей на поверхности тела и головы заметны заживающие язвы, рубцы, абсцессы, после вскрытия которых обнажается мускулатура и выделение кровянистой жидкости. Из ануса выделяется кровянисто-гнойный экссудат. Жабры бледные с чередованием мраморных участков. Эта стадия болезни протекает умеренно и продолжается до нескольких недель и даже месяцев. У переболевших рыб-микробоносителей отсутствуют клинические признаки, так как инфекция принимает латентное течение. Обнаружение в водоеме рыб с зарубцевавшимися поражениями, без плавников служит подтверждением перенесенного аэромоноза. Возбудителями аэромоноза рыб является целый ряд патогенных штаммов бактерий рода *Aeromonas*. У рыб чаще встречаются виды: *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas salmonicida*, *Aeromonas sobria*, *Aeromonas caviae*, *Aeromonas schubertii*, *Aeromonas eucrenophila*, *Aeromonas media*, *Aeromonas veronii*.

F. psychrophilum вызывает холодноводную бактериальную болезнь (bacterial coldwater disease (BCWD)), поражает всех лососевых, регистрируется у других видов рыб. *F. psychrophilum* были обнаружены по всей Северной Америке, во многих странах Европы, Австралии, Чили, Перу, Японии, Корее, и Турции. Вспышки заболевания возникают при понижении температуры воды от 4° до 12°C [6]. Однако зарегистрированы случаи заболевания при более высокой температуре. Больные рыбы поднимаются к поверхности воды, открывают жаберные крышки. Наблюдается частичный или полный отказ от корма. У мальков регистрируется потемнение окраски тела, появление характерных поражений в виде белых или желтоватых пятен. У сеголетков отмечают эрозию спинного и хвостового плавников, гиперемии в области анального отверстия, некроз спинного и хвостовых плавников, хвостового стебля с оголением скелета. У годовиков наблюдается разрушение кожи с оголением мышц на голове, челюстях и других участках тела. Характерна анемия и геморрагии в жабрах. Смертность может достигать 75%. Самый высокий показатель смертности характерен для радужной форели – 90%, и для семги – 85% [6].

Y. ruckeri вызывает септическое заболевание, известное как «enteric red mouth — ERM» — энтерит, сопровождающийся покраснением рта [7]. Болезнь вызывает гибель радужной форели, палии, кумжи и ленского осетра. Болеют также стальноголовый лосось, нерка, горбуша, кижуч и чавыча. Йерсиниоз отмечают во многих странах, где выращивают радужную форель. Протекает заболевание в виде септицемии в

молниеносной, острой, подострой и хронической формах. При молниеносной форме болезни клинические признаки не успевают развиваться. Острая форма характеризуется потемнением кожных покровов. Диагностическим признаком является воспаление и эрозии во рту («красный рот»), на жаберных крышках, у основания лучей плавников. На нижней части брюшка отмечают геморрагии. В глазном яблоке видны кровоизлияния и билатеральная экзофтальмия, иногда наблюдается разрыв глазного яблока. Жабры у одних рыб анемичные, у других — покрасневшие у основания. У тяжело инфицированной рыбы при надавливании на жаберные крышки наблюдают кровотечение [7].

Псевдомонозы – общее название заболеваний карповых рыб, вызываемых бактериями рода *Pseudomonas*. Регистрируются чаще в форме энзоотии в водоемах России и других стран, применяющих индустриальные методы рыбоводства. Возбудителями являются патогенные штаммы флюоресцирующих бактерий рода *Pseudomonas*. У рыб чаще встречаются следующие виды: *P. putida*, *P. fluorescens*, *P. aureofaciens*, *P. chlororaphis*, *P. dermoalba*, *P. intestinalis* [2]. Псевдомонозом болеют карпы, караси, пестрые и белые толстолобики, белые и черные амуры, буффало и другие карповые рыбы, в том числе аквариумные. Заболевают рыбы в возрасте от сеголетков до производителей, но чаще – сеголетки и двухлетки. Патологический процесса характеризуется развитием пучеглазия, ерошением чешуи, увеличением брюшка. На теле отмечают точечные или очаговые кровоизлияния, а также кровоизлияния в белочную оболочку глаза. На коже рыб появляются мелкие язвы, которые могут увеличиваться и, прорываясь, образовывать глубокие кратеры [1].

V. anguillarum, является возбудителем вибриоза, смертельной геморрагической септицемии. Патоген атлантического лосося, радужной форели, кефали, тилапии, двустворчатых моллюсков и ракообразных [4]. Пик заболеваемости приходится на конец лета. Клиническая картина характеризуется появлением кровоизлияний во внутренних органах и коже. У мальков отмечается спленомегалия.

Streptococcus iniae широко распространён по всему миру. Вызывает заболевания телпии, кижуча, полосатого окуня, радужной форели и других культивируемых и диких рыб. Заболевания характеризуется развитием менингоэнцефалита, сепсиса, поражений кожи. В некоторых случаях возможно бессимптомное течение. Пострадавшие рыба может проявлять один или несколько из следующих клинических признаков: неустойчивое плавание, потеря ориентации, вялость, одно- или двустороннее пучеглазие, помутнение роговицы, кровоизлияния вокруг

глаз и на коже, появление изъязвлений, асцит. Смертность при вспышках может достигать 30-50% [5].

Lactococcus garvieae вызывают заболевания радужной форели и кефали. Широко распространены на Дальнем Востоке. Заболевание чаще регистрируется в летние месяцы при температуре воды выше 16 °C [8]. Бактерии вызывают поражения эндотелия сосудов, кровоизлияния и петехии на внутренних органах. Больные рыбы отказываются от корма, наблюдаются вялость, потеря ориентации, пучеглазие, кровоизлияния на коже.

Возбудители бактериальных инфекций передаются от рыбы к рыбе при прямом контакте или через инфицированную воду. Опасность возрастает, если рыба подвергается воздействию стрессоров — хендлинга, неблагоприятных условий окружающей среды (дефицит кислорода, высокие плотности посадки, приводящие к увеличению в воде количества аммиака и продуктов метаболизма). Бонитировка и пересадка внешне здоровых производителей может спровоцировать вспышку заболевания. Источниками инфекции являются вода и переболевшие рыбы-носители.

Патогенны рыб наносят ощутимый экономический ущерб интенсивно развивающейся аквакультуре. В настоящее время лечение бактериальных заболеваний рыб заключается в применении антибиотиков широкого спектра, высокомолекулярных соединений, содержащих йод, а также формалина [2]. Как известно, такие препараты пагубно влияют на рост и развитие сразу нескольких видов и даже родов бактерий. В результате их применения погибает естественная сапрофитная микрофлора прудов, полезная микрофлора желудочно-кишечного тракта, возникает токсическое поражение печени, почек, нарушения иммунитета. При длительном применении антибиотиков бактерии адаптируются к их действию, что вызывает появление мутантных антибиотикоустойчивых форм микробов. Всё это указывает на несостоятельность современных методов лечения и профилактики бактериальных болезней рыб.

Предлагаемый биопрепарат для лечения и профилактики основан на использовании бактериофагов, активных в отношении возбудителей бактериальных болезней рыб. Применение бактериофагов в целях лечения и профилактики имеет преимущества: биопрепарат активен в отношении конкретного вида возбудителя; я не вызывает ухудшение иммунитета, дисбактериоз; не происходит адаптация бактерий к антибиотикам и появление антибиотикоустойчивых форм; производимая пищевая продукция из рыбы не будет содержать вредные для здоровья

людей антибиотики [1].

К настоящему времени коллективом авторов выделены изоляты бактериофагов, активных в отношении *A. hydrophila*, *A. salmonicida*, *A. sobria*, *A. veronii*, *F. psychrophilum*, *P. putida*, *P. fluorescens*, *P. aureofaciens*, *P. chlororaphis*, *Y. ruckeri*, изучены их основные биологические свойства: активность по методам Аппельмана и Грациа, спектр литической активности, специфичность, морфология негативных колоний, подобраны оптимальные параметры лабораторного культивирования бактериофагов: соотношение объёмов фаголизатов и бактериальных культур, температура, продолжительность культивирования, режимы очистки фаголизатов от жизнеспособных бактериальных клеток.

Таким образом экспериментальным путём доказана перспективность использования выделенных штаммов бактериофагов в целях лечения и профилактики бактериальных болезней рыб.

Литература

1. Викторов Д.А. Усовершенствование методов выделения, идентификации и индикации бактерий *Pseudomonas putida* // Автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Саратов. – 2011. – 22 с.
2. Инструкция о мероприятиях по профилактике и ликвидации псевдомоноза рыб от 18 сентября 1998 г.
3. Методические указания по санитарно - бактериологической оценке рыбохозяйственных водоемов. Указание министерство Здравоохранения РФ. 27 сентября 1999г. № 13-4-2/1742.
4. Frans I 1, Michiels CW, Bossier P, Willems KA, Lievens B , Rediers H. *Vibrio anguillarum* as a fish pathogen: virulence factors, diagnosis and prevention. J Fish Dis. 2011 Sep; 34(9):643-61.
5. Low DE, Liu E, Fuller J, McGeer A. (1999). *Streptococcus iniae*: an emerging pathogen in the aquaculture industry". In W. Michael Scheld, William A. Craig, Donald Armstrong, James M. Hughes. *Emerging Infections 3*. Washington, DC: ASM Press. pp. 53-65. ISBN 1-55581-168-X.
6. Nematollahi A1, Decostere A, Pasmans F, Haesebrouck F. *Flavobacterium psychrophilum* infections in salmonid fish. J Fish Dis. 2003 Oct;26(10): 563-74.
7. Tobbäck E, Decostere A, Hermans K, Haesebrouck F, Chiers K (May 2007). *Yersinia ruckeri* infections in salmonid fish. *Journal of Fish Diseases* 30 (5): 257-68.
8. Venderell, Daniel (2006). *Lactococcus garvieae* in fish: A review. *Comparative Immunology, Microbiology, and Infectious Diseases*. 29: 177-198.

КОЛЛЕКЦИИ МИКРООРГАНИЗМОВ КАК ОСНОВА ЭКОЛОГИЧЕСКИХ БИОТЕХНОЛОГИЙ

Дубровская Е.В., Муратова А.Ю., Голубев С.Н., Крючкова Е.В.,
Любунь Е.В., Бондаренкова А.Д., Позднякова Н.Н., Чернышова М.П.,
Панченко Л.В., Турковская О.В.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт
биохимии и физиологии растений и микроорганизмов Российской
академии наук (ИБФРМ РАН)

Уникальный код статьи: 5328481c26969

Коллекции микроорганизмов сохраняют и поддерживают ценные биологические объекты, получают и систематизируют научную информацию, осуществляют связь с потенциальными пользователями микроорганизмов с теми или иными ценными свойствами. Развитие «зеленых» технологий способствует повышению внимания к различным биоресурсным центрам. В настоящее время коллекции микроорганизмов являются фундаментальной базой практически любого биотехнологического проекта.

В ИБФРМ РАН функционирует коллекция ризосферных микроорганизмов. Ее основу составляют бактерии, выделенные из ризосферы диких и культурных растений, произрастающих на территории Саратовской области. Особенностью коллекции является использование для выделения культур объектов с массивированным антропогенным воздействием. Основными критериями, по которым производится отбор микроорганизмов, являются их способность стимулировать рост растений и элиминировать ряд приоритетных загрязнителей окружающей среды. Для ростстимулирующих бактерий характерны такие признаки как продукция фитогормонов, способность фиксировать молекулярный азот, мобилизовать нерастворимые неорганические фосфаты. Выделены микроорганизмы-деструкторы ряда персистентных органических поллютантов: нефтепродуктов, пестицидов, ПАУ и ПАВ. Интерес представляют бактерии, устойчивые к высоким концентрациям тяжелых металлов.

Особенно интересны микроорганизмы, сочетающие свойства стимуляции роста растений и деградации загрязнителей. Использование таких микроорганизмов для инокуляции растений в технологиях биоремедиации позволяют существенно повысить их эффективность. Для

растений, перспективных для очистки почвы, нами были подобраны бактериальные партнеры-деструкторы, стимулирующие их рост и приживающиеся в ризосфере. Для ремедиации почвы, загрязненной дизельным топливом, перспективно использование ассоциации сорго веничное - *Ensifer meliloti* P221, ПАУ - люцерна посевная - *Ensifer meliloti* P221, нефтешламами - рожь посевная и райграс пастбищный - *Azospirillum brasilense* SR80, глифосатом - подсолнечник однолетний - *Enterobacter cloacae* K7, мышьяком и тяжелыми металлами - суданская трава - *Aeromonas* sp. MG3.

Наличие в коллекции микроорганизмов с широкими экологическими возможностями позволяет оперативно и эффективно производить их подбор для решения актуальных биотехнологических задач.

ВЛИЯНИЕ АЛКИЛ-ГЛИЦЕРИНОВЫХ ЭФИРОВ НА РОСТ ДРОЖЖЕПОДОБНЫХ ГРИБОВ РОДА *CANDIDA*

Ермоленко Е.В., Касьянов С.П., Накорякова Л.Ф., Юцковский А.Д.,
Григорьев А.Ю., Латышев Н.А.

Институт биологии моря им. А.В. Жирмунского ДВО РАН, г. Владивосток,
Государственное автономное учреждение здравоохранения «Краевой
клинический кожно-венерологический диспансер», Владивосток

Уникальный код статьи: 53291b15f1f20

К соединениям, обладающим широким спектром биологической активности относят 1-О-алкил-глицериновые эфиры (АГЭ), представляющие собой простые эфиры глицерина и жирных спиртов [1]. Эти соединения проявляют антимикробную активность против ряда грамположительных микроорганизмов - *Streptococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Acinetobacter calcoaceticus*, *Alcaligenes sp* [2]. В исследовании *in vitro*, проводившимся на *S. aureus*, было установлено, что АГЭ проявляют ингибирующую активность в очень незначительных количествах и стабильны к действию микробных липаз [3].

В настоящее время большой проблемой для клинической микробиологии является повышение резистентности к антибиотикам многих микроорганизмов, в том числе и дрожжеподобных грибов рода *Candida* и *Cryptococcus* [4]. Одним из подходов к решению этой проблемы стало усиление фунгицидной активности антибиотиков амфотерицина (АМВ) и клотримазола (КОТ) в присутствии пикомолярных количеств синтетических аналогов АГЭ. Особенно высокая степень синергизма проявлялась у АГЭ с амфотерицином В на грибах рода *Candida* и *Cryptococcus* [5]. Механизм синергизма основан на активации АГЭ пептидогликангидролазы, фермента разрушающего клеточные стенки грибов, что облегчает доступ антибиотика в цитоплазму клетки [5].

В рамках данного исследования проводилось определение синергического эффекта фунгицидной активности АМВ и КОТ в комбинации с АГЭ, а также определение фунгицидной активности чистых препаратов АГЭ. Объектами исследования служили 38 клинических штаммов грибов рода *Candida* (*Candida spp.*, *C. albicans*, *C. tropicalis*), среди которых 21 штамм чувствительные к антибиотикам, 17 штаммов – резистентные. В качестве контроля использовался штамм *C. albicans* ATCC 32354. АГЭ с чистотой 99,5% были выделены из липидов

печени кальмара *Berryteuthis magister* [6]. Для исследования были использованы стандартные для клинических лабораторий методы «двойных дисков» и тест «OXOID», которые являются модификациями классического диско-диффузионного метода определения чувствительности микроорганизмов к антибиотикам [7]. Использовались стандартные диски с содержанием КОТ 10 мкг и АМВ 40 мкг (НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера). Препарат АГЭ в концентрациях 5, 10, 20 мкг был нанесен на диски с КОТ и 20, 40, 80 мкг – на диски с АМВ в стерильных условиях. Определение минимальной ингибирующей концентрации АГЭ проводили с помощью метода двукратных последовательных разведений. Для первичного тестирования фунгицидной активности АГЭ был использован применяемый в клинической практике метод «стерильного пятна» [7].

Комбинации АМВ/АГЭ и КОТ/АГЭ проявляли ингибирующую активность в отношении всех исследуемых штаммов, чувствительных к антибиотикам микроорганизмов. Как видно из Рис. 1, АГЭ совместно с антибиотиками проявляют большую ингибирующую активность по сравнению с активностью антибиотика в отсутствии АГЭ. Для комбинаций препаратов не наблюдалось зависимости ингибирующего действия на грибы от концентрации АГЭ. Наибольшую фунгицидную активность комбинация АМВ/АГЭ проявила на чувствительные к антибиотикам штаммы *Candida spp.* (8 штаммов), *C. albicans* (1 штамм) и *C. tropicalis* (2 штамма) (Рис.1). Уровень фунгицидной активности комбинации КОТ/АГЭ к таким же штаммам был несколько ниже (Рис.1). Антимикробная активность АГЭ при концентрации 10 мкг была сопоставима с активностью КОТ (Рис.1).

Для резистентных штаммов *Candida* фунгицидная активность чистого АМВ в среднем была выше, чем для КОТ (рис. 2). Рост резистентных штаммов при воздействии комбинаций препаратов АМВ/АГЭ и КОТ/АГЭ также подавлялся во всем диапазоне концентраций АГЭ. Надо отметить, что относительное увеличение фунгицидной активности КОТ/АГЭ по отношению к штамму *C. tropicalis* было выше, чем для комбинации АМВ/АГЭ.

Поскольку в отношении резистентных к антибиотикам штаммов комбинации АМВ/АГЭ и КОТ/АГЭ проявляли ингибирующее действие, было проведено тестирование фунгицидной активности чистых препаратов АГЭ. Использование метода «стерильного пятна» показало, что в зоне нанесения АГЭ в отношении всех исследуемых индивидуальных чувствительных к антибиотикам штаммов *Candida spp.*, *C. albicans*, *C. tropicalis* наблюдалось полное подавление роста. Этот

эксперимент указывает на выраженную фунгицидную активность АГЭ. Определение минимальной ингибирующей концентрации показало, что АГЭ подавляют рост смеси штаммов *Candida spp.*, *C. albicans*, *C. tropicalis* при концентрации 0,156 мкг/мл.

Таким образом, полученные результаты позволяют сделать вывод о синергическом влиянии АГЭ на действие противогрибковых антибиотиков (АМВ и КОТ) как для чувствительных, так и для резистентных к антибиотикам штаммов грибов рода *Candida*. Кроме того, АГЭ способны самостоятельно ингибировать рост грибов, что обладает большой практической значимостью ввиду увеличения количества резистентных штаммов грибов рода *Candida* и вызванных ими патологий.

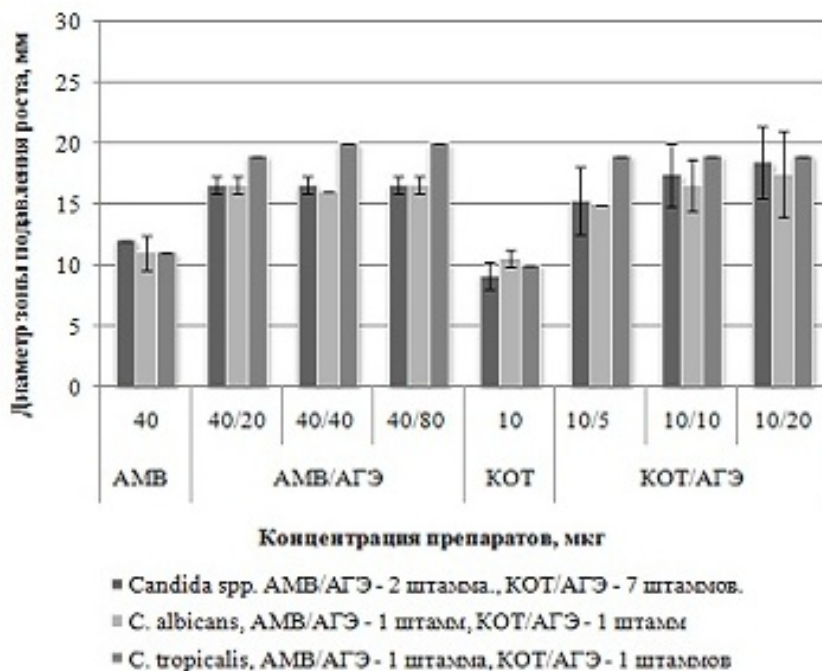


Рис. 1. Определение ингибирующей активности комбинаций препаратов АМВ/АГЭ и КОТ/АГЭ на резистентных к антибиотикам штаммах грибов *Candida*

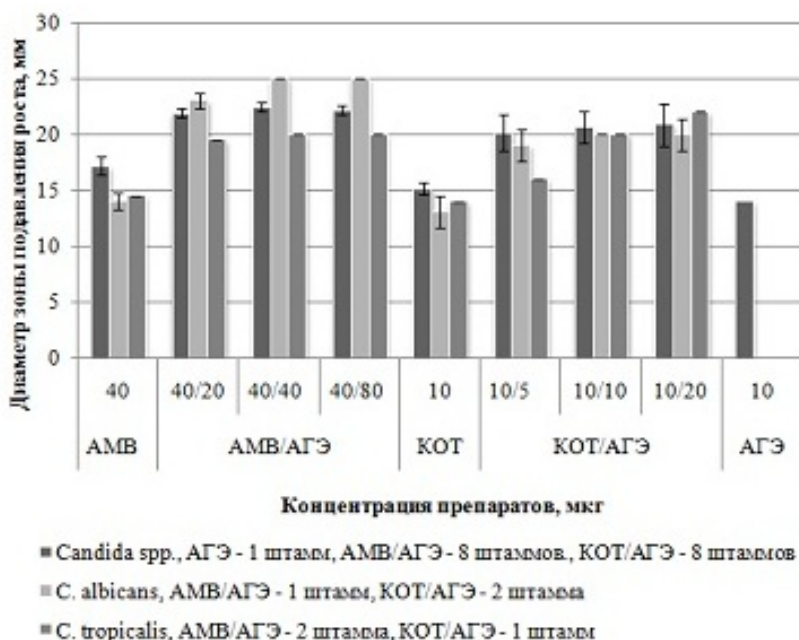


Рис. 2. Определение ингибирующей активности комбинаций препаратов АМВ/АГЭ и КОТ/АГЭ на чувствительных к антибиотикам штаммах грибов *Candida*

Литература

1. Латышев Н.А., Касьянов С.П., Блинов Ю.Г. Алкил-глицериновые эфиры морских организмов: структура, распределение и биологическая активность. Известия ТИНРО. 2012. Т. 169. С. 261-277.
2. Ved H.S., Gustow E., Mahadevan V., Pieringer R.A. Dodecylglycerol a new type of antibacterial agent which stimulates autolysin activity in *Streptococcus Faecium* ATCC 9790. J. Biol. Chem. 1984. Vol. 259. P. 8115-8121.
3. Lin Y-C, Schlievert P.M., Anderson M.J., Fair C.L., Schaefer M.M. et al. Glycerol monolaurate and dodecylglycerol effects on *Staphylococcus aureus* and toxic shock syndrome toxin-1 in vitro and in vivo. Plos one. 2009. Vol. 4. P. 1-10.
4. Matthews R., Burnie J. The epidemiology and pathogenesis of candidiasis: applications in prevention and treatment. Bull. Inst. Pasteur. 1998. 96. P. 249-256.

5. Haynes M.P., Buckley H.R., Higgins M.L., Pieringer R.A. Synergism between the antifungal agents amphotericin B and alkyl glycerol ethers. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 1994. Vol. 38. P. 1523-1529.
6. Касьянов С.П., Латышев Н.А. «Способ получения алкил-глицериновых эфиров» // Патент РФ № 2415125 от 27.03.2011.
7. МУК 4.2.1890-04 «Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам».

МУЛЬТИПЛЕКСНАЯ ИММУНОДИАГНОСТИКА ИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Ерш А.В., Полтавченко А.Г., Кривенчук Н.А.

Государственный Научный Центр вирусологии и биотехнологии
«Вектор»,

ЗАО «ИмДи» (Кольцово, Новосибирская обл., Россия)

Уникальный код статьи: 532f9372bc8df

Мультиплексная иммунодиагностика – новое направление, предполагающее использование устройств (так называемых «белковых матриц» или «иммуночипов»), позволяющих одновременно определять в исследуемом образце множество различных антигенов или антител.

Известны разработки мультиплексных тестов на трех платформах: суспензионные (основанные на наборе сенсibilизированных микро-шариков в сочетании с флуоресцентными метками), объемные или 3D (где реагенты захвата заключены в каплях геля) и плоские или 2D (представляющие собой твердую подложку с дискретно нанесенными на ее поверхность антигенами или антителами). Мы в своих разработках используем плоские белковые матрицы. Основной тенденцией при разработке плоских белковых матриц является размещение максимального числа тестов на миниатюрной подложке. Однако такой подход порождает массу технических проблем, требует разработки новых дорогостоящих технологий, материалов и оборудования и поэтому в настоящее время далек от внедрения в широкую клиническую практику.

Мы считаем, что более целесообразно ограничить число анализов и создавать матрицы, позволяющие проводить дифференциальную диагностику по отдельным группам заболеваний, вызывающих сходные симптомы (например, респираторных, желудочно-кишечных, урогенитальных и т.п.). Такой подход сочетает мультиплексность с простотой изготовления и применения иммуночипов, а так же может быть реализован с использованием доступных материалов и устройств. Главное достоинство такого подхода в том, что образец в одном анализе может быть проверен на все инфекции, вызывающие сходные симптомы заболевания. Методология применения белковых матриц представляет собой дот-иммуноанализ с применением золотых или серебряных иммунозолей, усилением сигнала физическим проявлением и

стабилизацией оптического сигнала. Можно использовать метку щелочной фосфатазой, но себестоимость такой системы почти на порядок выше, а контрастность сигналов ниже. Такой анализ предполагает 5 этапов с промежуточными промывками и выполняется в течение 1 часа при комнатной температуре (рис 1).

Наш иммуночип состоит из небольшой пластмассовой подложки с нанесенными в определенном порядке антигенами нескольких возбудителей. Число анализируемых инфекций ограничено (не более 8-10), что позволяет легко контролировать нанесение антигенов на подложку, а также визуально учитывать результаты. С другой стороны, это число обычно охватывает список дифференцируемых заболеваний и потому может быть и достаточным и удобным для практического применения. Нами уже разработано несколько мультиплексных тест-систем: к возбудителям TORCH-инфекций, к детским вакциноуправляемым вирусным инфекциям и в настоящее время они проходят межлабораторные испытания на реальных клинических образцах. Еще одним применением мультиплексных систем могут служить подтверждающие дот-блот мультиплексные тесты. Сейчас наиболее надежным лабораторным методом подтверждающим наличие заболевания является Western-blot, когда белки возбудителя разгоняют электрофорезом и затем инкубируют с исследуемой сывороткой. Наличие реакции с несколькими белками значительно повышает достоверность положительного результата.

Примером такой системы у нас, служит тест «ВГС-спектр- IgG антитела». На матрицу наносят несколько наиболее специфичных белков и проводят аналогичный дот-иммуноанализ. Выявление антител к отдельным антигенам ВГС позволяет не только использовать систему в качестве подтверждающего теста на антитела к ВГС, но и дает возможность дифференциальной диагностики острых (антитела к *Core*-антигену) и хронических (сочетания антител к *Core* и неструктурным белкам *NS3-NS5*) форм вирусного гепатита С.

Упомянутые выше методические подходы универсальны и могут быть использованы при производстве мультиплексных тестов любой специфичности. А в перспективе подобные тест-системы могут быть созданы для контроля донорской крови, дифференциации хронических инфекций, диагностики паразитарных и аллергических заболеваний и т.п.

Внедрение технологии белковых матриц в медицинскую практику позволит сделать обследование пациентов более простым, быстрым, дешевым и доступным. Пригодны такие тесты и для проведения

эпидемиологических исследований и санитарно-эпидемиологического контроля.

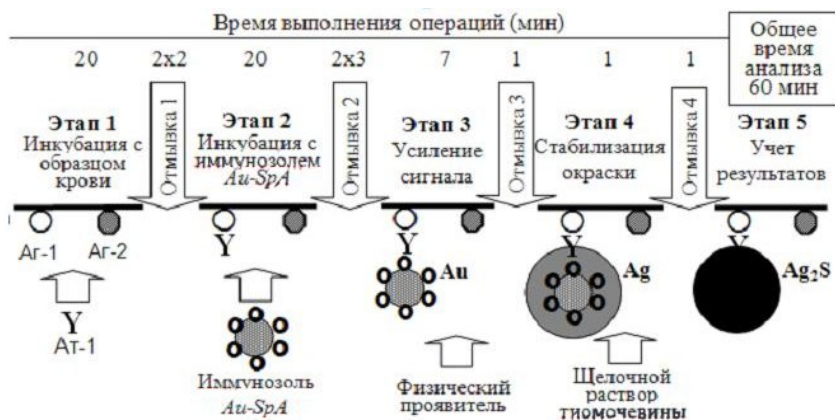


Рис. 1. Общая схема многопрофильного дот-иммуноанализа антител с применением иммунозоля золота, усилением сигнала физическим проявлением и стабилизацией окраски щелочным раствором тиомочевины.

ИЗМЕНЕНИЕ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ПОРОШКА ИЗ АРОНИИ ЧЕРНОПЛОДНОЙ В ПРОЦЕССЕ ГОДИЧНОГО ХРАНЕНИЯ

Жашков А.А.

ФГБОУ ВПО "ВГУИТ"

Уникальный код статьи: 530ded917a48a

Комплексная товароведная оценка качества, гарантирующая полную безвредность продукта, может быть дана только с учетом микробиологических требований.

Для установления оптимальных сроков хранения были проведены исследования микробиологических показателей порошка из аронии черноплодной в процессе хранения в течение 12 месяцев на аптечном складе ООО «Ориола» в г. Воронеже. Порошок хранился в бумажных пакетах. Условия хранения были следующие: температура - 20 °С, относительная влажность - 50 %. Результаты изучения микробиологических показателей представлены в таблице 1.

Таблица 1.

Показатель	Допустимое значение (СанПиН 2.3.2.1078-01)	Свежий порошок	Порошок после года хранения
КМАФАнМ	$1 \cdot 10^3$ КОЕ/г	Не обнаружено	$3,0 \cdot 10^2$ КОЕ/г
БГКП	Отсутствует в 0,1 г	Не обнаружено	Не обнаружено
Дрожжи	Не более 100 КОЕ/г	Не обнаружено	3 КОЕ/г
Плесневые грибы	Не более 100 КОЕ/г	Не обнаружено	25 КОЕ/г

Количество микроорганизмов в образцах к окончанию срока хранения возросло незначительно и не превышало предельно допустимые нормы. Бактерицидные свойства порошка из аронии черноплодной высоки. Это объясняется тем, что в порошке содержится большое количество биофлавоноидов, которые препятствуют развитию аэробных форм микроорганизмов.

Срок хранения пищевых порошков напрямую зависит от:

- уровня микробиологического заражения готового порошка;
- температуры хранения (рекомендуемая температура - 18...20 °С),
- относительной влажности воздуха (рекомендуемая влажность - не

выше 50 %);

- содержания влаги в готовом продукте (рекомендуемая влажность 6 - 8%).

Таким образом, результаты исследований свидетельствуют о возможности использования порошка в качестве биологически активной добавки после года хранения при температуре 18 - 20 °С и относительной влажности 50 %.

БИОХИМИЧЕСКИЙ МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ МИКРОКОНЦЕНТРАЦИЙ ЦЕТИЛТРИМЕТИЛАММОНИЯ

Жуковский Ю.Г., Кузнецова Л.П., Никитина Е.Р., Сочилина Е.Е.

Институт эволюционной физиологии и биохимии
им. И.М.Сеченова РАН, Санкт-Петербург

Уникальный код статьи: 5329831fc83c7

Цетилтриметиламмоний (ЦТА) представляет собой катионное азотсодержащее поверхностно-активное вещество (ПАВ). ЦТА широко используется в различных отраслях промышленности, применяется в современной косметологии и медицине, входит в состав практически всех моющих средств. Попадание этого соединения со сточными водами в водоемы приводит к гибели микроорганизмов, нарушению кислородного режима воды и ухудшению её качества. Это происходит, прежде всего, вследствие гибели водных микроорганизмов, для которых порог токсичной концентрации детергентов очень низок. ЦТА относительно безвреден для теплокровных животных и человека, однако в некоторых случаях может служить причиной сильных аллергических реакций. В связи с этим поиск простых и надёжных способов определения микроконцентраций этого соединения является актуальной задачей.

Существующие экстракционно-фотометрические методы количественного определения ПАВ требуют сложной пробоподготовки и дорогостоящего оборудования. Нами предложен биохимический метод определения микроконцентраций ЦТА, основанный на его способности влиять на реакционную способность фермента бутирилхолинэстеразы сыворотки крови лошади (БуХЭ). Этот фермент широко применяется при мониторинге окружающей среды для определения фосфорорганических пестицидов и соединений, являющихся ингибиторами холинэстераз. Производство БуХЭ осуществляется в промышленных масштабах как в нашей стране, так и за рубежом.

ЦТА, как и все ПАВ, при высоких концентрациях образует в растворах мицеллы. Однако, при концентрациях ниже 10^{-4} М он образует истинные растворы и взаимодействует с холинэстеразами как обратимый эффектор. Нами было показано, что ЦТА влияет на каталитическую активность БуХЭ: он обратимо конкурентно ингибирует гидролиз специфических холиновых субстратов ацетилхолина (АХ) и

бутирилхолина (БуХ) и их хромогенных тиааналогов ацетилтиохолина (АТХ) и бутирилтиохолина (БуТХ), но при этом активирует гидролиз неспецифического хромогенного субстрата α -тионафтилацетата (ТНА) и его флуорогенного аналога α -нафтилацетата (НА). Обнаруженные свойства позволяют использовать этот фермент в качестве аналитического реагента для определения малых концентраций ЦТА. Для обнаружения последнего анализируемую пробу смешивают в буферном растворе с ферментом и субстратом. Измеряют степень угнетения ферментативного гидролиза холинового эфира, например АТХ, или степень активации ТНА или НА. Эти величины сопоставляют с данными калибровочной зависимости, полученной в аналогичных условиях. Предел обнаружения ЦТА составляет $5 \cdot 10^{-7}$ М или $6 \cdot 10^{-8}$ М по эффекту активации гидролиза ТНА или НА, соответственно, или $2 \cdot 10^{-6}$ М - по эффекту ингибирования гидролиза АТХ. Наличие этих двух противоположных эффектов позволяет увеличить надёжность определения ЦТА.

БИОХИМИЧЕСКИЕ СУПРАМОЛЕКУЛЯРНЫЕ СИСТЕМЫ ДЛЯ БИОНАНОТЕХНОЛОГИИ

Зайцев С.Ю.

ФГБОУ ВПО «Московская государственная академия ветеринарной
медицины и биотехнологии имени К.И. Скрябина», Москва

Уникальный код статьи: 5323e681bf0a0

Изучение природных биохимических супрамолекулярных систем (БСС) и создания искусственных БСС с заданными свойствами, представляющих собой высокоорганизованные комплексы белков, липидов и других биологически активных соединений (БАС), является современной и актуальной проблемой. Наиболее характерные примеры таких БСС - это мембраны, липосомы, наночастицы и ультратонкие пленки с иммобилизованными белками и синтетическими ионохроматофорами, которые являются уникальными моделями для исследования процессов молекулярного узнавания и взаимодействия БАС, а также перспективными новыми бионаноматериалами с комплексом особых свойств [1]. В процессе развития наших исследований различные липиды и их производные, поверхностно-активные мономеры и полимеры, мембранные белки и ферменты были изучены как структурно-функциональные компоненты таких БСС [1-3].

Одними из наиболее перспективных для бионанотехнологии БСС являются стабильные нанослои ферментов (типа глюкозооксидазы, уреазы и т.д.), адсорбированные на положительно заряженных или цвиттер-ионных липидных монослоях.

Показано, что различные биосенсоры, полученные на основе таких липид-ферментных нанопленок, способны определять соответствующие БАС (глюкозу, мочевины и т.д.) в физиологической области концентраций. Параметры указанных биосенсоров оптимизированы с использованием липидоподобных мономеров и полимеров [2]. Исследованы монослои липидов на границе раздела фаз, с которыми эффективно взаимодействуют адсорбированные ферменты типа липаз из различных источников. Для описания ферментативного гидролиза на границе раздела фаз предложена кинетическая модель процесса и определены эффективные константы реакций. Впервые получены многокомпонентные комплексы на основе синтетических и природных полимеров с иммобилизованными липазами, и показана возможность

управлять их каталитической активностью путем регуляции состава комплексов [3]. Получен ряд типов ультратонких пленок и мембран на основе мембранных белков и липидов [1-3]. Такие системы обладают комплексом свойств: заданным гидрофильно-гидрофобным балансом; самоассоциацией на границе раздела фаз; селективным связыванием ионов и органических соединений; фоторецепцией и фотоактивацией; сочетанием упорядоченности и мобильности; заданным изменением наноразмерной структуры. Например, монослои производных ионофоров, которые связывают катионы металлов, аминокислоты и другие БАС.

Важность таких наноразмерных систем обусловлена не только их фундаментальным значением, но и широкими возможностями использования как наноматериалов в хим- и биосенсорах, фильтрах, мембранах, электродах, фотохромных элементах, материалах для записи и хранения оптической информации, атомно-силовой и флуоресцентной конфокальной микроскопии [3].

Отдельные части данной работы были поддержаны грантами РФФИ (14-03-00154) и РНФ (14-16-00046).

Литература

1. S.Yu. Zaitsev, D.O. Solovyeva, I. Nabiev. Adv. Colloid Interface Sci., 2012, v.183-184, p.14-29.
2. С.Ю. Зайцев Российские нанотехнологии. 2009, т.4, №.7-8. с.6-18.
3. С.Ю. Зайцев Супрамолекулярные наноразмерные системы на границе раздела фаз: Концепции и перспективы для бионанотехнологий. – М.: ЛЕНАНД, 2010. 208 с.

ИЗУЧЕНИЕ СЛАБИТЕЛЬНОГО ДЕЙСТВИЯ КОРНЕЙ ЩАВЕЛЯ КОНСКОГО

Зайцева Н.В., Куркин В.А., Зайцева Е.Н., Авдеева Е.В.

ГБОУ ВПО СамГМУ Минздрава России

Уникальный код статьи: 532973d2ce105

Анализируя ситуацию на фармацевтическом рынке в отношении лекарственных препаратов со слабительным действием растительного происхождения, необходимо отметить ограниченность ассортимента в части отечественных разработок (не более 40 %) [1,3]. По источникам получения к числу наиболее популярных видов лекарственного растительного сырья (ЛРС) можно отнести листья сенны (на 1-м месте), кору крушины (на 2-м месте), ревеня и алоэ (делят 3-е место), единичные позиции занимают корни щавеля конского, льняное семя, алоэ [2].

В связи с этим, недостаточность ассортимента природного происхождения не позволяет варьировать назначение лекарственных препаратов на основе антраценпроизводных и других групп БАС растительного происхождения при лечении распространенных хронических атонических запоров и других нарушений системы пищеварения.

Целью работы явилось изучение фармакологических свойств водных и водно-спиртовых извлечений их корней щавеля конского с последующим обоснованием разработки нового экстракционного препарата.

Фармакогностическая и технологическая часть работы была выполнена на кафедре фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии ГБОУ ВПО СамГМУ Минздрава России, а основные фармакологические исследования - на базе кафедры фармакологии Университета (под руководством заведующего кафедрой, профессора А.В. Дубищева).

Белые беспородные крысы-альбиносы обоих полов массой 180-220 г., накормленные последний раз за 6 часов до эксперимента (стандартный рацион вивария) были помещены отдельно в клетки, застеленные чистой фильтровальной бумагой. Опытные и контрольные группы были составлены из 10 животных каждая. Далее внутрижелудочно вводились исследуемые водные и водно-спиртовые извлечения из корней щавеля конского на 40% и 70% спирте этиловом в следующих дозировках: 25

мг/кг, 50 мг/кг и 100 мг/кг в пересчете на антраценпроизводные. В эквивалентных дозировках вводились препараты сравнения – сенна остролистная и крушина ломкая. Для исключения влияния спирта этилового на оцениваемые параметры (масса кала исходного и высушенного) формировались отдельные опытные группы, которые получали соответственно анализируемым фитосубстанциям эквивалентные дозировки раствора 40% и 70% спирта этилового. Параллельно проводился контроль (вода – для изучения слабительного действия водных извлечений антраценсодержащих растений, спирто-водные извлечения из сенны – для сравнительного изучения слабительного действия извлечений из крушины и щавеля на спирте этиловом в концентрации 40 % и 70 %).

Через 18 часов после введения изучаемых образцов подсчитывалось общее количество фекалий от каждого животного всех анализируемых групп. Процент увеличения кала и доли влажных фекалий от их общего количества считался слабительным эффектом. Для более точной оценки результатов все показатели пересчитывались на 100 г массы тела животного.

Статистическая обработка полученных результатов экспериментов проводилась с использованием стандартных методов вариационной статистики: расчет средней арифметической величины (M) и средней ошибки средней арифметической (m) – при помощи программ Microsoft Excel 2000 (MS Office 2000, USA) «Пакет анализа», Statistica 8.0 по критерию Манна-Уитни.

Наилучший результат для изучаемого объекта показало вводимое водно-спиртовое извлечения на спирте этиловом 40 % в дозе 25 мг/кг (табл. 1).

Таблица 1. Результаты исследования слабительного действия водно-спир-товых извлечений из ЛРС на основе спирта этилового 40 % в дозе 25 мг/кг

Изучаемый объект	Масса кала (исходного)		Масса кала (сухого)	
Спирт этиловый 40 %	0		0	
Водно-спиртовое извлечение сенны	118,14 ± 7,59	г = 0,013	108,58 ± 6,41	г = 0,007
Водно-спиртовое извлечение щавеля	426,30 ± 20,46 * (261 %)		420,1 ± 18,26 * (287 %)	
Водно-спиртовое извлечение крушины	100,26 ± 6,90 (15 %)		83,59 ± 7,96 * (23 %)	

Установлено, что в дозировке 25 мг/кг (минимальная изучаемая доза) из-за уменьшения содержания дубильных веществ в извлечениях из корней щавеля конского на спирте этиловом 40% по сравнению с водным извлечением наблюдается увеличение слабительного эффекта по отношению к контролю – аналогичному извлечению листьев сенны (на 261% для влажного кала и на 278% для высушенного кала соответственно). Последнее обстоятельство: близкие значения исходного и сухого кала, - как показывает фитохимическое изучение ЛРС, объясняется выходом в спирто-водное извлечение нафтохинонов – гликозидов торахризона, обладающих, по всей видимости, иным механизмом слабительного действия нежели антрахиноны, но при сочетанном воздействии существенно усиливающих фармакологический эффект всей гаммы хинонов растения.

На этом этапе фармакологического обоснования в эксперименте целевой группы и оптимального экстрагента для ее извлечения анализ полученных данных показал, что водно-спиртовое извлечение корней щавеля конского на спирте этиловом 40 % наиболее эффективно в качестве слабительного средства (и конкурентоспособен по сравнению с аналогами), что и было нами учтено при выполнении технологической части работы. Помимо фармакологических данных, с учетом изучения стабильности, технологичности, перспектив дальнейшей разработки лекарственных форм, выбор сделан в пользу получения густого экстракта щавеля конского.

Для «Щавеля экстракта густого» при изучении слабительного действия в параллельных экспериментах с экстрагентом в эквивалентных дозах установлено аналогичное с исходными (неупаренными) водно-спиртовыми извлечениями действие (табл. 1); при этом статистически значимых отличий сравниваемых объектов (исходное извлечение и экстракт) не выявлено (что коррелирует и с подтвержденной методами фармакогностического анализа идентичности химического состава ЛРС, нативного спирто-водного извлечения и густого экстракта). Выраженность эффекта также была наибольшей в дозировке 25 мг/кг (антраценпроизводные), которую и следует считать исходной для последующей выработки рекомендаций по дозировке при использовании экстракта в медицинских целях.

Таким образом, на основании выполненных фармакологических исследований обосновано получение рациональной экстракционной формы «Щавеля экстракта густого» и даны предварительные рекомендации по его дозировке.

Литература

1. Государственная фармакопея СССР: Вып. 2. Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырье / МЗ СССР. - 11-е изд., доп. - М.: Медицина, - 1990. - 400 с.
2. Куркин В.А. Фармакогнозия: Учебное пособие для студентов фармацевтических вузов. - Самара: ООО «Офорт», ГОУ ВПО «СамГМУ Росздрава», - 2009. - 1239 с.
3. Тенцова А.И. Слабительные средства растительного происхождения и их применение. - Москва, - 1982. - 57 с.

ВЛИЯНИЕ РЕКОМБИНАНТНОГО КУРИНОГО ИНТЕРФЕРОНА-ГАММА НА ЭКСПРЕССИЮ ГЕНА PKR В КЛЕТКАХ КУРИНЫХ ЭМБРИОНАЛЬНЫХ ФИБРОБЛАСТОВ.

Зобнина А.Е., Румянцев А.М., Падкина М.В., Цыганков М.А.

Санкт-Петербургский государственный университет

Уникальный код статьи: 5318535d51383

При изучении влияния интерферона на резистентность клеток к вирусной инфекции основное внимание уделяется исследованию клеточных белков, определяющих индукцию и развитие в клетках противовирусного ответа. Благодаря этому в настоящее время достигнуты значительные успехи в понимании молекулярных механизмов действия интерферона на клетки, являющиеся мишенями для вирусной репликации.

Одним из наиболее известных индуцируемых интерфероном белков является дцРНК-зависимая протеинкиназа (PKR), которая участвует в обеспечении противовирусного действия ИФН, служит посредником при активации транскрипции гена ИФН-бета и некоторых индуцируемых ИФН генов, а также является одним из факторов ИФН-зависимого ингибирования клеточной пролиферации. В отношении PKR показано, что ее индукция может зависеть как от типа интерферона, так и от типа клеток. В мышинных клетках как естественный, так и рекомбинантный интерфероны альфа-, бета- и гамма- индуцируют протеинкиназу и фосфорилирование белков P1/eIF-2, в то время как в эпителиальных клетках человека только ИФН-альфа и -бета эффективны в отношении индукции PKR. Рекомбинантный ИФН-гамма очень слабо индуцирует синтез протеинкиназы в этих клетках. Интересно также, что ни один из интерферонов не индуцирует протеинкиназу в фибробластах человека.

Действие протеинкиназы специфично к типу клеток. В обработанных интерфероном клетках обезьяны и мышцы активированная протеинкиназа играет ведущую роль в ингибировании экспрессии реовирусных, тогда как клетки человека были мало чувствительными к интерферону, поскольку индукция протеинкиназы и уровень фосфорилирования белка P1 и фактора eIF-2 не обеспечивают достаточных условий для поддержания противовирусного состояния в этих клетках при реовирусной инфекции.

Напротив, те же клетки чувствительны к интерферону при

заражении вирусом везикулярного стоматита. В предыдущих экспериментах нами были получены 3 варианта модификаций гена куриного интерферона-гамма (ИФН- γ), кодирующие соответствующие белки, лишенные на С-конце потенциальных сайтов расщепления протеазами.

Созданы штаммы дрожжей *Pichia pastoris* – продуценты укороченных форм куриного ИФН- γ . Показано, что рекомбинантные белки с привнесенными модификациями обладают повышенной стабильностью по сравнению с немодифицированным рекомбинантным куриным ИФН- γ , секретируемым дрожжами-продуцентами, который подвергается существенной протеолитической деградации. Для подтверждения наличия биологической активности полученных нативного и модифицированных куриных ИФН- γ использовали первичную культуру куриных эмбриональных фибробластов (КЭФ), любезно предоставленных сотрудниками Всероссийского Научно-Исследовательского Ветеринарного Института Птицеводства (г.Ломоносов).

Исходя из данных о том, что экспрессия структурного гена протеинкиназы (PKR) в значительной степени индуцируется ИФН I и II типов, биологическую активность куриных интерферонов определяли по изменению уровня экспрессии гена PKR относительно контрольного гена глицеральдегид-3-фосфат дегидрогеназы (GAPDH) в клетках КЭФ. Для этого суммарную РНК выделяли из равного количества клеток, после чего синтезировали кДНК методом обратной транскрипции и использовали в качестве матрицы для проведения ПЦР в режиме реального времени. В качестве контроля использовали клетки, культивированные на среде ДМЕМ без добавок, а также клетки, в культуральную среду которых были добавлены экстраклеточные белки исходного штамма дрожжей *P.pastoris*, выращенного в тех же условиях, что и штаммы-продуценты ИФН.

Результаты ПЦР показали, что уровень экспрессии гена PKR относительно контрольного гена GAPDH в клетках КЭФ после культивирования с добавлением модифицированных куриных ИФН- γ возрастает примерно в 2 раза по сравнению с контрольным образцом, содержащим белки культуральной среды исходного штамма, и примерно на порядок превышает уровень экспрессии гена в клетках, культивированных на среде без добавок. Это свидетельствует о том, что рекомбинантный белок, продуцируемый полученными штаммами, обладает биологической активностью, на которую не оказывают влияние привнесенные модификации.

Наличие экспрессии гена PKR в клетках, в среду которых были

добавлены белки культуральной среды исходного штамма дрожжей, может объясняться тем, что представленные на поверхности куриных фибробластов TLR-рецепторы способны воспринимать дрожжевые белки как антигенные детерминанты и, связывая их, запускать экспрессию PKR.

ТРАНСЛЯЦИЯ ИНТЕРАКТОМИКИ В БИМЕДИЦИНСКУЮ ПРАКТИКУ: OXIDATIVE STATUS INTERACTOME MAP

Золотухин П.В., Лебедева Ю.А., Кузьминова О.Н., Беланова А.А.,
Коринфская С.А., Чмыхало В.К., Александрова А.А.

Южный федеральный университет

Уникальный код статьи: 5315a50ea4f99

Изучение тонких молекулярных механизмов формирования окислительного статуса клетки, понимаемого как результирующей объективных взаимоотношений между про- и антиоксидантными компонентами клетки, – важнейшая задача как в фундаментальном, так и в практическом отношении, поскольку в перспективе ее решение открывает широкие горизонты диагностики заболеваний (в том числе, неинвазивной и дифференциальной), разработки терапевтических подходов и профилактических мер. Свидетельством важности и актуальности системного анализа окислительного статуса является инвестирование фармакологического гиганта Abbott Molecular (США) 400 млн. долларов в 2012 году [1] в разработку индукторов («антиоксидантов второго поколения») одного из центральных транскрипционных факторов подсистемы антиоксидантной защиты клетки – NFE2L2 (синоним – NRF2). Создание аналитических схем интерактома окислительного статуса – многообещающий подход, призванный решить ряд проблем в сферах выбора мишеней терапевтического воздействия, оценки этиологии гетерогенных синдромов и синдромов с неустановленными молекулярным генезом.

Целью нашего исследовательского проекта явилось развитие интерактивной схемы взаимодействий между неорганическими, низкомолекулярными веществами; различными РНК и их генами; ферментами, транскрипционными факторами и другими белками и их генами в системе окислительного статуса клеток различных тканей человека для последующей разработки новых диагностических, терапевтических и биокибернетических (биоинженерных, фармакологических) технологий.

В результате реализации проекта была построена биоинформационная карта интерактома окислительного статуса клеток различных тканей человека (OSIM - oxidative status interactome map), позволяющая: планировать исследовательскую работу в области

многомерных молекулярно-биологических и биомедицинских исследований от теоретического до экспериментального уровня; проводить многомерный анализ экспериментальных молекулярно-биологических и биохимических данных; разработать качественно новые подходы к дифференциальной диагностике сложных, гетерогенных групп заболеваний; найти новые пути к определению этиологии некоторых заболеваний, таких как тяжелый гестоз, сердечно-сосудистые и нейродегенеративные заболевания, инсулинрезистентные состояния и др.; разработать новые подходы к системному биологическому тестированию фармакологических средств.

Карта интерактома окислительного статуса человека свободно доступна в сети Интернет. Полное описание OSIM также опубликовано в открытой печати [2]. Пилотное применение OSIM в области разработки диагностических подходов оказалось успешным [3], и сейчас нами также инициированы несколько проектов по приложению OSIM в области фармакологии.

Литература

1. Crunkhorn S. Nat Rev Drug Discov. – 2012. – Vol. 11, No. 2. – P. 96.
2. Zolotukhin P., Kozlova Y., Dovzhik A., Kovalenko K., Kutsyn K., Aleksandrova A., Shkurat T. Molecular BioSystems. – 2013. – Vol. 9, No. 8. – P. 2085-2096.
3. Zolotukhin P.V., Dovzhik A.D., Lebedeva U.A., Kuzminova O.N., Mashkina E.V., Aleksandrova A.A., Shkurat T.P. Molecular Diagnosis and Therapy. - 2014. - ePub ahead of print. - doi. 10.1007/s40291-014-0088-1.

ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ РАЗЛИЧНЫХ БИОПРЕПАРАТОВ НА РОСТ РАСТЕНИЙ *BETA VULGARIS* И БИОЛОГИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ ПОЧВЫ

Ильясова Е.Ю., Григориади А.С., Насибуллин Р.И.

Башкирский государственный университет

Уникальный код статьи: 532aa7c26a808

Свеклосахарное производство – одна из главных сфер обеспечения населения продовольствием. Кроме получения сахара, сахарная свекла выращивается и как кормовая культура, в 100 кг её корней содержится 25 кормовых единиц и 1,2 кг перевариваемого протеина [1]. Это сельскохозяйственное растение занимает одно из первых мест в доходах хозяйств, однако, у него высокие требования к культуре земледелия. Одной из важнейших проблем свекловодства, как и всего растениеводства в целом, является повышение урожайности сельскохозяйственных культур при сохранении плодородия почвы. В случае выращивания свеклы следует отметить чувствительность молодых проростков и растений к грибным болезням и почвенным вредителям. Примесь фунгицидов и инсектицидов является важной мерой борьбы с вредными организмами, но при неблагоприятных внешних условиях этот прием не гарантирует свободы от поражения [2]. Наблюдавшееся в прошлом неумеренное применение химических средств защиты растений и минеральных удобрений привело к ряду негативных последствий: формированию устойчивых рас возбудителей болезней; обеднению количественного и качественного состава природных микробиоценозов, в основном, за счет уменьшения численности полезных членов микробиоты; накоплению в окружающей среде токсических остатков [3]. В настоящее время особое значение придается использованию биологических средств защиты растений, обеспечивающих сохранение природных комплексов живых организмов. Ориентация защиты растений на биологические средства борьбы с вредителями, болезнями и сорняками позволяет одновременно решать вопросы сохранения урожая, повышения качества продукции, охраны окружающей среды и здоровья человека [4].

Известно, что к числу наиболее перспективных агентов биологического контроля болезней растений относятся бактерии-эндофиты рода *Bacillus* Cohn, обладающие антагонизмом по

отношению к патогенным микроорганизмам и способные значительно влиять на урожай культур [5]. Бактерии-эндофиты рода *Bacillus Cohn* являются привлекательными объектами для использования в качестве основы при создании биологических препаратов [6-8]. Интерес представляет изучение влияния биологических препаратов как на рост самих растений, так и на активность и направленность микробиологических процессов под посевами сельскохозяйственных культур, так как это связано с улучшением развития и повышением их урожайности. В связи с этим цель нашей работы заключалась в оценке воздействия биопрепаратов на ферментативную активность ризосферы сахарной свеклы, а так же на показатели роста растений и содержание сахаристых веществ в корнеплодах.

Полевые опыты по изучению комплексов биопрепаратов проводили в условиях мелких делянок в СНО «Заря» (Октябрьский район г. Уфы). Характеристика почвы опытного поля: темно-серая лесная почва, pH – 5,1, Нг – 9,1 мг-экв./100 г почвы, содержание гумуса 5,56%, фосфора и калия 6,33 и 13,08 мг на 100 г почвы соответственно. Исследования проводили на сорте Кампай (ООО «АгроСем-Инвест», г. Краснодар). Площадь каждой учётной делянки 5м².

В испытания были включены биопрепараты Фитоспорин-М (содержит живые клетки и споры природной бактериальной культуры *Bacillus subtilis* 26 Д), Витаплан (содержит смесь штаммов *Bacillus subtilis*)), Альбит (комплексный препарат, содержащий очищенные действующие вещества из почвенных бактерий *Bacillus megaterium* и *Pseudomonas aureofaciens* и хвойный экстракт), а так же выделенный и описанный ранее [9] штамм *Bacillus subtilis* 12-2. Препараты вносили двукратно: в фазу 2-3 и 4-6 пар настоящих листьев. Биологическую активность в ризосфере сахарной свеклы оценивали по показателям ферментативной активности почвы. Активность каталазы определяли газометрическим методом, активность дегидрогеназы, полифенолоксидазы (ПФО), пероксидазы - спектрофотометрическим по методикам, описанным Ф.Х. Хазиевым [10]. В ходе эксперимента в течение вегетации трижды проводился отбор проб для анализов, приуроченный к обработке биопрепаратами и основным фазам развития растений.

Ферментативная активность почвы является отражением деятельности микроорганизмов, которые в большом количестве обитают в прикорневой зоне растений. Из ферментов, содержащихся в ризосфере, наиболее показательной является активность каталазы, так как именно она обеспечивается биотой почвы, осуществляет реакции разложения перекиси водорода на воду и кислород, привносит доступный активный

кислород микроорганизмам почвы, играет роль в кислородном балансе почвы. Обработка растений биопрепаратами приводила к повышению каталазной активности в ризосфере растений по отношению к контрольным образцам (Таб.1). Так, на момент сбора урожая в почве, на которой произрастали необработанные растений, она составила 1,99 мл O_2 на 1 г почвы в мин, в вариантах опыта с обработкой биопрепаратами - 2,14 - 2,43 мл. Причем, наиболее высокий показатель получен в варианте с применением Витаплана. Ферменты пероксидазы (ПО) осуществляют окисление органических веществ почв (фенолов, аминов, некоторых гетероциклических соединений) за счет кислорода перекиси водорода и других органических перекисей. Они выполняют защитную функцию, обезвреживая перекиси и разлагая ароматические ксенобиотики в почве, а также играют важную роль в процессе образования гумуса [11]. Отмечено, что двукратная обработка растений сахарной свеклы биопрепаратами Фитоспорин-М и Витаплан повышала активность пероксидазы в ризосфере в конце вегетации - в 2 и 1,6 раз соответственно.

Таблица 1. Активность ферментов в ризосфере сахарной свеклы при обработке растений биопрепаратами после 1-й обработки (09.07.2013), после 2-й обработки (20.07.2013) и на момент сбора урожая (14.09.2013)

Ферменты	Варианты опыта				
	Первая обработка				
	Контроль	Фитоспорин-М	Альбит	Витаплан	штамм 12-2
Каталаза (мл O_2 /г, 1мин)	0,78±0,04	1,36±0,006	0,6±0,036	1,16±0,08	0,84±0,041
ПО (мг 1,4-бензохинона/г, 30 мин)	0,48±0,02	0,72±0,051	0,82±0,005	0,73±0,05	0,47±0,003
ПФО (мг 1,4-бензохинона/г, 30 мин)	0,27±0,06	0,58±0,002	0,65±0,001	0,27±0,011	0,18±0,021
Дегидрогеназа (мг ТТФ/г, 24 ч)	0,77±0,04	0,58±0,01	0,72±0,021	0,56±0,025	0,77±0,015
Протеаза (мг глицина/г, 24 ч)	0,074±0,001	0,072±0,003	0,073±0,004	0,078±0,003	0,078±0,002
Уреаза (NH ₄ /г, 24 ч)	0,058±0,001	0,05±0,002	0,067±0,004	0,087±0,002	0,057±0,012
Ферменты	Вторая обработка				
	Вторая обработка				
	Вторая обработка				
Каталаза (мл O_2 /г, 1мин)	1,25±0,052	2,01±0,032	2,17±0,017	1,81±0,035	1,25±0,06
ПО (мг 1,4-бензохинона/г, 30 мин)	0,57±0,032	0,98±0,051	0,88±0,06	0,65±0,018	0,46±0,045
ПФО (мг 1,4-бензохинона/г, 30 мин)	0,38±0,042	0,83±0,062	0,54±0,034	0,48±0,022	0,47±0,058
Дегидрогеназа (мг ТТФ/г, 24 ч)	2,22±0,032	1,32±0,03	1,98±0,03	1,36±0,012	2,14±0,05
Протеаза (мг глицина/г, 24 ч)	0,023±0,003	0,015±0,001	0,035±0,002	0,038±0,001	0,042±0,003
Уреаза (NH ₄ /г, 24 ч)	0,075±0,003	0,097±0,001	0,096±0,003	0,09±0,002	0,065±0,006
Ферменты	Сбор урожая				
	Сбор урожая				
	Сбор урожая				
Каталаза (мл O_2 /г, 1мин)	1,99±0,02	2,14±0,01	2,22±0,03	2,43±0,01	2,2±0,02
ПО (мг 1,4-бензохинона/г, 30 мин)	0,36±0,002	0,731±0,01	0,37±0,003	0,589±0,01	0,41±0,002
ПФО (мг 1,4-бензохинона/г, 30 мин)	0,45±0,002	0,378±0,002	0,328±0,004	0,469±0,004	0,339±0,003
Дегидрогеназа (мг ТТФ/г, 24 ч)	0,316±0,002	0,199±0,001	0,226±0,001	0,336±0,006	0,22±0,002
Уреаза (NH ₄ /г, 24 ч)	0,017±0,001	0,013±0,002	0,048±0,001	0,039±0,001	0,047±0,001

Полифенолоксидаза (ПФО) играет большую роль в превращении органических соединений ароматического ряда в компоненты гумуса, а

активность фермента служит показателем интенсивности окислительных процессов в почве. Дегидрогеназы характеризуют общую метаболическую активность почвенной микрофлоры и способность почвы к самоочищению [12], а так же адекватно отражают функциональное состояние микрофлоры при загрязнении почвы пестицидами. Внесение биопрепаратов не оказало существенного влияния на активность дегидрогеназы и полифенолоксидазы. Однако обработка растений биопрепаратами не подавляла активность этих ферментов.

Изучение протеолитической и уреазной активности почвы важно, поскольку связано с вопросами биологического кругооборота азота, что определяет в значительной мере почвенное плодородие, а также с разработкой мероприятий по рациональному использованию органических и минеральных удобрений. При этом протеазы участвуют в метаболизме азота в почве и динамике усвояемых форм азота. Однократная обработка растений сахарной свеклы биопрепаратами существенного влияния на протеолитическую активность не оказала. Двукратная обработка растений штаммом *Bacillus subtilis* 12-2, Витапланом и Альбитом способствовали повышению активности фермента в ризосфере корней сахарной свеклы в 1,8, 1,65 и 1,5 раза соответственно по сравнению с контролем.

С действием уреазы связаны процессы гидролиза и превращения мочевины в доступную форму азота для питания растений. Кроме того, активность уреазы является одним из наиболее отзывчивых показателей, реагирующих на стрессовую ситуацию в почве. После первой обработки препаратом Витаплан активность уреазы увеличилась в 1,5 раза, в остальных вариантах оставалась на уровне контроля. Повторная обработка препаратами способствовала росту активности фермента во всех вариантах опыта, кроме варианта штамм *Bacillus subtilis* 12-2, где уровень активности оставался на уровне контроля. Известно, что уреазы положительно реагируют на внесение удобрений, по-видимому, этим и объясняется некоторое увеличение активности фермента и в контрольном варианте.

Применение ряда препаратов совместно с пестицидами позволяет преодолеть негативный эффект некоторых из них за счет активации в растениях неспецифических защитных реакций и биологической коррекции метаболизма растений [13]. Высокая антидотная активность препаратов с иммуно- и ростстимулирующими свойствами может компенсировать недостаточные фунгистатические эффекты, вследствие этого основным критерием их положительного действия должен служить

показатель повышения продуктивности культуры [14].

Фенологические наблюдения за ростом и развитием сахарной свеклы в течение всего вегетационного периода показали, что обработки биопрепаратами способствовали увеличению средней массы растений на 80,2-280,2 г и средней массы корнеплодов на 17-133,6 г (таб. 2). Наибольшая средняя масса корнеплода была получена при двукратной обработки Витапланом и составила 242,4 г (в то время как в контрольном варианте показатель установился на уровне 108,8 г).

Таблица 2. Изменение ростовых параметров сахарной свеклы при обработке растений биопрепаратами: после двух обработок и на момент сбора урожая

Варианты опыта	Первая обработка		Вторая обработка		Сбор урожая	
	Ср. масса растения, г	Ср. масса корнеплода, г	Ср. масса растения, г	Ср. масса корнеплода, г	Ср. масса растения, г	Ср. масса корнеплода, г
Контроль	4,45±1,2	0,52±0,1	14,67±1,6	3,33±0,4	165,2±9,8	108,8±4,3
Альбит	9,96±2,5	1,61±0,6	40,94±9,3	18,9±4,9	245,4±15,5	125,8±7,3
Фитоспорин-М	6,11±1,1	0,92±0,2	27,96±4,2	10,42±2,3	304,8±45,4	171±25,4
Витаплан	11±2,9	1,8±0,6	36,72±9	14,12±3,9	445,4±37,6	242,4±20,5
штамм <i>Bacillus subtilis</i> 12-2	7,75±1,3	1,17±0,3	14,25±1,9	4,94±0,9	336,4±15,2	170,6±9

Сравнительное изучение динамики накопления сахаристых веществ в корнеплодах показало, что во всех вариантах опыта изменение показателей подчинялись общей закономерности, однако, темп накопления в разных вариантах различался. К уборке урожая содержание сахаристых веществ в корнеплодах на контрольных делянках составило 16,2%, в то время как в вариантах опыта в применении биопрепаратов параметр находилось в пределах 18,1-20,5%. Следует отметить, что наибольшая его величина получена при двукратной обработке посевов Альбитом.

Таким образом, полученные результаты согласуются с литературными данными о механизмах полезного действия микроорганизмов на растения [15,16]. Очевидно, под влиянием экзометаболитов, являющихся основной составляющей биопрепаратов, происходила стимуляция корневых выделений растений, активирующих окислительно-восстановительные и гидролитические процессы, происходящие с участием этих ферментов, тем самым, оптимизируя биохимические процессы, связанные с синтезом гумуса, формированием эффективного плодородия и улучшением питательного режима.

Литература

1. Плешков Б. П. Биохимия сельскохозяйственных растений. – 5-е изд., доп. и перераб. – М.: Агропромиздат, 1987. – 494 с
2. Сулейманов И. Ж. Влияние норм минеральных удобрений на потребление питательных веществ сахарной свеклы в онтогенезе / И. Ж. Сулейманов // Сахар, свекла. 2005. - №2. - С. 12,14.
3. Новикова И.И. Биологическое обоснование создания и применения полифункциональных биопрепаратов на основе микробов-антагонистов для фитосанитарной оптимизации агроэкосистем: Дис. Д-ра биол. Наук. СПб., 2005. 340 с.
4. Козлова Е.А. Биопрепараты в защите смородины черной // Вестник ОрелГАУ. 2012. №2. С. 73-75.
5. Мелентьев А.И. Аэробные спорообразующие бактерии *Bacillus Cohn* в агроэкосистемах. М.: Наука, 2005. 147с.
6. Beneduzi A., Ambrosini A., Passaglia L.M.P. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): Their potential as antagonists and biocontrol agents// Genetics and Molecular Biology. 2012, 35, 4 (suppl):1044-1051.
7. Berg G. Plant-microbe interactions promoting plant growth and health: perspectives for controlled use of microorganisms in agriculture // Appl. Microbiol. Biotechnol. 2009, 84:11-18.
8. Perez-Garcia A., Romero D., Vicente A. Plant protection and growth stimulation by microorganisms: biotechnological applications of Bacilli in agriculture// Cur. Opinion in Biotechnology. 2011. 22:187-193.
9. Lastochkina O.V., Il'yasova E. Yu., Shirokov A.V., Pusenkova L.I. Antifungal and growth stimulating activities of new *Bacillus subtilis* strains // Scientific enquiry in the contemporary world: theoretical basics and innovative approach. 2012. V. 1. P. 96-98.
10. Хазиев Ф.Х. Методы почвенной энзимологии. М.: Наука, 2005. – 252 с.
11. Звягинцев Д.Г., Бабьева И.П., Зенова Г.М.. Биология почв: Учебник.- 3-е изд., испр. и доп. – М.: Изд-во МГУ, 2005.- 445с.
12. Dick R. Soil enzyme activities as integrative indicators of soil health. In: Doran J, Jones, A., editor. Methods for assessing soil quality. Madison, Wisconsin: Soil Science Society of America, Inc.; 1996. p. 121-56.
13. Методические указания по комплексной оценке эффективности полифункционального действия препаратов-фитоактиваторов иммунитета и продуктивности. Рамонь: ВНИИЗР, 2009. 44 с.
14. Гилязетдинов Ш.Я., Нугуманов А.Х., Пусенкова Л.И. Эффективность антистрессовых препаратов и биофунгицидов в системе защиты сельскохозяйственных культур от неблагоприятных абиотических и

- биотических факторов. Уфа: Гилем, 2008. 372 с.
15. Завалин А.А. Биопрепараты, удобрения и урожай. М.: ВНИИА, 2005. 302 с.
 16. Крафт А.В. Влияние эффективных микроорганизмов на микробное сообщество чернозема выщелоченного и продуктивность сахарной свеклы: Дис....канд. с.-х. наук. Рамонь: ВНИИСС, 2004. 128 с.

ИНДУКЦИЯ И ХАРАКТЕРИСТИКА КАЛЛУСНОЙ КУЛЬТУРЫ *CATHARANTHUS ROSEUS*

Ионова Н.Э., Гафиятова Э.И., Гимадиева А.М., Гимадиева А.М.,
Каюмова И.Р.

Казанский (Приволжский) федеральный университет

Уникальный код статьи: 533d49b4410cf

Культивирование растений *in vitro* в виде каллусных и суспензионных культур является современным и перспективным подходом для создания сырьевой базы, используемой при получении физиологически активных веществ. Проблемы, связанные с импортозамещением, экономией площадей и затратами на тепличное оборудование, стандартизацией сырья и контролем его качества, возможно решить на основе выращивания растительных клеток в культуре и микроклонального размножения растений [1].

В список наиболее востребованных биологически активных веществ растительного происхождения, входят алкалоиды, обладающие противораковой активностью. Особый интерес представляют алкалоиды винбластин, винкристин, катарантин, аймалицин и виндолин, синтезируемые в растениях катарантуса розового (*Catharanthus roseus*) и широко используемые для комплексной терапии некоторых форм онкологических заболеваний и лечении диабета.

Цель настоящей работы состояла в оптимизации условий культивирования эксплантов катарантуса розового для сокращения сроков получения жизнеспособной каллусной и суспензионной культуры. В процессе работы проводилось исследование влияния факторов физической и химической природы на пассирование и эффективность каллусообразования эксплантами *Catharanthus roseus*.

Одной из задач настоящего исследования явилось получение стерильных растений *Catharanthus roseus* – источников эксплантов для получения каллуса. Для реализации данной задачи нами были использованы и реализованы два подхода: выращивание растений из семян и активация развития уже существующих в растении меристем. Показано, что процент всхожести семян катарантуса составил 30-40%, в то время как 80-90% междоузлий растения активно инициировали рост адвентивных побегов (Рис. 1).

Показано, что среда MS с концентрацией кинетина 3 мг/л является

оптимальной для данного процесса. Полученные пазушные побеги в дальнейшем использовались для микроклонального размножения растений катарантуса и в качестве эксплантов для каллусной культуры.

Следующим этапом нашей работы был подбор концентраций фитогормонов в среде для сокращения сроков инициации каллусогенеза. В ходе экспериментов было протестировано 15 вариантов среды Мурасиге-Скуга с различным содержанием фитогормонов и высажено 390 эксплантов. Процент гибели эксплантов составил от 12 до 100 % и не зависел от химического состава среды, а лишь от степени стерильности и заражаемости эксплантов микроорганизмами. В среднем по всем опытам процент гибели эксплантов составил около 60 %, процент выживших - 38,5% и лишь 20 % эксплантов дали начало каллусам. Было установлено, что среда культивирования, содержащая 2.4Д в качестве источника ауксинов способствует сокращению сроков каллусообразования и наиболее эффективному каллусогенезуэксплантов (Табл. 1).

Таблица 1. Эффективность инициации каллусогенеза и выживаемости эксплантов в зависимости от концентрации фитогормонов в среде выращивания

	Соотношение концентраций фитогормонов														
	2,4Д/кинетин, мг/л									ИУК/кинетин, мг/л			НУК/кинетин, мг/л		
	2/1	3/2	4/2	6/2	6/4	6/6	9/6	10/6	26/6	2/1	6/4	10/6	2/1	6/4	10/6
Число посаженных эксплантов, шт	56	101	76	74	16	10	10	16	10	5	5	5	5	5	5
Число эксплантов, шт															
погибших	7	36	76	74	10	1	2	12	6	5	4	5	5	2	4
выживших	49	65	-	-	6	9	8	4	4	-	1	-	-	3	1
давших каллус	11	-	-	-	4	4	8	2	0	-	0	-	-	1	-
Эффективность каллусогенеза, %															
	22	0	0	0	67	44	100	50	0	0	0	0	0	33	0

Еще один этап наших работ состоял в получении микроклоновКатарантусарозового. В связи с этим полученные адвентивные побеги на стадии появления первых двух листьев пересаживали на среду для укоренения, содержащую 2.4Д в концентрации 3 мг/л на фоне полного исключения из среды культивирования кинетина. Однако данная среда не способствовала

образованию корней у микроклонов. Показано, что данные пропорции фитогормонов инициируют каллусогенез у пересаженных побегов за более короткий временной промежуток чем у эксплантов отобранных с взрослых растений катарантуса. Наряду с этим, сформированные каллусы характеризовались большей рыхлостью и оводненностью клеток, что позволило использовать их для перевода в суспензионную культуру (рис. 2).

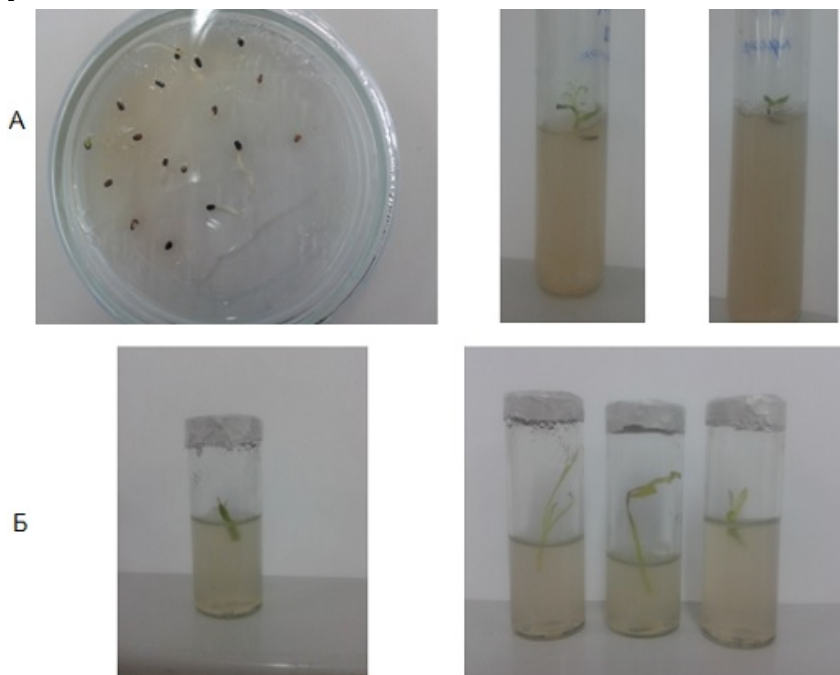


Рис. 1. Рост стерильных растений из семян (А) и адвентивных побегов (Б) из стеблевых эксплантов *Catharanthus roseus*.

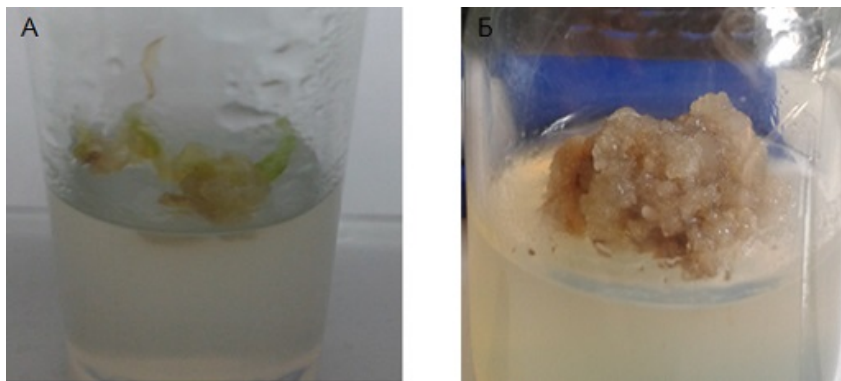


Рис. 2. Каллусная ткань сформированная из разных по эксплантов Катарантуса розового (А - адвентивные побеги микроклонов; Б - листовой эксплант взрослого растения).

Литература

1. Юрин В.М. Физиолого-биохимические закономерности функционирования иммобилизованных растительных клеток // Труды БГУ - 2012. Том 7, часть 1. - С. 84-98.

ЭБИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫЕ ВЕЩЕСТВА ЧИСТОТЕЛЯ БОЛЬШОГО СНИЖАЮТ НЕГАТИВНЫЕ ЭФФЕКТЫ ЗАРАЖЕНИЯ ПРОРОСТКОВ ПШЕНИЦЫ НЕСПЕЦИФИЧЕСКИМ ПАТОГЕНОМ

Камалиева Р.Ф., Абдрахимова Й.Р., Багаева Т.В.

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань,
Институт физиологии растений им. К. А. Тимирязева РАН, Москва

Уникальный код статьи: 5315b50d3603b

В настоящее время необходимы новые подходы в поиске экологически безопасных средств защиты растений от возбудителей заболеваний, что показано, например, для алкалоидов люпина, обладавших выраженным фунгицидным эффектом [1]. Ранее были показаны антимикробные свойства лекарственного растения *Chelidonium majus* L. [2], в частности бактерицидный эффект выделенных алкалоидов, выявленный нами как снижение более чем на 50% выживаемости бактерий тест-систем [3]. Целью настоящей работы явилось изучение влияния различных концентраций сока *Ch.majus* на всхожесть семян и рост проростков пшеницы при инфицировании их неспецифическим фитопатогеном *Aspergillus niger*.

В качестве объекта исследований использовали этиолированные проростки озимой пшеницы (*Triticum aestivum* L., с.Мироновская 808), которые выращивали в течение 5 суток при комнатной температуре на водопроводной воде (контроль, без заражения) или со спорами фитопатогенного гриба *A.niger* как описано в [4](опыт). Инфицирование фитопатогеном приводила к ингибированию всхожести семян и роста проростков на 3-и и 5-е сутки на 70% и 60%, соответственно (рис.1). Внесение высоких концентраций СЧ – 1:10 (10-тикратное разведение сока дист.водой) не повлияло на изучаемые процессы, тогда как обработка соком *Ch.majus* в разведении 1:100 повышала их почти на 30% по сравнению с опытными. Данный эффект был наиболее выражен при обработке соком *Ch.majus* в разведении 1:1000, который существенно нивелировал негативное влияние инфицирования как на 3-и, так и 5-е сутки, стимулируя всхожесть семян соответственно в 1.3 и в 2 раза по сравнению с опытными образцами (рис.1). Инфицирование подавляло ростовые процессы побегов проростков в большей степени, чем корней (рис.2). Сок *Ch.majus* в малом разведении (1:10) оказал дополнительное ингибирующее действие на фоне заражения грибом, снижая линейные

размеры побегов проростков, что приводило к торможению их роста. Использование СЧ в разведении 1:100 и 1:1000 практически полностью снимало негативный эффект инфицирования, а в последнем случае даже приводило к заметной стимуляции ростовых процессов корней (рис.2). Это могло быть связано с выделением *A.niger* в среду гормональных концентраций гиббереллиноподобных соединений [5], тогда как на фоне высоких концентрациях биологически активных веществ *Ch.majus*, в первую очередь, алкалоидов данный эффект не проявлялся (рис.2).

Таким образом, нами выявлены разнонаправленные эффекты экстрактов чистотела на ростовые процессы инфицированных проростков пшеницы, которые в зависимости от их концентрации варьировали от усиления рост-ингибирующего действия патогенных грибов до почти полного нивелирование негативного влияния патогенов на рост и развитие проростков.

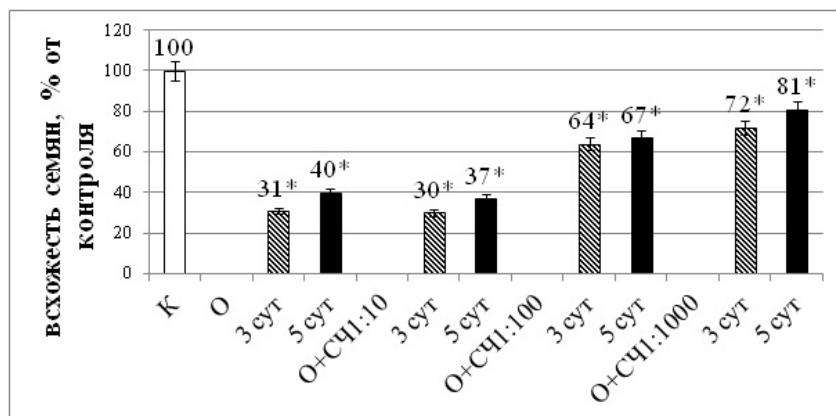


Рис. 1. Всхожесть семян, предварительно обработанных соком чистотела (СЧ) в разведениях СЧ 1:10, СЧ 1:100, СЧ 1:1000 через 3 и 5 суток после заражения неспецифическим фитопатогеном *Aspergillus niger*. Контроль (К) – без инфицирования (100%), опыт (О) – с инфицированием *- достоверно с контролем при $P \leq 0,05$.

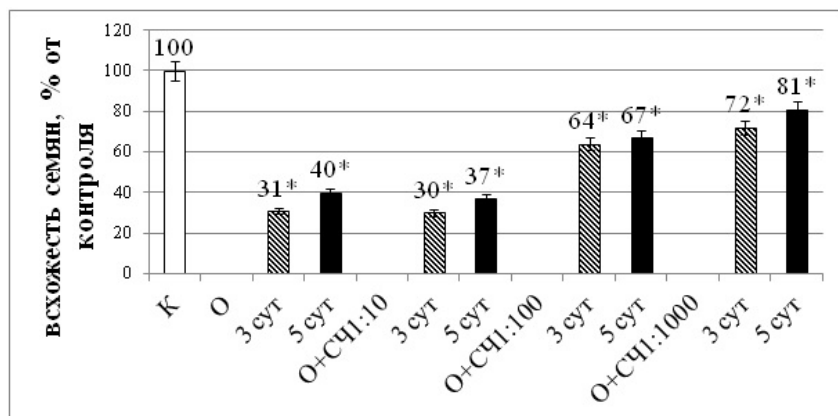


Рис. 2. Морфометрические показатели проростков, предварительно обработанных СЧ в разных разведениях. Обозначения те же, что и на рис.1.

Литература

1. Анохина В.С., Каминская Л.Н., Цибульская И.Ю. Алкалоиды люпина: их фунгицидные эффекты//Молекулярная и прикладная генетика. Т.8, 2008. С. 138-142
2. Then M. Effect of sample handling on alkaloid and mineral content of aqueous extracts of greater celadine (*Chelidonium majus* L.) // Journal of Chromatography, 2000. № 1. С. 69-74.
3. Камалиева Р.Ф., Абдрахимова Й.Р., Карамова Н.С. Антимутагенные эффекты лекарственных растений местной флоры//Инновационные разработки ученых - АПК России: материалы всероссийской научно-практической конференции. - Казань: Фолиант, 2013. С. 111-114.
4. Smirnov A.N., Antonenko V.V., Zolfaghary A., Al-Saadi N.S., Mamonov A.G., Kondratyeva G.V., Ignatenkova A.A., Shishuryak M.A. Effectiveness of fungicide-free approaches to protection of potato and tomato against late blight // Matica Srpska Proceedings for natural sciences, 2011. № 120. P. 137-146.
5. Rademacher W. Gibberellin formation in microorganisms. Plant Growth Regul 1994, 15: 303-314.

ЭЛИМИНАЦИЯ ЦИТОМЕГАЛОВИРУСА У БОЛЬНЫХ ЯЗВЕННЫМ КОЛИТОМ БЕЗ ПРОВЕДЕНИЯ ПРОТИВОВИРУСНОЙ ТЕРАПИИ

Князев О.В., Шахпазян К.Н., Коноплянников А.Г., Болдырева О.Н.,
Ручкина И.Н., Чурикова А.А., Астрелина Т.А.

Московский клинический научно-практический центр Департамента
здравоохранения Москвы,
Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина,
Медицинский радиологический научный центр МЗиСР,
Банк стволовых клеток Департамента здравоохранения Москвы

Уникальный код статьи: 5317f6c6c94fd

Известно, что иммуносупрессивная терапия повышает риск развития инфекционных осложнений и активации оппортунистической инфекции у больных воспалительными заболеваниями кишечника. Накопленные на сегодняшний день данные показывают, что, несмотря на выраженный иммуносупрессивный эффект, мезенхимальные стромальные клетки (МСК) не подавляют функциональную активность иммунокомпетентных клеток против инфекционных агентов.

Цель: выявить связь между наличием цитомегаловируса и гормонозависимостью/гормонорезистентностью у больных язвенным колитом. Оценить влияние МСК на уровень цитомегаловируса (ЦВМ) у больных язвенным колитом (ЯК). Материал и методы. Обследован 31 больной с хроническим течением ЯК, из них 13 – гормонозависимой и/или гормонорезистентной формами (1 группа), 18 – без гормонозависимости и гормонорезистентности (2 группа). Выявление ДНК вирусов Эпштейн-Барр, цитомегаловируса и герпеса 6 типа в биообразцах проводилось методом мультиплексной ПЦР в режиме реального времени. Для выделения ДНК из биообразцов и проведения ПЦР использовались наборы производства ФБУН «ЦНИИ эпидемиологии» Роспотребнадзора "ДНК-сорб-В" и "АмплиСенс EBV/CMV/HHV6-скрин-FL" соответственно. ПЦР с детекцией продуктов амплификации в режиме реального времени проводилась на термоциклере "RotorGen 3000" (Corbet, Австралия). Условия амплификации (количество циклов, температурный режим, параметры детекции продуктов амплификации) и интерпретация данных проведены согласно инструкции и методическим рекомендациям к наборам реагентов.

Результаты. Установлено, что ЦМВ значительно чаще выявлялся в группе больных с гормонозависимой и/или гормонорезистентной формами: у 9 больных (69,2%) 1-й группы против 5 больных (27,8%) 2-й группы (ОР- 2,49; 95% ДИ 1,09-5,71, χ^2 - 3,7; $p=0,05$). Средний уровень копий ДНК ЦМВ у больных первой группы составил $0,86 \pm 0,12$ Lg/105 клеток, во второй группе - $0,35 \pm 0,15$ Lg/105 клеток ($p < 0,05$). 10 больным из первой группы было введено 150 млн МСК. Через 4 недели после введения МСК, у 6 больных без проведения противовирусной терапии ЦМВ методом ПЦР не определялся. Средний уровень вирусной нагрузки у больных первой группы после введения МСК достоверно снизился и составил $0,24 \pm 0,1$ Lg/105 клеток ($p < 0,05$). Из 18 больных второй группы МСК вводили 12 больным. Через 4 недели после введения МСК у 3 больных без проведения противовирусной терапии ЦМВ методом ПЦР не определялся. Элиминация ЦМВ не зависела от наличия или отсутствия гормонозависимости и/или гормонорезистентности у больных ЯК (ОР- 0,83; 95% ДИ 0,2-3,44, χ^2 - 0,11; $p=0,74$).

Выводы. Цитомегаловирус наиболее часто встречается у больных с гормонозависимой и/или гормонорезистентной формами язвенного колита. Введение культуры МСК способствовало элиминации ЦМВ без проведения противовирусной терапии у больных, как с гормонозависимой и/или гормонорезистентной формами язвенного колита, так и без гормонозависимости/гормонорезистентности.

ВЛИЯНИЕ РАЗНОГО СВЕТОВОГО СПЕКТРА НА БИОСИНТЕЗ ВТОРИЧНЫХ МЕТАБОЛИТОВ МИКРОМИЦЕТА FUZARIUMEQUISETI

Кобелев А.В., Багаева Т.В., Галкина Л.А.

Казанский (Приволжский) федеральный университет

Уникальный код статьи: 533e8ef90f992

Вторичные метаболиты находят широкое применение в медицине, сельском хозяйстве и химической промышленности. Основными источниками данных соединений являются растения. Однако, в условиях быстро возрастающего спроса, ведется поиск новых продуцентов и новых соединений.

В качестве перспективных продуцентов биологически активных соединений, выступают микроорганизмы. Среди них особое внимание уделяется микромицетам. Так, в работах Желифоновой с соавторами (2009) было проведено обследование нескольких изолятов грибов рода *Penicillium*, выделенных из многолетней мерзлоты. Среди вторичных метаболитов были выделены эргоалкалоиды клавинового ряда, фумигаклавины, фестуклавин, и охратоксины [1]. Перспективными источниками уникальных химических соединений, с разнообразной биологической активностью, являются микромицеты, выделенные из морской среды, а именно с поверхности водорослей [2]. Кроме того, имеются данные об исследовании микромицетов рода *Fusarium* и *Aspergillus* [3]. Тем не менее, исследований по изучению разнообразных видов мицелиальных грибов, было проведено значительно меньше, чем, например, растительных организмов, несмотря на то, что многие из них обладают данным метаболизмом. С другой стороны, ранее нами было показано влияние разного светового спектра на рост микромицетов [4]. Можно было предположить, что его действие может оказывать влияние и на метаболизм микромицетов, в том числе, на синтез вторичных метаболитов.

Целью настоящей работы являлось исследование разного светового спектра на биосинтез вторичных метаболитов микромицета *Fuzariumequiseti*.

Fuzariumequiseti был ранее выделен из почвенного образца Республики Татарстан [5]. Для посева микромицетов использовали трех суточную культуру, выращенную на твердой питательной среде Чапека

до начала стационарной фазы роста популяции. Опыты проводили на жидкой питательной среде Чапека, в колбах объемом 50 мл, при температуре 20°C. Для изучения действия света различного спектра, колбы размещали в трех свето-изолированных блоках: 1-й - белый свет (источник освещения люминесцентные лампы ЛДС - 40), 2-й - синий свет (источник - люминесцентные лампы ЛГ - 40, область действия 420 - 460 нм), 3-й - красный свет (источник люминесцентные лампы ЛК - 40, область действия 620 - 640 нм). Контролем служила культура микромицета, выращиваемая в темноте.

Результаты исследований роста микромицета *Fuzariumequiseti* при действии разного светового спектра показали, что микроорганизм наиболее интенсивно рос при действии красного света (Рис.1). Прирост биомассы был на 76 % процента выше, чем в темноте (контроль). Белый и синий свет также стимулировали рост микроорганизма, но значительно в меньшем количестве.

Собранную биомассу микромицетов использовали для проведения качественных реакций на определение ряда известных вторичных метаболитов (табл.1). В работе использовали стандартные методы [6].

Таблица 1. Исследуемые вещества микромицета *Fuzariumequiseti*

Вещества	Темнота	Белый свет	Синий свет	Красный свет
Антрацен.производ	-	-	-	-
Арбутин	-	-	-	-
Дубильные.в-ва	+	+	+	+
Кумарины	-	-	-	-
Сапонины	-	-	-	-
Флавоноиды	-	+	+	-

Результаты исследований показали, что, у микромицета *Fuzariumequiseti*, из 6 исследуемых веществ, найдено только 2 - дубильные вещества и флавоноиды. Причем, если дубильные вещества были обнаружены при действии всех световых спектров, то качественная реакция на флавоноиды была обнаружена только на белом и синем свете. Красный свет, по-видимому, отрицательно влияет на их синтез.

Количественное определение дубильных веществ и флавоноидов показало, что разные световые спектры, по-разному влияют на синтез дубильных веществ (табл.2). Если синий свет снижает синтез дубильных веществ в 1,5 раза относительно контроля, то красный незначительно (в 1,2 раза) увеличивает их количество. Наиболее значимый вариант связан с действием белого света. Прирост дубильных веществ в данных

условиях превышает контрольный вариант в 4-5 раз.

Количество флавоноидов в наших экспериментах было незначительным, и составляло в среднем не более 0,006 мг/г. Однако было отмечено, что разный свет, по-разному влияет на синтез флавоноидов.

Таблица 2. Количественное определение содержания дубильных веществ и флавоноидов (мг / г. сух.в-ва).

№	темн.свет	бел.свет	син.свет	к ас.свет
Дубильные.в-ва	0,55 ± 0,045	2,61 ± 0,80	0,36 ± 0,027	0,64 ± 0,051
Флавоноиды	0	0,006 ± 0,0001	0,00118 ± 0,0001	0

Таким образом, было показано, что разные световые спектры, оказывают разное влияние на синтез вторичных метаболитов. Установленное значительное увеличение количества дубильных веществ (в 4-5 раз) на белом свете, свидетельствует о возможности регулирования светом процесса синтеза вторичных метаболитов у микромицетов. Синтез вторичных метаболитов у микромицета у *Fuzariumequiseti* не связан с ростовым процессом, так как наибольший прирост биомассы микроорганизма наблюдается на красном свете.

Полученные результаты могут быть использованы для разработки дальнейших механизмов увеличения биосинтеза вторичных метаболитов в биотехнологических процессах, так как в настоящее время культивирование микромицетов проводятся в закрытых ферментерах или термостатах без источника света.

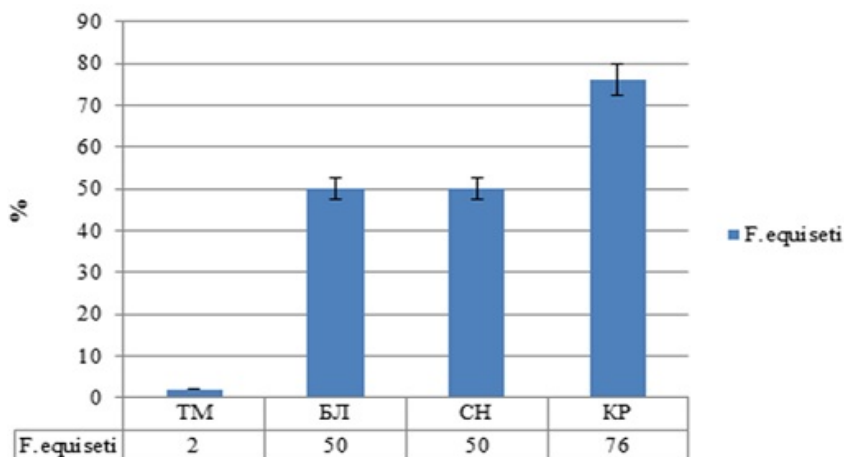


Рис. 1. Рост *Fuzariumequiseti* при разных спектрах света (7 сутки)

Литература

1. Желифонова, В.П. Вторичные метаболиты грибов рода *Penicillium*, выделенных из многолетней мерзлоты, как хемотаксономические маркеры [Текст] / В.П. Желифонова, Т.В. Антипова, С.М. Озерская, Г.А. Кочкина, А.Г. Козловский // Микробиология. - 2009. - № 3. - С.2-6.
2. Blant J, Copp B, Munro M, Northcote P, Prinsep M. Marine natural products [Text] // Nat. Prod. Rep. - 2004. - V. 21. - P. 1-49.
3. Aguilar C, Rodriguez R, Gutierrez-Sanchez G. Microbial tannases: advances and perspectives [Text] // Applied Microbiology and Biotechnology. - 2007. - V. 76, № 1. - P. 47-59.
4. Кобелев, А.В. Влияние разного светового спектра на рост дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* [Текст] / А.В. Кобелев, Т.В. Багаева // II Международная интернет-конференция "Биотехнология: взгляд в будущее": Сб. трудов изд-во "Казанский университет". - Казань. - 2013. - С.148.
5. Габитов, Р.А. Выявление и идентификация скрытой инфекции картофеля [Текст] / Р.А. Габитов, Р.Т. Мухаметшина, Э.А. Кабрера Фуентес, Т.В. Багаева // Ученые записки Казанского университета: Естественные науки. - 2012. - Т. 154, кн 2. - С.98.
6. Абдрахимова, Й.С. Летняя практика по лекарственным растениям: Учебно-методическое пособие [Текст] / Й.С. Абдрахимова // Казань: Издательство «УНИПРЕСС». - 2002. - С.31.

МОДИФИКАЦИЯ ЛИПОСОМ НА ОСНОВЕ ЛИПОПЕПТИДОВ ПРОИЗВОДНЫМИ ПРИРОДНЫХ ПОЛИСАХАРИДОВ

Колоскова О.О., Буданова У.А., Гурьева Л.Ю., Себякин Ю.Л.

МИТХТ им. М.В. Ломоносова

Уникальный код статьи: 5328094929e1a

Существует проблема захвата липосомальных транспортных систем клетками ретикулоэндотелиальной системы (РЭС) и быстрый вывод их из кровотока. Во избежание этого эффекта частицы «покрывают» гидрофильной полимерной оболочкой, препятствующей опсонизации и захвату РЭС. Использование в качестве полимеров для модификации липосом полисахаридов является перспективным направлением исследований в данной области.

Полисахариды обладают хорошей биосовместимостью, низкой иммуногенностью и уменьшенной цитотоксичностью по сравнению с другими полимерами. Кроме того, разработка модифицированных транспортных систем предлагаемыми полисахаридами позволит улучшить проникновение агрегатов в клетку путем рецептор-опосредованного эндоцитоза.

Нами разработаны схемы получения и синтезированы производные хитозана и гиалуроновой кислоты, содержащие в своём составе одну или две гидрофобные углеводородные цепи. Одна цепь вводилась с помощью образования амидной связи со стеариновой кислотой в присутствии дициклогексилкарбодиимида. Двухцепочечное производное хитозана получали действием на него диэфиром глутаминовой кислоты, модифицированным по аминогруппе остатком янтарной кислоты со свободной карбоксильной группой. Диэфир глутаминовой кислоты – это основа полученных нами ранее липопептидов, из которых формируются липосомы.

Образованы липосомы на основе липопептидов, модифицированные хитозаном и гиалуроновой кислоты. Изучены свойства сформированных агрегатов, определён размер и стабильность полученных частиц.

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 13-04-00841).

ВЛИЯНИЕ МУЗЫКАЛЬНЫХ ЗВУКОВЫХ КОЛЕБАНИЙ НА НАДОИ КОРОВ ГОЛШТИНСКОЙ ПОРОДЫ

Кондратьева Н.П., Марков Д.А., Кондратьев Р.Г.

ФГБОУ ВПО Ижевская ГСХА

Уникальный код статьи: 532445651a4a4

Исследования специальной литературы показывает положительное влияние классической музыки на увеличение надоев у коров, под воздействием же рок-музыки надой резко снижаются. Растения и животные предпочитают гармоничную музыку. Например, дельфины с удовольствием слушают музыку Баха. Акулы также собираются со всего океанского побережья, услышав классическую музыку. Под звуки современной ритмичной музыки коровы ложатся и отказываются есть [1, 2, 3]/

По данным Гончарова А. низкий бета-ритм частотой 15 Гц интенсифицирует нормальное состояние бодрствующего сознания. Высокий бета - ритм частотой 30 Гц вызывает состояние, сходное с тем, которое возникает после употребления кокаина. Альфа-ритм частотой 10,5 Гц вызывает состояние глубокой релаксации. По ряду предварительных данных в этом состоянии мозг производит большое количество нейро-пептидов, повышающих иммунитет. Тета - ритм частотой 7,5 Гц способствует возникновению состояния, характерного для глубокой медитации. При низком тета - ритме частотой 4 Гц возникает иногда переживание, получившее в литературе название "путешествие вне тела". При частотах ниже 4 Гц возникает сильное стремление заснуть, трудность сохранения бодрствующего сознания [4, 5, 6].

Нами были проведены эксперименты на базе Учебно-опытного хозяйства «Июльское». Изучалось влияние произведений П.И. Чайковского, А. Моцарта, индийской музыки и скрипки на удои коров Голштинской породы. Исследования проводились на 10-ти коровах ежедневно в течение месяца во время утренней, дневной и вечерней дойки. Музыка включалась на 1,5 часа во время доения коров утром, днем и вечером. Нами использовался музыкальный центр LG FFH-2000K, расположенный на расстоянии 2 м от коров. Уровень громкости составлял 70...75Дб и измерялся прибором Октава-110А. Контрольная дойка во всех опытах осуществлялась прибором марки Delaval.

Полученные результаты показаны в табл. 1.

Таблица 1. Среднее значение надоев молока от 10 коров за одни сутки

Контроль	Чайковский1	Скрипка	Индия	Моцарт
литры				
191,10	204,10	204,90	207,70	226,30
проценты				
100,00%	106,80%	107,22%	108,69%	118,42%

Из рис. 1 видно, что наилучший результат получения при использовании музыки А. Моцарта. В этом случае получено больше молока на 18,4% больше, чем в контроле.

Литература

1. В. Кирсанов, Ю. А. Симарев, Р. Ф. Филонов «Механизация и автоматизация животноводства»; Академия, 2004 г. 20с.
2. Голиков А.Н. Адаптация сельскохозяйственных животных, изд. Агропромиздат, 1995г. 76с.
3. Электронный источник <http://www.liveinternet.ru/users/1758119/post62010904>
4. Электронный источник http://www.skolas.lv/lv/r10vs/Macibu_materiali/Mcbu%20materili%20skolnieki/Inga%20Muhina/index.html
5. Электронный источник <http://www.sunhome.ru/psychology/15190/p1>

ИНТЕНСИФИКАЦИЯ ПРОЦЕССА СТЕРИЛИЗУЮЩЕЙ ФИЛЬТРАЦИИ ХОЛЕРОГЕНА-АНАТОКСИНА

Комиссаров А.В., Перепелица А.И., Еремин С.А., Васин Ю.Г.,
Ульянов А.Ю., Никифоров А.К.

ФКУЗ Российский научно-исследовательский противочумный институт
“Микроб”, Саратов

Уникальный код статьи: 531193ce0a8c9

Одним из основных компонентов российской коммерческой холерной вакцины является холероген-анатоксин. Его стерилизация перед сублимационным высушиванием осуществляется фильтрацией через мембраны с размером пор 0,2 мкм. Перед выполнением данной процедуры производится освобождение холероген-анатоксина от балластных водонерастворимых примесей путем его двукратного сепарирования. Данная технологическая операция является довольно длительным процессом. Так обработка 30 дм³ проходит за 20-24 ч.

Для замены процедуры двукратного сепарирования нами предложен технологический прием, заключающийся в осветлении белкового раствора холероген-анатоксина путем его тангенциальной фильтрации. В экспериментах использовалась мембрана с размером пор 0,45 мкм (площадь фильтрации 0,1 м²), снаряженная в фильтродержатель АСФ-009 (Владисарт, Россия).

Продолжительность осветления составила от 6 до 2 ч (при обрабатываемых объемах от 30 до 10 дм³). Качественно-количественные характеристики холероген-анатоксина соответствовали нормируемым требованиям и не отличались от таковых, полученных при выполнении процедуры двукратного сепарирования.

Данные проведенных исследований позволяют сделать вывод о целесообразности внедрения предложенного технологического приема в производство холерной вакцины.

УРОКИНАЗА - СОВРЕМЕННЫЙ ПРЕПАРАТ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ДИАБЕТИЧЕСКОЙ СТОПЫ С КРИТИЧЕСКОЙ ИШЕМИЕЙ

Коротких А.В., Нужных А.В., Кузин В.И., Бабаев А.А., Андреев Н.И.

ККБ №1 г. Хабаровск

Уникальный код статьи: 531d67ca82667

Синдром диабетической стопы является многофакторным заболеванием, причинами которого являются нейрогенные, сосудистые, гемореологические, механические и метаболические факторы, осложняющиеся пониженными иммунными реакциями и подверженностью инфекциям. Синдром диабетической стопы является самой распространенной причиной нетравматических ампутаций нижних конечностей в мире. У пациентов с диабетом 2 типа с ангиопатическим или ангионевропатическим синдромом стопы не всегда бывает возможным проведение реваскуляризации, что приводит к развитию осложнений, вызванных главным образом поражениями периферических сосудов. Несмотря на такие широкие возможности современного здравоохранения как антибактериальная терапия, эндоваскулярная реваскуляризация, применение вазодилататоров, улучшение контроля сахара в крови и иммобилизация, риск большой ампутации у пациентов остается все еще очень высоким. Применение урокиназы эффективно улучшает микроциркуляцию у пациентов с сахарным диабетом и заболеваниями периферических артерий III и IV стадиями по Фонтейну-Покровскому.

Цель: Исследование эффективности и безопасности болюсного внутриартериального введения урокиназы при лечении диабетической стопы с критической ишемией.

Материалы и методы: С 1 октября 2013 года по 28 февраля 2014 года на базе отделения сосудистой хирургии КГБУЗ ККБ №1 г. Хабаровска было пролечено 10 пациентов с наличием диабетической стопы и критической ишемии (100% - болевой синдром в покое, 50% - характерные для сахарного диабета трофические язвы на стопе и/или голени). По данным ультразвукового исследования с цветовым доплеровским картированием у девяти пациентов было значимое окклюзионно-стенотическое поражение интересующей нижней конечности от уровня подколенной артерии и ниже, у одной пациентки - окклюзионное поражение от устья поверхностной бедренной артерии и

ниже. Критерии включения пациентов: пациенты (в возрасте старше 18 лет) с ангио- или ангионевропатическими диабетическими поражениями стопы, критической ишемией конечностей, и не проходящие на момент наблюдения хирургическое или эндоваскулярное лечение. Критериями исключения являлись возможность проведения сосудистой хирургии или ангиопластики, креатинин $> 180 \mu\text{M}$, любой тип церебрального явления менее чем за три месяца до проведения процедуры, неконтролируемая гипертония, геморрагический диатез, желудочно-кишечное кровотечение или наличие значимого язвенного поражения желудка и двенадцатиперстной кишки по данным фиброгастродуоденоскопии, потребность в пероральной антикоагуляции, психические болезни. Урокиназа вводилась ежедневно в течение 5 дней трансфеморальным артериальным доступом в дозировке 100.000 МЕ. Лечение проводилось под контролем показателей свертывающей системы крови. Текущее лечение инсулином, пероральными антидиабетическими агентами, антибиотиками и другими препаратами продолжалось в течение периода нахождения в стационаре.

Результаты: Все 10 пациентов прошли полный курс лечения урокиназой. Пациенты наблюдались в течение всего периода нахождения в стационаре и месяц после выписки. Осложнений, связанных с введенным препаратом, не было. Болевой синдром купировался в 100% наблюдений (3 пациента после третьей процедуры, 4 - после четвертой, 3 - после проведения всего курса). В течение месяца наблюдения болевой синдром возобновился в одном случае. Дистанция без болевой ходьбы увеличилась в 100% наблюдений. Стадия хронической ишемии нижних конечностей снизилась до уровня IA-IIA у 9 из 10 пациентов. В одном случае нельзя объективно судить о дистанции без болевой ходьбы в связи с ампутированной второй нижней конечностью на уровне нижней трети голени. Уменьшение воспалительных явлений и заживление трофических язв было в 100% наблюдений. Одна пациентка (с высоким окклюзионным поражением) поступила через два месяца после курса лечения с возобновлением болевого синдрома и вновь открывшимися трофическими язвами. Ей был проведен повторный курс внутриартериального введения урокиназы. Пациентка была выписана с регрессом болевого синдрома. Однако через полтора месяца поступила вновь с возобновлением симптомов. В связи с тяжелым течением диабета и недлительной эффективностью консервативной терапии ей выполнили ампутацию на уровне верхней трети голени с дальнейшей возможностью протезирования, т.е. на фоне проведенного лечения удалось избежать высокой ампутации.

Выводы: Лечение урокиназой диабетических пациентов с синдромом диабетической стопы и критической ишемией конечностей осуществимо и безопасно, и представляется эффективным. Полученные данные крайне важны для клинической практики, потому как позволяют решить проблему болевого синдрома, заживления трофических язв и избежать большой ампутации. Данная методика будет предметом дальнейшего наблюдения и исследования для подобных пациентов, а также пациентов других клинических групп.

Литература

1. Beckman JA, Goldfine AB, Gordon MB, Creager MA: Ascorbate restores endothelium-dependent vasodilation impaired by acute hyperglycemia in humans. *Circulation* 2001; 103: P. 1618-1623.
2. Ceriello A. New Insights on Oxidative Stress and Diabetic Complications May Lead to a «Causal» Antioxidant Therapy *Diabetes Care* 2003; 26: P. 1589-1596.
3. Cai H, Harrison DG: Endothelial dysfunction in cardiovascular disease: the role of oxidant stress. *Circ Res* 2000; 87:840-844.
4. Ceriello A, Morocutti A, Mercuri L, Quagliaro L, Moro M, Damante G, Viberti GC: Defective intracellular antioxidant enzyme production in type 1 diabetic patients with nephropathy. *Diabetes* 2000; 49: P. 2170-2177.
5. Ford E. S., Mokdad A. H., Giles W. H., Brown D. W. The Metabolic Syndrome and Antioxidant Concentrations *Diabetes* 2003; 52: P. 2346-2352.
6. Jordan C., Schramm T. D., Aristidis V. Microvascular Changes in the Diabetic Foot *International Journal of Lower Extremity Wounds* 2006; 5; P. 149-159.
7. Korzon-Burakowska A., Edmonds M Role of the Microcirculation in Diabetic Foot Ulceration *International Journal of Lower Extremity Wounds* 2006; 5; P. 144-148.
8. Praetorius F, Grosser KD, Huhmann W, et al. Intravenous recombinant tissue plasminogen activator (rt-PA) and urokinase in acute myocardial infarction: results of the German Activator Urokinase Study (GAUS). *J Am Coll Cardiol.* 1988. 12: 581-587.

**РАЗРАБОТКА СИСТЕМ МУЛЬТИПЛЕКСНОЙ ПЦР ДЛЯ
ИДЕНТИФИКАЦИИ ГЕНОВ УСТОЙЧИВОСТИ К *MAGNAPORTHE
GRISEA* (HERBERT) BARR. И СОЗДАНИЕ НОВЫХ РЕЗИСТЕНТНЫХ
ФОРМ *ORYZA SATIVA* L. К ПАТОГЕНУ**

Костылев П.И., Дубина Е.В., Мухина Ж.М.

ГНУ Всероссийский научно-исследовательский институт зерновых
культур им. И.Г. Калиненко,

ГНУ Всероссийский научно-исследовательский институт риса

Уникальный код статьи: 5316af3b9b15d

Проведена интрогрессия и пирамидирование генов устойчивости к пирикулярриозу *Pi-1*, *Pi-2*, *Pi-33*, *Pi-ta*, *Pi-b* в генотипы отечественных сортов риса. ДНК-маркерный анализ позволил выявить устойчивые к болезни образцы риса, несущие 5 целевых генов в гомозиготном состоянии. Разработана система мультиплексной ПЦР для идентификации в гибридном потомстве одновременно трёх генов устойчивости к патогену *Pi-1+Pi-2+Pi-33*.

Введение

Несовершенный гриб *Magnaporthe grisea* (Herbert) Barr Yaegashi & Udagawa (анаморф *Pyricularia grisea*, пирикулярриоз) является фитопатогеном широкого спектра действия, охватывающего большинство семейств сельскохозяйственных культур, в том числе и риса. Экономический ущерб, наносимый заболеванием, значителен во всех зонах мирового рисосеяния и достигает высоких цифр [1].

Создание «иммунных» сортов риса - источников устойчивости к этому патогену и быстрое внедрение их в производство является наиболее перспективным решением в борьбе с этим заболеванием.

Однако создание устойчивых сортов - одно из самых трудных направлений селекции. Вредители и особенно болезни имеют большой потенциал изменчивости, что в сочетании с их колоссальными способностями к размножению обеспечивает патогену высочайшие приспособительные возможности [2].

Объединение нескольких эффективных генов устойчивости на генетической основе элитных сортов - это результативная стратегия селекции на устойчивость к высоковариабельным грибковым патогенам.

По многолетним исследованиям фитопатологов, гены расспецифической устойчивости к пирикулярриозу *Pi-z^t*, *Pi-ta²*, *Pi-b* и *Pi-*

ta являются эффективными для юга России [3]. Гены *Pi-ta* и *Pi-b* сиквенированы. Гены *Pi-1*, *Pi-2*, *Pi-33* относят к генам широкого спектра резистентности риса к патогену [4]. Исследования показывают, что наибольший эффект перечисленные гены проявляют при совместном действии [5, 6].

Было установлено, что сорта риса, возделываемые на территории юга России, не обладают вышеуказанными эффективными генами устойчивости. В связи с этим целью данной научной работы является создание на основе метода маркерной селекции сортов риса с разными типами устойчивости к пирикулярриозу в одном генотипе.

Исходя из поставленной цели, в ходе исследований предусматривалось выполнение следующих задач:

1. Выполнить программу по введению и пирамидированию генов устойчивости к пирикулярриозу *Pi-1*, *Pi-2*, *Pi-33*, *Pi-ta*, *Pi-b* в отечественные высокопродуктивные сорта риса.
2. Выполнить оценку созданного селекционного материала на наличие в генотипе вышеуказанных генов методом ПЦР.
3. Разработать системы мультиплексной ПЦР для идентификации в гибридном потомстве одновременно несколько выше указанных генов.
4. Провести оценку созданного селекционного материала по комплексу морфологических признаков в условиях вегетационного и полевого опытов.

Материалы и методы

В качестве доноров переносимых генов устойчивости (материнская форма) использовали линии зарубежной селекции C101-A-51 (донор гена *Pi-2*), C101-Lac(*Pi-1*, *Pi-33*), IR-36 (донор гена *Pi-ta*), BL-1 (донор гена *Pi-b*). Предварительная оценка линий-доноров на чувствительность к местной популяции возбудителя пирикулярриоза, путём инокуляции растений риса культурой гриба, показала устойчивость тестируемых линий, но в условиях юга России данные линии-доноры проявили себя как позднеспелые, с вегетационным периодом 140-155 дней и характеризовались низкой фертильностью. В местной зоне рисосеяния предпочтительно возделывание сортов, созревающих не более чем за 125 дней. Отцовской формой послужили высокопродуктивные районированные сорта риса Боярин и Вираз.

При гибридизации растений использовали пневмокастрацию материнских форм и опыление «ТВЕЛЛ» - методом [2].

Из листовой пластинки гибридных растений расщепляющихся популяций всех комбинаций были выделены образцы ДНК СТАВ-методом с модификациями [7].

При постановке мультиплексной ПЦР подбор комбинаций молекулярных маркеров, вносимых в реакционную смесь, проводили с учётом их температуры отжига; разницы в размерах ПЦР-продуктов, синтезируемых в ходе амплификации с праймерными парами и самокомплементарности их последовательностей.

В ПЦР смесь вносили как смесь ДНК сортов-стандартов с целевыми генами устойчивости, так и ДНК гибридных образцов, несущих комбинацию генов *Pi-1+Pi-2*, *Pi-33+Pi-ta*, *Pi-1+Pi-2+Pi-33*.

На начальном этапе нами были апробированы ДНК-маркеры на два гена *Pi-1+Pi-2* (рис.1), *Pi-33+Pi-ta*, а затем на три гена резистентности к патогену *Pi-1+Pi-2+Pi-33* (рис. 2). Для идентификации генов *Pi-1*, *Pi-2*, *Pi-33* использовали известные из литературных источников праймерные пары фланкирующих микросателлитных SSR-маркеров RM224+RM527+SSR140+RM310+RM72 (сиквенс праймерных пар доступен на сайте www.gramene.com). Для идентификации гена *Pi-ta* – праймерные пары кодоминантного SSR – маркера PitaF1/PitaR1 и PitaF2/PitaR2, созданного в нашей лаборатории [8].

Мультиплексную ПЦР проводили с 40-50 нг ДНК, 0,1 μ M dNTPs, 25mM KCL, 60 mM Tris-HCL (pH 8,5), 0,1% Тритон X-1006 10 mM 2-меркаптоэтанол, 1,5 mM MgCL₂, 1 единица Taq-полимеразы и 0,3 μ M праймеров в конечном объёме 25 мкл. Амплификацию осуществляли в ДНК-амплификаторе «Терцик», оптимизировав при этом условия ПЦР:

1. Начальная денатурация- 5 минут при 94°C – 1 цикл.
2. 35 циклов: денатурация – 35 сек при 94°C; отжиг праймеров – 45 сек при 60° C; синтез – 30 сек при 72°C.
3. Синтез 5 мин при 72°C – 1 цикл.

При электрофорезе использовали 8%-ный полиакриламидный гель. После электрофореза гелевые пластины помещали на 20-30 минут в раствор бромистого этидия (5 мкг/мл) и фотографировали в ультрафиолетовом свете.

Результаты

На основе использования технологии ДНК-маркерной селекции (marker assisted selection – MAS - селекция с применением ДНК маркеров к генам интереса) нами совместно с Костылевым П.И. (ВНИИЗК им. И.Г. Калининко) проведено введение генов устойчивости к пирикулярриозу *Pi-ta*, *Pi-b*, *Pi-1*, *Pi-2*, *Pi-33* в высокопродуктивные отечественные сорта риса, адаптированные к агроклиматическим условиям рисосеяния юга России. Эта стратегия была использована нами для придания этим сортам длительной устойчивости к заболеванию.

Серия проведенных скрещиваний позволила получить линии риса на

основе сортов Боярин и Вираз с пирамидированными генами устойчивости к пирикулярриозу *Pi-1*, *Pi-2*, *Pi-33*, *Pi-ta*, *Pi-b* в гомозиготном состоянии (рис.1-3). В течение всех циклов возвратных скрещиваний перенос доминантных аллелей каждого такого гена в потомстве контролировался тесно сцепленными молекулярными маркерами. Растения, в генотипе которых аллели устойчивости не обнаруживали, выбраковывали.

Для повышения экономической эффективности маркерной селекции при проведении ПЦР-анализа нами разработана система мультиплексной (мультапраймерной) ПЦР, позволяющая определять одновременно последовательности двух (*Pi-1+Pi-2* (рис.1), *Pi-33+Pi-ta*) и трёх генов (*Pi-1+Pi-2+Pi-33*, рис.2) резистентности к *Magnaporthe grisea* (Herbert) Barr в геномной ДНК гибридных растений при постановке одной реакции, что существенно снижает себестоимость анализов в количестве раз, равное количеству идентифицируемых генов за одну реакцию.

На рисунке 1 представлены результаты апробации комбинации пар праймеров, фланкирующих маркерные участки целевых генов *Pi-1+Pi-2*.

На первом этапе нашей работы нам удалось отобрать комбинацию, позволяющую безошибочно проводить идентификацию генов устойчивости к патогену *Pi-1+Pi-2* при их одновременном присутствии в изучаемых гибридных образцах. У образцов №№ 2, 4, 9,13-15, несущих доминантные аллели двух генов устойчивости, присутствуют специфичные для них ПЦР-продукты. Чёткость идентификации на электрофореграмме даёт возможность безошибочно определить наличие доминантных аллелей целевых генов.

В ходе дальнейшей работы нами была апробирована и отобрана комбинация пар праймеров, фланкирующих маркерные участки целевых генов *Pi-1+Pi-2+Pi-33* (рис.2).

Из электрофореграммы видно, что подобранная нами комбинация праймерных пар, фланкирующих маркерные участки генов *Pi-1+Pi-2+Pi-33*, позволяет также безошибочно проводить идентификацию этих генов при одновременном их присутствии в изучаемых образцах. У образцов под №№ 1, 3, несущих доминантные аллели указанных трёх генов устойчивости, присутствуют специфичные для них ПЦР-продукты. Образец под № 6, несёт гены устойчивости *Pi-2+Pi-33* в гомозиготном состоянии, ген *Pi-1* в гетерозиготном.

Разработанная мультиплексная технология внедрена нами в систему маркерной селекции риса по созданию устойчивых к пирикулярриозу сортов данной культуры.

На рисунке 3 представлены результаты ПЦР- анализа на наличие в этих же анализируемых гибридных образцах гена *Pi-b*.

Из электрофореграммы видно, что все проанализированные гибридные образцы несут доминантную аллель гена *Pi-b*.

Для селекции риса на современном этапе желательным является низкорослый тип растений, с высокой интенсивностью первоначального роста, устойчивый к полеганию, с продуктивной метёлкой и неосыпающимися в фазу полной спелости колосками. Среди растений, которые по результатам ДНК-анализа, несли пирамидированные гены, удалось отобрать несколько форм, совмещающих в себе скороспелость, низкорослость, неосыпаемость и фертильность колосков [9]. Работа продолжается.

Выводы

1. В результате проведенных исследований с помощью современных биотехнологических методов (молекулярное маркирование на основе ПЦР) в сочетании с традиционной селекцией в короткие сроки получены линии риса, в генотипе которых собрано пять эффективных генов резистентности к пириуляриозу (*Pi-1*, *Pi-2*, *Pi-33*, *Pi-ta*, *Pi-b*). Внедрение таких сортов в производство позволит избежать эпифитотийного развития болезни, сохранить биологическую урожайность риса и получать экологически чистую сельхозпродукцию.

2. Разработана схема мультиплексной ПЦР идентификации одновременно двух и трёх генов устойчивости в пирикуляриозу: *Pi-1* + *Pi-2* и *Pi-1* + *Pi-2* + *Pi-33*. Её использование позволит значительно сократить затраты расходных материалов и времени на выполнение анализа образцов с указанными пирамидированными генами резистентности к патогену, что повышает экономическую эффективность ДНК-маркерной селекции.

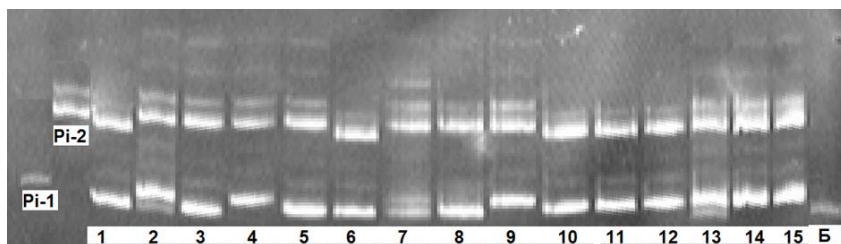


Рис. 1. Мультиплексная ПЦР на гены устойчивости к пирикуляриозу *Pi-1* + *Pi-2*: 1-15 – гибридные растения; *Pi-1*- линия С101-Лас-стандарт на ген *Pi-1*; *Pi-2*- линия С101А-51-стандарт на ген *Pi-2*; Б – сорт Боярин

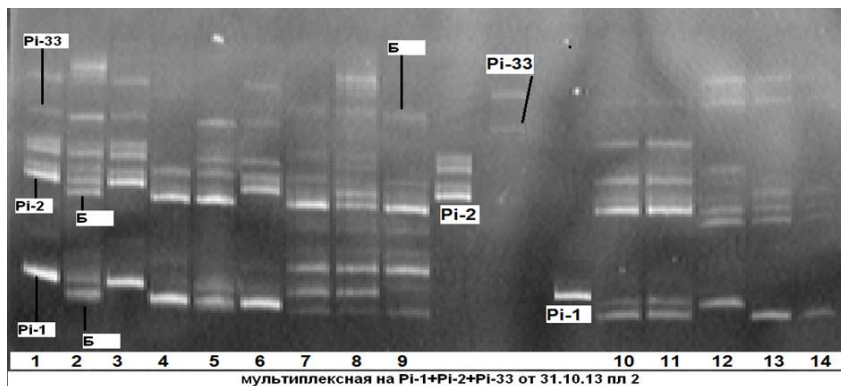


Рис. 2. Мультиплексная ПЦР на гены устойчивости к пирикулярриозу Pi-1+Pi-2+Pi-33: 1-14 - гибридные растения, несущие гены Pi-1+Pi-2+Pi-33; Pi-1, Pi-33- линия C101Лас-стандарт на гены Pi-1, Pi-33; Pi-2- линия C101A-51-стандарт на ген Pi-2; Б - сорт Боярин

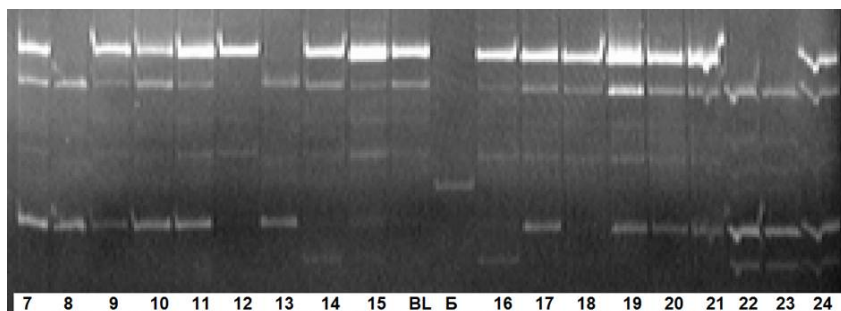


Рис. 3. ПЦР на ген устойчивости к пирикулярриозу Pi-b: 7-24 - гибридные растения, несущие ген Pi-b; Bl - Bl-1 донор гена Pi-b, стандарт; Б - сорт Боярин

Литература

1. Зеленский Г.Л. Перспективы создания сортов риса с высокой продуктивностью и адаптивными качествами // Рисоводство.- 2003 г. - № 3. С. 11.
2. Зеленский Г.Л. Селекция сортов риса, устойчивых к пирикулярриозу, рисовой листовой нематоды и бактериальному ожогу в условиях Российской Федерации // Автореферат диссертации на соискание ученой степени д. с.-х. наук. - Краснодар. - Тип. КубГАУ. - 1993. - 49 с.
3. Дьяков Ю.Т., Озерецковская О.Л., Джавахия В.Г., Багирова С.Ф.//

4. Общая и молекулярная фитопатология. Москва. «Общество фитопатологов». – 2001. 301 с.
5. Хавкин Э.Е. Молекулярная селекция растений: ДНК-технологии создания новых сортов сельскохозяйственных культур // Сельскохозяйственная биология.- 2003. - № 3. - С. 26-41.
6. Коваленко Е.Д., Горбунова Ю.В., Ковалева А.А. и др . Методические указания по оценке устойчивости сортов риса к возбудителю перикюляриоза . - М., 1988. – 30 с.
7. Коломиец Т.М. Отбор исходного материала риса для селекции на иммунитет к пирикулярриозу // Автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук. - Голицыно, 1990.- 21 с.
8. Murray M.G. Rapid isolation of high molecular weight plant DNA/ Murray M.G., Thompson Genomt.- V. 40.-p. 379-378.
9. Мухина Ж.М., Токмаков С.В., Мягких Ю.А., Дубина Е.В. Создание внутригенных молекулярных маркеров риса для повышения эффективности селекционного и семеноводческого процессов.// Полиматический сетевой электронный научный журнал КубГАУ.- 2011- № 67 (03).
10. Kostylev P.I., Redkin A.A., Krasnova Ye.V., Dubina Ye.V., Ilnitskaya Ye.T., Yesaulova L.V., Mukhina Zh.M., Kharitonov Ye.M. Creating rice varieties, resistant to pirikulariosis by means of DNA markers / Vestnik of the Russian academy agricultural science, 2014. – 1. – P.26-28.

ПОВЫШЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТНОГО ПРЕПАРАТА "ПОЛИФЕРМЕНТ"

Краснова М.А., Лойко Н.Г., Эль-Регистан Г.И., Иванова Л.А.

ФГБОУ ВПО «Московский Государственный Университет Пищевых
Производств»,

ФГБУ науки Институт микробиологии имени С.Н. Виноградского
Российской академии наук, г. Москва

Уникальный код статьи: 5326b8d96a390

Большие запасы растительной биомассы делают ее привлекательным сырьем для получения глюкозы, которая далее может быть конвертирована в этанол, бутанол, аминокислоты, полимеры и другие продукты. Кислотный гидролиз высокомолекулярных полисахаридов растительного сырья – целлюлозы, гемицеллюлозы, пектина, лигнина, крахмала, имеет ряд недостатков, например, загрязнение продукта альдегидами и кетонами, вследствие частичной деградации образующихся моносахаров. Этих недостатков лишен ферментативный способ гидролиза растительной биомассы, а широкое разнообразие ферментов представляет большие возможности для эффективной переработки растительного сырья в сахара.

Целью данного исследования было повышение эффективности ферментного препарата «Полифермент» (ООО «Сиббиофарм», Россия), используемого для гидролиза полисахаридов всех видов зерновых культур и растительного сырья. В задачи исследования входило: разработать с помощью алкилрезорцинов разной степени окисленности (AP1, AP2 и AP3) способы модификации ферментов, входящих в комплексный препарат «Полифермент», для повышения их каталитической активности и расширения диапазона активного катализа.

В результате проведенных экспериментов были разработаны приемы модификации ферментного препарата с применением AP1-3, позволившие увеличить его амилолитическую активность в 3.5 раза, протеолитическую – в 3.8 раза, целлюлазную и ксиланазную - в 2.5 раза (рис. 1). При этом активность модифицированных AP1-3 ферментов сохранялась на высоком уровне и в условиях, не оптимальных для их работы: пониженной или повышенной температуре, кислой или щелочной pH. Так, на рисунках 2 и 3 приведены примеры эффективного

применения АР для расширения диапазона активного катализа целлюлазы, входящей в состав «Полифермента», при проведении процесса гидролиза при температурах от 25 до 80°C (рис. 2) и pH от 3 до 8 (рис. 3).

Таким образом, в результате проведенных экспериментов было достоверно показано, что модификация гидролитических ферментов, входящих в состав комплексного ферментного препарата «Полифермент», с помощью окисленных АР приводит к повышению их каталитической активности, а также расширению диапазона активного катализа. Реализация разрабатываемой технологии может привести к значительному повышению эффективности работы ферментных препаратов, предназначенных для переработки растительного сырья, при одновременном снижении затрат на проведение процессов гидролиза.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (гранты № 13-04-01145 А и № 13-04-40231- Н).

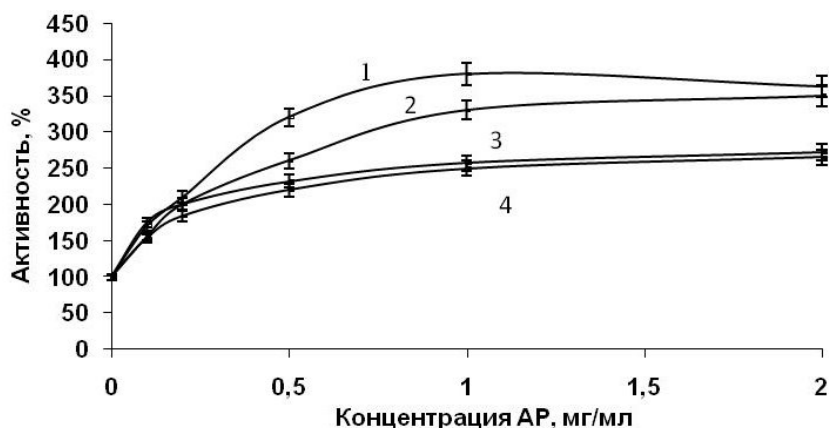


Рис. 1. Влияние окисленных АР на каталитические активности ферментного препарата «Полифермент»: 1 - протеолитическую ($t=37^{\circ}\text{C}$, $\text{pH}=8.0-8.2$), 2 - амилолитическую ($t=30^{\circ}\text{C}$, $\text{pH}=7.0$), 3 - целлюлазную ($t=50^{\circ}\text{C}$, $\text{pH}=4.7$), 4 - ксиланазную ($t=50^{\circ}\text{C}$, $\text{pH}=5.0$)

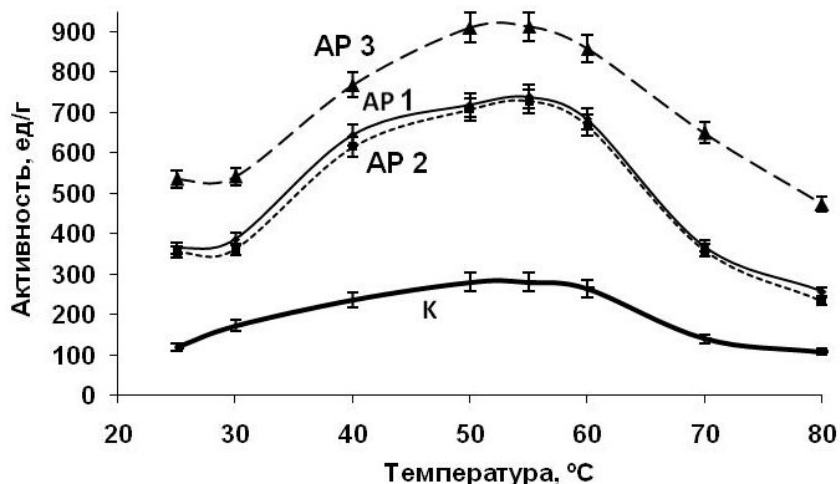


Рис. 2. Влияние AP на расширение температурного диапазона активного катализа фермента целлюлазы, входящей в состав ферментного препарата «Полифермент» (K - нативный фермент)

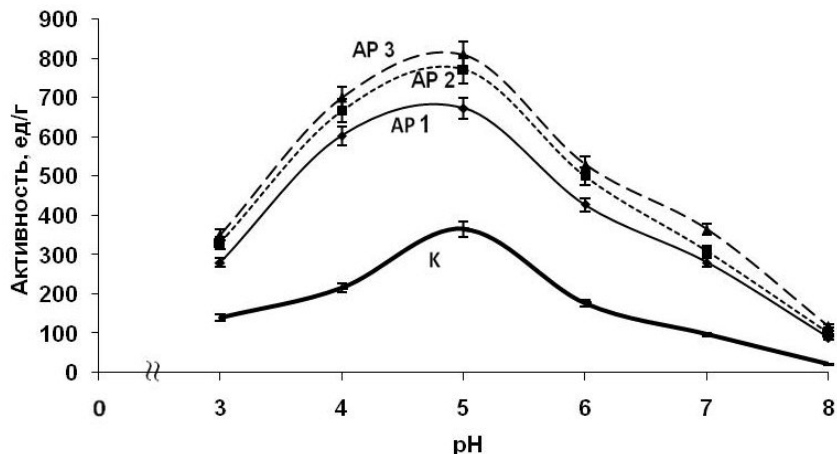


Рис. 3. Влияние AP на расширение pH - диапазона активного катализа целлюлазы, входящей в состав ферментного препарата «Полифермент» (K - нативный фермент)

ОСОБЕННОСТИ СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ПАРАМЕТРОВ ЭРИТРОЦИТОВ У ПАЦИЕНТОВ С КОЛОРЕКТАЛЬНЫМ РАКОМ

Кручинина М.В., Стариков А.В., Курилович С.А., Громов А.А.,
Генералов В.М., Кручинин В.Н., Рыхлицкий С.В.

Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Научно-исследовательский институт терапии и профилактической
медицины» Сибирского отделения РАМН, Новосибирск, Россия,
Государственное бюджетное учреждение здравоохранения
Новосибирской области,
Новосибирский областной онкологический диспансер, Россия,
Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии “Вектор”
Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и
благополучия человека, п. Кольцово, Новосибирская область, Россия,
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт
физики полупроводников им. А.В. Ржанова Сибирского отделения
Российской академии наук, Россия

Уникальный код статьи: 531342eea4dd4

Введение

Изучение патогенеза изменений структурно-функциональных параметров эритроцитов, возникающих в ходе развития опухолевого процесса до настоящего времени остается в центре внимания исследователей - как клиницистов, так и экспериментаторов [1, 2]. Возникающее на фоне неопластической трансформации при колоректальном раке напряжение эритроидного ростка кроветворения приводит к декомпенсации эритропоэза, изменению состояния мембран эритроцитов, нарушению мик-рореологических свойств крови, что усиливает явления гипоксии, осложняя течение основного заболевания [2, 3]. При изучении механизмов развития анемии при опухолевом росте большое значение может иметь оценка качественного состояния периферического звена эритрона, поскольку изменения структуры мембран и метаболизма эритроцитов периферической крови, как правило, предшествуют изменениям количественных показателей красной крови. Особый интерес представляет изучение изменений молекулярной организации мембран эритроцитов, так как структурно-функциональные нарушения мембран зрелых клеток красной

крови до некоторой степени отражают процессы, происходящие в мембранах клеток других тканей организма.

В связи с тем, что эритроциты представляют собой полифункциональную систему, весьма чутко реагирующую на воздействие факторов внутренней и внешней среды, реакция клеток красной крови на развивающийся патологический процесс (в том числе опухолевый рост) сопровождается дестабилизацией клеточных мембран, нарушением их функциональных свойств, что приводит к усилению полиморфизма зрелых циркулирующих эритроцитов [2, 4].

Цель работы - изучить особенности вязкоупругих и электрических параметров эритроцитов, оптические характеристики взвесей эритроцитов у пациентов с колоректальным раком (КРР) 3-4 стадии для определения дополнительных акцентов в терапии.

Материалы и методы. Обследовано 14 человек (8 женщин и 6 мужчины) в возрасте от 49 до 72 лет с раком кишечника в терминальной стадии (распространение первичной опухоли соответствовало Т3-4). Из 14 пациентов у 8 больных диагностирован рак прямой кишки, у 4 - рак анального канала, у 2 больного выявлены первично множественные опухоли (рак сигмовидной и прямой кишки). Наличие метастазов (в область печени) выявлено у двух пациента, у остальных больных метастазирование не было выявлено. Степень вовлеченности лимфоузлов у большей части пациентов была не определена Nx, у четверых она соответствовала N1, у одного N0. По данным гистологического исследования у большей части больных была выявлена аденокарцинома.

Всем пациентам были выполнены общеклинические, биохимические исследования, проведены рентгеноскопия, колоноскопия с биопсией, ультразвуковое исследование, у 8-х МРТ органов брюшной полости. Диагноз был верифицирован на основании комплекса клинических, биохимических и инструментальных исследований.

В качестве группы сравнения рассматривались практически здоровые обследуемые (20 человек), из них - 11 мужчины и 9 женщин в возрасте от 35 до 60 лет, средний возраст 47±5 лет, у которых не было выявлено онкологических заболеваний, иной патологии внутренних органов.

Исследование выполнено с одобрения Комитета Биомедицинской Этики ФГБУ «НИИ ТПМ» СО РАМН. Все обследуемые подписывали информированное согласие пациента на участие в исследовании.

У больных с колоректальным раком, а также у обследуемых группы сравнения исследовали морфологию эритроцитов в световом микроскопе

в нативных мазках) [5].

Электрические, вязкоупругие параметры эритроцитов методом диэлектрофореза (ДЭФ) в неоднородном переменном электрическом поле (НПЭП) с помощью автоматизированной специализированной установки [6].

Оценивали электропроводность мембран, индексы агрегации и деструкции эритроцитов, емкость мембран клеток, скорость движения эритроцитов к электродам, положение равновесной частоты, амплитуду деформации эритроцитов, поляризуемость клеток, обобщенные показатели вязкости и жесткости, величины индуцированного дипольного момента.

Оптические параметры взвесей эритроцитов исследовали методом терагерцовой спектроскопии.

Для компьютерной обработки данных использовался пакет оригинальных программ CELLFIND. Ошибка воспроизводимости метода – 7-12%. Статистическая обработка данных выполнена с использованием программы SPSS, ver.10. Определялся характер распределения количественных признаков методом Колмогорова-Смирнова. В случае нормального распределения вычислялось среднее значение (M) и стандартная ошибка среднего (m). Достоверность различия показателей оценивали по критериям Стьюдента, Пирсона (при нормальном распределении), в случаях отклонения распределения от нормального использовались непараметрические критерии (U-критерий Манна-Уитни, Колмогорова-Смирнова). Связи между признаками оценивались путем вычисления коэффициента корреляции Спирмена (r). При оценке качественных признаков использовался критерий χ^2 . Во всех процедурах статистического анализа критический уровень значимости нулевой гипотезы (p) принимался равным 0,05.

Результаты и обсуждение.

У обследуемых группы сравнения преобладали дискоциты примерно одинакового размера, с равномерной окраской (нормохромные), отмечались отдельные сфероциты, шиповидные дискоциты. Наблюдения за характером поведения эритроцитов в НПЭП показали, что эритроциты здоровых лиц на частотах $5 \cdot 10^5$ Гц и 10^6 Гц обнаружили ярко выраженную способность к деформации (рис. 1а). Они вытягивались и приобретали высокую поступательную скорость в сторону ближайшего электрода. На частотах $5 \cdot 10^4$ Гц, 10^5 Гц деформации не наблюдалось, клетки отталкивались от электродов (отрицательный диэлектрофорез), единичные клетки под действием поля разрушались.

У больных с колоректальным раком отмечено увеличение

полиморфизма клеток красной крови – преобладающими оказались шиповидные, сфероцитарные, деструктивные формы эритроцитов с выраженными явлениями анизо-, пойкилоцитоза и анизохромии. Среди возможных патогенетических механизмов трансформирующего влияния опухоли на эритроциты, по мнению ряда авторов, следует назвать аутоиммунные процессы, осуществляющиеся с участием клеток красной крови, нейроэндокринные нарушения, метаболические сдвиги [1,2]. Возрастание числа трансформированных эритроцитов со-провождается нарушениями ультраструктуры клеток, выражающимися в перераспределении в цитоплазме гемоглобина, усилением образования эндо- и экзовезикул, разрыхлением, уплотнением, деструкцией цитолеммы и т.д. [3].

Таблица 1. Вязкоупругие и электрические характеристики эритроцитов больных с колоректальным раком 3-4 стадии и в группе сравнения ($M \pm m$).

Показатели эритроцитов	Группа. сравнения n=20	Группа больных с КРР n=14	p <
Амплитуда Деформации [м]	$2,3 \cdot 10^{-6} \pm 0,7 \cdot 10^{-6}$	$0,52 \cdot 10^{-6} \pm 0,48 \cdot 10^{-6}$	0,05
Обобщенный показатель жесткости [Н/м]	$5,1 \cdot 10^{-6} \pm 1,2 \cdot 10^{-6}$	$9,2 \cdot 10^{-6} \pm 1,1 \cdot 10^{-6}$	0,02
Обобщенный показатель вязкости [Па · с]	$0,41 \pm 0,06$	$0,75 \pm 0,12$	0,02
Индекс агрегации Eг [усл.ед.]	$0,48 \pm 0,03$	$0,79 \pm 0,08$	0,001
Индекс деструкции Eг [%]	$1,2 \pm 0,64$	$7,8 \pm 0,93$	0,0001
Поляризуемость [м ³] 10 ⁶ Гц	$5,2 \cdot 10^{-15} \pm 0,9 \cdot 10^{-15}$	$0,56 \cdot 10^{-15} \pm 0,8 \cdot 10^{-15}$	0,001
Электропроводность [См/м]	$2,9 \cdot 10^{-5} \pm 0,9 \cdot 10^{-5}$	$8,7 \cdot 10^{-5} \pm 1,2 \cdot 10^{-5}$	0,001
Емкость клеточной мембраны [Ф]	$7,3 \cdot 10^{-14} \pm 0,5 \cdot 10^{-14}$	$3,2 \cdot 10^{-14} \pm 0,6 \cdot 10^{-14}$	0,0001
Скорость движения Eг к электродам [мкм/с]	$12,8 \pm 2,9$	$5,7 \pm 2,2$	0,05
Равновесная частота [Гц]	$4,8 \cdot 10^5 \pm 0,6 \cdot 10^5$	$7,7 \cdot 10^5 \pm 0,8 \cdot 10^5$	0,01
Дипольный момент [Кл·м]	$1,6 \cdot 10^{-21} \pm 0,5 \cdot 10^{-21}$	$0,44 \cdot 10^{-21} \pm 0,3 \cdot 10^{-21}$	0,05

Примечания:

1. M – среднее значение, m – стандартная ошибка среднего,
2. Величина дипольного момента рассчитывалась при напряженности электрического поля 8,85.10-12Ф/м.

Взаимодействие эритроцитов с НПЭП у пациентов с колоректальным раком было другим: амплитуда деформации (м) и скорость поступательного движения клеток (мкм/с) относительно электродов на высоких частотах $5 \cdot 10^5$ Гц и 10^6 Гц были значительно ниже ($p < 0,01$) (рис. 1б). Избыточный гемолиз клеток наблюдался как на высоких (10^6 Гц, $5 \cdot 10^5$ Гц) (рис. 1с), так и на низких частотах ($5 \cdot 10^4$ Гц, 10^5 Гц). Отмечалась также повышенная способность эритроцитов к образованию агрегатов средних, крупных и гигантских размеров после перевода эритроцитов в раствор 0,3М сахарозы ($p < 0,02$) (рис. 1д). У пациентов с опухолями кишечника показатели электропроводности, обобщенные показатели жесткости, вязкости, индексы агрегации, деструкции нарастали, а поляризуемость мембран на частоте 10^6 Гц, дипольный момент, электрическая емкость мембран эритроцитов достоверно уменьшались ($p < 0,001-0,05$) (таблица 1). Получены обратные корреляции стадии заболевания с амплитудой деформации ($r = -0,587$, $p < 0,02$), прямые - с обобщенными показателями жесткости ($r = 0,548$, $p < 0,01$) и вязкости эритроцитов ($r = 0,492$, $p < 0,02$), индексом агрегации ($r = 0,623$, $p < 0,002$) и деструкции эритроцитов ($r = 0,598$, $p < 0,01$).

В настоящее время можно считать установленным, что опухолевому росту в организме сопутствуют микроциркуляторные нарушения, оказывающие существенное влияние на кровообращение в целом, тканевый гомеостаз, функцию важнейших систем организма [2].

Для возникновения подобного рода нарушений большое значение имеют диаметр сосудистого просвета и микрореологические свойства крови. При этом первый фактор играет существенную роль при физиологическом регулировании микроциркуляции, второй - чрезвычайно важен в патологических условиях. В последнем случае отмечаются повышение вязкости крови, микроциркуляторный блок, артериовенозное шунтирование, депонирование и секвестрация крови, тканевая гипоксия [7].

Важным фактором, нарушающим при развитии патологии микрореологические свойства крови, является усиление агрегационной способности эритроцитов [3,7]. По мнению Р.Т. Тухватулина с соавт. (2006), возрастание интенсивности обратимой агрегации эритроцитов происходит пропорционально тяжести состояния больного. В нашем исследовании прямые сильные корреляции индекса агрегации эритроцитов со стадией заболевания подтверждают данное наблюдение.

Можно предположить, что повышенная склонность к образованию агрегатов эритроцитов у больных с колоректальным раком связана с изменением свойств поверхности эритроцитарных мембран либо в

результате адсорбции клетками веществ, появляющихся в крови при злокачественном росте, либо при удалении поверхностных компонентов мембран из-за расщепления мембранных белков протеиназами, которые ак-тивируются в крови у онкологических больных [2].

Известно, что неопластический рост различного генеза сопровождается выраженными серологическими перестройками мембран эритроцитов и появлением в крови аутоантител, которые могут быть причиной гемолитической анемии [2, 3]. Соответствующие перестройки в мембранах клеток красной крови при раке делают их мишенью для иммунокомпетентных клеток. Последние либо лизируют поврежденные эритроциты, либо облегчают их последующий фагоцитоз макрофагами [2]. Эти данные согласуются с наблюдаемым в нашей работе избыточным гемолизом эритроцитов у пациентов с терминальными стадиями КРР.

Выраженное снижение амплитуды деформации клеток красной крови с возрастанием обобщенных показателей вязкости и жесткости клеток соответствует результатам исследований, в которых выявлено снижение деформируемости эритроцитов при развитии опухолевого процесса [1-4]. Ригидные клетки из-за неплотного соприкосновения со стенкой сосудов не могут полностью участвовать в газообмене. Продвижение их по капиллярам затруднено (замедлено), в результате чего образуются микротромбы, вызывающие нарушение периферического кровотока, гипоксию и повреждение жизненно важных органов [2].

Выявленное значительное снижение емкости мембран эритроцитов у пациентов с КРР отражает выраженное утолщение оболочек клеток, которые способны сорбировать на себе крупномолекулярные белки, иммуноглобулины независимо от их антигенной принадлежности. Известный факт сдвига белкового состава плазмы в сторону накопления грубодисперсных фракций и фибриногена в результате опухолевой интоксикации является причиной, с одной стороны, увеличения агрегационной способности эритроцитов у онкологических больных в связи с «экранированием» поверхностного заряда клеток [2, 7]. С другой стороны, приводит к существенному снижению емкости эритроцитов.

Резкое увеличение электропроводности эритроцитов у пациентов с КРР является в определенной степени отражением выраженного изменения структуры мембран клеток (их липидного, фосфолипидного, жирнокислотного состава), что подтверждается ранее проведенными исследованиями [2, 3]. Вместе с тем, результаты нашей работы свидетельствуют о наличии ассоциации между резким повышением электропроводности и высокой степенью пролиферативных процессов.

Выявленные существенные сдвиги электрических и вязкоупругих параметров эритроцитов не могли не сказаться на изменении оптических характеристик взвесей эритроцитов при исследовании терагерцовым излучением.

Исследование взвесей эритроцитов методом терагерцовой спектроскопии выявило низкие уровни амплитудного пропускания излучения на всех частотах диапазона у пациентов с колоректальным раком в отличие от группы контроля ($p < 0,001-0,05$) (см. рис. 2). Причем, спектроскопические показатели коррелировали со склонностью эритроцитов к образованию агрегатов ($r = 0,74$, $p < 0,001$), преобладанием деформированных форм эритроцитов ($r = 0,80$, $p < 0,03$), сниженным дипольным моментом клеток ($r = -0,63$, $p < 0,02$), амплитудой деформации эритроцитов под действием НПЭП ($r = -0,81$, $p < 0,01$) и емкостью мембран эритроцитов ($r = 0,50$, $p < 0,048$).

Заключение

Таким образом, у пациентом с колоректальным раком в терминальных стадиях выявлено существенное изменение электрических и вязкоупругих параметров эритроцитов: преобладающими оказались трансформированные клетки с явлениями анизо- и пойкилоцитоза, с низкой способностью к деформации на фоне высоких обобщенных показателей вязкости и жесткости, сниженным поверхностным зарядом и резистентностью, поэтому – с высокой склонностью к агрегации и деструкции, с утолщенными мембранами, хорошо проводящими электрический ток (что, очевидно, связано с выраженными сдвигами в структуре мембран). Взвеси эритроцитов пациентов с КРР имели низкие уровни амплитудного пропускания излучения на всех частотах терагерцового диапазона.

Выявленные изменения параметров эритроцитов, очевидно, приводят к утяжелению течения основного заболевания, поэтому требуют дополнительных терапевтических воздействий.

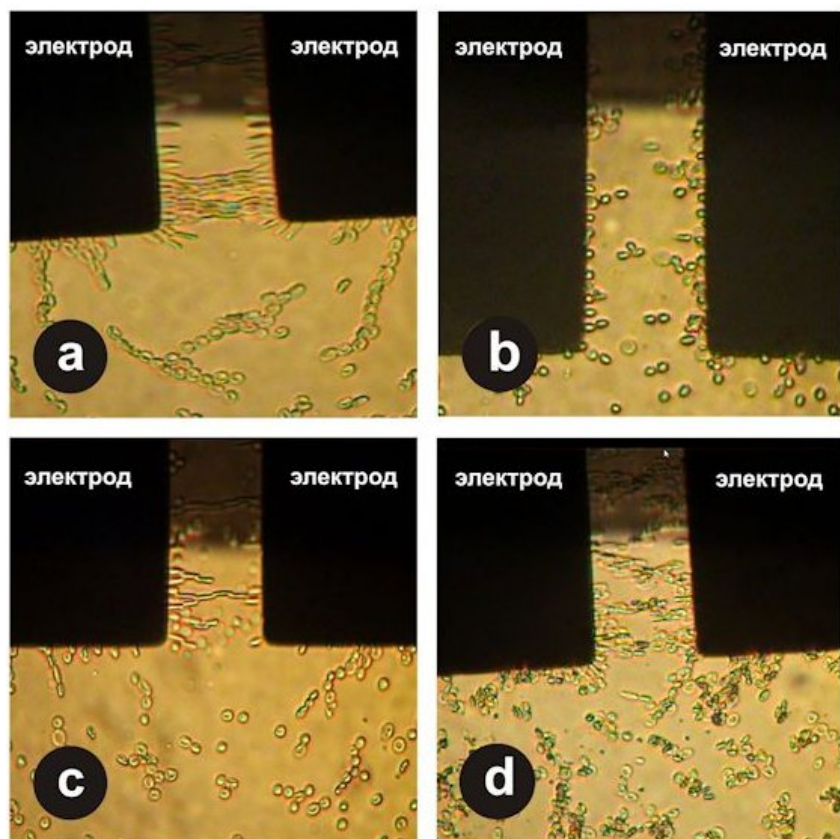


Рис. 1. Разделение и деформация эритроцитов под действием неоднородного переменного электрического поля на частоте 1 МГц: а - у лиц группы сравнения; б - у больных с колоректальным раком (сниженная амплитуда деформации эритроцитов); в - повышенный гемолиз эритроцитов у больных с КРР; г - повышенное агрегатообразование и гемолиз у пациентов с КРР.

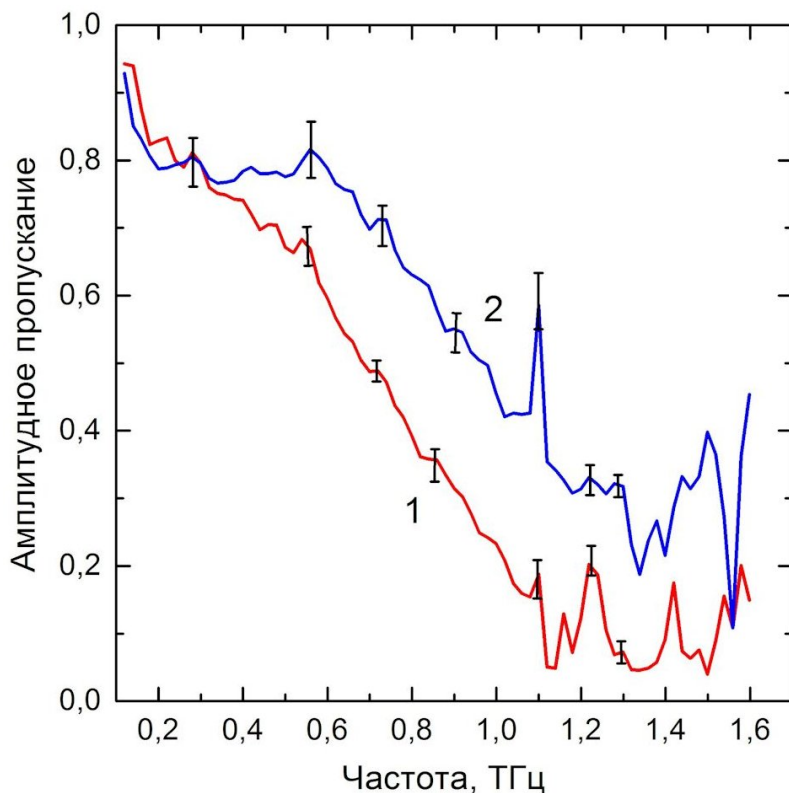


Рис. 2. Зависимость амплитуды пропускания ТГц излучения слоями взвесей эритроцитов пациентов с КРР (1) и лиц группы сравнения (2).

Литература

1. Рак толстой кишки: пер. с англ. под ред. Дж.Мейерхардта, М. Сандерза; ред. Серии А.Т.Скарин. - М.: ООО «Рид Элсивер», 2009. - 186 с.
2. Новицкий В.В., Степовая Е.А., Гольдберг В.Е., Колосова М.В., Рязанцева Н.В., Корчин В.И. Эритроциты и злокачественные новообразования. Томск: "STT", 2000.- 288 с.
3. Новицкий В.В., Рязанцева Н.В., Степовая Е.А. Физиология и патофизиология эритроцита. Томск: Из-во ТГУ, 2004. 202 с.
4. Болис Л., Хоффман Д.Ф., Лиф А. Мембраны и болезнь. М.: Медицина, 1980. 408 с.

5. Лабораторные методы исследования в клинике / Справочник под ред. проф. В.В. Меньшикова. – М-ва.»Медицина», 1987. – 365 с.
6. Генералов В. М., Кручинина М. В., Дурыманов А. Г., Медведев А. А., Сафатов А. С., Сергеев А. Н., Буряк Г. А., Курилович С. А., Громов А. А. Диэлектрофорез в диагностике инфекционных и неинфекционных заболеваний. / Новосибирск: Изд-во «ЦЭРИС». - 2011. - 172 с.
7. Козинец Г.И., Макарова В.А. Исследование системы крови в клинической практике. М.: Изд-во «Триада-Х», 1997. 480 с.

ВЛИЯНИЕ ЧИСЛА ПАССАЖЕЙ И ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТИ УКОРЕНЕНИЯ IN VITRO НА АДАПТАЦИЮ МИКРОРАСТЕНИЙ СИРЕНИ ОБЫКНОВЕННОЙ (SYRINGA VULGARIS L.)

Крючкова В.А., Исачкин А.В., Шишканова К.Э.

ГБС имени Н.В.Цицина РАН,
РГАУ-МСХА имени К.А.Тимирязева

Уникальный код статьи: 532582285355d

Сорта сирени обыкновенной (*Syringa vulgaris* L.) - одно из наиболее популярных декоративных растений в России, отличаются трудностью размножения традиционными способами. Наиболее часто применяемые способы размножения - прививка и зеленое черенкование, не дают достаточного выхода выравненного посадочного материала. В связи с этим встает вопрос о необходимости использования методов клонального микроразмножения для выращивания посадочного материала этой культуры [1]. В технологии клонального микроразмножения сирени наиболее сложными этапами являются введение эксплантов в культуру и адаптация микрорастений к почвенным условиям [2,3]. В настоящих исследованиях изучали влияние количества пассажей на укореняемость микрорастения и продолжительности укоренения на выход растений при адаптации.

Исследования проводили в РГАУ-МСХА имени К.А.Тимирязева, в качестве объекта исследования взяты сорта: Красавица Москвы, Флора, Сенсация, Богдан Хмельницкий. Использовали модифицированную питательную среду Мурасиге и Скуга, без добавления стимуляторов корнеобразования [4].

Таблица 1. Укореняемость сирени обыкновенной in vitro в зависимости о числа пассажей на этапе размножения, %

Сорт	Число пассажей							
	3	5	6	8	10	12	14	20
Флора	-	48	50	58	68	72	70	74
Красавица Москвы	-	76	82	88	90	96	96	98
Сенсация	-	-	52	58	68	76	76	78
Богдан Хмельницкий	46	48	60	64	76	86	88	92

В литературных источниках встречаются упоминания о том, что при длительном культивировании и многочисленных пассажах

укореняемость растений увеличивается, а в некоторых случаях растения укореняются даже без пересадки на среды, содержащие ауксины. Чтобы доказать или опровергнуть это утверждение, микрочеренки сирени пересаживали на укоренение через 4-12 пассажей в зависимости от сорта.

На начальных пассажах большинство сортов практически не укореняются - при пересадке растений на укоренение после третьего пассажа укореняется только сорт Богдан Хмельницкий (46%), после пятого - сорта Богдан Хмельницкий (48%), Флора (48%) и Красавица Москвы (76%). Укореняемость при ранней пересадке на укоренение значительно ниже, чем при стандартной технологии. При увеличении количества пассажей укореняемость увеличивается. После 12 пассажа укореняемость достигает достаточно высокого уровня, для сорта Красавица Москвы укореняемость самая высокая и достигает 96%, несколько меньшая укореняемость у сортов Богдан Хмельницкий (86%), сорта Флора и Сенсация отличаются более низкой укореняемостью. При дальнейшем увеличении количества пассажей прирост укореняемости менее значительный. Таким образом, при увеличении числа пассажей процент укоренения растений всех изученных нами сортов значительно вырос, в то же время различные сорта обладают разной степенью реакции на количество пассажей размножения.

Продолжительность и процент укоренения сирени при размножении зелеными черенками в достаточной степени варьирует в зависимости от климатических условий года, влияющих на степень вызревания древесины побега, стадию развития почек и т.д., то есть от физиологического состояния маточного растения в период укоренения. Достаточно часто при изменении срока черенкования и увеличении продолжительности укоренения процент успешно укоренившихся растений возрастает.

Таблица 2. Укореняемость растений в зависимости от продолжительности этапа укоренения, %

Сорт	Продолжительность этапа укоренения, недель			
	6	8	10	12
Флора	70	81	100	100
Красавица Москвы	86	100	100	100
Сенсация	62	76	93	100
Богдан Хмельницкий	91	100	100	100

Растения с питательных сред одинакового состава высаживали на модифицированную питательную среду Мурасиге и Скуга и

культивировали без пересадок в течение длительного времени. Через период времени, соответствующий варианту, снимали показатели укореняемости

Как показывают полученные данные, укореняемость в значительной степени зависит от продолжительности этого этапа, что, вероятно, связано с образованием эндогенных гормонов. Все изученные сорта показали 100% укореняемость. Однако по продолжительности укоренения они значительно отличаются - например, сорт Красавица Москвы дает 100% укоренение уже после 2 месяцев культивирования без пересадки, в то время как сорту Сенсация для 100% укоренения необходим более продолжительный период.

При увеличении продолжительности укоренения до 8 недель формируется более развитая, разветвленная корневая система. При более значительном увеличении продолжительности укоренения длина корней увеличивается в значительной степени и для некоторых сортов достигает 12-15 см, часто наблюдается ветвление побегов, одревеснение их нижней части, опадение листьев.

Таким образом, при увеличении продолжительности периода укоренения при микроклональном размножении растений количество корней и укореняемость увеличиваются. Вместе с тем, увеличение продолжительности любого этапа микроклонального размножения, в том числе и укоренения, приводит к накоплению в питательной среде продуктов метаболизма растений, часто отрицательно воздействующих на растение. Поэтому были основания полагать, что увеличение периода укоренения отрицательно повлияет на последующую адаптацию растений.

Таблица 3. Приживаемость растений в нестерильных условиях в зависимости от продолжительности укоренения, %

Сорт	Продолжительность этапа укоренения, недель				
	6	8	10	12	14
Флора	94	96	80	78	74
Красавица Москвы	86	84	84	86	86
Сенсация	92	94	90	92	90
Богдан Хмельницкий	82	80	80	76	72
НСР ₀₅ 13,46					

На адаптацию пересаживали только укорененные растения, адаптация проводилась при оптимальных условиях влажности и освещения. Несмотря на то, что в большинстве случаев требуется получить 100% укоренение, значительное увеличение

продолжительности периода укоренения нежелательно. Кроме того, есть основания полагать, что увеличение периода укоренения приведет к снижению адаптации растений и торможению впоследствии их роста

Полученные нами данные показывают, что для некоторых сортов (Флора, Богдан Хмельницкий) увеличение продолжительности укоренения действительно приводит к уменьшению процента приживаемости растений в нестерильных условиях, в то время как для других сортов показатели приживаемости практически не изменяются.

Для сирени характерно быстрый переход надземной части в состояние покоя при развивающейся корневой системе, вывести растение из этого состояния достаточно трудно. Поэтому желательно пересаживать в нестерильные условия растения, находящиеся в фазе активного роста. Данные показатели также зависят от продолжительности этапа укоренения

Таблица 4. Прирост растений сирени за 4 недели адаптации в зависимости от продолжительности этапа укоренения, мм

Сорт	Продолжительность этапа укоренения, недель				
	6	8	10	12	14
Флора	46	40	12	0	0
Красавица Москвы	81	86	70	31	0
Сенсация	43	39	40	23	14
Богдан Хмельницкий	18	16	15	21	19
НСР ₀₅ 48,35					

При увеличении продолжительности укоренения для всех исследованных сортов отмечено уменьшение или полное отсутствие прироста, что возможно связано с изменением уровня эндогенных гормонов, тормозящих развитие апикальной меристемы.

Выводы:

1. Укореняемость большинства изученных сортов сирени увеличивается с увеличением числа пассажей на этапе культивирования микрорастений;
2. Укореняемость и качество корневой системы увеличивается при увеличении продолжительности этапа укоренения микрорастений;
3. При увеличении продолжительности этапа укоренения снижается способность микрорастений к адаптации

Литература

1. Фомина Н.А., Фомина И.К., Заварзин А.И. Адаптация растений ежевики к условиям открытого грунта при микроклональном размножении. / III Межд. научно-произв. конфер. «Интродукция нетрадиционных и редких с/х растений»: материалы. Пенза, 2000, т.2, с.122-123.
2. Упадышев М.Т., Медведев В.А. Адаптация пробирочных растений: новые подходы к решению проблемы // Вестник Российской академии с.-х. наук, 1993, №3, стр. 27-28.
3. Деменко В.И., Крючкова В.А. Адаптация растений, полученных in vitro, к нестерильным условиям // Доклады ТСХА, вып. 274. М., Изд-во МСХА, 2002
4. Деменко В.И., Крючкова В.А., Мамонов Е.В. Укореняемость сирени обыкновенной in vitro в зависимости от регуляторов роста // Доклады ТСХА, вып.274. М., Изд-во МСХА, 2002

РАЗРАБОТКА НОВЫХ ЭНТЕРОСОРБЕНТОВ НА ОСНОВЕ МОДИФИЦИРОВАННОГО АКТИВНОГО АМОРФНОГО НАНОПОРИСТОГО НАНОДИСПЕРСНОГО КРЕМНЕЗЁМА

Кузнецов А.Ф., Половцев С.В., Осипов Ю.Г., Краснов А.А.,
Галилеев С.М., Белов И.В.

доктор СПб государственная академия ветеринарной медицины,
ФГУП Российский научный центр «Прикладная химия», СПб,
ООО «Новые технологии диспесных систем», СПб,
СПб государственный экономический университет,

Уникальный код статьи: 53305015b2b74

Проведенные исследования показали, что предлагаемые сорбенты: АДК, МАДК – виро, МАДК – вита, МРШ – микронизированная шелуха риса, микронизированные кормовые дрожжи, микронизированный лигнин – по своим физико-механическим свойствам, по воздействию на одноклеточные организмы, по своей биоцидности являются перспективными препаратами для использования их в ветеринарии и медицине. Исследования показали, что модификация АДК, как в нативном применении, так и в экстрагируемых растворах (2ч и 24ч – время экстракции) не оказывает токсичное действие на одноклеточную инфузорию – *Paramecium Caudatum*.

Анализ механизмов лечебного и профилактического действия энтеросорбции показал что наиболее простой способ сорбционной детоксикации живого организма, и практика его использования в ветеринарии и медицине позволяет предсказать этому методу большое будущее. В решении этой важной задачи большое значение будет иметь создание новых сорбентов, обладающих мощным спектром сорбционных свойств, которые будут дешевле и широко доступны для лечебной практики. Предлагаемые препараты на основе аморфного диоксида кремния не содержат вредных неорганических примесей.

Проведенные исследования позволили сделать выбор и получить первые опытные образцы двух новых энтеросорбентов на основе модификации аморфного диоксида кремния с адаптогеном витагмалом и индуктором интерферонов акридонуксусной кислотой, которая в сочетании с ионом лития обладает *in vivo* мощным вирулицидным и бактерицидным действием. Данные модификации АДК с витагмалом и виролитом подготовлены для исследований на животных. Проведены

сравнительные исследования физико-химических параметров сорбентов, в частности пористости изученных сорбентов по количественному и качественному показателям. Отмечено, что степень сорбции зависит также от используемого сорбента, так как последний имеет свои физические и химические характеристики.

Исследования проведенные по включению АДК в рацион кормления лабораторных животных показал, что изучаемые МАДК не оказывали отрицательного воздействия на их организм, а наоборот, было выявлено положительное влияние на рост и развитие этих животных в целом, а так же на внутренние органы, на некоторые показатели клинической картины крови и на показатели биохимических процессов. Скармливание АДК и МАДК - вита опытным животным с кормом оказывало прямое воздействие на рост и развитие всего организма, внутренних органов, на гомеостазе естественной резистентности - которое подтверждено гематологическими данными. Лучшие результаты получены в группе №2, где использовали МАДК-вита.

В опытах по изучению детоксикационных свойств применяемых кормовых добавок - МАДК-вита показали, что в группе крыс, которым в рацион вводили сулему и МАДК-вита относительные среднесуточные приросты массы тела составляли 1,65 %, а интенсивность прироста была 1,64 %; тогда как в группе № 1 (где в основной рацион была добавлена только сулема) выше названные показатели были со знаком минус: -10,46 % и -11,04 %. Все показатели крови, а так же патологоанатомические данные подтвердили положительный детоксикационный эффект МАДК-вита при ртутном отравлении у крыс. Доза введения МАДК-вита при ртутном экспериментальном отравлении составляла так же 2,4 г на 1 кг корма для лабораторных крыс. Анализируя полученный конкретный материал можно отметить, что сорбционная способность МАДК-вита при отравлении сулемой выражается достаточно хорошо. Лабораторные крысы при отравлении сулемой и одновременной дачей МАДК-вита все выживали и дали абсолютные среднесуточные приросты массы тела - 0,13 г, тогда как в группе, где МАДК-вита не применяли, прироста не было, а наоборот, отмечали этот показатель с минусом (-1,02 г/сутки). Проведенные исследования подтвердили эффективность кормовой добавки МАДК-вита при ртутной интоксикации.

В опытах по разработке различных кормовых добавок модифицированного аморфного диоксида кремния для цыплят-бройлеров показали, что при двухразовом введении в рацион испытуемых добавок (продолжительностью по 5 суток) в дозе всех препаратов 1 г на 1 кг

корма, наибольший среднесуточный прирост массы тела за весь период наблюдений был у цыплят группы №3 (МАДК с веролитом) – 83,81 г в сутки, №4 (МАДК с витагмалом) – 77,94 г в сутки, №7 (АДК – полисорб с Монклавитом-1) – 77,00 г в сутки и №2 (дрожжи) – 77,00 г в сутки. Этот показатель в группе №3 в абсолютных цифрах был на 14,12 г больше, чем в контрольной группе №8, где использовали только основной рацион, а в процентном отношении составил 120% к контролю; в группе №4 среднесуточный прирост был больше на 10,25 г чем в контроле, а в процентном отношении составил 112%; в группе №7 и №2 среднесуточный прирост был больше на 7,31 г чем в контроле, а в процентном отношении составил 110%. Во всех остальных группах среднесуточный прирост тоже был больше чем в контроле и составил от 72 г до 76,5 г в сутки и составлял 102 – 108%.

Клинический и биохимический анализы крови подтвердили, что в группе №3, где использовали МАДК с веролитом было высокое содержание эритроцитов ($12,0 \cdot 10^{12}/л$) и гемоглобина (272 г/л); был высокий показатель общего белка (36,92 г/л), альбуминов (14,21 г/л), α -глобулинов (5,28 г/л), β -глобулинов (5,7 г/л), γ -глобулинов (11,72 г/л), содержание холестерина в крови составило 2,4 моль/л, АЛТ – 10,1 МЕ/л, АСТ – 9,45МЕ/л, общий билирубина – 3,76 моль/л, мочевины – 2,09 моль/л

В группе №4, где использовали МАДК с витагмалом количество эритроцитов составило $12,7 \cdot 10^{12}/л$, а гемоглобин – 140 г/л. Также в этой группе наблюдали повышение показателей общего белка в сыворотке крови (27,67 г/л), альбуминов (8,68 г/л, β -глобулинов (4,02 г/л), γ -глобулинов (11,15 г/л). Содержание α -глобулинов составило 4,09 г/л, а содержание холестерина в крови составило 2,76 моль/л. Показатели АЛТ были – 9,42 МЕ/л, АСТ – 10,5МЕ/л, общего билирубина – 10,68 моль/л, мочевины – 3,3 моль/л

В группе №7, где добавляли Полисорб и Монклавит-1 содержание эритроцитов составило $7,52 \cdot 10^{12}/л$, гемоглобина 100 г/л; показатели общего белка составили 34,61 г/л, альбуминов 12,25 г/л, α -глобулинов (7,75 г/л), β -глобулинов (4,53 г/л), γ -глобулинов (10,29 г/л), содержание холестерина в крови составило 3,13 моль/л, АЛТ – 12,42 МЕ/л, АСТ – 13,41МЕ/л, общий билирубина – 3,76 моль/л, мочевины – 3,71 моль/л

В группе №2, где добавляли дрожжи также наблюдается высокое количество эритроцитов ($12,4 \cdot 10^{12}/л$) и гемоглобина (240 г/л); показатели общего белка составили 31,4 г/л, альбуминов 12,59 г/л, α -глобулинов 4,11 г/л, β -глобулинов 3,29 г/л, γ -глобулинов 11,51 г/л, содержание холестерина в крови составило 5,53 моль/л, АЛТ – 11,46 МЕ/л, АСТ – 8,5МЕ/л, общий билирубина – 0,85 моль/л, мочевины – 3,32

моль/л.

Массометрия внутренних органов и ветеринарно-санитарная оценка убитых тушек показали, что эти показатели были лучшими также в группах №3, №4, №7, и №2, однако, следует отметить, что в группе №4 и №7 отмечено увеличение массы печени и селезенки, что по всей вероятности, сказалось на повышенных значениях АЛТ и АСТ в этих группах.

Наши исследования показали, что испытуемые препараты АДК, МАДК-вита и МАДК-ви́ро в пробирках с разведением препарата 1:1 (это соответствует содержанию истинных препаратов в концентрации равной 0,05%) и в разведении 1:2 (это соответствует содержанию истинных препаратов в концентрации равной 0,025%) проявляют некоторую задержку роста микроорганизмов (*Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa* и *Staphylococcus aureus*), что мы связываем со слабыми бактериостатическими свойствами изучаемых препаратов. В разведениях 1:4 (это соответствует содержанию истинных препаратов в концентрации равной 0,0125%) и в разведении 1:8 (это соответствует содержанию истинных препаратов в концентрации равной 0,00625%) отмечали помутнение МПБ, что свидетельствует о наличии роста микроорганизмов и подтверждает отсутствие бактериостатических и бактериоцидных свойств этих препаратов. В пробирках с разведением препарата 1:1 (это соответствует содержанию исследуемого препарата 0,05%) и 1:2 (это соответствует содержанию исследуемого препарата 0,025%) задержка роста микроорганизмов по нашему мнению связана с способностью этих препаратов сорбировать микробные клетки и другие вещества.

В опытах (*in viva*) на дисбактериоз у цыплят бройлеров доказано, что испытуемые препараты в желудочно-кишечном тракте (помете) положительно оказывали влияние на количественное содержание (следующих) микроорганизмов (бифидобактерии, лактобактерии, кишечная палочка с нормальной и со сниженной ферментной активностью. В пробах отмечено снижение не только патогенной микрофлоры, но и микроорганизмов, обеспечивающих обычный микробный фон желудочно-кишечного тракта. Это свидетельствует также об отсутствии специфических, избирательных, антимикробных свойств у этих препаратов.

Это подтверждается и при изучении бактерицидной и лизоцимной активности сыворотки крови у цыплят к микроорганизмам: *Micrococcus lysodeicticus* и *E. coli*. Более высокие показатели ЛАСК и БАСК связаны с положительным опосредованным действием испытуемых препаратов на

физиологический и иммунный статус организма цыплят.

В опытах по изучению ранозаживляющих свойств испытуемых препаратов (чистый АДК, МАДК - виро, МАДК - вита, лузга рис с какаофеллой, лигнин и дрожжи) по кожной пробе у кроликов показали, что наиболее выраженным эффектом заживления ран обладают препараты АДК и МАДК - виро. На 4 сутки толщина кожной складки в контроле с АДК составила 2,7 мм, а с МАДК - вита 2,4 мм, а при использовании лузги риса с какаофеллой 2,4 мм. А в опытах на цыплятах при испытании препаратов (чистый АДК, МАДК - виро, МАДК - вита, лузга рис с какаофеллой, лигнин и дрожжи) подтверждено, что особыми ранозаживляющими свойствами эти препараты не оказывали существенного влияния на выраженность и скорость заживления ран. Незначительный эффект в отношении ускорения заживления ран кожи у кроликов и цыплят, по-видимому вызван сорбционными свойствами испытуемых препаратов

Разработаны и предложены дозы и способы введения предлагаемых препаратов (МАДК-вита, МАДК-вира, микронизированная лузга риса, а так же АДК, микронизированный лигнин и дрожжи) для телят, молодняка крупного рогатого скота, поросят - сосунов и отъемышей (от 0 до 4 месячного возраста), для свиноматок, а так же для цыплят-бройлеров, молодняка кур и взрослого поголовья. *Рекомендуемая схема предназначена для использования в критические периоды физиологического состояния организма, когда снижается естественная резистентность организма. Профилактическое применение рекомендуемых препаратов рассчитано на прерывистость его использования, исходя из семидневного рабочего графика на животноводческих предприятиях или от клинико-физиологического состояния животных.*

При выращивании цыплят-бройлеров кросса Hubbard с 1 до 30 суточного возраста при четырехкратном добавлении препаратов (МАДК-вита, МАДК-вира, микронизированная лузга риса, а так же АДК, микронизированный лигнин и дрожжи), доза - 1 г/кг корма или 0,1 г/кг живой массы птицы в течении двух - трех дней с перерывами в четыре - пять дней. Лучшие результаты по абсолютной живой массе были в группе № 3 (АДК) - 1638 г, №1 (МАДК - виро) - 1562 г, ниже в гр №2 (микронизированная лузга риса) - 1528 г и гр №5 (дрожжи) - 1526 г, далее гр №4 (лигнин) - 1400 г, тогда как в контрольной группе этот показатель составил 1575 г.

Показатель убойного выхода среди опытных групп был наибольшим в гр №3 (АДК) и гр№5 (дрожжи). Показатель выхода белого мяса (грудина

и часть спины) был наибольшим в гр№3 (АДК) и гр №5 (дрожжи), а наименьшим был в гр №4 (лигнин). Показатель выхода красного мяса (бедро и голень) был наибольшим в гр №4 (лигнин), гр №5 (дрожжи), а наименьшим этот показатель был в контрольной группе.

Показатели крови у всех подопытных и контрольных цыплят изменялись в пределах физиологической границы и обеспечивали естественную устойчивость организма.

Полученные результаты на молодняке крупного рогатого скота показали, что в период раннего постнатального онтогенеза добавка МРШ способствует повышению сохранности, снижению заболеваемости и отхода новорожденных телят, что указывает на улучшение физиологического состояния и укрепление естественных защитных сил их организма.

Изучение динамики прироста живой массы у телят молочного периода подтвердило, что наибольшей интенсивностью роста отличались животные, которых выращивали с назначением изучаемого минерального премикса. Среди молодняка из опытной группы среднесуточный прирост составил 0,450 - 0,627 г, в среднем по группе $0,525 \pm 0,05$ г, или, как минимум, на 0,102 г (19,4%) больше, чем в контрольной группе, где аналогичный показатель был 0,321 - 0,590 г, в среднем $0,423 \pm 0,06$ г. При этом отмечено, что разница здесь оказалась статистически недостоверной.

Назначение минерального энтеросорбента МРШ телятам молочного периода и выпаивание его им в виде взвеси вместе с молозивом или молоком, как в лечебных, так и в профилактических целях, сопровождалось выраженным ростостимулирующим влиянием и одновременно благоприятными клинико-физиологическими эффектами. Таким образом, наши исследования подтверждают, что МРШ в производственных условиях при введении в рацион новорожденным телятам действует и как неспецифический энтеросорбент (снижаются количество случаев и сроки выздоровления молодняка при желудочно-кишечных расстройствах), и как своего рода корректор обменных процессов в организме животных. Это подтверждают клинические, копрологические, гематологические и производственные показатели.

Обобщая полученные результаты исследований в свиноводстве мы отмечали достоверное повышение уровня общего белка в сыворотке крови поросят опытных групп. Кроме того, отмечена тенденция повышения уровня содержания β - и γ - глобулиновых белковых фракций на фоне снижения α - глобулиновой фракции. При этом все показатели

оставались в пределах физиологических норм, характерных для данной группы животных.

Это позволяет говорить об усилении синтеза белка в организме, а также о стимулировании развития неспецифического иммунитета у поросят.

Введение минеральной добавки энтеросорбента МРШ в рацион поросят улучшает некоторые биохимические показатели их крови и поэтому мы рекомендуем использовать данный энтеросорбент в промышленном свиноводстве.

Проведенные исследования убедительно показали, что предлагаемые модификации аморфного активного диоксида кремния с витагмалом - МАДК-вита, с виролитом - МАДК-ви́ро, в чистом виде - АДК или микронизированная рисовая шелуха - МРШ с зеленым чаем или какао-вещью обладают определенными энтеросорбирующими и детоксикационными свойствами (опыты на крысах при ртутном отравлении) которые практически не уступают по терапевтическому эффекту микронизированному лигнину и микронизированным дрожжам. Кроме того, МРШ и АДК могут быть поставщиками биологически активных веществ. Примером этого являются МАДК-ви́ро и МАДК-вита.

Простая технология включения вышеперечисленных разработанных модификаций диоксида кремния для молодняка сельскохозяйственных животных и птицы позволит получать дополнительную животноводческую продукцию. Предложенные препараты рекомендуем применять для профилактических и лечебных целей в различных отраслях животноводства, включая птицеводство.

БИОПРЕПАРАТЫ НА ОСНОВЕ БАКТЕРИЙ РОДА *PSEUDOMONAS* ДЛЯ СТИМУЛЯЦИИ РОСТА РАСТЕНИЙ И ЗАЩИТЫ ОТ ВРЕДИТЕЛЕЙ

Ломакин А.А., Викторов Д.А., Воротников А.П., Лисихин А.А.,
Горшков И.Г., Гринева Т.А., Куклина Н.Г., Васильев Д.А.

ФГБОУ ВПО "Ульяновская государственная сельскохозяйственная
академия им. П.А. Столыпина"

Уникальный код статьи: 532185ec08b0d

Долгое время считалось, что внесение удобрений только улучшает почву. В неограниченном количестве на аграрных предприятиях использовались различные химикаты для увеличения показателей, не задумываясь о побочном ущербе не только экологии, но и самим людям. Часто не учитывались ни состав почвы, ни соотношение различных элементов минеральных удобрений. Практически любое вносимое удобрение, даже при соблюдении всех необходимых правил использования, усваивается не более чем на 50 %, а избыток хотя бы одного элемента непременно подавляет действие других. Химикаты, попадающие в водоёмы, наносят вред, ускоряя развитие сине-зеленых водорослей.

За последние годы в постоянной битве против насекомых-вредителей и возбудителей болезней большое внимание уделяется препаратам биологического происхождения. Биологические препараты – это средства защиты растений, изготовленные на основе живых микроорганизмов или продуктов их жизнедеятельности. Научно доказано, что они экологически безопаснее пестицидов химического происхождения, так как не дают высокий уровень уничтожения микроорганизмов и насекомых за короткое время. Как правило, биологические средства защиты обладают узкой избирательной способностью, тем самым не наносят ущерб человеку и окружающей среде в сравнении с химическими пестицидами.

Бактерии рода *Pseudomonas* являются наиболее перспективными агентами биологического контроля заболеваний сельскохозяйственных растений, так как обладают не только антагонистическим воздействием на почвенные фитопатогены, но и способны улучшать рост культурных растений. По данным ряда исследований известно, что, являясь типичными представителями ризосферы растений и обладая высокой

скоростью роста, интродуцированные псевдомонады успешно колонизируют ризосферу растения-хозяина, вытесняя фитопатогенов.

Все изученные к настоящему времени механизмы положительного влияния бактерий рода *Pseudomonas* на растения можно условно разделить на два типа:

1) прямая или непосредственная стимуляция роста растений за счет синтеза различных метаболитов, полезных для растений;

2) стимуляция роста растений за счет вытеснения и подавления развития фитопатогенов и микроорганизмов, угнетающих рост растений.

На данный момент в России зарегистрировано всего три биопрепарата на основе живых штаммов бактерий рода *Pseudomonas*, используемых в качестве средств биологической защиты растений [5]: Планриз (на основе *Pseudomonas fluorescens*), Псевдобактерин-2 (на основе *Pseudomonas aureofaciens*) и Бинорам (на основе группы штаммов *Pseudomonas fluorescens*). Однако их применение в различных регионально-климатических зонах даёт не всегда положительные результаты.

Коллективом авторов проведены комплексные исследования по созданию нового конкурентоспособного биопрепарата на основе штаммов бактерий *Pseudomonas chlororaphis* и *Pseudomonas fluorescens* для стимуляции роста растений и защиты от вредителей.

Разрабатываемый биопрепарат позволит с максимальной эффективностью использовать его на различных территориях, благодаря включению в его состав бактериальных штаммов с широким диапазоном рабочих температур, устойчивости к вымерзанию и засухе. Предлагаемая технология применима в масштабах любого аграрного комплекса, не требует значительных капитальных затрат, сооружений, оборудования, проста в применении и позволяет получить значительную дополнительную прибыль в короткие сроки, а так же характеризуется следующими преимуществами: компоненты биопрепаратов не накапливаются в растениях и не вызывают привыкания; входящие в состав биопрепарата штаммы обладают биодеструктивной активностью – способностью расщеплять растительные остатки; биопрепараты обладают уникальной способностью повышать иммунитет растений.

Литература

1. Викторов, Д.А. Роль *Pseudomonas fluorescens* для науки и практики / Д.А. Викторов, А.М. Артамонов, И.И. Богданов // Ветеринарная медицина XXI века: инновации, опыт, проблемы и пути их решения: Материалы Международной научно-практической конференции,

- Ульяновск, 2011. - Т. 3. - С. 67-69.
2. Викторов Д.А. Усовершенствование методов выделения, идентификации и индикации бактерий *Pseudomonas putida* // Автореф. дис. ... канд. биол. наук. - Саратов. - 2011. - 22 с.
 3. Гринева, Т.А. Бактерии *Pseudomonas chlororaphis* в научном и практическом отношении / Т.А. Гринева, Д.А. Викторов, Д.А. Васильев // Аграрная наука и образование на современном этапе развития: опыт, проблемы и пути их решения: Материалы IV международной научно-практической конференции, Ульяновск, 22-24 ноября 2012. - Т. 1. - С. 249-254.
 4. Гринева, Т.А. Схема выделения *Pseudomonas chlororaphis* / Т.А. Гринева, Д.А. Викторов, Д.А. Васильев // Вестник ветеринарии. - Ставрополь: «Энтропос», 2013. - №64(1/2013). - С. 18-20.
 5. Список пестицидов и агрохимикатов, разрешенных к применению на территории Российской Федерации, 2001.

АНТИМИКРОБНАЯ АКТИВНОСТЬ ЭФИРНЫХ МАСЕЛ

Лосева А.В.

Гродненский государственный университет
им. Я. Купалы, г.Гродно, Беларусь

Уникальный код статьи: 53288d06831eb

Эфирное масло – летучая, маслянистая жидкость, нерастворимая в воде, с сильным запахом, присущим многим видам растений. Растения обладают разной способностью вырабатывать эфирные масла. Около 80 тыс. видов растений-эфироносов, продуцирующих эфирные масла и представленных семьюдесятью семействами, содержат натуральные душистые вещества, однако промышленное значение имеют всего 150-200 видов. Эфирные масла встречаются в различных частях растений: в цветках, листьях, плодах, а иногда и в подземных частях [1; 2]. Лекарственное применение эфирных масел позволяет решать многие задачи, с которыми сталкивается медицинская практика как при лечении, так и при профилактике заболеваний. Важным положительным фактором является относительно низкая токсичность эфирных масел, способность проявлять активность в дозах, которые меньше токсических. При этом, естественно, имеет место высокий коэффициент безопасности. Важно отметить агрессивность эфирных масел по отношению к микроорганизмам, которая сочетается с их совершенной безвредностью для организма человека. Антисептическая способность эфирных масел не слабеет, не уменьшается со временем, и организм не привыкает к ароматическим лечебным средствам [3].

Цель нашей работы – изучение антимикробной активности эфирных масел пятнадцати видов растений. Исследовали антимикробную активность эфирных масел : можжевельника (*Juniperus communis* L.), сосны (*Pinus sylvestris* L.), гвоздики (*Caryophyllus aromaticus* L.), мелиссы (*Melissa officialis* L.), эвкалипта (*Eucalyptus globulus* Labill.), лаванды (*Lavandula angustifolia* Mill.), туи (*Thuja occidentalis* L.), апельсина сладкого (*Citrus sinensis* (L.) Pers.), розы (*Rosa damascena* Mill.), кедра (*Cedrum atlantica* Manetti), цитруса (*Citrus medica* L.), чайного дерева (*Melaleuca alternifolia* Maid.), виноградных косточек (*Vitisi viniferae* L.), кориандра (*Coriandrum sativu* L.), алоэ (*Aloe barbadensis* Mill.).

Экспериментальную работу проводили двумя методами: контактным методом диффузии в агар с использованием дисков и бесконтактным

методом. Взвесь изучаемых микроорганизмов засекали сплошным «газоном» на плотную питательную среду (*Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* засекали на чашки Петри с мясопептонным агаром; *Candida albicans* и *Saccharomyces cerevisiae* засекали на чашки со средой Сабуро). На засеянную тест-культурой поверхность среды с помощью стерильного пинцета накладывали стерильный бумажный диск $d=5$ мм, пропитанный эфирным маслом. Чашки инкубировали в термостате в течение 18-24 часов при температуре 37°C. Опыты проводили с 5 тест-культурами для каждого из 15 эфирных масел.

При бесконтактном методе исследования антимикробной активности эфирных масел засеянные тест-культурами чашки Петри переворачивали вверх дном и в верхнюю крышку чашки (которая оказалась снизу) помещали квадратик фильтровальной стерильной бумаги, пропитанной одним из 15 эфирных масел. Чашки не переворачивали обратно (вверх дном) и ставили в термостат. Инкубировали в течение 18-24 часов при температуре 37°C. Опыты проводили с пятью тест-культурами для каждого из 15 эфирных масел. На 2-е сутки учитывали зону задержки роста на чашках с посевами. По зоне задержки роста тест-культур оценивали бактерицидную и микоцидную активность эфирных масел. На 4-е сутки еще производили замеры зоны задержки роста для выявления бактериостатической и микостатической активности эфирных масел.

При исследовании образцов эфирных масел была выявлена различная степень антимикробной активности по отношению к исследуемым тест-культурам. При изучении антимикробной активности эфирных масел контактным методом с использованием дисков наибольшую активность проявили масла: можжевельника, сосны, гвоздики, кориандра, Melissa и лаванды. Наименьшую антимикробную активность проявили эфирные масла: розы, цитруса, виноградных косточек, алоэ. По учету результатов вторых суток большинство испытуемых эфирных масел проявило бактерицидную и микоцидную активность, т.е. на чашках Петри вокруг дисков, пропитанных одним из 15 эфирных масел, мы наблюдали отчетливые зоны задержки роста. На четвертые сутки повторно просматривали посеи, и было обнаружено, что часть чашек полностью заросло. Следовательно, данные эфирные масла оказывали лишь бактериостатическое и микостатическое действие в течение 48 часов.

В эксперименте, проведенном бесконтактным методом, все испытуемые образцы эфирных масел слабее оказывали антимикробное действие на микроорганизмы. В этом случае испытуемые масла не

контактировали с тест-культурами и проявили большей степени бактериостатическую и микостатическую активность. Наибольшую антимикробную активность проявили эфирные масла гвоздики и Melissa (таблица).

Таблица 1. Диаметр зон задержки роста при исследовании антимикробной активности эфирных масел

Эфирные масла	Диаметр зон задержки роста тест-культур, мм									
	Бесконтактный метод					Контактный метод дисков				
	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>B. cereus</i>	<i>C. albicans</i>	<i>S. cerevisiae</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>B. cereus</i>	<i>C. albicans</i>	<i>S. cerevisiae</i>
Можжевельник	0	0	0	0	0	27	22	20	20	10 микостат
Сосна	0	0	90	0	0	15	20	0	14	18
Гвоздика	75	0	47	35	30	37	17	25	24	22
Мелисса	90	0	90	40 микостат.	90	23	0	90	30	90
Эвкалипт	0	0	20 бакт. стат	0	30	25	0	15	12	17
Лаванда	0	80 бакт. стат.	0	0	0	90	0	90 бакт. стат.	18	23
Туя	90	0	0	0	0	30	22	80 бакт. стат.	13	37
Апельсин	90	0	0	0	90	12	55 бакт. стат	15	15	90
Роза	0	0	0	0	0	10	28	11	18	10
Кедр	90 бакт. стат	0	90 бакт. стат.	0	0	13	60 бакт. стат	10	0	0
Цитрус	0	0	0	0	0	0	15	15	17	10
Чайное дерево	30	80 бакт. стат.	80 бакт. стат.	0	0	30	20	12	10	12
Виноградных косточек	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10
Кориандр	25	0	90 Бакт. стат	0	0	60	20	25	16	20
Алоэ	0	0	0	0	0	12	10	10	15	10

Таким образом, в результате проведения исследований контактным методом дисков выявили наибольшую антимикробную активность эфирных масел можжевельника, сосны, гвоздики, кориандра, мелиссы и

лаванды. В эксперименте проведенном бесконтактным методом наибольшую антимикробную активность проявили эфирные масла гвоздики и Melissa. Большая активность эфирных масел при исследовании контактным методом дисков обусловлена непосредственным взаимодействием масла с тест-культурами, что отсутствует при бесконтактном методе. В двух экспериментах наибольшая антимикробная активность выявлена у Melissa и гвоздики, по сравнению с другими исследуемыми эфирными маслами.

Литература

1. Задорожный, А.М. Справочник по лекарственным растениям / А.М. Задорожный, А.Г. Кошкин, С.Я. Соколов и др. – М.: Лесн. пром-сть, 1988. – 415 с.
2. Замятина, Н. Мир растительных запахов / Наталья Замятина, Игорь Сокольский // Наука и жизнь. – 2011. – №9. – с.108-111.
3. Солдатченко, С.С. Ароматерапия. Профилактика и лечение заболеваний эфирными маслами / С.С. Солдатченко, Г.Ф. Кащенко, А.В. Пигаев. – Издание второе, испр. и доп. – Симферополь: Таврида, 2002. – 109 с.

ИССЛЕДОВАНИЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ ИМПУЛЬСНОГО ПОЛЯ НА КАЧЕСТВЕННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ГОВЯДИНЫ I КАТЕГОРИИ

Лузан А.А.

ФГБОУ Кубанский государственный аграрный университет

Уникальный код статьи: 53222e4aeff89

В пищевой промышленности все чаще стараются добиться более длительного хранения мясной продукции, а так же того, чтобы с течением времени качественные характеристики не уходили на второй план.

В большинстве случаев для данных действий применяются различные химические добавки, негативно влияющие не только на качество продукции, но и в дальнейшем и на здоровье людей, потребляемых данные продукты. [2]

В ходе экспериментов была установлена зависимость между временем обработки, напряжением магнитного поля и КМАФАнМ (количество аэробных и факультативно анаэробных микроорганизмов). В таблице 1 представлены экспериментальные данные, а на рисунке 1 наглядно представлена зависимость данных параметров.

Таблица 1. Эффективность обработки мясного сырья заданной ЧЭМП.

Исследуемые образцы	КМАФАнМ КОЕ/г (-3), единиц																
	Контр	ЧМП при 10.0 Гц, U = 4,5 мин				ЧМП при 10.0 Гц, U = 5,5 мин				ЧМП при 10.0 Гц, U = 6,5 мин				ЧМП при 10.0 Гц, U = 7,5 мин			
Время обработки, мин	0	15	30	45	60	15	30	45	60	15	30	45	60	15	30	45	60
Говядина I категории	> 300	270	180	106	47	273	175	100	53	268	184	97	48	265	179	110	57
Параметры		ЧМП при 100.0 Гц, U = 4,5 мин				ЧМП при 100.0 Гц, U = 5,5 мин				ЧМП при 100.0 Гц, U = 6,5 мин				ЧМП при 100.0 Гц, U = 7,5 мин			
		> 300	190	135	100	78	197	130	110	80	181	139	99	77	189	189	102

Из данных проведенного опыта видно, что оптимальные значения возможно получить при следующих исследуемых параметрах: частота магнитного поля - 10 Гц; напряжение - 4,5 В; время обработки - 60 минут. Сравнительные графики представлены на рисунке 1а) и 1б)

При гистологическом исследовании поперечнополосатой мышечной ткани имелись структурные изменения в мышечных волокнах, которые характеризовались лизисом и миофибрилл. При этом сами мышечные волокна были фрагментированы (рисунок 2, 3). Соединительная ткань между мышечными волокнами и между мышечными пучками также была в состоянии распада и представляла гомогенную белковую массу, которая практически не окрашивалась.

Ядра в мышечных волокнах располагались по периферии и имели овальную или вытянутую форму. В цитоплазме волокон просматривались миофибриллы, которые придавали им поперечно-полосатую исчерченность (рисунки 2, 3). [1]

Применение электромагнитной обработки может значительно снизить затраты на предварительную обработку мяса и субпродуктов без использования химических реагентов, а так же данный способ обработки, при заданных параметрах позволяет сократить количество КМАФАнМ до минимума, что в свою очередь увеличивает срок хранения образцов говядины I категории.

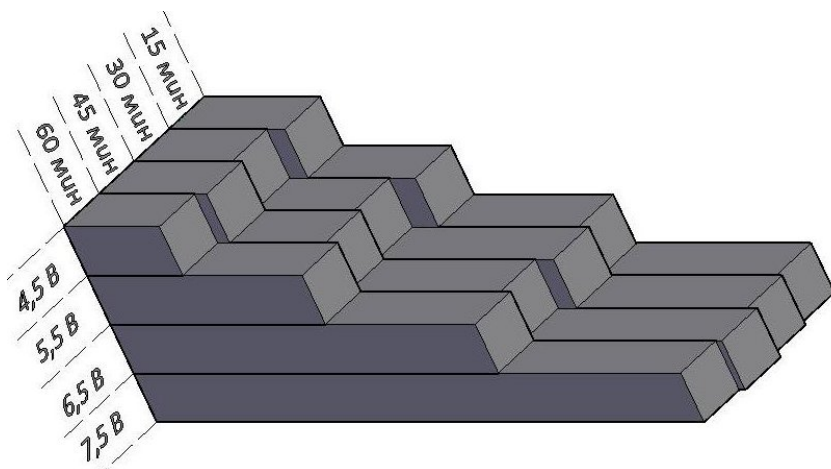


Рис. 1. Влияние параметров импульсного поля на бактериологическую обсемененность исследуемых образцов (говядина I категории): а) при частоте магнитного поля 10,0 Гц

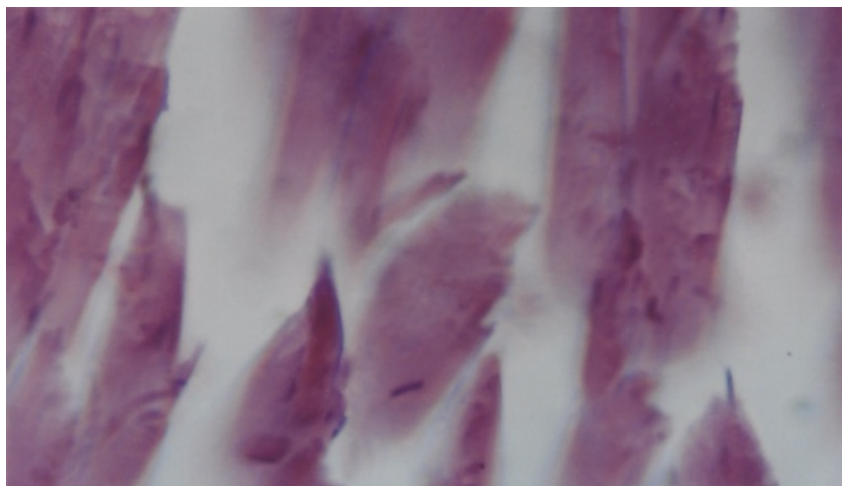


Рис. 2. Мышечные волокна поперечно-полосатой мышечной ткани крупного рогатого скота после обработки



Рис. 3. Мышечные волокна поперечно-полосатой мышечной ткани крупного рогатого скота без обработки

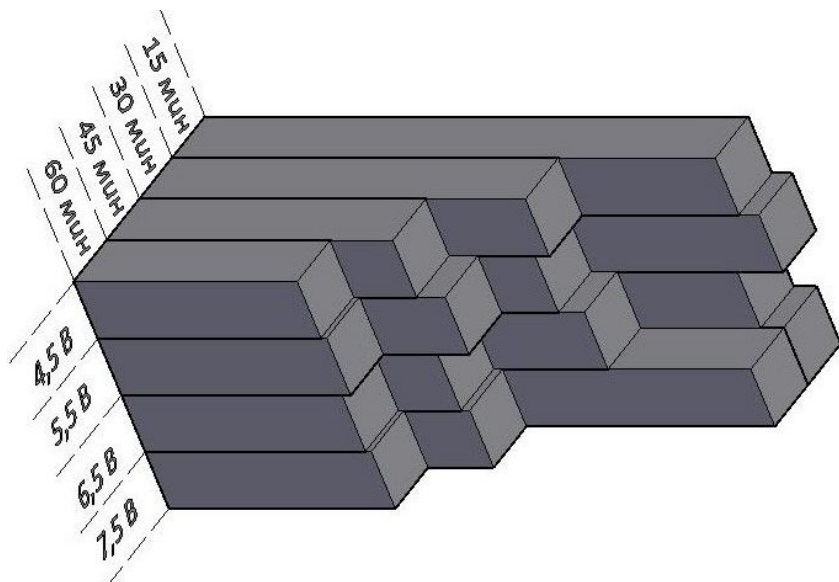


Рис. 4. Влияние параметров импульсного поля на бактериологическую обсемененность исследуемых образцов (говядина I категории): б) при частоте магнитного поля 100,0 Гц

Литература

1. Влияние электромагнитных полей сверхвысокочастотного диапазона на бактериальную клетку: Учебн. пособие для вузов / В.В. Игнатов, А.П. Панасенко, Ю.П. Радин, Б.А. Шендеров; Под ред. В.В. Игнатова. - Саратов.: Изд-во СГУ, 1978.-80. с.
2. Воронов А.С./ Электромагнитная обработка с/х продукции// г. Краснодар Советская Кубань. 1999г.

СПОСОБ ПОВЫШЕНИЯ ВСХОЖЕСТИ СЕМЯН ТОМАТОВ

Мащенко Н.Е., Боровская А.Д.

Институт генетики, физиологии и защиты растений АН Молдовы

Уникальный код статьи: 531ee25880117

Благодаря своим ценным питательным свойствам, большому разнообразию сортов и высокой отзывчивости на применяемые приемы выращивания томат (*Solanum lycopersicum*) сегодня одна из самых популярных овощных культур. Применение регуляторов роста способствует повышению всхожести семян томатов, которая обычно сохраняется не больше 4-5 лет, формированию крепкой и компактной рассады, увеличению урожайности и качества полученных плодов [2, 3, 5].

В последнее время в условиях интенсивного земледелия стимуляторы роста приобретают все большую популярность. Они повышают урожайность сельскохозяйственных культур, сокращают сроки созревания, улучшают устойчивость к болезням и неблагоприятным факторам внешней среды, ускоряют прорастание и укоренение, уменьшают опадение завязей и предуборочное опадение плодов, выполняют многие другие функции. Передозировка этих соединений очень опасна: можно не только не получить ожидаемого эффекта, но столкнуться с прямо противоположным результатом [4].

Для испытания биологической активности регуляторов роста применяются самые разные способы биотестирования, благодаря чему открываются новые перспективы применения их в разнообразных областях растениеводства.

Целью настоящей работы явилось изучение рострегулирующих свойств биологически активных веществ гликозидной природы, полученных из широко распространенного дикорастущего растения льнянка обыкновенная (*Linaria vulgaris* Mill.), известного в народной и традиционной медицине в качестве антибактериального и фунгитоксического средства, применяемого при тонзиллите, астме, дерматозах и пр. Для реализации поставленной цели экстракт свежего растения *Linaria vulgaris* Mill., собранного в период цветения, был очищен хроматографическими методами в различных системах растворителей до получения суммы гликозидов, далее именуемых линариозидами, состоящей из четырех соединений, химическая

структура которых была идентифицирована [1]. Объектом, с помощью которого осуществляли тестирование, служили семена томатов с низкой всхожестью раннеспелого высокоурожайного гибрида Гармония, которые замачивали в водных растворах суммы линариозидов в концентрациях 0,0001%, 0,001%, 0,005%, и 0,01% в течение 24 часов. Для сравнения использовали семена, замоченные в таких концентрациях стероидного гликозида экостим, экстрагируемого из семян томата. Контролем служили семена, замоченные в дистиллированной воде. Проращивали обработанные семена при постоянной температуре 23-25° С. Опыты проводили в 4-х кратной повторности.

Во всех вариантах исследования отмечено стимулирующее влияние обработки растворами гликозидов на ростовые процессы семян томатов уже на самой ранней стадии онтогенеза. Результаты наших исследований по изучению энергии прорастания и общей всхожести приведены в таблице.

Таблица 1. Влияние гликозидов на энергию прорастания и общую всхожесть семян томатов

Вариант	Концент- рация, %	Энергия прорастания		Общая всхожесть	
		%	% к контролю	%	% к контролю
Контроль		62,0		69,3	
Экостим	0,0001	62,3	0,5	72,5	4,6
	0,001	68,3	10,2	76,0	9,7
	0,005	67,3	8,5	74,0	6,8
	0,01	64,5	4,0	74,8	7,9
Линариозиды	0,0001	66,3	6,9	74,3	7,2
	0,001	69,3	11,8	76,5	10,4
	0,005	63,8	2,9	71,8	3,6
	0,01	58,0	-6,5	66,8	-3,7

Согласно нашим данным, уже на 5-й день проращивания количество проросших семян, обработанных растворами суммы линариозидов, превысило контроль, за исключением варианта, где замачивание производили в 0,01%-ном растворе испытуемого БАВа. В данном варианте применение наиболее высокой концентрации последнего ингибирует энергию прорастания семян на 6,5% по сравнению с контрольным. Наибольший стабильный стимулирующий эффект был получен в варианте с применением для замачивания семян 0,001%-го раствора суммы гликозидов. В этом варианте энергия прорастания

превышала контроль на 11,8% и показатели варианта с применением препарата экостим в такой же концентрации – на 15,7%. При последующих учетах тенденция повышения всхожести сохранилась. Показатели общей всхожести данного варианта превосходили контрольный на 10,4% и вариант с применением экостима - на 7,2%.

При изучении влияния линариозидов на такой важный для рассады томатов признак, как длина проростка, выявлен стимулирующий эффект во всех вариантах. Самые высокие показатели получены при замачивании семян в 0,0001%-ном растворе гликозида. В данном варианте длина проростков на 11,4% превосходила результаты контрольного опыта, где семена замачивали в воде. При замачивании семян в растворах препарата экостим стимулирующий эффект на длину проростки выявлен в варианте с концентрацией раствора 0,01%.

Таким образом, предпосевное замачивание семян томата в водных растворах суммы гликозидов из льнянки обыкновенной способствует повышению энергии прорастания, общей всхожести и увеличению длины проростков, что гарантирует формирование хорошо развитой корневой системы и качественной рассады, являющейся залогом высокого урожая томатов.

Литература

1. .N.Maschenko, P.Kintia, A.Gurev, A.Marchenko, C.Bassarello, S.Piacente, C.Pizza. Glycosides from *Linaria vulgaris* Mill. Chem. Journal of Moldova, v.3, No.2, 2008, pp.98-100.
2. Nohara, T.; Yahara, S.; Kinjo, J. Bioactive glycosides from solanaceous and leguminous plants. Natural Product Sciences 1998, V.4, p.203-214.
3. Боровская А.Д., Недова И.И., Кинтя П.К., Градинар Д.Г. Влияние природного биорегулятора хиосциамозид на жизнеспособность семян томатов. //Материалы X междун. симпозиума «Новые нетрадиционные растения и перспективы их использования», 17-21 июня 2013, Пущино. Том II, Москва. Изд. Рос. Университета дружбы народов, 2013., с.182-185.
4. Варгина Г.Б., Швец С.А. Кинтя П.К. Влияние природных биологически активных веществ на рост и развитие растений // Регуляторы роста и развитие растений: Тез. докл. IV междун. конф. – М., 1997. – 250 с.
5. Кинтя П.К., Боровская А.Д., Маковой М.Д., Ботнарь В.Ф. Влияние природных биорегуляторов на жизнеспособность семян томатов// Атериалы междун. конференции, посвященной 200-летию Никитского ботанического сада, «Дендрология, цветоводство и садово-парковое строительство», г. Ялта, Украина, 5-8 июня 2012 г. Ялта, 2012, стр.115.

ВОЗМОЖНОСТЬ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКИХ АГЕНТОВ ДЛЯ УЛУЧШЕНИЯ КАЧЕСТВА ПИТЬЕВОЙ ВОДЫ Г. ТЮМЕНИ.

Медведева Т.М., Скрыбин М.Е.

ООО, НТЦ «Экология»,
ФГБОУ ВПО «Тюменский государственный университет»

Уникальный код статьи: 5326b4f2d87c8

В качестве источника питьевого водоснабжения в России все шире используются подземные воды. Но в свою очередь, вода подземного источника водоснабжения не всегда пригодна для использования в дальнейших питьевых и производственных нуждах [1]. Проблема необходимости доочистки природных подземных вод характерна и для Тюменской области. Для города Тюмени одним из источников питьевого водоснабжения является подземная вода с Велижанского и Тавдинского месторождений Западно-Сибирского артезианского бассейна. Очистка подземной воды осуществляется на Велижанских водоочистных сооружениях, находящихся в 30 км от города. Характерной особенностью подземной воды, подаваемой на очистные сооружения, являются превышения по таким основным химическим показателям как железо и марганец [2].

Проанализировав данные источников литературы, нами были выявлены основные возможные причины, способствующие снижению качества питьевой воды (как по химическим, так и по органолептическим свойствам) – это повышенное содержание в ней соединений железа, марганца и присутствие железобактерий. Вместе с тем, железобактерии могут оказывать как положительное влияние – участвовать в качестве биологических агентов очистки природных питьевых вод [3-7], так и отрицательное – вызывать вторичное загрязнение в системах распределительной сети путем коррозии материалов систем [8-13].

Железобактерии являются типичными представителями микрофлоры подземных вод. Железобактерии – это физиологическое, экологическое понятие, которое объединяет микроорганизмы, отлагающие на своих поверхностях окислы железа, марганца и образующие их оформленные осадки [13]. К группе железобактерий относятся организмы, принадлежащие к различным систематическим группам. Концентрация

железобактерий в подземных водах может достигать сотен клеток в 1 мл воды, а концентрация по биомассе – до 100 мг/л и более. Однако, железобактерии достаточно избирательны к физико-химическим условиям обитания в пределах своего ареала [4, 5].

Процесс биообрастаний и их микробный состав в системах питьевого водоснабжения не изучен в связи с тем, что качество подземной воды, в соответствии с действующими в практике водоснабжения нормативными документами, традиционно устанавливается по наличию в ней только тех микроорганизмов, которые представляют санитарно-эпидемиологическую опасность для потребителя [5]. Поэтому изучение микроорганизмов, принимающих основное участие в формировании биообрастаний трубопроводов, оборудования и сооружений систем питьевого водоснабжения из подземных источников является чрезвычайно актуальным.

Деятельностью микроорганизмов может быть обусловлено от 50 до 80% коррозионных повреждений трубопроводов и оборудования, что может быть следствием ухудшения качества питьевой воды в разводящих сетях по физико-химическим и бактериологическим показателям [5]. Биоповреждения основаны как на непосредственной активности, так и на агрессивных продуктах их жизнедеятельности [9, 11]. Важность этой задачи определяется масштабами применения металлических труб в системах водоснабжения, которые, как правило, не имеют внутренних защитных покрытий. По этой причине трубопроводы систем водоснабжения в значительной мере подвержены коррозионным разрушениям и обрастаниям [8]. В результате возникают последствия ухудшения качества питьевой воды: заохривания, химические и микробиологические процессы отложения трудноорастворимых соединений железа, марганца и других химических элементов, вызванные изменением физико-химических условий; отложение карбонатных соединений, явление слизи вследствие массового размножения микроорганизмов [5, 10].

Механизм биологического обезжелезивания и деманганации воды базируется на способности железобактерий окислять железо и марганец в нерастворимые формы, удерживающиеся загрузочным материалом фильтров очистки питьевой воды. Бактерии используют выделяющуюся при этом энергию в своих основных процессах жизнедеятельности и выделяют в качестве одного из продуктов бактериального метаболизма перекись водорода [3-5].

Учет микробиологического фактора, дополнительно к физико-химическим показателям в оценке качества питьевой воды,

позволит решить проблемы, связанные с очисткой воды источников водоснабжения от железа и марганца. Своевременное выявление бактериологических агентов, участвующих в окислении и восстановлении железа и марганца, позволяет предотвратить вторичное загрязнение воды, при рациональном использовании бактерицидов, которые исключают повторное развитие биологической коррозии, что в свою очередь приведет к снижению затрат на планово-восстановительные работы и увеличение энергоэффективности систем водоочистки и водоснабжения.

Литература

1. Порошин, Д.Е. Проблемы подземных вод / Д.Е. Порошин, В. В. Савин // *Питьевая вода*. - 2006. - №5. - С. 10-12.
2. Обзор «Экологическое состояние, использование природных ресурсов, охрана окружающей среды Тюменской области» / Тюменский областной комитет охраны окружающей природной среды и природных ресурсов, Тюмень, 2010. - 165 с.
3. Грабович, М.Ю. Формирование микробиологического состава песчаных фильтров водоподъемных станций / М.Ю. Грабович, Г.А. Дубинина, В.Ю. Букреева [и др.] // *Организация и регуляция физиолого-биохимических процессов ВГУ*. - 2008. - вып.10. - С. 298-303.
4. Дубинина, Г.А Сорбция коллоидных соединений оксидов железа и марганца с помощью железобактерий на песчаных загрузках очистных сооружений водоподъемных станций / Г.А. Дубинина [и др.] // *Сорбционные и хроматографические процесс*. - 2009. - Т. 9, вып. 4. - С. - 254-256.
5. Менча, М.Н. Железобактерии в системах питьевого водоснабжения из подземных источников / М.Н. Менча // *Водоснабжение и санитарная техника*. - 2006. - №7. - С. 25-32.
6. Ничипор, В.В. Рациональные методы и режимы обезжелезивания подземных вод / В.В. Ничипор - Мн.: БелНИИНТИ, 1991. - 20 с.
7. Седлуха, С.П. Биологические методы очистки подземных вод от железа / С.П.Седлуха, О.С. Софинская // *Вода и экология: проблемы и решения*. -2001. - № 1. - С. 13-21.
8. Бекренев А.В. Выбор реагентной технологии антикоррозийной обработки воды водораспределительной сети Санкт-Петербурга / А.В. Бекренев, А.К. Кинебас, Ф.В.
9. Звягинцев, Д.Г. Взаимодействие микроорганизмов с твердыми поверхностями / Д.Г. Звягинцев. - М.: Наука, 1973. - 175 с.

10. Кармалов, А.И. Анализ причин кольматации и коррозии оборудования водозаборных скважин в условиях повышенной техногенной нагрузки / А.И. Кармалов, С.В. Филимонова // Водоснабжение и санитарная техника, 2011. - ч. 1 - №9. - С. 25-29.
11. Нетрусова, А.И. Экология микроорганизмов / Нетрусова А.И. -М: Академия, 2004. - 273 с.
12. Раилкин, А.И. Процессы колонизации и защита от биообрастания / А.И. Раилкин. - СПб: Изд-во С.-Петербург. ун-та, 1998. - 272 с.
13. Шахурин, В.И. Обеззараживание и защита емкостного оборудования от биологических обрастаний / Шахурин В.И. , Басаргин С.В., Кушнирук М.Ю.// Водоснабжение и санитарная техника, 2006. - ч. 1, №3. - С. 16-20.

НОВЫЕ ПЕРСПЕКТИВНЫЕ СТИМУЛЯТОРЫ РОСТА РАСТЕНИЙ

Медведева Н.В., Медведев П.Н.

ТГПУ им.Л.Н.Толстого

Уникальный код статьи: 531762a521eee

Изучение экологической пластичности основных сельскохозяйственных культур для реализации их потенциальной максимальной продуктивности в определенных агроклиматических условиях на определенном уровне развития с/х производства является важным направлением развития народного хозяйства России. Неблагоприятные абиотические факторы (засуха, заморозки, неравномерное распределение ресурсов в течение вегетационного периода) существенно снижают урожайность растений, что в свою очередь, сказывается на рентабельности растениеводческой отрасли.

Ожидаемые выгоды в сельском хозяйстве для России связывают с ростом урожайности и увеличением площади земель, пригодных для земледелия. Более внимательное рассмотрение агрогеографии России показывает, что сегодня главный фактор, ограничивающий урожайность, - нехватка воды в вегетационный период. В соответствии со Стратегическим прогнозом падение урожайности может превысить 20% после 2015 г. и стать критическим для экономики страны («Стратегический прогноз изменений климата в Российской Федерации на период до 2010-2015 гг. и их влияния на отрасли экономики России»). По прогнозам специалистов, наряду с ростом среднемировой температуры амплитуда температурных колебаний будет возрастать, увеличится число экстремальных холодных и жарких (засушливых) лет. Наряду с выведением новых засухоустойчивых сортов растений, большая роль отводится поиску новых регуляторов роста растений, повышающих устойчивость растений к неблагоприятным абиотическим факторам, в том числе и временному недостатку влаги [1].

Агроклиматические условия Тульской области в целом благоприятны для развития земледелия. Динамика основных агроклиматических показателей закономерно отражает тенденции изменения климатических условий на территории Нечерноземья (повышение температуры и снижение количества осадков в летний период).

Применение регуляторов и стимуляторов роста растений может оказаться ключевым звеном в решении проблем приспособления растений и

управления их продуктивностью. Особенностью действия новых регуляторов роста является то, что они не только ускоряют протекание физиологических и биохимических реакций в растениях и повышают устойчивость, но и являются экологически безопасными.

В качестве стимуляторов роста для повышения адаптационного потенциала растений нами изучаются водные вытяжки из нетрадиционных культур, содержащие комплекс биологически активных веществ, антиоксидантов, макро- и микроэлементов. К изучаемым растениям относятся амарант, якон, вербена, выращиваемые в условиях открытого грунта Тульской области. Использование ростостимулирующих препаратов нового поколения (фенольных соединений) позволит повысить продуктивность и реализовать генетический потенциал основных с/х культур и интродуцентов в конкретных климатических и территориальных условиях.

Действующее вещество – полифенольные соединения.

Действие стимуляторов: Проявляется активность на растительных организмах в физиологически активных концентрациях. Доказано стимулирующее действие на энергию прорастания семян, их всхожесть, рост и развитие проростков яровой пшеницы, рапса, огурца, фасоли, сои при обработке семян растворами в концентрации 10^{-2} - 10^{-4} %. При этом наблюдалось ингибирующее действие на рост и развитие микрофлоры на поверхности семян, количество пораженных болезнями проростков снизилось на 25-40%. При обработке рассады перед высадкой в открытый грунт наблюдали сокращение периода адаптации («перебаливания») и наступление фенологических фаз на 3-5 дней раньше контрольных растений. Также было отмечено, что при более жестких неблагоприятных условиях действие стимуляторов было выражено сильнее, чем в оптимальных [2].

Применение: Использовать новые стимуляторы роста возможно в качестве предпосевной и предпосадочной обработок, а также в период вегетации растений независимо от срока предполагаемой уборки урожая. Обработка семян, проростков и растений позволяет повысить защитную систему за счет активации антиоксидантной системы или синтеза специфических защитных веществ, которые, в свою очередь, проявляют стимулирующее действие на процессы роста и развития растений. Водная вытяжка амаранта обладает высоким бактериостатическим и фунгицидным эффектом.

Безопасность использования – IV класс безопасности, использование безопасно для человека и животных.

Литература

1. Способы оптимизации интродукции якона в Тульской области с учетом динамики агроклиматических условий региона /Н.В. Сидорова, Л.С. Мельник, Л.Л. Кириллова, П.Ф. Кононков /Материалы IX Международного симпозиума "Новые и нетрадиционные растения и перспективы их использования", Пущино, 2011. - т.1, с.92
2. Элементы технологии возделывания и клоновый отбор якона в условиях открытого грунта нечерноземной зоны РФ/Медведева Н.В./автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата сельскохозяйственных наук / Всероссийский научно-исследовательский институт селекции и семеноводства овощных культур. Москва, 2011

РАЗРАБОТКА ПРОТОТИПОВ НАНО ВАКЦИНЫ ПРОТИВ ВИРУСА ТРАНСМИССИВНОГО ГАСТРОЭНТЕРИТА СВИНЕЙ И ИЗУЧЕНИЕ ИММУНОГЕННЫХ СВОЙСТВ

Меженный П.В., Староверов С.А., Волков А.А., Козлов С.В., Двоенко А.В.

Саратовский государственный аграрный университет им. Н.И. Вавилова,
ООО «НаноФарм-про», г. Саратов

Уникальный код статьи: 530e2dc85f793

Введение. Приоритетными направлениями в современной ветеринарной медицине является конструирование наноразмерных структур для адресной доставки лекарственных веществ [3,4], создание эффективных и безопасных лекарственных средств [1,2], а также разработка экспресс методов диагностики заболеваний различной этиологии [6].

Кроме того, в настоящее время стали очень актуальными исследования в области использования коллоидных частиц для конструирования нано модифицированных вакцин [6]. Выявлен ряд положительных свойств: уменьшение количества антигена поступающего в организм, сокращение времени иммунного ответа организма и направленность действия [5].

Материалы и методы. Нами был сконструированы прототипы нано-модифицированной вакцины против трансмиссивного гастроэнтерита свиней (ТГС), для этого были использованы коллоидные частицы селена и золота и цельные вирионы вируса ТГС. Для проведения иммунобиологических исследований полученных прототипов нано-модифицированных вакцин было сформировано по принципу аналогов 4 группы животных (морских свинок), по 9 голов в каждой. Иммунизацию животных проводили подкожно вдоль позвоночного столба, двукратно, с интервалом 10 дней. I группе вводили раствор антигена вируса ТГС в дозе 1 мл. II группе вводили конъюгат антигена вируса ТГС с коллоидным золотом в дозе 1 мл. III группе вводили конъюгат антигена вируса ТГС с коллоидным селеном в дозе 1 мл. IV группе (контроль) – вводили физиологический раствор в дозе 1 мл. Через 10 дней после последней инъекции для иммуноферментного анализа брали кровь для получения сыворотки. Определение концентрации интерлейкинов в сыворотке крови проводили при помощи наборов реагентов для иммуноферментного определения интерлейкинов

IL-1 β , IL-6 и INF- γ .

Результаты. Полученные в ходе экспериментов данные свидетельствуют, что наибольшая концентрация интерлейкинов INF- γ выделяется у животных иммунизированных антигеном, конъюгированным с коллоидными частицами селена и золота, и его концентрация составляет в отношении наночастиц золота $60,44 \pm 9,91$ пг/мл, а в отношении селена - $48,17 \pm 4,43$ пг/мл. ТГС - $44,17 \pm 3,57$ пг/мл, контроль - $34,15 \pm 4,54$ пг/мл. При исследовании у подопытных животных уровня интерлейкинов IL-1 β нами было установлено, что, наибольшее повышение концентрации интерлейкина IL-1 β наблюдалось в группе иммунизированной антигеном с коллоидным золотом, которое составила $8,10 \pm 0,74$ пг/мл. В группе, иммунизированной антигеном с коллоидным селеном и просто антигеном ТГС, концентрация интерлейкина IL-1 β составила $6,58 \pm 1,06$ пг/мл и $6,93 \pm 0,91$ пг/мл соответственно. У животных контрольной группы животными концентрация интерлейкина IL-1 β в крови составила $4,93 \pm 0,71$ пг/мл. При исследовании у подопытных животных уровня интерлейкина IL-6, отмечается аналогичная динамика как и с интерлейкином IL-1 β .

Выводы и обсуждение. Иммунизация лабораторных животных антигеном вируса трансмиссивного гастроэнтерита свиней, конъюгированным коллоидными частицами селена и золота, стимулирует выработку интерлейкинов в организме подопытных животных. Полученные данные свидетельствуют о повышении клеточного и гуморального иммунного ответа на профилактическую иммунизацию.

Литература

1. Башкирова Е.В., Путина С.Н., Волков А.А., [и др.] Конструирование инъекционной формы на основе силимарина и изучение ее биодинамических и токсикологических свойств. Вестник Саратовского госагроуниверситета им. Н.И. Вавилова. 2013. № 08. С. 4-6.
2. Енгашев С.В., Староверов С.А., Волков А.А., [и др.] Сравнительная характеристика биодинамики хелатного и декстранового комплексов железа. Ветеринария. 2013. № 6. С. 50-52.
3. Исаева А.Ю., Староверов С.А., Волков А.А. [и др.]. Изучение биологических свойств наноразмерной структуры на основе коллоидного селена *in vitro* // Ветеринарная патология. 2012. № 3 (41). С.111-114.
4. Исаева А.Ю., Староверов С.А., Волков А.А. [и др.]. Конструирование

- наноразмерной структуры на основе коллоидного селена // Ветеринарная патология. 2012. № 3 (41). С. 114-117.
5. Козлов С.В., Фомин А.С., Степанов В.С. [и др.] Конструирование коллоидного комплекса селена с лактоферрином и изучение его биодинамических свойств // Актуальные вопросы ветеринарной биологии. 2012. № 1. С. 27-32.
 6. Меженный П.В., Староверов С.А., Волков А.А., Козлов С.В., Ласкавый В.Н., Дыкман Л.А., Исаева А.Ю. Конструирование конъюгатов коллоидного селена и коллоидного золота с белком вируса гриппа и изучение их иммуногенных свойств // Вестник Саратовского госагроуниверситета им. Н.И. Вавилова. 2013. № 02. С. 29-32.
 7. Староверов С.А., Фомин А.С., Волков А.А., [и др.] Использование фаговых мини-антител для определения концентрации ферритина в сыворотке крови животных // Российский ветеринарный журнал. Сельскохозяйственные животные. 2012. № 4. С. 30-33.
 8. Сазыкина К.И., Енгашев С.В., Волков А. А., [и др.]. Конструирование комплексного антибактериального препарата на основе доксициклина, лактулозы и бромгексина // Ветеринарная патология. 2013. № 4 (46). С. 83-87.

ГЛУБИННАЯ КУЛЬТУРА ВЕШЕНКИ ЛЕГОЧНОЙ (PLEUROTUS PULMONARIUS): ИСПОЛЬЗОВАНИЕ В КАЧЕСТВЕ ПОСЕВНОГО МАТЕРИАЛА ДЛЯ ВЫРАЩИВАНИЯ ПЛОДОВЫХ ТЕЛ И ПОЛУЧЕНИЯ БЕЛКОВО-УГЛЕВОДНЫХ КОРМОВЫХ ПРОДУКТОВ

Мельникова Е.А., Квиткевич К.А., Миронов П.В.

ФГБОУ ВПО СибГТУ,
«Сибирский государственный технологический университет», г.
Красноярск

Уникальный код статьи: 5322cc4d29092

Шляпочные грибы (базидиомицеты) играют важную роль в первичной переработке растительной биомассы. Они утилизируют растительный органический субстрат, переводя его в доступные для дальнейшей биопереработки формы. В процессе своей жизнедеятельности они образуют в своем мицелии и в плодовых телах необходимые для их жизни органические вещества, многие из которых обладают биологической активностью. Грибы представляют собой автономные природные экосистемы, в которых генетически заложен механизм ферментационного разложения природного материала, что позволяет использовать их для утилизации растительных отходов сельского хозяйства с получением белково-углеводных кормовых добавок для животных и птиц.

Среди отходов сельского хозяйства солома представляет наиболее перспективное сырье для получения кормовых продуктов, обогащенных белком, липидами и витаминами. В соломе содержится до 2-4 % белка, 0,5-1,5 % – жира, 4-12 % минеральных веществ. При этом содержание растворимых углеводов составляет лишь 0,5-0,8 %, а витамины практически отсутствуют. Незначительная растворимость питательных веществ, инкрустация целлюлозы и гемицеллюлоз лигнином обуславливают низкую перевариваемость органического вещества соломы жвачными животными [1]. Одним из способов повышения питательной ценности получаемых в сельском хозяйстве кормов для животных может стать биотехнологический способ твердофазной ферментации растительных субстратов с использованием выших грибов.

Сегодня одними из наиболее распространенных искусственно культивируемых грибов являются грибы рода *Pleurotus*. В составе их

плодовых тел в достаточном количестве содержатся белки, углеводы, витамины группы В, РР и минеральные вещества. Но наиболее важным фактором питательной ценности данных базидиомицетов является высокое содержание и сбалансированный аминокислотный состав содержащегося в них белка. Общее содержание белка в грибах может достигать 35-40 % сухой массы плодовых тел [2].

По способу питания грибы рода *Pleurotus* относятся к экологической группе лигнотрофных сапрофитов. Представители этой группы обладают мощной ферментативной системой, позволяющей разрушать лигниноцеллюлозный комплекс древесины, используя в своем питании, как целлюлозу, так и лигнин. Это свойство дает возможность выращивать *Pleurotus pulmonarius* практически на любых лигниноцеллюлозных растительных субстратах [2].

Объектом настоящего исследования являлся штамм РР-3.2 базидиального гриба *Pleurotus pulmonarius*, чистая культура которого была взята из коллекции кафедры химической технологии древесины и биотехнологии СибГТУ. В качестве растительного субстрата использовали измельченную солому, предварительно простерилизованную в автоклаве в течение 1 часа при 0,5 кгс/см². Посевным материалом служила биомасса *Pleurotus pulmonarius*, полученная методом глубинного культивирования.

Глубинное культивирование проводили в стационарном лабораторном биореакторе CeCa (Gallenkamp controlled environment culture apparatus, made in England BY) при непрерывном перемешивании за счет барботирования стерильного воздуха. Расход воздуха составлял 100 л/ч на л среды. Культивирование продолжалось в течение 72 ч, при температуре среды 26±1 °С и рН 5,0. Используемая для культивирования среда содержала в своем составе источники азота (NH₄⁺), источник углерода (крахмал) и комплекс минеральных солей (KCl, NaCl, CaCl₂, MgSO₄, KH₂PO₄, K₂HPO₄).

Засев субстрата проводили в стерильных условиях способом орошения субстратного блока культуральной жидкостью с активно растущей мицелиальной биомассой (с концентрацией около 6 г абсолютно сухой биомассы на 1 л культуральной жидкости) из расчета приблизительно 1 г мицелия / на кг сухого субстрата. Инкубирование засеянных блоков проводили при температуре 26±2 °С и влажности воздуха 60-65 % до полного прорастания субстрата мицелием (около 30 сут). На рисунке 1 представлена фотография субстратного блока с плодовым телом *Pleurotus pulmonarius*, выращенным в лабораторных условиях.

После сбора плодовых тел был проведен анализ состава субстратного блока. В ходе исследований установлено, что содержание в нем белков увеличилось с 2 до 8 %. Также был исследован аминокислотный состав белков, поверхностного мицелия *Pleurotus pulmonarius*, колонизировавшего субстратный блок.

Таблица 1. Результаты изучения аминокислотного состава белков поверхностного мицелия *Pleurotus pulmonarius* в сравнении с литературными данными аминокислотного состава белков, выделенных из соломы и глубинной культуры мицелия. *pulmonarius*

Наименование аминокислоты	Содержание аминокислот, %		
	В соломе *	В субстратном мицелии	В глубинном мицелии
Незаменимые аминокислоты			
Лизин .	0,05	1,7	1,1
Треонин .	0,04	0,8	2,0
Фенилаланин .	-	0,4	1,0
Лейцин .	0,13	1,8	2,7
Изолейцин .	0,02	0,8	0,9
Метионин .	0,05	0,1	0,2
Валин .	0,59	1,1	1,2
Заменимые аминокислоты			
Глицин	0,11	1,8	2,9
Аспарагиновая	0,1	1,9	2,9
Цистеин		0,1	0,03
Пролин	0,12	0,1	0,2
Тирозин	-	2,2	4,3
Глутаминовая	0,27	2,5	2,8
Серин	0,06	1,2	1,7
Аланин	0,25	1,9	3,9
Гистидин	-	1,1	1,2
Аргинин	0,59	0,3	0,9
Итого, %	2,38	19,8	29,9

Примечание: *данные взяты из [1].

Из данных, приведенных в таблице 1, можно сделать вывод о том, что питательная ценность растительного субстратного блока в результате его ферментации высшими грибами стала более высокой и

сбалансированной, так как в составе белков поверхностного мицелия *Pleurotus pulmonarius* присутствуют практически все аминокислоты, в том числе семь незаменимых.

В субстрате, подвергшемся ферментации, определяли также содержание лигнина. Установлено, что в процессе твердофазной ферментации в субстрате содержание лигнина существенно снизилось – с 11,2 % до 2 %, что может свидетельствовать о лучшей перевариваемости полученной белково-кормовой добавки для животных.

На основании полученных данных можно утверждать, что субстратные блоки после ферментации *Pleurotus pulmonarius* обладают достаточно высокой пищевой ценностью, содержат достаточное количество белков и других биологически активных соединений, что позволяет рекомендовать использовать данный продукт в качестве белковой углеводной кормовой добавки в сельском хозяйстве.

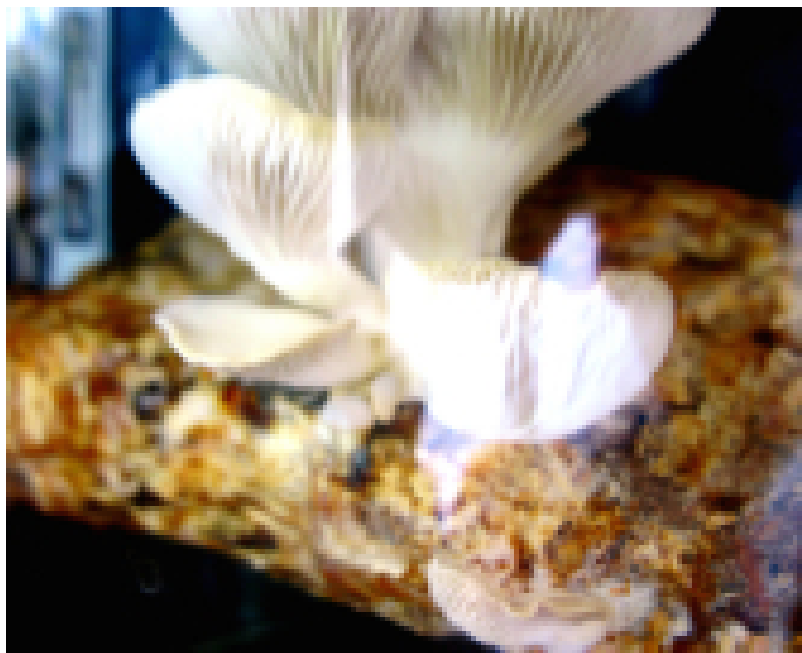


Рис. 1. Субстратный блок с плодовым телом *Pleurotus pulmonarius*

Литература

1. Технология биоконверсии растительного сырья. Ч.2 Перспективы технологии микробиологической конверсии растительной биомассы: учеб. пособие. П. В. Миронов, [и др]. – Красноярск: СибГТУ, 2002. – 150 с.
2. Основы биотехнологии высших грибов: учеб. пособие./ Н. А. Заикина, А. Е. [и др]. – СПб.: «Проспект Науки», 2007. – 336 с.
3. Высшие съедобные базидиомицеты в поверхностной и глубинной культуре/ Бисько Н.А., Бухало А.С., Вассер С.П. и др. Под общ. Ред. Дудки И.А. – Киев : 1983. – 312с.

Альдекеева А.С., Корнева Н.А., Зюбко Т.И. ВЛИЯНИЕ СОЛЕВОЙ НАГРУЗКИ	4
НА ИЗМЕНЕНИЕ УРОВНЯ ЭКСПРЕССИИ МРНК БЕЛКА NAR-22 В ПОЧКАХ У КРЫС СО СПОНТАННОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ (ЛИНИЯ SHR)	
Аньшакова В.В., Сыдыкова Л.А., Степанова А.В., Смагулова А.Ш., Васильев	6
П.П., Кершенгольц Б.М., Шаройко В.В. БАД «ЯГЕЛЬ ДЕТОКС» В КОМПЛЕКСНОЙ ТЕРАПИИ САХАРНОГО ДИАБЕТА 2 ТИПА	
Бабичева И.А. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПРОДУКТА МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОГО	8
СИНТЕЗА ПРИ ВЫРАЩИВАНИИ МОЛОДНЯКА КРС	
Багдонас И.И., Балакирев Н.А. СИНТЕТИЧЕСКИЙ АНТИОКСИДАНТ	12
АРКУСИТ В КОРМЛЕНИИ МОЛОДНЯКА НОРОК	
Бекузарова С.А., Кесаев А.Т. СОДЕРЖАНИЕ СЕЛЕНА В ЧЕСНОКЕ ПРИ	16
ИСПОЛЬЗОВАНИИ ПРИРОДНЫХ ИСТОЧНИКОВ ГОРНОЙ ЗОНЫ СЕВЕРНОГО КАВКАЗА	
Беликов Н.Е., Демина О.В., Лукин А.Ю., Левин П.П., Варфоломеев С.Д.,	24
Ходонов А.А. ФОТОХРОМНЫЕ МЕТКИ НА ОСНОВЕ СПИРОПИРАНОВ	
Благова Ю.В., Староверов С.А., Волков А.А., Козлов С.В., Двоенко А.В.	27
РАЗРАБОТКА ПРОТОТИПОВ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ КОЛЛОИДНЫХ НАНОЧАСТИЦ СЕЛЕНА И ВЫСОКОМОЛЕКУЛЯРНЫХ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ	
Блиохватов А.А., Зиновьев С.В., Сывороткина К.А., Меркулова И.В.	32
ВЛИЯНИЕ СЕЛЕНИЗИРОВАННЫХ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ПРЕПАРАТОВ НА БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ПОЧВЫ	
Видякин А.И., Пришнинская Я.В., Нечаева Ю.С., Бобошина И.В.,	37
Боронникова С.В. МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ЧЕТЫРЕХ ПОПУЛЯЦИЙ PINUS SYLVESTRIS L. НА РУССКОЙ РАВНИНЕ	
Генералов С.В., Абрамова Е.Г., Матвеева Ж.В., Жулидов И.М. РОЛЛЕРНОЕ	43
КУЛЬТИВИРОВАНИЕ ВИРУСА БЕШЕНСТВА «МОСКВА 3253» В КУЛЬТУРЕ КЛЕТОК VERO	
Горелов П.В. МОБИЛАВ: МОБИЛЬНАЯ ПЦР-ЛАБОРАТОРИЯ НА СТРАЖЕ	45
ЗДОРОВЬЯ И ПИЩЕВОЙ БЕЗОПАСНОСТИ	
Григориади А.С., Амирова А.Р. ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ФИТОРЕМЕДИАНТА	48
TAGETES ERECTA НА ПРОЦЕССЫ ОЧИЩЕНИЯ ПОЧВОГРУНТА НЕФТЕШЛАМОВОГО АМБАРА ПРИ ЕГО ЛИКВИДАЦИИ	
Гридина Т.С. СОЗДАНИЕ ОСНОВЫ БИОПРЕПАРАТА ДЛЯ БОРЬБЫ С	52
АЛЬТЕРНАРИОЗОМ В АСТРАХАНСКОЙ ОБЛАСТИ	
Гринева Т.А., Викторов Д.А., Горшков И.Г., Куклина Н.Г., Логинова Е.Г.,	54
Васильев Д.А. БИОПРЕПАРАТЫ БАКТЕРИОФАГОВ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ И ПРОФИЛАКТИКИ БАКТЕРИАЛЬНЫХ БОЛЕЗНЕЙ РЫБ	

Дубровская Е.В., Муратова А.Ю., Голубев С.Н., Крючкова Е.В., Любунь	59
Е.В., Бондаренкова А.Д., Позднякова Н.Н., Чернышова М.П., Панченко Л.В., Турковская О.В. КОЛЛЕКЦИИ МИКРООРГАНИЗМОВ КАК ОСНОВА ЭКОЛОГИЧЕСКИХ БИОТЕХНОЛОГИЙ.	
Ермоленко Е.В., Касьянов С.П., Накорякова Л.Ф., Юцковский А.Д.,	61
Григорьев А.Ю., Латышев Н.А. ВЛИЯНИЕ АЛКИЛ-ГЛИЦЕРИНОВЫХ ЭФИРОВ НА РОСТ ДРОЖЖЕПОДОБНЫХ ГРИБОВ РОДА CANDIDA	
Ерш А.В., Полтавченко А.Г., Кривенчук Н.А. МУЛЬТИПЛЕКСНАЯ	66
ИММУНОДИАГНОСТИКА ИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ	
Жашков А.А. ИЗМЕНЕНИЕ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ	69
ПОРОШКА ИЗ АРОНИИ ЧЕРНОПЛОДНОЙ В ПРОЦЕССЕ ГОДИЧНОГО ХРАНЕНИЯ	
Жуковский Ю.Г., Кузнецова Л.П., Никитина Е.Р., Сочилина Е.Е.	71
БИОХИМИЧЕСКИЙ МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ МИКРОКОНЦЕНТРАЦИЙ ЦЕТИЛТРИМЕТИЛАММОНИЯ	
Зайцев С.Ю. БИОХИМИЧЕСКИЕ СУПРАМОЛЕКУЛЯРНЫЕ СИСТЕМЫ ДЛЯ	73
БИОНАНОТЕХНОЛОГИИ	
Зайцева Н.В., Куркин В.А., Зайцева Е.Н., Авдеева Е.В. ИЗУЧЕНИЕ	75
СЛАБИТЕЛЬНОГО ДЕЙСТВИЯ КОРНЕЙ ШАВЕЛЯ КОНСКОГО	
Зобнина А.Е., Румянцев А.М., Падкина М.В., Цыганков М.А. ВЛИЯНИЕ	79
РЕКОМБИНАНТНОГО КУРИНОГО ИНТЕРФЕРОНА-ГАММА НА ЭКСПРЕССИЮ ГЕНА PKR В КЛЕТКАХ КУРИНЫХ ЭМБРИОНАЛЬНЫХ ФИБРОБЛАСТОВ.	
Золотухин П.В., Лебедева Ю.А., Кузьминова О.Н., Беланова А.А.,	82
Коринфская С.А., Чмыхало В.К., Александрова А.А. ТРАНСЛЯЦИЯ ИНТЕРАКТОМИКИ В БИОМЕДИЦИНСКУЮ ПРАКТИКУ: OXIDATIVE STATUS INTERACTOME MAP	
Ильясова Е.Ю., Григориади А.С., Насибуллин Р.И. ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ	84
РАЗЛИЧНЫХ БИОПРЕПАРАТОВ НА РОСТ РАСТЕНИЙ BETA VULGARIS И БИОЛОГИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ ПОЧВЫ	
Ионова Н.Э., Гафиятова Э.И., Гимадиева А.М., Гимадиева А.М., Каюмова	91
И.Р. ИНДУКЦИЯ И ХАРАКТЕРИСТИКА КАЛЛУСНОЙ КУЛЬТУРЫ CATHARANTHUSROSEUS	
Камалиева Р.Ф., Абдрахимова Й.Р., Багаева Т.В. БИОЛОГИЧЕСКИ	95
АКТИВНЫЕ ВЕЩЕСТВА ЧИСТОТЕЛА БОЛЬШОГО СНИЖАЮТ НЕГАТИВНЫЕ ЭФФЕКТЫ ЗАРАЖЕНИЯ ПРОРОСТКОВ ПШЕНИЦЫ НЕСПЕЦИФИЧЕСКИМ ПАТОГЕНОМ	
Князев О.В., Шахпазян К.Н., Коноплянников А.Г., Болдырева О.Н.,	98
Ручкина И.Н., Чурикова А.А., Астрелина Т.А. ЭЛИМИНАЦИЯ	

ЦИТОМЕГАЛОВИРУСА У БОЛЬНЫХ ЯЗВЕННЫМ КОЛИТОМ БЕЗ ПРОВЕДЕНИЯ ПРОТИВОВИРУСНОЙ ТЕРАПИИ	
Кобелев А.В., Багаева Т.В., Галкина Л.А. ВЛИЯНИЕ РАЗНОГО СВЕТОВОГО	100
СПЕКТРА НА БИОСИНТЕЗ ВТОРИЧНЫХ МЕТАБОЛИТОВ МИКРОМИЦЕТА FUZARIUMEQUISETI	
Колоскова О.О., Буданова У.А., Гурьева Л.Ю., Себякин Ю.Л.	104
МОДИФИКАЦИЯ ЛИПОСОМ НА ОСНОВЕ ЛИПОПЕПТИДОВ ПРОИЗВОДНЫМИ ПРИРОДНЫХ ПОЛИСАХАРИДОВ	
Кондратьева Н.П., Марков Д.А., Кондратьев Р.Г. ВЛИЯНИЕ	105
МУЗЫКАЛЬНЫХ ЗВУКОВЫХ КОЛЕБАНИЙ НА НАДОИ КОРОВ ГОЛШТИНСКОЙ ПОРОДЫ	
Комиссаров А.В., Перепелица А.И., Еремин С.А., Васин Ю.Г., Ульянов	107
А.Ю., Никифоров А.К. ИНТЕНСИФИКАЦИЯ ПРОЦЕССА СТЕРИЛИЗУЮЩЕЙ ФИЛЬТРАЦИИ ХОЛЕРОГЕНА-АНАТОКСИНА	
Коротких А.В., Нужных А.В., Кузин В.И., Бабаев А.А., Андреев Н.И.	108
УРОКИНАЗА - СОВРЕМЕННЫЙ ПРЕПАРАТ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ДИАБЕТИЧЕСКОЙ СТОПЫ С КРИТИЧЕСКОЙ ИШЕМИЕЙ	
Костылев П.И., Дубина Е.В., Мухина Ж.М. РАЗРАБОТКА СИСТЕМ	111
МУЛЬТИПЛЕКСНОЙ ПЦР ДЛЯ ИДЕНТИФИКАЦИИ ГЕНОВ УСТОЙЧИВОСТИ К MAGNAPORTHE GRISEA (HERBERT) BARR. И СОЗДАНИЕ НОВЫХ РЕЗИСТЕНТНЫХ ФОРМ ORYZA SATIVA L. К ПАТОГЕНУ	
Краснова М.А., Лойко Н.Г., Эль-Регистан Г.И., Иванова Л.А. ПОВЫШЕНИЕ	118
ЭФФЕКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТНОГО ПРЕПАРАТА ' ПОЛИФЕРМЕНТ'	
Кручинина М.В., Стариков А.В., Курилович С.А., Громов А.А., Генералов	121
В.М., Кручинин В.Н., Рыхлицкий С.В. ОСОБЕННОСТИ СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ПАРАМЕТРОВ ЭРИТРОЦИТОВ У ПАЦИЕНТОВ С КОЛОРЕКТАЛЬНЫМ РАКОМ	
Крючкова В.А., Исачкин А.В., Шишканова К.Э. ВЛИЯНИЕ ЧИСЛА	131
ПАССАЖЕЙ И ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТИ УКОРЕНЕНИЯ IN VITRO НА АДАПТАЦИЮ МИКРОРАСТЕНИЙ СИРЕНИ ОБЫКНОВЕННОЙ (SYRINGA VULGARIS L.)	
Кузнецов А.Ф., Половцев С.В., Осипов Ю.Г., Краснов А.А., Галилеев С.М.,	136
Белов И.В. РАЗРАБОТКА НОВЫХ ЭНТЕРОСОРБЕНТОВ НА ОСНОВЕ МОДИФИЦИРОВАННОГО АКТИВНОГО АМОРФНОГО НАНОПОРИСТОГО НАНОДИСПЕРСНОГО КРЕМНЕЗЁМА	
Ломакин А.А., Викторов Д.А., Воротников А.П., Лисихин А.А., Горшков	143
И.Г., Гринева Т.А., Куклина Н.Г., Васильев Д.А. БИОПРЕПАРАТЫ НА ОСНОВЕ	

БАКТЕРИЙ РОДА PSEUDOMONAS ДЛЯ СТИМУЛЯЦИИ РОСТА РАСТЕНИЙ И ЗАЩИТЫ ОТ ВРЕДИТЕЛЕЙ	
Лосева А.В. АНТИМИКРОБНАЯ АКТИВНОСТЬ ЭФИРНЫХ МАСЕЛ	146
Лузан А.А. ИССЛЕДОВАНИЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ ИМПУЛЬСНОГО ПОЛЯ НА	150
КАЧЕСТВЕННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ГОВЯДИНЫ I КАТЕГОРИИ	
Мащенко Н.Е., Боровская А.Д. СПОСОБ ПОВЫШЕНИЯ ВСХОЖЕСТИ	154
СЕМЯН ТОМАТОВ	
Медведева Т.М., Скрыбин М.Е. ВОЗМОЖНОСТЬ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ	157
БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКИХ АГЕНТОВ ДЛЯ УЛУЧШЕНИЯ КАЧЕСТВА ПИТЬЕВОЙ ВОДЫ Г. ТЮМЕНИ.	
Медведева Н.В., Медведев П.Н. НОВЫЕ ПЕРСПЕКТИВНЫЕ	161
СТИМУЛЯТОРЫ РОСТА РАСТЕНИЙ	
Меженный П.В., Староверов С.А., Волков А.А., Козлов С.В., Двоенко А.В.	164
РАЗРАБОТКА ПРОТОТИПОВ НАНО ВАКЦИНЫ ПРОТИВ ВИРУСА ТРАНСМИССИВНОГО ГАСТРОЭНТЕРИТА СВИНЕЙ И ИЗУЧЕНИЕ ИММУНОГЕННЫХ СВОЙСТВ	
Мельникова Е.А., Квиткевич К.А., Миронов П.В. ГЛУБИННАЯ КУЛЬТУРА	167
ВЕШЕНКИ ЛЕГОЧНОЙ (PLEUROTUS PULMONARIUS): ИСПОЛЬЗОВАНИЕ В КАЧЕСТВЕ ПОСЕВНОГО МАТЕРИАЛА ДЛЯ ВЫРАЩИВАНИЯ ПЛОДОВЫХ ТЕЛ И ПОЛУЧЕНИЯ БЕЛКОВО-УГЛЕВОДНЫХ КОРМОВЫХ ПРОДУКТОВ	

Сервис виртуальных конференций Pax Grid

ИП Синяев Дмитрий Николаевич

**Биотехнология.
Взгляд в будущее.**

III Международная научная Интернет-конференция

Казань, 25-26 марта 2014 года

Материалы конференции

**В двух томах
Том 2**

**Казань
ИП Синяев Д. Н.
2014**

УДК 663.1(082)

ББК 41.2

Б63

Б63 Биотехнология. Взгляд в будущее.[Текст] : III Международная научная Интернет-конференция : материалы конф. (Казань, 25-26 марта 2014 г.) : в 2 т. / Сервис виртуальных конференций Pax Grid ; сост. Синяев Д. Н. - Казань : ИП Синяев Д. Н. , 2014.- Т. 2. - 171 с.- ISBN получается.

ISBN: получается

Сборник составлен по материалам, представленным участниками III международной Интернет-конференции "Биотехнология. Взгляд в будущее". Конференция прошла 25 - 26 марта 2014 года. Издание освещает широкий круг вопросов в области медицинской биотехнологии, взаимодействия растений и микроорганизмов. Представлены работы по перспективным биологически активным веществам, а так же рассмотрены вопросы применения биотехнологии в решении хозяйственных задач. Книга рассчитана на преподавателей, научных работников, аспирантов, учащихся соответствующих специальностей.

УДК 663.1(082)

ББК 41.2

Материалы представлены в авторской редакции

ISBN получается (т.2)

ISBN получается

© Система виртуальных конференций Pax Grid, 2014

© ИП Синяев Д. Н., 2014

© Авторы, указанные в содержании, 2014

Секции конференции

- Микробиологические производства
- Медицинская биотехнология
- Растения и микроорганизмы
- Перспективные биологически активные вещества
- Биотехнология в решении народно- хозяйственных задач

Оргкомитет

Председатель

- Багаева Татьяна Вадимовна - профессор д.б.н., зав. кафедрой биотехнологии, ФГАОУ ВПО "Казанский (Приволжский) федеральный университет

Программный комитет

- Чиков В.И. - д.б.н. Каз НЦ РАН
- Каримова Ф.Г. - д.б.н. Каз НЦ РАН
- Черезов С.Н. - к.б.н. доц. ФГАОУ ВПО "Казанский (Приволжский) федеральный университет
- Хусаинов М.Б. - к.б.н. ст. преп. ФГАОУ ВПО "Казанский (Приволжский) федеральный университет
- Якушенкова Т.П. - к.б.н. ст. преп. ФГАОУ ВПО "Казанский (Приволжский) федеральный университет

КАТАЛИТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА КСИЛАНОЛИТИЧЕСКИХ ФЕРМЕНТНЫХ ПРЕПАРАТОВ И АНАЛИЗ ИХ ФРАКЦИЙ

Митькина В.П., Синельников И.Г., Аксенов А.С., Чухчин Д.Г.,
Новожилов Е.В.

Северный (Арктический) федеральный университет
имени М.В. Ломоносова

Уникальный код статьи: 532af90fb9cb3

Интерес к ксиланолитическим ферментам возрос в последние годы благодаря возможности селективного гидролиза ксилана, полисахарида, составляющего до 30 % биомассы растений [1]. Способность ксиланаз участвовать в разрушении клеточных стенок зерна и стеблей злаков позволяет их применять при производстве спирта из зерна и целлюлозосодержащих отходов, пива, в хлебопечении. Кроме того они применяются в технологиях переработки лигноцеллюлозного и сельскохозяйственного сырья, в производстве соков и вин, кормов, текстильной промышленности [2-5].

Выпускаемые ксиланолитические ферментные препараты, преимущественно грибного происхождения, содержат в своем составе эндо- β -1,4-ксилазы (КФ 3.2.1.8), которые катализируют гидролиз главной цепи ксилана, образованной β -1,4-связанными остатками D-ксилозы, на олигосахариды разной длины. Наряду с основной ксиланазной активностью, промышленные ксиланазы содержат и побочные активности, в том числе целлюлазные [6]. Анализ компонентного состава и индивидуальных активностей ксиланолитических ферментов является весьма актуальным с точки зрения выбора наиболее оптимального препарата в конкретном промышленном процессе.

Целью данной работы является изучение состава и каталитических свойств ферментных препаратов ксиланаз.

В исследованиях использовали 2 промышленных препарата ксиланаз: Ксиланазу 1 и Ксиланазу 2.

Ксиланазную активность определяли, проводя реакцию гидролиза березового ксилана и ксилана бука («Sigma», США) в течение 10 мин в термостатируемой (при 50°C) пластиковой пробирке объемом 2 мл при pH 5,0 (0,05М ацетатный буферный раствор). Детекцию восстанавливающих сахаров, образующихся в ходе ферментативной

реакции, определяли по Шомоди-Нельсону. В препаратах была определена активность по отношению к карбоксиметилцеллюлозе (КМЦ) и микрокристаллической целлюлозе (МКЦ) по стандартным методикам [7].

Хроматографическое разделение ксиланолитических препаратов проводили методом ВЭЖХ с использованием колонки BioSep-SEC-s3000 в 0,1 М фосфатном буферном растворе (pH 6,86, 0,05 % NaN₃) аналогично проведенным ранее исследованиям [6], с последующим измерением ксиланазной и целлюлозной активностей полученных фракций.

Анализ каталитических свойств ксиланолитических препаратов показал их высокую активность по ксилану березы и бука (Таблица 1). Ксиланаза1 в условиях анализа проявила более высокую гидролитическую активность (в 4,7...4,8 раз) по отношению к ксиланам чем препарат Ксиланаза2. Следует отметить относительно высокое содержание побочных активностей в препарате Ксиланаза1 (по отношению к КМЦ и МКЦ).

Таблица 1. Удельные активности промышленных ферментных препаратов по отношению к различным субстратам, (ед/мг белка).

Название ферментного препарата	Количество белка в препарате, мг/г	Активность, ед/мг белка			
		Ксиланазная		КМЦ-азная	МКЦ-азная
		Ксилан березы	Ксилан бука		
Ксиланаза 1	74	67,7	91,7	4,0	0,3
Ксиланаза 2	36	14,5	19,1	0,1	0

При изучении влияния pH среды на каталитические свойства промышленных препаратов ксиланаз, установлено различие оптимальных интервалов pH (Рис. 1). По результатам, представленным на Рис. 1, следует, что для препарата Ксиланаза2 наиболее оптимальный интервал pH 8,0...9,0, тогда как для препарата Ксиланаза 2 оптимальный интервал pH 5,0...5,5.

Для более подробного анализа компонентов ксиланолитических препаратов методом ВЭЖХ были получены хроматограммы (Рис. 2). Результаты хроматографического анализа свидетельствует о наличии в препаратах ряда белков с молекулярными массами от 10 до 90 кДа.

Анализ ксиланазной активности выделенных фракций показал, что гидролитической активностью по отношению к ксилану обладают в большей степени 3-я фракция Ксиланазы 1, которая преобладает в препарате и 4-я фракция для Ксиланазы 2 (рис. 2). У препарата Ксиланаза 2 целлюлолитических активностей не выявлено. У препарата

Ксиланаза 1 высокой КМЦ-азной активностью обладают фракции 3 и 5, МКЦ-азная активность в большей степени характерна для фракции 3 препарата Ксиланаза 1.

Проведенные исследования показали различие в каталитических свойствах ксиланалитических препаратов и степени их чистоты. Установлено, что фракции препаратов, обладающие основной ксиланазной активностью, имеют близкие молекулярные массы (время выхода пиков на хроматограммах 10,3...10,4 мин). В то же время, каталитические свойства обнаруженных в препаратах эндоксиланаз значительно отличаются, что вероятно связано с их происхождением. Для препарата Ксиланаза 2 характерна более высокая удельная ксиланазная активность в сравнении с Ксиланазой 1. Отмечены существенные различия в pH-оптимуме действия данных ферментов. Ксиланаза1 наиболее активно гидролизует ксилан в слабощелочной области pH, в то время как для Ксиланазы 2 оптимум находится в слабокислой среде.

Препарат Ксиланаза 2, имеющий меньше побочных активностей, тем не менее, содержит белки, не обладающие высокой ксиланазной активностью. В препарате Ксиланаза 1 обнаружены белки целлюлолитической природы, что проявляется в способности гидролизовать КМЦ и МКЦ.

Таким образом, подробная оценка ксиланолитических препаратов представляет собой основу для оптимизации и эффективного использования потенциала ферментов данного типа при переработке растительной биомассы, богатой ксиланом. Для селективного гидролиза ксилана предпочтительнее использование монокомпонентных ксиланаз. Например из представленных препаратов для целлюлозно-бумажной промышленности предпочтительнее использовать Ксиланазу 2, обладающую высокой активностью в слабощелочной среде и не содержащую целлюлазных примесей. В современных технологиях биорефайнинга растительного сырья возможно применение ксиланаз с высоким содержанием целлюлолитических активностей. Ксиланаза 1, представляющая собой высококонцентрированный ксиланолитический препарат, обладающий гидролитической способностью к целлюлозным субстратам, целесообразно использовать для производства кормов.

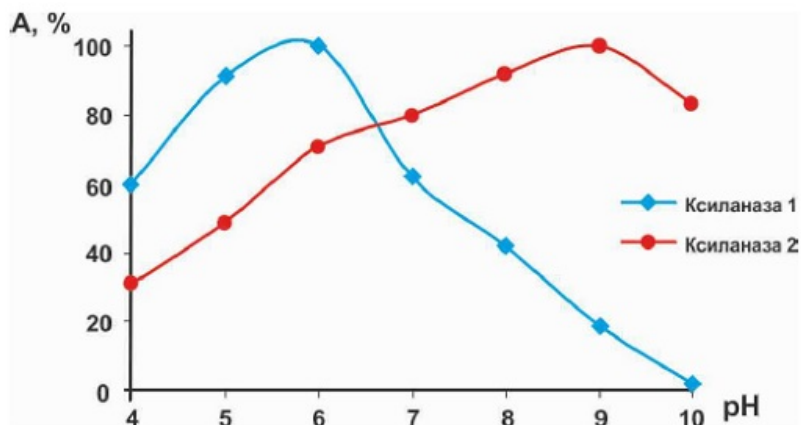


Рис. 1. Активность препаратов ксиланолитических препаратов при различных значениях pH

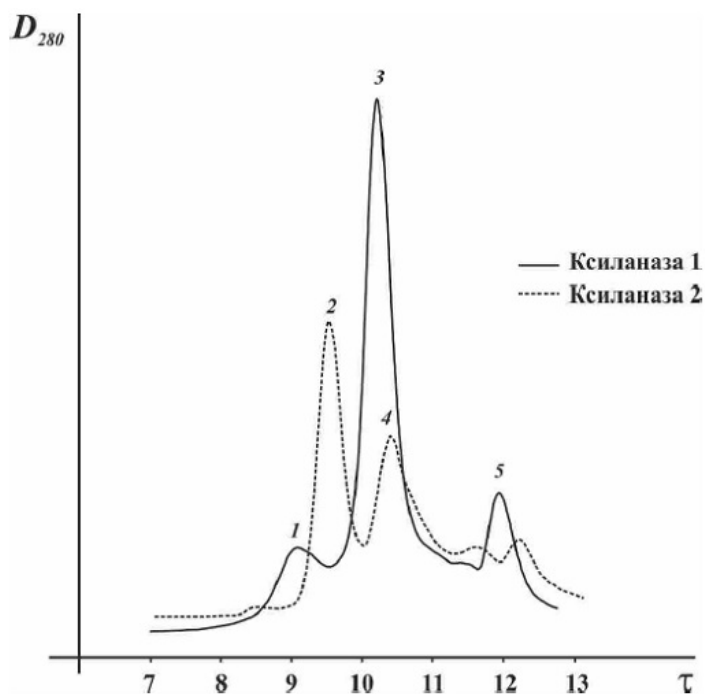


Рис. 2. Хроматографический профиль при фракционировании ксиланолитических препаратов

Литература

1. Rennie E.A., Scheller H.V. Xylan biosynthesis // Current opinion in biotechnology.-2014. -№26. -P. 100-107.
2. Polizeli, M.L.T.M., Rizzatti, A.C.S., Monti, R., Terenzi, H.F., Jorge, J.A., Amorim, D.S. // Appl. Microbiol. Biotechnol.-2005.-№67, -P.577-591.
3. Collins, T., Gerdaya, C., and Feller, G. // FEMS Microbiol. Rev.-№29. -P. 3-23.
4. Viikari L., Suurnakki A., Gronquist S., Raaska L., Ragauskas A. Forest products: biotechnology in pulp and paper processing // Encyclopedia of microbiology. -2009. -P. 80-94.
5. Новожилов Е.В. Применение ферментных технологий в целлюлозно-бумажной промышленности: монография / Е.В.Новожилов; Сев. (Арктич.) федер. ун-т. - Архангельск: ИПЦ САФУ, -2013. -364 с.
6. Аксенов А.С., Чухчин Д.Г., Новожилов Е.В., Беневоленский С.В., Чулкин А.М. // ИВУЗ.Лесной журнал. -2007. -№ 2.-P. 90-96.
7. Синицын А.П., Черноглазов В.М., Гусаков А.В. Методы исследования и свойства целлюлолитических ферментов. М.: ВИНТИ.-1990. -Т. 25.-С. 154.

МЕТОД АННИГИЛЯЦИИ НЕГАТИВНОГО БИОПОЛЯ

Мишин А.М.

Русское физическое общество, г. Санкт-Петербург

Уникальный код статьи: 531830c67d4c2

В статье «Эфирная экология и защита от негативных излучений» [1] была описана «волшебная пластина», обладающая свойством превращения эфирной информационной матрицы в антиматрицу. Полученная на пластине антиматрица записывается на парафиновые, восковые таблетки или воду и используется для аннигиляции негативных излучений и полей, сопутствующих нетрадиционным (альтернативным) экспериментам, геофизическим и космическим процессам. Так осуществляется защита человека с восстановлением его нормального самочувствия, так как при сложении матрицы с антиматрицей происходит их аннигиляция с превращением в безвредное излучение.

Поскольку эфирную природу имеет и биополе человека [2], то способ инверсии и аннигиляции информационных матриц может быть использован для лечения некоторых и даже всех болезненных состояний при наличии соответствующей методики, времени и терпения. При этом в качестве носителей эфирной информации также используется парафин, воск и вода.

Методика лечения заключается в следующем. Перед началом процедуры в помещении зажигается свеча. На обнаженное больное место обычно в положении лежа, если это не верхняя часть головы, кладется квадратный лист белой без текста бумаги. Для этой цели берется стандартный лист и обрезается по короткой стороне до квадрата. Центр квадрата отмечается жирной точкой. Положение тела должно быть таким, чтобы бумажный квадрат лежал горизонтально и с него не стекал жидкий парафин или воск.

Лист лежит ровно на животе или груди, а на других местах он может изгибаться. Чтобы этого избежать, предварительно кромка листа шириной 0,5 см слегка загибается вверх со всех сторон для создания ребер жесткости. Если болезненная область невелика (глаз, фурункул и др.), то лист можно взять меньших размеров, например, делать квадрат из половинки стандартного листа.

Далее зажигается другая свеча из парафина или воска, слегка наклоняется над центром листа и расплавленный материал свечи

накапывается для образования сплошного пятна размером (диаметром) приблизительно с рублевую монету и толщиной 2-3 мм. После этого свеча движется по спирали против часовой стрелки с такой скоростью, чтобы расстояния между каплями было около 1 см. Сразу это не получается, поэтому можно вернуться в центр, поправить там что-то и снова пойти по спирали, заполняя оставшиеся промежутки между каплями. Для более горячего воска берется квадрат из двух слоев бумаги.

Больной должен лежать спокойно, пока воск или парафин не застынет (практически до поверхностной температуры тела). После этого бумажный лист снимается вверх и обрезается со всех сторон до квадрата размером 80×80 мм, т.е. до размеров половины металлической латунной пластины (см. рис. 1). Центр листа должен быть и центром обрезанного квадрата.

Инvertированные таблетки, как и в статье [1], делаются на столе или тумбочке ближе к центру комнаты при выключенных электрических приборах. Волшебная пластина, сделанная **из латуни толщиной 0,3-0,8мм и размером 80×160мм**, устанавливается на цилиндрическую подставку из пластмассы диаметром около 40мм и высотой 40-45мм (упаковка от лекарств). На левую сторону (квадрат 1) кладется бумажный квадрат с записанной на воске (парафине) болезнью. В центр правого квадрата 2 с зажженной свечи через носик из фольги на металлическую поверхность выливаются круглые выпуклые таблетки. Для этого острый носик-желобок должен касаться или почти касаться поверхности пластины. Диаметр таблеток около 4 мм. Делается их 5-7 штук близко одна к другой. Когда таблетки остынут до комнатной температуры, их перекалывают в коробочку с пометкой «М».

На полученных таблетках записана не только информация о болезни, но и биополе нашего тела. Поэтому попавшая в организм информационная антиматрица сделает «дыру» (Рис.1) в биополе, что равносильно действию «мертвой воды». Конечно, организм способен заполнить дыру здоровым биополем, но мы можем ему помочь, проглотив аналог «живой воды». Для этого необходимо иметь фотографию больного в полный рост (допускается сидячая поза, если больное место не в области таза) и цветущем возрасте (16-25 лет) без близко находящихся других людей. Фотография должна быть получена пленочным аппаратом. В этом случае она содержит более полную голограмму человека.

«Живые» таблетки получают следующим образом. Там же, где делали первые таблетки, на ту же подставку кладется фото изображением вверх. Больной орган (место) накрывается квадратным

листочком тонкой кальки (для воска лучше целлофановая пленка), и все большое поле заливается с зажженной свечи через желобок парафином или воском толщиной до 2-х мм. Из-за возможного наклона фото жидкое вещество может вылиться немного не туда, что исправляется смещением кальки. Даем лужице остыть, удалившись на несколько метров. У нас получился снятый с кальки позитивный слепок голограммы здорового органа.

Для получения живой таблетки берем пластину и бросаем ее со звоном с высоты 10 см на твердую поверхность для очистки от предыдущей информации. Затем устанавливаем на пластмассовую подставку, кладем в центр первого квадрата полученную с фото информационную матрицу (лучше восковую таблетку, отделенную от пленки) и **формируем около нее по близкому кругу** 5-7 таблеток диаметром около 4 мм для внутреннего употребления. Застывшие живые таблетки кладем в другую коробочку с пометкой «Ж».

Принимаем (проглатываем) сразу обе таблетки перед едой (на другой день и далее натошак), запивая обычной водой. Первые 3 дня каждый день, затем прием идет с интервалом 3 дня, пока все таблетки не закончатся. Как правило, функциональные расстройства проходят после первого или второго приема, и про таблетки забывают. Но выбрасывать их не стоит, на случай повторного недомогания. Таблетки хранят информацию в течение многих лет.

В китайской медицине все болезни делят на три категории по вязкости и структуре биополя человека. Функциональные расстройства (спазмы, воспалительные процессы) создают «деревянное» биополе. Эти болезни описанный метод эфиротерапии лечит за 1-2 дня даже с использованием парафина. Хронические заболевания создают «водяное», или «слизистое» биополе. Для лечения необходимо использовать 7 и более таблеток, т. е. требуется около одного месяца. При вирусных заболеваниях лучше с использованием воска инвертировать ауру слизи из носа или горла (на квадратном листочке бумаги), а также мочу. В этом случае получается прямой контакт с носителем болезни [3]. Одновременно можно использовать средства традиционной медицины.

Особым является «металлическое» биополе, которое создают онкологические заболевания. В моей практике был случай, когда рак кожи был излечен одной парафиновой таблеткой. Для удаления черной бородавки (папилломы?) потребовалось значительно больше времени.

Есть данные, что более эффективными в информационном плане являются вода и воск, широко используемые в народной медицине. В чем слабость эфиротерапии с использованием парафина? В том, что она

воздействует преимущественно на эфирное тело человека. А это самая низкочастотная составляющая биополя. Участие в эфиротерапии более высокочастотных компонент биополя ментального и астрального планов достигается с помощью воска и воды. Главное преимущество воды в том, что ее можно налить в сосуд высотой до 100мм, и она впитает больший объем больного биополя, чем миллиметровые капли воска на бумаге. Воск наливается на поверхность воды в сосуде на больном органе после 15 минутной выдержки. Если этот воск просто выбросить, больной уже испытывает облегчение. Инвертирование даже небольшой части этого воска на пластине и информация с фото дают еще больший эффект,

Описанная выше методика эфиротерапии успешно используется мною более 10 лет для лечения различных заболеваний (в пределах семьи) с применением парафиновых свечей, воска и воды. В то же время следует предупредить, что **данный метод лечения - не панацея**. В случае серьезных заболеваний с высокой температурой, сильными болями и острыми коликами, а также при явном инфекционном заражении всегда нужно обращаться в учреждения официальной медицины.

По реальным возможностям предложенный метод инверсной эфиротерапии является важным дополнением к общей системе врачевания и совместим с лекарственной терапией.

Отдельными темами являются лечение системных заболеваний и получение эфирных копий лекарственных форм с помощью описанной латунной пластины.

Предлагаемые простые методы инверсии и аннигиляции информационных матриц дают широкий простор для самостоятельного творчества. Например, если на квадрат 1 пластины поставить стопку водки, а на квадрат 2 стопку воды, то через 20 минут вместо воды получится антиводка, употребление которой снимает похмелье. Таким же образом можно облегчить состояние человека при любом отравлении. Если сделать восковые антитаблетки с окурка сигареты, то при употреблении их человек бросает курить.

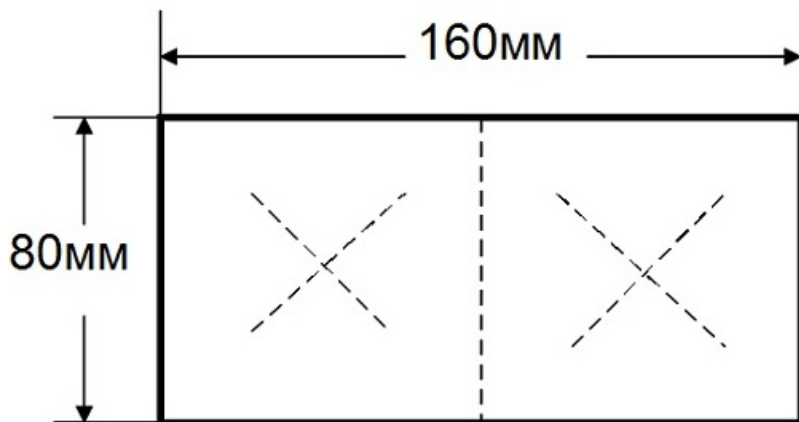


Рис. 1.

Литература

1. Мишин А.М. Эфирная экология и защита от негативных излучений. Тезисы докладов Конгресса-2010 «Фундаментальные проблемы естествознания и техники». - СПб: Изд-во ГУГА, 2010, с. 42-43.
2. Мишин А.М. Начала высшей физики. Сборник статей. - СПб: АНО «НТЦ им. Л.Т. Тучкова», 2009, - 270 с.
3. Материалы экспериментальных исследований и дискуссии на форумах «MATRI-X» и «Реальная нереальность» по теме «Волшебная пластина Мишина», 2010, - <http://www.matri-x/forum/>, <http://www.nereality.ru/index.ptp>

ОСИ СОЦВЕТИЙ И ОТЖИМ ЯГОД ПОСЛЕ ОТДЕЛЕНИЯ СОКА - ПЕРСПЕКТИВНЫЕ ИСТОЧНИКИ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ

Момот Т.В., Кушнерова Н.Ф.

Дальневосточный федеральный университет,
Школа биомедицины,

Тихоокеанский океанологический институт им. В.И. Ильичева ДВО РАН

Уникальный код статьи: 52fc01208f2f9

Уникальная флора Уссурийской тайги Дальнего Востока России является благоприятным фактором для развития фармакологических исследований, так как наземные растения являются богатыми источниками биологически активных веществ. На сегодняшний день известен ряд препаратов, так называемых адаптогенов, включающих широко известные средства традиционной и народной медицины: женьшень, экстракт элеутерококка, настойка аралии, настойка родиолы розовой, настойка лимонника. Однако запасы этих растений снижаются ежегодно в связи с преимущественным использованием корней и семян. Кроме того, при передозировке они токсичны и вызывают стимуляцию нервной системы. Следовательно, очевидна актуальность и необходимость поиска и изучения новых источников сырья, в частности, использование других частей этих растений, как отходов от их переработки (оси соцветий винограда, лимонника, аралии, отжим после отделения сока жимолости, рябины, калины), особенно если они являются конечным бросовым продуктом в технологической цепи.

Отходы от переработки представляют ценное сырье для получения биологически активных веществ. Это большой возобновляемый сырьевой резерв, который в настоящее время не утилизируется и не используется должным образом. Такой подход позволяет внедрить процесс безотходной переработки ценного растительного сырья и наряду с выработкой традиционных продуктов, таких как соки и сиропы, получать биологически активные препараты с низким уровнем токсичности. Преимущество использования именно пищевых видов растительного сырья определяется эволюционной адаптацией организма человека к вторичным метаболитам растений, традиционно употребляемым им в пищу.

Одним из наиболее важных классов вторичных растительных

метаболитов являются полифенольные соединения, которые обладают высокой антиоксидантной и антирадикальной активностью. Целью данной работы явилось определение количественных характеристик полифенольного комплекса в препаратах, полученных из отходов от переработки дикорастущих растений Уссурийской тайги.

Суховоздушное сырье экстрагировали 40% этиловым спиртом методом реперколяции. Выход экстракта составлял 1 л из 1 кг сырья. Как видно из таблицы, содержание суммарной полифенольной фракции в изученных препаратах достигает 10,2 - 32,8 г/л, что является достаточно высоким показателем.

Таблица. 1. Содержание общих полифенолов и проантоцианидинов в растительных экстрактах (г/л)

Растительный экстракт	Проантоцианидины	Полифенолы
Оси соцветий винограда	16,58	32,40
Оси соцветий лимонника	4,63	10,90
Оси соцветий аралии	6,30	18,20
Отжим калины	18,00	32,80
Отжим жимолости	1,80	11,00
Отжим рябины	0,60	10,20

Наиболее характерным и важным свойством полифенольных соединений является их способность выступать в качестве полноценной окислительно-восстановительной системы. Способность к данному процессу, носящему название «семихинонной осцилляции», позволяет полифенолам выступать как донорами, так и акцепторами протонов и электронов. Они могут выступать в качестве буферной емкости, способной нормализовать окислительно-восстановительный баланс в организме, а также инактивировать активные формы кислорода и азота, прерывая развитие окислительной модификации биологических структур, в частности, липидов и липопротеинов. Одним из основных компонентов полифенольного комплекса изученных экстрактов является комплекс олигомерных проантоцианидинов или конденсированных танинов, представляющих собой полимерные формы флавоноидов из группы катехинов, обладающих широким спектром биологической активности [4]. Их главное отличие от всех остальных полифенольных соединений в том, что они составляют основную (до 80%) часть потребляемых человеком биофлавоноидов.

Сам факт того, что проантоцианидины в значительном количестве содержатся в растениях и напитках традиционно употребляемых человеком в пищу, а также их самое благоприятное влияние на здоровье,

обуславливает стремление человека к их включению в свой ежедневный рацион питания [5]. Проантоцианидины существуют в виде «олигомеров», содержащих от двух до шести «катехиновых» единиц и растворимых в воде, а также в виде «полимеров» в воде не растворимых со степенью полимеризации от 7 и выше, но которые представляют собой основную (до 80%) часть проантоцианидиновых комплексов [3]. Число фенольных функциональных групп в молекуле проантоцианидина лежит в основе трех основных свойств: образование таннин-белковых комплексов, образование хелатных соединений с металлами и обладанием восстановительного потенциала. Проантоцианидины способны эффективно инактивировать гидроксил-радикал и супероксид-анион, превосходя в этом в несколько раз низкомолекулярные антиоксиданты: витамины С и Е [2]. При этом олигомерные проантоцианидины являются наиболее активной фракцией извлечений из растений их содержащих, в которой локализовано до 80% общей антирадикальной активности [1].

Таким образом, отходы от переработки Дальневосточных дикоросов, таких как виноград амурский (*Vitis amurensis*), лимонник китайский (*Schizandra chinensis*), аралия маньчжурская (*Aralia mandchurica*), калина Саржента (*Viburnum sargentii*), жимолость съедобная (*Lonicera edulis*), рябина амурская (*Sorbus amurensis*) могут служить перспективным источником сырья для получения растительных фитопрепаратов, содержащих полифенольные комплексы с высоким содержанием биологически активных проантоцианидинов.

Литература

1. Спрыгин В.Г., Кушнерова Н.Ф., Фоменко С.Е. и др. Антирадикальная активность извлечений из дальневосточных растений, содержащих олигомерный проантоцианидиновый комплекс // Бюлл. физиол. и патол. дыхания. 2002. № 11. P. 50-53.
2. Bagchi D., Garg A., Krohn R., et al. Oxygen free radical scavenging abilities of vitamins c and e, and a grape seed proanthocyanidin extract in vitro // Res. Commun. Mol. Pathol. Pharmacol. 1997. N 2 (95). P. 179-189.
3. Haslam E. Natural polyphenols (vegetable tannins) as drugs: Possible modes of action // J. Nat. Prod. 1996. N 2 (59). P. 205-215.
4. Packer L., Rimbach G. and Virgili F. Antioxidant activity and biologic properties of a procyanidin-rich extract from pine (*pinus maritima*) bark, pycnogenol // Free Radic. Biol. Med. 1999. V. 27, N 5-6. P. 704-724.
5. Soleas G. J., Diamandis E. P. and Goldberg D. M. Wine as a biological fluid: History, production, and role in disease prevention // J. Clin. Lab. Anal. 1997. N 5(11). P. 287-313

**РЕСУРСОБЕРЕГАЮЩАЯ БИОТЕХНОЛОГИЯ
ГЛУБОКОЙБИОДЕСТРУКЦИИ СМАЗОЧНЫХ МАСЕЛ В СТОЧНЫХ
ВОДАХ ПРЕДПРИЯТИЙ И СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ
ОБЪЕКТОВ**

Морозов Н.В.^{1,3}, Морозов В.Н.², Ганиев И.М.³

¹Казанский (Приволжский) федеральный университет,

²ООО НПО Биотехнология,

³ФГБУ Федеральный центр токсикологической, радиационной и
биологической безопасности «ЦГРБ-ВНИВИ»

Уникальный код статьи: 533e99077e1da

Ликвидация загрязнения отработанными и товарными смазочными маслами (минеральные, полусинтетические и синтетические) в многочисленных объектах промышленных предприятий и сельского хозяйства приобретает важное экономическое и экологическое значение в связи с всёвозрастающими масштабами применения, как следствие, нерешенностью утилизации их в народном хозяйстве.

Ежегодно в мире потребляется свыше 60 млн. тонн моторных масел, в России приближается к 10 млн.тонн, только 4-5% этого количества перерабатывается и регенирируется экологически безопасным способом, часть сжигается, а основная доля сливается в открытые водные источники. Масла, особенно отработанные токсичны организмам водных и почвенных экосистем, способны накапливаться в природной среде и могут вызвать сдвиг экологического равновесия [Сурин, 2000; Okonokhuaetal., 2007]. Поэтому соответствующими решениями мирового сообщества эти продукты отнесены к категории опасных отходов и подлежат обязательному сбору и утилизации. Однако в России до сих пор отсутствует законодательство по этому вопросу [Петров 1984; Тарасов, 2010].

В последнее время большое внимание биотехнологов привлекает управляемый биологический метод очистки природных и сточных вод от смазочных масел, основанный на применении различных токсонимических групп гетеротрофных микроорганизмов.

Имобилизовав их на медленно разлагаемом в воде носителе, обладающем широким спектром стимуляции микробиального окисления различных видов смазочных масел, можно добиться повышения естественных качеств загрязненных вод при низких эксплуатационных

затратах и простоте решения.

В качестве активных биодеструкторов масел в присутствии сорбентов лучше использовать ассоциации углеводородокисляющих микроорганизмов (УОМ), так как они более эффективны, чем отдельно взятые виды. Это подтверждено результатами проведенных наших исследований [Морозов с соавт., 2012, 2013].

С учетом изложенного целью настоящих исследований явилось изучение влияния различных сорбентов (торфа, речного песка, угольного порошка, дробленной полиэтиленовой стружки, древесных опилок, трухи разнотравья) на степень и интенсивность биоразложения полусинтетических и синтетических масел консорциумами биопрепаратов «ОН-НОВО», «ЛН-НОВО» и «MRP 2014», включающих 9,10 и 3 штамма УОМ соответственно. Опыты выполнены в модельных аквариумах (объем 40 л.) с маслами фирм «Mobil» (полусинтетическое) и «Castrol» (синтетическое) с концентрациями в воде до 100 мг/дм³, содержанием сорбентов 50 мг/дм³. Исходная численность ассоциации для заражения принята 102-104 млн. кл/см³.

Микроорганизмы консорциумов внесены в аквариумы со стоком с маслами распылением в «чистом» виде, рассыпанием вместе с сорбентами на поверхность масляной пленки и механическим перемешиванием среды (бактерий, сорбентов) в соотношении 2:3.

В ходе выполнения исследований по разработке биотехнологии очистки воды от масел «Mobil» и «Castrol» УОМ установлены следующие закономерности:

1. Углеводородокисляющие микроорганизмы, входящие в состав биопрепаратов активно используют в своем обмене полусинтетические и синтетические масла в качестве единственного источника углерода и энергии. На это указывает активное увеличение их численности на 4-8 сутки контакта (в зависимости от видового состава), видимые изменения структуры и цвета «атакуемой» бактериями масляной пленки, которая сопровождается расслоением, затем образованием отдельных кусочков, а далее полным исчезновением её на 21 сутки.
2. Сравнение же динамики УОМ, участвующих в процессе биodeградации показало, что наиболее активно процесс биodeградации происходит с изолятами, включенными в состав биопрепарата «ОН-НОВО» (девять штаммов).
3. Динамика растворенного кислорода, БПК₅ и ХПК (биологического и химического потребления O₂) указывают на интенсивное протекание окислительных процессов, а следовательно очистка воды от

смазочных масел: значение O_2 максимально падает в первые 4-6 суток (в зависимости от видового состава), к концу экспериментов возрастает по мере уменьшения содержания масел; БПК₅ и ХПК уменьшаются, достигая минимума в дни максимума УОМ и в последующие дни, что является доказательством интенсивного освобождения воды от загрязнений микроорганизмами.

4. Биодеструкция полусинтетического и синтетического масел углеводородоокисляющими микроорганизмами идет быстрее и интенсивнее при введении (перемешивании) их одновременно с сорбентами. Эффективность окисления масляного пятна с УОМ выше в присутствии торфа, угольного порошка и речного песка. Последнее связано с выделением в среду легкоокисляемых органических веществ (торф), наличием большой адсорбирующей поверхности (угольный порошок и песок) и, соответственно, контакта микроорганизмов, участвующих в процессе биodeградации смазочных масел.

ПРИМЕНЕНИЕ ПИЩЕВЫХ ЗАГУСТИТЕЛЕЙ В ПРОИЗВОДСТВЕ ПРОДУКТОВ ПИТАНИЯ

Мысаков Д.С., Чугунова О.В.

Уральский государственный экономический университет

Уникальный код статьи: 5327df3007cf3

В соответствии с планом действий Правительства Российской Федерации, направленных на создание благоприятных условий по увеличению доли отечественного производства молочных и мясных продуктов, а также для обеспечения потребностей населения в качественной и безопасной рыбной продукции, продолжается разработка технических регламентов по безопасности пищевых продуктов, отвечающих современным требованиям качества и безопасности пищевых продуктов.

Также федеральным органам исполнительной власти поручено:

- продолжить развитие фундаментальных и прикладных научных исследований в области безопасности пищевых продуктов и здорового питания;
- усовершенствовать систему оценки безопасности и оценки риска за пищевой продукцией, получаемой с использованием современных био- и нанотехнологий;
- увеличить долю отечественных продуктов до 80 % от общего объема реализуемых пищевых продуктов на внутреннем рынке Российской Федерации, путем разработки и внедрения инновационных разработок в сферах органического производства продуктов питания, сельскохозяйственных биотехнологий, нанотехнологий;
- увеличить долю отечественного производства основных видов продовольственного сырья и пищевых продуктов, в том числе обогащенных пищевых продуктов, а также доли производства отечественных пищевых ингредиентов.

Под пищевыми ингредиентами в данном случае понимаются также и пищевые добавки, которые с каждым годом находят все более широкое применение при производстве продуктов питания.

Предпосылками создания и использования идентичных натуральных и синтетических пищевых добавок является рост населения. Человечеству требуется все больше продуктов питания и промышленного пищевого сырья, получаемого из растений и животных

[2].

В то же время вместе с ростом населения, растут и пищевые отходы, которые включают в себя неиспользуемую часть пищи и отходы от приготовления еды. Это – вторая по величине доля в составе твердых бытовых отходов. На человека в год приходится около 95 кг пищевых отходов, которые на 70 процентов состоят из воды и на 30 процентов из твердых частиц [3].

Кроме этого, по данным НИА-Природа при захоронении ТБО (на полигоны поступает 96,5% отходов) выводится 110 млн. тонн пищевых отходов [4].

Не менее половины из этой массы составляют продукты с истекшим сроком годности. Эту проблему и помогают решить пищевые добавки.

Количество пищевых добавок, используемых для производства продуктов в наше время, превышает 500, не считая комплексных пищевых добавок, ассортимент которых постоянно увеличивается.

Большинство таких добавок не имеют, как правило, пищевого значения и в лучшем случае являются биологически инертными, а в худшем – биологически активными и небезразличными для организма [5].

Загустители и гелеобразователи являются пищевыми добавками, которые на основании общности свойств, проявляемых ими в пищевых системах, входят в самостоятельную группу пищевых ингредиентов, получившую название “пищевые гидроколлоиды”. Их применение способствует повышению плотности и созданию определенной структуры пищевого продукта, сохраняющейся даже после тепловой обработки.

В последние годы ведется активная работа по разработке новых структурообразователей, позволяющих улучшить органолептические свойства изделий и стабилизировать показатели качества в процессе хранения. Структурообразователи могут представлять собой как отдельные ингредиенты, так и комплексные смеси на их основе. В связи с этим может наблюдаться синергический эффект – усиление определенных технологических свойств, что позволяет вносить меньшее количество структурообразователей и получать изделие с необходимой структурой. Поэтому использование готовых стабилизирующих систем более целесообразно, так как в них уже учтены характеристики каждого компонента. Однако при этом надо учитывать, что стоимость 1 кг смеси значительно дороже, чем моноингредиента, а использование отдельных гидроколлоидов позволяет вносить их отдельно на разных стадиях технологического процесса, тем самым добиваясь максимального

использования их свойств [6].

В качестве структурообразователей в составе пищевых продуктов могут использоваться камеди, желатин, пектиновые вещества, модифицированный крахмал, агар-агар и др. [1]. В таблице 1 приведены основные направления использования различных структурообразователей в пищевых продуктах.

Таблица 1. Использование структурообразователей в производстве продуктов питания

Наименование	Ксантан	Гуар	Камедь рождкового дерева	Пектин	Альгинат	Желатин	Агар	Геллановая камедь	Модифици- рованный крахмал
соки, нектары	+	+	+	+	+	+	+	+	+
безалкогольные	+	+	+	+	+	-	-	+	+
алкогольные	-	+	-	+	-	+	+	-	+
мороженое	+	+	+	+	+	+	+	+	+
йогурты	+	+	+	+	+	+	+	-	+
коктейли	+	+	+	+	+	-	+	-	+
сливки	+	+	+	-	-	+	+	-	-
сыр	+	+	+	+	+	+	+	-	+
вкусоа- роматические припра вы	+	+	+	-	-	+	-	-	+
хлебобулочные изделия	+	+	+	+	+	+	+	+	+
мучные кондитерские изделия	+	+	+	+	+	-	+	+	+
мармелад	+	-	+	+	+	+	+	+	-
глазурь	+	-	+	-	-	+	-	+	+
джем	+	+	+	+	+	-	+	+	+
фруктовое желе	+	+	+	+	+	+	+	+	+
жевательная резинка	+	-	-	-	-	-	+	-	-
фарш	+	+	+	+	+	+	+	+	+
паштет	+	+	+	+	+	+	+	+	+
колбаса	+	+	+	+	-	+	-	-	+
бульоны	+	+	+	-	+	-	+	-	+
рыбные консервы	+	+	+	+	+	+	+	-	+
овощные консер вы	+	+	+	+	+	+	+	-	+

Как видно из таблицы, наиболее распространенным и многофункциональным загустителем-стабилизатором является ксантановая камедь или ксантан – внеклеточный неусваиваемый полисахарид, представляющий собой продукт особого вида брожения. Микроорганизмы вида *Xanthomonas campestris* в процессе своей

жизнедеятельности выделяют данный вид камеди. Производство ксантановой камеди – сложный многоступенчатый процесс приготовления посевного материала с последующим брожением в танках из нержавеющей стали и выделением продукта спиртовым осаждением. Этот факт объясняет ограничение использования этого структурообразователя в алкогольных напитках из-за растворения в спирте.

Химическое строение ксантана обуславливает его хорошую растворимость в холодной и горячей воде и сообщает его растворам уникальные свойства:

- высокая вязкость при низкой концентрации;
- высокая псевдопластичность (при увеличении сдвигового усилия резко понижается вязкость, после снятия усилия начальная вязкость восстанавливается почти мгновенно);
- высокий модуль упругости;
- на растворы ксантановой камеди не оказывают влияние ферменты, соли, кислоты, основания;
- устойчивость к изменениям ионной силы, температуры;
- в диапазоне pH от 2 до 12 сохраняется постоянная высокая вязкость [6].

При взаимодействии с другими загустителями ксантан создает эффект синергизма: смеси камедей загущают сильнее, чем каждая по отдельности, с гуаровой камедью (гуараном) необходима пропорция 80:20 с большей частью гуара, а с камедью рожкового дерева (*Ceratonia siliqua*) в равной пропорции. В последнем случае возможно даже гелеобразование. С водонабухающими (бентонитовыми) глинами и крахмалами дает увеличение вязкости [7].

Таким образом, структурообразователи, благодаря своим свойствам, находят широкое применение в производстве пищевых продуктов, а также оказывают положительное влияние на организм человека, так как выполняют роль балластных веществ, стимулируя работу кишечника.

Литература

1. Баширов, Б.Р. Новые пектины для кондитерских изделий // Кондитерское производство. 2009. N 3. С. 10-11.
2. Материалы к заседанию “круглого стола” № 5 “Экологические аспекты культуры питания в сохранения здоровья” 23 мая 2012 г. / СПб., Таврический дворец, 2012.
3. Нет Мусору: Виды отходов жизнедеятельности человека №1 [Электронный ресурс]. 2013. URL:

- http://www.net-musoru.ru/vidy_othodov1.htm (дата обращения: 10.02.2014)
4. Сапожникова Г.П. Конец «мусорной цивилизации»: пути решения проблемы отходов. / Под редакцией Новицкого С.Л.. Москва: Оксфам, 2011.
 5. Нечаев А.П., Траубенберг С.Е., Кочеткова А.А. Пищевая химия. / Под редакцией А.П. Нечаева. СПб.: ГИОРД, 2007.
 6. СОЮЗОПТТОРГ: Взять смесевой стабилизатор или смешать самому? [Электронный ресурс]. 2014. URL: http://www.soyuzopttorg.ru/news/postid/own_news/33 (дата обращения: 15.02.2014)
 7. Аромашка: Ксантановая камедь [Электронный ресурс]. 2013. URL: http://www.soyuzopttorg.ru/news/postid/own_news/33 (дата обращения: 16.02.2014)

ГИДРОЛИТИЧЕСКИЕ ФЕРМЕНТЫ ИВАН-ЧАЯ (CHAMERION ANGUSTIFOLIUM)

Нугманова А.И., Галкина Л.А., Багаева Т.В.

Казанский (Приволжский) федеральный университет

Уникальный код статьи: 5342818d936bc

Иван-чай (Кипрей) — самое первое растение, приходящее на помощь человеку в восстановлении природы. После естественных и искусственных экологических катастроф — пожаров, вырубок леса, на месте вымерших деревень и поселений иван-чай разрастается огромными чашами [1]. Считают, что обширные заросли кипрея создают особый микроклимат – более теплый, чем окружающая среда. Таким образом, кипрей помогает молодым деревьям, защищая их от ветра и холода, и ускоряет восстановление леса, пострадавшего от пожара.

К роду кипрей относится 50 различных видов растений, распространённых во всех умеренных и холодных странах, он встречается на всех континентах. В русской европейской флоре их насчитывается 17 видов растений, из которых самый известный *Epilobium angustifolium*- Кипрей узколистный или *Chamerion angustifolium* - Иван-чай.

Известны многие качества кипрея. Особую ценность Иван-чай приобретает благодаря наличию в его составе полезных алкалоидов, способных улучшать обмен веществ, кровообращение, состояние нервной системы, являясь хорошим обезболивающим средством. Благодаря богатому содержанию танинов (до 20%), слизи (до 15%) и витамина С, Иван-чай обладает хорошими противовоспалительными и обволакивающими свойствами при язвенной болезни желудка, гастритах, колитах, дизентерийной диарее, при метеоризме и анемии.

Наличие в растении флавоноидов, обладающих свойствами витамина Р или С₂, способствует накоплению и удержанию в организме витамина С, укрепляя, тем самым, стенки кровеносных сосудов и стабилизируя мембраны клеток [2].

Кроме того, в листьях Иван-чая найдено большое количество микроэлементов [3].

Используется Кипрей и в пищевой промышленности в качестве подсластителя в желе, сиропах и мороженом. Из высушенных корней делают муку для выпечки диетического хлеба и кофе оладий [4]. Кроме

того, кипрей – хороший медонос. Мед, собранный с него, отличается богатым пряным вкусом и лечебными свойствами [5].

Однако в литературе отсутствуют данные о возможности использования Иван-чая в качестве природного удобрения для улучшения плодородия почв, в том числе, за счет его ферментов. Кроме того, сами растения, которые весьма неприхотливы к условиям для роста, могут быть использованы в качестве биотехнологического источника ферментных препаратов.

Целью данной работы был анализ показателей активности ферментов, участвующих в круговороте азота, углерода и фосфора в Кипрее узколистном.

Объектом исследования являлась надземная часть растений Иван-чая. Известно, что в качестве азотных удобрений в почву вносят значительное количество мочевины, для ее активного гидролиза необходим фермент – уреазы. Этот фермент содержится в тканях многих высших растений. Но особенно высокая ферментативная активность уреазы определяется в бобовых растениях, а также в семенах кабачков, арбузов. Определение активности уреазы у Иван-чая показало, что она составляет $12,7 \pm 0,24$ мг/час, что является хорошим показателем для уреаз растений (табл.1). Например, активность уреазы в сое составляет 10,3-15,5 мг/час, а у черных бобов 5.2-8.3 мг/час [6].

Следующим ферментом в анализе Иван-чая была амилаза. Амилаза это комплекс ферментов, которые широко распространены у животных, растений и микроорганизмов, и играют важную роль в углеводном обмене. Их много в семенах, особенно большое количество амилаз образуется при прорастании семян, в которых много крахмала.

Активность данного фермента определяли по степени гидролиза крахмала и содержанию глюкозы.

Результаты исследований показали, что в Иван-чае она составляла $0,032 \pm 0,002$ мг/час, что значительно ниже, чем было выявлено для других растений. В корневищах канн, например, активность составляет 57-69 мг/час [7]. Можно предположить, что низкая активность амилазы в листьях Иван-чая способствует нормальному протеканию углеводного обмена в растениях.

Фосфатазы – ферменты, катализирующие реакцию расщепления сложноэфирных связей в моноэфирах фосфорной кислоты с образованием свободного ортофосфата. Они играют важную роль в клеточном метаболизме, участвуя в обмене углеводов, нуклеотидов и фосфолипидов, а также в образовании костной ткани.

Таблица 1. Гидролитическая активность ферментов Иван - чая (*Chamerion angustifolium*)

Объект исследования	Гидролитическая активность ферментов, мг/час			
	Уреаза	Кислая фосфатаза	Щелочная фосфатаза	Амилаза
Иван-чай	12,7 ±0,24	0,018±0,002	0,040±0,004	0,032±0,002

Известно, что кислые фосфатазы проявляют активность в растениях значительно чаще, чем щелочные фосфатазы. Однако в нашем случае активность кислой фосфатазы в надземной части Иван-чая составляла 0,018±0,002 мг/ час, а активность щелочной фосфатазы составляла 0,040±0,004 мг/час. Активность щелочной фосфатазы у данных растений в 3,5-4 раза выше, чем активность кислой фосфатазы.

Таким образом, растения кипрея узколистного обладают высокой уреазной и щелочной фосфатазной активностями, что позволяет рекомендовать данные растения для нормализации почв, с высоким содержанием мочевины и щелочным значением pH.

ЭЛЕМЕНТНЫЙ СОСТАВ СЕМЯН ОВОЩНЫХ БОБОВ СОРТА АКВАДУЛ

Нго З.К., Куркина Ю.Н.

ФГАОУ ВПО НИУ БелГУ

Уникальный код статьи: 5326с4с182а19

Бобы (*Vicia faba* L.) используют в пищу в свежем, консервированном, сушеном, соленом, мороженом виде, в виде сухого зерна и применяют в медицине и иетологии в составе функциональных продуктов питания. Но химический состав их семян изучен недостаточно полно.

В работе представлены результаты спектрального анализа элементного состава семенной кожуры и семядоли овощных бобов сорта Аквадул, выращенных в Белгороде. Полученные, с использованием электронного ионно-растрового сканирующего микроскопа «Quanta 200 3D», результаты дают представление о содержании элемента в весовых процентах (Wt %) от общего количества элементов в данной точке образца (100 Wt %).

Обнаружено 11 химических элементов (табл.). Доля *углерода* и *кислорода* в семядолях составляла 95,76, а в семенной кожуре внутри и снаружи – 96,05 и 95,31 Wt % соответственно. Известно, что, большое содержание *калия* в семенах свойственно бобовым, которые являются концентраторами калия. Самый высокий весовой процент калия наблюдается в семядоле ($2,35 \pm 0,19$ Wt %), а на внутренней и наружной поверхности семенной кожуры – $2,06 \pm 0,35$ и $1,71 \pm 0,16$ Wt % соответственно ниже.

Содержание *кальция* изменяется от $0,24 \pm 0,05$ Wt % в семядолях до $1,0 \pm 0,09$ Wt % на наружной поверхности семенной кожуры, т.к. кальция обычно больше в старых тканях. Такая ситуация выявлена и с *кремнием*. Доля *алюминия* на наружной поверхности семенной кожуры в 1,9-3,9 раз больше, чем на внутренней поверхности кожуры и в семядолях.

С *фосфором* установлена обратная закономерность (известно, что его больше в молодых частях растения): в семядолях его $0,65 \pm 0,08$, а в семенной кожуре всего 0,02-0,06 Wt %. Такая ситуация выявлена и с содержанием *серы*: в семядолях $0,31 \pm 0,03$ Wt %, что в 2-3 раза больше, чем в кожуре.

Магния достоверно больше снаружи семени ($0,41 \pm 0,03$ Wt %). *Хлора* содержится в семенной кожуре в 1,9-2,2 раза больше, чем в семядолях.

Таблица 1. Элементный состав семян бобов сорта Аквадул, Wt %

Элемент	Семядоля	Наружная поверхность семенной кожуры	Внутренняя поверхность семенной кожуры
C	63,47 ± 0,42	65,62 ± 0,57	59,89 ± 0,37
O	32,29 ± 0,61	29,69 ± 0,57	36,16 ± 0,36
Na	0,08 ± 0,02	0,09 ± 0,01	0,13 ± 0,02
Mg	0,27 ± 0,04	0,41 ± 0,03	0,25 ± 0,02
Al	0,29 ± 0,06	1,17 ± 0,16	0,60 ± 0,08
Si	0,08 ± 0,01	0,11 ± 0,01	0,07 ± 0,01
P	0,65 ± 0,08	0,04 ± 0,02	0,05 ± 0,01
S	0,31 ± 0,03	0,07 ± 0,01	0,15 ± 0,02
Cl	0,08 ± 0,02	0,14 ± 0,02	0,17 ± 0,03
K	2,35 ± 0,19	1,71 ± 0,16	2,06 ± 0,35
Ca	0,24 ± 0,05	1,00 ± 0,09	0,53 ± 0,05
Итого	100	100	100

Ряд накопления элементов (Wt % в порядке убывания) для семядолей бобов сорта Аквадул выглядит следующим образом: C > O > K > P > S > Al > Mg > Ca > Cl > Si > Na; для внутренней и наружной поверхности семенной кожуры соответственно: C > O > K > Al > Ca > Mg > Cl > S > Na > Si > P и C > O > K > Al > Ca > Mg > Cl > Si > Na > S > P.

ГРИБЫ *Ulocladium botrytis* PREUSS. В КУЛЬТУРЕ

Нгуен Т.Х., Куркина Ю.Н.

Белгородский государственный национальный исследовательский
университет НИУ "БелГУ"

Уникальный код статьи: 53275221e27d4

Известно, что грибы рода *Ulocladium* Preuss. встречаются на водорослях, в морской воде, почве высокогорий и пустынь, на мраморе, стеклотекстолите, даже на деталях телевизионной, компьютерной, космической техники [1,2]. Доказано также, что эти грибы являются возбудителями оппортунистических микозов животных [3]. Поэтому важно их всестороннее изучение.

На растениях распространены виды *U. atrum*, *U. cucurbitae* и *U. botrytis*. В условиях многолетнего фитопатологического мониторинга посевов бобов в отдельные годы на территории Ботанического сада НИУ БелГУ была выявлена красная пятнистость листьев выделенный патоген по совокупности культурально-морфологических признаков был идентифицирован как гриб *Ulocladium botrytis* Preuss [4].

Были выделены 2 изолята гриба (с черным и темно-коричневым мицелием). Изоляты формировали коричнево-черные зональные колонии с шерстистым воздушным мицелием. Обильное спороношение наблюдали как на воздушном, так и на субстратном мицелии. Конидиеносцы коленчатые, гладкие. Конидии муральные, длиной 10-20 мкм.

Достоверных данных о влиянии питательной среды на радиальный рост колоний улокладиума не выявлено, тем не менее, следует отметить тенденцию более быстрой скорости роста колоний на среде Сабуро. Благоприятной для роста улокладиума является температура +23°C, т.к. диаметр колоний больше, чем при температуре +17°C.

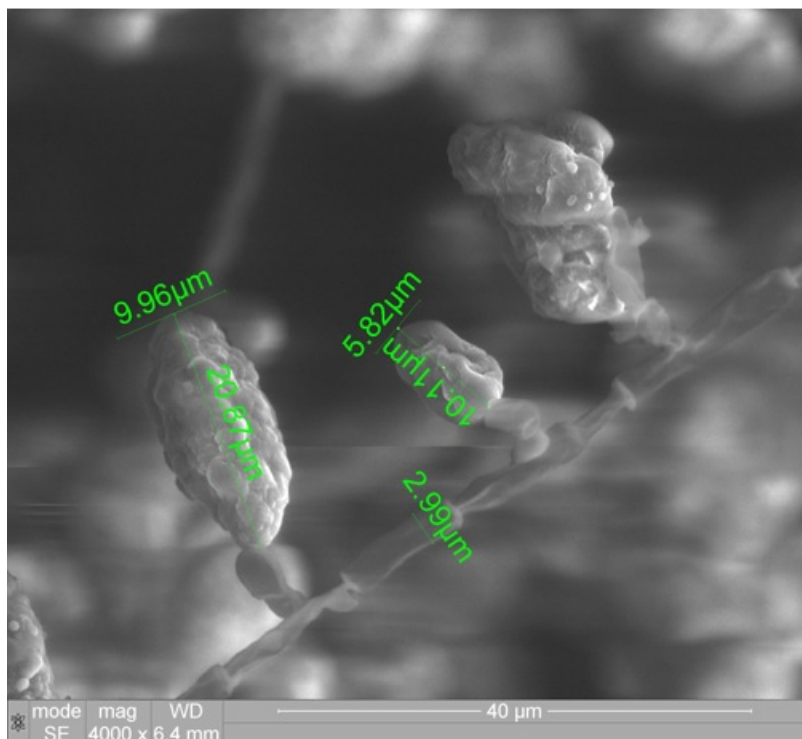


Рис. 1. Конидии *Ulocladium botrytis* Preuss

Литература

1. Алехова Т.А. и др. Разнообразие микроорганизмов, выявляемое в пыли гермозамкнутого объема на борту служебного модуля РС МКС // Современная микология в России. Материалы 2-го Съезда микологов в России. М.: Национальная академия микологии, 2008. – Т. 2. – С. 366.
2. Богомолова Е.В., Кирцидели И.Ю., Коваленко А.Е. Исследование взаимосвязи микобиоты каменистого субстрата с сообществами микромицетов из других экологических групп // Иммунопатология, Аллергология, Инфектология. – 2010. – №1. – С. 56.
3. Ивченко О.В. Микобиота кожи и некоторых других органов у городских мелких домашних животных // Проблемы медицинской микологии. – 2007. – Т. 9, №2. – С. 59-60.
4. Куркина Ю.Н. «Красная» пятнистость листьев бобов // Защита и карантин растений. 2013. – № 7. – С. 44-46.

НАСТОЙ РЫЖИКА ОЗИМОГО КАК ПЕРСПЕКТИВНЫЙ ФИТОДИУРЕТИК

Павленко К.С., Куркин В.А., Зайцева Е.Н., Дубищев А.В.

ГБОУ ВПО СамГМУ Минздрава России

Уникальный код статьи: 53269940e5b62

Известно, что многие растения, содержащие флавоноиды (травя хвоща полевого, трава эрвы шерстистой, цветки василька синего и др.), проявляют диуретическую активность. Ранее, в проведенных нами фитохимических исследованиях надземной части рыжика, было установлено наличие в данном растительном материале веществ флавоноидной природы. В этой связи сделано предположение о перспективности наличия диуретического эффекта у препаратов на основе сырья рыжика.

Цель исследования - оценки возможности применения настоя рыжика, как одной из лекарственной формы на его основе, в качестве фитодиуретика.

Исследования по выявлению фармакологической активности полученного образца настоя рыжика озимого проводили на кафедре фармакологии им. заслуженного деятеля науки РФ, проф. А.А. Лебедева ГБОУ ВПО СамГМУ Минздрава России под руководством профессора А.В. Дубищева и к.м.н., доцента Е.Н. Зайцевой.

В работе изучалось действие настоя семян на выделительную функцию почек. Эксперименты проводились на 100 белых беспородных крысах обоего пола массой 200-250 г. Всего было поставлено 7 серий экспериментов. Животные содержались в условиях вивария на обычном рационе при свободном доступе к воде. За день до опыта крысы получали при помощи специального внутрижелудочного зонда водную нагрузку в объеме 3% от массы тела животного. В день эксперимента животным контрольной группы повторно вводилась водная нагрузка, а опытным - внутрижелудочно лекарственный препарат в идентичном объеме.

Скринингу подвергали настой семян рыжика в дозах 50 и 100 мг/кг - за 4 и 24 часа эксперимента. Животных помещали в обменные клетки на сутки, собранную мочу подвергали анализу. В результате эксперимента определялся объем мочи, концентрация натрия и калия регистрировалась методом пламенной фотометрии (ПАЖ-1), креатинина мочи - фотоэлектроколориметрическим методом (КФК-3).

Статистическую обработку полученных результатов проводили по критерию Манна-Уитни.

В каждом эксперименте рассчитывали показатели диуреза, натрийуреза, калийуреза и креатининуреза за 4 ч и 24 ч. Для более точной оценки результатов все показатели пересчитывались на 100 г массы тела животного. Всего было поставлено 4 серии экспериментов с водным диурезом (40 опытов).

Таблица 1. Результаты исследования действия настоя семян рыжика озимого в дозе 50 мг/кг на экскреторную функцию почек на фоне 3% водной нагрузки

Время опыта, ч	Контроль/опыт	Диурез, %	Натрийурез, %	Калийурез, %	Креатининурез, %
4	К	100	100	100	100
	О	118	132	120	115
24	К	100	100	100	100
	О	112	121	105	111

Введение настоя семян рыжика в дозе 50 мг/кг за 4 часа эксперимента привело к увеличению диуреза в опытной группе животных на 18% по сравнению с показателями у животных контрольной группы. По истечении суток тот же препарат в аналогичной дозе привел к возрастанию почечной экскреции на 12% (табл. 1). Показатель натрийуреза увеличился на 32%, калийуреза - на 20%, а креатининуреза - на 15% (табл. 1) за 4 часа эксперимента. Сопоставимые результаты мы получили и спустя 24 часа от начала опыта (табл. 1).

Таблица 2. Результаты исследования действия настоя семян рыжика озимого в дозе 100 мг/кг на экскреторную функцию почек на фоне 3% водной нагрузки

Время опыта, ч	Контроль/опыт	Диурез, %	Натрийурез, %	Калийурез, %	Креатининурез, %
4	К	100	100	100	100
	О	79	61	82	85
24	К	100	100	100	100
	О	71	57	69	70

Настой семян рыжика в дозе 100 мг/кг проявил себя иначе: способствовал достоверному угнетению диуреза на 21% - за 4 часа эксперимента. Эта же доза, спустя 24 часа от начала эксперимента, привела к снижению выведению почками воды на 29% (табл. 2). Эта же

доза, спустя 4 и 24 часа эксперимента, привела к достоверному снижению выведения почками натрия (на 21% и 29% соответственно), калия (на 18% и 31% соответственно) и креатинина (на 15% и 30% соответственно).

Таким образом, результаты проведенного исследования позволяют отнести настой семян рыжика к препаратам с быстрым развитием диуретического эффекта и короткой продолжительностью действия. В дозе 50 мг/кг препарат вызывал увеличение диуреза на 18%, тогда как в дозе 100 мг/кг за счет более высокого содержания действующих веществ изучаемый препарат проявил антидиуретическое действие.

В этой связи, на наш взгляд, в рамках обоснования целесообразности применения настоя рыжика в качестве диуретического средства, представляется актуальной оптимизация дозировки.

Литература

1. Государственная фармакопея СССР. Общие методы анализа / МЗ СССР. – 11 изд. – М.: Медицина, 1987. – Вып. 1. – 336 с.
2. Зайцева, Е.Н. Анализ действия водных извлечений на основе сырья толокнянки, эрвы, пажиты, репешка и бессмертника на экскреторную функцию почек / Е.Н. Зайцева, А.В. Куркина// Материалы Первой всероссийской научно-практической конференции молодых ученых «Проблемы разработки новых лекарственных средств». - Москва, 3-5.06.2013 г. - С. 30.
3. Зайцева, Е.Н. Устройство для введения водной нагрузки лабораторным животным /Е.Н. Зайцева, А.Р. Зайцев, А.В. Дубищев // Патент на полезную модель №115651 Рос. Федерация №2011138631/13; заявл. 20.09.11г; опубл. 10.05.12 г. // Бюллетень. – 2012; 13: 2 с.
4. Куркин, В.А. Актуальные аспекты стандартизации лекарственного растительного сырья, содержащего флавоноиды / В.А. Куркин // Человек и лекарство: тез. докл. XIV Рос. нац. конгр. М., 2007. - С. 839.

ЛИШАЙНИКИ РОДА ЦЕТРАРИИ (CETRARIA) И КЛАДОНИИ (CLADONIA) В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ИССЛЕДОВАНИИ

Павлова Е.С., Павлов Н.Г.

ГБУ РС (Я) Научно-практический центр

Уникальный код статьи: 5329708881d45

В последнее время, несмотря на имеющиеся в арсенале фтизиатров эффективные противотуберкулезные препараты, в условиях повышенной медикаментозной нагрузки больного наметилась тенденция более широкого использования препаратов природного происхождения, обладающих бактерицидной или бактериостатической активностью, стимулирующих иммунную систему.

Дикорастущие лекарственные растения являются исходным материалом для ряда лекарственных средств и во многих случаях используются без специальной переработки.

Одними из таких растений могут быть лишайники из рода цетрарии (*Cetraria*) и кладонии (*Cladonia*), которые являются и лекарственными растениями, используемыми в медицине для лечения многих заболеваний. Антибиотические свойства лишайников обусловлены присутствием в слоевищах усниновой кислоты и ее производных, относящихся к лишайниковым кислотам. Особый интерес вызывает применение этих лишайников в качестве перспективного лекарственного сырья с противотуберкулезной активностью.

Одним из представителей этого рода является ягель, так называемый «олений мох», пища северных оленей. Растет в виде маленьких серых кустиков в тундре и на торфяных болотах. В официальной и народной медицине лишайник рода кладонии - отдел: лишайники *Lichenes*; класс: сумчатые лишайники *Ascolichenes*; семейство: пармелиевые *Parmeliaceae*; род: кладонии *Cladonia*.

Ягель представляет собой ряд кустистых белых лишайников. Ягель произрастает в местностях, как с холодным, так и с теплым климатом - от полярного края до тропических широт. На территории России встречается 12 видов данной группы. Наиболее многочисленна группа ягеля во флоре хвойных лесов, тундры и лесотундры.

Растения обладают высокой морозостойкостью, лучше развиваются в сухой, открытой среде. Скорость роста ягеля медленная и составляет всего 3-5 мм в год. Но, несмотря на это, эти растения производят

достаточно большую биомассу: до 10-15 ц с 1 гектара. Ягель является ценным кормом домашних северных оленей и диких копытных животных (лося, кабарги, марала), поэтому называется еще и «олений мох». После выпаса оленей на пастбище для его восстановления необходимо несколько десятков лет. Поэтому одно пастбище в тундре обычно не используют несколько лет подряд, стадо оленей переходит на другие места.

Лишайники ягеля являются одними из самых крупных. В высоту могут достигать 10-15 см. Слоевище обычно ветвистое, в форме куста. Каждый отдельно взятый экземпляр выглядит как оригинальное миниатюрное дерево. В нем различают толстый ствол, от которого отходят тонкие извитые полые веточки, истончающиеся к концам. Впитывая влагу, ветви лишайника бывают мягкие и пластичные, а высыхая, они становятся ломкими и легко крошатся. Отрывающиеся сухие кусочки ягеля переносятся ветром на большие расстояния. Так осуществляется процесс размножения лишайников.

На темной бумаге из нескольких сложенных растений получается причудливое белое кружево. Лишайник имеет серовато-белую, желтоватую или беловато-зеленую окраску, что обусловлено наличием в организме ягеля бесцветных гифов грибов, а также тонкого слоя мелких зеленых клеток микроскопической водоросли, расположенного ближе к поверхности ветвей.

Другой представитель лишайников, но из рода Цетрария (*Cetraria*), исландский мох, тоже являющийся пищей северных оленей, более широко известен в медицине.

В медицинскую практику этот лишайник ввел Borich в 1671 году под названием легочный, или исландский, мох, и это название сохранилось в фармации как *Lichenislandicus*. Применялся в официальной медицине для лечения многих заболеваний, в том числе и туберкулеза. Официальное описание: Отдел: лишайники *Lichenes*; класс: сумчатые лишайники *Ascolichenes*; семейство: пармелиевые *Parmeliaceae*; род: кладонии *Cetraria*, вид: *Cetraria islandica* (L.) Ach.

Цетрария исландская - это многолетний листовидно-кустистый талломного типа лишайник высотой 10-15 см. Тело - слоевище - прикрепляется к почве или коре деревьев с помощью ризоидов; суженное при основании желобчато- или трубчато-свернутое слоевище изрезано на неправильные желобчатые или лентовидные, плоские, голые по краю реснитчатые лопасти длиной до 10 см и шириной 2 см. Лопасты в сыром виде мягкокожистые, зеленовато-коричневые, ближе к основанию кроваво-красные, матовые или слегка блестящие, более или

менее одинаковые с обеих сторон, иногда нижняя немного светлее и обычно с псевдоцифеллами. На концах лопастей образуются плодовые тела – алопении, в них развиваются сумки с 8 одноклеточными спорами в каждой.

Встречается в тундровой и лесной зонах, распространен в сосновых борах, песчаных дюнах и торфяниках, горных склонах европейской части России, горах Кавказа, Алтая, Саян, на Дальнем Востоке. Развивается только вдали от промышленных центров, его считают индикатором чистоты воздуха. Используют слоевище мха, собираемое с мая по сентябрь, высушивают на ветру, на солнце. Хранят сырье в сухих, хорошо проветриваемых помещениях до 2 лет. Высушенные слоевища зеленовато-бурые хрупкие, без запаха, горьковато-слизистые на вкус.

Слоевище цетрарии и кладонии содержит 70-80% углеводов, которые представлены в основном в виде крахмала лишенина (64%) и изолихенина (10%), а также глюкозы, галактозы, маннозы, белки (0,5-3%), жиры (2-3%), дубильные вещества (1-2%), витамины – аскорбиновая и фолиевая кислоты, витамины А, В₁, В₂, В₁₂, воск (1 %), камедь и пигменты (6 – 8 %), нафтохинон, горькое вещество цетрарин - цетраровая кислота (2-3%), лишайниковые кислоты (протолихестериновая, паралихестериновая, протоцетраровая, фумаровопротоцетраровая, цениновая, усниновая) и микроэлементы (Fe, Mn, Cu, Co, Mo, B, Cr, Ni, Ti, I). [MedicineLib.ru]. Лишайниковые кислоты мало растворимы в воде, лучше растворяются в щелочной среде. Особую ценность представляет усниновая кислота, обладающая сильным антибиотическим действием и в малых количествах убивающая микобактерии туберкулеза (МБТ) (одна часть натриевой соли усниновой кислоты в концентрации 1:20 000 000 задерживает рост МБТ, а в более высокой концентрации оказывает бактериостатическое действие на МБТ) и грамположительные микробы.

Антибиотическое действие оказывают такие вещества, содержащиеся в слоевище исландского мха и родственных видов, как лишайниковые кислоты, указанные выше, антимикробная активность наблюдается против стафилококков, стрептококков, кислотоустойчивых микроорганизмов, грибов, простейших и вирусов.

Иммуномоделирующее свойство цетрарии исландской связано с высоким содержанием полисахаридов (70-80%) в сочетании с микроэлементами. Известно, что полисахариды цетрарии (лихенин, изолихенин, галактоманнан) обладают иммуномодулирующим, так как относятся к интерфероностимуляторам и адаптогенам, противовоспалительным, противоопухолевым, гепатопротекторным свойствами.

При выполнении совместной научно-исследовательской работы Института биологических проблем криолитозоны СО РАН и Научно-практического центра «Фтизиатрия» по изучению противотуберкулезной активности полученного экстракта из слоевищ лишайников были проведены экспериментальные исследования по влиянию нового препарата на микобактерии туберкулеза.

1. Определение *in vitro* противотуберкулезной активности экстракта из слоевищ лишайников на микобактерии туберкулеза

Воздействие различных концентраций экстракта из слоевищ лишайников изучали на клинических штаммах МБТ: первый - чувствительный к противотуберкулезным препаратам (ПТП); второй - устойчивый к стрептомицину в концентрации 25 мкг/мл, изониазиду в концентрации 1 мкг/мл, рифампицину 80 мкг/мл. Определение активности антибактериального действия испытуемого экстракта лишайников проводили методом серийных разведений на плотных питательных средах в соотношении от 1:1 до 1:512. В качестве питательной среды применяли питательные яичные среды для выращивания МБТ - Финн-2 (Ф-2). Посев в пробирки с питательной средой осуществляли путем внесения суспензии культур микобактерий туберкулеза, приготовленных по оптическому стандарту мутности - 500 млн. микробных тел/мл в количестве 0,2 мл в каждую пробирку.

В качестве контроля производили посевы МБТ, разведенные в физиологическом растворе в концентрациях, соответствующих опытным образцам. Засевали по 4 пробирки с каждого серийно разведенного варианта опытных образцов.

Эффективность антибактериального действия экстрактов лишайника определяли сроками появления первичного, интенсивного и массивного роста культур МБТ.

2. Определение *in vivo* противотуберкулезной активности экстракта из слоевищ лишайников на течение экспериментального туберкулеза

Определение специфической активности экстракта из слоевищ лишайников проводили в соответствии с методами экспериментальной химиотерапии на беспородных белых мышах массой 13-16 г, полученных из вивария Якутской республиканской ветеринарно-испытательной лаборатории. Мышей заражали введением под кожу спины взвеси (0,1 мг бактериальной массы в 0,5 мл физиологического раствора) трехнедельной культуры клинического штамма МБТ с множественной лекарственной устойчивостью. Изучаемый экстракт вводили мышам внутрь со дня их заражения.

Все экспериментальные животные были разделены на следующие

группы по 6 особей в каждой группе: 1-я группа - интактные животные; 2-ая - зараженные животные, не получавшие лечение (контроль заражения); 3-ья группа - зараженные животные, получавшие экстракт лишайников в разведении 1:8 (эксперимент лечения). Продолжительность эксперимента составляла 2,5 месяца, выживших к этому сроку животных умерщвляли.

Эффективность влияния экстракта на туберкулезный процесс у экспериментальных животных оценивали по показателям тяжести течения туберкулезного процесса: динамике массы тела животных, летальности, бактериологическим данным (высеваемость МБТ из легких, селезенки).

Эффективность использования метода

В результате исследований *in vitro* получены следующие данные. Экстракт на клинический штамм МБТ, чувствительный к ПТП, в разведениях 1:1, 1:2, 1:4 оказывал выраженное бактерицидное действие. В разведении 1:8 отмечали бактериостатическое действие, которое проявлялось задержкой начального роста на 13 дней ($p < 0,05$), интенсивного роста - также на 13 дней ($p < 0,01$) и скудным ростом до 10 КОЕ по сравнению с контрольным посевом. Слабое бактериостатическое действие оказывают разведения 1:16, 1:32 с задержкой начального и интенсивного роста на 6 дней ($p < 0,05$) и ростом до 100 КОЕ по сравнению с контролем. Дальнейшие разведения от 1:64 до 1:512 существенно не влияют на размножение и рост МБТ.

Результаты по исследованию антибактериального действия экстракта на клинический штамм МБТ с множественной лекарственной устойчивостью к ПТП показали, что бактерицидный эффект сохраняется в диапазоне разведений 1:1-1:8. Начиная с разведения 1:16, происходит задержка начального и интенсивного роста МБТ на 7 дней ($p < 0,05$), со скудным ростом до 20 КОЕ. Следовательно, экстракт в разведении 1:16 оказывает выраженное бактериостатическое действие на МБТ. Разведение 1:32 обладает слабым бактериостатическим действием. При этом наблюдалась задержка интенсивного роста на 7 дней ($p < 0,05$) с массивностью роста до 100 КОЕ по сравнению с контрольным посевом.

Основными показателями резистентности животного к туберкулезу являются срок выживаемости после инфицирования и степень патологических изменений легочной ткани.

Как показали исследования, у мышей 2-й группы (контроль заражения), не получавших лечение, летальность к концу эксперимента составила - 100 %. Из них 68% животных погибли на 20-26 день, 32% - на 71-75 день. В целом средняя продолжительность жизни составила 40,5

дня, что говорит о высокой вирулентности использованной культуры МБТ. Общая потеря массы тела этой группы составила 27%. Бактериологическое исследование органов животных показало, что из легких и селезенки мышей высевается значительное (>100 колоний) количество МБТ. У мышей 3-й группы (контроль лечения), получавших экстракт лишайника в разведении 1:8, летальность составила 16,6%. Продолжительность жизни погибшей мыши составила 69 дней. Общая масса тела животных этой группы увеличилась на 3,4%. Результаты бактериологических исследований органов животных показали, что из легких и селезенки мышей высевается скудное (до 20 колоний) количество МБТ.

Таким образом, исследования *in vitro* показали, что опытные образцы экстракта из лишайников обладают выраженным противотуберкулезным действием в отношении чувствительных и устойчивых к ПТП штаммам МБТ в зависимости от концентрации действующего вещества. Данный экстракт, обогащенный более широким спектром действующих веществ, при использовании его в лечении экспериментального туберкулеза демонстрирует выраженную антимикобактериальную активность и значительно снижает тяжесть течения у мышей, зараженных МБТ.



Рис. 1. Лишайник рода Кладонии (Cladonia) в диком виде



Рис. 2. Подготовленное (высушенное) сырье - лишайник рода Цетрария

ВЛИЯНИЕ ИНТРОДУЦИРОВАННЫХ БАКТЕРИЙ И АЗОТНЫХ УДОБРЕНИЙ НА РАСТИТЕЛЬНО-МИКРОБНУЮ СИСТЕМУ

Пищик В.Н., Воробьев Н.И., Моисеев К.Г., Свиридова О.В., Сурин В.Г.

ГНУ Агрофизический институт, Санкт-Петербург,
ГНУ Всероссийский институт сельскохозяйственной микробиологии,
Санкт-Петербург,
ГНУ Всероссийский институт сельскохозяйственной микробиологии

Уникальный код статьи: 5329d473f3395

Растения, вступая в симбиотрофные отношения с разнообразными микроорганизмами и образуя единую растительно-микробную систему (РМС), становятся более устойчивыми к стрессовым воздействиям внешней среды. При этом бактерии стимулируют рост растений, а растения выделяют органические экссудаты, которые служат источником питания микроорганизмов в ризосфере и на поверхности корней.

В РМС микроорганизмы в силу физиологических особенностей (скорость роста, миграция) являются более лабильным компонентом, быстро реагирующим на стрессовые условия и защищающим растения от стрессовых воздействий. В результате микроорганизмы способствуют повышению стрессоустойчивости растений, вызывают индуцированный иммунитет к фитопатогенам, регулируют поступление токсических веществ из окружающей среды и значительно повышают урожай сельскохозяйственных растений [1-3].

Однако, в полевых условиях эффективные РМС образуются не всегда, и в этих случаях положительное действие биопрепаратов на растения не выявляется [1-2]. Высокие дозы азотных удобрений могут нарушить баланс основных биогенных элементов в почве и изменить характер взаимодействий микробов и растений. В результате возникают стрессовые реакции у растений, происходит накопление нитратов в растениях, растения поражаются фитопатогенами [4,5].

В работе изучали влияние бактерий *Bacillus subtilis* №2 на РМС, участвующих в цикле азота и внесенных с биопрепаратами на растения пшеницы. Также изучали колонизацию интродуцированными бактериями экологических ниш (ризосферы, ризопланы, филлосферы) на фоне различных доз азотных удобрений (0, 60, 90, 120, 150 и 180 кг/га). Известно, что бактерии *Bacillus subtilis* №2 обладают способностью

продуцировать ИУК и увеличивать рост проростков пшеницы, за счет активизации работы Н-помпы [6].

Для определения физиологического состояния растений пшеницы [7] и корректировки уровня минерального питания растений был использован дистанционный спектрофотометр (АДТ) [8]. С его помощью определялся световой вегетационный индекс (VI) от группы растений [9]: $VI = NIR/VIS$, где NIR и VIS - показания АДТ в инфракрасной и видимой части спектра соответственно. Далее по градуировочной зависимости значения VI пересчитывали концентрации хлорофилла и азота в вегетирующих растениях [10].

В результате обнаружено, что при взаимодействии с почвенными микроорганизмами внесенные бактерии *B. subtilis* №2 оказывают положительный эффект на численность и активность ризосферных микроорганизмов, так и на физиологические характеристики растений. Следует отметить, что при увеличении доз азотных удобрений уменьшается численность азотфиксирующих бактерий и увеличивается численность денитрификаторов, что согласуется с данными других исследований [4].

При инокуляции растений пшеницы бактериями *B. subtilis* №2 численность споровых бактерий рода *Bacillus* значительно увеличилась во всех рассматриваемых экологических нишах (ризосфере, ризоплане, филлосфере). Наибольшее возрастание численности споровых бактерий в ризосфере пшеницы (в 4-5 раз) в нашем опыте отмечалось в вариантах без внесения азотных удобрений и при внесении дозы азотных удобрений $60 \text{ кг} \cdot \text{га}^{-1}$. Возможно, это связано с регуляторной функцией растений, которые в стрессовых условиях: при избыточном количестве минерального азота выделяют в ризосферу ферменты и метаболиты [11, 12], способствующие привлечению и размножению бактерий.

Численность бактерий *B. subtilis* №2 в ризосфере пшеницы при применении высоких доз удобрений (N_{150} , N_{180}) заметно меньше, чем в других вариантах опыта. При этом численность бактерий в ризоплане пшеницы, наоборот, увеличивается в 3-3,5 раза. Вероятно, механизм адаптации растительно-микробной системы к высоким концентрациям нитратов в почве проявляется в изменении популяционной численности интродуцируемых бактерий.

Рекомендуемые дозы азотных удобрений при выращивании пшеницы при инокуляции растений бактериями *B. subtilis* №2 могут быть уменьшены до 120 кг/га . При этом повышается эффективность использования азотных удобрений за счет биологической активности внесенных бактерий. Бактерии *B. subtilis* №2, не только принимают

участие в процессах трансформации азота (денитрификации и аммонификации), но и стимулируют деятельность ризосферных азотфиксаторов.

Литература

1. Завалин А.А. Биопрепараты, удобрения и урожай. М., 2005. 302 с.
2. Кожемяков А.П., Белоброва С.Н., Орлова А.Г. Создание и анализ базы данных по эффективности микробных препаратов комплексного действия. // Сельскохозяйственная биология. 2011. № 3. С. 112-115.
3. Pishchik V.N., Chernyaeva I.I., Kozhemiakov A.P., Vorobyev N.I., Lazarev A.M., Kozlov L.P. Effect of inoculation with nitrogen fixing *Klebsiella* on potato yield // In: Nitrogen fixation with non-legumes Proc. Of the 7 International Symposium on Nitrogen Fixation with non-legumes, 16-21 October, 1996, Faisalabad, Pakistan, Eds: K.A. Malik, M.S. Mirza, J.K. Ladha, 1998, Kluwer Academic Publishers, p. 223-235.
4. Agriculture, Fertilizers and the Environment // Eds. Løegreid M. Bøkman O.C., Kaarstad E.O. 1999. CABI Publishing and Norsk Hydro ASA.-294 p.
5. Черняева И.И., Пищик В.Н. Влияние азотных удобрений на соотношение фитопатогенных и сапрофитной микрофлоры.// Тез. докл. Всесоюзного совещания: «Перспектива создания экологически чистых технологий возделывания сельскохозяйственных культур» /ред.акад. РАСХН Семёнов В.А. 27-29 ноября, 1990. / Изд-во: ВТП типография ВИР, 1990, С. 59
6. 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 // EFITA/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
7. Пищик В.Н., Воробьев Н.И., Сурин В.Г., Моисеев К.Г. Фитодиагностика посева яровой мягкой пшеницы при инокуляции бактериями *Bacillus subtilis* по спектрам оптических сигналов, отраженных от листовой поверхности растений. // Биотехнология: реальность и перспективы в сельском хозяйстве. Изд-во: Кубик, 2013. С. 161-163.
8. Моисеев К.Г., Гончаров В.Д., Сурин В.Г., Маглыш Е.Г., Васенькина А.В. Диагностика состояния растений in situ фотометрическим методом. // Проблемы региональной экологии в условиях устойчивого развития Материалы VI Всероссийской научно-практической конференции с международным участием,

- Киров, 2008. С. 310-321.
9. Surin V.G., Goloudin R.I. (1996) Optical indication for the evaluation of the ecological state of water areas. // Proc. 2-nd International Airborne Conference and Exhibition. San-Francisco, California, p. 366-370.
 10. Сурин В.Г., Моисеев К.Г., Пищик В.Н. Использование вегетационного индекса для калибровки оптических тестеров по азотному питанию растений в посеве // Материалы научной сессии по итогам 2011 года Агрофизического института. / 27-28 декабря 2011г./ СПб.: АФИ. 2012. С. 90-94.
 11. Чиркова Т.В. Физиологические основы устойчивости растений. Изд-во: СПбГУ, 2002. 44 с.
 12. Проворов Н.А., Воробьев Н.И. Генетические основы эволюции растительно-микробного симбиоза. //ред. Тихонович И.А. СПб.: Информ-Навигатор, 2012. 400 с.

ПОВЫШЕНИЕ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЙ ЧИСТОТЫ СПОНТАННОЙ ЗАКВАСКИ

Пономарева Е.И., Алехина Н.Н., Бакаева И.А.

Воронежский государственный университет инженерных технологий

Уникальный код статьи: 53215107d8876

Чрезмерная активность ферментов набухшего зерна затрудняет получение зернового хлеба удовлетворительного качества. Для ее уменьшения используют закваски, в том числе спонтанного брожения. На кафедре технологии хлебопекарного, кондитерского, макаронного и зерноперерабатывающего производств ВГУИТ разработана технология зернового хлеба на основе спонтанной закваски из биоактивированного зерна пшеницы [1].

Набухшее зерно становится благоприятной средой для развития и размножения различных микроорганизмов, чему способствует повышенное содержание влаги и достаточное количество легкодоступных питательных веществ. В результате этого, микробиологическая чистота полуфабрикатов и изделий из биоактивированного зерна требует особого внимания.

Известны способы применения различного растительного сырья, обладающего антисептическим действием, которые открывают возможности получения качественных и безопасных продуктов питания [2].

Для повышения микробиологической чистоты используют хмель и продукты его переработки. Они содержат в своем составе эфирные масла и горькие вещества (α - и β -кислоты), которые оказывают угнетающие действие на развитие контаминирующей микрофлоры.

Целью работы явилось повышение микробиологической чистоты закваски спонтанного брожения из биоактивированного зерна пшеницы.

Закваску исследовали на присутствие условно-патогенных микроорганизмов. Для определения наличия грамположительных и грамотрицательных бактерий образцы высевали на среды и окрашивали по Грамму. Посевы исследовали через 48 ч при помощи микроскопа Р-1 с диапазоном увеличения 1600.

Для приготовления закваски пшеницу очищали от сорной примеси, промывали и выдерживали 24 ч при $(20 \pm 2)^\circ\text{C}$ в воде из разводной сети. Подготовленное зерно дважды измельчали, используя матрицу с

диаметром отверстий 2 мм. После добавляли воду, композицию хмелевую «Ингредиент КХ» (ОАО «Нагинский хлебокомбинат») в количестве 0,04 г на 100 г зерна и замешивали полуфабрикаты влажностью 50 %, которые выдерживали при температуре 35-40 °С до кислотности 10,0 град. За контроль принимали закваску без внесения композиции.

Результаты проведенных исследований показали, что при окрашивании по Грамму в пробах, приготовленных с использованием хмелевой композиции, были обнаружены только грамположительные бактерии, в основном кокки и диплококки, в том числе молочнокислые бактерии.

В контроле наблюдали разнообразную микрофлору: в основном грамотрицательные палочковидные бактерии и кокки, в том числе бактерии рода *Enterobacter*, относящиеся к условно-патогенным микроорганизмам.

Таким образом, было установлено, что применение хмелевой композиции способствует повышению микробиологической чистоты и обеспечивает безопасность спонтанной закваски и, соответственно, изделий на ее основе.

Литература

1. Пономарева, Е. И. Выбор параметров приготовления закваски спонтанного брожения из биоактивированного зерна пшеницы [Текст] / Е. И. Пономарева, Н. Н. Алехина, И. А. Журавлева // Вестник ВГУИТ. – 2013. – № 3 (57). – С. 111–113.
2. Корячкина, С. Я. Применение ферментных препаратов цитолитического действия при производстве хлеба из целого зерна [Текст] / С. Я. Корячкина, Е. А. Кузнецова // Пищевая технология. – 2003. – № 2-3. – с. 43 – 45.

ОБ УСЛОВИЯХ ПЕРСПЕКТИВНОСТИ ВИДОВ РАСТЕНИЙ НА ОБНАРУЖЕНИЕ ИЛИ ДАЛЬНЕЙШЕЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОТИВОВИРУСНОЙ АКТИВНОСТИ

Попов П.Л.

Институт географии им. В.Б. Сочавы СО РАН

Уникальный код статьи: 5327b8601f6de

Лечение вирусных инфекций – одна из наиболее значимых проблемных областей современной медицины. Пока эффективность применения противовирусных соединений затрудняется действием физиологических барьеров, мешающих инаktivации вируса в больном организме. Современные технологические возможности позволяют надеяться на прогресс в данной области. Одним из источников соединений, способных инаktivировать вирусы, являются растения.

В связи с этим актуальна задача формулирования предварительных условий, позволяющих оценить перспективность того или иного вида растений как объекта исследований, направленных на выявление или дальнейшее изучение активности в отношении возбудителя определенной вирусной инфекции. Именно этой теме и посвящено предлагаемое рассмотрение.

С этой задачей тесно связана задача систематизации опыта традиционной медицины по применению растений при вирусных инфекциях.

Нами составлен и опубликован, по 8-ми томам источника [1,2] список 674 видов цветковых растений, применявшихся в традиционной медицине при 21 вирусной инфекции человека и животных [3]. Используемый нами источник содержит информацию о применении с медицинскими целями 2715 видов дикорастущих цветковых растений флоры СССР, но отражает медицинские традиции и других стран, где эти виды встречаются. Составление списка может рассматриваться как шаг в выявлении наиболее перспективных видов – о чем мы будем говорить подробнее. Но пока более точно охарактеризуем этот список.

Далее, после названия болезни (группы болезней) – указывается, в порядке убывания, число видов, применявшихся против нее. 513 видов применялось против какой-либо одной из этих патологий, 161 вид – при двух и более (до 5) патологий. (Соответственно, сумма количеств видов, применявшихся при каждой инфекции, больше 674).

1.Респираторные инфекции, грипп, простудные заболевания - 391; 2. Гепатиты, желтухи - 228; 3.Бешенство - 98; 4.Бородавки - 65; 5.Корь - 29; 6.Оспа натуральная - 29; 7.Энцефалиты -11; 8.Ветряная оспа - 8; 9.Паротит - 7; 10.Ящур - 5; 11.Герпес -5; 12.Краснуха - 4; 13.Полиомиелит - 4; 14.Клещевой энцефалит - 2; 15.Чума свиней - 2; 16.Чума крупного рогатого скота - 2; 17.Чума плотоядных - 1; 18.Оспа овец - 1; 19.Энцефалит у свиней - 1; 20. Желтуха рогатого скота - 1; 21.Вирусная пневмония - 1.

Патологии, обозначенные цифрами 1, 2, 7 являются (каждая) группой болезней, вызываемых вирусами различных семейств, а иногда имеют и невирусную (даже неинфекционную - особенно это относится к гепатитам) этиологию. Традиционная медицина далеко не во всех случаях была способна идентифицировать разновидности гриппа, респираторных инфекций, «простуд», как и разновидности гепатитов. Нами, при проведении статистических подсчетов, все обозначения типа «респираторные инфекции», «острые респираторные инфекции», «грипп», «простуда» сведены в одну группу с названием «респираторные инфекции». Аналогично - с гепатитами, желтухами, острыми и хроническими - они сведены в одну группу с названием «желтухи». Против бешенства растения в большинстве случаев применялись, как ясно из указанного источника, для профилактики заболевания, иногда - «при бешенстве», без уточнения, идет ли речь о профилактике или лечении. В большинстве случаев речь идет, несомненно, о профилактике или лечении этой болезни у людей, в отдельных случаях указывается, что речь идет о бешенстве животных. Нами все варианты применения против бешенства (лечение или профилактика, у людей или животных) сведены в одну группу - «Бешенство».

Указание на лечение бешенства способно вызывать сомнение, потому что эта болезнь считалась смертельной во всех случаях. Остановимся на этой теме подробнее. Современной медицине по крайней мере один строго доказанный случай выздоровления человека от бешенства, при использовании нового метода лечения, известен [4]. Опровержение представления о неизлечимости бешенства дает основания не только для выводов, относящихся к перспективам решающего продвижения в лечении этой болезни, но и для более внимательного отношения к опыту медицинских систем прошлого (так, Авиценна не считал бешенство всегда смертельной болезнью). Вероятно, крайне редкие случаи выздоровления бывали в прошлом, и традиционная медицина пыталась использовать даже самые малые шансы.

Основанные на методах математической статистики расчеты, о которых речь пойдет ниже, применены к первым 6 по численности применявшихся видов растений болезням – то есть к респираторным инфекциям, желтухам, бешенству, бородавкам, кори, оспе. Применение таких методов к другим инфекциям затруднено из-за немногочисленности видов, применявшихся против каждой из них в отдельности.

Сформулируем несколько предварительных условий, принятие которых способно влиять на оценку перспективности вида как объекта изучения противовирусной активности.

Факт применения в традиционной медицине определенного вида растений против вирусной инфекции (одной или более чем одной) является некоторым основанием для научного изучения этого вида – с целью обнаружения противовирусной активности, или (если она уже обнаружена) с целью более глубокого ее исследования. Если вид применялся при определенной вирусной инфекции – вероятно, была полезность применения, и возможно, что она была связана именно с противовирусным действием. Назовем это (наиболее очевидное) основание предварительным условием А.

Другим предварительным условием мы считаем принадлежность вида к таксону (например, семейству), в котором отмечается статистически достоверная концентрация видов с применением при данной вирусной инфекции (предварительное условие В). Если в определенном таксоне достоверно (что устанавливается методами математической статистики) повышена встречаемость видов (по отношению к части флоры лекарственных растений, не входящих в этот таксон), применявшихся при определенной вирусной инфекции, возникает вопрос о факторе, обусловившем эту концентрацию. Допустимо, на наш взгляд, предположение, что этим фактором является полезность применений. Дополнительное значение предварительного условия В заключается в возможности соотнесения данных о концентрации видов, имеющих определенное применение, в определенном таксоне, с данными хемосистематики о распределении веществ определенных классов по таксонам (которые могут быть отнесены и к исследуемому виду).

Варианты условия В соответствуют статистически достоверным концентрациям видов с определенным применением в таксонах того или иного уровня. Такие концентрации наблюдаются не только на уровне семейств, но и на более низких (род) и более высоких (порядок, подкласс, класс) уровнях филогенетической системы растений [3,5]. Изучение

концентраций на уровне рода статистическими методами затруднено, поскольку род, как правило, имеет небольшой объем, и во флоре лекарственных растений нередко представлен одним видом. Для практически ориентированного изучения концентраций видов с определенными применениями оптимальным, с нашей точки зрения, является уровень семейства растений, поскольку семейство, как правило, имеет достаточно большой объем, и вместе с тем, достаточно специфицировано по химическому составу входящих в него видов.

Имеет нередко место иерархическая концентрация: виды с определенным применением концентрируются и на уровне данного таксона, и на уровне более высокого таксона, в который входит данный таксон. (Например, в семействе *Lamiaceae* концентрируются виды, применявшиеся при респираторных инфекциях, и в подклассе *Lamiidae*, в который входит семейство *Lamiaceae*, тоже наблюдается концентрация таких видов). Учет таких случаев – особый (усиленный) вариант условия В.

Третьим предварительным условием мы считаем сочетание у данного вида применения против данной инфекции с применением против другой вирусной инфекции, если существует статистически достоверная концентрация применений против одной из этих инфекций, во множестве видов, применявшихся против другой. То есть во множестве видов, применявшихся при инфекции N, достоверно повышена встречаемость видов, применявшихся при инфекции M (по отношению к части флоры лекарственных растений, не применявшейся при N).

Логическое основание этого условия отчасти подобно предыдущему: фактором, обусловившим статистически достоверное взаимное тяготение двух множеств видов растений, вероятно, является полезность применений. Назовем это условие предварительным условием С. Дополнительное значение этого условия заключается в следующем.

Полезность применения растений при вирусной инфекции не обязательно обуславливается противовирусным действием, она может обуславливаться также симптоматическим и общеукрепляющим действиями. Но различие (в некоторых случаях большее, в некоторых случаях меньшее) болезней по симптоматике делает, в соответствующих случаях, маловероятной или невозможной полезность, обусловленную симптоматическим действием. Если, например, установлено, что во множестве видов, применявшихся при респираторных инфекциях, повышена встречаемость видов, применявшихся при бородавках, усиливаются основания предполагать связь этой концентрации с противовирусным действием.

В общем, очевидно, что более перспективным следует считать вид, применение которого при определенной вирусной инфекции отмечено в разных частях его ареала, по сравнению с видом, применявшимся с той же целью в одной части ареала. Назовем это основание предварительным условием D.

Этому условию родственно другое (назовем его E): вид, применявшийся при определенной инфекции в разные исторические эпохи, более перспективен, чем вид, применение которого ограничено более узкими историческими рамками.

Вид, у которого противовирусная активность обнаружена, следует считать перспективным на ее обнаружение и по отношению к другим вирусам (предварительное условие F).

Условие D имеет определенную связь с условием B, потому что в разных странах и регионах нередко применяются соответственно разные, но родственные виды.

Формирование списка 674 видов цветковых растений, применявшихся при вирусных болезнях человека и животных, является приложением условия A к списку всех цветковых лекарственных растений, в его составе, представленном в использованном источнике. Условие B возможно только при наличии у вида применений при двух и более вирусных инфекциях. Поэтому, если предварительные условия A и B сочетаются, условие A необходимо сформулировать в такой – усиленной – форме, как применение при более чем одной вирусной инфекции.

Из других (кроме A) предварительных условий, пока наиболее разработаны условия B и C.

Приведем примеры таких (соответствующих этим условиям) концентраций видов.

Из 2715 видов лекарственных растений к семейству горечавковых (Gentianaceae) относятся 38 видов. Против бешенства применялось 6 видов семейства горечавковых (15,8%), и 92 вида остальной флоры лекарственных растений (не принадлежащих к этому семейству) (3,4%). Математический критерий Фишера позволяет оценить достоверность различия процентных долей (следовательно, достоверное повышение встречаемости данного применения в данном таксоне). В данном случае величина этого критерия $F=7,3$. Гипотеза о случайном различии процентных долей (нулевая гипотеза) при значении F от 3,8 до 6,6 отвергается с вероятностью 0,95, при значении 6,6 и выше отвергается с вероятностью 0,99.

Сочетание применения против бешенства и против респираторных инфекций свойственно 27 видам (разных семейств), что составляет 27,6%

от числа видов, применявшихся при бешенстве. Доля видов, применявшихся при респираторных инфекциях, от числа видов, не применявшихся против бешенства, составляет 13,8%. $F=11,0$. Следовательно, и в этом случае есть основания отвергнуть нулевую гипотезу.

Таблица 1. Семейства цветковых растений, характеризующиеся достоверно повышенной встречаемостью видов, применявшихся при основных вирусных болезнях человека и животных.

	Число видов	Респират. Инфекции	Желтухи	Бешенство	Бородавки	Корь	Оспа натуральная
Ranunculaceae Juss.	123	- (14)	- (14)	- (1)	- (5)	5,4 (5)	7,2 (6)
Fumariaceae DC.	12	- (1)	5,0 (4)	- (0)	- (0)	- (0)	- (0)
Tamaricaceae Link	15	- (1)	6,2 (5)	- (0)	- (0)	- (0)	- (0)
Malvaceae Juss.	30	10,6 (12)	- (0)	- (1)	- (0)	- (0)	- (0)
Euphorbiaceae Juss.	61	- (2)	- (2)	10,3 (9)	73,2 (24)	- (0)	- (0)
Sambucaceae Link	7	- (3)	- (1)	4,0 (2)	- (1)	- (1)	- (0)
Viburnaceae Dumort.	3	3,9 (2)	- (0)	- (0)	- (0)	- (0)	- (0)
Trapaceae Dumort.	4	- (0)	- (0)	5,7 (2)	- (0)	- (0)	- (0)
Dipsacaceae Juss.	16	4,7 (6)	- (1)	- (2)	- (2)	- (0)	- (0)
Gentianaceae Juss.	38	- (7)	11,6 (11)	7,3 (6)	- (1)	- (0)	- (0)
Cuscutaceae Dumort.	7	- (1)	- (1)	3,9 (2)	- (0)	- (0)	- (0)
Solanaceae Juss.	19	5,7 (7)	13,0 (8)	9,3 (5)	- (0)	- (1)	- (2)
Lamiaceae Lindl. (Labiatae Juss.)	164	15,7 (43)	- (13)	- (3)	- (0)	- (0)	- (0)
Asteraceae Dumort. (Compositae Giseke)	352	- (66)	11,8 (48)	- (15)	- (2)	- (4)	- (4)
Alismataceae Vent.	5	- (0)	- (1)	9,7 (3)	- (0)	- (0)	- (0)

674 вида растений, применявшихся при вирусных болезнях, принадлежат к 11 подклассам и 87 семействам филогенетической

системы. В 4-х подклассах и 15 семействах отмечена статистически достоверная концентрация видов, применявшихся, как минимум, при одной вирусной болезни.

В Таблице 1 представлен список семейств цветковых растений, в которых отмечается достоверная концентрация видов, применявшихся при 6 основных вирусных болезнях (групп болезней) – то есть при респираторных инфекциях, желтухах, бешенстве, бородавках, оспе, кори. Цифры вне скобок характеризуют значения критерия Фишера (только для достоверных концентраций видов с соответствующим применением в семействе), а символ «-» означает отсутствие достоверной связи по критерию Фишера. Пороговые уровни статистической достоверности – те же, что в приведенных выше примерах. Цифры в скобках показывают количество видов данного семейства, применявшихся при соответствующей болезни. Например, в семействе Ranunculaceae против респираторных инфекций применялось 14 видов, но достоверной концентрации видов с этим распространенным применением в этом семействе не отмечается; против кори и оспы применялось соответственно 5 и 6 видов, эти редкие применения достоверно чаще встречаются в Ranunculaceae, чем в остальной части флоры лекарственных растений. В первом столбце таблицы указано число видов того или иного семейства во флоре лекарственных растений, имеющих соответствующее применение. (Флора лекарственных растений - 2715 видов).

В Таблице 2 охарактеризованы связи «болезнь-болезнь», заключающиеся в достоверно повышенной встречаемости видов, применявшихся при одной болезни, в наборе видов, применявшихся при другой болезни. Числа вне скобок показывают значения критерия Фишера только для достоверных связей. Числа в скобках – количество видов, каждый из которых применялся и при болезни, отмеченной в столбце и при болезни, отмеченной в строке. Пороговые уровни достоверности те же, что в Таблице 1. Например, при респираторных инфекциях и кори применялось 17 видов, что позволяет с высокой вероятностью отвергнуть нулевую гипотезу. Символ «-» означает отсутствие достоверной связи по критерию Фишера. Например, при кори и желтухах применялось 5 общих видов, что не дает оснований для предположения о связи применений. В первом столбце таблицы указано число видов флоры лекарственных растений, применявшихся при соответствующей болезни. Напомним, флора лекарственных растений, по нашему источнику, включает 2715 видов.

Таблица 2. Связи между основными вирусными болезнями через

пересечения наборов применявшихся против них видов цветковых растений.

	Число видов	Респират. инфекции	Желтухи	Бешенство	Бородавки	Корь	Оспа Натуральная
Респираторные инфекции	391	+	76,4 (86)	11,0 (27)	10,8 (20)	27,6 (17)	11,3 (12)
Желтухи	228		+	10,8 (19)	11,6 (15)	- (5)	- (5)
Бешенство	98			+	5,7 (7)	- (3)	- (2)
Бородавки	65				+	- (0)	- (1)
Корь	29					+	49,3 (13)
Оспа натуральная	29						+

Связи «болезнь-болезнь», в общем, выражены сильнее, чем связи «семейство-болезнь», и по величине значений критерия Фишера, и по количеству связей в соотношении с количеством объединяемых этими связями элементов. Из 15 возможных связей «болезнь-болезнь» 9 достоверны. Любая из основных вирусных болезней имеет достоверные связи с не менее чем с двумя другими. Вместе с тем, что мы уже отметили выше, лишь сравнительно небольшая часть (около 17%) семейств цветковых растений, в которых есть виды, применявшиеся при вирусных инфекциях, имеет достоверные связи, через концентрацию применений, с хотя бы одной из них.

Учитывая сформулированные условия, и используя опубликованный список видов, применявшихся при вирусных болезнях, можно выявлять виды, наиболее перспективные в качестве объектов изучения противовирусной активности.

**ОБ УСЛОВИЯХ ПЕРСПЕКТИВНОСТИ ВИДОВ РАСТЕНИЙ НА
ОБНАРУЖЕНИЕ ИЛИ ДАЛЬНЕЙШЕЕ ИССЛЕДОВАНИЕ
ПРОТИВОВИРУСНОЙ АКТИВНОСТИ**

Попов П.Л.

Институт географии им. В.Б. Сочавы СО РАН

Уникальный код статьи: 5327b9989e6d9

Литература

1. Растительные ресурсы СССР .Гл. ред. П.Д. Соколов. - Л. :т.т. 1-7, «Наука», 1984-1990.
2. Растительные ресурсы России и сопредельных стран.- СПб., «Наука», 1994.
3. Попов П.Л. Виды растений, применявшиеся при вирусных болезнях человека и животных: закономерности распределения в филогенетической классификационной системе//Журнал стрессовой физиологии и биохимии (электронный), 2008, т.4, № 3, стр.17-64
4. Willoughby R.E.,etc. Survival after Treatment of Rabies with induction of Coma//The New England journal of Medicine. June 16, 2005
5. Попов П.Л., Ботвинкин А.Д. Анализ сведений о применении растений для профилактики и лечения бешенства// Сибирский медицинский журнал, 2008, №3

**МЕТАБОЛИТЫ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ШТАММОВ,
ПЕРСПЕКТИВНЫЕ В КАЧЕСТВЕ ЭФФЕКТИВНЫХ СРЕДСТВ
ПРОФИЛАКТИКИ ВИРУСА ПТИЧЬЕГО ГРИППА.**

Пучкова Л.И., Афолина В. А.

Федеральное бюджетное учреждение науки ГНЦ ВБ «Вектор»,
ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор», п. Кольцово Новосибирской области, Россия.

Уникальный код статьи: 53280f4780f22

В медицине становятся приоритетными направления по изучению природных источников лекарственных препаратов. Микроорганизмы представляют собой большой потенциал для поиска продуцентов антивирусных соединений [1-4]. Литературные данные свидетельствуют о том, что разные виды микроорганизмов способны ингибировать развитие вирусов. Это дает возможность разрабатывать более эффективные препараты на комплексной основе, влияющие на различные этапы репродукции вируса. В литературных источниках обсуждается возможная роль внеклеточных нуклеаз бактерий в защите клеток от проникновения чужеродной генетической информации, в частности вирусных нуклеиновых кислот. Результаты многочисленных исследований показывают, что нуклеазы могут стать одним из достаточно эффективных средств профилактики и лечения ряда вирусных заболеваний. Перспектива использования нуклеаз как противовирусных средств привлекательна еще тем, что они являются «физиологическими» средствами, присутствуя в тканях и жидкостях организма. Нуклеазы выделены из микроорганизмов различных таксономических групп. Наибольший интерес представляют ферменты, не специфичные к определенному виду сахаров и гидролизующие как РНК, так и ДНК.

Получение ферментов из бактерий секретирующих нуклеолитические ферменты происходит в несколько стадий. Первой стадией является выбор штаммов и подбор условий для культивирования.

В данной работе представлено изучение коллекционных штаммов ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» на наличие ферментов специфического и неспецифического действия по отношению к ДНК и РНК и их антивирусные свойства. Нуклеазную активность штаммов исследовали следующими методами:

- 1) Определение способности штаммов к секреции нуклеаз на плотной

питательной среде с тимусной ДНК и толудиновым синим. Положительную реакцию учитывали по ярко-розовой зоне вокруг колонии [5].

2) Определение нуклеазной активности в клеточных экстрактах (КЭ) и культуральной жидкости (КЖ) штаммов в реакционной смеси с ДНК фагов λ или T7 в агарозе [6].

3) Количественное определение нуклеазной активности по превращению субстратных нуклеиновых кислот (дрожжевой РНК) во фрагменты, которые растворимы в 4%-ной HClO_4 , с появлением кислоторастворимого материала с адсорбцией при 260 нм.

Противовирусную активность относительно вируса гриппа A(H5N1) /chicken/Kurgan/05/2005 определяли в профилактической схеме анализа на культуре клеток MDCK

Таблица 1. Сравнительная характеристика образцов бактериальных штаммов, по содержанию белка и РНКазной активности.

образец	штамм	Вид образца	Белок, мг/мл	РНКазная активность, ед/мл
12-01	Dg-91	КЖ	10	71,72
12-02	Dg-91	КЭ	8,0	46,97
12-03	Dg-94	КЖ	10	80,52
12-04	Dg-94	КЭ	8,1	22,22
12-05	Dg-98	КЖ	9	101,5
12-06	Dg-98	КЭ	9,4	31,24
12-07	Az-372	КЖ	11,6	84,81
12-08	Az-372	КЭ	4,4	18,26
12-09	Mg-4	КЖ	7,7	13,64
12-10	Mg-4	КЭ	11,8	41,58
12-11	Mg-5	КЖ	8,4	15,51
12-12	Mg-5	КЭ	9,0	49,17
12-13	Mg-1	КЖ	7,1	14,08
12-14	Mg-1	КЭ	14,01	22,44

Так как одной из возможных причин эффективности против РНК-содержащего вируса гриппа A/H5N1 бактериальных лизатов и может быть содержание в них бактериальных РНКаз. В табл. 1 представлены результаты определения РНКазной активности в бактериальных штаммах, отобранных по методу скрининга. Представлены образцы культуральной жидкости (КЖ) и биомассы в виде клеточных экстрактов (КЭ). Для получения клеточных экстрактов

биомассу разрушали на ультразвуковом дезинтеграторе (MSE, Англия). Степень разрушения (80-90%) контролировали на спектрофотометре по оптической плотности при 560 нм.

Среди проанализированных наибольшей ферментативной (РНКазной) активностью обладают штаммы Dg-91, Dg-94, Dg-98 и Az- 372. Клетки секретируют фермент в среду. В результате проведенных анализов по определению ферментативной активности были отобраны образцы штаммов для изучения противовирусной активности. Полученные данные представлены в табл.2.

Таблица 2. Степень нейтрализации вируса гриппа птиц A/chicken/Kurgan/05/2005 (A/H5N1) бактериальными образцами.

№ Образца	Штамм	РНКаза, Уд.Акт., ед/мг	Индекс нейтрализации вируса, lg ТЦД ₅₀ /мл
A-1	1 Bt кж	-	3,5 lg
11-11	Вр-471 КЭ	68,9	2,5 lg
11-13	Вр-868 КЭ	92,3	2,5 lg
11-14	Вр-878 КЭ	48,0	2,5 lg
11-19	Вр-471 КЖ	50,0	3,5 lg
11-24	В-736 КЖ	31,5	0,5 lg
11-41	Az-372 КЖ	17,9	3,5 lg
12-01	Dg-91 КЖ	46,9	6,5 lg
12-16	Dg-91 КЭ	77,67	6,5 lg
12-25	Az-372 КЖ	17,9	3,0 lg

Изучение противовирусной активности показало, что для образцов, полученных из штаммов Вр-868, Вр-878, Dg-91, Вр-471, Az-372 индекс нейтрализации вируса А/Н5N1 составил 2,5-6,5 lg ТЦД₅₀/мл, на клетках MDCK. Таким образом, данные штаммы могут быть рекомендованы для разработки на их основе препаратов противовирусного действия в качестве профилактического средства.

Метаболиты, выделенные из исследованных штаммов, могут стать одним из достаточно эффективных средств профилактики ряда вирусных заболеваний. Штаммы могут быть полезны не только в качестве противовирусных, но и противоопухолевых агентов.

Литература

1. Безбородов А.М. и др. /Под ред./Нуклеазы микроорганизмов.- М., Наука, 1974,- 328с.
2. Srinivasan Rangarajan E. Sugar non-specific endonucleases // FEMS

Microbiology 2001,V. 25, P. 583-613.

3. Салганик Р.И., Трухачев А.А., Баталина Т.А. Противовирусное действие дезоксирибонуклеазы и рибонуклеазы // Ингибиторы вирусной активности. Рига. 1972. С. 147-152.
4. Шарипова М. Р., Лопухов Л. В., Вершинина О. А., Лещинская И. Б. Некоторые характеристики бактериальной рибонуклеазы //Микробиология, 2005, 74, 1, с.27-31.
5. Герхард Ф. и др. /Под ред./ Методы общей бактериологии- М., Мир, 1984.- Т.3.- 264 с.
6. Маниатис Т., Фрич Э., Сэмбрук Дж. Методы генетической инженерии. Молекулярное клонирование. М.: Мир.-1984.-480 с.

ОСОБЕННОСТИ РАЗВИТИЯ ОСНОВНЫХ ГРИБНЫХ БОЛЕЗНЕЙ В РАЗЛИЧНЫЕ ВЕГЕТАЦИОННЫЕ ПЕРИОДЫ НА РАСТЕНИЯХ ИСХОДНЫХ И ГИБРИДНЫХ ФОРМ МЯГКОЙ ЯРОВОЙ ПШЕНИЦЫ (TRITICUM AESTIVUM L.)

Рипбергер Е.И., Боме Н.А.

ФГБОУ ГОУ ВПО Тюменский государственный университет

Уникальный код статьи: 53237e3e53805

Пшеница является одной из основных зерновых культур мирового рынка зерна, в России её площади по данным форума «Всемирный зерновой - 2013» составляет 21,2-28,3 млн. га. Из них яровые формы занимают 13,8-15,5 млн. га, остальную площадь занимает озимая пшеница. По данным Министерства сельского хозяйства России в 2013 году посевная площадь яровой пшеницы в Тюменской области составила 419,2 тыс. га, что на 9,3 тыс. га больше чем 2012 году [1, 2].

Большая часть посевов пшеницы страдает от поражений грибными болезнями. Применение фунгицидов оказывает отрицательное влияние на функционально-структурное состояние культурных фитоценозов. Их частое использование повышает вероятность возникновения новых рас фитопатогенов и повышает возможность роста их вирулентности. Оставшиеся на растительных остатках и зерне, споры и вегетативный мицелий могут отрицательно сказываться не только на состоянии растений, а также на здоровье человека и животных. Одним из приоритетных направлений в селекции пшеницы является создание сортов, обладающих устойчивостью к фитопатогенным грибам.

Целью данного исследования являлось изучение динамики устойчивости гибридных форм мягкой яровой пшеницы четырех поколений (F_1 ; F_2 ; F_3 ; F_4) к грибным болезням в сравнении с исходными сортами.

Исследование проводили в лаборатории микробно-растительных взаимодействий кафедры ботаники, биотехнологии и ландшафтной архитектуры, а также во время вегетационных периодов (2009-2013 гг.) на экспериментальном участке биостанции «Озеро Кучак» Тюменского государственного университета. Экспериментальный участок расположен на границе двух зон: подтайги и лесостепной зоны (Нижнетавдинский р-н Тюменской области). Почва участка окультуренная, дерново-подзолистая супесчаная. Почвенный анализ

проведён на базе лаборатории «Экотоксикологии» Тобольской комплексной научной станции Уральского отделения РАН. Отбор проб выполнен в соответствии с ГОСТ 28168-89. Валовое содержание элементов в образцах почвы определяли атомно-эмиссионным методом на спектрометре OPTIMA-7000DV. Кислотность в солевой вытяжке почвы экспериментального участка составила 6,6, относится к слабощелочному типу (ГОСТ 26423-85). Содержание гумуса 3,67%. Сухой остаток составляет 0,47%, в норме не должен превышать 0,30% (ГОСТ 26423-85). Количество анионов составило (мг•экв): Cl^- (ГОСТ 26425-85, п.1) – $0,43 \pm 0,00$; SO_4^{2-} (ГОСТ 26426-85) – $0,2 \pm 0,00$; HCO_3^- (ГОСТ 26424-85) – $0,23 \pm 0,01$. Катионов (мг•экв): Mg^{2+} (ГОСТ 26487-85) – $1,66 \pm 0,04$; Ca^{2+} (ГОСТ 26487-85) – $6,86 \pm 0,06$. Содержание биогенных веществ (мг/кг): NH_4^+ (ГОСТ 26489-85) – $19,5 \pm 0,12$; NO_2^- (ГОСТ 26107-84) – $9,15 \pm 0,73$; NO_3^- (26488-85) – $18,8 \pm 0,32$; H_2PO_4^- и HPO_4^- (ГОСТ 26207-84) – $433,3 \pm 34,51$. Валовое содержание макро- и микроэлементов (мг/кг): As – 2,09; Ca – 3362,33; Cd – 25,02; Co – 17,52; Cr – 92,27; Cu – 55,41; Fe – 3553,51; Mg – 1125,37; Mn – 382,64; Mo – 68,61; Ni – 61,84; Pb – 38,99; Sr – 29,69; Zn – 402,52.

В исследовательский период 2009 года на биостанции озеро «Кучак» нами были получены 10 гибридных комбинаций (Cara x Лютесценс 70, Лютесценс 70 x Скэнт1, Скэнт 3 x Скэнт 1, Лютесценс 70 x Скэнт 3, Hybrid x Лютесценс 70, Hybrid x Cara, Cara x Скэнт 1, Hybrid x Скэнт 1, Hybrid x Скэнт 3, Cara x Скэнт 3). Исходными формами в неполных диаллельных скрещиваниях послужили сорта Тюменской селекции (Скэнт 1 и Скэнт 3), а также сорта иностранной селекции: Лютесценс 70 (Казахстан), Hybrid (к-47641) и Cara (к-64381) – Мексика. Местные сорта относились к разновидности *lutescens* (Alef.) Manf., сорта мексиканской селекции – к разновидностям – *erithrospermum* Korn. и *ferrugineum* (Alef.) Manf. Сорта подбирались по результатам комплексного изучения коллекционного фонда мягкой яровой пшеницы Тюменского опорного пункта ВНИИР им. Н.И. Вавилова.

Кастрацию и опыление материнских растений проводили по методике, изложенной В.Ф. Дорофеевым в соавторстве [3].

В полевом эксперименте летом 2010 г. использована методика индивидуальной оценки каждого растения. Посев производился блоками с включением родительских и гибридных форм с площадью питания для каждого растения 10x20 см. В полевых экспериментах 2011, 2012 и 2013 годов гибриды оценивались семьями (семья – потомство одного растения).

Идентификацию фитопатогенных грибов проводили методами

макроскопирования, микроскопирования и влажных камер, с использованием оборудования: ламинарный бокс NU-425-400E («Binder», Германия), микроскоп Axiostar Plus («Karl Zeiss», Германия) с возможностью фотосъемки объектов. В полевых условиях скрининг пораженных растений проводили по методическим указаниям, предложенным О.Д. Градчаниновой в соавторстве [4].

Вегетационные периоды в годы проведения исследований различались по гидротермическому режиму. По показателю естественного обеспечения территории влагой - вегетационный период 2009 года характеризовался как засушливый (ГТК=0,85). Отмечен недостаток влаги в мае (на 23,1%), июне (на 69,1%), июле (на 25,1%) и сентябре (на 49,3%) по отношению к среднесуточному значению. Среднесуточная температура воздуха почти в течение всего вегетационного периода была выше среднего многолетнего значения.

Температурный режим 2010 года в целом был близок к средним многолетним значениям. В тоже время в период формирования всходов (21.05.) отмечалось понижение температуры до $-5,3^{\circ}\text{C}$; что могло оказать отрицательное воздействие на молодые, ювенильные растения. Гидротермический коэффициент Г.Т. Селянинова в период вегетации составил 1,04. Май, июль и август характеризовались резким недостатком влаги по отношению к средним многолетним значениям на 6,7%, 40,9%, 25,2%, соответственно, июнь (130,5%) и сентябрь (110,5%) - увеличением количества выпавших осадков. Сумма активных температур выше 10°C за данный вегетационный период составила $1943,7^{\circ}\text{C}$, превысив максимум данного показателя для активного роста и развития мягкой яровой пшеницы ($1500-1750^{\circ}\text{C}$ - сумма активных температур в период всходы - созревание для мягкой яровой пшеницы предложенные К.А. Фляксбергом) на $243,7^{\circ}\text{C}$ [5].

Рост и развитие растений яровой пшеницы в 2011 году проходили при недостатке влаги на фоне повышенных значений среднесуточной температуры воздуха (ГТК = 1,03). Экстремальным для прорастания семян и появления всходов оказался май с превышением температуры на $1,3^{\circ}\text{C}$ и недостатком осадков на 71,6%. Гидротермические условия месяца Августа так же оказались засушливыми (на $0,2^{\circ}\text{C}$ и 52,2% осадков). Июнь 2011 года характеризовался высоким количеством осадков - 149,0% по отношению к средним многолетним значениям, с превышением температуры на $1,4^{\circ}\text{C}$.

Сумма активных температур выше 10°C за вегетационный период 2012 года составила $1950,7^{\circ}\text{C}$, сумма осадков - 97,7 мм (ГТК = 0,51). В течение всего вегетационного периода наблюдалось экстремальное

сочетание повышенной температуры воздуха и недостаточной влагообеспеченности. Превышение над средним многолетним значением по среднесуточной температуре воздуха составило в мае 1,2°C, июне – 4,1°C, июле – 2,8°C, августе – 2,8°C; количество выпавших осадков за этот период по отношению к норме было 34,0%, 64,0%, 28,9%, 50,5% соответственно.

В 2013 году ГТК составил 1,19, условия влагообеспеченности в течение данного вегетационного периода характеризовались, как слабо засушливые. Сумма активных температур - 1847,9°C. В мае (период посева и всходов) отмечено понижение температуры воздуха на 1,6°C в сочетании с большим (140,9% к норме) количеством осадков. Самая низкая температура воздуха -1,9°C зарегистрирована 13.05.2013. Июнь, июль и август характеризовались превышением среднесуточной температуры воздуха на 0,2°C, 1,0°C и 1,4°C соответственно. По количеству осадков в вегетационный период отмечалось варьирование от недостатка - в июне (62,0%) и августе (62,7%) до переувлажнения - в мае (140,9%) и июле (142,4%).

Развитие грибных болезней и реакция растений пшеницы на воздействие фитопатогенных грибов в немалой степени определялись погодными условиями.

Болезнь растений (ГОСТ 81-21507) - нарушение обмена веществ, клеток и органов целого растения, возникающее под влиянием фитопатогена или неблагоприятных условий среды и приводящее к снижению продуктивности растений или полной их гибели [6].

Фитопатогенные грибы — это особая экологическая группа микроорганизмов, приспособившихся в процессе эволюции к паразитическому образу жизни. Попадая на органы растений они выделяют токсины, физиологически активные вещества и ферменты, тем самым разрушают растительные ткани, питаются и живут за счёт растения.

Регулироваться такие взаимоотношения могут с помощью генотипа хозяина и паразита, а также природно-климатических факторов среды. Проявление устойчивости зависит от отношения паразита и хозяина. Данное взаимодействие объясняется правилом «ген для гена», сформулированного Н.И. Вавиловым (1926) и конкретизированного Н. Flora [7].

Основными факторами, определяющим процесс жизнедеятельности, рост, развития и паразитическую активность возбудителей грибных болезней, является температура и влажность, а точнее их сочетание. От них же во многом зависит степень поражения растений. Как известно на

протяжении жизненного цикла гриба потребность во влажности резко меняется. Для нормального роста и развития каждого вида гриба характерен определенный диапазон температур. Оптимальная температура в сочетании с необходимыми условиями влажности является наиболее благоприятным для роста и развития грибов. [8].

В исследованиях В.Е. Тихонова с соавторами и О.А. Бульдаевой степень поражения растений болезнями во взаимосвязи с другими селекционно-ценными признаками, рассматривается, как способ изучения взаимодействия вредоносного организма, растения и окружающей среды [9, 10].

По индексу развития болезни (R) родительские и гибридные формы были распределены на 5 групп устойчивости: 1. очень низкая (R=81-100%); 2. низкая (R=61-80%); 3. средняя (R=41-61%); 4. высокая (R=21-40%); 5. очень высокая (R=0-20%). Таким образом, нами были получены новые данные по зависимости развития основных грибных болезней на растениях мягкой яровой пшеницы от метеорологических условий, что позволило выделить гибридные комбинации, растения и их потомство, обладающие устойчивостью к фитопатогенным грибам в экстремальных условиях юга Тюменской области.

Erysiphe graminis DC – относится к сумчатым грибам, поражает надземные органы растений. По характеру действия на растение-хозяин относится к биотрофам. Признаки поражения настоящей мучнистой росой нами были отмечены на листьях в виде мучнистого налёта в фазу колошения растений. В дальнейшем происходило старение мицелия, постепенно он приобретал бурый оттенок, на котором развивались сначала светло коричневые, а затем почти черные плодовые тела – клейстотеции. По данным немецкого коллектива профессора Гюнтера Хоффмана и профессора Хенриха Шмуттер формирование конидии мучнистой росы злаков оптимально проходит при 20°C и 100% влажности, прорастают в диапазоне от 0°C до 30°C (оптимум 20°C) при влажности 100%. Даже при незначительной влажности (до 70%), существует возможность прорастания, так как конидии содержат до 70% воды и запасные жиры. Выживаемость свободных конидий при температуре воздуха 2°C составляет 5 дней и при температуре 20°C и влажности 65% – 2 дня. При высоких температурах (25-30°C) исследователи не отмечали образования пустул [11]. К.В. Попкова, так же утверждает о устойчивости мучнистой росы к относительно засушливым условиям среды [8].

Условия 2010, 2011 и 2012 годов оказались благоприятными для развития мучнистой росы (рис. 1). Гидротермические условия выше

названных вегетационных периодов характеризовались как засушливые и очень засушливые. По мнению большинства авторов в жизненном цикле мучнистой росы при распространении конидий и их прорастании на растительном субстрате влажность не играет большой роли [8, 12, 13]. Поражение яровой пшеницы конидиями, созревших на озимой пшеницы происходит в фазы кущения – выход в трубку. Этому периоду в годы благоприятного распространения патогена, соответствовали относительно высокие температуры и резкоизменяющаяся влагообеспеченность. Такие сочетания факторов могли привести к ослаблению ещё не окрепших молодых растений исходных и гибридных форм, но оставались оптимальными для развития и распространения мучнистой росы. Но даже в сложившихся условиях нами были выделены 3 гибридные формы Лютесценс 70 x Скэнт 3, Hybrid x Лютесценс 70, Сара x Скэнт 1 и 3 родительские Скэнт 1, Скэнт 3 и Сара, обладающие очень высокой устойчивостью. В 2013 году признаков поражения обнаружено не было. Причиной такой реакции патогена могло послужить понижение среднесуточной температуры воздуха в мае на 1,6°C (минимум был отмечен 13.05 и составил -1,9°C) в сочетании с избыточным увлажнением 140,9%.

Так же в период колошения молочной спелости в 2010, 2011 и 2013 годах наблюдалось поражение листьев пшеницы пятнистостями (рис. 2). Проникая в клетки растений, патоген вызывает их гибель, за счет чего на поверхности листа образуются светло и темно коричневато окрашенные, различной формы некротизированные участки. Такие симптомы болезни надземных органов растений могут проявляться под действием широкого круга фитопатогенов. Тщательный лабораторный анализ показал, что пятнистости, обнаруженные нами на растениях родительских и гибридных форм *Triticum aestivum* L., были вызваны двумя видами фитопатогенных грибов *Alternaria* spp. и *Helminthosporium* spp.

Alternaria spp. – несовершенные грибы с факультативно сапротрофным образом жизни. Основными факторами, влияющими на рост развитие и распространения фитопатогена, являются свет, влажность и температура. Для образования конидиев на конидиеносцах очень важно сочетание пониженной температуры и темноты [14]. Основное место обитание почва, заражение растений происходит воздушным путем. Наибольшее распространение фитопатогена наблюдается на ослабленных растениях.

Helminthosporium spp. (гелмитоспориозы, пиренофороз) – сумчатые с биотрофным образом жизни фитопатогенные грибы. Первые признаки

заболевания отмечаются в начале фазы выхода в трубку в виде небольших желтых пятен на листьях, затем происходит их постепенное разрастание и потемнение до темно-коричневого цвета. Оптимальная температура развития фитопатогена варьирует в пределах от 24 до 30°C с влажностью воздуха 90-98% [11].

Основой распространения пятнистостей в вегетационный период 2010, 2011 и 2013 года, являлись большое количество осадков и повышенные температуры воздуха в период выхода растений пшеницы в трубку (II декада июня 2010 г. – 20,7°C; 40,7 мм, II декада июня 2011 г. – 14,3°C; 52,0 мм, I декада июня 2013 г. – 13,2°C; 15,3 мм). В 2012 году выше перечисленных симптомов у растений исходных и гибридных (F₃) форм выявлено не было. По ГТК 2012 год был отмечен как очень засушливый с постоянным превышением температуры воздуха. Как известно в связи с особенностями фитопатогенов, вызывающих пятнистости на мягкой яровой пшенице, сложившиеся условия были не благоприятными для формирования конидиальной стадии грибов, и соответственно их распространения. В 2010 году - (50%) и 2011 году - (53%) гибридных форм обладали очень высокой устойчивостью. В условиях 2013 года 70% гибридов (F₄) форм обладали высокой устойчивостью к пятнистостям.

Ржавчинные грибы относятся к подотделу базидиальных и являются облигатными паразитами растений. Мицелий гриба формируется внутри тканей растений, гаустории гриба проникают в клетки, таким образом высасывая питательные вещества. Проявления болезни были обнаружены на листьях исходных форм растений мягкой яровой пшеницы в виде бурых пустул (уредиий). Основными факторами, влияющими на рост, развитие и процесс заражения растений является температура и наличие капельножидкой влаги. Оптимум максимального развития паразита лежит в пределах от 15 до 25°C [11].

Поражения бурой листовой ржавчиной нами были отмечены только 2012 году у исходных форм (рис. 3). Особенности вегетационного периода 2012 года являлись экстремально засушливые условия с неравномерным распределением осадков в июне, июле и августе. Такое соотношение гидротермического режима могло снизить устойчивость родительских форм. Гибридные формы в годы исследований обладали очень высокой устойчивостью к данному патогену.

Такое распределение поражений грибными болезнями может быть связано с биологией фитопатогена и гидротермическими условиями среды.

Заключение

Сравнительная оценка родительских и гибридных (F_1 ; F_2 ; F_3 и F_4) форм в различающиеся по биотическим и абиотическим факторам среды позволила выделить образцы, обладающие устойчивостью к мучнистой росе (гибридные формы - Hybrid x Лютесценс 70, Cara x Скэнт 1, Лютесценс 70 x Скэнт 3 и исходные формы - Скэнт 1, Скэнт 3, Cara), пятнистостям (гибридные формы - Hybrid x Лютесценс 70, Hybrid x Скэнт 3, Cara x Скэнт 3, Cara x Скэнт 1 и исходные формы - Лютесценс 70, Cara) и бурой листовой ржавчине (гибридные формы - Cara x Лютесценс 70, Лютесценс 70 x Скэнт1, Скэнт 3 x Скэнт 1, Лютесценс 70 x Скэнт 3, Hybrid x Лютесценс 70, Hybrid x Cara, Cara x Скэнт 1, Hybrid x Скэнт 1, Hybrid x Скэнт 3, Cara x Скэнт 3 и исходные формы - Скэнт 1, Скэнт 3, Лютесценс 70, Hybrid).

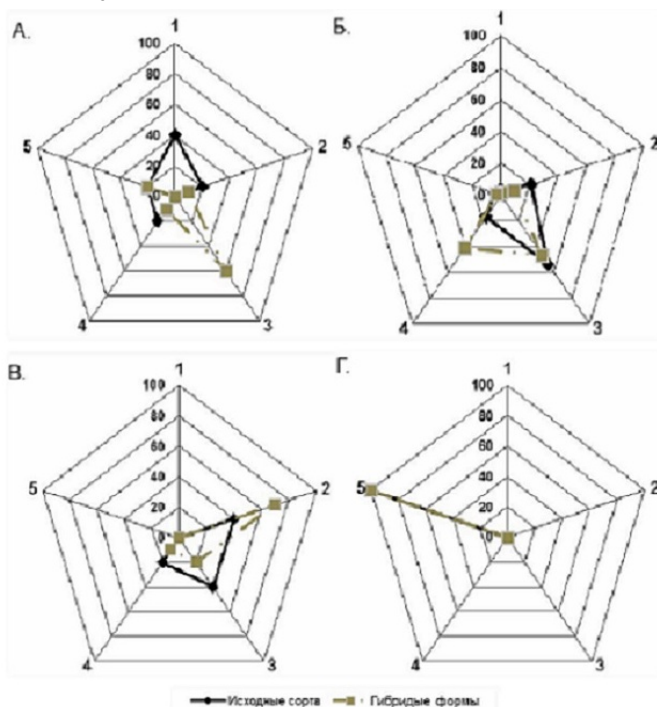


Рис. 1. Устойчивость исходных сортов и гибридных (F_1 ; F_2 ; F_3 ; F_4) форм мягкой яровой пшеницы к мучнистой росе (*Erysiphe graminis* DC. f. *Tritici* Em. Marchal), 2010 г. [А.], 2011г. [Б.], 2012 г. [В.], 2013 г. [Г.]. Группы устойчивости: 1 – очень низкая; 2 – низкая; 3. – средняя; 4. – высокая; 5. – очень высокая.

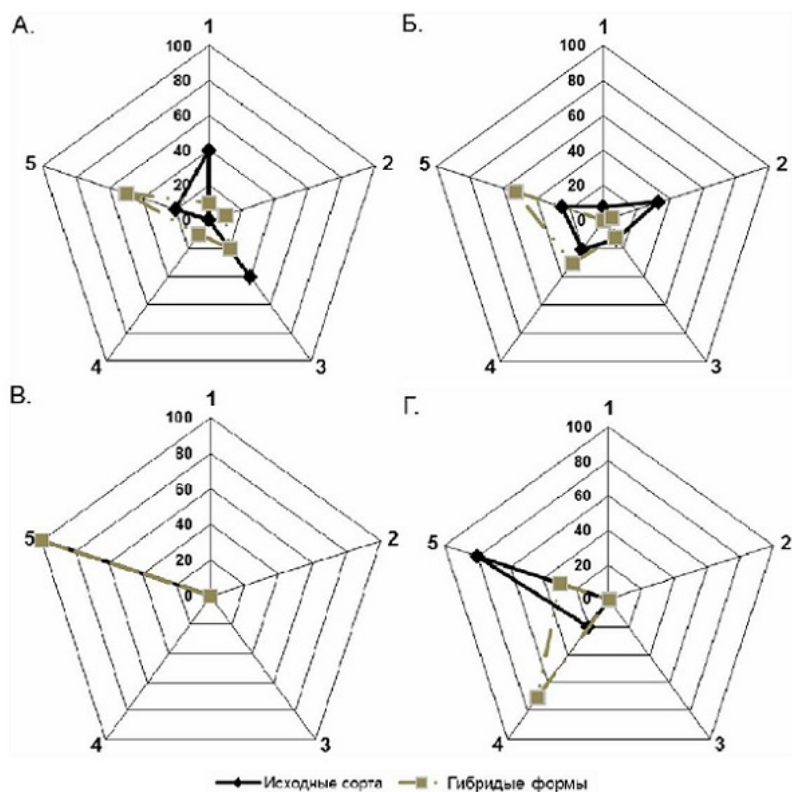


Рис. 2. Устойчивость исходных сортов и гибридных (F1; F2; F3; F4) форм мягкой яровой пшеницы к пятнистостям (*Alternaria* spp., *Helminthosporium* spp.), 2010 г. [А.], 2011г. [Б.], 2012 г. [В.], 2013 г. [Г.]. Группы устойчивости: 1 - очень низкая; 2 - низкая; 3. - средняя; 4. - высокая; 5. - очень высокая.

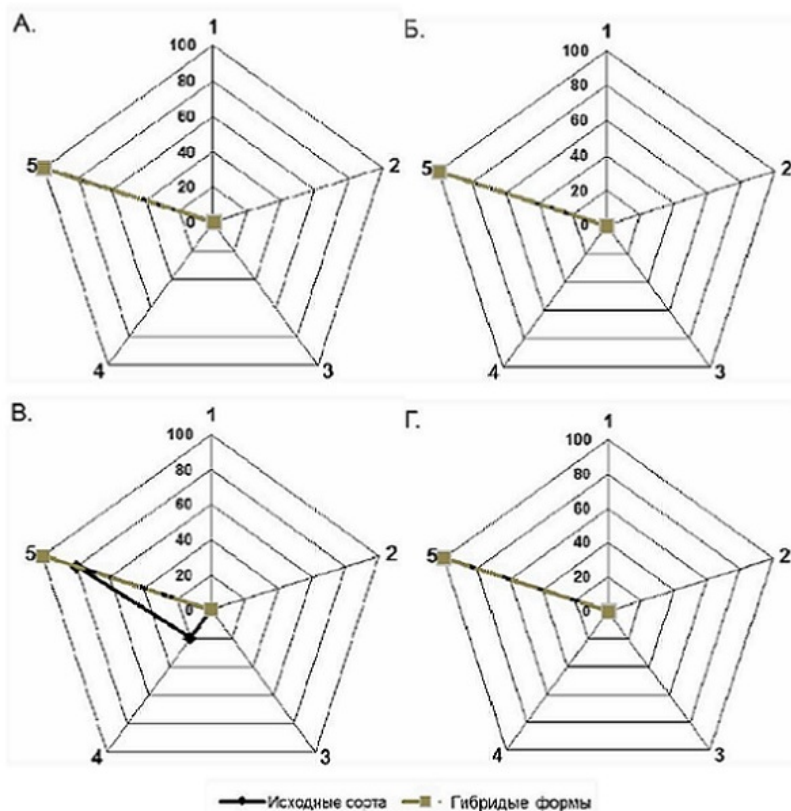


Рис. 3. Устойчивость исходных сортов и гибридных (F1; F2; F3; F4) форм мягкой яровой пшеницы к бурой листовой ржавчине (*Puccinia recondita* Rob. ex. Desm f. sp. tritici Eriks (=P. triticea Eriks.)), 2010г. [А.], 2011г. [Б.], 2012 г. [В.], 2013 г. [Г.]. Группы устойчивости: 1 – очень низкая; 2 – низкая; 3. – средняя; 4. – высокая; 5. – очень высокая.

Литература

1. Всемирный зерновой форум 2013 [Офиц. сайт]. URL: <http://www.grain-forum.com/rus/content/countrys/index.php?ID=1969> (дата обращения: 07.03.2014)
2. «Информация о состоянии агропромышленного комплекса Тюменской области в 2011-2013 годах» 14 ноября 2013 года [Электронный ресурс] // Министерства сельского хозяйства Российской Федерации [Офиц. сайт]. URL:

- http://www.mcx.ru/documents/document/v7_show/25618.363.htm (дата обращения: 07.03.2014)
3. Дорофеева, В.Ф. Цветение, опыление и гибридизация растений / В.Ф. Дорофеева, Ю.П. Лаптева, И.М. Черкашина. - М.: Агропромиздат, 1990. - 144 с.
 4. Гарадчанинова, О.Д. Изучение коллекции пшеницы. Метод. указ. / О.Д. Гарадчанинова, А.А. Филатенко, М.Н. Руденко. - SL.: Колос, 1984. - 26 с.
 5. Фляксберг, К.А. Пшеница / К.А. Фляксберг. - М.: Сельхозгиз, 1938. - 296с.
 6. ГОСТ 81-21507 защита растений. Термины и определения. - М.: ИПК Изд-во стандартов, 1982. - 54 с.
 7. Яковлева, И.П. Фитопатология. Программированное обучение / Н.П. Яковлева. М.: Колос, 1992. - 384с.
 8. Попкова, К.В. Общая фитопатология: учебник для вузов / К.В. Попкова [и др.]. - М.: Дрофа, 2005. - 445 с.
 9. Тихонов, В.Е., Кондрашова, О.А., Митрофанов, К.В. Вредоносный комплекс биотических факторов поражения яровой пшеницы в лесостепной зоне Оренбургского Предуралья / В.Е. Тихонов, О.А. Митрофанов, К.В. Вредоносный // Вестник Российской академии сельскохозяйственных наук. - 2005. - №3. - С. 34-37.
 10. Бульдаева, О.А. Устойчивость растений озимой ржи к поражению фитопатогенами (на примере грибов рода PUCCINIA PERS.): автореф. дис. на соиск. учен. степ. канд. биол. наук (03.00.16) / Бульдаева Ольга Анатольевна; ТюмГУ. - Тюмень, 2007. - 21 с.
 11. Hoffman, G.M. Parasitäre Krankheiten und Schädlinge an landwirtschaftlichen Kulturpflanzen. - Stuttgart: Ulmer, 1999. - 675 p.
 12. Семенкова, И.Г. Фитопатология: учебник для студ. вузов / И.Г. Семенкова, Э.С. Соколова. - М.: Издательский центр «Академия», 2003. - 480 с.
 13. Косогорова, Э.А. Защита полевых и овощных культур от болезней: Учеб. пособие для студентов агроном. специальностей / Э.А. Косогорова. - Тюмень: Изд-во Тюм. гос. ун-та, 2002. - 241 с.
 14. Жизнь растений. В 6 т. Т.2 Грибы / под ред. М.В. Горленко. - М.: Просвещение, 1976. - 478 с.

ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ В АПК

Рогов И.А., Волкова И.М., Иванов Ю.А., Петров Е.Б., Толоконников Г.К.,
Черноиванов В.И.

МГУПП, Отдел биотехнологий ВНИИМЖ, директор ВНИИМЖ,
ВНИИМЖ, советник РАСХН

Уникальный код статьи: 5329f12f394e1

Направление по изучению стволовых клеток является одним из ключевых в современной биохимии, молекулярной биологии, биотехнологии и биоинформатике, находит важнейшие приложения в аграрной науке и практике. В новом подходе, выдвинутом и координируемом академиком Черноивановым В.И. [1-3], на базе разрабатываемой технологии выращивания из стволовых клеток сельскохозяйственных животных соматических тканей *in vitro* реализуются перспективы производства мяса КРС *in vitro*, создания функциональных, выращенных *in vitro* участков неокортекса.

В основу подхода положены экспериментальные и теоретические исследования по получению мяса *in vitro* группы отечественных учёных под руководством академика РАСХН Рогова И.А. [4-8]. Эти работы заложили начала новой технологии выращивания мяса *in vitro*. В частности, проведённый биохимический анализ выявил, что основные показатели биологической ценности клеточной биомассы, полученной методами клеточной биотехнологии, свидетельствуют о ее сходстве с мышечной тканью говядины. При этом уже на данном этапе развития методов биотехнологии можно использовать полученную биомассу в качестве пищевого белкового ингредиента. В отделе биотехнологий ГНУ ВНИИМЖ Россельхозакадемии ведутся работы по развитию и адаптации технологии получения мяса *in vitro* в значительных и экономически выгодных объёмах. Одним из важных для практики вариантов развития технологии является её адаптация для условий выращивания клеток мышечной ткани *in vitro* на пространственных носителях, и получения в результате большого объёма клеточной биомассы. Первый этап технологии в действительности не связан с направленной дифференцировкой стволовых клеток. На первом этапе происходит наращивание пула мультипотентных мезенхимных стволовых клеток

(ММСК) для их дальнейшего использования. В настоящей работе описана математическая модель для наращивания клеточной биомассы во времени, её распределение по поверхности носителей, на которые проводится посев ММСК.

Заложенные основы по выращиванию тканей из стволовых клеток *in vitro* используются для выращивания участков неокортекса сельскохозяйственных животных, ведутся теоретические и экспериментальные исследования для получения функциональных образований из нейронов. Возможная перспектива, над которой проводятся работы, состоит в получении таких функциональных биомасс, которые можно организовать в биоблок для сельхозмашин и механизмов, обеспечивающий реализацию интеллектуальных управленческих функций, выработки алгоритмов поведения и ситуационных решений, не заложенных заранее в программно-аппаратный комплекс сельхозагрегата. Подобное направление в последние годы становится всё более актуальным в связи с активнейшими работами и исследованиями головного мозга животных и человека (включая многомиллиардные национальные и международные проекты BRAIN в США и Human Brain Project в Европе), в том числе, в отношении раскрытия механизмов мышления, построения моделей сознания. Детали и дальнейшие ссылки можно найти в [1-3, 9-10].

Перейдем к построению математической модели технологии выращивания мяса *in vitro* из ММСК сельскохозяйственных животных. Технология достаточно подробно описана в статье Волковой И.М., Рогова И.А. и др. [8]. Процесс получения мяса *in vitro* состоит из трех основных этапов. На первом этапе в культуральный матрас (или на трёхмерную матрицу-носитель) вносили ММСК. Данная культура состоит из трёх типов клеток различных по морфологии. На втором этапе спустя 7-10 сут культивирования по достижении клетками 70-80% монослоя меняли рабочую среду на индукционную для проведения направленной миодифференцировки ММСК *in vitro*. В качестве индуктора использовали ретиноевую кислоту. Известно, что этот индуктор направляет ММСК в сторону образования клеток мышечной ткани *in vitro*. Культивирование в индукционной среде длилось 4 суток, при этом среду обновляли ежедневно. Далее на третьем этапе индукционную среду меняли на основную без добавления индуктора. Спустя 30 суток получали биомассу, состоящую из клеток мышечной ткани. При этом клетки в основном росли в толщину, а занятая ими поверхность не увеличивалась по площади. 1D электрофорез выявил сходства фракционного состава белков клеточной биомассы и белков говядины.

Были обнаружены фракции многих важных полноценных белков мышечной ткани (актин, миозин и др.) в полученной биомассе. Наличие в исследуемых образцах фракций тропонина и тропомиозина, а также фракции легких цепей миозина LC-A1 свидетельствует о том, что, предположительно, была получена смесь клеток скелетной мышечной ткани и клеток гладкой мускулатуры.

Интересным оказался факт, что наряду с образованием кластеров клеток мышечной ткани визуализировалось образование липидных везикул (клеток жировой ткани), которыми пока мы пренебрегаем.

Итак, в конце третьего этапа возникает монослой, состоящий из клеток скелетной и гладкой мускулатуры. В дальнейшем этот монослой снимали как готовый продукт — биомассу, состоящую из клеток мышечной ткани. В дальнейшем при трёхмерном культивировании на носителе, сделанном из «съедобного» материала, можно получать готовый продукт, состоящий как из клеток мышечной ткани, так и из клеток соединительной и жировой тканей.

Нашей задачей является построение математической модели для вычислений плотности и массы выращиваемых клеток, зависящих от времени и других параметров.

Чтобы не ограничивать общность рассмотрения (могут использоваться культуральные матрасы или флаконы для культур клеток, объёмные матрицы, носители различной конфигурации) будем считать носитель M , на поверхности которого выращиваются клетки, гладким ориентированным трехмерным многообразием, причём, вообще говоря, неодносвязным (может быть несколько кусков матрицы и т.п.).

Итак, первым этапом технологии является выращивание достаточного количества стволовых клеток из посеянного на поверхность носителя их первоначального количества. Основным количественным объектом моделирования процедуры выращивания является функция плотности биомассы культивируемых клеток

$$\rho = \rho(x, y, t, \sigma),$$

x и y — локальные координаты, введённые на одной из карт носителя M , то есть на куске поверхности ∂M , на которую высеваются клетки и на которой они растут в виде монослоя, t — время, σ — набор дополнительных параметров, который может быть дополнительно рассмотрен.

Поскольку используемая нами культура состоит из трёх типов клеток, различных по морфологии, то $\rho = \{\rho_1(x, y, t, \sigma), \rho_2(x, y, t, \sigma), \rho_3(x, y, t, \sigma)\}$, то есть ρ представляет собой набор из трёх функций, каждая компонента соответствует одному из трех типов стволовых клеток. Другими словами мы имеем тривиальное трехмерное расслоение (векторная природа

компонент для нас несущественна) над базой M , а функция плотности ρ — одно из его сечений. Отметим, что для модели не принципиально само количество компонент, важно, что рассматривается случай нескольких (для определённости трех) компонент.

Носители компонент не пересекаются, так как клетки растут в один слой, то есть для всех локальных карт атласа: $\text{supp}\{\rho_i(x,y,t,\sigma)\} \cap \text{supp}\{\rho_j(x,y,t,\sigma)\} = \Lambda, i \neq j, \Lambda$ - пустое множество.

Массу отдельных компонент даёт двойной интеграл по границе многообразия M :

$$m_i = \iint_{\partial M} \rho_i(z, t, \sigma) ds,$$

z - точка на ∂M , ds - элемент поверхности ∂M , ∂M - граница носителя M , на которую высеваются и на которой растут стволовые клетки.

Клетки растут только в тех направлениях, где имеется свободная поверхность. Имеет место явление контактного торможения, когда митоз задерживается из-за внешних условий (в нашем случае имеется давление на клетку со стороны ее соседей). Каждая компонента плотности может быть моделирована гладкой функцией в окрестности границы между свободной от клеток площади и уже занятой клетками площади, вне этой узкой границы величина компоненты либо равна нулю (там где еще нет клеток), либо постоянной величине $\{\rho^0 = \rho^0_1, \rho^0_2, \rho^0_3\}$. Пренебрегая указанной узкой границей, получим, что ρ пропорциональна характеристической функции носителя компонент с коэффициентами $\rho^0_1, \rho^0_2, \rho^0_3$.

Найдем уравнение и необходимые условия для определения зависимости ρ от времени.

Высев стволовых клеток задаёт первоначальную их концентрацию на поверхности носителя, то есть мы имеем $\rho^0 = \rho(t)_{t=0}$. Предполагается, что часть поверхности с нанесёнными и растущими клетками представляет собой, вообще говоря, неодносвязное двумерное многообразие $\text{supp}\{\rho\}$ с гладкой границей $\partial\{\text{supp}\{\rho\}\}$. Теперь смоделируем процесс деления клеток. Делятся те клетки, которые имеют для этого возможность, именно, находящиеся на границе со свободной от клеток поверхностью. Во время митоза клетка увеличивается в объеме, увеличивает ту площадь, которую она занимает. Проведенные эксперименты [4-8] с выращиванием клеток показали, что можно считать время удвоения постоянной величиной. Формализация процесса роста клеток при изменяющемся времени удвоения не намного сложнее, но здесь мы ограничиваемся указанным случаем. По прошествии времени удвоения возникает две клетки, вместо одной, причем геометрически это

выглядит, как показано на рисунке 1.

После однократного деления клетки на границе области удвоились, причём рост биомассы осуществлялся по нормали к касательной в точке расположения каждой из клеток. При этом имеются две возможности. Если компонента области односвязна, то длина границы после акта деления увеличивается, если в компоненте имеется подобласть, то надо рассматривать каждую из компонент границы. Тогда для внутренних границ получим уменьшение их длины после акта деления. Например, на рисунке 2 пунктирными линиями указаны границы после акта деления, как видно, для внешней границы, её длина увеличилась, для внутренних границ - уменьшилась.

Длина каждой из границ изменяется, но вновь занятая площадь равна ΔL_0 (Δ - ширина клетки, L_0 - длина границы до деления). С другой стороны эту площадь можно оценить, отталкиваясь от новой длины границы L_1 , которая вычисляется на основе того, что каждая точка первоначальной кривой передвинулась перпендикулярно касательной в этой точке на расстояние Δ' , при этом сама L_1 есть функция от Δ' , то есть $L_1=f(\Delta')$, итак

$$\Delta L_0 = \Delta' L_1(\Delta'). \quad (*)$$

Исследование вопроса о точных математических границах, в которых данное уравнение выполняется мы здесь не проводим. По явному виду границы в начальный момент (до деления), мы для возможных значений Δ' определяем функцию $L_1=f(\Delta')$, а из этого уравнения уже определяем Δ' . Более того, по фиксированному Δ' можно определить не только длину L_1 , но и сам вид границы, то есть фактически плотность биомассы $\rho=\rho(t)$ в те моменты времени, когда клетки очередной раз поделились.

Приведём простой пример для иллюстрации введённых понятий. Пусть засеянная на плоский флакон для культур клеток колония стволовых клеток имеет форму круга, клетки прикрепилась к поверхности флакона в виде монослоя. Перед очередным делением радиус круга равен r_0 , после деления - r_1 . Уравнение (*) приводит для Δ' с учётом того, что $r_1=r_0+\Delta'$ к уравнению $\Delta/r_0 = \Delta'/r_0 + [\Delta'/r_0]^2$. Если принять за малый параметр Δ/r_0 , то $\Delta'=\Delta[1-\Delta/r_0]$.

Однако, с точки зрения изменения во времени плотности биомассы момент деления ничем не выделен, биомасса растёт с момента начала митоза до момента его окончания. Если мы сделаем предположение, что скорость увеличения массы в процессе митоза постоянна, то мы сможем получить зависимость биомассы от времени в любой его момент. При таком предположении Δ следует рассматривать, как ширину

возникающей в митозе второй клетки, поэтому имеем $\Delta = v_0 t$, t – время.

Хотя v_0 по нашим предположениям величина постоянная, ввиду условия (*) скорость v продвижения фронта границы зависит от длины границы и, тем самым, и от времени.

Поскольку компоненты плотности пропорциональны характеристической функции носителя, то для получения уравнения для их определения, достаточно найти уравнение для изменения площади S , занимаемой клетками. Для каждой отдельной компоненты (колонии клеток) это уравнение имеет вид

$$dS/dt = v(L) \int_{\partial S} dl, \quad (**)$$

dS – граница области, занимаемой клетками.

Получить уравнение (**) можно, приравняв приращение площади за бесконечно малый промежуток времени к приращению, выраженному через длину кривой и скорость фронта кривой.

Мы рассмотрели такие периоды роста клеток, когда не происходило актов соприкосновения областей, занятых клетками, друг с другом. В момент соприкосновения кривые в точках контакта перестают быть гладкими, хотя и остаются непрерывными.

В такой ситуации необходимо применять процедуру сшивки гладких решений, но эта процедура проводится в каждом отдельном случае, зависящем от явного задания начальной концентрации посева клеток.

Для получения массы выращенных уже на третьем этапе клеток мышечной ткани необходимо задать скорость их роста из выращенных на первом этапе стволовых клеток. В проведённых экспериментах масса нарастала равномерно, при таком условии её окончательная величина пропорциональна выражениям, получаемым из решения системы уравнений (*) и (**).

Как правило, аналитических выражений для решения системы уравнений (*) и (**) получить не удаётся, если не считать простейшие примеры типа рассмотренного выше. Для вычислений в конкретных случаях выбора многообразия M и начальных конфигураций посевов клеток используется пакет прикладных программ для компьютеров, на описании которого мы здесь не останавливаемся.

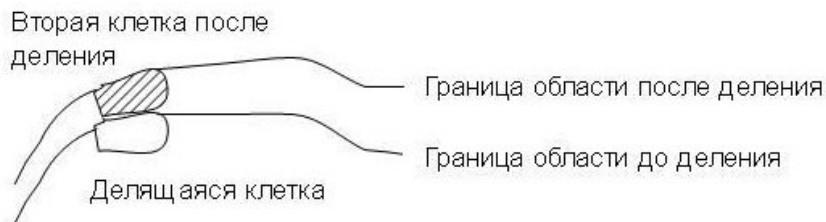


Рис. 1.

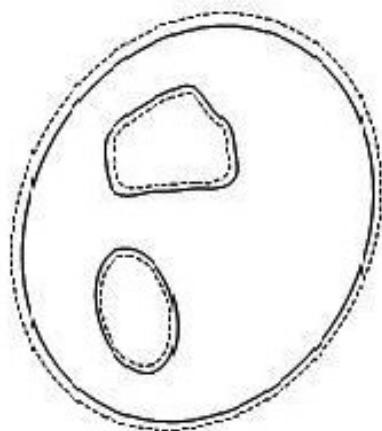


Рис. 2.

Литература

1. Черноиванов В.И. «О деле и личном», М., 2008г.
2. Черноиванов В.И. «Ресурсосбережение и машины с элементами человеческого интеллекта — ответ на кризисные вызовы современности и будущего», Прикл.матем., квант. теория и программ., 2013, т.11, №3, с.9-19.
3. Черноиванов В.И. «Новые сельхозмашины и агрегаты с выработкой ситуационных управленческих решений на основе интеллектуальных биоблоков и алгоритмоформирующих систем» (в печати).
4. Патент: Пат. 2314719 Российская Федерация МПК7 C12N 5/06, А 23 L 1/31. Способ получения мясного продукта / Рогов И. А., Валихов А. Ф., Демин Н. Я., Кроха Н. Г., Лисицын А. Б., Семёнов Г. В., Титов Е. И., Тутельян В. А., Рогов С. И., Эрнст Л. К.: заявитель и патентообладатель ФАО ГОУ ВПО Московский государственный

- университет прикладной биотехнологии. - № 2006119540; заявл. 06.06.2006; опубл. 20.01.2008, бюл. №2.
5. Рогов, И.А. Способ выращивания мяса *in vitro*. Обзор / И. А. Рогов, И. М. Волкова // Биозащита и биобезопасность. - 2012. - Т. IV, № 3 (12). - С. 26-32.
 6. Волкова, И. М. Характеристика мезенхимных стволовых клеток, выделенных из костного мозга и жировой ткани крупного рогатого скота/ И. М. Волкова, Е. В. Викторова, И. П. Савченкова, М. И. Гулюкин //Сельскохозяйственная биология. - 2012. - № 2. - С. 32-38.
 7. Дифференцировка мультипотентных мезенхимных стволовых клеток, выделенных из костного мозга и жировой ткани крупного рогатого скота, в клетки мышечной ткани *in vitro*/ И.А. Рогов, И.М. Волкова, К.В. Кулешов, И.П. Савченкова// Сельскохозяйственная биология. - 2012. - № 6. - С. 66-72.
 8. Мясо *in vitro* как перспективный источник полноценного белка/ И. А. Рогов, А. Б. Лисицын, К. Г. Таранова, И. М. Волкова// Всё о мясе. - 2013. - № 4. - С. 22-25.
 9. Толоконников Г.К., «Вычислимые и невычислимые физические теории по Р.Пенроузу. Часть 3», Прикл.матем., квант. теория и программ., 2012, т.9, №4, с.3-244.
 10. Толоконников Г.К. «Перспективы реализации интеллектуальности машин на основе биоблоков и систем, порождающих алгоритмы» (в печати).

КЛАСТЕРНОЕ СЕРЕБРО КАК БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНОЕ ВЕЩЕСТВО

Розалёнок Т.А.

ФГБОУ ВПО "Кемеровский технологический институт пищевой
промышленности"

Уникальный код статьи: 532272c79b464

Наносеребро, в виде коллоидного серебра, используется уже в течение более чем 150 лет и зарегистрировано в качестве биоцидных материалов в Соединенных Штатах, начиная с 1954 года [1]. Есть отдельные свидетельства его использования еще в древнем Египте и Риме. Однако в настоящее время серебро рассматривается не просто как металл, способный убивать микробы, а как микроэлемент, являющийся необходимой и постоянной составной частью тканей животного и растительного организма.

Серебро принимает участие в обменных процессах организма. В зависимости от концентрации его катионы могут, как стимулировать, так и угнетать активность ряда ферментов. Под влиянием серебра в два раза усиливается интенсивность окислительного фосфорилирования в митохондриях головного мозга, а также увеличивается содержание нуклеиновых кислот, что улучшает функцию головного мозга.

Серебро относится к группе биогенных элементов, являющихся постоянным компонентом тканей организмов, растений, животных и человека. Среднее содержание серебра в организме животных и человека составляет примерно 20 мкг на 100 г сухого вещества, а повышенным содержанием серебра отличаются мозг, железы внутренней секреции, печень, а также почки. Именно поэтому сегодня серебро - это не просто металл, а микроэлемент, необходимый для нормальной жизнедеятельности организма, в том числе и для нормальной работы иммунной системы [2].

Кластерное серебро (его ещё называют «биосеребро») - это разновидность коллоидного серебра, но более однородная и с меньшим размером серебряных частиц по сравнению с классическими препаратами коллоидного серебра: около 1-2 нм против 10-100 нм коллоидного.

Кластер (cluster) в переводе с латыни - гроздь, созвездие (гроздь винограда, гроздь атомов, и т. д.). Группы атомов и ионов определенного

вещества – это промежуточная стадия между отдельными атомами и объёмным веществом. Благодаря своим малым размерам, кластеры или наночастицы обладают необычными, уникальными свойствами, которые сейчас во всем мире активно изучают и начинают использовать. Малый размер частиц кластерного серебра обуславливает его высокую эффективность, стабильность и безопасность. К тому же серебро не накапливается в организме человека и не обладает кумулятивным эффектом: выводится преимущественно через желудочно-кишечный тракт, и частично через почки с мочой [2].

Таким образом, в свете современных представлений, кластерное серебро рассматривается как микроэлемент, необходимый для нормального функционирования внутренних органов и систем, а также как мощное биогенное средство, повышающее иммунитет и активно воздействующее на болезнетворные бактерии и вирусы. Явный дефицит серебра ведет к ослаблению защитных сил организма и, как следствие, к повышенной восприимчивости к инфекционно-воспалительным и простудным заболеваниям различной природы (бактериальной, вирусной, грибковой и т. д.). Именно поэтому кластерное серебро используют в качестве парафармацевтика и нутрицевтика.

Литература

1. Nowack, B.; Krug, H.F.; Height, M. 120 years of nanosilver history: Implications for policy makers. Environ. Sci. Technol. 2010, 45, 1177-1183.
2. Блажитко, Е М. Серебро в медицине/ Е М. Блажитко, В.А. Бурмистров, А.П. Колесников и др. - Новосибирск, Наука-Центр, 2004. - 254 с.

ПОВЫШЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ВЕРМИКУЛЬТУРЫ *EISENIA FETIDA* (SAVIGNY, 1826) В УСЛОВИЯХ СИМБИОНТНОГО СООБЩЕСТВА

Романова Е.М., Игнаткин Д.С., Мухитова М.Э., Новикова К.О.,
Маланина В.С.

Ульяновская государственная сельскохозяйственная
академия им. П.А.Столыпина

Уникальный код статьи: 5327dc392044c

Одним из основных показателей эффективности вермикультуры *Eisenia fetida* (Savigny, 1826) является прирост ее биомассы в ходе биоконверсии органических отходов. Предварительные исследования показали, что плотность заселения субстрата влияет на результативность процесса [1-3]. Эффективность вермикультуры зависит от первоначальной плотности заселения субстрата. Установлено, что для стимуляции размножения маточной вермикультуры, плотность заселения субстрата должна быть ниже общепринятых норм в два-три раза и не должна превышать 15-20 особей на кг. В этих условиях, как было показано нами ранее, отмечен наиболее высокий выход коконов и молоди [1] на фоне сохранения хорошей структурированности вермикомпоста [2, 3].

Нами на протяжении ряда лет с использованием вермикультуры природных видов Средневожских люмбрицид производится экологически чистая утилизация древесных отходов и листового опада. Огромный объем ежегодно собираемого листового опада во время широкомасштабных уборок городских и поселковых территорий вывозится на городские полигоны бытовых отходов, где систематически сжигается. При горении листового опада в атмосферу и почву попадают ПАУ (полиароматические углеводороды), к ним относят бенз[а]пирены, принадлежащие к наивысшему классу опасности, они обладают наиболее высокой канцерогенностью [4-7]. Успешное решение этой проблемы способна обеспечить вермикультура, если ею заселить листовые кучи. Для реализации этого проекта необходимо интенсивное наращивание численности и биомассы вермикультуры. Поиск резервов для увеличения численности и биомассы привел нас к решению использовать еще один из биологических видов деструкторов при выращивании маточной вермикультуры. В маточную вермикультуру мы

подселили эффективных биодеструкторов – брюхоногих моллюсков *Achatina fulica* (Ferussac, 1821). Условия содержания этих моллюсков удовлетворяют требованиям вермикультуры *E. fetida*. По нашим наблюдениям, субстрат и отходы жизнедеятельности моллюсков оказались ценным кормовым ресурсом для маточной вермикультуры. Результаты исследований подтвердили это наблюдение.

Целью нашей работы был поиск резервов наращивания биомассы *E. foetida* для повышения эффективности производства вермикультуры.

В задачи исследования входило определение репродуктивных параметров, показателей прироста биомассы, определение возрастной структуры и соотношения разновозрастных групп.

Материал и методы. В исследовании использовали вермикультуру прибалтийских и средневолжских червей *E. fetida*. Субстрат включал ферментированный навоз крупного рогатого скота и березовый лиственный опад в соотношении 1:4. Биотрансформацию субстрата проводили в трехлитровых контейнерах в пятикратной повторности.

В первой серии опытов 5 контейнеров с субстратом заселялись половозрелыми средневолжскими дождевыми червями *E. fetida* (10 особей на 1 кг). Во второй параллельной серии опытов в каждый из 5 контейнеров с субстратом заселяли прибалтийских дождевых червей (10 особей на кг). В третьей параллельной серии опытов в каждый из 5 контейнеров с субстратом помимо дождевых червей заселялись по две половозрелых особи ахатин - *A. fulica*. Каждая из ахатин весила 35-38 г. Продолжительность опытов составляла период смены поколений *E. fetida*, т.е. 14 недель. Вермикультивирование проводили при температуре 22-25°C, влажность субстрата составляла 75%, pH – 7,2.

Результаты и их обсуждение. Через 14 недель в первой серии опытов со средневолжской вермикультурой *E. fetida* в конце опыта отмечалось увеличение общей численности червей в 23,3 раза, при увеличении биомассы в 3,7 раза, по сравнению с исходной. Все особи родительской генерации были живы. В возрастной структуре популяции численно преобладала молодежь ($48,4 \pm 2,5\%$) и личинки ($37,6 \pm 5,5\%$) (рис. 1.). Коллумелярный вес особи варьировал от 0,21 г до 0,31 г, в среднем составлял $0,25 \pm 0,01$ г.

Во второй серии опытов при съеме данных отмечалась сходная картина. В маточной прибалтийской вермикультуре *E. fetida* доля молодежи составила $55,8 \pm 2,4\%$, а личинок - $21,0 \pm 3,5\%$. Оценка количественных показателей вермикультуры показала, что за период смены поколений численность дождевых червей прибалтийской расы возросла в 17,3 раза, при этом биомасса культуры возросла в 2,8 раза.

Все особи родительской генерации были живы. Коллумелярный вес червя прибалтийской расы варьировал от 0,2 г до 0,27 г, в среднем составлял $0,23 \pm 0,01$ г.

При культивировании *E. fetida* в зооценозе с *A. fulica* возрастная структура популяции червей в конце опыта отличалась обильным содержанием молоди во всех ее размерных категориях (молодь до 3 см составляла $46,2 \pm 2,4\%$, а молодь от 3 до 5 см – $23,1\%$), также отмечалось существенно больше коконов ($25 \pm 7,4\%$), чем в первой и второй серии опытов (рис. 1.).

При сравнении двух рас *E. fetida* – средневожской и прибалтийской, было установлено, что в первом случае доля мелкой молоди (до 3 см в длину) составляла $91,1 \pm 4,3\%$, а во втором $92,2 \pm 3,8\%$, что свидетельствует об отсутствии достоверных отличий. Следует отметить, что фенотипически прибалтийская раса по размерам несколько меньше средневожской, но способна существовать даже в переувлажненных субстратах, в которых гибнет средневожская раса *E. Fetida*.

В третьей серии опытов, в которой вермикультура функционировала в зооценозе с брюхоногими моллюсками ахатинами, оценка численности популяции показала, что она возросла за 14 недель в 17,8 раза, а биомасса достоверно возросла в 8,5 раза ($P < 0,05$). Все особи родительской генерации были живы, их вес изменился в большую сторону в 3,5 раза и варьировал от 0,75 г до 1,05 г, в среднем он составлял $0,86 \pm 0,01$ г, что в 3,3 раза больше исходного. При этом коллумелярный вес особи вермикультуры в зооценозе с ахатинами был достоверно выше, чем в монокультуре в 1,6 раза и варьировал от 0,35 г до 0,41 г, при среднем весе – $0,38 \pm 0,01$ г.

Заключение. Подводя итог проведенным исследованиям, необходимо отметить, что маточная вермикультура в зооценозе с ахатинами, существенно превосходит по коллумелярному весу, показателям прироста биомассы монокультуры обеих рас. При культивировании в составе сообщества дождевые черви *E. fetida* и улитки *A. fulica* проявляли четко выраженные симбиотические отношения, позитивно сказавшиеся на маточной вермикультуре *E. fetida*. Это выразилось в приросте общей биомассы вермикультуры, которая в симбионтном сообществе была более чем в два раза выше, чем при монокультурном разведении. В условиях симбионтного сообщества возросла средняя масса зрелой особи и ее коллумелярный вес.

Также следует отметить, что *E. fetida* средневожской расы была более продуктивна, по сравнению с *E. fetida* прибалтийской, которая превосходила первую по стабильности откладки коконов. Для

эффективного наращивания биомассы маточной вермикультуры *E. fetida* и получения фенотипически более крупных особей, характеризующихся высокой биотрансформирующей способностью, можно рекомендовать ее разведение в симбионтной культуре с *A. fulica* или другими эффективными деструкторами, не конкурирующими за экологическую нишу.

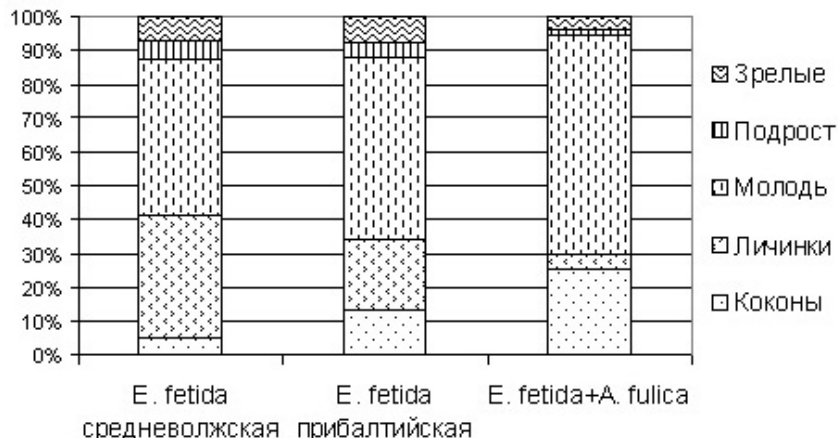


Рис. 1. Возрастная структура популяций *E. fetida* в вермикультуре и в зооценозе с *A. fulica*

Литература

1. Романова, Е. М. Оптимизация плотности популяции вермикультуры в условиях пониженных температур / Е. М. Романова, Д. С. Игнаткин, М. Э. Мухитова, Т. Г. Баева, Д. А. Удод, А. К. Сибгатуллова // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии.-2013.-№ 2 (22).-С. 35-39.
2. Романова, Е. М. Сравнительное исследование структурирующих способностей компостных червей видов *Eisenia fetida* (SAVIGNY, 1826) и *Eisenia hortensis* (MICHAELSEN, 1889) (OLIGOCHAETA, LUMBRICIDAE) / Е.М. Романова, Д.С. Игнаткин, М.А. Видеркер, М.Э. Мухитова, В.С. Маланина // Международный научно-исследовательский журнал. Часть 1. - 2014. - №2 (21). - С. 57-58.
3. Романова, Е. М. Оценка структурирующих способностей люмбрицид Средневолжского региона / Е. М. Романова, М. Э. Мухитова, Д. С. Игнаткин // Ветеринарная медицина XXI века: инновации, опыт,

- проблемы и пути их решения: Материалы Международной научно-практической конференции, Том 1. – Ульяновск, 2011. – С. 229-232.
4. Романова, Е. М. Оценка экологического состояния почв / Е. М. Романова, В. Н. Любомирова, В. В. Романов, Д. С. Игнаткин // Современные достижения ветеринарной медицины и биологии – в сельскохозяйственное производство: Материалы II Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, 21-22 февраля 2014 г. – Уфа: Башкирский ГАУ, 2014. – С. 309-312.
 5. Романова, Е. М. Региональные особенности несанкционированных свалок твердых бытовых отходов Ульяновской области / Е. М. Романова, В. Н. Намазова // Вестник Алтайского государственного аграрного университета.–2008.–№ 7.–С. 50-55.
 6. Намазова, В. Н. Сезонная динамика миграции тяжелых металлов в почвах свалок и полигонов ТБО, расположенных на землях сельскохозяйственного назначения в Ульяновской области / В. Н. Намазова, Е. М. Романова // Известия Оренбургского государственного аграрного университета.–2008.–Т. 4.–№ 20-1.–С. 163-166.
 7. Любомирова, В.Н. Биотестирование токсичности почв свалок твердых бытовых отходов / В. Н. Любомирова, Е. М. Романова, В. В. Романов, Т. М. Шленкина// Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии.–2013.–№4 (24), 2013.–С. 50-54.

СЕЛЕКЦИЯ АПТАМЕРОВ К КЛЕТКАМ ГРИБА *FUSARIUM OXYSPORUM*

Савицкая А.Г., Литовка Ю.А., Березовский М.В, Замай А.С,
Чечик А.

ФГБОУ ВПО «Красноярский государственный медицинский университет
им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого»,

ФГБОУ ВПО «Сибирский государственный технологический
университет»,

Университет Оттавы (Канада)

Уникальный код статьи: 532ade5c5108c

В настоящее время практический интерес представляет быстрая и точная идентификация возбудителей микозов и микотоксикозов в биологическом материале. Одним из решений этой проблемы является конструирование и применение аптамеров, способных к специфическому связыванию с разнообразными молекулами-мишенями. Аптамеры, полученные *in vitro* в ходе направленного отбора из библиотек олигонуклеотидов, характеризуются стабильностью и высокой специфичностью в отношении различных мишеней: белковых молекул, пептидов, нуклеиновых кислот, полисахаридов, вирусных частиц, бактериальных и опухолевых клеток [1-5]. Однако экспериментальные данные о конструировании высокоспецифичных аптамеров в отношении фитопатогенных грибов, включая представителей рода *Fusarium*, в литературе практически отсутствуют. В связи с чем, целью данной работы было исследование возможности селекции аптамеров к клеткам микромицетов и оценка их видоспецифичности.

Для проведения отбора аптамеров к клеткам микроскопических грибов был выбран штамм B1смл *F. oxysporum* из коллекции культур кафедры химической технологии древесины и биотехнологии СибГТУ, обладающий высокой степенью фитотоксической активности в отношении широкого круга тест-объектов. Селекцию специфичных олигонуклеотидных аптамеров осуществляли по методу Cell-SELEX в течение 10 раундов при различных температурах (4, 25 и 37 °C). Выбор лучшего пула, из 10 полученных в результате селекции, проводили на проточном цитометре [1,5].

Результаты оценки связывания аптамеров с клетками *F. oxysporum* показали, что благоприятная температура для проведения селекции

составляет 25 °С, при которой олигонуклеотиды наиболее эффективно связываются с мишенью (рисунок 1). Максимум связывания наблюдается на третьем раунде для 25 и 4 °С (77,6 % и 45,1 % соответственно) и на четвертом раунде для температуры 37 °С (60,5 %), однако в дальнейшем отмечено снижение процента связывания. Таким образом, для проведения дальнейшей селекции были выбраны пулы после третьего, пятого и седьмого раундов селекции при 25 °С.

Следующий этап отбора аптамеров заключался в проведении трех раундов непрерывной негативной селекции с клетками грибов отличных родов *Penicillium* и *Alternaria*, а также с клетками грибов рода *Fusarium*, отличного вида, и к мертвым клеткам исходного штамма Б1 смл *F. oxysporum*. В результате проведения негативной селекции был отобран пул после пятого раунда отбора, показавший максимальное связывание с клетками гриба - 59,6 %.

Для подтверждения достоверности видоспецифичности аптамеров провели их инкубацию с клетками вида *F. equiseti*. Процент связывания аптамеров после негативной селекции с клетками *F. equiseti* был очень низок, не превышал 0,42 % и был на уровне связывания с исходной библиотекой - 0,41 %.

Полученный пул аптамеров представляет собой смесь единиц аптамеров, которые имеют отличные друг от друга последовательности и конфигурации и могут специфично связываться с определенными биомаркерами. Наличие небольшого процента связывания с неспецифичными клетками свидетельствует о наличии у них маркеров, аналогичных таковым у клеток-мишеней. Таким образом, при разделении пула на отдельные единицы и выявлении их особенностей возможно получение родо- и видоспецифичных единиц, а так же единиц связывающихся с различными факторами патогенности, что, в свою очередь, позволит не только получить информацию о присутствии патогена, но и о его возможном поведении.

Полученный пул аптамеров был секвенирован на отдельные клоны, которые в дальнейшем будут проверены на эффективность связываемости с клетками исследуемого вида *F. oxysporum* и возможное влияние на его биологические свойства.

Литература

1. Кульбачинский А. В. Методы отбора аптамеров к белковым мишеням / А. В. Кульбачинский // Успехи биологической химии. – 2006. – т. 6. – С. 193 – 224.
2. Kwame S. Development of DNA aptamers using Cell – SELEX / Kwame S.,

- Dihua S., Xiangling X. // Nature protocols. - 2010. - Vol. 5. - № 6. - P. 1169 - 1185.
3. Maureen McKeague. Screening and Initial Binding Assessment of Fumonisin B1 Aptamers / Maureen McKeague, Charlotte R. Bradley, Annalisa De Girolamo, Angelo Visconti, J. David Miller, Maria C. DeRosa // Int. J. Mol. Sci. - 2010. - №11. - P. 4864-4881
4. Wang L. An aptamer-based chromatographic strip assay for sensitive toxin semi-quantitative detection / Wang L, Ma W, Chen W, Liu L, Ma W, Zhu Y, Xu L, Kuang H, Xu C. // Biosens Bioelectron. - 2011. - №15. - P. 3059-3118.
5. Berezovski M. Non-SELEX selection of aptamers / M. Berezovski // J. Am. Chem. Soc. - 2006. - № 128. - P. 1410-1411

РАЗРАБОТКА КОМБИНИРОВАННОГО ЛЕКАРСТВЕННОГО ПРЕПАРАТА НА ОСНОВЕ ДОКСИЦИКЛИНА И ИЗУЧЕНИЕ ЕГО ТЕРАПЕВТИЧЕСКИХ СВОЙСТВ

Сазыкина К.И., Волков А.А., Староверов С.А., Козлов С.В.

Саратовский государственный аграрный университет им. Н.И. Вавилова

Уникальный код статьи: 530e36846ac6a

Введение. В ветеринарной медицине довольно остро обсуждается проблема по лечению заболеваний желудочно-кишечного тракта у животных различной этиологии [2,3,4]. Заболевания пищеварительной системы у молодняка животных составляют одну из актуальнейших проблем внутренней патологии животных и занимают первое место как по частоте случаев среди всех форм внутренних незаразных болезней, так и по наносимому экономическому ущербу [6]. Сниженная резистентность организма, обусловленная различными неблагоприятными факторами, зачастую может спровоцировать различные заболевания желудочно-кишечного тракта, такие как гастроэнтероколиты и гастроэнтериты, колибактериозы, особенно, у молодняка свиней. В связи с этим, нами была разработана и изучена жидкая оральная форма препарата «Доксициклин-комплекс» содержащая в качестве активно действующих веществ доксициклина гиклат - 100 мг/мл, бромгексина гидрохлорид - 5 мг/мл, лактулозу - 10 мг/мл, а в качестве растворителя -солюфор (поливинилпирролидон) [9].

Материалы и методы. Объектами исследований являлись 40 голов поросят подобранных по принципу аналогов (порода «Крупная белая», в возрасте 3 мес.), спонтанно заболевшие колибактериозом. Средняя живая масса животных составляла 30 кг. Препарат «Доксициклин – комплекс» вводили орально, согласно инструкции. Предварительно, для улучшения вкусовой привлекательности в готовый раствор добавляли 100 грамм сахара на литр воды. Индивидуальным и групповым методом 2 раза в день в течение 5 дней.

Результаты. В результате проведенных исследований установлена 100% эффективность препарата «Доксициклин-комплекс» в суточной дозе 10 мг/кг при лечении колибактериоза свиней. У животных на 2 день после выпаивания препарата наблюдалось улучшение общего состояния, прекращение поноса, повышение аппетита. На 3 день общие физиологические показатели приближались до уровня нормы. Полное

выздоровление наступало через $4 \pm 0,2$ дня. Побочные действия препарата на организм животных не отмечались. При бактериальных посевах отмечалось выявление нормальной микрофлоры. Токсигенные штаммы кишечной палочки отсутствовали. Данная высокая эффективность разработанной жидкой оральной форма препарата «Доксициклин-комплекс» обусловлена наличием лактулозы и оптимальным подбором растворителей, обеспечивающими высокую биодоступность. В частности, в наших предыдущих работах установлено, что наиболее эффективны лекарственные препараты находящиеся в коллоидных или мицеллярных системах [1,5,7,8].

Выводы и обсуждение. У животных 1, 2 опытных и контрольной групп, выздоровление наступало на $7 \pm 0,03$; $5,23 \pm 0,02$ и $5,24 \pm 0,02$ день соответственно. Представленные данные свидетельствуют о высокой терапевтической эффективности препарата «Доксициклин-комплекс» при лечении колибактериоза поросят в суточной дозе 10 мг/кг.

Литература

1. Башкирова Е.В., Путина С.Н., Волков А.А., [и др.] Конструирование инъекционной формы на основе силимарина и изучение ее биодинамических и токсикологических свойств // Вестник Саратовского ГАУ, 2013. № 08. С. 4-6. - Режим доступа: <http://elibrary.ru/item.asp?id=20253696>
2. Волков А.А. Морфологические критерии, клинко-диагностическая тактика обследования и лечение собак с эзофагеальной и гастродуоденальной патологией: Автореф. дис. докт. вет. наук/Донской государственный аграрный университет. п. Персиановский, 2009 -48 с. -Режим доступа: <http://elibrary.ru/item.asp?id=15954322>
3. Волков А.А., Салаутин В.В., Благова Ю.В. Этиологические факторы и клинко-рентгенологические признаки функциональных расстройств желудка у мелких домашних животных // Вестник Саратовского госагроуниверситета им. Н.И. Вавилова. 2008. № 8. С. 15-17. -Режим доступа: <http://elibrary.ru/item.asp?id=11622096>
4. Волков А.А., Салаутин В.В., Карташов С.Н. Клинко-морфологическая классификация гастритов у собак // Ветеринария Кубани. 2009. № 6. С. 23-28. Режим доступа: <http://elibrary.ru/item.asp?id=17802646>
5. Енгашев С.В., Староверов С.А., Волков А.А., [и др.] Сравнительная характеристика биодинамики хелатного и декстранового комплексов железа // Ветеринария. 2013. № 6. С. 50-52. - Режим доступа: <http://elibrary.ru/item.asp?id=19393579>

6. Енгашев С.В. , Сазыкина К.И., Волков А. А., [и др.]. Терапевтическая эффективность препарата «доксциклин комплекс» при болезнях органов пищеварения у молодняка свиней // Ветеринарная патология. 2013. № 4 (46). С. 24-30.
7. Исаева А.Ю., Староверов С.А., Волков А.А. [и др.]. Изучение биологических свойств наноразмерной структуры на основе коллоидного селена *in vitro* // Ветеринарная патология. 2012. № 3 (41). С.111-114. - Режим доступа: <http://elibrary.ru/item.asp?id=18047494>
8. Исаева А.Ю., Староверов С.А., Волков А.А. [и др.]. Конструирование наноразмерной структуры на основе коллоидного селена // Ветеринарная патология. 2012. № 3 (41). С. 114-117. - Режим доступа: <http://elibrary.ru/item.asp?id=18047495>
9. Сазыкина К.И., Енгашев С.В., Волков А. А., [и др.]. Конструирование комплексного антибактериального препарата на основе доксицилина, лактулозы и бромгексина // Ветеринарная патология. 2013. № 4 (46). С. 83-87.

КОМПЛЕКСНОЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ СЕМЯН РАПСА ДЛЯ РЕШЕНИЯ НАРОДНОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЗАДАЧ. ПОИСКОВЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ.

Самофалова Л.А., Сафронова О.В., Мамаев А.С., Белова О.Е.,
Лихонина Е.А.

ФГБОУ ВПО

Уникальный код статьи: 532a8f6b072d3

Рапс - масличная и кормовая культура семейства крестоцветных сегодня остается одной из самых востребованных масличных культур, как на российском, так и на мировом рынке.

На отечественном рынке среди регионов ЦФО Орловская область занимает первое место по выращиванию этой масличной культуры, по стране - второе (на первом месте Татарстан с его 120 тысячами гектаров посевных площадей рапса).

Экономическая целесообразность выращивания рапса не вызывает сомнения. Как свидетельствует анализ мировых и европейских цен, выращивание его обеспечивает высокую рентабельность. Реализационная цена семян в 1,8-2,4 раза превышает цену зерновых культур. Кроме экономической выгоды, рапс положительно влияет и на экологическое состояние окружающей среды. В частности, установлено, что 1 га посевов культуры выделяет почти 10,6 млн. л кислорода. По этому показателю культура занимает второе место после сахарной свеклы -15 млн. л. Современные технологии позволяют использовать рапсовое топливо в качестве добавки к горючему, благодаря чему сокращаются выбросы канцерогенных продуктов сгорания в атмосферу.

Важно, что рапс - это возобновляемый источник сырья и энергии, который может и должен занимать значительное место среди ведущих масличных культур, производимых в России. Доказана перспективность и целесообразность его применения и в севооборотах.

Анализ информации о химическом составе семян рапса убеждает в перспективности использования их не только как источника масла, но и полноценного белка, а, также других компонентов химического состава и возможности эффективного решения народнохозяйственных задач.

Традиционная технология рапса предусматривает выделение рапсового масла, имеющего богатый жирнокислотный состав и используемого как на пищевые цели так и на технические в виде

битоплива. Вместе с тем, значительный интерес представляют и побочные продукты: шрот или жмых, соапсток, фуз, имеющие богатый химический состав и биологически активные вещества.

Таблица 1. Химический состав семян рапса [1, 2]

Наименование показателя	Рапс (семена)
Массовая доля влаги, %	8,1
Содержание сырого протеина, %	25,03-29,80
Содержание жирного масла, %	38,10-45,30
Содержание эфирного масла, %	0,11-0,16
Массовая доля моно- и дисахаридов, %	3,50
Массовая доля крахмала, %	1,60
Содержание клетчатки, %	4,60-6,30
Общее содержание P_2O_5 , %	2,64
Содержание минеральных элементов (зольность), %	3,69-5,37
Энергетическая ценность, ккал	536

В семенах преобладают запасные белки (80...94 % общей суммы белков), ингибиторы протеаз и лектины содержатся в значительно меньших количествах.

Запасные белки находятся в клетке в виде дискретных белковых тел; каталитические белки входят в структуры биомембран. Часть белка в семенах рапса содержится в алейроновых зернах также в виде кристаллических включений, трудно выделяемых при технологической обработке. Содержание запасных белков увеличивается при созревании семян и снижается при прорастании. Полноценный состав аминокислот семян рапса обусловлен тем, что аминокислоты служат резервом азота, который накапливается при распаде белков в процессе прорастания семян и расходуется при дальнейшем развитии проростков.

Кроме белкового азота, в семенах рапса содержится также небелковый азот - свободные аминокислоты, амиды кислот, азотсодержащие глюкозиды, фосфатиды, свободные азотистые основания, алкалоиды. Содержание небелкового азота в семенах различно. Оно зависит от степени зрелости семян, от условий их хранения и от многих других факторов. В зрелых, нормально хранившихся семенах содержание небелкового азота сравнительно невелико: 1-5% к общему содержанию азота.

Рапсовое масло имеет полноценный жирнокислотный состав (таблица 2).

Таблица 2. Жирнокислотный состав семян рапса [1, 2]

Наименование показателя	Содержание, %
Ненасыщенные жирные кислоты:	94
линоленовая кислота (Омега-3)	12
линолевая кислота (Омега-6)	23
олеиновая кислота (Омега-9)	59
Насыщенные жирные кислоты:	6
пальмитиновая кислота	4,5
стеариновая кислота	1,5

Наши усилия направлены на выбор технологических решений по выделению белковых веществ из семян, жмыха и шрота на принципах биотехнологии. Это запуск эндоферментов – активаторов гидролитических процессов; применение ферментов целлюлаз и гемицеллюлаз с последующим выделением белковых фракций в растворы; получение глицерина из рапсового масла и отходов его производства - соапстока и фуза; разработка технологий хозяйственного и инсектицидного мыла. Успешная апробация новых методов обработки семян районированных сортов и отходов их переработки в лабораторных условиях на базе научного студенческого биотехнологического общества в Госуниверситете убедила нас в правильности направления поисков.

На втором этапе предполагается разработка бизнес-планов для предприятий малого бизнеса, работающих на отходах производства масложировых заводов.

Литература

1. Химический состав масличных семян // Знайтовар.Ру: товароведение и экспертиза товаров. 2012. URL: <http://www.znaytovar.ru/s/Ximicheskij-sostav-maslichnyx-se.html>
2. Рапс - Народнохозяйственное значение // OKADE.RU: сайт уникальной и полезной информации о сельском хозяйстве. 2011. URL: <http://www.okade.ru/agronomiya/331-raps-narodnohozyaystvennoe-znache.html> (дата обращения: 21.11.2012).

РАЗРАБОТКА КАТИОННЫХ ЛИПИДОВ С РАЗРЫВАЮЩИМСЯ ЛИНКЕРОМ НА ОСНОВЕ L-ЛИЗИНА И ЦИСТАМИНА

Сарычев Г.А., Сумина А.М., Буданова У.А., Себякин Ю.Л.

Московский государственный университет тонких химических
технологий им. М.В. Ломоносова

Уникальный код статьи: 5329с96976bfe

Целью данной работы является разработка новых катионных липидов для создания на их основе липосомальных дисперсий для эффективной доставки генного материала и лекарственных средств.

Нашей лабораторией была предложена схема синтеза катионного липида на основе L-лизина и цистаминна, для создания липосомальных агрегатов, и дальнейшего их применения при доставке генетического материала. Данное вещество обладает несколькими важными особенностями:

Для создания гидрофобной части липида применяется ряд жирных кислот, соединяющихся молекулой L-Лизина, которая выступает как спейсер. Использование амидной связи позволяет добиться лучшей стабильности образуемых агрегатов, чем при использовании сложноэфирной связи.

Важной особенностью является использование разрывающегося линкера на основе цистаминна, который соединит неполярную часть липида с полярной головной группой. Липиды, обладающие данной структурой, при попадании в клетку разрываются в области дисульфидной связи. Что приведет к уменьшению токсичности вещества, и повысит эффективность трансфекции.

Для создания гидрофильного блока липида используется ряд аминокислот: аргинин, лизин, орнитин.

ВЛИЯНИЕ АССОЦИАЦИИ МИКРООРГАНИЗМОВ МОЛОЧНОГО ГРИБА НА ОРГАНИЗМ МОРСКИХ СВИНОК

Светлакова Е.Д., Васильев Н.А.

Ставропольский ГАУ

Уникальный код статьи: 53293cc0a4fa6

Микрофлора желудочно-кишечного тракта рассматривается в настоящее время как первичный неспецифический иммунный барьер, обладающий высокими детоксикационными свойствами, и мощный регулятор обменных процессов в организме, формирующий вторично пищевой поток питательных и регуляторных веществ за счет потребления микроорганизмами волокон, не перевариваемых полусырым пищеварением.

Противостоять изменениям микробного состава организма под воздействием экологических, лекарственных, хирургических и других стрессовых агентов можно, обогатив микрофлору ЖКТ полезной микрофлорой, вносимой извне. Это положение дало импульс развитию целого направления в микробиологии – учению о пробиотиках – живых микроорганизмах, которые попадая в организм оказывают благотворительный эффект на здоровье и в частности на ЖКТ.

Поиск новых эффективных пробиотиков – антагонистов патогенной микрофлоры кишечника является на сегодняшний день актуальной задачей.

Одним из таких продуктов жизнедеятельности синтеза молочных лактобактерий является молочный гриб, который и явился объектом наших исследований.

Цель нашей работы:

1. Бактериологическое исследование молочного гриба.
2. Выявление взаимосвязи и влияния молочного гриба на рост и развитие лабораторных животных (морских свинок).

Для исследования использовались самцы морских свинок в возрасте до 1 года.

На первом этапе нашей работы мы изучили влияние молока на конечный продукт (кефир). Для этого мы брали молоко двух видов: молоко домашнее от коровы (не стерилизованное) и молоко жирностью 3,2% (пастеризованное).

При исследовании микробиологического состава заквасок было

выяснено, что на 1-3 сутки бактериологический состав кефира одинаков. А на 4-5 сутки в бактериологическом составе закваски из домашнего молока появляется гнилостная микрофлора.

Для достижения лучшего результата мы использовали закваску пастеризованного молока 4-5 суток, т.к. продукт данного срока богат лактобактериями и дрожжеподобными микроорганизмами. Использование домашнего молока явилось нерентабельным, вследствие его дороговизны и изменения микробиологического состава на 4-6 сутки, влияющего негативно на работу ЖКТ животных (табл.1).

Таблица 1. Изменение микрофлоры молока в процессе жизнедеятельности молочного гриба (n=7)

Сутки	Микрофлора молока в:	
	Магазинном молоке	Домашнем молоке
1-е сутки	Диплококки, дрожжеподобные грибки, лактобактерии, стрептобактерии	Диплококки, дрожжеподобные грибки, лактобактерии, стрептобактерии.
2-е сутки	Диплококки, микрококки, дрожжеподобные грибки, лактобактерии, стрептобактерии	Диплококки, микрококки, дрожжеподобные грибки, лактобактерии, стрептобактерии
3-е сутки	Диплококки, микрококки, стрептококки, дрожжеподобные грибки, лактобактерии, стрептобактерии	Диплококки, микрококки, стрептококки, дрожжеподобные грибки, лактобактерии, стрептобактерии
4-е сутки	стрептококки, дрожжеподобные грибки, лактобактерии, стрептобактерии, грамположительные	стрептококки, дрожжеподобные грибки, стрептобактерии, грамотрицательные бактерии, редко обнаруживались крупные грамположительные бактерии (гнилостная микрофлора).
5-е сутки	дрожжеподобные грибки, лактобактерии, стрептобактерии, запах зрелого кефира	стрептококки, лейконостоки, гнилостная микрофлора, запах протухшего кефира

В ходе дальнейшего исследования морские свинки были разделены на 3 группы по 3 лабораторных животных в двух первых группах и 2 животных в контроле.

Животных первой группы кормили собственно телом молочного гриба, в течение 75 дней. Доза на одно животное не превышала 1-2 гр.

Животных второй группы выпаивали продуктом жизнедеятельности

молочного гриба - кефиром. Доза на одно животное не превышала 2 мл.

Третья группа - контрольные животные, в рацион их питания не были включены биологические добавки (тело молочного гриба, кефир). Кормление проводили идентично двум другим группам.

Дозы потребления молочных продуктов были составлены согласно живой массе животных, с учетом рекомендаций для человека (200мл на 70кг живой массы).

Взвешивание животных проводилось через каждые 15 дней. Изменение массы тела морских свинок отражено в таблице 2.

Таблица 2. Изменение живой массы морских свинок (n=3)

Группа животных	Животные	Живая масса морских свинок, гр									
		1-е взвешивание	%	2-е взвешивание	%	3-е взвешивание	%	4-ое взвешивание	%	5-е взвешивание	%
I группа кормление телом гриба	1 (белый)	433, 1	100,0	439,25	101,42	532,15	122,87	597,75	138,02	617,75	142,63
	2 (коричневый)	377, 65	100,0	373,45	98,89	431,85	114,35	476,00	126,04	565,75	149,80
	3 (черный)	412, 65	100,0	394,95	95,71	492,60	119,37	499,21	120,98	511,13	123,87
II группа кормление кефиром	1 (белый)	663,35	100,0	626,25	94,40	675,25	101,79	645,95	97,38	699,75	105,47
	2 (черный)	356,15	100,0	346,15	97,19	426,45	119,74	459,45	129,0	492,15	138,19
	3 (коричневый)	630,35	100,0	600,00	95,19	626,4	99,37	635,25	100,79	671,25	106,49
III группа контроль	1	636,75	100,0	625,25	98,19	686,75	107,85	691,95	108,67	701,24	110,13
	2	550,15	100,0	527,25	95,84	593,2	107,83	607,00	110,33	664,75	120,83

В ходе исследования у животных, употреблявших продукт исследования (молочный гриб, кефир) наблюдалось общее улучшение пищеварения, повышенные активность и аппетит, т.е. поедаемость кормов больше чем у контрольной группы, улучшение волосяного покрова, прибавка живой массы тела. У третьей контрольной группы животных внешних данных улучшений замечено не было.

Из данных таблицы 2 видно, что масса животных через 15 дней после начала опыта у всех групп животных в среднем снизилась в среднем на 3%. По нашему мнению это произошло, потому что у животных проходил период адаптации. В результате последующих взвешиваний через 30, 45 и 75 суток привесы у первой группы увеличивались на 18,9%, 28,4% и 38,8% соответственно. У второй группы на 6,97%, 9,0% и 16,8%, соответственно. В контрольной группе привесы были не намного выше, чем у второй группы соответственно на 7,84%, 9,5% и 15,48%.

По результатам наших исследований установлено, что у группы животных, употреблявшей молочный гриб, за весь период исследования произошло увеличение живой массы на 38,8%. У второй группы животных, употреблявших кефир - на 16,8%, а в контрольной группе - на 15,48%.

Из этого можно сделать вывод, что молочный гриб и продукт его

жизнедеятельности (кефир) в возрасте 4-5 суток можно использовать животным и человеку с недостаточным весом, т.к. он стимулирует прирост живой массы.

ПРОЛОНГИРОВАННОЕ ДЕЙСТВИЕ ГУМИФИКАЦИИ СОЛОМЫ МИКРООРГАНИЗМАМИ БИОПРЕПАРАТА БАРКОН НА АДАПТАЦИОННЫЕ СВОЙСТВА РАСТЕНИЙ ЯЧМЕНЯ

Свиридова О.В., Воробьев Н.И., Попов А.А.

ГНУ ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии

Уникальный код статьи: 5321b572b1bec

Использование соломы и пожнивных остатков зерновых культур непосредственно на удобрение способствует обогащению пахотного слоя гумусом, а также необходимо для нормального функционирования агроценоза (Заварзин, 2004; Емцев, Мишустин, 2006). Применение биодеструктора «Баркон» (комплекс лигнинразлагающих бактерий и грибов) позволяет ускорить процесс биогумификации соломы за осенне-весенний период года, при этом микроорганизмы способны выполнить гумификацию и задействовать солому зерновых культур в гумусо-восстановительных процессах. Гумификационная функция успешно реализуется только при эффективной организации почвенной микрофлоры в биосеть. Основным свойством этой биосети является согласованное взаимодействие отдельных представителей почвенного биоценоза, направленное на преобразование исходных субстратов в гумусовые формы, используемые в дальнейшем растениями при формировании урожая.

Цель исследования заключалась в оценке пролонгированного действия микроорганизмов биопрепарата «Баркон» (Свиридова, Воробьев, 2006) при гумификации соломы ячменя в почве в осенне-весенний период на экологическую обстановку в почве и адаптационные свойства микробно-растительной системы, развивающейся в последующий вегетационный период года. Для решения поставленной задачи были проведены двухлетние эксперименты с биогумификацией соломы ячменя микроорганизмами биопрепарата Баркон. В межвегетационный период (осенью) в качестве растительных остатков в сосуды с 3,5 кг почвы закладывались в различной комбинации: солома ячменя, зеленая масса козлятника. Перед закладкой растительных остатков в дерново-подзолистую суглинистую почву их обрабатывали биопрепаратом «Баркон» (из расчета 1 мл препарата на 10 г сухого субстрата). Варианты были выровнены по углероду растительных остатков (по 12 г/сосуд). Далее по

вариантам опыта в эти сосуды был посажен ячмень сорта «Северянин» (30 семян на сосуд). Осенью и весной 2012 и 2013 г.г. были определены агрохимические и микробиологические данные образцов почв стандартными методами (Теппер и др., 1987; Петербургский, 1975). Осенью в конце вегетации были учтены урожайные и морфометрические данные ячменя. Подкормок растений в вегетационный период не производили. Применение биопрепарата Баркон отразилось на увеличении численности азотфиксирующих и целлюлозолитических микроорганизмов (и в засуху) и способствовало накоплению гумусовых веществ в межвегетационный период. При этом для варианта с засухой и Барконом накопления гумуса не происходило, что могло быть связано с неполной организацией деструктивной сети микроорганизмов.

Адаптационный индекс (А) растительного компонента микробно-растительной системы оценивали по тонкой структуре распределения плотности вероятности значений высот растений. Для этого были рассмотрены дискретные распределения плотности вероятности для двух количеств (классов) разбивки промежутка варьирования (рис. 1А, рис. 1Б) и определено количество локальных максимумов на этих распределениях. Полученные данные подставлялись в формулу для вычисления адаптационного индекса: $A = \ln(n_1/n_2) / \ln(k_1/k_2)$, где n_1, n_2 – число локальных максимумов в распределении плотности вероятности значений высот растений при разбивке промежутка варьирования на k_1 и k_2 классов; k_1, k_2 – число классов разбивки промежутка варьирования значений высот растений.

Таблица 1. Значения адаптационного индекса растений по вариантам двухлетнего опыта.

№ п/п	Вариант	2012 г.	2013 г.
1	Контроль	1,00	1,25
2	Неинокулированная солома	1,00	1,44
3	Солома + Баркон	0,78	0,74
4	Солома + Баркон (засуха)	0,58	1,51
5	1/2Солома + 1/2 Козлятник+ Баркон	0,91	0,92

Уменьшение адаптационного индекса в опытных вариантах относительно контроля мы связываем с уменьшением числа адаптационных стратегий развития растений и улучшением экологической обстановки в почве, формируемой микробиоценозом. Поэтому по адаптационному индексу можно судить об эффективности преобразовательной деятельности микроорганизмов и изменении экологической обстановки в почве.

Из данных, приведенных в табл. 1 видно, что в вариантах №3,5 адаптационный индекс снижается по сравнению с контролем и неинокулированной соломой. Это свидетельствует об эффективном процессе биогумификации растительных остатков микроорганизмами биопрепарата Баркон и формировании благоприятных условий для развития растений.

В варианте с имитацией засухи (№ 4) по годам эффект от инокуляции соломы микроорганизмами биопрепарата Баркон в 2012 году способствовал нормализации экологической обстановки в почве, а в 2013 году этого не произошло (см. табл. 1, вар. 4). Возможно, это связано с несостоявшимся запуском самоорганизации почвенного микробного сообщества в 2013 году в направлении биогумификации соломы ячменя. Применение соломы, не инокулированной биопрепаратом Баркон, повышало адаптационный индекс, т. е. этот прием не создавало благоприятных условий в почве для развития растений.

Таким образом, параметры кластеризации морфометрических показателей растений могут быть использованы для оценки адаптационных свойств микробно-растительных систем и изучения влияния микробиологических процессов в почве на развитие растений.

Исследования поддержаны грантом РФФИ №14-14-01066.

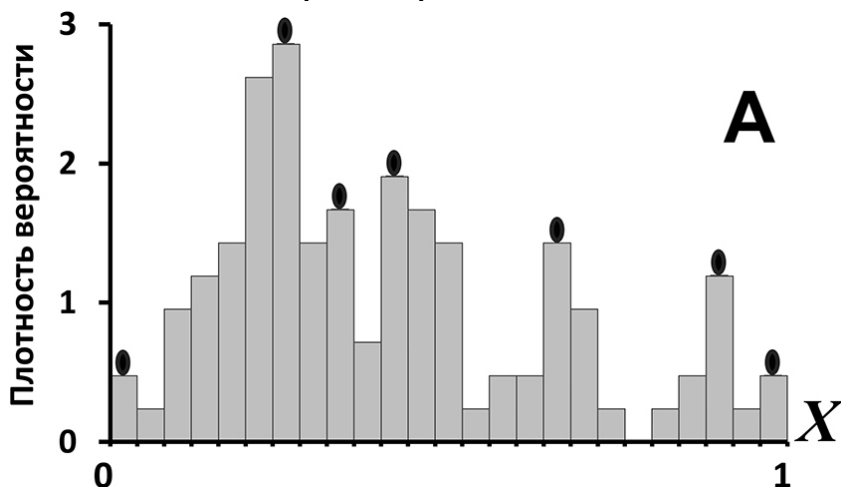


Рис. 1а.

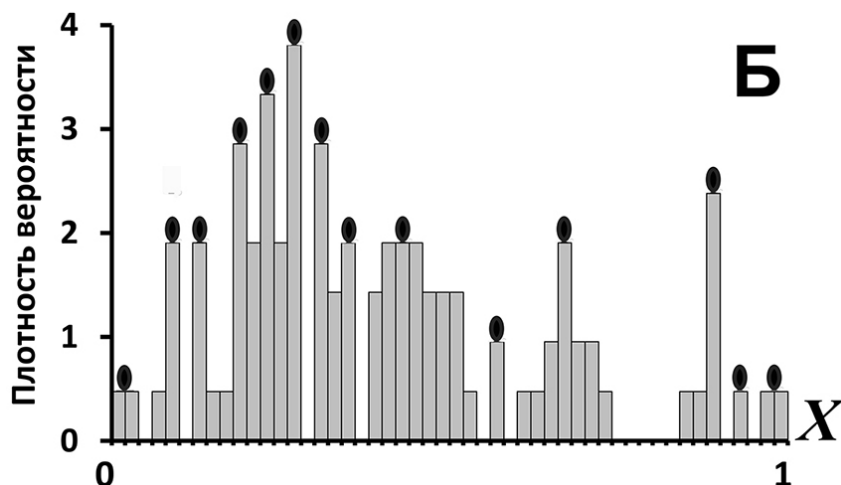


Рис. 16.

Рис. 1. Распределение плотности вероятности значений высот надземной части растений ячменя в опыте 2012 года. (вариант №2). А - промежуток варьирования высот растений разбит на 25 классов (7 локальных максимумов). Б - промежуток варьирования высот растений разбит на 50 классов (14 локальных максимумов). $X = (h_i - h_{min}) / (h_{max} - h_{min})$, где h_i , h_{max} , h_{min} - высота надземной части i -того растения, максимальная и минимальная высота растений.

Литература

1. Н.И.Воробьев, Н.А.Проворов, О.В.Свиридова, В.Н.Пищик, Н.В.Патыка, В.А.Думова, Ю.В.Круглов. Ранг генетического дизайна и адаптационный потенциал растительно-микробных систем. Труды по ботанике, генетике и селекции.- СПб.: ВИР, 2013. Т. 174, с. 61-67. ISSN 0202-3628.
2. Воробьев Н.И., Свиридова О.В., А.А.Попов А.А., Русакова И.В., Петров В.Б. Граф-анализ гено-метаболических сетей микроорганизмов, трансформирующих растительные остатки в гумусовые вещества. Сельскохозяйственная биология, 2011, №3, с. 88-93.
3. Заварзин Г.А. Лекции по природоведческой микробиологии. М., «Наука». 2004. -348 с.
4. Петербургский А.В. (ред). Агрохимические методы исследования почв. М., 1975.
5. Свиридова О.В., Воробьев Н.И. Получение и использование

- биокомпостов из древесных отходов. Сб. «Научные основы и практические рекомендации по использованию биоудобрений из отходов животноводства для биологического земледелия» /под ред. И.А. Архипченко/. СПб.: ГНУ ВНИИСХМ. 2006 - с. 31-35.
6. Теппер Е.З., Шильникова В.К., Переверзева Г.И. Практикум по микробиологии. М., 1987.

БИОЭНЕРГЕТИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ РЕКУЛЬТИВАЦИИ ТОРФОВЫРАБОТОК

Сивков Ю.В.

Тюменский государственный нефтегазовый университет

Уникальный код статьи: 531eес953се25

В последние годы в мировой практике, наряду с традиционными методами оценки эффективности производства сельскохозяйственных продуктов посредством денежных и трудовых показателей, все большее значение приобретает метод энергетической оценки [1].

Разработка энергосберегающих технологий требует проведения анализа структуры потоков антропогенной энергии в земледелии с возможно более полным учетом прямых и косвенных энергозатрат на каждой операции при возделывании, уборке и обработке урожая. Суммарные антропогенные энергозатраты включают эксплуатационные энергозатраты, к которым относят: машины, топливо, электроэнергию и живой труд, и овеществленную энергию семян, удобрений, гербицидов [2].

Анализ структуры затрат антропогенной энергии по отдельным видам работ и технологическим операциям при биологическом этапе рекультивации торфовеяработок показал, что наиболее энергозатратной технологической операцией являлось фрезерование – 1448,2 МДж/га (табл. 1).

Таблица 1. Энергозатраты на предпосевную обработку почвы и посев

Технологическая операция		Статьи затрат, МДж/га			Итого
		топливо	машины	живой труд	МДж/га
Предпосевная обработка					
Дискование		807,8	248,6	73,4	1129,8
Прикатывание		807,8	41,6	10,6	860,0
Фрезерование		1128,0	246,8	73,4	1448,2
Всего	МДж/га	2743,6	537,0	157,4	3438,0
Посев					
Внесен. гербицид.		84,5	42,5	13,2	140,2
Посев		116,2	109,4	15,3	240,9
Прикатывание		807,8	41,6	10,6	860,0
Всего	МДж/га	1008,5	193,5	39,1	1241,1

Самой энергозатратной статьей было топливо – 2743,6 МДж/га. При этом наибольшие затраты энергии (1128,0 МДж/га) приходились на топливо, расходуемое при фрезеровании.

Максимальное количество эксплуатационной энергии при посеве многолетних трав и обработке гербицидами было затрачено на прикатывание. Антропогенная энергия, затраченная при посеве на топливо и машины была, практически одинакова и составляла 116,2-109,4 МДж/га. При обработке гербицидами энергозатраты на топливо в два раза ниже, чем на посев и в 19 раз на прикатывание.

В дальнейшем затраты антропогенной энергии были направлены лишь на уборку урожая. При уборке наибольшие затраты были на топливо – 807 МДж/га, затраты на машины – в 1,5 раза меньше.

Таким образом, при рекультивации торфовеяработкок основной расход энергии происходит при подготовке почвы и во время посева. В последующие годы энергия тратится лишь на проведение уборки урожая, которая в 3,4 раза меньше.

Литература

1. Бондаренко В.И., Рыбка В.С., Косенко Г.И. Биоэнергетическая и экономическая эффективность возделывания озимой пшеницы // Земледелие. 1986. – № 2. – С. 25-26.
2. Неклюдов А.Ф. Энергетическая оценка сельскохозяйственных культур // Особенности возделывания кормовых культур в Западно-Сибирском регионе: Сб. науч. тр. Омск: ОмГАУ, 1997. – С. 43-47.

ВЛИЯНИЕ УСЛОВИЙ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ НА АКТИВНОСТЬ СИНТЕЗА АМИНОКИСЛОТ ПРОТОТРОФНЫМИ ШТАММАМИ ESCHERICHIA COLI

Сидорова Н.А., Савушкин А.И.

Петрозаводский государственный университет

Уникальный код статьи: 531сс924са92b

Самыми распространенными способами получения аминокислот являются: органический и микробный синтезы. Однако, метод органического синтеза позволяет синтезировать только L- и D-формы аминокислот и продуктом такого оргсинтеза являются рацематы, дальнейшее разделение которых представляет трудную задачу и экономически это очень не эффективно. Другой способ получения аминокислот – это биосинтез с помощью ферментных систем штаммов-продуцентов, осуществляющих сверхсинтез L-аминокислот. У сверхпродуцентов избыточные количества аминокислот, например, L-лизина, L-треонина, L-трептофана выходят в культуральную (внешнюю) среду. Культуральная среда в этом случае может содержать до 100 гр аминокислоты на один литр жидкой фазы. Предшественниками для синтеза аминокислот могут служить пируват, щевелевоуксусная кислота, 3-фосфоглицерат и другие субстраты. Сам синтез реализуется под строгим генетическим контролем, организованным по принципу репрессии или ретроингибирования. Однако, при биосинтезе L-аминокислот существует проблема приостановки процесса из-за накопления в среде токсических метаболитов продуцента. Это можно предотвратить с помощью систем стабилизации продуцентов, основанных на технологии иммобилизации и поиска условий культивирования: изменения pH, температурного режима, а также поиск соотношения макро- и микроэлементов в питательной среде.

Для изучения оптимальных условий биосинтеза лейцина и треонина на кафедре фармакологии и организации экономики фармации, микробиологии и гигиены медицинского факультета Петрозаводского госуниверситета использованы иммобилизованные прототрофные штаммы *Escherichia coli*, способные к синтезу аминокислот лизина и треонина. Штаммы выделены из объектов окружающей среды методом тотальной селекции и содержатся в составе микробной коллекции курса микробиологии Петрозаводского госуниверситета. Для переноса

посевого материала в инокулятор для роста и деления микроорганизмов, одиночную колонию каждого клона отбирали петлей и помещали в 25 мл культуральной среды для последующего термостатирования при 32°C и 250 об/мин за 48 ч. Стабилизация прототрофного штамма *Escherichia coli liz⁺* и прототрофного штамма *Escherichia coli thr⁺* осуществлялась с помощью гидратированного фуллерена, который добавляли в культуральную жидкость, содержащую 10⁵ кое/мл, смешивали и создавали условия для иммобилизации. При получении супернатанта для определения концентрации аминокислот в культуральной жидкости, последнюю центрифугировали и полученный супернатант разбавляли дистиллированной водой в 250 раз для определения концентрации аминокислот с помощью ВЭЖХ. Оценка эффективности иммобилизации проводилась по анализу скорости роста продуцента.

Скорость роста (увеличение биомассы) в периодической культуре пропорциональна концентрации микробной биомассы: $dX/dt = \mu X$, где dX/dt - скорость роста, X - биомасса, μ - коэффициент пропорциональности (удельная скорости роста). Если удельная скорости роста равна 0,1 ч⁻¹ - значит увеличение биомассы составляет 10% в час. Результат расчета удельной скорости роста стабилизированных фуллереном продуцентов L-лизина и L- трионина представлен на диаграмме (рис. 1). В течении 4 суток опыта не происходило существенных различий по скорости роста стабилизированных продуцентов и контрольных продуцентов. Но начиная, с 5 суток эксперимента начался процесс стабилизации продуцентов, о чем говорит увеличение их скорости роста на 70% по сравнению с исходными значениями. При исследовании кинетики реакции иммобилизации в суспензии изученных штаммов обнаружена закономерность: на 4 сутки эксперимента устанавливается равновесие в реакции, соответствующее началу сверхсинтеза аминокислот клетками. При достижении стационарного состояния кинетика реакции не меняется в течении 18 часов, а потом запускается сверхсинтез. Как было показано рядом авторов, установление стационарного состояния в реакционной среде обусловлено протеканием обратной реакции изомеризации продукта [Перминова, 2009].

Следовательно, проведение технологии иммобилизации прототрофов гидратированным фуллереном в периодическом режиме будет требовать тщательного контроля за величиной активности клеток, иначе требуемая концентрация аминокислот не будет достигнута за реальное время реакции. Для контрольных продуцентов отмечалось увеличение

скорости роста на 27% к 6 дню эксперимента и дальнейшее снижение развития к 10 суткам опыта за счет накопления токсичных продуктов метаболизма.

Полученные результаты позволяют считать возможным автоматизацию процесса биосинтеза аминокислот для различных отраслей промышленности при снижении затрат на выделение и очистку конечного продукта.

Литература

1. Волова Т. Г. Биотехнология, Новосибирск : Изд-во СОРАН, 1994, стр. 54.
2. Перминова Л.В., Коваленко Г. А., Рудина Н. А., Сапунова Л. И., Тамкович И. О., Лобанок А. Г. // Прикл.биохимия и микробиология. 2009. Т.45. № 4. С. 432-438.
3. Рожков С.П, Горюнов А.С., Суханова Г.А., Рожкова Н.Н., Андриевский Г.В. Молекулярные аспекты биологической активности водной молекулярно-коллоидной системы гидратированных фуллеренов //Сб. научн. трудов междунар. симпозиума “Фуллерены и фуллереноподобные структуры”: 5-8 июня 2000, БГУ, Минск, 2000, С.140-147.
4. G.V. Andrievsky, I.S. Burenin. ON MEDICINAL AND PREVENTIVE EFFICACY OF SMALL DOSES OF HYDRATED C60 FULLERENES AT CANCER PATHOLOGIES. Chemistry Preprint Archive, Volume 2002, Issue 6, June 2002, p. 50-65.

КАТИОННЫЕ БИСАМФИФИЛЫ КАК ПЕРСПЕКТИВНЫЙ КЛАСС БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ

Сумина А.М., Себякин Ю.Л.

Московский государственный университет тонких химических
технологий им. М.В. Ломоносова

Уникальный код статьи: 5329730f9b573

Анализ литературных источников показал, что на сегодняшний день одной из наиболее эффективных систем доставки лекарственного препарата в организм являются липосомальные везикулы различной природы. Среди них можно выделить несколько перспективных классов: катионные и рН-чувствительные липосомы; липосомы, модифицированные векторами направленной доставки и др. Основным структурным звеном таких агрегатов являются амфифильные соединения липидной природы, например димерные амфифилы (бисамфифилы), представляющие собой модификационный аналог мономерных липидов.

Проведённые исследования показали, что бисамфифилы обладают рядом сходных свойств, в некоторых случаях даже превышающих эффективность их мономерных аналогов. В частности, подобные соединения демонстрируют более высокую эффективность связывания с клеткой и высвобождение переносимого материала в случае трансфекционных исследований, а также высокую антимикробную активность. Кроме того, более высокий положительный заряд, формируемый полярными группами димера, позволяет плотно компактизировать переносимый генетический материал. Таким образом, можно считать димерные структуры перспективными с точки зрения создания новых лекарственных средств, соединений для доставки различных препаратов, а также использовать их в качестве веществ с комбинированным действием на организм.

ВНЕДРЕНИЕ АГРОБИОТЕХНОЛОГИЙ КАК ЭФФЕКТИВНЫЙ ПУТЬ УТРОЕНИЯ ВВП В АГРАРНОЙ СФЕРЕ РОССИЙСКОГО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА

Тарасов В.И.

Аграрный центр Евразийского экономического сообщества

Уникальный код статьи: 53232b5fd79c6

В истекшее десятилетие многие развитые и развивающиеся государства, включая ряд государств бывшего СССР и бывшего Совета Экономической Взаимопомощи (СЭВ), приняли ряд программ в сфере освоения промышленной биотехнологии, основной целью которых является производство различных видов продукции с высокой добавленной стоимостью и биотоплива из разнообразного сельскохозяйственного сырья и отходов его традиционной переработки.

Еще ранее экономически обоснованные и пользующиеся государственной поддержкой программы в сфере биотехнологий были приняты странами-лидерами таких региональных интеграционных формирований, как НАФТА, МЕРКОСУР, ЕС и БРИКС. Это обеспечивает им преимущество в сферах производства, потребления и внешней торговли жидким моторным биотопливом – биоэтанолом или биодизелем.

Биоэкономика – сфера современной экономики, основанная на биотехнологиях, в которых используется возобновляемое сырье для производства новых веществ и энергии. К экономическим и экологическим преимуществам, которые несет с собой развитие отрасли биоэкономики в аграрной сфере можно отнести следующие:

- появление новых продуктов и рынков;
- снижение себестоимости продовольствия при более тщательном контроле качества продуктов питания;
- снижение зависимости ценообразования в сфере торговли от рынка энергоресурсов
- предотвращение загрязнения окружающей среды
- улучшение качества жизни сельского жителя.

Важной частью развития биоэкономики является экономика глубокой переработки сельскохозяйственного сырья и отходов его переработки. В качестве сырья или биомассы для производства биотоплива и других побочных продуктов используются крахмалосодержащие (кукуруза, пшеница, ячмень, рожь, картофель,

маниок), сахаросодержащие (сахарная свекла, топинамбур, сорго), масличные (рапс, соя, подсолнечник) и целлюлозосодержащие (солома, ботва, стебли, листья, подсолнечная и рисовая лузга, виноградная лоза, кукурузная кочерыжка, свекловичный жом) культуры.

Большинство продуктов, на которые имеется неудовлетворенный внутренний и внешний спрос, такие, как клейковина, лизин, лимонная и другие кислоты, предпочтительнее производить из пшеницы, а крахмалы и глюкозо-фруктозные сиропы лучше делать из кукурузы.

Сейчас на внутреннем рынке государств ЕЭП наиболее устойчиво и самыми высокими темпами (в среднем по 25% в год), связанными с интенсивным развитием птице- и свиноводства, растет потребление лизина, ставшего дорогостоящим импортным товаром.

Инвестиции в строительство заводов по глубокой переработке зерна на основе импортных технологий оцениваются в 600 евро на тонну мощности переработки по зерну. Оптимальная мощность таких предприятий составляет 200-250 тыс тонн в год, что означает потребность от 120 до 150 млн евро инвестиций без учета расходов на подведение электроэнергии, газа, воды, строительство очистных сооружений и подъездных путей.

При глубокой переработке 240 тыс. тонн пшеницы обеспечивается получение в качестве полупродуктов 200 тыс. тонн пшеничной муки и 107 тыс. тонн абсолютно сухого крахмала, а в качестве продуктов 20 тыс. тонн сухого глютена, 100 тыс. тонн кормовой добавки, 80 тыс. тонн мальтозной патоки и 30 млн литров спирта.

При существующей системе цен и приобретении сырья не дешевле 7 тысяч рублей за тонну пшеницы общая выручка от реализации всех продуктов глубокой биотехнологической переработки 1 тонны сырья составляет около 14 тыс. руб., то есть практически позволяет удвоить ВВП по сравнению с существующей системой реализации зерна на экспорт.

В случае перехода в качестве сырья на более дешевую кукурузу, а особенно ее высококрахмалистые трансгенные сорта, что имеет место у фермеров США, может быть достигнуто утроение ВВП по сравнению с существующей системой реализации зерна на экспорт.

К настоящему времени научное сообщество в состоянии предложить достаточно эффективные технологии глубокой переработки крахмало-, сахаро- и целлюлозосодержащего сырья и масличных культур.

Однако в промышленном масштабе осуществлено освоение только незначительного количества предложенных наукой технологий глубокой переработки перечисленных видов сырья, включая:

- кукурузу (Аргентина, Бразилия, Китай, США) и пшеницы (Великобритания, Франция) на биоэтанол, глюкозно-фруктозные сиропы, клейковину и др.;
- сахарную свеклу (Великобритания) и сахара-сырца (Бразилия) на сахар, биоэтанол, органические и аминокислоты и гранулированный жом;
- рапс и др. видов масличных культур (Германия, Канада) на соответствующее масло, биодизель и шрот;
- древесину лиственных пород (США, Швеция) на целлюлозу, биоэтанол, леволиновую кислоту и фурфурол.

Литература

1. Межгосударственная целевая программа (2009) Евразийского экономического сообщества «Инновационные биотехнологии». Принята решением Межгосударственного Совета ЕврАзЭС №422. Доступно на docs.pravo.ru/document/view/16650582/14103528/
2. Аблаев А.Р. (2013) Биоэкономика – база развития Евразийской интеграции. VIII международная конференция «Углубление и расширение Евразийской интеграции»
3. ГЭВУ (2013) Биотопливо и продовольственная безопасность: Доклад Группы экспертов высокого уровня по вопросам продовольственной безопасности и питания Комитета по всемирной продовольственной безопасности. Рим, 2013. Доступно на www.fao.org/fileadmin/user_upload/hlpe/hlpe_documents/HLPE_Reports/HLPE-Report-5-RU.pdf
4. Комплексная программа развития биотехнологий в Российской Федерации до 2020 года от 24 апреля 2012 года №1853п-П8
5. Кирпичников М.П. (2013) Перспективы развития биоэкономики в России. Доступно на www.biotech2030.ru
6. Тарасов В.И. (2013) Бразильское чудо. Как страна добилась небывалых успехов в сельском хозяйстве. Журнал Хлебопродукты, №7
7. Тарасов В.И. (2013) Социальные и экономические аспекты глубокой переработки зерна на биотопливо. Доклад на научной конференции Pax Grid
8. Тарасов В.И. (2009) Генно-модифицированные организмы, как перспективный источник сырья для производства моторного биотоплива второго поколения
9. Тарасов В.И. (2009) Пашенко А.И. Бирюков В.М. Бутанол как инновационный продукт агропромышленного комплекса. IV

Международный конгресс «Топливный биоэтанол - 2009»

10. Тарасов В.И. (2009) Пашенко А.И., Попов В.К. Экономика производства и конкурентоспособность биотоплива из незернового сырья
11. Тарасов В.И. (2008) Технологические и экономические перспективы и нормативно-правовое обеспечение производства и реализации российского биотоплива. Доклад на совместном заседании Комитета РСПП по энергетической политике и Комиссии РСПП по агропромышленному комплексу

ПЕРСПЕКТИВЫ РАСПРОСТРАНЕНИЯ БИОТЕХНОЛОГИЙ В АГРАРНОЙ СФЕРЕ ЕДИНОГО ЭКОНОМИЧЕСКОГО ПРОСТРАНСТВА

Тарасова Е.В., Мустафина Э.Ф.

Всероссийский НИИ экономики сельского хозяйства

Уникальный код статьи: 53234190e0485

Важной составной частью биоэкономики является экономика глубокой переработки сельскохозяйственного сырья и отходов его переработки. В качестве сырья, или биомассы, используемой для производства биотоплива и других побочных продуктов, используются крахмалосодержащие, сахаросодержащие, масличные и целлюлозосодержащие культуры.

Для производства биотоплива можно использовать как непосредственно сахарную свеклу, так и отходы сахарного производства, такие как мелассу и свекловичный жом.

Из свекловичного жома получают корм для животных в сухом, консервированном и сушеном виде, удобрения, пектин и пищевые волокна, используемые в пищевой промышленности, а также биогаз.

Оптимальным сырьем для производства биодизеля на территории ЕЭП может служить рапс, так как его выращивание наилучшим образом соответствует климатическим условиям, и, кроме того, рапс является отличным предшественником пшеницы. Он хорошо структурирует почву, в результате чего повышается урожайность зерновых, посеянных после рапса.

В сороковые годы 20 века в СССР проводились исследования переработки отходов сельского хозяйства с получением фурфурола, ксилозы, кормовых дрожжей и гидролизного спирта. В эти же годы были запущены заводы по переработке сельскохозяйственных отходов в городах Фергана, Андижан, Краснодар. До начала последнего десятилетия двадцатого века гидролизное производство считалось высокорентабельной подотраслью микробиологической промышленности. Однако с распадом СССР прекратило существование и Министерство микробиологической промышленности. Из 38 гидролизных заводов, работавших на территории СССР осталось 17. К 2000 году в России осталось только восемь гидролизных заводов.

На текущий момент времени научное сообщество в состоянии

предложить достаточно эффективные технологии глубокой переработки крахмало-, сахаро- и целлюлозосодержащего сырья и масличных культур.

Однако в промышленном масштабе пока осуществлено освоение только незначительного количества предложенных наукой технологий глубокой переработки перечисленных видов сырья, включая:

- глубокую переработку кукурузы (Аргентина, Бразилия, Китай, США) и пшеницы (Великобритания, Франция) на биоэтанол, глюкозно-фруктозные сиропы, клейковину и др.;
- глубокую переработку сахарной свеклы (Великобритания) и сахара-сырца (Бразилия) на сахар, биоэтанол, органические и аминокислоты и гранулированный жом;
- глубокую переработку рапса и других видов масличных культур (Германия, Канада) на соответствующее масло, биодизель и шрот;
- глубокую переработку древесины лиственных пород (США, Швеция) на целлюлозу, биоэтанол, левулиновую кислоту и фурфурол.

При этом развитие производства биотоплива, требует все большего количества продовольственного сырья. Избежать прямой конкуренции за сырье между производителями биотоплива, продовольствия и кормов для животных может помочь переход к возделыванию трансгенных сельскохозяйственных культур. Сельскохозяйственные биотехнологии предлагают несколько путей решения этой проблемы.

Во-первых, возможно повышение качественных характеристик продовольственных культур с увеличением съема сырья для производства биотоплива с гектара. На сегодняшний день компанией Syngenta создана трансгенная линия кукурузы Enogen, позволяющая синтезировать альфа-амилазу. В производстве этанола этот фермент необходим на ранних стадиях технологического процесса для превращения крахмала в простые сахара. Кроме того, наличие альфа-амилазы в зерне помогает значительно снизить вязкость массы, которую готовят к ферментации, что ведет к снижению энергоемкости производственного процесса и потребности в воде. В 2013 году 11 заводов США по производству биоэтанола подписали соглашение по выращиванию данного сорта кукурузы. [Никитин А. 2012]

Во-вторых, разрабатываются альтернативные энергоэффективные трансгенные линии сельскохозяйственных культур, в первую очередь, сорго, маниок и батат.

В-третьих, разрабатываются трансгенные линии сельскохозяйственных культур, которые могут произрастать на почвах, непригодных для выращивания традиционных продовольственных культур. В 2013 году в США началось производство трансгенной

кукурузы, устойчивой к засухе. На сегодняшний день разработан и получил одобрение на коммерческое производство трансгенный сахарный тростник, устойчивый к засухе. Ожидается начало его производства в Индонезии в 2014 году.

В четверку крупнейших производителей биоэтанола в мире после США, Бразилии и ЕС входит Китайская Народная Республика, которая начала производить его с 2003 года. [OECD 2014] При этом в Китае не поощряется использование продовольственного зерна как сырья для биотоплива, а использует вместо него непродовольственные зерновые культуры, например, батат или сорго. Большинство таких непродовольственных зерновых культур могут произрастать на солончаке и бесплодных землях, которые являются неприемлемыми для выращивания традиционных зерновых.

Наиболее эффективной современной формой создания и развития технологических производств, гарантирующих экономический рост, является формат регионального кластера. В данном случае речь может идти о создании промышленно-аграрных региональных кластеров ПАРКов. Такой ПАРК может объединять 4 комплекса: агропромышленный, нефтехимический, кремниевый и лесопромышленный, которые тесно взаимосвязаны в части обеспечения сырьем и продукцией, а также оптимального энергетического баланса.

На сегодняшний день в России насчитывается 14 биокластеров, которые получили право на государственную субсидию. Среди них, как минимум, 5, сведения о которых приведены в таблице 8, имеют отношение к биотехнологиям.

Исходя из результатов технико-экономического анализа промышленной эксплуатации предприятий, использующих различные технологии, виды сырья и функционирующих в различных странах и континентах, можно рекомендовать на этапе становления биоэкономики государств ЕЭП сделать основной акцент на наиболее отработанных и максимально рентабельных технологиях глубокой переработки зерновых на биоэтанол и масличных – на биодизель.

Литература

1. Комплексная программа развития биотехнологий в Российской Федерации до 2020 года от 24 апреля 2012 года №1853п-П8
2. Аблаев А.Р. (2013) Биоэнергетика: тихая экономическая революция. Форум «Открытые инновации»
3. Аблаев А.Р. (2010) Глубокая переработка зерна – одна из основ инновационного развития регионов

4. Аблаев А.Р. (2010) Промышленная биотехнология и глубокая переработка зерна. V Международный Конгресс "Топливный Биоэтанол 2010". Москва
5. Булавин Р. (2013) Заводы глубокой переработки зерна окупаются за 5 лет, но ни один пока не построен. Доступно на www.ikar.ru/press/1607.html
6. ГЭВУ (2013) Биотопливо и продовольственная безопасность: Доклад Группы экспертов высокого уровня по вопросам продовольственной безопасности и питания Комитета по всемирной продовольственной безопасности. Рим, 2013. Доступно на www.fao.org/fileadmin/user_upload/hlpe/hlpe_documents/HLPE_Reports/HLPE-Report-5-RU.pdf
7. Мустафина Э.Ф. и др. (2014) Перспективы использования биотехнологий в аграрной сфере Единого экономического пространства. М.: «Угрешская типография», при поддержке Евразийского банка развития
8. Никитин А. 2012 Syngenta и Bonanza подписали договоров о создании новых сортов на основе технологии Enogen. Доступно на: <http://www.agroxxi.ru/mirovye-agronovosti/syngenta-i-bonanza-podpisali-dogovory-o-sozdani-novyh-sortov-na-osnove-tehnologi-enogen.html>
9. Тарасов В.И. (2009) Пашенко А.И., Попов В.К. Экономика производства и конкурентоспособность биотоплива из незернового сырья
10. Тарасов В.И. (2008) Технологические и экономические перспективы и нормативно-правовое обеспечение производства и реализации российского биотоплива. Доклад на совместном заседании Комитета РСПП по энергетической политике и Комиссии РСПП по агропромышленному комплексу
11. Тарасова Е.В. (2013) Использование агrobiотехнологий для обеспечения продовольственной безопасности. Доклад XII на научной конференции Pax Grid
12. Харина М.В. (2013) Эффективные параметры, влияющие на предварительную обработку лингоцеллюлозы при производстве этанола. Обзор зарубежных публикаций

ОЦЕНКА ВОЗМОЖНОСТИ ПРЕПАРАТИВНОГО ПОЛУЧЕНИЯ РЕКОМБИНАНТНОГО ГЛИКОПРОТЕИДА ВИРУСА БЕШЕНСТВА

Уваров М.Н., Тучков И.В., Киреев М.Н.

РосНИПЧИ "Микроб"

Уникальный код статьи: 531601a37cf4c

В последние годы на территории Российской Федерации отмечается ухудшение эпизоотической обстановки по бешенству. Данное заболевание, в связи с абсолютной летальностью и необходимостью проведения курса лечебно-профилактических прививок по жизненным показаниям, является серьезной проблемой практического здравоохранения. Для экстренной профилактики используют антирабический иммуноглобулин (АИГ), который в Российской Федерации производят в ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб» (г. Саратов). Методы и технологии получения АИГ достаточно трудоемки и затратны, требующие большого количества лабораторных животных при получении инфекционного агента для иммунизации лошадей производителей.

РНК вируса бешенства экспрессирует синтез пяти протеинов, один из которых G – гликопротеид, инициирующий выработку вирус нейтрализующих антител и являющийся основным иммуногеном вируса бешенства. Он может использоваться как для создания субъединичных антирабических вакцин, так и для иммунизации животных-производителей при получении АИГ.

Целью данной работы является исследование рекомбинантного штамма *Escherichia coli* BL21(DE3) pLysS RVG A12, депонированного в Государственной коллекции патогенных бактерий «Микроб» под номером КМ 237, являющегося продуцентом G – гликопротеида фиксированного вируса бешенства «Москва 3253». Данная генетическая конструкция представляет из себя штамм *E.coli* BL21(DE3), лишённый протеаз, несущий плазмиду pLysS для строго контролируемой экспрессии белка и коммерческую плазмиду pDNA4/HisMax-ТОРО (Invitrogen) с клонированным участком G-белка вируса бешенства. Для оценки экспрессии рекомбинантного белка, содержащего в своём составе полигистидиновую метку, штамм культивировали в различных условиях. Клоны выращивали в колбах объемом 1 литр на шейкере-икубаторе Inforse Multitron HT II до достижения оптической

плотности 0,8 ($OD_{600} = 0,8$ О.Е.). Потом добавляли индуктор ИПТГ (Изопропил- β -D-тиогалактопиранозид) до концентрации 1 мМ в две колбы, и растили одну 3 часа, другую 4 часа. Параллельно растили ещё две колбы, в одну из которых добавляли ИПТГ до концентрации 0,5 мМ и выращивали 20 часов, а в другую до 0,1 мМ и культивировали 24 часа. Затем культуру сепарировали, супернатант отбрасывали, а полученные клетки помещали на -70°C на ночь и разрушали с помощью ультразвукового дезинтегратора (6 раз по 10 с при частоте 22 кГц). Рекомбинантный белок из полученного лизата выделяли с помощью аффинной хроматографии на Ni-NTA колонках из набора ProBondtm Purification System (Invitrogen). Гликопротеид в полученных фракциях исследовали с помощью метода SDS-PAGE по Лэммли. Подтверждали наличие соответствующего белка с помощью дот-иммуноанализа (ДИА) с использованием в качестве сыворотки коммерческого антирабического иммуноглобулина и антивидовых антител, меченных пероксидазой (производство «Медгамал»).

На следующем этапе предполагается глубинное культивирование в лабораторном биореакторе Biotron SL - 20L, оптимизация условий масштабирования и получения гликопротеида в препаративных количествах

КИНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПЛЕНКООБРАЗОВАНИЯ ТЕСТОВЫМИ И КЛИНИЧЕСКИМИ ШТАММАМИ *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*

Ульянов В.Ю., Определенцева С.В., Заярский Д.А.,
Милушева Л.Н., Нечаева О.В., Тихомирова Е.И.

ФГБУ "СарНИИТО" Минздрава России,
ГБОУ ВПО "Национальный исследовательский СГУ им. Н.Г.
Чернышевского",
ГУЗ "Саратовская областная детская клиническая больница",
ГБОУ ВПО "СГТУ им. Гагарина Ю.А."

Уникальный код статьи: 53233cf45d69e

Среди возбудителей инфекционно-воспалительных осложнений важное клиническое значение имеет *Ps. aeruginosa*, свойством которой является способность к пленкообразованию [1-5].

Цель: изучить интенсивность формирования микробных биопленок тестовыми и клиническими штаммами *Ps. aeruginosa*.

В исследование включены 12 тестовых (АТСС 27853) и 12 клинических штаммов *Ps. aeruginosa*. Посев биологического материала осуществляли на 5%-ный кровяной агар с последующей инкубацией в течение 24 часов при температуре 37°C. Из материала изолированных колоний, отобранных по культурально – морфологическим признакам, выделяли чистые культуры. Биохимическую идентификацию штаммов осуществляли на микробиологическом анализаторе BD BBL Crystal (США). Для количественного учета интенсивности пленкообразования из суточных культур исследуемых штаммов в стерильном 0,9%-ном растворе натрия хлорида готовили суспензии с оптической плотностью 0,5 по МакФарланду. Вносили по 100 мкл бактериальной суспензии с начальной концентрацией бактерий 10⁵ КОЕ/мл в ячейки плоскодонных стерильных культуральных полистирольных планшетов с 96 лунками. Бактериальную суспензию инкубировали при температуре 37°C в течение 24, 48, 72 и 96 часов. Планктонные бактерии удаляли аспирацией, ячейки планшетов осторожно промывали с помощью автоматического промывателя для микропланшет, добавляли соответствующий объем 1%-ного водного раствора красителя кристаллического фиолетового, экспонировали при комнатной температуре 10 минут, удаляли раствор и осторожно троекратно

промывали планшеты водой. Связавшийся с биопленками краситель растворяли в 100 мкл смеси ацетон : этанол (20 мл : 80 мл) и определяли на спектрофотометре оптическую плотность при длине волны 420 нм. Для построения калибровочной кривой готовили контрольные образцы. Образование биопленок тестовыми и клиническими штаммами микроорганизмов оценивали по величине связывания ими кристаллического фиолетового в стерильных плоскодонных культуральных полистирольных планшетах.

Полученные результаты экспериментальных и клинических исследований обработаны статистически экспресс-методом (Стрелков Р.Б., 1998).

При культивировании тестовых штаммов *Ps.aeruginosa* в лунках планшета, содержащих по 100 мкл 0,9%-ного раствора натрия хлорида, наблюдали волнообразное изменение величин накопления кристаллического фиолетового образующейся биопленкой. Так, на 1-е сутки фиксировали увеличение накопления кристаллического фиолетового биопленкой в 51,8 раз по сравнению с контрольными значениями ($p<0,001$). На 2-е сутки накопление красителя уменьшалось по сравнению с 1-ми сутками в 4,8 раза ($p<0,001$). На 3-и сутки вновь отмечали увеличение накопления кристаллического фиолетового в 3,5 раза по сравнению со 2-ми сутками культивирования ($p<0,01$). На 4-е сутки возникло уменьшение накопления красителя в 8 раз по сравнению с 3-ми сутками ($p<0,001$).

При культивировании тестовых штаммов *Ps.aeruginosa* в лунках планшета, содержащих по 100 мкл питательного бульона, на 1-е сутки отмечали увеличение накопления красителя в 8,9 раз по сравнению с контролем ($p<0,001$). На 2-е сутки достоверных изменений накопления красителя по сравнению с 1-ми сутками выявлено не было ($p>0,05$). На 3-и сутки возникло увеличение накопления кристаллического фиолетового биопленкой в 15 раз по сравнению со 2-ми сутками ($p<0,001$), которое на 4-е сутки сменилось уменьшением накопления красителя в 5,8 раз ($p<0,01$).

При изучении пленкообразования клинических штаммов *Ps.aeruginosa* в лунках планшета, содержащих по 100 мкл 0,9%-ного раствора натрия хлорида, на 1-е и 2-е сутки культивирования не отмечали достоверного увеличения накопления кристаллического фиолетового по сравнению с контрольными значениями ($p>0,05$). Увеличение накопления красителя в 8,5 раз происходило лишь на 3-и сутки ($p<0,001$) с последующим снижением в 2,3 раза к 4-м суткам культивирования биопленки ($p<0,001$).

При культивировании биопленки клинических штаммов *Ps.aeruginosa* в лунках планшета, содержащих по 100 мкл питательного бульона, на 1-е сутки фиксировали увеличение накопления красителя в 9,5 раз по сравнению с контролем ($p < 0,001$), на 2-е сутки изменения накопления красителя носили недостоверный характер ($p > 0,05$), на 3-и сутки возник рост накопления красителя в 2,2 раза по сравнению со 2-ми сутками ($p < 0,001$). На 4-е сутки культивирования отмечали угнетение накопления кристаллического фиолетового в 2,1 раза по сравнению со значениями, полученными на 3-и сутки ($p < 0,001$).

Таким образом, особенностью культивирования биопленки клинических штаммов *Ps.aeruginosa* на лунках планшета, содержащих 100 мкл 0,9%-ного раствора натрия хлорида или 200 мкл питательного бульона, была пролонгация фазы созревания, что, вероятно, связано с низкой метаболической активностью, присущей «агрессивным» клиническим штаммам микроорганизмов и проявлялось *in vitro* монотонностью показателей накопления красителя на 1-е и 2-е сутки культивирования. Затем, вероятно, наступала стадия дифференцировки биопленки, характеризующаяся независимостью от наличия питательного субстрата. *In vitro* это совпадало с увеличением накопления кристаллического фиолетового к 3-м суткам. Сроки наступления стадии дисперсии биопленки не отличались от таковых в сравнении с биопленками, образованными тестовыми штаммами.

Литература

1. Сидоренко С.В. Роль бактериальных биопленок в патологии человека. Инфекции в хирургии. Инфекции в хирургии. 2012; 3:16-20.
2. Чернявский В.И. Бактериальные биопленки и инфекции (лекция). Annals of Mechnikov Institute. 2013; 1: 86-90.
3. Лямин А.В., Боткин Е.А., Жестков А.В. Методы выявления биопленок в медицине: возможности и перспективы. Клиническая микробиология и антибактериальная химиотерапия. 2012; 1: 17-22.
4. Lasa I., Del Pozo J.L., Penades J.R., Leiva J. Bacterial biofilms and infection. An. Sist. Sanit. Navar. 2005; 32: 163-175.
5. O'Toole G.A., Kaplan H.B., Kolter R. Biofilm formation as microbial development. Ann Rev Microbiol. 2000; 54: 49-79.

БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫЕ КОЛЛОИДНЫЕ РАСТВОРЫ СЕЛЕНА

Фолманис Г.Э.

ИМЕТ РАН

Уникальный код статьи: 5327fa09ae14c

Селен входит в состав более 200 гормонов и ферментов человеческого организма, при участии селена образуется до 80% энергии у человека. Селен также регулирует процесс антиоксидантной защиты и активность гормонов щитовидной железы, оказывает лечебный эффект при кардиопатиях различной этиологии, гепатитах, панкреатитах и заболеваниях кожи. Общеизвестна роль селена в профилактике и лечении злокачественных новообразований. Селен способен защитить организм от кадмия, свинца, таллия и вредных веществ, образующихся при распаде токсинов. В настоящее время считается, что специфическая патология, связанная с дефицитом селена, развивается у человека при поступлении селена менее 19 мкг/сутки для мужчин и 14 мкг/сутки для женщин. Последствия хронического дефицита селена вызывают увеличение заболеваемости «болезнями цивилизации», снижение качества и продолжительности жизни, появление новых вирусных болезней и рост агрессивности в обществе.

Экспериментальная часть

На основе лазерной абляции разработан метод получения водных коллоидных растворов не взаимодействующих с водой химических элементов, в первую очередь - селена. Твердотельный импульсный лазер имел активный элемент в виде кристалла из иттрий-алюминиевого граната, легированного неодимом. Длина волны излучения составляла 1079 нм, длительность импульса 10 - 15 нс.

Концентрацию селена в водном растворе определяли методом атомно-эмиссионной спектроскопии с индукционной плазмой (АЭС с ИНП). Метод позволяет с большой точностью одновременно определять широкий набор элементов разных концентраций. Для определения селена выбрали наиболее чувствительную аналитическую линию 196,026 нм с пределом обнаружения 1,5 ppb Se [1].

Определена токсичность коллоидного раствора селена, полученного методом лазерной абляции. Препарат вводили мышам внутрижелудочно в объеме - 1 мл, что соответствует максимально допустимой дозе

внутрижелудочного введения для мышей. По действующему веществу доза равнялась 3,7 мкг/мышь или 185 мкг/кг. Суммарная доза препарата составила 300 мл/кг. Животным контрольной группы вводили дистиллированную воду в таком же объеме и с такой же кратностью. Регистрировали сроки развития интоксикации и гибели животных. На основании полученных результатов сделано заключение, что ЛД₅₀ коллоидного раствора селена не превышает 1,11 мг/кг. Результаты не противоречат известным данным об уровне токсичности препаратов селена при внутрижелудочном введении. Селен и его соединения по своей биологической активности относятся к классу чрезвычайно токсичных соединений [2].

С целью определения возможности применения наноразмерного селена в сельскохозяйственном производстве, исследовано его влияние на семена растений, культуры грибов-фитопатогенов и цыплят-бройлеров.

Обсуждение результатов

Установлено положительное влияние препарата на всхожесть и прорастание семян. Объектами исследований были семена овощных, зеленных и цветочных культур. Существенной проблемой для применения любого нового препарата является характер его влияния на окружающий растительный биоценоз, особенно – микробиоценоз почвы и эпифитную микрофлору растений. Существенной задачей исследования явилось изучение влияния нового препарата на рост сельскохозяйственно-значимых микромицетов, паразитов растений и полезных почвенных грибов. Результаты исследований показали, что водная коллоидная система наноразмерного селена в концентрациях, физиологически значимых для растений, оказывает положительное влияние на семена сельскохозяйственных культур, но не оказывает существенного влияния на культуры грибов-фитопатогенов [3].

В сельском хозяйстве для сохранения урожая часто применяются химические средства защиты растений – пестициды. С экологической точки зрения такая обработка нежелательна. В последнее время успешно развивается новое экологически безопасное направление защиты растений, основанное на индуцировании их устойчивости к биотическим и абиотическим стрессам. Индуцирование устойчивости включает имеющиеся в природе механизмы. С его помощью предполагается заменить или, по крайней мере, ослабить вредоносность пестицидов. К числу защитных реакций растений относится не только устойчивость к различного рода патогенам, но и способность растительных тканей залечивать различного типа поранений.

Представляющие особый интерес элиситорная и ростовая активности наноразмерного селена, определенны в работе [4]. В первой серии экспериментов определяли воздействие наноразмерного селена на взаимоотношения партнеров в патосистеме картофель - возбудитель фитофтороза. Полученные результаты свидетельствуют о ценных сельскохозяйственных свойствах препарата на основе наноразмерного селена. Он способен защитить картофель от возбудителя фитофтороза, а также стимулировать процесс заживления механических поранений клубней. Последнее представляет особую важность, поскольку пораненная поверхность клубней, неизбежная при их уборке и транспортировке, является «открытыми воротами» для проникновения инфекции. Препарат на основе наноразмерного селена не только интенсифицировал защитные свойства раневой перидермы, но и увеличивал скорость процесса заживания, что является весьма существенным для сохранения урожая клубней.

Наноразмерный селен обладает пролонгированным системным действием: через месяц после обработки препаратом поверхности клубней его внутренние ткани оказывались защищенными. Не исключено, что такого рода индуцированная устойчивость может сохраняться более длительные сроки, как это имеет место при действии других элиситоров. Системность и продолжительность действия в настоящее время являются обязательным свойством для защитных препаратов нового поколения.

В ранних исследованиях по аккумулярованию селена растениями, проведенными в 30-50 годы XX века, было установлено значительное усвоение элементарного селена астрагалами - известными аккумуляторами селена [5]. Для растений - не аккумуляторов, включая пастбищные, отмечался крайне низкий уровень аккумулярования элементарного селена при внесении элемента в почву. В исследованиях первой декады XXI века установлена возможность интенсивного обогащения наноразмерным селеном клубней топинамбура при внекорневом внесении элемента [1], повышения всхожести семян сельскохозяйственных растений [3]. Однако в этих работах не проводилось сравнение уровней и особенностей усвоения наноразмерного селена с широко используемыми в сельском хозяйстве селенатом и селенитом натрия. Проведенные в [5] исследования позволили впервые установить интенсивность аккумулярования и миграции наноразмерного селена природными аккумуляторами микроэлемента - многолетними луками - и установить снижение этих показателей в ряду: $\text{Se}^{+6} > \text{Se}^0 > \text{Se}^{+4}$.

Большой теоретический и практический интерес представляет селен как один из ключевых микроэлементов, необходимых для нормального функционирования животных. Однако ввод селена в рационы требует строгого нормирования. Дефицит селена приводит к снижению прироста живой массы, ухудшению состояния оперения, кормовой мышечной дистрофии, развитию экссудативного диатеза. Его избыток в кормах, в свою очередь, приводит к развитию хронического токсикоза, нарушению обмена кальция и серы. Появление нарушений формирования кератина пера и костей приводит к развитию энтеритов, дегенерации почек.

В работе [6] определяли сохранность поголовья, живую массу бройлеров в суточном и 35-дневном возрастах, затраты корма на единицу прироста живой массы бройлеров, перевариваемость и использование питательных веществ комбикормов. Результаты исследований показали, что наноразмерный селен является биологически активным элементом и в дозе 0.001- 0.1 мг/кг оказывает положительное влияние на процессы пищеварения, рост и развитие цыплят-бройлеров.

Лучший эффект на накопление массы тела цыплят и переваримость компонентов корма установлен для корма, содержащего наноразмерный селен в количестве 0,01 мг/кг, что в 20 раз ниже по сравнению с традиционно применяемой дозой солей селена, составляющей 0,2 мг/кг.

Заключение

Наноразмерный селен обладает системным и продолжительным действием. Применение устойчивого раствора наноразмерного селена, обладающего высокой биологической активностью, открывает перспективу замены использования вредных химически синтезированных веществ, как в растениеводстве, так и в животноводстве.

Литература

1. Богачев В.Н., Коваленко Л.В., Иванов Л.И., Фолманис Г.Э., Волченкова В.А. Суспензии наноразмерного селена в растениеводстве. // Перспективные материалы, 2008, № 2, с. 54-56.
2. Картамышева Н.В., Коровина В.В. // Материалы конференции «Проблемы сельскохозяйственного производства на современном этапе и пути их решения». Пятнадцатая международная научно - производственная конференция. Белгород, 2011, Издательство Белгородской ГСХА, с. 73.
3. Никонов И.Н., Иванов Л.И., Коваленко Л.В., Фолманис Г.Э. Влияние наноразмерного селена на рост сельскохозяйственно-значимых культур. // Перспективные материалы, 2009, № 4, с. 54-57.

4. Чаленко, Н. Г. Герасимова, Н. И. Васюкова, О. Л. Озерецков-ская, Л. В. Коваленко, Г. Э. Фолманис. Наноразмерный селен – системный элиситор защитных и ростовых реакций клубня картофеля. // Агро XXI, 2010, № 10-12, с. 31-33.
5. Голубкина Н.А., Фолманис Г.Э., Тананаев И.Г. Сравнительная оценка аккумуляции наночастиц элементарного селена, селената и селенита натрия растениями рода *Allium* при внекорневом внесении элемента. // ДАН, 2012, т. 444, № 2, с. 230-233.
6. Никонов И.Н., Фолманис Ю.Г., Коваленко Л.В., Лаптев Г.Ю., Фолманис Г.Э., Егоров И.А., Фисинин В.И., Тананаев И.Г. Биологическая активность наноразмерного коллоидного селена. // ДАН, 2012, 447, № 6, с. 675-677.

ПОЛИСАХАРИДЫ *POTAMOGETON PERFOLIATUS* L. КАК ПЕРСПЕКТИВНЫЕ ИММУНОМОДУЛЯТОРЫ

Фомина А.А., Коннова С.А., Тихомирова Е.И.

Саратовский государственный технический университет им. Ю.А.
Гагарина,
Саратовский национальный исследовательский университет им. Н.Г.
Чернышевского

Уникальный код статьи: 532с53bee97df

В настоящее время большое внимание уделяется поиску новых природных иммуностимулирующих веществ, особенно среди растительных полисахаридов (ПС). Исследования представителей рода *Potamogeton* показали, что *P. malaiianus* обладает противовирусной активностью [1], а ПС *P. natans* L. - протекторным действием при введении мышам летальной дозы липополисахарида [2]. Для мелководий каскада Волжских водохранилищ одним из наиболее распространённых представителей рода является рдест пронзённолистный, однако ПС *P. p. erfoliatus* и их биологическое действие не исследовалось.

Для оценки биологического действия водорастворимых ПС *P. p. erfoliatus in vitro* на эукариотические клетки провели моделирование процесса фагоцитоза бактерий, определение индукции оксидазных и нитрогенных форм радикалов, основных провоспалительных цитокинов (ФНО-а, ИЛ-1, ИЛ-6, ИНФ-γ) мышинными макрофагами.

Из биомассы рдеста пронзённолистного получены препараты полисахаридов – нейтральный н-ПС1 и кислый – к-ПС3 с молекулярными массами 20 и 500 кДа соответственно. Оба препарата являются гетерополисахаридами: н-ПС1 (по данным ГЖХ) содержит нейтральные сахара: рамнозу, фукозу, маннозу, глюкозу, галактозу в соотношении 1:1:1,5:2 и глюкозамин (по данным ТСХ), а к-ПС3 – рамнозу, маннозу, глюкозу, галактозу в соотношении 1:1:1:2.

При моделировании процесса фагоцитоза установлено, что внесение н-ПС1 в дозе 1 мкг/мл в культуру макрофагов перед началом фагоцитоза приводило к увеличению количества активированных макрофагов по сравнению с контролем на всех этапах фагоцитоза *Escherichia coli* Ca53. Количество фагоцитирующих альвеолярных макрофагов (АМФ) было выше по сравнению с контролем на 14–20 %, перитонеальных (ПМФ) – на 23–33 %.

Показано, что ПС не оказывали влияния на продукцию активных форм кислорода (АФК), кроме того, при дозах 0.01 и 0.1 мкг/мл к-ПС3 содержание АФК было ниже контроля на 15-29 %. Ингибирующее действие к-ПС3 на образование АФК в макрофагах свидетельствовало о его возможных антиоксидантных свойствах. Установлено, что ПС не стимулировали продукцию NO макрофагами, который является показателем активности индуцибельной NO-синтазы клеток. В то же время, препараты активировали миелопероксидазу (МПО), обеспечивающую альтернативный механизм кислородзависимого киллинга бактерий. Активность МПО усиливалась незначительно под воздействием 0.01-10 мкг/мл к-ПС3. При добавлении н-ПС1 активность МПО увеличивалась дозозависимо и была в 2 раза выше при дозе препарата 10 мкг/мл относительно контроля.

В ходе исследований установлено, что под влиянием н-ПС1 в концентрациях 0.1 и 1 мкг/мл продукция ФНО-а ПМФ и АМФ была выше контроля на протяжении всего процесса фагоцитоза. В присутствии к-ПС3 концентрация цитокина нарастала с 1 по 6 ч фагоцитоза для ПМФ и АМФ. Н-ПС1 в дозах 0.1 и 1 мкг/мл существенно в 4-10 раз индуцировал синтез ИЛ-1а по сравнению с контролем, особенно ПМФ к 4 и 6 ч процесса фагоцитоза. В то же время к-ПС3 стимулировал продукцию ИЛ-1а незначительно при всех дозах.

В присутствии н-ПС1 концентрации ИЛ-6 в динамике фагоцитоза эшерихий находились практически на уровне контрольных значений и лишь к 2 и 6 ч процесса были выше по сравнению с контролем в 1.5-2 раза для ПМФ и АМФ соответственно. Отмечено, что ПС существенно индуцировали продукцию ИНФ-γ макрофагами к 6 ч фагоцитоза, особенно значительно н-ПС1 в дозе 1 мкг/мл. Концентрации всех исследованных цитокинов в присутствии ПС находились в рамках физиологической нормы продукции данных цитокинов, что позволяет сделать заключение о возможном мягком иммуномодулирующем эффекте ПС *P. perfoliatus*.

Таким образом, полисахариды рдеста пронзеннолистного *in vitro* способствовали активизации процесса фагоцитоза эшерихий, активности миелопероксидазы в мышинных макрофагах, однако не влияли на завершенность фагоцитоза и продукцию нитрогенных и НАДФ-зависимых оксидазных форм радикалов. Показано, что в условиях *in vitro* полисахариды *P. perfoliatus* обладали цитокининдуцирующей активностью: н-ПС1 стимулировал продукцию ИЛ-1а, ФНО-а и ИНФ-γ, а к-ПС3 - ФНО-а, ИЛ-6 макрофагами. В связи с этим перспективно дальнейшее изучение полисахаридов рдеста пронзеннолистного в связи

с их широкой биодоступностью и нетоксичностью в плане возможного использования в медицине и внедрения в биотехнологические процессы.

Литература

1. Kittakoop P., Wanasith S., Watts P., Kramyu J., Tanticharoen M., Thebtaranonth Y. Potent antiviral potamogetonyde and potamogetonol, new furanoid labdane diterpenes from *Potamogeton malaianus* // J. Nat. Prod. – 2001. – V. 64. – P. 385-388.
2. Popov S.V., Popova G.Yu., Paderin N.M., Koval O.A., Ovodova R.G., Ovodov Yu.S. Preventative anti-inflammatory effect of potamogetonan, a pectin from the common pondweed *Potamogeton natans* L. // Phytotherapy research. – 2007. – V. 21. – P. 609-614.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПРОМОТОРА P_{HO89} ДЛЯ ЭКСПРЕССИИ ГЕНА ИНТЕРФЕРОНА-АЛЬФА16 ЧЕЛОВЕКА В ДРОЖЖАХ P_{IC}11A PASTORIS

Цыганков М.А., Бовин А.Д., Падкина М.В.

Санкт-Петербургский государственный университет

Уникальный код статьи: 5320105c9590d

Дрожжи *Pichia pastoris* представляют собой удобную систему экспрессии гетерологичных генов. Ее отличают такие положительные характеристики, как накопление значительной биомассы при культивировании на недорогих средах, наличие строго регулируемых промоторов, возможность гликозилирования белков. Спектр гетерологичных генов, успешно проэкспрессированных в этих дрожжах, постоянно увеличивается.

Интерфероны - белки иммунной системы, участвующие в обеспечении противовирусной защиты организма. Интерферон-альфа16 (ИФН-α16) - лейкоцитарный интерферон, вместе с ИФН-β составляют семейство интерферонов I типа. [1]. Интерфероны - секреторные белки и синтезируются в виде предшественников, содержащих сигнальные последовательности. Масса ИФН-α16 без сигнального пептида - 19 кДа, белок имеет две дисульфидные связи [2]. В настоящее время интерфероны совместно с другими препаратами активно используются в лечении различных онкологических и аутоиммунных заболеваний человека [1].

Ранее в нашей лаборатории создана конструкция на базе вектора pPIC9 (Invitrogen, USA) (рис 1), где ген интерферона-альфа16 человека (*HuIFNα16*) находится под контролем промотора и терминатора гена алкогольоксидазы 1 дрожжей *P. pastoris* (AOX1), что позволяет регулировать экспрессию генов источником углерода. [3]. Присутствие в плазмиде pPIC9-HuIFNα16 сигнального пептида α-фактора дрожжей *S. cerevisiae* обеспечивает секрецию гетерологичного белка в культуральную жидкость.

Промотор гена AOX1 (P_{AOX1}) - очень сильный промотор, но сильная экспрессия гетерологичного гена не всегда может сказываться положительно на выход и активность получаемого гетерологичного белка, поэтому поиск не таких сильных, но тоже регулируемых промоторов для дрожжей *P. pastoris*, активно ведется и список их

постоянно расширяется. [4, 5]

В качестве объекта для нашего исследования мы выбрали промотор гена *PNO89* (P_{PNO89}). Действенность использования промотора P_{PNO89} для индукции синтеза гетерологичных белков была подтверждена ранее с использованием гена бактериальной липазы в качестве репортерного. [6]. Ген *PNO89* кодирует натрий-фосфатный симпортер. Промотор P_{PNO89} регулируется концентрацией фосфата в среде и сильно активируется при росте клеток в среде, лимитированной по фосфату.

На базе плазмиды pPIC9-HuIFN α 16 нами создана конструкция, где участок промотора P_{AOX1} заменен на промотор P_{PNO89} (рис 2). Замена производилась по сайтам рестрикции SacI и BamHI. Это позволило сохранить 5'-участок промотора P_{AOX1} , что оставило возможность встройки конструкции в нативный промотор P_{AOX1} клетки. Получен штамм дрожжей *P.pastoris*, содержащий ген *HuIFN α 16* под контролем промотора P_{PNO89} и терминатора гена *AOX1*.

Плюсы промотора P_{PNO89} для экспрессии гетерологичных генов в том, что в процессе индукции не используется ядовитый компонент – метанол, и сам процесс культивирования и индукции проводится в одну стадию. Максимум выхода гетерологичного белка зависит от исходной концентрации фосфата и других компонентов в среде [6]. Одностадийность процесса обеспечивает большую повторяемость результатов, что важно в дальнейшем масштабировании процессов и промышленном производстве.

В дальнейшей работе планируется определить оптимальный состав среды и исходное количество фосфата в ней для максимального выхода белка и провести сравнение выхода и активности ИФН- α 16 при индукции с использованием промоторов P_{PNO89} и P_{AOX1} .

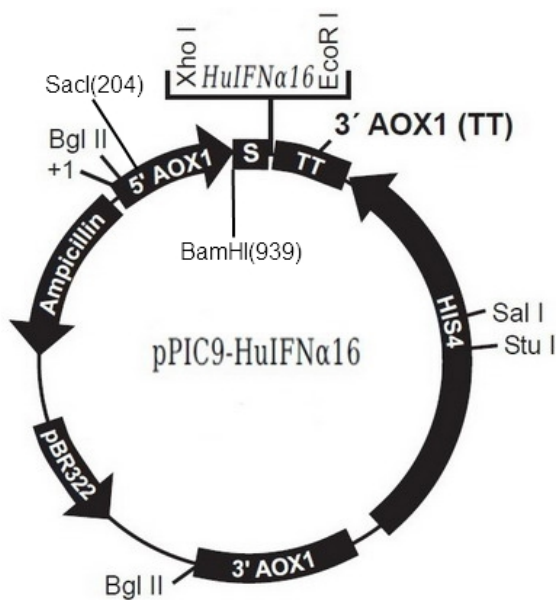


Рис. 1. Плазмида pPIC9-HuIFNα16

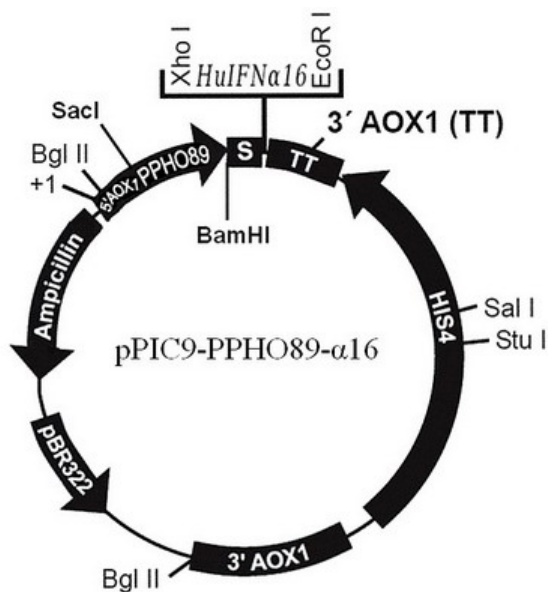


Рис. 2. Плазмида pPIC9-PPHO89-α16

Литература

1. Карабельский А. В., Зиновьева Ю. Г., Смирнов М. Н., Падкина М. В. Создание штаммов дрожжей *Pichia pastoris* продуцентов химерных белков «альбумин-интерлейкин-2» и «альбумин-интерферон- α 16» // ВЕСТНИК САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКОГО УНИВЕРСИТЕТА Сер. 3. 2009. Вып. 2 С.53-63
2. <http://www.uniprot.org/uniprot/P05015>
3. Цыганков М.А., Филатова Е.В., Падкина М. В. Совместная экспрессия генов интерферона-альфа16 человека и протеиндисульфидизомеразы в дрожжах *Pichia pastoris*. // Биотехнология. Взгляд в будущее. II Международная научная Интернет-конференция. Материалы конференции. 2013. С.390-392.
4. Roland Prielhofer., Michael Maurer., Joachim Klein4., Jana Wenger., Christoph Kiziak., Brigitte Gasser., Diethard Mattanovich. Induction without methanol: novel regulated promoters enable high-level expression in *Pichia pastoris*. // Microbial Cell Factories 2013, 12:5.
5. Thomas Vogl., Anton Glieder. Regulation of *Pichia pastoris* promoters and its consequences for protein production. // New Biotechnology. Volume 30. Number 4. May 2013.
6. Jungoh Ahn., Jiyeon Hong., Myongsoo Park., Hyeokweon Lee., Eungyo Lee., Chunsuk Kim., Joohwan Lee., Eui-sung Choi., Joon-ki Jung., Hongweon Lee. Phosphate-Responsive Promoter of a *Pichia pastoris* Sodium Phosphate Symporter. // Applied And Environmental Microbiology, June 2009, p. 3528-3534.

СОЗДАНИЕ НОВЫХ ПРЕПАРАТОВ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ И ПРОФИЛАКТИКИ УРОЛИТИАЗА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ БИОМЕДИЦИНСКОГО ПОТЕНЦИАЛА ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ

Чабан Н.Г., Степанов А.Е., Шварц А.Л., Рапопорт Л.М.

ФГБОУ ВПО «Московский государственный университет тонких химических технологий имени М.В.Ломоносова», ГБОУ ВПО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М.Сеченова»

Уникальный код статьи: 53243ebb53d2d

Поиск и всестороннее исследование свойств различных биологически активных соединений и фармакологических субстанций лежат в основе инновационных работ по созданию лекарственных препаратов различных терапевтических групп. При разработке новых фармацевтических композиций, фитопрепаратов и фитовитаминных комплексов для биомедицинских целей расширяется использование многочисленных культивируемых и дикорастущих лекарственных растений, которые составляют ценный источник уникальных природных биоматериалов. В частности, активно ведутся работы по конструированию и доклиническому изучению новых фитопрепаратов для применения в урологии при лечении и профилактике уролитиаза (мочекаменная болезнь) – часто встречающегося урологического заболевания, которое характеризуется образованием и локализацией камней (конкрементов) в отделах мочевыводящей системы. В настоящее время для удаления конкрементов при мочекаменной болезни применяют различные оперативные методы: прямое удаление камня хирургическим путём; малоинвазивные методы дистанционной ударно-волновой липотрипсии и эндохирургии.

После удаления камней, с учётом большой вероятности рецидива заболевания, диагноз болезни не снимается, поскольку нарушения обмена веществ в организме, вызвавшие камнеобразование, могут сохраняться, и пациент нуждается в консервативном профилактическом лечении. Для устранения послеоперационных осложнений осуществляется ряд терапевтических мероприятий. Необходимо отметить, что дистанционная липотрипсия приводит лишь к разрушению камня, но не удаляет полученные фрагменты, для

отхождения которых часто необходимо применение специальной лекарственной терапии. Таким образом, для профилактики и предупреждения рецидивов заболевания у пациента проводится длительная фармакотерапия, при которой, в частности, используются противовоспалительные, антибактериальные препараты, ангиопротекторы, антиагреганты, диуретики, препараты для удаления песочно-каменной массы после дистанционной литотрипсии, анальгетики, спазмолитики и др. Химические препараты практически всегда имеют противопоказания, обладают побочными действиями, часто болезненно переносятся пациентом, ограничены по срокам применения в ходе продолжительного курсового лечения.

Во многих случаях при лечении и профилактике мочекаменной болезни весьма эффективно и целесообразно применение экстрактов из лекарственных растений и фитопрепаратов, которые содержат большое число фармакологически активных компонентов; такие препараты оказывают совокупное лечебное действие; не вызывают осложнений и не имеют побочных эффектов, в противоположность синтетическим препаратам; хорошо переносятся пациентом при длительном курсовом применении; широкий выбор растений, обладающих различными видами действия, обеспечивает врачу большие возможности для подбора индивидуальных курсовых схем лечения. Эти факторы обусловили в последние годы возросший интерес к применению растений и фитопрепаратов для эффективной профилактики и лечения заболеваний мочеполовой системы. Отдельные лекарственные растения для этих целей применяются редко, обычно используют сборы различного состава. Как правило, входящие в состав фитопрепарата вещества обладают сочетанным антисептическим, противовоспалительным, антибактериальным действием, что крайне важно при хронических процессах в мочеполовой системе; снижают проницаемость капилляров в почках; проявляют спазмолитическую и диуретическую активность. Такой широкий спектр биологической активности фитопрепаратов обеспечивается за счёт одновременного присутствия в растениях разных фитохимических классов природных биологически активных соединений, среди которых: алкалоиды, стерины, спирты, терпены, флавоноиды, углеводы, гликозиды, горечи, феноловые кислоты, аскорбиновая кислота, розмариновая кислота, фруктовые кислоты, пектиновые кислоты, каротин, смолы, масла, эфирные масла, витамины, лактоны и кумарины, фитонциды, минеральные соли и др. При мочекаменной болезни камни по химическому составу представляют собой оксалаты, фосфаты, ураты, карбонаты; иногда встречаются

цистиновые, белковые, холестериновые камни. При медикаментозном литолизе камней следует учитывать их сложную структуру, в которой одновременно могут присутствовать конкременты разного химического состава.

В ходе наших исследований проводится доклиническое экспериментальное изучение фитопрепарата для профилактики и лечения мочекаменной болезни, который включает экстракты из двух, определённым образом подобранных сборов различных лекарственных растений и трав. Полученные предварительные результаты показывают, что предлагаемый фитопрепарат перспективен для эффективного литолиза оксалатных, уратно-оксалатных, фосфатно-оксалатных и фосфатных (кроме струвитных) мочевых камней; для получения препарата используется доступное отечественное лекарственное растительное сырьё. Многогранность и мягкость действия лекарственных растительных средств делает фитотерапию незаменимым эффективным компонентом комплексного лечения мочекаменной болезни. Использование фитопрепаратов наиболее целесообразно, когда необходимо длительное применение лекарственных средств, а применение химиотерапевтических средств недостаточно эффективно или нежелательно; также фитопрепараты дают положительные результаты при поддержании эффекта ранее проведенного оперативного лечения и повышают эффективность комплексного лечения.

Очевидно, что потенциальные возможности биомедицинского применения лекарственных растений в урологии до конца не исчерпаны и на этом направлении исследований в ближайшем будущем можно ожидать создания новых фитопрепаратов с высокой литолитической способностью и выраженным профилактическим действием.

КРАХМАЛСОДЕРЖАЩЕЕ СЫРЬЕ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ ПИЩЕВЫХ ИНГРЕДИЕНТОВ

Шарова Н.Ю.

ГНУ ВНИИПАКК Россельхозакадемии

Уникальный код статьи: 531f5a79a3e23

В пищевой биотехнологии все большее применение находит крахмалсодержащее сырье, которое позволяет максимально использовать потенциал микроорганизмов-продуцентов для получения широкого спектра ингредиентов. К ним, в частности, относятся: лимонная кислота (известный подкислитель и регулятор pH пищевой системы, антиоксидант и комплексообразователь), амилолитические ферменты (востребованы в качестве улучшителей для хлебопекарного производства, биокатализаторов гидролиза растительного сырья для пивоварения, крахмалопаточной промышленности), ингибиторы амилаз (функциональные пищевые добавки к продуктам антидиабетического направления). Однако на существующих производствах, как в России, так и за рубежом, в основном производят монопродукты, тогда как при создании условий для проявления пластичности ферментной системы различных продуцентов существует перспектива получать в одном технологическом процессе несколько целевых метаболитов и тем самым расширить ассортимент выпускаемой продукции на профильных предприятиях.

В ГНУ ВНИИПАКК Россельхозакадемии разработан ряд технологий с использованием в качестве сырья гидролизатов крахмала: «совмещенная» технология лимонной кислоты и амилаз [1]; технология ингибитора амилаз и технологии комплексных пищевых добавок на их основе [2-4]. Поскольку методология подготовки крахмалов к ферментации, системный подход к разработке составов питательных сред и режимов ферментации аналогичны для продуцентов (аспергиллы и стрептомицеты), а разработанные способы выделения и очистки целевых метаболитов также основаны на общих принципах (удаление балластных веществ методами баромембранной технологии и избирательной сорбции), то получение и лимонной кислоты, и ферментов, и ингибиторов с использованием производственных мощностей одного предприятия является возможным и экономически выгодным по следующим показателям:

- расходный коэффициент сырья (крахмала) для получения лимонной кислоты с показателями качества, соответствующими действующему ГОСТ 908-2004, в два раза меньше (1,3-1,4 т лимонной кислоты/т сырья) по сравнению с традиционной свекловичной мелассой;

- количество дополнительного продукта – комплексного ферментного препарата Глюкоамилонигрин со стандартной ферментативной активностью по характеристикам, отвечающего современным требованиям к ферментным препаратам как отечественного, так и зарубежного производства и конкурирующего с мультиэнзимными композициями, находится на уровне известных ферментных препаратов, а в пересчете на основной продукт составляет не менее 120 кг/(т лимонной кислоты); количество комплексной пищевой добавки Глюкоамилонигрин, кг/(т лимонной кислоты), в жидком виде - 120-300, в порошкообразном - 30-50;

- активность полученных препаратов ингибиторов, имеющих углеводную природу, (500-700 ИЕ/мг) и их количество находятся на уровне показателей технологических процессов получения субстанций ингибиторов для создания лекарственных форм при расходном коэффициенте крахмала 1:(2-3) [5]; выпуск функциональных пищевых добавок Люцентин и Виолацентин на основе выделенных ингибиторов, которые не изменяют органолептические свойства хлеба традиционных пшеничных и ржано-пшеничных сортов, и их реализация на пищевых предприятиях по выпуску диетических продуктов, в частности, хлебобулочных изделий антидиабетического направления, имеет социальный эффект;

- по сравнению с классической монотехнологией лимонной кислоты с использованием свекловичной мелассы и «цитратного» способа выделения разработанные технологии в перспективе обеспечат снижение экологической нагрузки на промышленный процесс и расширение ассортимента выпускаемой продукции профильного производства;

Таким образом, при использовании экологически чистого крахмалсодержащего сырья появляется возможность на одном предприятии с использованием продуцентов из различных таксономических групп наряду с основной выпускаемой продукцией производить ряд востребованных продуктов микробного синтеза и создавать на их основе новые пищевые ингредиенты и полифункциональные добавки (в том числе комплексные).

Литература

1. Кулёв Д.Х., Шарова Н.Ю. Биосинтез и выделение лимонной кислоты и амилолитических ферментов- М.: Делли принт, 2008. 128 с.
2. Пат. №2355755 РФ Штамм актиномицета *Streptomyces lucensis* - продуцент ингибитора гликозидаз / Шарова Н.Ю., Ходкевич О.А., Позднякова Т.А. Опубл. 20.05.09, Бюл. №14.
3. Пат. 2346042 РФ Штамм актиномицета *Streptomyces violaceus* - продуцент ингибитора гликозидаз / Шарова Н.Ю., Никифорова Т.А., Позднякова Т.А. Опубл. 10.02.2009, Бюл. 4.
4. Шарова Н.Ю., Ходкевич О.А. Выделение и свойства ингибитора гликозидаз псевдосахаридной природы// Вестник Российской академии сельскохозяйственных наук. 2009 №1 стр. 65-67.
5. Акулова Н.Ю., Селезнева А.А. Микробные ингибиторы α -гликозидаз псевдосахаридной природы // Прикладная биохимия и микробиология. 1995 т. 31 № 4 стр. 371-380.

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ L-ГОМОСЕРИНА В КУЛЬТУРАЛЬНЫХ ЖИДКОСТЯХ С ПОМОЩЬЮ ПЛАНАРНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

Шустикова Т.Е., Рябченко Л.Е., Антонова С.В., Пушков А.А., Тяглов Б.В.

ФГУП ГосНИИГенетики

Уникальный код статьи: 532432164aa6e

L-гомосерин (2-амино-4-гидроксипутановая кислота) – изомер и предшественник незаменимой аминокислоты L-треонина – получается с помощью микробиологического синтеза. L-гомосерин вводится в культуральную жидкость (КЖ) штамма-продуцента L-треонина как ростовой фактор, существенно влияющий на увеличение выхода целевого продукта.

КЖ штамма-продуцента гомосерина помимо последнего содержит также L-аминокислоты лизин, глутаминовую кислоту, глицин, аланин, валин, изолейцин и треонин.

С помощью планарной хроматографии было проведено разделение вышеуказанной смеси аминокислот. В качестве стационарной фазы использовали отечественные ВЭТСХ-пластинки «Сорбфил» (ЗАО НТЦ «Ленхром»). С помощью модели «ПРИЗМА» была сконструирована селективная четырехкомпонентная хроматографическая система (пропанол-2, ацетон, 25%-ный водный аммиак, вода), позволяющая осуществить разделение данных аминокислот. В качестве обнаруживающего компонента использовали раствор нингидрина. Количественное определение L-гомосерина и сопутствующих аминокислот культуральной жидкости изолировали на денситометре «Camag TLC-Scanner 3» («Camag», Швейцария). Погрешности среднего измерения не превышали 5,0% (n=3, P 0,95). Была проведена валидация разработанной методики.

КУЛЬТУРА ИЗОЛИРОВАННЫХ КЛЕТОК, ТКАНЕЙ И ОРГАНОВ *HEDYSARUM THEINUM* (FABACEAE) КАК ИСТОЧНИК БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ

Эрст А.А., Кузовкова А.А., Новикова Т.И., Железниченко Т.В., Банаев Е.В.

ФГБУН «Центральный сибирский ботанический сад СО РАН»,
ГНУ «Центральный ботанический сад НАН Беларуси»

Уникальный код статьи: 531ed9af1a847

Hedysarum theinum Krasnob. (копеечник чайный, красный корень) обладает уникальным фитохимическим составом, что обуславливает широкий спектр его лекарственного действия: противовоспалительного, бактерицидного, спазмолитического, иммунопротекторного, антиоксидантного и др. В результате практики массовой заготовки сырья копеечник чайный находится на грани исчезновения, а чрезвычайно медленный рост делает этот вид особенно уязвимым. Ценные целебные свойства копеечника, ограниченность распространения и биологические особенности являются предпосылками для разработки биотехнологических приемов его культивирования.

Целью настоящего исследования является разработка технологии размножения *in vitro* *Hedysarum theinum*, получение каллусной культуры, культуры «*hairy roots*» и их первичная оценка по содержанию вторичных метаболитов.

Исходным материалом для введения в культуру *in vitro* послужили семена *H. theinum*. Каллусную культуру получали из проростков, их делили на 2 типа эксплантов – побег и корень и культивировали двумя способами – правильное положение экспланта и перевернутое. Для получения каллусной культуры испытаны следующие варианты сред: МС+НУК 20 мкМ+БАП 1 мкМ; МС+2,4-Д 5 мкМ+БАП 1 мкМ; B₅ + НУК 20 мкМ+БАП 1 мкМ; B₅ +2,4-Д 5 мкМ+БАП 1 мкМ; B₅ +2,4-Д 10 мкМ; BDS+НУК 20 мкМ; BDS+БАП 20 мкМ. Каллусы культивировали в колбах в темноте при температуре 24±2°C с интервалом 28 дней.

Культуру «*hairy roots*» *H. theinum* получали с использованием почвенной бактерии *Agrobacterium rhizogenes* штамм 15834 Swiss. После 24-часовой инкубации эксплантов с агробактерией растительный материал промывали питательной средой МС и переносили на агаризованную среду того же состава, содержащую 500мг/л цефотаксима для элиминирования агробактерии. При достижении

чистоты культуры «hairy roots», экспланты переносили в жидкую питательную среду S и выращивали на качалке (90об./мин) в темноте при температуре $24 \pm 2^\circ\text{C}$.

В результате работы нами получены растения-ренеранты, каллусные культуры стеблевого и корневого происхождения и культура «hairy roots» копеечника чайного. Подобраны условия для массового размножения копеечника чайного. Оптимальной на этапе собственно размножения является среда МС, дополненная 5 мкМ БАП, глутатионом 200 мг/л, гидролизатом казеина 200 мг/л; на этапе укоренения - $\frac{1}{2}$ МС, дополненная 7мкМ НУК. Показано, что состав питательной среды, тип экспланта и его положение на питательной среде играют важную роль в процессе каллусообразования. Оптимальные условия для каллусообразования - перевернутое положение экспланта, среда $B_5 + 2,4\text{-Д } 10 \text{ мкМ}$ или $B_5 + \text{НУК } 10 \text{ мкМ}$. Индекс роста по сухой биомассе для эксплантов стеблевого происхождения составил 4,8, для эксплантов корневого происхождения - 2,7. Получена культура «hairy roots» *H. theinum*. Проведенный биохимический анализ вторичных метаболитов свидетельствует о возможности использования культуры клеток, тканей и органов *H. theinum* как потенциального источника лекарственного сырья и о перспективности дальнейших исследований с целью получения линий копеечника чайного с высоким уровнем биосинтеза БАВ в культуре *in vitro*.

Работа выполнена при финансовой поддержке:
«Совместного конкурса проектов фундаментальных исследований НАН Беларуси и СО РАН», интеграционных проектов № 20 и № 12-С-4-1028 и проекта № 30.3 Программы РАН «Живая природа: современное состояние и проблемы развития».

НЕАКТИВНАЯ АРБУСКУЛЯРНАЯ МИКОРИЗА У МУТАНТА Ш-1-18 ОБЛИГАТНО МИКОТРОФНОЙ ЛЮЦЕРНЫ ХМЕЛЕВИДНОЙ (MEDICAGO LUPULINA L. VAR. VULGARIS KOCH)

Юрков А.П., Куренков А.А., Полтева О.В., Якоби Л.М.

ГНУ ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии Россельхозакадемии,
ФГБОУ ВПО «Российский государственный гидрометеорологический
университет»

Уникальный код статьи: 53303acb0d8a0

Известно, что одной из самых распространенных растительно-микробных систем (РМС) является арбускулярная микориза (АМ). Это симбиоз, формируемый большинством высших наземных растений с грибами отдела Glomeromycota. АМ-грибы оказывают полифункциональное действие на растение-хозяина. Они повышают их рост и развитие за счет усиления минерального питания, особенно фосфорного, за счет изменения гормонального статуса растения и за счет повышения иммунитета растений к патогенной корневой инфекции.

В результате взаимодействия АМ-грибы образуют различные симбиотические структуры в коре корня растения-хозяина, а именно арбускулы, везикулы и внутрикорневые гифы. Исследования развития симбиотических структур проводят с применением растительных мутантов, у которых блокированы различные стадии их формирования. У бобовых растений в результате исследований было показано, что многие мутанты с нарушениями в развитии ризобиального симбиоза являются и мутантами по развитию микоризного симбиоза [1-3]. Однако получить среди этих мутантов растения с нулевой, т.е. с неактивной АМ, или со сниженной симбиотической эффективностью АМ оказалось невозможным, поскольку данные мутанты проходили отбор на субстратах с низким уровнем азота, а не фосфора. Попытки выделить мутанты с низкой адаптацией к низкому уровню фосфора в почве потерпели неудачу. В связи с этим вопросы получения высокоэффективных РМС с применением АМ-грибов до сих пор остаются открытыми.

Наши исследования показали, что дикорастущие популяции обладают существенным полиморфизмом по симбиотической эффективности. Результаты позволили подобрать быстроотзывчивую на микоризацию линию МlS-1 люцерны хмелевидной (*Medicago lupulina* L.

var. *vulgaris* Koch, самоопылитель, диплоид с высокой семенной продуктивностью) в качестве исходной модельной линии для мутагенеза. Известными модельными растениями для изучения стадий формирования АМ являются: люцerneц японский (*Lotus japonicus* (Regel.) K. Larsen) и диплоидная люцерна слабоусечённая (*Medicago truncatula* Gaertn.), размер генома которых относительно невелик [4] и составляет 472 Мб [5] и 471-583 Мб [6], соответственно, а также горох посевной (*Pisum sativum* L.), геном которого довольно большой и составляет 3947-4397 Мб [7]. Размер генома *M. lupulina* (полностью ещё не секвенирована) сопоставим с размером *M. truncatula* и существенно меньше генома *P. sativum*. Линия М1S-1 является облигатно микотрофным растением в условиях низкого уровня фосфора в почве, нормально развиваясь при инокуляции АМ-грибом, но обладающая признаками карликовости (мелкая листовая пластинка, отсутствие кущения) без инокуляции. В связи с этим линия М1S-1 обладает сверхсильным откликом на микоризацию. Разница между вариантами с микоризацией и без достигает 30-кратной на поздних стадиях онтогенеза в условиях вегетационного опыта с низким содержанием доступного для питания растений фосфора в почве [8-9]. Таким образом, на основании выше изложенного люцерна хмелевидная может стать новым объектом для молекулярно-генетических исследований механизмов, контролирующих симбиотическую эффективность АМ.

Целью настоящего исследования было получение мутанта облигатно микотрофного растения с неактивной АМ для изучения механизмов симбиотической эффективности. С этой целью был проведен химический мутагенез исходной растительной линии этилметансульфонатом (ЭМС), была селектирована мутантная линия с неактивной микоризой и проведена оценка стабильности наследования в ряду 2-9 поколений с получением перспективных (жизнеспособных) линий. Для проверки того, является ли полученный мутант в том числе и мутантом по симбиотической эффективности бобово-ризобияльного симбиоза проведена серия экспериментов на способность мутанта и исходной линии к формированию клубеньков при инокуляции ризобияльными бактериями *Sinorhizobium meliloti* (штамм RCAM01775). В качестве микосимбионта взят высокоэффективный штамм АМ-гриба RCAM00320 *Glomus intraradices* из коллекции ГНУ ВНИИСХМ. Для получения мутанта с неактивной микоризой была разработана следующая схема мутагенеза. Сперва проростки после обработки высаживались на хорошо окультуренную почву для получения семян поколения М2, затем проростки М2 высаживались на селективный субстрат с низким уровнем

фосфора и инокулировались грибом. Затем отобраны растения, обладающие микоризой, но при этом имеющие сниженную симбиотическую эффективность или не обладающие симбиотической эффективностью. Условия проведения опытов описаны в [8]. Из 12 режимов ЭМС-обработки 4 оказались эффективными. В достаточном количестве были получены семена поколения M2. Выход мутантов был достаточно высок, составил до 4,5% (в зависимости от режима обработки), что на порядок выше, чем в исследованиях на горохе посевном, кормовых бобах (*Vicia faba*), люцерне слабоусечённой (*Medicago truncatula*) зарубежных и российских коллег [1-3].

В результате исследования, впервые получен мутант облигатно микотрофного растения с неактивной АМ (линия III-1-18), который не обладает автотрофным типом питания в условиях низкого уровня доступного для растений фосфора в почве вследствие того, что исходная линия M1S-1 является облигатно симбиотрофной в этих условиях. На линии III-1-18 показана стабильность наследования симбиотических признаков в ряду 2-9 поколений.

Проведено исследование температурной чувствительности мутанта с неактивной АМ, которое показало, что его ключевые параметры (сниженная микоризация и отсутствие симбиотической эффективности) стабильны при всех температурных режимах (+25°C, +30°C и +35°C). Так, симбиотическая эффективность у исходной линии была существенной в расчете по сухому весу надземных частей и корней при всех температурных режимах. В то же время мутант не обладал эффективностью ни на одном режиме, из чего следует полагать, что получен симбиотический мутант с неактивной микоризой при любой температуре. Показатели микоризации у мутанта были достоверно ниже при температурах +25°C и +30°C, чем у исходной линии, как по встречаемости микоризной инфекции - F, так и по обилию арбускул и везикул в корне - А и В, соответственно. В результате микроскопического анализа корней исходной и мутантной линий, выращенных при +25°C, было показано, что в корнях мутанта встречаются тонкокожие везикулы, тонкий единичный внекорневой мицелий (очень редко), аморфные арбускулы, которые встречаются при температуре +25°C и единственно какие встречаются при температурах +30°C и +35°C. Внутрикоровой мицелий в корнях мутанта при большей температуре более тонок и локализуется, главным образом, в непосредственной близости от центрального цилиндра корней мутанта. У исходной линии M1S-1 формируются толстокожие везикулы, способные в дальнейшем к формированию внутрикоровых спор, формируется

толстый обильный внекорневой мицелий (очень часто), способный полностью оплести корни растения-хозяина, образуются плотные полностью сформированные арбускулы и толстый (в сравнении с проводящей системой центрального цилиндра корня) межклеточный мицелий, распространяющийся во всей толще клеток коры корня растений.

Показано, что мутант с неактивной АМ способен к образованию розовых клубеньков при инокуляции бактериальным штаммом RCAM01775 *Sinorhizobium meliloti* из коллекции ГНУ ВНИИСХМ. Возможно, получен специфический мутант, у которого нарушены только гены, контролирующие эффективность АМ-симбиоза, но не затронуты гены, контролирующие эффективность ризобияльного симбиоза. Исследование морфологии мутанта в сравнении с исходной линией показали, что внутрикорневые гифы гриба в корнях мутанта, как и стенка везикул гриба более тонкие, морфотип арбускул мутанта – аморфные с тонкой несущей гифой и слабым ветвлением. Планируется продолжить исследования развития АМ у мутанта с применением световой, конфокальной и трансмиссионной электронной микроскопии.

Понимание механизмов симбиотической эффективности арбускулярной микоризы позволит селектировать новые РМС с участием грибов арбускулярной микоризы для применения последних в сельском хозяйстве и других сферах деятельности человека. Работа поддержана грантом Президента РФ МК-5964.2013.4.

Литература

1. Duc G., Trouvelot A., Gianinazzi-Pearson V., Gianinazzi S. First report of non-mycorrhizal plant mutants (Myc-) obtained in pea (*Pisum sativum* L.) and fababean (*Vicia faba* L.). // *Plant Sci.* – 1989. – V. 60. – P. 215-222.
2. Sagan M., Morandi D., Tarengi E., Duc G. Selection of nodulation and mycorrhizal mutants in the model plant *Medicago truncatula* (Gaertn.) after γ -ray mutagenesis. // *Plant Sci.* – 1995. – V. 111. – P. 63-71.
3. Borisov A.Y., Barmicheva E.M., Jacobi L.M., Tsyganov V.E., Voroshilova V.A., Tikhonovich I.A. Pea (*Pisum sativum* L.) mendelian genes controlling development of nitrogen-fixing nodules and arbuscular mycorrhiza. // *Czech J. Genet. Plant Breed.* 2000. V. 36. P. 106-110.
4. Цыганов В.Е., Ворошилова В.А., Розов С.М., Борисов А.Ю., Тихонович И.А. Новая серия симбиотических мутантов гороха, индуцированных на линии SGE. // *Экологическая генетика.* №1. 2012. С. 19-26.
5. Sato S, Nakamura Y, Kaneko T, Asamizu E, Kato T, Nakao M, Sasamoto S, Watanabe A, Ono A, Kawashima K, et al (2008) Genome structure of the

- legume, *Lotus japonicus*. *DNA Res* 15: 227-239.
6. Medicago Genome Sequence Consortium (2007) *Medicago truncatula* genome "Mt2.0" release whitepaper. README: prerelease of *Medicago truncatula* genome sequences. <http://medicago.org/genome/downloads/Mt2/> (August 10, 2007).
 7. Arumuganathan K., E.D.Earle. Nuclear DNA content of some important plant species. // *Plant Mol. Biol. Rep.* 1991. Vol. 9. P. 208-219.
 8. Юрков А.П., Якоби Л.М. Получение мутантов люцерны хмелевидной (*Medicago lupulina*) с изменениями развития арбускулярной микоризы. *Естественные и технические науки*. 2011. № 6(56). С. 127-133.
 9. Юрков А.П., Шишова М.Ф., Семенов Д.Г. Особенности развития люцерны хмелевидной с эндомикоризным грибом. Саарбрюккен, Германия: Изд-во LAP. 2010. 215 с.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕТОДА ВЫСЫХАЮЩЕЙ КАПЛИ ДЛЯ РАСПОЗНАВАНИЯ КАЧЕСТВА ВИН

Яхно Т.А., Марковский М.Г., Санин А.Г., Санина О.А., Яхно В.Г.

Институт прикладной физики РАН, Нижний Новгород, Россия,
Северо-Кавказский зональный научно-исследовательский институт
садоводства и виноградарства Российской академии
сельскохозяйственных наук, Краснодар, Россия

Уникальный код статьи: 5316ed3666d20

Проблема быстрого и простого выявления фальшивых вин является чрезвычайно актуальной не только в России, но и во всем мире [1]. Существующие способы обычно базируются на дорогостоящем оборудовании, и их реализация требует специальной подготовки персонала [2]. Ранее [3] мы сообщали о разработанном нами способе идентификации многокомпонентных жидкостей, основанном на регистрации динамики акустических параметров высыхающей капли. В данном сообщении мы приводим результаты практического испытания технологии на примере быстрой оценки качества винопродукции.

Высокая информативность метода в отношении состава тестируемых жидкостей (отклонения от состава эталона) обусловлена комплексом физико-химических параметров данных жидкостей, интегрально влияющих на динамику структуризации их высыхающих капель. Это – концентрация и состав растворимых сухих веществ, сахаров, органических кислот, pH, наличие непредусмотренных примесей.

Процесс высыхания капли сопровождается изменением ее физических характеристик, динамика которых отражается на акустических свойствах (акустомеханический импеданс, АМИ) образующихся в капле структур. Динамика АМИ отражается на экране монитора в режиме реального времени в виде кривой в координатах «АМИ – Время». Форма данной кривой является паспортной характеристикой жидкости.

Принятие решения о соответствии (несоответствии) жидкости своему эталону строится на количественном сравнении формы кривых АМИ по специальным алгоритмам и представлении результатов статистических различий на плоскости признаков ($M \pm 2\sigma$). В докладе приводятся данные экспериментов по определению качества сухих и полусухих белых и красных вин, проводимые параллельно методом высыхающей капли и с

помощью стандартизированной лабораторной экспертизы. На рис. 1 показано распределение десяти проб сухих красных вин на плоскости признаков.

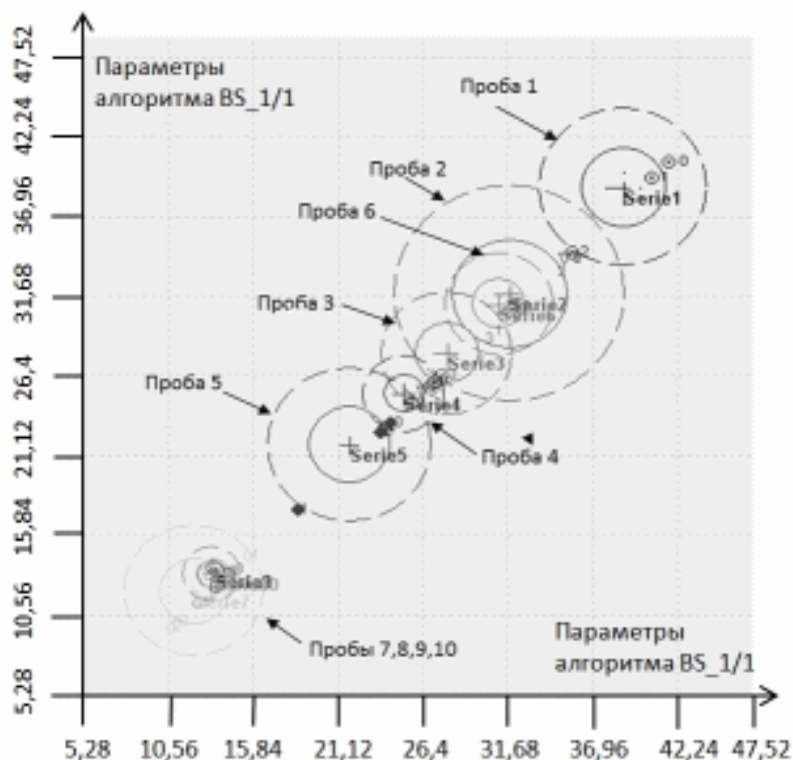


Рис. 1. Распределение проб сухих красных вин на плоскости признаков в координатах алгоритма BS_1/1 ($M \pm 2\sigma$). Пробы 1-6 сделаны в цехе микровиноделия (в скобках указан шифр источника винограда), пробы 7-10 взяты из торговой сети (в скобках указан шифр производителя): 1. Гранатовое (A1); 2. Каберне + Саперави (Ю1); 3. Каберне (Ю1); 4. Каберне+Саперави+Мерло (Ю1); 5. Пино-Фран (Ю1); 6. Саперави (Ю1); 7. Каберне (тетрапак) май (Д1); 8. Каберне (Д1); 9. Каберне (тетрапак) июнь (Д1); 10. Сухое красное (Г1).

Примечательно, что вина из торговой сети (пробы 7-10) достоверно отличаются от вин тех же марок, изготовленных в цехе микровиноделия (пробы 1-6), и не различаются между собой. По данным лабораторной проверки, в пробах 7-10 достоверно снижено содержание этанола, растворимых сухих веществ (экстракта) и восстанавливающих сахаров, по сравнению с пробами 1-6; эти две группы вин различаются также по

профилю органических кислот и величине титруемой кислотности. Полученные результаты позволяют полагать, что использованный нами методологический подход является перспективным для экспресс-оценки качества вин, поскольку сочетает в себе простоту и информативность. Для анализа используется капля объемом 3 мкл без пробоподготовки и дополнительных реактивов; время анализа практически равно времени высыхания капли (~15 мин).

При наличии эталона сравнение образцов можно проводить в режиме on-line. Другой вариант – использование эталонных баз данных, заранее собранных (при той же температуре и влажности) и хранящихся в памяти устройства. В перспективе возможна разработка удобного карманного инструмента для выявления фальшивой винной продукции. При этом функции сравнения с эталонными базами данных и принятие решений могут осуществляться на отдаленном сервере через Интернет на основе современных сетевых технологий.

Литература

1. <http://www.forbes.ru/stil-zhizni-column/eda-i-vino/83192-mozhno-li-pobedit-vinnye-falshivki>.
2. Некрасов В.В., Сурин Н.М., Гасанов Д.Р. Способ идентификации подлинности спиртосодержащих жидкостей. Патент RU 2150699 G 01 N 33/14 от 10.06.2000 г., бюл. № 16.
3. Т.А. Яхно, А.Г. Санин, С.V. Vacca, F. Falcione, О.А. Санина, В.В. Казаков, В.Г. Яхно. Новая технология исследования многокомпонентных жидкостей с использованием кварцевого резонатора. Теоретическое обоснование и приложения. // ЖТФ, 2009, 79,10, 22-29.

БИОПОЛИМЕРЫ В МЕДИЦИНСКОЙ ПРАКТИКЕ: СФЕРЫ И СПОСОБЫ ПРИМЕНЕНИЯ

Яценко Я.О.

Сибирский федеральный университет

Уникальный код статьи: 53287a9a9d75d

Современные медицина и биология достигли значительных успехов в развитии, однако до настоящего времени нерешенными остаются проблемы, связанные с улучшением качества медицинского воздействия, сокращением сроков лечения больных и др. Согласно предположениям ученых, решить данные проблемы возможно благодаря использованию особого биологического материала, который исключает риск их отторжения организмом и таким образом ускоряет восстановительные процессы.

В качестве такого материала выступает биополимер, обозначаемый как биопластотан. Ученые выделяют широкий спектр областей применения этого материала, в частности – в восстановительной хирургии и клеточной трансплантологии, изготовлении медицинского инструментария и вспомогательных средств (к ним относятся нетканые и одноразовые изделия, шовные и перевязочные материалы), фармакологии (контролируемые системы доставки лекарственных средств) и т.д. При этом наиболее перспективными являются разработки по использованию биополимера в качестве матриц для биоискусственных органов [1]. Возможности широкого использования биополимера обеспечиваются такими его свойствами, как биосовместимость и биоразрушаемость. Благодаря им организм человека не воспринимает вводимый препарат как инородное тело, биополимер внедряется и начинает активно выполнять свои функции.

В случае использования биопластотана в качестве шовного материала его нити рассасываются после того, как он выполнил свою скрепляющую функцию. Все это значительно упрощает проведение медицинских процедур и позволяет использовать щадящий метод в лечении.

После выделения перспективных областей применения биополимера возникает закономерный вопрос о технологиях изготовления и использования данного материала. Как отмечает профессор Массачусетского технологического института Энтони Сински, в одном

случае врачам требуются пленки, в другом – объемные матриксы, иногда макрочастицы, а кому-то потребуются распыление данного материала [3]. Исходя из возникающей проблемы, далее необходимо подобрать оптимальное решение и разработать методику производства материала.

В 2010 году на базе Института биофизики СО РАН г.Красноярска началось крупномасштабное исследование, целью которого стало получение новейшего биополимера и использование его в медицине. В результате исследований ученые выяснили, что биополимер имеет большую совместимость на уровне клеток, тканей и организмов, что позволяет его внедрять в организм пациента без опасений того, что организм не примет материал с последующим отторжением.

Для изучения и производства биополимера было приобретено новейшее оборудование. Таким образом стало возможным создавать системы для разнообразных лекарственных средств – пленки, таблетки, а также микрокапсулы и микросферы, которые можно имплантировать как подкожно, так и внутримышечно.

Лекарственные средства в виде гибких пленок и пористых нетканых матриксов мембран введены в использование для восполнения дефектов тканей и органов с последующим замещением биологическими структурами.

Ученые также выработали способ нагружения лекарственными средствами таблеток из биополимера. Благодаря биосовместимости, о которой мы писали выше, процесс растворения капсулы препарата в организме пациента происходит медленнее. Это позволяет лекарству дойти до очага воспаления в 100%-ом соотношении. Ученые называют данный способ медицинского воздействия наиболее перспективным, так как он значительно облегчает процессы выздоровления и реабилитации, сокращая их длительность.

В настоящее время учеными внедрено три опытных образца, полученных в результате научно-исследовательской работы по программе проекта. Это образцы полимерных изделий в виде матриксов нетканого полотна, сформированного ультратонкими волокнами, в качестве барьерных и ранозаживляющих средств, опытные образцы трубчатых эндопротезов из разрушаемых полимеров для реконструкции желчных протоков, образцы изделий для пластики костной ткани (реконструкция глазной орбиты). Место внедрения – Красноярский государственный медицинский университет им. проф. Войно-Ясенецкого, область внедрения – общая и челюстно-лицевая хирургия [2].

Опираясь на результаты приведенных исследований, в дальнейшем мы планируем экспериментальным путем изучить эффективность

использования биопластотана в составе раневых покрытий. Предполагаем, что последовательная разработка данного научного направления внесет значимый вклад в развитие современной медицины.

Литература

1. Волова Т. Г., Севастьянов В. И., Шишацкая Е. И. Полиоксиалканоаты – биоразрушаемые полимеры для медицины / под ред. В. И. Шумакова. – Красноярск: Платина, 2006. – С.4.
2. Точный адрес для таблетки [Электронный ресурс]. <http://gnkk.ru/articles/tochnyy-adres-dlya-tabletki.html> (Дата обращения 07.02.2014 г.).
3. Энтони Сински намерен изменить научную инфраструктуру в Красноярске [Электронный ресурс]. http://www.strf.ru/material.aspx?CatalogId=223&d_no=42097#.UyW6Oqh_vco (Дата обращения 10.10.2013 г.).

CYTOTOXIC EFFECTS OF ESSENTIAL OILS OF SOME PLANTS AND TRICHODERMA METABOLITES AGAINST CANCER CELL LINES IN VITRO

El-Shafei S.M.A.^{1,2}, Ivanov E.V.², Abd-El-Rahman A.A.¹, Fattakhova A.N.²,
Alimova F.K.²

¹Department of Agricultural chemistry, Faculty of Agriculture, Minia
University, El-Minia, ET-61517, Egypt,

²Department of Biochemistry, Institute of fundamental Medicine and Biology,
Kazan (Volga region) Federal University, Kazan, 420008, Republic of
Tatarstan, Russian Federation.,

Уникальный код статьи: 532се60651bb0

The plants that possess therapeutic properties and exerting beneficial pharmacological effects on the animal body are generally designated as medicinal plants [1]. Medicinal plants have been used as remedies for human diseases for centuries. The reason for using them as medicine lies in the fact that they contain chemical components of therapeutic value [2]. The medicinal value of plants lies in some chemical substances (usually secondary metabolites), that produce a definite physiological action on the human body. The most important of these bioactive compounds of plants are alkaloids, flavanoids, tannins and phenolics [3]. Therefore, this study was conducted to evaluate the anticancer activity of essential oils of *Nigella Sativa*, *Salvia officinalis*, *Piper nigrum*, *Zingiber officinale* as well as cultural filtrate of *Trichoderma harzianum*. The plant oils and *Trichoderma* cultural filtrate were tested for its inhibitory effect on *HeLa* and MCF-7 Cell Lines. Five concentrations (20, 40, 60, 80 and 100 µg/ml) of each plant oil and *Trichoderma* cultural filtrate were assessed after 24 hours of incubation. The percentage viability of the treated cells were carried out by using Trypan blue dye exclusion method. The results revealed that the five concentrations of both plant oils and *Trichoderma* cultural filtrate showed anti-tumor properties in a concentration-dependent manner on *HeLa* and MCF-7 Cell lines. The maximum cytotoxic effect of *Nigella Sativa* oil has been shown at a concentration 100 and 60 µg/ml on *Hela* and MCF-7 cells respectively. *Salvia officinalis* and *Zingiber officinale* recorded better values of percentage of growth inhibition at a concentration 100 µg/ml on both *Hela* and MCF-7 cells. While the highest inhibitory action of *Trichoderma* cultural filtrate and *Piper nigrum* oil on *Hela* and MCF-7 cells was recorded at a concentration 80

µg/ml. From the performed assay, essential oils of *Nigella Sativa*, *Salvia officinalis*, *Piper nigrum*, *Zingiber officinale* and cultural filtrate of *Trichoderma harzianum* showed anticancer activity on *HeLa* and MCF-7 cell line and that mean can be used it as anticancer agents.

References

1. Vishnu, P.P.; Radhika, K.; Siva, K.R.; Sri Ramchandra, M.; Prameela Devi, Y.; Srinivas, R.A. (2011). Evaluation of anti-cancer activity of *tridax procumbens* flower extracts on pc 3 cell lines An International Journal of Advances In Pharmaceutical Sciences. 2: 28-30
2. Nostro, A.; Germano, M.P.; D'Ángelo, V.; Cannatelli, M.A. (2000). Extraction methods and bioautography for evaluation of medicinal plant antimicrobial activity. Lett. Appl. Microbiol. 30: 379-384.
3. Edeoga, H.O.; Okwu, D.E.; Mbaebie, B.O. (2005). Phytochemical constituents of some Nigerian medicinal plants. Af.r J Biotechnol. 4: 685-688.

**СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЙ
АКТИВНОСТИ ЯИЧНОГО ЛИЗОЦИМА И ПРЕПАРАТОВ
ЛИЗОЦИМА ДВУСТВОРЧАТЫХ МОЛЛЮСКОВ UNIO PICTORUM И
ANODONTA CYGNEA**

Minakova V.V., Карнаухова И.В., Соловых Г.Н., Pryakhin A.V.,
Осинкина Т.В.

University of Dodoma (UDOM), Tanzania,
Оренбургский государственный педагогический университет, Россия,
Оренбургская государственная медицинская академия, Россия

Уникальный код статьи: 53275b0454d21

Одной из наиболее важных групп фармацевтических препаратов являются антибиотики — природные физиологически активные вещества с антимикробным действием.

Почему нужны новые антибактериальные препараты? Прежде всего это связано с появлением возбудителей новых инфекций. Экологические и технические катастрофы, освоение новых территорий приводит к активизации новых очагов инфекций, а миграция животных, птиц и насекомых вызывает перенос возбудителей инфекционных заболеваний человека в новые регионы. Наряду с новыми инфекциями, большую угрозу представляют и генетические трансформации известных возбудителей, что ведет к возникновению резистентности микроорганизмов к существующим антибиотикам. Другой причиной поиска новых антибактериальных препаратов является необходимость уменьшения их побочных эффектов [2,3].

В настоящее время расширяется спектр источников антимикробных препаратов. Следует отметить быстрое развитие нового поколения антибактериальных препаратов на основе пептидов. Основной механизм их действия связан с разрушением клеточной стенки, что приводит к ингибированию многих жизненно важных процессов [4]. В последние годы для антимикробной терапии всё шире применяются ферментные препараты, обладающие деструктивным действием и прежде всего это лизоцим.

Наиболее изучен лизоцим, полученный из яичного белка. Яичный лизоцим оказывает бактериолитическое действие на грамположительные бактерии; менее чувствительны к нему грамотрицательные микроорганизмы. Яичный лизоцим применяется для

лечения язвенного процесса роговицы глаза, конъюнктивитов, гайморитов, гнойных процессов, осложнений ожогов, отморожений, вызванных бактериями, чувствительными к препарату [5,8].

Исследованиями последних лет было показано существование лизоцимного фактора у различных видов двустворчатых моллюсков, исследованы его антибактериальная активность и физико-химическая природа [1]. Нами были получены препараты лизоцима двустворчатых моллюсков *U. pictorum* и *A. cygnea*. Препарат лизоцима моллюсков *U. pictorum* получали методом аффинной хроматографии на хитине экстрактов жаберной ткани и мантии моллюсков [6]. Препарат лизоцима моллюсков *A. cygnea* был получен методом ионообменной хроматографии с использованием катионита карбоксиметилцеллюлозы [7]. В элюатах фотометрически определяли количество белка и лизоцимную активность. Для дальнейших исследований отбирали наиболее активные фракции.

Целью нашей работы была сравнительная оценка спектра антибактериальной активности препаратов лизоцима пресноводных двустворчатых моллюсков *Unio pictorum* и *Anodonta cygnea* и коммерческого препарата яичного лизоцима фирмы «Ферейн».

Таблица 1. Список культур микроорганизмов, используемых в исследованиях

Название микроорганизма	Источник получения
<i>Arthrobacter globiformis</i> штамм № 11	ГИСК им. Л.А. Тарасевича, г. Москва
<i>Bacillus subtilis</i> ИЭГМ 869	Уральская профилированная коллекция алканотрофных микроорганизмов, ИЭГМ, г. Пермь
<i>Corynebacterium ammoniagenes</i> ИЭГМ 1862	Уральская профилированная коллекция алканотрофных микроорганизмов, ИЭГМ, г. Пермь
<i>Enterobacter cloacae</i> штамм № 17	ГИСК им. Л.А. Тарасевича, г. Москва
<i>Escherichia coli</i> - M-17	НПО «БИОМЕД», г. Пермь
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (клинический штамм)	Лаборатория микробной экологии МКБ № 2, г. Оренбург
<i>Mikrococcus lysodeikticus</i> штамм № 2665	ГИСК им. Л.А. Тарасевича, г. Москва
<i>Proteus mirabilis</i> (клинический штамм)	Лаборатория микробной экологии МКБ № 2, г. Оренбург
<i>Proteus vulgaris</i> (клинический штамм)	Лаборатория микробной экологии МКБ № 2, г. Оренбург
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (клинический штамм)	Лаборатория микробной экологии МКБ № 2, г. Оренбург
<i>Salmonella enteritidis</i> (клинический штамм)	Лаборатория микробной экологии МКБ № 2, г. Оренбург
<i>Shigella sonnei</i> (клинический штамм)	Лаборатория микробной экологии МКБ № 2, г. Оренбург
<i>Staphylococcus epidermidis</i> штамм № 33	ГИСК им. Л.А. Тарасевича, г. Москва

Для изучения спектра антибактериальной активности препаратов

лизоцима моллюсков *U. pictorum* и *A. cygnea* были взяты группы микроорганизмов, представленных в таблице (табл.1).

Антимикробную активность взятых препаратов лизоцима тестировали методом серийных разведений в жидкой питательной среде (МПБ) в одноразовых стерильных планшетах для иммунологических реакций [9]. В экспериментах были использованы такие образцы препаратов лизоцима моллюсков, содержание фермента в которых приводило к бактериолитическому действию в отношении индикаторной культуры микрококка, эквивалентному эффекту препарата яичного лизоцима фирмы «Ферейн», содержащего белок в концентрации 1мкг/мл. Опыты проводили в тройной повторности. Результаты проведенных исследований представлены в табл. 2.

Таблица 2. Сравнительная характеристика антибактериальной активности препаратов яичного лизоцима, лизоцима моллюсков *U. pictorum* и *A. cygnea*

Тестовая культура	Яичный лизоцим	Лизоцим моллюска <i>U. pictorum</i>	Лизоцим моллюска <i>A. cygnea</i>
Грамположительные микроорганизмы	Действующее разведение		
<i>Mikrococcus lysodeikticus</i> № 2665	1/2 - 1/256	1/2 - 1/128	1/2 - 1/128
<i>Staphylococcus epidermidis</i> № 33	1/2 - 1/256	1/2 - 1/32	1/2 - 1/64
<i>Corynebacterium ammoniagenes</i> ИЭГМ 1862	1/2 - 1/4	1/2 - 1/32	1/2 - 1/32
<i>Bacillus subtilis</i> ИЭГМ 869	1/2 - 1/256	1/2 - 1/32	1/2 - 1/32
Грамотрицательные микроорганизмы	Действующее разведение		
<i>Enterobacter cloacae</i> № 17	-	1/2 - 1/4	1/2 - 1/16
<i>Proteus vulgaris</i>	-	1/2 - 1/4	1/2 - 1/16
<i>Proteus mirabilis</i>	-	1/2	1/2 - 1/8
<i>Salmonella enteritidis</i>	-	1/2	1/2
<i>Escherichia coli</i> M-17	1/2	1/2 - 1/8	1/2 - 1/4
<i>Shigella sonnei</i>	-	1/2 - 1/8	1/2 - 1/8
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	1/2 - 1/4	1/2
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	1/2	1/2 - 1/16

В жидкой питательной среде (МПБ) действие препаратов лизоцима моллюсков *U. pictorum* и *A. cygnea* в отношении *M. lysodeikticus* было сходно с действием яичного лизоцима, который подавлял рост микроорганизмов в разведении 1/256.

В отношении *S. epidermidis* препараты лизоцима моллюсков

оказались менее активны, чем яичный лизоцим. Так, рост микробов задерживался под влиянием препарата яичного лизоцима в разведении 1/128, в то время как препарат лизоцима моллюсков *A. cygnea* был активен в разведении 1/64, а препарат лизоцима моллюсков *U. pictorum* – в разведении 1/32.

В отношении условно-патогенной культуры *C. ammoniagenes* препараты лизоцима моллюсков *U. pictorum* и *A. cygnea* оказались активнее яичного лизоцима в 2 раза. Оба препарата подавляли рост культуры в разведении 1/32, в то время как яичный лизоцим проявлял активность в разведении 1/4.

Изучение антибактериального действия лизоцимов моллюсков в отношении *B. subtilis* показало, что данные препараты менее активны в отношении этой условно-патогенной культуры, чем яичный лизоцим. Так, рост микробов задерживался под влиянием препарата яичного лизоцима в разведении 1/256, в то время как препараты лизоцима моллюсков *A. cygnea* и *U. pictorum* были активны в разведении 1/32.

Интересным оказался тот факт, что исследуемые препараты были активны в отношении всех взятых грамотрицательных культур, но их активность была различной, причем всегда выше активности яичного лизоцима.

Так, препараты лизоцима моллюсков проявляли активность в разведении 1/2 на культуру *S. enteritidis*, в соответствующем разведении препарат лизоцима моллюсков *U. pictorum* действовал на культуры *Ps. aeruginosa*, *P. mirabilis*, а препарат лизоцима моллюсков *A. cygnea* – на *K. pneumoniae*. В разведении 1/4 препарат лизоцима моллюсков *U. pictorum* подавлял рост культур *E. cloacae* № 17, *K. pneumoniae*, *P. vulgaris*, а препарат лизоцима моллюсков *A. cygnea* в том же разведении был активен в отношении *E. coli*. Исследуемые препараты моллюсков в разведении 1/8 подавляли рост культуры *Sh. sonnei*, препарат лизоцима моллюсков *U. pictorum* подавлял рост *E. coli*, а препарат лизоцима моллюсков *A. cygnea* – рост культуры *P. mirabilis*. В разведении 1/16 препарат лизоцима моллюсков *A. Cygnea* был активен в отношении культур *E. cloacae* № 17, *P. vulgaris*, *Ps. aeruginosa*.

Яичный лизоцим проявлял активность только в отношении *E. coli* в разведении 1/2. В отношении культур *E. cloacae* № 17, *P. vulgaris*, *P. mirabilis*, *S. enteritidis*, *Sh. sonnei*, *K. pneumoniae*, *Ps. aeruginosa* яичный лизоцим не был активен.

Таким образом, препараты лизоцима моллюсков *U. pictorum* и *A. cygnea* оказались в 4 – 16 раз активнее в отношении микроорганизмов семейства *Enterobacteriaceae*, чем яичный лизоцим, а лизоцим моллюсков

A. cygnea в 2 – 3 раза активнее лизоцима моллюсков *U. pictorum* при действии на те же культуры микроорганизмов.

В ходе эксперимента было показано, что:

- лизоцимы моллюсков *A. cygnea* и *U. pictorum* проявляют антибактериальную активность в отношении широкого спектра микроорганизмов;

- выявлены различия в антимикробной активности яичного лизоцима и препаратов лизоцима моллюсков *A. cygnea* и *U. pictorum*. Лизоцимы данных моллюсков оказались активнее яичного лизоцима в 2 – 8 раз в отношении грамотрицательных микроорганизмов.

Литература

1. Bachali S., Jager M., Hassanin A., Schoentgen F., Jolles P., Fiala-Medioni A. Phylogenetic Analysis of Invertebrate Lysozymes and the Evolution of Lysozyme Function // Molecular Evolution. 2002. №54. С. 652-664.
2. Дзержинская И. С. Методы выделения, исследования и определения антибиотической активности микроорганизмов, обладающих антагонистическими свойствами /И.С. Дзержинская. – Астрахань.: АГТУ, 2005. – 76 с.
3. Дудник Ю.В. Перспективы создания препаратов, активных в отношении устойчивых форм бактерий /Ю.В. Дудник //Антибиотики и химиотерапия. – 1999, №12. – С. 15-18.
4. Егоров Н.С. Основы учения об антибиотиках /Н.С. Егоров. – М.: Наука, 2004. – 528 с.
5. Кокряков В.Н. Биология антибиотиков животного происхождения /В.Н. Кокряков. – СПб.: Наука, 1999. – 162 с.
6. Коробов В.П., Лемкина Л.М., Карнаухова И.В., Полудова Т.В., Соловых Г.Н., Павлова М.М. Лизоцим двустворчатого моллюска *Unio pictorum* // Доклады академии наук, 2003, т. 391, №1. – С. 120-122
7. Коробов В.П., Соловых Г.Н., Лемкина Л.М., Карнаухова И.В., Минакова В.В. Исследование антибактериальной активности лизоцима двустворчатого моллюска *Anodonta cygnea* // Биология внутренних вод. Приложение к журналу. – Москва: Из-во «Наука», 2008. – С. 12-16.
8. Ньюмейер П. Натуральные антибиотики. Защита организма без побочных эффектов /П. Ньюмейер. – М.: Мир книги, 2008. – 160 с.
9. Сидоренко С.В. Перспективы в области создания препаратов для лечения инфекций, вызываемых грамположительными микроорганизмами /С.В. Сидоренко //Антибиотики и химиотерапия. – 2000. № 10.- С.3-4.

THE ANALYSIS OF SWEET SORGHUM JUICE MICROFLORA

Ustymchuk Y.P., Korolenko A.V., Karputina D.D., Teterina S.N.

Kyiv National University of Food Technology

Уникальный код статьи: 532b1901efd07

Introduction

Climate changes in Ukraine are largely similar to the dynamics of global climate changes: under such circumstances an amount of adverse weather conditions increases, particularly of those related to high temperature indications. A frequency of droughts on the Ukrainian territory in general increases, too. Droughts are generally common for the Ukrainian climate, but they have become more frequent in recent years, covering every 10-12 years to 50-70% of the country [1]. There is a tendency of their expansion to the regions that are still considered areas of sufficient moisture (the northern and western regions), which leads to a reduction in crops yield, and therefore in the raw materials for many industries. This situation requires increasing the number of drought-resistant crops cultivated.

A promising raw material for sugar-containing food products and various types of biofuels is sugar sorghum, which gives high and stable yields of grain and green mass even in harsh climates. It is important that sorghum is ranked first among the crops in the world for its drought and salt resistance.

Sugar sorghum is an alternative raw material for food syrup because its stalk juice contains 14...20% carbohydrates, and amino acids, macro- and micronutrients as well. The syrup is widely used in the world food industry as a raw material for alcoholic and non-alcoholic drinks that can be produced using the juice only or with the addition of other fruit juices (eg. squash), fruit and protein concentrates [2].

However, the production of any food products poses a question of ensuring their quality and safety. One of the most important markers of product safety is a congruence of its microbiological parameters.

The purpose of present study was to determine the microbiological parameters of sugar sorghum juice (cultivar "Nectarial"), which is cultivated in Ukraine and can be offered as original material for the production of alcoholic and non-alcoholic beverages.

Materials and methods

The direct morphological analysis of microorganisms extracted from the sugar sorghum juice was carried out by microscopy of smears stained in

methylen blue for better contrast, and smears stained by Burry-Gins method for capsules identification.

The indirect morphological analysis was carried out by using method of Koch. The following media were used: meat-peptone agar (total microbial count determination), Sabouraud medium (fungi and yeast isolation), MRS medium (lactic acid bacteria detection), Kessler and Endo media (coliform bacteria detection).

Analyzed samples of raw sorghum juice were obtained by pressing a pre-granulated stalks of sugar sorghum crops harvested in different weather conditions and derived by the traditional mashing method. We also analyzed rinses and swabs from technological equipment, made before washing of the press, after its washing with tap water and after washing with antimicrobial agent based on natural β -hop acids "Betastab".

Results

After analyzing the morphological and cultural characteristics of cultures isolated from sugar sorghum juice of different harvests and conducting quantitative counting of colony forming units (CFU) per Petri dish, a significant difference was found in both qualitative and quantitative composition of microflora in samples. The content of microorganisms in samples of raw juice was from $3 \cdot 10^5$ CFU to $2,5 \cdot 10^6$. Such difference can be explained by the diversity of weather conditions during crops cultivation (temperature, presence of fall-out), methods and times of harvesting, plants storage duration and conditions between harvesting and recycling. Thus, among cultures, in varying amounts, were found bacteria of genera *Bacillus* and *Enterobacter*, and yeasts of genera *Rhodotorula* and *Saccharomyces*. Among the dominant microflora were found lactic acid producing bacteria of genera *Lactobacillus*, *Lactococcus* and *Streptococcus*, and slime-producing bacteria of genus *Leuconostoc*.

A proper sanitary and hygienic preparation plays a significant role in terms of producing safe and high-quality food. Thus, it is actual to conduct microbiological analysis concerning effectiveness of disinfectant based on natural β -hop acids for sanitary preparation of processing equipment before pressing juice from the sugar sorghum stalks.

Results of conducted assay of sugar sorghum juice and equipment rinses identified a large number of aerobic bacteria and yeast, the source of which could be plants' own microflora, soil and water. In particular, the analysis of initial rinses of the press showed that the surface contained $2,1 \cdot 10^3$ CFU/cm², after washing with tap water the number of microorganisms was reduced ($2,6 \cdot 10^2$ CFU/cm²) and after washing with working solution of antimicrobial agent there remained $1,6 \cdot 10^2$ CFU/cm². Accordingly, the

juices produced on this equipment had the following microbiological parameters: before washing the press – $7.4 \cdot 10^5$ CFU/cm³, after washing the press – $4.2 \cdot 10^5$ CFU/cm³ and after antimicrobial treatment – $2.3 \cdot 10^5$ CFU/cm³.

Research results demonstrate the effectiveness of the use of antimicrobial agent "Betastab" in reducing microbial content on equipment surfaces and also confirm the impact of the presence of microbial contamination on press working surfaces on the microbial content in resulting juice.

The refore it can be concluded that preliminary preparation of the equipment using antimicrobial agents is needed before producing sorghum stalks juice, as existing surface microflora conduces microbial contamination of it and can negatively affect further juice processing.

References

1. О. Фурдичко. Як оминуті бурі та посухи і подолати голод на планеті. – Віче. - № 1. – 2012. – С.15-17.
2. Datta Mazumdar, S and Poshadri, A and Srinivasa Rao, P and Ravinder Reddy, C. H. and Reddy. Innovative use of Sweet sorghum juice in the beverage // International Food Research Journal. – 2012. – V. 19. – № 4. – P. 1361-1366.

Митькина В.П., Синельников И.Г., Аксенов А.С., Чухчин Д.Г., Новожилов	4
Е.В. КАТАЛИТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА КСИЛАНОЛИТИЧЕСКИХ ФЕРМЕНТНЫХ ПРЕПАРАТОВ И АНАЛИЗ ИХ ФРАКЦИЙ	
Мишин А.М. МЕТОД АННИГИЛЯЦИИ НЕГАТИВНОГО БИОПОЛЯ	9
Момот Т.В., Кушнерова Н.Ф. ОСИ СОЦВЕТИЙ И ОТЖИМ ЯГОД ПОСЛЕ	14
ОТДЕЛЕНИЯ СОКА - ПЕРСПЕКТИВНЫЕ ИСТОЧНИКИ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ	
Морозов Н.В., Морозов В.Н., Ганиев И.М. РЕСУРСОСБЕРЕГАЮЩАЯ	17
БИОТЕХНОЛОГИЯ ГЛУБОКОЙБИОДЕСТРУКЦИИ СМАЗОЧНЫХ МАСЕЛ В СТОЧНЫХ ВОДАХ ПРЕДПРИЯТИЙ И СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ОБЪЕКТОВ	
Мысаков Д.С., Чугунова О.В. ПРИМЕНЕНИЕ ПИЩЕВЫХ ЗАГУСТИТЕЛЕЙ В	20
ПРОИЗВОДСТВЕ ПРОДУКТОВ ПИТАНИЯ	
Нугманова А.И., Галкина Л.А., Багаева Т.В. ГИДРОЛИТИЧЕСКИЕ	25
ФЕРМЕНТЫ ИВАН-ЧАЯ (CHAMERION ANGUSTIFOLIUM)	
Нго З.К., Куркина Ю.Н. ЭЛЕМЕНТНЫЙ СОСТАВ СЕМЯН ОВОЩНЫХ	28
БОБОВ СОРТА АКВАДУЛ	
Нгуен Т.Х., Куркина Ю.Н. ГРИБЫ ULOCLADIUM BOTRYTIS PREUSS. В	30
КУЛЬТУРЕ	
Павленко К.С., Куркин В.А., Зайцева Е.Н., Дубищев А.В. НАСТОЙ	32
РЫЖИКА ОЗИМОГО КАК ПЕРСПЕКТИВНЫЙ ФИТОДИУРЕТИК	
Павлова Е.С., Павлов Н.Г. ЛИШАЙНИКИ РОДА ЦЕТРАРИИ (CETRARIA) И	35
КЛАДОНИИ (CLADONIA) В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ИССЛЕДОВАНИИ	
Пищик В.Н., Воробьев Н.И., Моисеев К.Г., Свиридова О.В., Сурин В.Г.	42
ВЛИЯНИЕ ИНТРОДУЦИРОВАННЫХ БАКТЕРИЙ И АЗОТНЫХ УДОБРЕНИЙ НА РАСТИТЕЛЬНО-МИКРОБНУЮ СИСТЕМУ	
Пономарева Е.И., Алехина Н.Н., Бакаева И.А. ПОВЫШЕНИЕ	46
МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЙ ЧИСТОТЫ СПОНТАННОЙ ЗАКВАСКИ	
Попов П.Л. ОБ УСЛОВИЯХ ПЕРСПЕКТИВНОСТИ ВИДОВ РАСТЕНИЙ НА	48
ОБНАРУЖЕНИЕ ИЛИ ДАЛЬНЕЙШЕЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОТИВОВИРУСНОЙ АКТИВНОСТИ	
Попов П.Л. ОБ УСЛОВИЯХ ПЕРСПЕКТИВНОСТИ ВИДОВ РАСТЕНИЙ НА	56
ОБНАРУЖЕНИЕ ИЛИ ДАЛЬНЕЙШЕЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОТИВОВИРУСНОЙ АКТИВНОСТИ	
Пучкова Л.И., Афонина В.А. МЕТАБОЛИТЫ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ШТАММОВ,	57
ПЕРСПЕКТИВНЫЕ В КАЧЕСТВЕ ЭФФЕКТИВНЫХ СРЕДСТВ ПРОФИЛАКТИКИ ВИРУСА ПТИЧЬЕГО ГРИППА.	
Риплбергер Е.И., Боме Н.А. ОСОБЕННОСТИ РАЗВИТИЯ ОСНОВНЫХ	61

ГРИБНЫХ БОЛЕЗНЕЙ В РАЗЛИЧНЫЕ ВЕГЕТАЦИОННЫЕ ПЕРИОДЫ НА РАСТЕНИЯХ ИСХОДНЫХ И ГИБРИДНЫХ ФОРМ МЯГКОЙ ЯРОВОЙ ПШЕНИЦЫ (TRITICUM AESTIVUM L.)	
Рогов И.А., Волкова И.М., Иванов Ю.А., Петров Е.Б., Толоконников Г.К.,	72
Черноиванов В.И. ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ СТЕБЕЛЬНЫХ КЛЕТОК СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ В АПК	
Розалёнок Т.А. КЛАСТЕРНОЕ СЕРЕБРО КАК БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНОЕ	80
ВЕЩЕСТВО	
Романова Е.М., Игнаткин Д.С., Мухитова М.Э., Новикова К.О., Маланина	82
В.С. ПОВЫШЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ВЕРМИКУЛЬТУРЫ EISENIA FETIDA (SAVIGNY, 1826) В УСЛОВИЯХ СИМБИОНТНОГО СООБЩЕСТВА	
Савицкая А.Г., Литовка Ю.А., Березовский М.В, Замай А.С, Чечик А.	87
СЕЛЕКЦИЯ АПТАМЕРОВ К КЛЕТКАМ ГРИБА FUSARIUM OXYSPORUM	
Сазыкина К.И., Волков А.А., Староверов С.А., Козлов С.В. РАЗРАБОТКА	90
КОМБИНИРОВАННОГО ЛЕКАРСТВЕННОГО ПРЕПАРАТА НА ОСНОВЕ ДОКСИЦИКЛИНА И ИЗУЧЕНИЕ ЕГО ТЕРАПЕВТИЧЕСКИХ СВОЙСТВ	
Самофалова Л.А., Сафронова О.В., Мамаев А.С., Белова О.Е., Лихонина Е.А.	93
КОМПЛЕКСНОЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ СЕМЯН РАПСА ДЛЯ РЕШЕНИЯ НАРОДНОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЗАДАЧ. ПОИСКОВЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ.	
Сарычев Г.А., Сумина А.М., Буданова У.А., Себякин Ю.Л. РАЗРАБОТКА	96
КАТИОННЫХ ЛИПИДОВ С РАЗРЫВАЮЩИМСЯ ЛИНКЕРОМ НА ОСНОВЕ L-ЛИЗИНА И ЦИСТАМИНА	
Светлакова Е.Д., Васильев Н.А. ВЛИЯНИЕ АССОЦИАЦИИ	97
МИКРООРГАНИЗМОВ МОЛОЧНОГО ГРИБА НА ОРГАНИЗМ МОРСКИХ СВИНОК	
Свиридова О.В., Воробьев Н.И., Попов А.А. ПРОЛОНГИРОВАННОЕ	101
ДЕЙСТВИЕ ГУМИФИКАЦИИ СОЛОМЫ МИКРООРГАНИЗМАМИ	
БИОПРЕПАРАТА БАРКОН НА АДАПТАЦИОННЫЕ СВОЙСТВА РАСТЕНИЙ ЯЧМЕНЯ	
Сивков Ю.В. БИОЭНЕРГЕТИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ	106
РЕКУЛЬТИВАЦИИ ТОРФОВЫРАБОТОК	
Сидорова Н.А., Савушкин А.И. ВЛИЯНИЕ УСЛОВИЙ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ	108
НА АКТИВНОСТЬ СИНТЕЗА АМИНОКИСЛОТ ПРОТОТРОФНЫМИ ШТАММАМИ ESCHERICHIA COLI	
Сумина А.М., Себякин Ю.Л. КАТИОННЫЕ БИСАМФИФИЛЫ КАК	111
ПЕРСПЕКТИВНЫЙ КЛАСС БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ	
Тарасов В.И. ВНЕДРЕНИЕ АГРОБИОТЕХНОЛОГИЙ КАК ЭФФЕКТИВНЫЙ	112

ПУТЬ УТРОЕНИЯ ВВП В АГРАРНОЙ СФЕРЕ РОССИЙСКОГО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА	
Тарасова Е.В., Мустафина Э.Ф. ПЕРСПЕКТИВЫ РАСПРОСТРАНЕНИЯ	116
БИОТЕХНОЛОГИЙ В АГРАРНОЙ СФЕРЕ ЕДИНОГО ЭКОНОМИЧЕСКОГО ПРОСТРАНСТВА	
Уваров М.Н., Тучков И.В., Киреев М.Н. ОЦЕНКА ВОЗМОЖНОСТИ	120
ПРЕПАРАТИВНОГО ПОЛУЧЕНИЯ РЕКОМБИНАНТНОГО ГЛИКОПРОТЕИДА ВИРУСА БЕШЕНСТВА	
Ульянов В.Ю., Определенцева С.В., Заярский Д.А., Милушева Л.Н.,	122
Нечаева О.В., Тихомирова Е.И. КИНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПЛЕНКООБРАЗОВАНИЯ ТЕСТОВЫМИ И КЛИНИЧЕСКИМИ ШТАММАМИ PSEUDOMONAS AERUGINOSA	
Фолманис Г.Э. БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫЕ КОЛЛОИДНЫЕ РАСТВОРЫ	125
СЕЛЕНА	
Фомина А.А., Коннова С.А., Тихомирова Е.И. ППОЛИСАХАРИДЫ	130
РОТАМОGETON PERFOLIATUS L. КАК ПЕРСПЕКТИВНЫЕ ИММУНОМОДУЛЯТОРЫ	
Цыганков М.А., Бовин А.Д., Падкина М.В. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПРОМОТОРА	133
RN089 ДЛЯ ЭКСПРЕССИИ ГЕНА ИНТЕРФЕРОНА-АЛЬФА16 ЧЕЛОВЕКА В ДРОЖЖАХ PICHIA PASTORIS	
Чабан Н.Г., Степанов А.Е., Шварц А.Л., Рапопорт Л.М. СОЗДАНИЕ НОВЫХ	137
ПРЕПАРАТОВ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ И ПРОФИЛАКТИКИ УРОЛИТИАЗА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ БИОМЕДИЦИНСКОГО ПОТЕНЦИАЛА ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ	
Шарова Н.Ю. КРАХМАЛСОДЕРЖАЩЕЕ СЫРЬЕ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ	140
ПИЩЕВЫХ ИНГРЕДИЕНТОВ	
Шустикова Т.Е., Рябченко Л.Е., Антонова С.В., Пушков А.А., Тяглов Б.В.	143
КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ L-ГОМОСЕРИНА В КУЛЬТУРАЛЬНЫХ ЖИДКОСТЯХ С ПОМОЩЬЮ ПЛАНАРНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ	
Эрст А.А., Кузовкова А.А., Новикова Т.И., Железниченко Т.В., Банаев Е.В.	144
КУЛЬТУРА ИЗОЛИРОВАННЫХ КЛЕТОК, ТКАНЕЙ И ОРГАНОВ NEDYSARUM THEINUM (FABACEAE) КАК ИСТОЧНИК БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ	
Юрков А.П., Куренков А.А., Полтева О.В., Якоби Л.М. НЕАКТИВНАЯ	146
АРБУСКУЛЯРНАЯ МИКОРИЗА У МУТАНТА III-1-18 ОБЛИГАТНО МИКОТРОФНОЙ ЛЮЦЕРНЫ ХМЕЛЕВИДНОЙ (MEDICAGO LUPULINA L. VAR. VULGARIS KOCH)	
Яхно Т.А., Марковский М.Г., Санин А.Г., Санина О.А., Яхно В.Г.	151
ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕТОДА ВЫСЫХАЮЩЕЙ КАПЛИ ДЛЯ	

РАСПОЗНАВАНИЯ КАЧЕСТВА ВИН	
Яценко Я.О. БИОПОЛИМЕРЫ В МЕДИЦИНСКОЙ ПРАКТИКЕ: СФЕРЫ И СПОСОБЫ ПРИМЕНЕНИЯ	154
El-Shafei S.M.A, Ivanov E.V., Abd-El-Rahman A.A., Fattakhova A.N., Alimova F.K. CYTOTOXIC EFFECTS OF ESSENTIAL OILS OF SOME PLANTS AND TRICHODERMA METABOLITES AGAINST CANCER CELL LINES IN VITRO	157
Minakova V.V., Карнаухова И.В., Соловых Г.Н., Pryanikhin A.V., Осянкина Т.В. СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ЯИЧНОГО ЛИЗОЦИМА И ПРЕПАРАТОВ ЛИЗОЦИМА ДВУСТВОРЧАТЫХ МОЛЛЮСКОВ UNIO PICTORUM И ANODONTA CYGNEA	159
Ustymchuk Y.P., Korolenko A.V., Karputina D.D., Teterina S.N. THE ANALYSIS OF SWEET SORGHUM JUICE MICROFLORA	164

