

Сервис виртуальных конференций Pax Grid

ИП Синяев Дмитрий Николаевич

Биотехнология. Взгляд в будущее.

II Международная научная Интернет-конференция

Казань, 26 - 27 марта 2013 года

Материалы конференции

**Казань
ИП Синяев Д. Н.
2013**

УДК 663.1(082)

ББК 41.2

Б63

Б63 Биотехнология. Взгляд в будущее.[Текст] : II Международная научная Интернет-конференция : материалы конф. (Казань, 26 - 27 марта 2013 г.) / Сервис виртуальных конференций Pax Grid ; сост. Синяев Д. Н. - Казань : ИП Синяев Д. Н. , 2013.- 434 с.- ISBN 978-5-906217-14-1.

ISBN: 978-5-906217-14-1

Сборник составлен по материалам, представленным участниками II международной Интернет-конференции "Биотехнология. Взгляд в будущее". Конференция прошла 26 - 27 марта 2013 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.

Материалы представлены в авторской редакции

ISBN 978-5-906217-14-1 © Система виртуальных конференций Pax Grid, 2013

© ИП Синяев Д. Н., 2013

© Авторы, указанные в содержании, 2013

Секции конференции

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

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. КФУ
- Хусаинов М.Б. - к.б.н. ст. преп. КФУ
- Якушенкова Т.П. - к.б.н. ст. преп. КФУ

Исполнительный оргкомитет:

- Алишева Д.А. - исполнительный секретарь
- Тарасов Д.С. - координатор Рах Grid
- Изотова Е.Д. - координатор Рах Grid

СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ СПОСОБА ПЦР-ИДЕНТИФИКАЦИИ АЛЛЕЛЬНЫХ ВАРИАНТОВ Wx-B1-ЛОКУСА Waxy-ГЕНОВ ПШЕНИЦЫ

Абдулина И.Р., Вафин Р.Р., Зайнуллин Л.И.

Казанский (Приволжский) федеральный университет

vafin-ramil@mail.ru

Руководствуясь принципом совершенствования способа ПЦР-идентификации аллельных вариантов *Wx-B1*-локуса *Waxy*-гена пшеницы [1] нами был разработан способ генотипирования, отличительной особенностью которого являлось применение взамен праймера *Wx-B1F* прототипа [1] олигонуклеотида 4F-с, генерирующего ПЦР-продукты размерами 402 bp (*Wx-B1a*-аллель) и 436 bp (*Wx-B1e*-аллель), редуцированные в сравнении с ближайшим аналогом на 61 bp, для обеспечения более лучшего разделения амплифицированных фрагментов в агарозном геле и повышения точности интерпретации результатов ДНК-теста.

Разработанный нами способ генотипирования был протестирован в двух его модификациях, как в постановке с олигонуклеотидами 4F-с + *Wx-B1R*, так и 4F-с + *Wx-B2R*, обратные праймеры которых были: в первом случае (для праймера *Wx-B1R*) – без «mismatch-нуклеотида» в третьей позиции с 3'-конца олигонуклеотида, во втором случае (для праймера *Wx-B2R*) – с введенным некомплементарным нуклеотидом в процессе химического синтеза.

При тестировании соответствующего протокола ПЦР с праймерами 4F-с + *Wx-B1R* регистрировалась негативно влияющая на анализ полученных результатов реакции наработка неспецифичных ампликонов.

Не характерная для заявленного способа амплификация ПЦР-продукта локуса *Wx-A1*-аллеля размером 432 bp была наиболее проблемным артефактом, фактически блокирующим дискриминацию аллельного варианта *Wx-B1e* (436 bp) в связи со схожим друг с другом размерами, и соответственно, мешающим осуществлению корректной идентификации аллельных вариантов *Wx-B1*-локуса *Waxy*-гена пшеницы.

Причиной же неудовлетворительной работы заявленного протокола ПЦР служила конструктивная особенность аллельспецифичного праймера *Wx-B1R* без соответствующего «mismatch-нуклеотида».

При последующем тестировании предложенного способа проведения

ПЦР для идентификации аллельных вариантов *Wx-B1*-локуса *Waxy*-гена пшеницы в оптимизированной постановке с заменой стандартного праймера *Wx-B1R* прототипа [1] на модифицированный нами олигонуклеотид *Wx-B2R*, удалось значительно повысить специфичность реакции, тем самым обеспечив корректную идентификацию исследуемых генотипов пшеницы

Литература

1. Vanzetti, L.S. Genetic variability for waxy genes in Argentinean bread wheat germplasm / L. S. Vanzetti, L.A. Pfluger, M. Rodriguez-Quijano, J.M. Carrillo, M. Helguera // *Electronic Journal of Biotechnology*. - 2009. - V. 12. - N. 1. - P. 1-9.

БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ ПРИЁМЫ ОЧИСТКИ ВОД ОТ НЕФТЯНЫХ ЗАГРЯЗНЕНИЙ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ РАСТИТЕЛЬНЫХ ОТХОДОВ

Ахметов А. А., Морозов Н. В.

Казанский (Приволжский) федеральный университет

izengard777@mail.ru

Актуальность научного исследования.

Из многочисленных методов, позволяющих уменьшить концентрацию нефти в экосистемах, наиболее перспективными считаются биологические методы, основанные на естественных процессах самоочищения с участием отселектированных углеводородокисляющих микроорганизмов. [Рогозина, Шиманский, 2007; Бабаев, Мовсумзаде, 2009; Киреева, Григориади, Хайбулина, 2009; Матенькова, Наплекова, 2009].

Среди соединений, обладающих биостимулирующим эффектом в трансформации нефти и нефтепродуктов, наряду с витаминами, аминокислотами, органическими кислотами и др., могут быть применены легкоокисляемые органические субстраты растительного происхождения [Морозов, 2001, 2007, 2010]. В качестве последних рекомендуется использование шелухи зерновых культур (гречихи, ячменя, овса, пшеницы, кукурузы и др.). Эти растительные остатки в процессе разложения нефти и её производных микроорганизмами могут служить активной иммобилизирующей поверхностью (сорбентами) для деструкторов с одной стороны и легкоокисляемыми веществами для выработки адаптивных ферментов с другой.

Достижение подобной цели ведёт к получению значительного экологического и экономического эффекта в ликвидации нефтяных загрязнений. Исходя из проведённых ранее экспериментов, было установлено, что наилучшим субстратом является гречишная и ячменная шелуха, которые при использовании сообщества углеводородокисляющих микроорганизмов УОМ ведут к наиболее эффективной деструкции нефти (70,1 и 55%).

Исходя из этого целью настоящей работы явилось, подбор оптимального размера и концентрации субстрата растительного происхождения шелухи гречихи при использовании его в качестве индуцирующего вещества в окислении нефти и нефтепродуктов

углеводородокисляющими микроорганизмами.

На первом этапе работы рассматривали процесс микробной деструкции нефти при применении разных концентраций и размера фракций органического субстрата. Степень трансформации нефти оценивали по динамике растворённого кислорода, биологического потребления кислорода (БПК₅), химического потребления кислорода (ХПК) и численности углеводородокисляющих микроорганизмов на среде Раймонда. Эксперимент проводили в колбах объемом 1000 мл со средой Раймонда (по 400 мл в каждой колбе). Температура пастеризации равнялась 20 - 23° С. В среду вносили одновременно накопительную культуру, состоящую из трёх УОМ, численностью 102 млн. -104 млн.кл/мл, товарную нефть Елховского месторождения (185±6 мг) и органические субстраты в концентрации 1, 10 и 50 мг/л.

Варианты опытов:

1. 0,071 -1 мг/л + ЗУОМ + нефть
2. 0,071 - 10 мг/л + ЗУОМ + нефть
3. 0,071 - 50 мг/л + ЗУОМ + нефть
4. 0,071 -1 мг/л + нефть (к)
5. 0,071 - 10 мг/л + нефть (к)
6. 0,071 - 50 мг/л + нефть (к)
7. 0,1 - 1 мг/л + ЗУОМ + нефть
8. 0,1 - 10 мг/л + ЗУОМ + нефть
9. 0,1 - 50 мг/л + ЗУОМ + нефть
10. 0,1 -1 мг/л + нефть (к)
11. 0,1 - 10 мг/л + нефть (к)
12. 0,1 - 50 мг/л + нефть (к)

В целом выяснено, что внесение в среду шелухи гречихи всегда сопровождалось видимым изменением плёнки нефти. Она изменяла свою окраску с образованием отдельных разложенных бактериями хлопьев. Динамика углеводородокисляющих микроорганизмов, выявленная при окислении нефтяного загрязнения, в присутствии шелухи гречихи сопровождалось постепенным возрастанием плотности бактериальной массы, что видно из рис.1.

Как видно также из рис. 1, в процессе культивирования УОМ на субстратах с нефтью и без нее происходило постепенное возрастание численности бактериальной массы, а следовательно, достижение эффективности очистки связанной с адаптацией микроорганизмов к углеводородам нефти.

Наибольшая величина оптической плотности УОМ приходилась на 6 день культивирования, что говорит об их активной деструкции нефти. В

вариантах с контролем эффективность окисления нефти была намного ниже и не превышало 15%.

С 7 по 13-е сутки численность микроорганизмов постепенно снижалась, так как запас питательных веществ (а именно нефти) в среде уменьшалась в результате её интенсивного разложения УОМ.

Аналогично можно отметить, что в вариантах с размерностью 0,071мм, концентрацией 10 мг/л и размерностью 0,1, концентрацией 50 мг/л, где оптическая плотность достигает максимальных величин (Рис. 1, кривые 2 и 9) по сравнению с остальными вариантами.

Исходя из проделанных анализов основных показателей деструкции нефти с шелухой гречихи видно, что наиболее эффективными являются также варианты: 0,071 - 10 мг/л + ЗУОМ + нефть и 0,1 - 50 мг/л + ЗУОМ + нефть. Интенсивность окисления нефти по биологическому потреблению кислорода составила - 17,25% и 15,26%, по изменению количества растворённого кислорода - 38,47 % и 37,6%, а по химическому потреблению кислорода - 53,22% и 38,17% соответственно.

По результатам анализа неокисленного количества нефти (рис. 2), наиболее продуктивными вариантами оказались: 0,071 - 10 мг/л + ЗУОМ + нефть и 0,1 - 50 мг/л + ЗУОМ + нефть (2-ой и 9-ый вариант). Эффективность их составляет 62,17% и 61,63 % соответственно.

Итак, из приведённых результатов экспериментов следует, что наилучшим размером фракций шелухи, оказывающее биостимулирующее действие на степень окисления исходного субстрата нефти, является шелуха гречихи 0,071 мм с концентрацией субстрата в среде 10 мг/л и 0,1 с концентрацией 50 мг/л.

Для подтверждения полученных результатов размерности и концентрации органических субстратов были проведены дополнительные исследования. Варианты опыта были такими же как и в первом этапе эксперимента, где использовали десять видов УОМ вместо трёх.

Количество потреблённой нефти, как видно из рисунка 3, наименьшее в варианте с размерностью частиц субстрата 0,071мм и концентрацией 50 мг/л и равнялась 0,052 г против 0,186 г в начале эксперимента. При использовании десяти видов УОМ эффективность деструкции нефти возросла приблизительно на 7%. Это достигнуто в варианте с концентрацией шелухи гречихи 50 мг/л.

Выводы:

1. Активное разложение нефти и продуктов её переработки микроорганизмами всегда связано с наличием в среде легкоокисляемых органических соединений. В этой связи впервые изучено возможность

использования для этой цели субстратов растительного происхождения – шелуха гречихи, пшеницы, ячменя, овса и др.

2. Выбран оптимальный размер растительного субстрата, оказывающего биостимулирующий эффект в достижении ускорения биodeградации нефти ассоциацией, включающий 10 видов совместимых между собой углеводородокисляющих микроорганизмов; для шелухи гречихи она равна 0,071мм.

3. Установлена наиболее эффективная концентрация легкоокисляемого органического субстрата при использовании консорциума из десяти УОМ. Она равна 50 мг/л, а для трёх УОМ 10 мг/л.

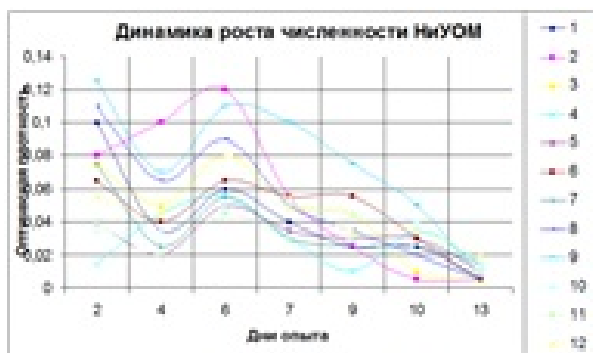


Рис. 1. Динамика роста численности NiУОМ.

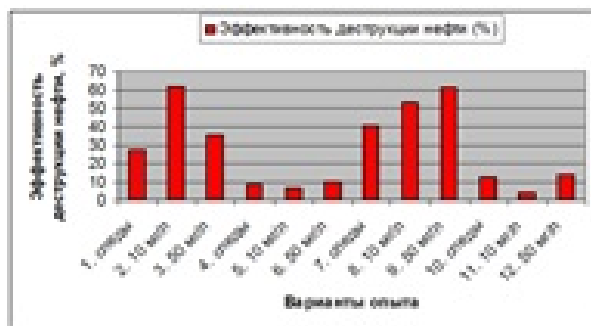


Рис. 2. Эффективность деструкции нефти.

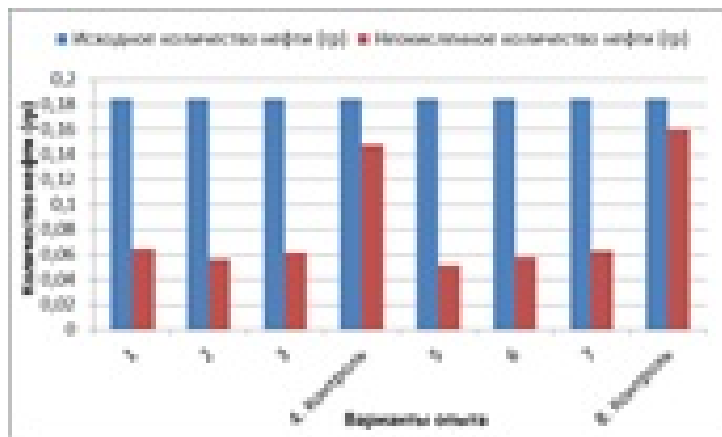


Рис. 3. Эффективность деструкции нефти десятью углеводородокисляющими микроорганизмами.

Литература

1. Бабаев Э.Р., Мовсумзаде М.Э. Преобразование нефти в процессе её микробиологической деградации в почве / Башкирский химический журнал, 2009. - Т.16. - №3. - С. 80-87.
2. Киреева Н.А., Григориади А.С., Хайбулина Е.Ф. Ассоциации углеводородокисляющих микроорганизмов для биоремедиации нефтезагрязнённых почв / Вестник Башкирского университета, 2009. - Т.14. - №2. - С. 391-394.
3. Матенькова Е.А., Наплекова Н.Н. Состав микробных ассоциаций дерново-подзолистых почв с нефтяным загрязнением / Достижения науки и техники АПК, 2009. - №4. - С. 20-21.
4. Морозов Н.В. Экологическая биотехнология: очистка природных и сточных вод макрофитами / Н. В. Морозов; - Казань: Изд-во КГПУ, 2001. - 396 с.
5. Rogozina E.A., Shimanский V.K. Некоторые теоретические аспекты восстановления нефтезагрязнённых почвенных экосистем // Нефтегазовая геология. Теория и практика. - 2007. - №4.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ *EUSTIGMATOS MAGNUS*, *DICTYOCOCCUS VARIANS* И *PSEUDOCOCCOMYXA SIMPLEX* КАК ПЕРСПЕКТИВНЫХ ОБЪЕКТОВ ДЛЯ БИОТЕХНОЛОГИИ

Бажукова Н.В., Новаковская И.В., Матистов Н.В.

Сыктывкарский государственный университет,
Институт биологии Коми НЦ УрО РАН, Сыктывкар

bajuchok@mail.ru

Разработка и внедрение комплексной технологии переработки микроводорослей актуальна и экономически целесообразна, в связи с возможностью получения широкого спектра продуктов, содержащих биологически активные вещества водорослей, что является важным направлением развития биотехнологических исследований на современном этапе развития этой отрасли науки.

В последние годы возрастает интерес к использованию микроводорослей, в силу их уникального химического состава. К мало исследованной группе относятся микроводоросли северных и горных местообитаний, которые способны быстро накапливать биомассу, изменять синтез биологически активных веществ (БАВ) под влиянием неблагоприятных факторов. В данной работе рассмотрены условия выращивания и культивирования трех видов микроводорослей, обитающих в высокогорных и тундровых почвах европейского северо-востока.

Цель работы - изучение морфологических, количественных и биохимических особенностей штаммов эустигматовой водоросли - *Eustigmatos magnus* (Peters.) Hibberd, а также зеленых водорослей - *Dictyococcus varians* Gerneck, *Pseudococcomyxa simplex* (Mainx) Fott из коллекции живых культур Института биологии Коми НЦ УрО РАН. Для культивирования были использованы штаммы, выделенные из различных горно-тундровых сообществ (разнотравно-злаково-ивнякового (h - 630 м над ур. м.) - *Eustigmatos magnus*, вторичной злаковой луговины (h - 697 м над ур. м.) - *Dictyococcus varians*, почвы угольных отвалов - *Pseudococcomyxa simplex*) Полярного и Приполярного Урала, а также о. Шпицберген в 2009-2011 г. [2].

Очистка культур проведена растворами пенициллина и бифосина, а также левомицетина и нистатина. Для культивирования штаммы помещали в стеклянные колбы со 100 мл жидкой среды 3N-BBM (pH

5.58). Нарращивание биомассы проводили на шейкере (Elpan 357) в течение шести-девяти недель при температуре $t = 22-24$ С. Для инициации роста клеток использовали световую установку с лампами Sylvania Gero-Lux с плотностью потока фотонов $32 \text{ мкМоль м}^{-2}\cdot\text{с}^{-1}$. Соотношение периодов свет/темнота - 14/10 часов. Исследование водорослей проводили на микроскопе Nikon Eclipse 80i при увеличении в $\times 400$, $\times 1000$ раз. Количественный счет клеток водорослей выполнен с помощью камеры Горяева. Размеры клеток определены с использованием программы AxioVision Rel. 4.7. Сухая биомасса подвергалась экстракции для извлечения суммы общих липидов (ОЛ) при трехкратной экстракции смесью гексана/этиловый спирт в соотношении 96/4. Массовую долю ОЛ определяли гравиметрическим методом.

При культивировании водорослей значимых морфологических изменений, по сравнению с природными популяциями отмечено не было. Размеры и форма клеток исследованных нами штаммов микроводорослей (табл. 1) соответствуют приведенным в определителях [1].

Таблица 1. Морфологические и количественные показатели исследованных штаммах микроводорослей

Штамм	Средние размеры клетки (мкм)		Максимальные размеры клетки (мкм)		Численность клеток/л	Биомасса г/л
	длина	ширина	длина	ширина		
<i>Eustigmatos magnus</i>	9-9.4		12.5		$4-26.8 \cdot 10^9$	$10.3 \pm 1.3^*$
<i>Dictyococcus varians</i>	7.2-8.6		31.3		$17.5-17.7 \cdot 10^9$	3.5 ± 0.8
<i>Pseudococcomyxa simplex</i>	6.7-6.75	2.9-3.1	11.3	1.92 ± 0.59	$19.5-54 \cdot 10^9$	1.9 ± 0.6

* - погрешность определения биомассы

Среди исследованных штаммов микроводорослей наибольшее содержание ОЛ обнаружено для *Pseudococcomyxa simplex* (6.81%) (табл. 2).

Таблица 2. Массовая доля общих липидов в исследованных штаммов микроводорослей

Штамм	Массовая доля ОЛ, %	Стандартное отклонение
<i>Eustigmatos magnus</i>	3.07	0.15
<i>Dictyococcus varians</i>	4.96	0.11
<i>Pseudococcomyxa simplex</i>	6.81	0.20

Все исследованные микроводоросли отличались простотой получения альгологически чистых штаммов, активным ростом в культуре, способностью быстро наращивать биомассу, и накапливать липиды. Данные виды обладают биотехнологическим потенциалом и могут стать объектами интенсивных исследований.

Исследования выполнены при поддержке проекта 12-И-4-2007 «Биоресурсный потенциал и биохимическая оценка микроводорослей европейского северо-востока России в качестве объектов биотехнологии».

Литература

1. Андреева В. М. Почвенные и аэрофильные зеленые водоросли (Chlorophyta: Tetrasporales, Chlorococcales, Chlorosarcinales). - СПб.: Наука, 1998. - 351 с.
2. Новаковская И.В., Патова Е.Н. Коллекция живых штаммов микроводорослей Института биологии Коми НЦ УрО РАН и перспективы ее использования // Изв. Коми научного центра УрО РАН, 2012. № 2 (10). С. 36-41.

**ДЕЙСТВИЕ ДЕЛЬТА-ЭНДОТОКСИНА *BACILLUS THURINGIENSIS*
НА МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ *CUCUMIS SATIVUS L. IN
VITRO***

Басырова Л.Ф.

УлГУ

liliyabasyrova@yandex.ru

В последние годы установлены антибактериальные и антифунгальные свойства *Bacillus thuringiensis*, в том числе в отношении фитопатогенов. Основным действующим началом бактерии является ее дельта - эндотоксин, воздействие которого приводит к оздоровлению растительного материала. В результате должны изменяться его морфометрические показатели.

В работе были использованы семена огурца посевного наиболее распространенных сортов «Конкурент», «Журавленок», «Фермер». В работе использовали один из промышленных штаммов продуцента дельта - эндотоксина - *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* Z-52. Качество выращенной культуры и оценку кристаллообразования проводили согласно принятой методике.

Из изученных концентраций дельта-эндотоксина достоверное увеличение энергии прорастания (на 3%) и всхожести (на 2%) относительно контроля отмечено только для семян сорта «Конкурент», при концентрации 0,03%.

Достоверные различия интенсивности набухания (на 23%) и массы семян (на 10%) по сравнению с контролем отмечены через 17 часов после замачивания с эндотоксином у семян сорта «Журавленок». Однако через 25 часов у семян сорта «Журавленок» масса увеличилась на 13 %, а интенсивность поступления воды в семя превысила контрольные значения на 30%. В сортах «Конкурент» и «Фермер» различия в интенсивности поступления воды в семена оказались не столь выраженными. Действие дельта-эндотоксина достоверно увеличило поступление воды в среднем на 19%.

Действие дельта-эндотоксина *Bacillus thuringiensis* при обработке семян огурца раствором дельта-эндотоксина способствовала достоверному увеличению длины проростка на 3 - 10 мм по сравнению с контролем во всех исследуемых образцах.

В результате проделанных исследований можно сделать вывод о том, что

использование дельта-эндотоксина благотворно влияет на изученные параметры, что можно рассматривать как проявление стимулирующего эффекта. Эти факты требуют дальнейшего детального исследования и могут лечь в основу разработки технологий получения экологически чистых и безопасных продуктов.

Литература

1. Алехина Н.Д., Балнокин Ю.В., Гавриленко В.Ф. Физиология растений. - М.: Академия, 2007. - 640с.
2. Каменёк Л.К., Штерншис М.В. Разобщающее действие дельта-эндотоксина *Bacillus thuringiensis* // Интегрированная защита растений от болезней и вредителей в Сибири. -Новосибирск, 1985.
3. Головки А.Э., Гольшин П.Н., Рябченко Н.Ф.. Роль *B. thuringiensis* в природных биоценозах // Микробиологический журнал. - 1993. — Т. 55. -№ 3 . - 104-109с.

РАЦИОНАЛЬНЫЕ РЕШЕНИЯ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКОЙ ПЕРЕРАБОТКИ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ОТХОДОВ

Бахов Ж.К., Муталиева Б.Ж., Коразбекова К.У.

Южно-Казахстанский государственный университет им.М.Ауезова

zhbakhov@mail.ru

Сегодня биотехнология стала одним из сверхприоритетных направлений развития человечества в XXI веке. Продукция, получаемая с помощью биотехнологических методов, широко используется в различных отраслях, в том числе в сельском хозяйстве. При этом, используя возобновляемое сырье, биотехнология решает не только краткосрочные задачи, но и долгосрочные проблемы глобального масштаба, что особенно важно в условиях интенсивного истощения минеральных ресурсов [1, 2].

Нами были проведены исследования с целью разработки технологии комплексной и глубокой переработки органических отходов – навоза КРС и свиней в биогаз, высококалорийный белково-витаминный концентрат – кормовую добавку для животных и органическое удобрение.

В начале для интенсификации и оптимизации процесса метанового брожения биомассы исследовано влияние на него иммобилизации метанобразующих бактерий в биореакторе. По их результатам разработаны оптимальные условия культивирования метаногенных бактерий посредством использования иммобилизации клеток, а также для поддержания необходимого кислотно-щелочного баланса для развития и роста метанобразующих бактерий при совместном получении витамина В₁₂, органического удобрения.

Установленные при этом оптимальные условия иммобилизации клеток микроорганизмов позволяют осуществлять контроль над биотехнологическим процессом метаногенеза и ускорить рост микроорганизмов, вырабатывающих метан.

Для реализации процессов иммобилизации микроорганизмов нами разработан экспериментальный биореактор со специальными для этого устройствами, с интенсификацией теплообмена и гомогенизацией ферментационной среды. Все это нацелено на ускорение метаногенеза за счет закрепления метаногенной микрофлоры в аппарате.

Конструкция разработанного биореактора обеспечивает более эффективное протекание процесса анаэробного сбраживания отходов

животноводства, улучшение процесса образования биогаза и удобрений

Иммобилизационное устройство, представляющее собой матрицу из инертных носителей, позволяет накапливать метаногенные бактерии в виде биопленки на поверхности носителей. Это обеспечивает сохранение биомассы независимо от времени гидролитического удержания, а микроорганизмы, иммобилизованные в кольцах менее, подвергаются раневому стрессу и повреждению клеток пузырьками газа.

Основные качественные и количественные особенности образованного из животноводческих отходов биогаза: процентное содержание метана в биогазе из жидкого навоза КРС 63% при нормальных условиях, у биогаза из жидкого свиного навоза 57%. Это связано с тем, что в кишке жвачных (КРС) живут метаногенные бактерии из родов *Methanocrobbium* и *Methanospirillum* [3].

По полученным результатам исследований разработана комплексная оптимизированная технология переработки отходов, способствующая созданию безотходных животноводческих хозяйств, с получением биогаза, концентрированного белково-витаминного комплекса, а также экологически чистого удобрения.

Изучение кинетики микробиологических процессов при созревании метанового биоценоза, происходящих в субстрате без каких-либо добавок показывает, что в первую и вторую фазы процесса бурно развиваются углеводсбраживающие и аммонифицирующие бактерии [4]. Максимальное их количество достигает в этот период $6 \cdot 10^8$ кл/мл.

Остальные физиологические группы бактерий (сульфат-восстанавливающие и метанобразующие) достигают интенсивного развития лишь по мере перехода брожения в третью фазу. В частности, метан, свидетельствующий о начале третьей, метанобразующей фазы процесса брожения, начинает интенсивно образовываться на 14-16 сутки от начала процесса, а на 22-24 сутки наступает торможение процесса (рисунок, а). После этого снижается количество метанобразующих бактерий.

Причиной, тормозящей процесс метанообразования, является образование кислых продуктов бактериального гидролиза. Это подтверждают экспериментальные данные по измерению pH среды. В ходе созревания метанового биоценоза pH изменилось от 7,5 в начале процесса до 5,7 в конце (рисунок, б). Корректировка pH субстрата слабым содовым раствором позволили устранить торможение процесса брожения. Здесь, при образовании бактериями кислот происходит нейтрализация среды. При орошении бродящей смеси слабым содовым раствором основные группы метановых микроорганизмов сохраняют

интенсивность роста.

Известно, что также при анаэробном сбраживании отходов животноводства при создании определенных условий можно получить витамин В₁₂. [5]. Поэтому были проведены опыты по разработке способов повышения содержания витамина В₁₂ в сброженных отходах. Для этого исследовали влияние различных факторов на процесс образования В₁₂.

Поскольку обязательным условием образования витамина В₁₂ является наличие в среде добавок солей кобальта (в состав каждой молекулы В₁₂ входит один атом кобальта), использованы добавки 5-10 г/м³ соли СоСl₂·6Н₂О, поскольку для синтеза витамина В₁₂ естественных источников кобальта для метаболизма метанобразующих бактерий нет.

Важнейшими факторами процесса витаминообразования являются температура и рН. Проведенные эксперименты показали, что наибольший выход витамина наблюдается при температуре 45°С, дальнейшее увеличение температуры приводит к снижению выхода витамина.

Регулирование рН субстрата проведено посредством добавления слабых растворов соляной кислоты и содового раствора. При этом, максимальный выход витамина достигается при рН 7-7,5. Дальнейшее повышение рН приведет к снижению выхода витамина, так как сильнощелочная среда вызывает нейтрализацию жирных летучих кислот, необходимых в качестве питания метанобразующим бактериям.

Для эффективной переработки органических отходов необходимо, чтобы состав смеси был оптимально сбалансирован по отношению С/Н и содержанию других элементов питания для метанобразующих бактерий.

Особое внимание следует уделить процессу подготовки сырья, от которой в значительной мере зависит эффективность всего процесса переработки отходов. Для получения высококачественных нетоксичных ферментированных отходов необходимо организовать отдельный сбор отходов и составлять сбалансированные по составу смеси.

В заключение можно отметить, что результаты исследований позволяют рационально решить вопросы комплексной переработки отходов животноводства.

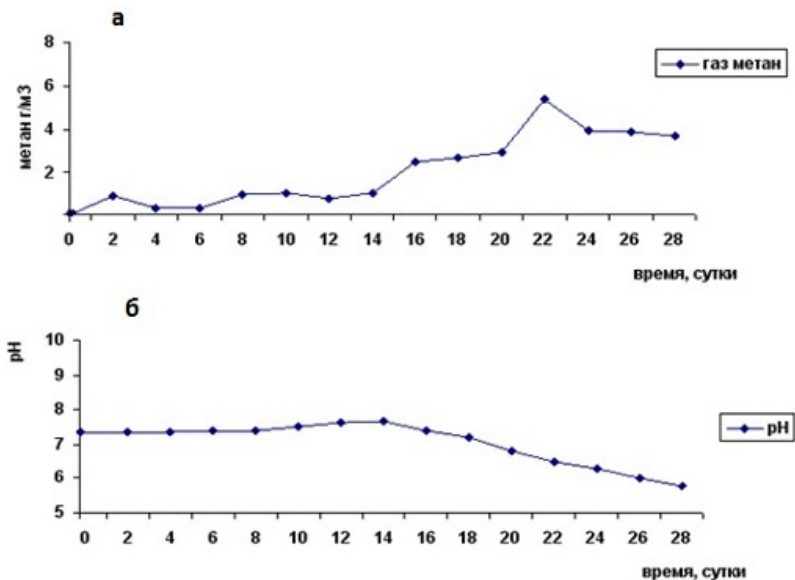


Рис. 1. Кинетика образования метана (а) и изменение pH (б) при переработке навоза КРС

Литература

1. Шеина О.А., Сысоев В.А. // Биохимия процесса производства биогаза как альтернативного источника энергии // Вестник ТГУ. - 2009. - Т.14, вып.1. - С. 73-76.
2. Морозов Н.М. Направления рационального использования энергетических ресурсов в животноводстве // Техника и оборудование для села. - 2004. - №4. - С.3-5.
3. Ножевникова А.Н., Жилина Т.Н., Соколова Т.Г. Видовой состав метановых бактерий в сброженном навозе крупного рогатого скота. Прикл. биохим. микробиол., 1988, 24, вып.4, с.555-559.
4. Беляев С.С. Метанобразующие бактерии и их роль в биохимическом цикле углерода: автореф. дис. д-ра биол. наук. - Пушкино, 1984. - С. 45.
5. Гуревич Г.С. Микробиологический синтез витамина B12 // Получение и применение ферментов, витаминов, аминокислот, премиксов. -М., 1984. -60с.

ФИТОХИМИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА КУРИЛЬСКОГО ЧАЯ *POTENTILLA FRUTICOSA* . (L.) ИНТРОДУЦИРОВАННОГО НА ЮЖНОМ УРАЛЕ

Баширова Р. М., Данилова Е. Д., Долотовский И. М., Галкин Е. Г.

Башкирский государственный университет, г. Уфа,
Институт органической химии, г. Уфа

BashirovaRM@mail.ru

В последние годы возросла популярность продуктов на основе курильского чая *Potentilla fruticosa* L. (*s. Dasiphora fruticosa* (L.) Rydberg,). Листья и цветки *P. fruticosa* используют для получения тонизирующих напитков, рекомендуемых при гепатитах вирусной и токсической этиологии, как кровоостанавливающее, противовоспалительное и успокаивающее средство. Включение в рацион БАД на основе *P. fruticosa*, уменьшает риск развития сосудистых осложнений при диабете, оказывает протекторное действие в отношении поджелудочной железы и печени [1, 2, 3].

Широкий спектр его терапевтического действия обусловлен присутствием комплекса биологически активных веществ. Облиственные побеги *P. fruticosa* содержат флавоноиды; терпеноиды, дубильные вещества, витамины С и Р. Капилляроукрепляющая и антиоксидантная активность растения обусловлена наличием в нем флавонов (Р-витаминов) и других соединений фенольной природы [1, 4].

Ранее нами было показано, что значительное содержание фенольных соединений в образцах сортов сорта лапчатки 'Goldstar' и 'Goldfinger' позволяет рассматривать их в качестве источников препаратов с антимикробной и антиоксидантной активностью [1].

В литературе достаточно детально проанализирован состав фенольных соединений *P. fruticosa*, однако, информация о соединениях других классов представлена недостаточно. Учитывая изложенное, нами проведены фитохимические исследования курильского чая *P. fruticosa*, интродуцированного на южном Урале.

Нами проанализирован спиртовой экстракт курильского чая, отобранного в августе 2012 года на опытном участке с. Бакалы Республики Башкортостан. Экстракт анализировали с использованием хромато-масс-спектрометра Termo Finnigan (хроматограф -Finnigan 800, масс-спектрометр высокого разрешения MAT-95XP ЭВМ "Delta" с системой обработки данных "Data Sistem" содержащей библиотеку

Database "NIST02". Разделение компонент проводили на капиллярной колонке (длина 30 м, диаметр 0.25мм, привитая фаза содержащая 5% диметилфенилсиликона и 95% диметилсиликона).

Идентификация проводилась по полным масс-спектрам с использованием программы "Data Sistem" входящей в систему хромато-масс-спектрометра. Идентифицировано 25 соединений, индексы сходства которых составляли не ниже 89% с библиотечными.

Из соединений, экстрагированных спиртом, обращает внимание альфа-токоферол (витамин Е), содержание которого составляет 0,1%.

В исследованных образцах обнаружены производные фталевой кислоты: диэтилфталат- 0,1%, дипропил-фталат- 0,24%, дибутил-фталат -0,37%, бис(2-этилгексил) фталат- 33,72%. Данная группа соединений представляет интерес с экологической точки зрения. Известно, что фталаты обладают эстрогенной активностью. Не исключено, что именно их наличие обуславливает клинические эффекты курильского чая при гинекологических заболеваниях. С другой стороны, экологи относят фталаты к «эндокринным дизрупторам», вызывающим нарушение репродуктивной системы, в первую очередь у мужчин.

В спиртовом экстракте обнаружен также представитель алкиламидов - октадеканамид (0,31%). Известно, что амиды жирных кислот обладают анальгезирующими свойствами. Соединения этого класса обладают обезболивающей и анксиолитической активностью. Анксиолитическое действие проявляется уменьшением тревоги, страха (антифобическое действие), эмоциональной напряженности. Они применимы при лечении целого ряда нарушений, в особенности воспалительных заболеваний с выраженным болевым синдромом. Кроме того представляет интерес способность амидов жирных кислот снижать аппетит [5].

Поведенные исследования свидетельствуют о более широком спектре биологически активных соединений курильского чая. Помимо флавоноидов в сырье *P. fruticosa* содержатся соединения, оказывающие влияние на эндокринную и нервную систему, что следует учитывать при разработке биологически активных добавок на его основе и более тщательном обосновании их применения.

Литература

1. Данилова Е. Д., Долотовский И.М., Баширова Р.М. и др. Фитохимическое сравнение интродуцированных сортов курильского чая *Pentaphylloides fruticosa* (L.) O. Schwarz в республике Башкортостан//Вопросы биол., мед. и фарм. химии. 2012, №7. С.54-55
2. Волхонская Т.А., Триль В.М., Грек О.Р. и др. Перспективы создания и

- применения лечебно-профилактических продуктов из курильского чая кустарникового//Нетрадиц. природ. ресурсы, инновац. технологии и продукты, 2001; Вып.5. - С. 173-179
3. Шарафетдинов Х.Х., Зыкина В.В., Плотникова О.А. и др. Оценка эффективности использования в диетотерапии больных сахарным диабетом типа 2 биологически активной добавки, содержащей экстракт курильского чая //Вопросы питания 2008. №4 с.52-58
 4. Tomczyk M., Pleszczyńska M., Wiater A. Variation in total polyphenolics contents of aerial parts of *Potentilla* species and their anticariogenic activity// *Molecules* 2010, 15, p. 4639-4651
 5. Astarita G., Giacomo B. Di, Gaetani S. et al. Pharmacological Characterization of Hydrolysis-Resistant Analogs of Oleoylethano-lamide with Potent Anorexiant Properties// *J. pharm. experimental therapeutics* 2006. Vol. 318, No. 2 p. 563-570

ВОЗМОЖНОСТЬ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ФРУКТОВО-КРУПЯНЫХ СМЕСЕЙ В ТЕХНОЛОГИИ ХЛЕБОБУЛОЧНЫХ ИЗДЕЛИЙ

Белокурова Е. В., Солохин С.

Воронежский государственный университет инженерных технологий

zvezdamal@mail.ru

This article discusses the use of fruit and cereal mixtures prepared according to a special recipe, as an additional raw material in the production of bakery products. That will expand their range, improve organoleptic, nutritional and biological value.

Хлебобулочные изделия являются в России основными продуктами питания, так как они содержат необходимые для нормальной жизнедеятельности человека пищевые вещества, среди которых белки, углеводы, липиды, витамины, минеральные вещества и пищевые волокна. Эти продукты питания характеризуются высокой энергетической ценностью, легкой перевариваемостью и хорошей усвояемостью, приятны на вкус, значительно дешевле большинства других продуктов массового потребления. Доля хлебобулочных изделий в рационе человека зависит от его привычек, а также экономических и социальных возможностей. В большинстве развитых стран мира уровень потребления хлеба составляет 20-25% от общей массы потребляемой пищи. Уровень потребления хлеба в России аналогичен западному и составляет 70-80 кг на душу населения в год.

Наиболее распространенной на рынке хлебобулочных изделий является сегментация по категориям: хлеб (стандартный ассортимент, 20-25 наименований), батоны (5-6 наименований), нетрадиционные сорта с полезными добавками (порядка 10), мелкостручные и сдобные изделия (более 20 наименований). Данный принцип делит рынок хлебобулочных изделий массового спроса на две ниши: «социальный» хлеб, который составляет основную часть ассортимента хлебобулочных изделий, а его цена составляет 15-20 руб., и нетрадиционные хлебобулочные изделия с добавками.

По мнению экспертов, сегодня развитие рынка хлебобулочных изделий происходит в основном за счет нетрадиционных сортов, растет спрос на новые сорта хлеба с более сложной рецептурой и сдобу, в то время как потребление «социального» хлеба достаточно стабильно. В

связи с тем, что последними тенденциями на рынке стали рост спроса на свежеспеченный горячий хлеб, рост популярности хлеба с добавками злаков, диетического и диабетического назначения, участники рынка значительно расширяют ассортимент хлебобулочных изделий, стремятся производить качественную продукцию и при этом быть «ближе» к покупателю. Важнейшими критериями выбора при покупке хлебобулочных изделий потребителями являются свежесть изделия, цена, упаковка и внешний вид. Основными критериями выбора места покупки хлеба и хлебобулочных изделий является близость торгового предприятия к месту проживания или работы, а также возможность покупки других продуктов питания в одной точке, поэтому три четверти покупок хлебобулочных изделий приходится на магазины и супермаркеты.

Целью данного исследования является разработка технологии пшеничного хлеба с внесением фруктово-крупяной добавки.

В рамках поставленной цели решались следующие задачи:

- разработка компонентного состава добавки;
- подбор технологии обработки вносимой добавки;
- выбор оптимального количества вносимой добавки;
- определение показателей пищевой ценности хлеба.

Таблица 1. Рецепт хлеба пшеничного с фруктово-крупяной добавкой

Наименование сырья	Масса брутто (г)	Масса нетто (г)
Мука пшеничная хлебопекарная высшего сорта	1000	1000
Фруктово-крупяная добавка	200	200
Вода	По расчету	
Дрожжи прессованные хлебопекарные	30	30
Выход теста	-	1680 4 шт x 420 г

Экспериментальным путем подбирали компоненты и их соотношение в добавке: рис : яблоки - 1 : 4. Обработку добавки проводили следующим образом: предварительно замоченный в течение 60 мин рис смешивали с перетертыми яблоками, полученную смесь помещали в вакуум-пакет и вакуумировали в течение 1 мин. Вакуумированную смесь прогревали пароконвектомате в течение 120 мин при температуре 60 °С. Готовую смесь освобождали от пакета, размельчали до однородной консистенции и вносили в различных количествах в тесто для хлеба из муки

пшеничной хлебопекарной высшего сорта.

Таблица 2. Сравнительная оценка показателей пищевой ценности хлеба

Наименование показателя	Хлеб пшеничный из муки высшего сорта	Хлеб с фруктово-крупяной добавкой
Витамины, мг		
В ₁	0,09	0,12
В ₂	0,03	0,04
С	-	1,25
Холин	37,80	39
Минеральные вещества, мг		
Железо	1,1	1,2
Калий	93,0	136,0
Кальций	14,0	16,0
Магний	14,0	24,0
Натрий	6,4	8,5
Фосфор	65,0	83,0
Пищевая, энергетическая и биологическая ценность		
Белки	7,6	8,1
Жиры	0,8	0,9
Углеводы	49,2	53,8
Энергетическая ценность, ккал/кДж	235/983,2	256/1069,8
Содержание незаменимых аминокислот, мг в 1 г продукта		
Валин	3,48	3,75
Изолейцин	3,18	3,50
Лейцин	5,94	5,83
Лизин	1,89	2,00
Метионин	1,14	6,12
Треонин	2,31	3,13
Триптофан	0,74	0,84
Фенилаланин	3,68	3,78
КРАС, %	38,45	27,86

Биологическая ценность, %	61,55	72,14
------------------------------	-------	-------

По органолептическим показателям опытных образцов определяли оптимальное количество вносимой добавки. При внесении 20 % добавки от количества муки в тесте хлеб отличался лучшей пористостью, объемом, цветом мякиша и ароматом. Рецепт теста для хлеба пшеничного с внесением фруктово-крупяной добавки приведена в таблице 1.

В готовых хлебобулочных изделиях определяли показатели пищевой и биологической ценности (таблица 2), контролем служили образцы хлеба из муки пшеничной высшего сорта, приготовленные по классической рецептуре.

Из полученных данных можно сделать следующие выводы: в связи с развитием рынка хлебобулочных изделий нетрадиционных сортов, с добавками злаков, диетического и диабетического назначения, хлеб с внесением фруктово-крупяной добавки должен пользоваться спросом у потребителя, так как имеет приятный вкус и аромат, значительно выигрывает по внешнему виду. Кроме того, хлеб с фруктово-крупяной добавкой имеет более высокие показатели пищевой ценности, по сравнению с хлебом из муки пшеничной высшего сорта, приготовленного по классической рецептуре.

**ЦИТОЛОГИЧЕСКОЕ ОПИСАНИЕ ИЗМЕНЕНИЙ, ПРОИСХОДЯЩИХ
С КЛЕТОЧНОЙ КУЛЬТУРОЙ МДСК-II ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ
ГЕПАТОЦИТНОГО РОСТОВОГО ФАКТОРА В УСЛОВИЯХ
МЕХАНИЧЕСКОГО СТРЕССА**

Болаева К.В.

ФГБОУ ВПО «Калмыцкий государственный университет»

kermenbolaeva@gmail.com

Введение. В современной клеточной биологии для культивации клеточных культур клетки высаживают а поверхность чашек Петри, которые далее помещаются в клеточный инкубатор. В результате клетки совершенно не подвергаются механическому стрессу, лишь при центрифугировании клеток для отделения их от надосадочной жидкости. Однако, *in vitro* клетки, в частности эпителиальные клетки, входящие в состав кровеносных сосудов, печени, почек и других органов, постоянно подвергаются механическому стрессу различного происхождения. В настоящей работе для культивации клеточной культуры МДСК-II (эпителиальные клетки печени кролика) используется микрокапиллярная биосенсорная система на основе кварцевого пьезо-кристалла. Даная система была разработана и апробирована (1,2,3,4), с целью использования ее для альтернативного способа изучения клеточных культур. Последствия, которые вызывает постоянное воздействие на клетки тока жидкости питательного медиума, до сих пор не изучены глубоко. Также интересно, насколько механической стресс вызываемый потоком жидкости в микрокапиллярном биореакторе отличается от стресса, источником которого служит, например, постоянное перемешивание при помощи шейкера. Известно, что результатом механического стресса становится активация β -интегрина и следовательно увеличение адгезивных способностей клеток (6). Также механической стресс может воздействовать на полимеризацию актина на фокальных контактах клеток и увеличение их площади (8). Поскольку фокальные контакты содержат большое количество актин-связывающих белков, изменения в содержании актина влияют на структуру и функции всего цитоскелета. Также описано влияние механического стресса на систему промежуточных филаментов, в частности на K5/K14 кератин. В клетках усиливается синтез ДНК и происходит принципиальная перестройка цитоскелета (7). Таким образом, существует большая вероятность того, что механический стресс активирует многочисленные биохимические

процессы (5,8,9), которые усложняют использование микрокапиллярных биосенсорных систем для культивации клеточных культур. С другой стороны, при помощи биосенсорной системы были описаны результаты воздействия гепатоцитарного ростового фактора (HGF) на рассматриваемую клеточную культуру. Данный белок, контролирует процессы развития тканей, движения клеток, затягивания ран, морфогенеза и другие важные процессы в организме (10,11,12,13). HGF регулирует взаимодействие между эпителиальными тканями и мезенхимой (11). Описано, что HGF воздействует на цитоскелет эпителиальных клеток – увеличивается площадь соприкосновения клеток с адгезионной поверхностью, однако на втором этапе клетки начинают движение друг от друга, что сопровождается уменьшением количества стресс-фибрилл (12). Такое разнообразие эффектов на клетки может быть объясняется важностью *c-met* рецептора, который активирует действие данного фактора роста. Воздействие на эпителиальные клетки HGF, также как действие механического стресса тесно связано с перестройкой цитоскелета, поэтому задачей настоящей работы является выявление влияния данных клеточных стимулов друг на друга.

Материалы и методы. Клеточная культура Madine-Darby Canine Kidney (далее MDCK-II) культивировались в RPMI 1640 медиуме, с добавлением 10% питательного серума (FCS), 1% пенициллина и стрептомицина (все Sigma). Для проведения экспериментов в чашках Петри, клетки высаживались за 24 часа перед началом эксперимента, и помещались в инкубатор при температуре 37°C и содержании CO₂ 5%, в некоторых случаях на дно опускались части кварцевого кристалла, покрытые напылением золота или титана, предварительно стерилизованные. Для стимуляции гепатоцитарным ростовым фактором (Hepatocyte Growth Factor, Invitrogen), сухое вещество растворяли в буфере и далее разбавляли питательным медиумом с содержанием 0,5% FCS до концентрации 50 нг/мл и добавляли к испытуемым пробам. При помощи оптической микроскопии собиралась информация о процессах в чашках Петри (инвертированный микроскоп Nikon), на поверхности кварцевых кристаллов (конфокальный микроскоп Leica). Для создания механического стресса от перемешивания жидкости использовали шейкер (10 перемешиваний в минуту). Для стимуляции клеток на поверхности кварцевого кристалла, встроенного в биореактор сенсорной системы, описанной ранее (1,2,3,4), клетки культивировались в течение 16 часов при постоянном потоке питательного медиума 1мл/час (1,2,3,4), далее в течение 120 минут через систему пропускали раствор HGF (50

нг/мл), далее до конца эксперимента через систему пропускаться медиум с 0,5% FCS. В случае, если через систему пропускается медиум с 10% FCS, клетки начинают активно пролиферировать, и трудно оценить степень подвижности клеток в составе колоний. В случае биореактора, зафиксированный инвертированный микроскоп применялся для сбора снимков поверхности кристалла с промежутком 1 мин в течение всего эксперимента.

Обсуждение результатов. На первом этапе рассматривались колонии MDCK-II, культивируемые на поверхности чашек Петри в условиях стандартного клеточного инкубатора без приложения механического стресса. Как видно на рис.1, колонии клеток под воздействием HGF через 3,5 часа теряют компактную структуру, а через 7 часов меняют фенотип и начинают расхождение друг от друга. Далее принципиально решался вопрос о том, насколько сильно влияет на подвижность клеток субстрат, на поверхности которого они культивируются. В нашем случае сравниваются поверхности кварцевого кристалла, покрытого напылением золота и титана. Также в данном случае к клеткам прилагался механический стресс в виде постоянного вращения поверхности, на которой культивируются клетки, при помощи шейкера. Из рис. 2 видно, что механический стресс данного типа практически не влияет на клеточные колонии контрольного эксперимента - без добавления HGF. Видно, что под воздействием ростового фактора через 3,5 и 7 часов наблюдается движение клеток MDCK- II, колонии теряют свою целостность, причем в случае титанового покрытия наблюдается наибольшая подвижность. Видно, что в случае металлической поверхности, по-видимому, адгезия клеток слабее, что объясняет большую скорость движения клеток по сравнению с полипропиленом, из которого сделаны чашки Петри. Интересным представляется вопрос о том, насколько сильно отличается характер механического стресса под воздействием шейкера и под воздействием тока жидкости в микроканале биореактора сенсорной системы. На рис. 3 не наблюдаются видимые различия в поведении клеточных колоний MDCK-II в экспериментах, когда через систему пропускаться гепатоцитный ростовой фактор с концентрацией 50 нг/мл или просто питательный медиум с пониженным содержанием FCS. Однако при сравнении с экспериментом, в котором клеточная колония культивируется в отсутствие HGF в отсутствие механического стресса, видно, что в случае, если клетки подвергаются механическому стрессу (в обоих рассматриваемых случаях), клетки проявляют большую подвижность. Таким образом, в данной работе, благодаря возможности

сравнить влияние механического стресса, гепатоцитного ростового фактора и их сочетания, можно сделать вывод о том, что благодаря влиянию механического стресса на биологические процессы перестройки и формирования цитоскелета, повышается подвижности MDCK-II клеток. Также повышается подвижность клеток под воздействием ростового фактора, которая характеризуется большей направленностью. При этом, при сочетании данных двух факторов, повышающих подвижность клеток в составе клеточных колоний и в составе клеточного слоя, мы наблюдаем результаты, не сопоставимые с влиянием данных отдельных факторов. Можно сделать вывод о том, что в механизме, который задействован в обоих случаях участвуют одни и те же биологические механизмы, действие которых интерферирует при наложении данных двух факторов. Представляется интересным дальнейшее исследование данного феномена.



Рис. 1. Колонии MDCK-II клеток, культивируемых на поверхности кварцевого кристалла, находящихся в чашках Петри, под действием постоянного перемешивания шейкером: 1, 4, 7 - на поверхности кристалла, покрытого золотым напылением без HGF в начале эксперимента (1), через 3,5 ч (4), через 7ч (7); 2, 5, 8 - на поверхности кристалла, покрытого золотым напылением в HGF фактора в концентрации 50 нг/мл в начале эксперимента (2), через 3,5 ч (5), через 7 часов (8); 3, 6, 9 - на поверхности кристалла, покрытого титановым напылением, под воздействием HGF в концентрации 50 нг/мл в начале эксперимента (3), через 3,5 ч (6), через 7 ч (9);

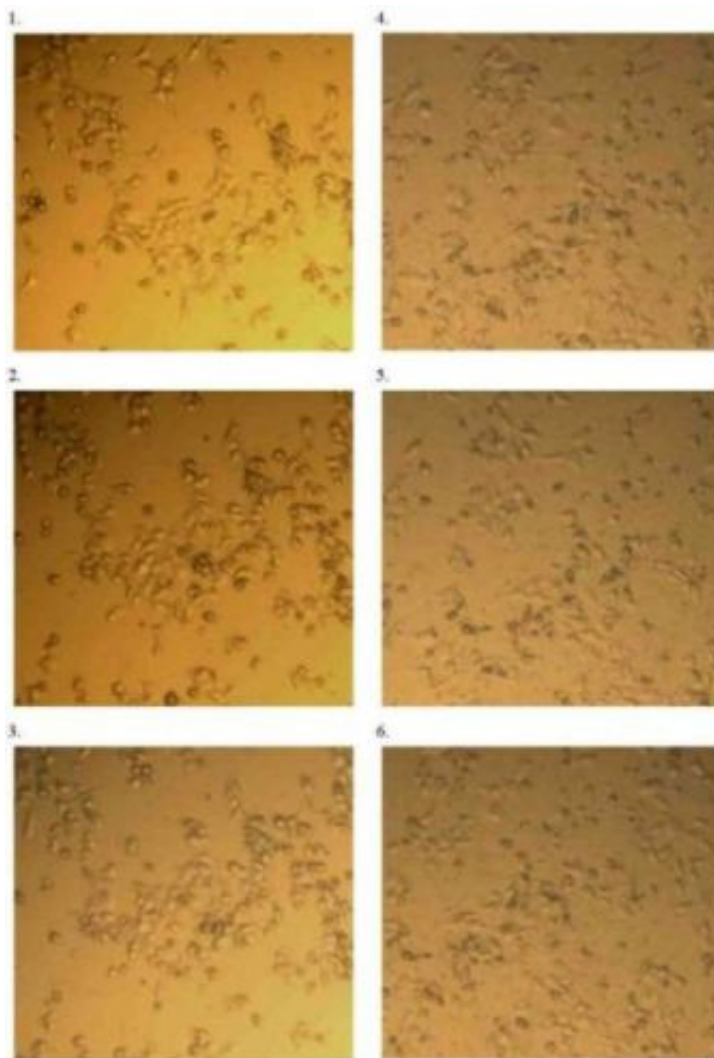


Рис. 2. Колонии MDCK-II клеток, культивируемые на поверхности кварцевого кристалла, покрытого золотым напылением, встроенного в биореактор микрокапиллярной сенсорной системы, находящиеся под постоянным током жидкости (1 мл/час): 1, 2, 3 - с добавлением HGF в концентрации 50 нг/мл в начале эксперимента (1), через 3,5 ч (2), через 7ч (3); 4, 5, 6 - без добавления HGF в начале эксперимента (4), через 3,5 ч (5), через 7ч (6);

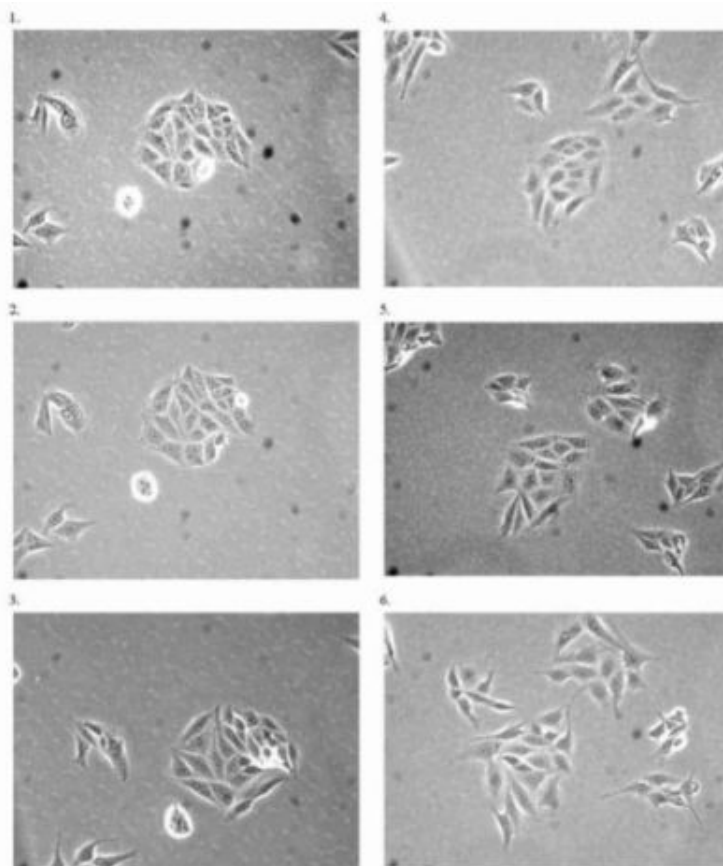


Рис. 3. Воздействие гепатоцитарного фактора роста (далее HGF) на подвижность колоний клеточных культур MDCK-II, культивируемых на поверхности чашек Петри (полипропилен) без применения механического стресса: 1,2,3 - без добавления HGF, в начале эксперимента, через 3,5 часа, через 7 часов; 4,5,6- HGF в концентрации 50 нг/мл в начале эксперимента, через 3,5 часа, через 7 часов;

Литература

1. Jacobs, T. Online adhesion analysis of hepatocyte growth factor stimulated cells with resonant biosensor / K. Bolaeva, T. Kähne, M. Naumann, P. Hauptmann // Proceedings of the XXII Eurosensors Conference. - 2008. - P. 1185-1188

2. Jacobs, T. Micro Fluidic Biosensor System Based on Quartz Crystal Resonators for Fast Online Adherent Cell Proliferation and Stimulation Analysis / A. Gomide, T. Kähne, A. Kienle, M. Naumann, P. Hauptmann // Proceedings of the 6th IEEE Sensors Conference. 2007. - P. 720-723
3. Jacobs, T. Impact of flow-through regime on the cultivation of epithelial cells on quartz crystal resonators in micro fluidic channels /G. Cama, K. Bolaeva, M. Naumann, P. Hauptmann // Procedia Chemistry. - 2009. - Vol 1. - P. 365-368
4. Cama, G. Influence of statistical variations in cell distribution on the proliferation kinetics of Madin-Darby canine kidney cells on quartz crystal resonator / K. Bolaeva, T. Jacobs, M. Hartmann, S. Hirsch, M. Naumann, P. Hauptmann // Procedia Chemistry. - 2009. - Vol. 1. - P. 373-376
5. Davis, P.F. Mechanical stress mechanisms and the cell. An endothelial paradigm / S.C. Tripathi // Circ Res. - 1993. - N 72. - P. 239-245
6. Ashida, N. Vortex-mediated mechanical stress induces integrin-dependent cell adhesion mediated by inositol 1,4,5 triphosphate-sensitive Ca²⁺ release in THP-1 cells / H.Takechi, T.Kita. H.Arai // JBC. - 2003. - Vol 278. - N 11. - P. 9327-9331
7. Russel, D. Mechanical stress induces profound remodeling of keratin filaments and cell junctions in epidermolysis bullosa simplex keratinocytes /P.D. Andrews, J.James, E.B. Lane //Jour of Cell Science. - 2004. - N 117. - Vol 22. - P. 5233-5243
8. Hirata, H. Mechanical forces facilitate actin polymerization at focal adhesions in a zyxin-depedent manner /H.Tatsumi, M.Sokobe //Journal of Cell Science. - 2008. - N121. - Vol.17. - P.2795-2804
9. Hu X, Mechanical stress upregulates intercellular adhesion molecule-1 in pulmonary epithelial cells / Y. Zhang , D. Cheng , Y. Ding , D. Yang , F. Jiang , C. Zhou , B. Ying , F. Wen // Respiration. - 2008. - N 76. - Vol 3. - P. 344-50
10. Zarnegar, R. The many faces of hepatocyte growth factor: from hepatopoiesis to hematopoiesis // G. K. Michalopoulos // J Cell Biol. - 1995. - N. 129. - P. 1177-1180
11. Kunito, M., and Nakamura, T., Emerging Multipotent Aspects of Hepatocyte Growth Factor // J Cell Biol. - 1996. - N. 119. - P. 591-600
12. P.G. Dowrick Scatter factor affects major changes in the cytoskeletal organization of epithelial cells /A.R. Prescott, R.M. Warn //Cytokine. - 1991. - Vol 3. - N 4. - P. 299-310
13. Lin, Z., Differential response of myofibrillar and cytoskeletal proteins in cells treated with phorbol myristate acetate / J. Eshleman, C. Grund, D. A.,Fischman, T. Masaki, W. W. Franke and H. Holtzer // The Journal of Cell Biology. - 1989. - Vol 108. - P. 1079-1091

РОЛЬ КИСЛОРОДА В АВТОКОЛЕБАТЕЛЬНОЙ РЕАКЦИИ БРИГГСА-РАУШЕРА

Бондаренко А. В., Рытик А. П., Усанов Д. А.

Саратовский государственный университет

neznakomka317@yandex.ru

Целью работы явилось исследование влияния на механизм протекания реакции Бриггса - Раушера (БР) кислорода и его радикальных форм, входящих практически во все ее стадии в том или ином соединении [1]. В ходе экспериментов было установлено, что на поведение реакции БР влияет не только концентрация исходных реагентов, но и фактор перемешивания, электромагнитное поле и т.д. При аэрации среды реакция протекает быстрее (~ 15%), возможно, из-за дополнительного перемешивания, вносящего непостоянство в концентрации задействованного в реакции кислорода. При воздействии на среду реакции излучения на частотах спектра поглощения кислорода 129ГГц совместно с аэрацией, скорость реакции увеличилась: период между осцилляциями сократился по сравнению с контролем почти вдвое. Время колебаний при этом уменьшилось ~ 30%. Полученные результаты подтверждают факт важной роли кислорода в осцилляциях реакции БР. Можно говорить, что высвобождение эндогенного кислорода в среде происходит также с осцилляциями, что может быть использовано для управления автоколебательным процессом, в частности, его пролонгацией и перезапуском.

Литература

1. Жаботинский А.М., Огмер Х., Филд. Р. И др. Колебания и бегущие волны в химических системах: Пер. с англ. / Под ред. Р.Филда и М.Бургера. - М.: Мир, 1988, 720с.

**ПЕРСПЕКТИВЫ ПОВЫШЕНИЯ УСТОЙЧИВОСТИ ДРЕВЕСНЫХ
КУЛЬТУР С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ СИМБИОТИЧЕСКИХ СВЯЗЕЙ
РАСТЕНИЙ С МИКОРИЗООБРАЗУЮЩИМИ ГРИБАМИ**

Бухарина И.Л., Ведерников К.Е., Камашева А.А.

Удмуртский государственный университет,
Ижевская государственная сельскохозяйственная академия

buharin@udmlink.ru

В живой природе широко распространены симбиотические связи растений с микоризообразующими грибами. Считается, что 80-85% изученных видов растений в природе имеют экто- или эндомикоризу в корневой системе. Использование симбиотических связей растений с микоризообразующими микроскопическими грибами в целях повышения их устойчивости и улучшения минерального питания при культивировании является современным перспективно развивающимся направлением биотехнологий. Для их использования с целью решения проблем создания устойчивых древесных насаждений на техногенно нарушенных территориях, необходимо выделение полезной микоризообразующей флоры из корней древесных растений, произрастающих в условиях техногенной нагрузки и имеющих высокие баллы жизнестойкости, последующее определение систематической принадлежности грибов, их дальнейшее тестирование на устойчивость к поллютантам.

Исследование систематической принадлежности микоризообразующих грибов является важным и первостепенным этапом в разработке биотехнологического метода устойчивости посадочного материала древесных культур. Оно трудоемко и включает ряд последовательных этапов.

Исследования проводились в г. Ижевск, являющимся крупным промышленным центром Уральского региона с населением свыше 630 тыс. человек и хорошо развитой транспортной инфраструктурой. Основными отраслями промышленности города являются черная металлургия, машиностроение, теплоэнергетика. Большинство промышленных предприятий располагается в черте города, поэтому экологическая ситуация в городе достаточно непростая. Для города актуальна проблема старения зеленого фонда и реконструкции насаждений, для чего необходим не только подбор определенного

перечня древесных культур, но и применение новых технологических приемов его культивирования.

Объектом исследований являлись древесные растения четырех видов: клен ясенелистный (*Acer negundo* L.) и клён остролистный (*Acer platanoides* L.); ель колючая (*Picea pungens* Engelm) и ель европейская (*Picea abies* (L). Karst.).

Виды растений были подобраны таким образом, чтобы иметь возможность сравнения представителей аборигенной и интродуцированной флоры. Эти виды широко представлены в насаждениях города различных экологических категорий. Таким образом, исследовались растения, произрастающие в насаждениях, испытывающих техногенную нагрузку разной степени интенсивности: магистральные посадки и санитарно-защитные зоны промышленных предприятий. Согласно методическим подходам С.Н. Краснощековой (1987), в качестве зон условного контроля выбраны территории городского парка ландшафтного типа - ЦПКиО им. С.М. Кирова (для интродуцированных и аборигенных видов древесных растений) и пригородная зона города (для аборигенных видов древесных растений).

Для сбора образцов корневой системы были отобраны модельные особи древесных растений среднегенеративного онтогенетического (g2) и хорошего жизненного состояния по таксационным и физиолого-биохимическим показателям (не менее трех особей каждого вида растений в разных типах насаждений) (Николаевский, 1999; Инструкция по проведению..., 2002; Бухарина, Поварницина, Ведерников, 2007; Бухарина, Журавлева, Большова, 2012). Образцы корней у модельных растений отбирались согласно методике отбора образцов корневых систем, не нарушая существующие Правила создания, охраны и содержания зеленых насаждений (1999) с разрешения Управления природных ресурсов и охраны окружающей среды Администрации г. Ижевска. Был проведен сбор образцов корневой системы у 34 древесных растений. Образцы корней после стерилизации хранились в фиксированном виде (жидкость Корнуа) и воздушно сухом состоянии.

Наличие эндомикоризы определялось при помощи микроскопирования фиксированных корневых образцов. Для этого проводилось удаление фиксирующей жидкости Корнуа, парафинизация образцов и приготовление микропрепаратов. Микроскопирование срезов корней осуществлялось с использованием микроскопа ZEISS AXIOSKOP методом световой и люминесцентной микроскопии. В 17 исследуемых образцах из 34 была обнаружена эндомикориза.

Образцы корней, в которых была обнаружена микориза, были

использованы для посева и выращивания чистой культуры гриба, для дальнейшего приготовления экстракта и идентификации ДНК. Предварительно выделено шесть морфотипов микроскопических грибов, проведен анализ спор. Идентификация грибов осуществлялась методом РСР –анализа, методом клонирования фрагментов ДНК с последующей их идентификацией. Из перспективных образцов можно отметить обнаруженных в корневой системе клена остролистного представителей родов *Leptodontidium*, *Tetracladium*.

Литература

1. Бухарина И.Л., Поварницина Т.М., Ведерников К.Е. Эколого-биологические особенности древесных растений в урбанизированной среде: монография. - Ижевск: ФГОУ ВПО Ижевская ГСХА, 2007. - 216 с.
2. Бухарина И. Л., Журавлева А. Н., Большова О. Г. Городские насаждения: экологический аспект: монография: монография. Ижевск : Удмурт. ун-т, 2012. - 204 с.
3. Инструкция по проведению инвентаризации и паспортизации насаждений городских озелененных территорий, Москва, 2002 г.
4. Краснощекова, Н.С. Эколого-экономическая эффективность зеленых насаждений: Обзорная информация. - М. : ЦЕНТИ Минжилкомхоза РСФСР, 1987. - 44 с.
5. Николаевский, В.С. Методы оценки состояния древесных растений и степени влияния на них неблагоприятных факторов / В.С. Николаевский, Н.Г. Николаевский, Е.А. Козлова // Лесн. Вестник. - 1999. - № 2(7). - С.76-77.
6. Правила создания, охраны и содержания зеленых насаждений в городах Российской Федерации (утв. приказом Госстроя РФ 15 декабря 1999 г. № 153).
7. Habte, M., and N.W. Osorio. 2001. Arbuscular mycorrhizas: producing and applying arbuscular mycorrhizal inoculum. СТАНР, Univ. of Hawaii, Honolulu. 47 pp.

АДАПТАЦИЯ МЕТОДИКИ ВЫДЕЛЕНИЯ ТОТАЛЬНОЙ РНК ИЗ ЖИРОВОЙ ТКАНИ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ТКАНЕСПЕЦИФИЧЕСКОЙ ЭКСПРЕССИИ КЛЮЧЕВЫХ МЕДИАТОРОВ, ВОВЛЕЧЕННЫХ В РЕГУЛЯЦИЮ ПРОЦЕССОВ МЕТАБОЛИЗМА ЖИРОВОЙ ТКАНИ

Василенко М.А., Фаттахов Н.С., Мазунин И.О., Литвинова Л.С.

Балтийский федеральный университет им. И.Канта, г. Калининград,
Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск

nikola.fattahov@mail.ru

Жировая ткань является активным гормональным органом. Известно более 100 биологически активных веществ, адипокинов и цитокинов, продуцируемых и секретируемых элементами жировой ткани – адипоцитами и макрофагами. Экспериментальные и клинические исследования последних лет выявили новый феномен: ожирение приводит к воспалению жировой ткани (ВЖТ) [Шварц В., 2009]. Воспалительный процесс решающим образом сказывается на метаболической и секреторной функции жировой ткани и играет ведущую роль в развитии сопровождающих ожирение патологических процессов, таких как метаболический синдром, сахарный диабет 2 типа, атеросклероз и др. [Gaillard S., Gaillard R., 2007]. Дальнейшие исследования в области изучения молекулярных и клеточных механизмов формирования ВЖТ, должны быть сосредоточены на выявлении общих закономерностей и особенностей тканеспецифической продукции ключевых медиаторов, вовлеченных в регуляцию процессов метаболизма жировой ткани.

Известно, что первым шагом в исследовании профилей геной экспрессии является выделение и очистка тотальной РНК из биологического образца. Для этого имеется целый ряд протоколов и готовых к использованию реакционных смесей (китов) [Антонова и др., 2010]. Стратегия определяется источником биологического материала. Так, экстракция РНК из жировой ткани очень затруднительна из-за высокой скорости процессов посмертной деградациии ткани и ее высокой метаболической активности. Стоит также отметить общие трудности работы с РНК по сравнению с ДНК. Условия хранения выделенных образцов и манипуляции с ними, несомненно, являются ключевыми условиями успеха экспериментов по анализу транскрипции РНК, в связи с ее высокой нестабильностью.

Цель работы: адаптация методики выделения тотальной РНК из жировой ткани разной локализации.

Взятие биологического материала осуществляли в ходе выполнения плановых лапароскопических операций у пациентов, страдающих метаболическим синдромом (МС) (ИМТ > 35 кг/м³), с обязательным подписанием информированного согласия на использование биологического материала в эксперименте.

Образцы жировой ткани из мест разной локализации (большой сальник, брыжейка, подкожный жир) (0,5 x 0,5 см) помещали в пробирки с буфером RNA later RNA Stabilization Reagent («QIAGEN», Германия), из расчета 10 мкл буфера на 1 мг ткани. Согласно протоколу производителя, биологические образцы жировой ткани сохраняли в течение 12 часов при 2-8°C после взятия, затем замораживали при температуре -80°C до непосредственного их использования.

Затем, после размораживания, необходимое количество жировой ткани переносили в пробирки объемом 1,5 мкл с помощью хирургического пинцета. Перед выделением РНК жировую ткань тщательно размельчали и гомогенизировали, используя стерильные ножницы и гомогенизатор.

Выделение и очистку тотальной РНК осуществляли с применением набора «ExtractRNA» («ЕВРОГЕН», Россия), являющегося монофазным водным раствором фенола и гуанидин-изотиоцианата.

Протокол производителя включал следующие стадии:

1. 15 мг жировой ткани гомогенизировали в 500 мкл раствора ExtractRNA.
2. Лизат инкубировали при комнатной температуре в течение 10-15 мин, для полной диссоциации нуклеопротеидных комплексов.
2. Центрифугировали лизат при 14 000 об/мин в течение 10 минут для удаления нерастворенных фрагментов. Супернатант переносили в новую пробирку.
3. Добавляли 100 мкл хлороформа, активно перемешивая содержимое пробирки вручную в течение 15 секунд.
4. Инкубировали в течение 3-5 мин при комнатной температуре, периодически встряхивая.
5. Центрифугировали образцы при 12 000 об/мин в течение 15 минут при 4 °С.
6. Аккуратно отбирали водную фазу, держа пробирку под углом 45°, избегая касания органической фазы и интерфазы.
7. Добавляли в водную фазу 250 мкл 100% изопропилового спирта.
9. Инкубировали смесь при комнатной температуре в течение 10 мин.

10. Центрифугировали образцы при 12 000 об/мин в течение 10 мин при комнатной температуре.

11. Тщательно убирали супернатант, оставив осадок РНК на дне пробирки.

12. Аккуратно по стенке пробирки добавляли 1000 мкл 80 % этанола.

13. Образец центрифугировали на 15 000 об/мин при комнатной температуре. Осторожно удаляли этанол.

14. Высушивали осадок на воздухе в пробирке с открытой крышкой в течение 7 мин.

15. Растворяли РНК в 50 мкл воды, свободной от РНКаз. Перемешивали раствор пипетированием. Для лучшего растворения осадка, встряхивали на вортексе.

Концентрацию выделенной РНК определяли на спектрофотометре NanoVue Plus («GE Healthcare», США).

Концентрация РНК из 15 мкг жировой ткани, в среднем, составляла 80 ± 20 мкг/мл.

Элюированную РНК распределяли на аликвоты и замораживали на -80°C для дальнейших исследований.

Дальнейшие манипуляции (синтез комплементарной ДНК и полимеразная цепная реакция в реальном времени) показали, что выделенная таким способом РНК пригодна для исследований, связанных с изучением экспрессии определенных генов.

Вывод: адаптированная методика выделения тотальной РНК из жировой ткани позволяет получать достаточное количество РНК для изучения особенностей тканеспецифической экспрессии ключевых медиаторов, вовлеченных в регуляцию процессов метаболизма жировой ткани.

Исследование выполнено в рамках реализации Федеральной целевой программы «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009 - 2013 годы (ГК №П329, а также в рамках Соглашения № 14.А18.21.1518).

**АКУШЕРСКАЯ ПАТОЛОГИЯ У ВЫСОКОПРОДУКТИВНЫХ
МОЛОЧНЫХ КОРОВ КАК СЛЕДСТВИЕ НАРУШЕНИЙ В СИСТЕМЕ
ПОЛ-АОЗ**

Венцова И.Ю., Пелевина Г.А., Артемов Е.С.

ФГБОУ ВПО «Воронежский государственный аграрный университет
имени императора Петра I»

inna_vencova@mail.ru

Среди множества проблем ведения интенсивного молочного скотоводства наиболее актуальной продолжает оставаться проблема патологии беременности, родов и послеродового периода у высокопродуктивных коров, во многом связанная с расстройством метаболических процессов в организме животных [1-4].

Основной задачей наших исследований было изучение процессов перекисидации липидов и состояния отдельных звеньев системы антиоксидантной защиты у коров красно-пестрой породы, принадлежащих ГПЗ "Дружба" Павловского района Воронежской области, со среднегодовой молочной продуктивностью 6 - 6,5 тыс.кг и более на завершающем этапе беременности и в динамике послеродового периода, как при нормальном, так и при патологическом их течении.

В цельной крови и сыворотке определяли содержание малонового диальдегида, активность каталазы, глутатионредуктазы, ферроксидазную активность церулоплазмينا, содержание витамина Е и каротина. Исходя из этих данных, был проведен сравнительный ретроспективный анализ интенсивности течения процессов ПОЛ и состояния системы АОЗ у коров с нормальным течением родов и послеродового периода (n = 83) и с акушерской патологией (задержание последа, субинволюция матки, катарально-гнойный эндометрит, n = 71).

Анализ состояния системы ПОЛ-АОЗ у коров с нормальным течением послеродового периода и у животных с акушерской патологией показал, что уже за два месяца до отела у последних выявляется пониженная мощность как неферментативного, так и ферментативного звеньев системы АОЗ. Об этом свидетельствуют более низкие показатели в крови всех биооксидантов: витамина Е - на $3,9-23,2\%$ ($32,4 \pm 2,40 - 25,9 \pm 2,16$ против $31,9 \pm 1,68$ мкМ/л, $P < 0,05$), каротина - на $17,8-32,2\%$ ($4,22 \pm 0,94 - 3,76 \pm 0,08$ против $4,97 \pm 0,87$ мкМ/л), активности каталазы - на $5,7-10,1\%$ ($34,9 \pm 2,15 - 33,5 \pm 0,65$ против $36,9 \pm 4,08$ мкМ $H_2O_2/л \cdot мин \cdot 10^3$), глутатионредуктазы - на $2,3-5,5\%$ ($430,1 \pm 18,88 - 417,3 \pm 13,13$ против $440,2 \pm 10,06$ мкМ G-SS-G/л·мин), церулоплазмينا - на $3,9-5,7\%$

(305,6±15,65 – 300,2±10,41 против 317,4±12,41 мкМ бензохинона/л·мин).

Следствием сниженного функционального состояния систем, контролирующих интенсивность течения процессов ПОЛ, является более высокое содержание в крови малонового диальдегида 0,90±0,05 – 1,04±0,03 против 0,74±0,02 мкМ/л.

За неделю до родов отмечено повышение содержания в крови малонового диальдегида у всех животных на 8,6-25,7% при сохранении достоверной разницы ($P<0,05$) между здоровыми и больными животными. Одновременно зарегистрировано снижение функционального потенциала системы АОЗ.

Предродовая стрессовая активация процессов ПОЛ и существенные изменения в функциональном состоянии системы АОЗ захватывают и послеродовой период. Так, через неделю после родов у здоровых животных содержание в крови малонового диальдегида в сравнении с предродовым периодом повысилось на 10,8% и у заболевших – на 12,1-5,1%. При этом, показатели у последних превышали показатель здоровых животных на 6,8-26,2%.

Изменения в системе АОЗ проявлялись снижением содержания в крови витамина Е у здоровых коров на 40% и у заболевших – на 8,7-38,2%, каротина, соответственно, на 12,5% и 5,7-18,1%, активности каталазы на 11,2% и 1,7-14,1%, глутатионредуктазы на 6,5% и 4,3-13,4%. Что же касается ферроксидазной активности церулоплазмينا, то у животных с акушерской патологией выявляется некоторая тенденция к ее снижению, а у коров с нормальным течением послеродового периода, наоборот, отмечено ее увеличение на 12,7% (с 284,3±11,08 до 320,3±10,56 мкМ бензохинона/л·мин, $P<0,05$). Это, вероятно, позволяет адекватно контролировать активность процессов ПОЛ и предупреждать развитие патологического процесса.

С завершением послеродовой инволюции половых органов в крови здоровых животных значительно возрастает мощность всех контролируемых показателей АОЗ и снижается содержание вторичных продуктов ПОЛ на 21,2% ($P<0,001$). У коров с патологией родов в этот период содержание малонового диальдегида в крови превышает таковое здоровых животных на 41,2-56,5% (1,20±0,03 – 1,33±0,08 против 0,85±0,04 мкМ/л, $P<0,001$). Для них характерными остаются более низкие показатели содержания и активности биооксидантов: витамина Е (16,3±1,44 – 23,3±1,68 против 28,1±2,4 мкМ/л у здоровых животных), каротина (3,48±0,22 – 3,68±0,10 против 4,16±0,42 мкМ/л), активности каталазы (28,6±0,81 – 31,1±1,76 против 35,8±3,54 мкМ $\text{H}_2\text{O}_2/\text{л}\cdot\text{мин}\cdot 10^3$), глутатионредуктазы (379,1±11,46 – 383,9±13,77 против 407,5±10,97 мкМ

G-SS-G/л·мин) и церулоплазмина ($289,5 \pm 11,64$ - $315,3 \pm 19,83$ против $318,6 \pm 11,08$ мкМ бензохинона/л·мин).

Таким образом, завершение беременности и приближение родов у коров сопровождается нарастанием напряженности в метаболических процессах, активизацией ПОЛ и изменениями функционального состояния системы АОЗ организма. Ранний послеродовой период у коров характеризуется дальнейшей активизацией перекисидации липидов и снижением мощности системы АОЗ. Стабилизация этих процессов отмечается в конце послеродового периода.

У коров с риском развития акушерской патологии уже за два месяца до родов отмечается тенденция к снижению функционального потенциала системы АОЗ и накоплению продуктов ПОЛ. Акушерская патология во время и после родов развивается на фоне высокой интенсивности свободнорадикального окисления липидов и пониженной активности в системе АОЗ.

Следовательно, своевременный контроль за состоянием метаболических процессов, особенно в системе ПОЛ-АОЗ, как ведущего звена в обеспечении нормального функционирования различных физиологических систем и в патогенезе многих заболеваний, дает возможность для ретроспективного анализа в прогнозировании развития акушерской патологии и ее ранней профилактики. А это, в свою очередь, является ведущим фактором в обеспечении высокого уровня продуктивности животных.

Литература

1. Близнецова Г.Н., Рецкий М.И., Нежданов А.Г., Сафонов В.А. Антиоксидантный статус и продукция оксида азота у коров при акушерско-гинекологической патологии. - Докл. РАСХН. - № 1. - 2008. - С. 53-55.
2. Конопельцев И.Г. Озонотерапия озонпрофилактика воспалительных заболеваний и функциональных расстройств матки у коров // Автореф. Дисс. ... докт. ветеринар. наук. - Воронеж, 2004. - 40 с.
3. Нежданов А.Г., Нежданов А.Г., Сафонов В.А., Лободин К.А., Венцова И.Ю. Нарушение воспроизводительной функции у высокопродуктивных молочных коров как следствие расстройств метаболических процессов. - Проблемы биологии продуктивных животных.: Научно-теоретический журнал. - № 4. - 2011. - С. 91-93.
4. Naziroglu M., Gur S. Antioxidants and lipid peroxidation levels of blood and cervical mucus in cows in relation to pregnancy // Dtch. Tierarztl. Wochenschr., 2000. - V. 107. - № 9. - P. 374-376.

ИЗМЕНЕНИЕ АНТИКОНФЛИКТНОЙ АКТИВНОСТИ ДИАЗЕПАМА У САМЦОВ КРЫС ПОД ВЛИЯНИЕМ СОЦИАЛЬНОЙ ИЗОЛЯЦИИ

Вердиян Г.Г., Манвелян Э.А.

ФГАОУ ВПО «Северо-Кавказский федеральный университет, г.
Ставрополь

genrik88@mail.ru

Целью настоящей работы была оценка изменения специфического антиконфликтного действия диазепама у самцов крыс, содержащихся в условиях социальной изоляции.

Методы исследования. Оценивали конфликтное поведение половозрелых крыс - самцов Вистар (240-250 г) в вечернее время [1]. Социальную изоляцию моделировали путем одиночного содержания животных в клетках. Диазепам (0,1; 0,5 мг/кг), физиологический раствор (контроль) вводили внутривенно за 30 минут до опыта.

Результаты. Бензодиазепин в малой дозе статистически значимо ограничивал питьевую активность самцов, подвергнутых социальному стрессу, по сравнению с показателями соответствующих контрольных крыс. С увеличением дозы транквилизатора отмечалась тенденция к снижению количества приемов воды животными, содержащимися в условиях социальной изоляции. Вместе с тем, диазепам у крыс, содержащихся в обычных условиях вивария, в обеих использованных дозах достоверно увеличивал количество взятий воды, несмотря на болевое раздражение.

Таким образом, в обеих дозах препарат у самцов, содержащихся в обычных условиях вивария, отчетливо проявлял специфическое антиконфликтное действие, что хорошо согласуется с данными, ранее полученными в нашей лаборатории [1]. Напротив, у самцов, подвергнутых социальной изоляции, бензодиазепин в дозе 0,1 мг/кг проявлял анксиогенное влияние, а в большей дозе вызывал тенденцию к ограничению питьевого поведения. Выполненное исследование выявило инверсию антиконфликтного действия классического бензодиазепинового транквилизатора диазепама у самцов крыс под действием социальной изоляции.

Выводы. Диазепам в дозе 0,1 мг/кг у самцов крыс, подвергнутых социальной изоляции, проявляет анксиогенное влияние.

Литература

1. Манвелян, Э. А., Батурин В. А. Половые и хронобиологические различия в активности диазепама у крыс в тесте конфликтной ситуации // Эксперим. и клин. фармакол. 2008. № 4. С.11-13

ВОСПРОИЗВОДСТВО РЕСУРСОВ КАРЕЛЬСКОЙ БЕРЕЗЫ С ПОМОЩЬЮ СОВРЕМЕННЫХ БИОТЕХНОЛОГИЙ

Ветчинникова Л.В., Титов А.Ф.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт леса Карельского научного центра Российской академии наук,
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии Карельского научного центра Российской академии наук

vetchin@mail.ru

В последние десятилетия во многих странах и регионах заметно обострилась проблема сохранения и восстановления генофонда редких и исчезающих видов растений. В их ряду особое место занимает карельская береза (*Betula pendula* var. *carelica* (Mercklin) Hämet-Ahti), получившая широкое признание благодаря ценной узорчатой текстуре древесины. Лесов она не образует, имеет локальный ареал, расположенный исключительно в Европе: в северных и восточных регионах на очень небольших по площади территориях.

Оценка состояния природных насаждений карельской березы на территории Республики Карелия, проведенная нами в первое десятилетие 21-го века, показала, что неконтролируемые рубки, периодически наблюдаемые здесь в течение последнего столетия, привели не только к сокращению запасов этой ценной породы, но и к снижению жизнеспособности популяции в целом. Особое опасение вызывает то обстоятельство, что естественное семенное возобновление карельской березы на территории республики практически отсутствует.

Таким образом, в силу ограниченности ресурсов и низкого уровня самовоспроизводства карельская береза оказалась в последние годы под угрозой исчезновения. Поэтому в 2007 г. она внесена в «Красную книгу Республики Карелия», в 2008 г. – в постановление Правительства Российской Федерации «Об утверждении перечня видов, деревьев и кустарников, заготовка которых не допускается».

Для сохранения сокращающегося генофонда березы, наряду с традиционными способами вегетативного размножения, целесообразно использовать современные биотехнологии. Наиболее перспективной среди них является технология клонального микроразмножения в культуре *in vitro*, основанная на реализации потенциальной способности вегетативных клеток высших растений дифференцироваться в целый

организм. Как известно, тотипотентная клетка обладает генетической информацией, необходимой для роста и развития целого организма. Это означает, что под воздействием определенных гормонов в соответствующих условиях культивирования *in vitro* из клеток вегетативной ткани можно вырастить большое количество генетически однородных растений.

Биотехнологии вегетативного размножения растений на основе тканевой культуры успешно применяются для многих видов и генотипов в практических целях, а изолированная культура тканей поддерживается *in vitro* в течение нескольких десятилетий. Однако способность к регенерации органов и целых растений из соматических (вегетативных) тканей *in vitro* у большинства лесных древесных растений значительно ниже, чем у травянистых.

В Институте леса КарНЦ РАН исследования по лесной биотехнологии начаты в конце 80-х гг. В 1992–93 гг. были осуществлены первые опытно-производственные испытания по выращиванию карельской березы путем клонального микроразмножения. В 1996 г. одна из разработок защищена патентом РФ на изобретение № 2066953 (Ветчинникова и др., 1996). После некоторого перерыва в 2005 г. работы по клональному микроразмножению лиственных древесных растений были возобновлены.

Для воспроизводства ресурсов карельской березы с помощью современных биотехнологий нами ведется постоянный отбор генотипов, характеризующихся ярко выраженными признаками узорчатой текстуры древесины, и введение их в культуру *in vitro*. К настоящему времени получена стерильная культура 37 клонов карельской березы разного происхождения.

Процесс клонального микроразмножения состоит из ряда последовательных этапов (Катаева, Бутенко, 1983; Байбурина, 1998; Ветчинникова, 2004, 2005), каждый из которых имеет свои особенности. Наиболее ответственным является стерилизация вегетативной ткани от микрофлоры, находящейся на поверхности растительной ткани, и получение исходной меристемы, сохраняющую морфогенетическую потенцию, т.е. способность тканей к делению и дальнейшему развитию. Получение стерильной меристемы и ее производных у генотипов карельской березы в культуре *in vitro* обычно занимает около 3–4 недель. Культивирование выполняется при температуре $25 \pm 2^\circ\text{C}$, 16-часовом фотопериоде с дополнительным искусственным освещением (4–5 клк).

Собственно размножение (мультипликация или копирование) осуществляется на питательной среде, обеспечивающей морфо- и

органогенез. В среднем индукция почек у карельской березы наблюдается в течение 4-10 недель. По мере нарастания биомассы и увеличения числа побегов, а также с целью сохранения жизнедеятельности меристемы и ее способности к делению, постоянно проводится пересадка тканей вновь образуемых побегов или субкультивирование на свежую среду. Если субкультивирование побегов не обеспечивается вовремя (не реже, чем каждые 3-4 недели) культура может погибнуть. В целом процесс субкультивирования продолжается многократно, может поддерживаться не один год и зависит от потребности в числе клонов и объеме посадочного материала.

При органогенезе *in vitro* образование побегов и корней происходит изолированно и для их развития необходимы различные питательные среды. Корнеобразование *in vitro* наблюдается обычно на 7-10-й день и составляет 80-100%.

Пересадка растений-регенерантов в почву является ответственным этапом, завершающим процесс клонального микроразмножения. Аклиматизация растений-регенерантов (особенно в первые две недели) и их последующее доращивание проводится в теплицах. Весной следующего года растения обычно пересаживаются из кассет в полиэтиленовые цилиндры, а еще через год - в открытый грунт.

При разработке научных основ клонального микроразмножения карельской березы, наряду с основными принципами селекции, мы учитываем тот факт, что регуляция морфогенеза может осуществляться фитогормонами. Среди последних первостепенная роль принадлежит цитокининам, которые снимают апикальное доминирование, индуцируют развитие пазушных почек, стимулируют деление клеток (Катаева, Бутенко, 1983). На основании проведенных исследований показано положительное влияние цитокинина на рост и морфогенез апикальной меристемы карельской березы в культуре *in vitro*, включающее не только усиление процессов формирования листового аппарата (до 30%), но и каллусной ткани (до 60%). При отсутствии цитокинина в питательной среде зафиксировано сдерживание роста и развития как листовой, так и каллусной массы на фоне некоторого изменения в содержании пигментов. Использование низких концентраций ростовых веществ препятствует процессу каллусообразования или значительно снижает скорость его формирования. Это является важным моментом, поскольку тем самым практически исключается возможность появления хромосомных нарушений и аберраций, обуславливающих самоклональную изменчивость ткани исходного генотипа.

Таким образом, проведенные исследования показали

целесообразность и эффективность применения современных биотехнологий клонального микроразмножения для воспроизводства ресурсов карельской березы. Более того, экономически оправдано выращивать карельскую березу искусственно, поскольку она является быстрорастущей породой и может подлежать рубке уже в возрасте 20–40 лет.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке Программы фундаментальных исследований Отделения биологических наук РАН «Биологические ресурсы России: динамика в условиях глобальных климатических и антропогенных воздействий» по разделу «Биотехнология рационального использования биологических ресурсов».

Литература

1. Байбурина Р.К. Микрочлональное размножение взрослых гибридных деревьев *Betula pendula* Roth var. *carelica* Mercl. // Растительные ресурсы. 1998. Т. 34, вып. 2. С. 9–22.
2. Ветчинникова Л.В. Карельская береза: ареал, разнообразие, охрана и перспективы воспроизводства // Труды Кар НЦ РАН. Вып. 6. Петрозаводск, 2004. С. 3–16.
3. Ветчинникова Л.В. Карельская береза и другие редкие представители рода *Betula* L. М.: Наука, 2005. 269 с.
4. Катаева Н.В., Бутенко Р.Г. Клональное микроразмножение растений. М.: Наука, 1983. 96 с.
5. Welander M. Micropropagation of birch // Micropropagation of Woody Plants / Ed. by Ahuja M. R. 1993. P. 223–246.

**МОЛОЧНОКИСЛЫЕ БАКТЕРИИ - ОСНОВА ПРОБИОТИЧЕСКИХ
ПРОДУКТОВ ПИТАНИЯ, РАЗРАБОТАННЫХ УЧЕНЫМИ
КАЗАХСТАНА**

Витавская А.В., Дудикова Г.Н., Баймуханова Д.Б., Пронина Ю.Г.

Алматинский технологический университет,
Казахский НИИ перерабатывающей и пищевой промышленности

dlya_vitavskoi@mail.ru

Коснемся немного истории. Великий русский ученый, лауреат Нобелевской премии Илья Ильич Мечников говорил: «Нет плохого зрения, есть плохой кишечник». Сам Илья Ильич в последние годы своей жизни занимался йогуртотерапией, и оставил нам совет: насильственно заселять в желудочно-кишечный тракт молочнокислые бактерии в виде йогуртов и заверял, что если бы он это делал раньше, хотя бы в детстве или юности, то количество счастливых дней у него было бы больше. по крайней мере, в два раза. Но, по сведениям [1] Илья Ильич не ел ничего сырого. Может быть в этом его ошибка и он все таки рано ушел из жизни. А.С. Пушкин в поэме «Евгений Онегин» говорил: «Им квас, как воздух был потребен ...», а царскую армию кормили хлебом из ржаной муки. Приведем пример данных, опубликованных в материалах «Это интересно» Дарьи Ниловой - «Известный русский историк и кулинар В.В. Похлебкин описал один из походов русской армии, обратив внимание на то, что в Крыму солдаты в силу обстоятельств питались местным хлебом из пшеничной муки, в результате чего участились случаи заболеваний, резко снизилась работоспособность. И только после возврата к прежнему рациону, основой которого был ржаной хлеб, здоровье и боевой дух армии пришли в норму» [2].

Не зря один поэт написал «Черный хлеб загорелый богатырскую силу дал». Известный ученый д.б.н., профессор Шаблин Петр как-то приезжал в Алма-Ату и в своем выступлении первое, что он заявил: Если бы вокруг нас и в нас не было бы молочнокислых бактерий - нас с Вами уже давно бы не было».

Великий ученый биолог Евгений Иванович Квасников [3] писал, что в испражнениях долгожителей Кавказа, рацион которых включал много трав, мацони, козий сыр, мамалыгу из кукурузной муки и вино, им обнаружены молочнокислые бактерии, клетчатка.

Великие полководцы М.И.Кутузов и А.И.Суворов давали указы

фельдшерам заготавливать кислые и горькие травы во избежание болезни животов.

Во всей этой истории прослеживается потребность, закономерность таких продуктов питания и необходимых микроорганизмов, т.е. молочнокислых бактерий, осуществляющих борьбу с нежелательными явлениями в желудочно-кишечном тракте, т.е. наводят чистоту.

В годы второй мировой войны вошли в обиход такие понятия, как антибиотик, т.е. - против жизни, позже пробиотик - жизненный.

Давно человек понял, что нас окружает мир микробов, ведущих либо разрушительную, либо созидательную силу и от того, чем человек питается, зависит его жизненная сила - иммунитет. На данном этапе все диетологи мира утверждают, что 99,9% больных раком - от неправильного питания. Однако, население всего мира, понимая и осознавая это, не собирается изменять свои привычки. Все продолжают питаться вареной, жареной, пареной, т.е. мертвой пищей, открывается сотни тысяч кафе, ресторанов, будок, уголков, манящих белыми булочками, блинами, хот-догами, пирожками, пирожными, пиццей, блюдами из макарон и др. немислимыми бургерами для того, чтобы как можно быстрее заболеть и умереть.

Да, но на страже нашего здоровья стоят молочнокислые бактерии в кисломолочных продуктах, которых не счесть в наших магазинах, но не каждый человек может потреблять молочные продукты, т.к. в них содержится сахар лактоза, неусвояемый человеческим организмом из-за отсутствия фермента лактазы и наличия в молочных продуктах казеина, обладающего огромной склеивающей способностью. В Самарканде стоят минареты, украшенные плиткой небесного цвета с позолотой, скрепленные смесью молока и сырого белка яйца. Возраст этой божественной красоты - четыре века и ни одна плитка не отклеилась и не упала.

И третье - в молоке отсутствует клетчатка, витамин Е, а витамины группы В находятся в мизерных количествах.

Кроме того, для молока характерны микроорганизмы в виде кокков. Еще Королевым С.А. [4] было сказано, что палочковидные молочнокислые бактерии обладают более высокой кислотоустойчивостью по сравнению с кокками, он советовал учитывать это их свойство при приготовлении кисломолочной продукции. По поводу «приживаемости» молочнокислых бактерий в желудочно-кишечном тракте существует мнение, что для того, чтоб они сохранялись в нем, нужно непременно заселять те чистые культуры молочнокислых бактерий, которые выделены из желудочно-кишечного

тракта.

Некоторые авторы заявляют, что например [9], подобранные специальные селекции *Lactobacillus Bulgaricus*, у которых сильно выражена жизнеспособность и устойчивость, развиваются и размножаются в желудочно-кишечном тракте, сохраняясь 10-15 дней после прекращения приема.

Другие утверждают, что подобные молочнокислые бактерии проявляют жизнедеятельность в желудочно-кишечном тракте лишь в течение 5-6 дней после прекращения приема.

Следовательно, для постоянной жизнедеятельности мезофильных молочнокислых бактерий в организме необходима ежедневная подпитка пробиотическими продуктами питания.

На нашу долю выпало счастье [5], возглавлять исследования в вопросе спасения хлеба из пшеничной муки от поражения его картофельной болезнью. Это был 1968 год, когда хлебозавод № 2 г. Алма-Ата ежедневно вырабатывающий 120 тонн в сутки, вынужден был сжигать хлеб в топках своих печей, т.к. хлеб ночной выпечки уже к вечеру заболел, и все магазины звонили, чтоб хлеб забрали обратно. Это были тяжелые времена. Срочно были подключены силы института микробиологии и вирусологии, внедрившие уже к тому времени свои знаменитые закваски «Казахсил» - закваски для силосования кормов. Однако, штамм стрептококков *Streptococcus lactis diastaticus*, показавший блестящие результаты на питательной среде из кукурузного силоса, не «прижился» на питательной мучной среде из пшеничной муки. Аналогичную картину мы получили и с чистой культурой пропионовокислых бактерий. Министерство пищевой промышленности финансировало эти исследования, т.к. оказалось, что болеет хлеб не только в Казахстане, но и во многих городах бывшего СССР. Катастрофа приобрела массовый характер. И, наконец, к 1972-1973 годам мы, еще не до конца изучив теоретическую основу и удостоверившись в том, что собственные штаммы, развивающиеся в любой муке и обладающие высокой кислотообразующей способностью, можно сказать «изгоняют» из среды другие несвойственные для зерна и муки штаммы, внесенные в питательную среду в виде чистых культур. Подобные данные были опубликованы в свое время Воронцовой К.Е., [6] сообщавшей, что в условиях лаборатории она получила эффект ингибирования возбудителя картофельной болезни хлеба - спорообразующих условно патогенных бактерий *V.subtilis* однако, в непрерывно поточном производстве убедилась, что в культивируемых заквасках пропионовокислые бактерии были вытеснены собственными штаммами мезофильных молочнокислых

бактерий. Позже, управление хлебопекарной промышленности Министерства пищевой промышленности выделило нам финансовые средства для того, чтобы мы хорошенько разобрались в этом процессе. А факт был в том, что на разработанный нами биологический способ защиты хлеба от картофельной болезни поступили запросы и он был внедрен в городах Чимкенте, Караганде, Павлодаре, Петропавловске, Фрунзе, Тбилиси, Ереване, Киеве, Днепропетровске, Краснодаре, Донецке, Волгограде.

В городах Волгограде, Днепропетровске, Краснодаре, Самарканде Министерством были организованы и проведены совещания, семинары и обучение новому способу.

Мы, как авторы изобретения и разработчики, отслеживали насколько реально было осуществлено внедрение и какой получен эффект. Позже мы опубликовали очень интересную статью «Опыт предприятий по применению биологического способа для предотвращения картофельной болезни пшеничного хлеба» [7]. Об этом много писали в средствах массовой информации.

К началу 1990 года были завершены работы в Казахском институте биохимии и молекулярной биологии по изучению и выявлению того начала, которое обеспечило блокирование развития спор *V.subtilis* в хлебе при хранении его в провоцирующих условиях. Возглавлял исследования д.б.н., профессор Олег Владимирович Фурсов, исполнитель – к.б.н., а ныне д.б.н., профессор Кузовлев Владимир Дмитриевич. Оказалось, что молочнокислые бактерии заквасок, помимо органических кислот, витамина С и др. продуцируют вещества белкового происхождения (лактоцины) с молекулярной массой 2420 Дальтон, проявляющих антагонистическую активность к *V.subtilis* после выпечки хлеба, когда сами молочнокислые бактерии погибли (температура в центре булки хлеба развесом 800 г, 94-95 °С). Конечно, величина рН и титруемая кислотность также сыграли определенную роль, но основной фактор – это пробиотические свойства мезофильных молочнокислых бактерий. В 1986 г на ВДНХ СССР нас наградили Золотой и Бронзовой медалью за разработку и массовое внедрение в стране нашего биологического способа.

Большая помощь в теории и практике нам была оказана сотрудниками Ленинградского отделения Всесоюзного научно-исследовательского института хлебопекарной промышленности – д.б.н., профессором, директором, членом-корреспондентом Российской Академии сельхознаук Казанской Людмилой Николаевной, д.б.н., профессором Афанасьевой Ольгой Вольдемаровной и другими, а

заместитель директора по науке, заслуженный деятель науки и техники Российской Федерации, д.т.н., профессор Поладова Раиса Дмитриевна в одной из своих публикаций заявила, что весь хлеб, готовившийся с использованием заквасок направленного культивирования относится к пробиотическим продуктам.

Неоценимую помощь по освоению методики определения видовой принадлежности штаммов с использованием иммунных сывороток нам оказал доктор медицинских наук, зав. лабораторией Ленинградского научно-исследовательского института имени И.П. Павлова Зубжицкий Юрий Владимирович, который был специально командирован в г. Алма-Ата, в научную часть проектного института Казгипропищепром с благородной миссией – научить наших микробиологов распознавать и идентифицировать микрофлору населяющую высококислотные пробиотические закваски мезофильных молочнокислых бактерий.

Из заквасок направленного культивирования разработанных нами, было выделено и передано во Всесоюзный институт генетики более шести штаммов мезофильных молочнокислых бактерий – это *L.fermenti*, *L.brevis*, *L.casei*, *L.plantarum*, *L.delbruki*, где они были взяты на депозит, определена их безопасность и штаммы до сих пор находятся на поддержании и хранении во ВНИИ генетики г. Москва. Эти же штаммы находятся в коллекции микроорганизмов лаборатории Научно-исследовательского института пищевой и перерабатывающей промышленности, возглавляемой д.б.н., профессором Дудиковой Г.Н.

Существенна роль молочнокислых бактерий в кормопроизводстве. Нами еще в 2008 году получены данные о положительном влиянии наших пробиотических заквасок на жизнедеятельность цыплят [8].

В последние годы нами продолжаются исследования в плане привлечения новых источников сырья для получения пробиотических заквасок. Так, получены новые научные данные активного роста симбиотической ассоциации молочнокислых бактерий на средах, состоящих из вторичных продуктов переработки риса, отрубей, кукурузы и др. По заказу нами было изготовлено и передано заказчику в условиях лаборатории 8 кг сухой комбинированной закваски для кормления животных.

Приоритетом в сохранении сотни тысяч тонн здорового хлеба, предупреждения желудочно-кишечных заболеваний является разработка нового способа предупреждения картофельной болезни хлеба, которая принадлежит ученым Казахстана. Вот их имена: Шамис Давид Лазаревич, Катаева Александра Алексеевна, Витавская Анастасия Васильевна, Долгих Тамара Павловна, Колтушкина Миральда Ивановна,

Дудикова Галина Николаевна, Шин Алла Павловна, Орлюк Татьяна Михайловна, Соколов Петр Ильич, Гончаров Михаил Дмитриевич, Нафанаилова Лариса Георгиевна, Илялетдинов Альфарид Низамович, Шарманов Торегельды Шарманович, Джурирянц Нина Григорьевна, Курилова Татьяна, Севрюкова Галина Фроловна, Ельцова Ольга Петровна. Активными специалистами, принимавшими непосредственное участие во внедрении новой разработки были – Кобыляцкий Николай Никитович, Тамара Абдибековна Туганбаева, Бормотин Юрий Николаевич, Курилова Вера Павловна и многие другие, отдавшие много сил и здоровья на организацию и выпуск безопасного хлеба.

В дальнейшем, наши закваски были изучены в научном центре педиатрии и детской хирургии г. Алматы для больных детей в надежде облегчить их состояние. Результаты исследования были изложены в монографии авторов [9]. Получено авторское свидетельство на патент РК, защищена докторская и кандидатская диссертации. Но практическое массовое внедрение эта разработка не получила, т.к. не находится спонсора, а у государства нет средств, но по нашему мнению к этому вопросу придется вернуться, т.к. полученные результаты, показали, что активные молочнокислые бактерии заквасок способствуют снижению гнилостных процессов в желудочно-кишечном тракте. Разработаны и утверждены Минздравом РК методические указания по применению заквасок мезофильных молочнокислых бактерий для лечения и профилактики заболеваний желудочно-кишечного тракта, в частности для лиц, страдающих от хеликобактер пилори.

Возможно, этот вопрос будет включен в грантовый проект по коммерциализации.

В настоящее время загрязняющие факторы настолько гасят энергию человека, что у нас в Казахстане требуется разработка специальной системы пробиотического питания на основе многолетних теоретических и практических исследований во избежание деградации и вымирания нации [10,11,12].

Предлагаемая система пробиотического питания предполагает, во-первых, ежедневно употреблять, помимо пробиотических кисломолочных продуктов, живую пищу, приготовленную на зерновой основе – это биоккоктейли, биоталканы, биоженгты с высоким содержанием живых молочнокислых бактерий, клетчатки, витамина С, Е, группы В (В₁, В₂, В₃), В₉ – фолиевой кислоты, ферментов, биофлавоноидов, антоцианов, инулина, натуральных красителей – бетаина и бетанина, макро- и микроэлементов.

Во вторых, ежедневно потреблять не менее 100 г зернового хлеба

«Клетчатка», «Идеал» или иного зернового хлеба из пророщенных или ферментированных зерен без использования прессованных дрожжей, либо сухого пробиотического биохлеба «Минус аппетит» - 5-6 штук в день, содержащего живые молочнокислые бактерии.

В третьих, для восполнения организма в сладостях съедать по 20-30 г пробиотических пастилок, содержащих большой процент пищевых волокон, витамин С, Е, ферменты, фолиевую кислоту, глюкозу, фруктозу, инулин, натуральные красители, живые молочнокислые бактерии и продукты их жизнедеятельности. Этот рацион позволит избежать заболевания сахарным диабетом и расширить ассортимент отечественных биопродуктов. Просто нужно трудиться, не уставая и не ждать милости от природы. Она вокруг нас, ты ее только подчиняй и бери все, что она дает.

Литература

1. Жорес Медведев. Питание и долголетие. Москва: «Время», 2011. - 525 с.
2. Дарья Нилова. Лечебная сила живых проростков. Санкт-Петербург. Издательская группа «Невский проспект» ИК «Крылов» - 210 с.
3. Квасников Е.И., Нестеренко О.А. Молочнокислые бактерии и пути их сипользования. М.: «Наука», 1975, с. 384.
4. Королев С.А. Основы технической микробиологии молочного дела. М.: «Пищевая промышленность», 1974, С. 344.
5. Витавская А.В., Дудикова Г.Н., Тулемисова К.А. Биологическая защита хлеба от картофельной болезни. Алматы, РНИ «Бастау», 1998, - 240 с.
6. Воронцова К.Е. Влияние пропионовокислых бактерий на жизнедеятельность картофельной палочки //Хлебопекарная и кондитерская промышленность, - 1971, - № 4, - С. 14-16.
7. Витавская А.В., Джурикиянц Н.Г. (Казгипропищепром), Матвеев А.И., Кузнецов С.М. (Казхлебпром), Арустамова Э.Д. (Армхлебпром), Вартанова С.Б. (Грузхлебпром), Баронча К.С. (Молдхлебпром), Сичкар Г.Л. (Управление хлебопекарной промышленности Челябинского облысполкома), Ионова В.В. (Донецкое производственное объединение хлебопекарной промышленности). Опыт предприятий по применению биологического способа для предотвращения картофельной болезни пшеничного хлеба//Журнал «Хлебопекарная и кондитерская промышленность», № 9, 1979 г., с. 19-21.
8. Сарсенбаева Н.Б., Толстова Н.И., Витавская А.В. Молочнокислые

- бактерии в рационах цыплят //Материалы международной научно-практической конференции г. Алматы, 30 июня-1 июля 2005 г., посвященная 75-летию Казахского Национального аграрного университета. Кластерно-индустриальное развитие аграрного производства: основные проблемы и перспективные направления. Изд-во «Агроуниверситет» - 2005, Книга, 330 с., С. 204-205.
9. Машкеев А.К., Карсыбекова Л.М., Адамова Г.С., Кулажанов К.С., Витавская А.В. Полиштаммовые закваски и биопрепарат в комплексном лечении хронической хеликобактерассоциированной гастродуоденальной патологии у детей//Материалы Республиканской научно-практической конференции «Актуальные проблемы современной микробиологии». Алматы: 2007, С. 47-48.
 10. Функциональная пробиотическая пища и добавки. www.jpi-probiotics.com/ru/probioticsfood.php/
 11. Шендеров Б.А. Медицинская микробная экология и функциональное питание. Том III. Москва Грантъ, 2001- 287 с.
 12. Витавская А.В., Хасиев Х.Х., Пронина Ю.Г. Пробиотические продукты питания нового поколения, разработанные в Алматинском технологическом университете // Сборник материалов XI-ой Международной научно-практической конференции «Проблемы и тенденции развития современного общества». Киев, Лондон, 14-18 октября 2011 г. С. 31-33

БАКТЕРИАЛЬНЫЕ ЭЛЕКТРОСТАНЦИИ - ЭКОЛОГИЧЕСКИ ЧИСТЫЙ ИСТОЧНИК ЭНЕРГИИ

Воейкова Т.А.¹, Емельянова Л.К.¹, Новикова Л.М.¹, Сидорук К.В.¹,
Смирнов И.А.², Ильин В.К.², Солдатов П.Е.², Тюрин-Кузьмин А.Ю.²,
Смоленская Т.С.¹, Дебабов В.Г.¹

¹ФГУП Государственный научно-исследовательский институт генетики и селекции промышленных микроорганизмов, Москва

²Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Государственный научный центр РФ - Институт медико-биологических проблем Российской академии наук, Москва

voeikova@genetika.ru

Поиск альтернативных способов получения энергии из возобновляемых источников органического сырья привел к созданию микробных топливных элементов (МТЭ), в которых получение электрического тока происходит за счет окисления органических соединений электрогенными микроорганизмами в анаэробных условиях [1]. Эти бактерии в процессе жизнедеятельности генерируют и передают электроны на внешнюю поверхность клеточной мембраны, «сбрасывая» их затем на различные переносчики или приемники электронов. Анод МТЭ может принимать электроны, в результате чего в МТЭ регистрируется электрический ток. Возможность получения дополнительной электроэнергии в процессе переработки микроорганизмами органических отходов пищевой промышленности, сельского хозяйства, очистных сооружений, делает актуальным исследования по оптимизации работы МТЭ [2]. Рассматривается возможность получения электричества с применением МТЭ для питания приборов в отдаленных и труднодоступных регионах, в замкнутых системах, таких как подводные лодки, орбитальные космические станции и, в будущем, межпланетные корабли. К преимуществам подобных технологий можно отнести их экологическую безопасность, возможность сочетать процессы утилизации отходов с получением дополнительной электроэнергии, длительное время использования каждой установки [3].

Конструктивно МТЭ представляет собой две камеры - анодную и катодную, разделенные ионоселективной мембраной. Органическое вещество и бактерии находятся в анодной камере в анаэробных условиях. Катод находится в аэробных условиях. Мембрана пропускает протоны из анодной камеры в катодную и препятствует попаданию кислорода в анодную камеру. Анод соединен с катодом электрической цепью с

определенной резистивной нагрузкой. Электроны проходят к конечному акцептору - протону в катодной камере - через анод и электрическую цепь, создавая, таким образом, электрический ток. В настоящее время мощность тока, получаемого в МТЭ, невысока и для промышленного применения МТЭ должны быть усовершенствованы. Оптимизация работы МТЭ может идти как по пути технического усовершенствования конструкций, так и путем генетической модификации микроорганизмов. С помощью изменения технических параметров МТЭ в различных лабораториях в течение примерно 10 лет удалось увеличить плотность тока от 0,1 мВ/м² до 4,3 В/ м², что достаточно для питания приборов с малым энергопотреблением.

Нами была поставлена и решена задача повышения уровня электрического тока в МТЭ за счет генетической модификации микроорганизмов [4]. В качестве электрогенного микроорганизма был использован штамм *Shewanella oneidensis* MR-1, который является модельным объектом при изучении механизмов генерации электронов. Были получены мутанты *S. oneidensis* MR-1 с повышенной на 40% редуцирующей активностью и более интенсивным потреблением органических субстратов. Анализ уровня электрогенности мутантов в МТЭ различных конструкций показал, что напряжение и плотность электрического тока, создаваемого мутантами, возрастали в 1.7 раза по сравнению с исходным штаммом *S. oneidensis* MR-1. Таким образом, впервые продемонстрирована возможность интенсификации получения электричества в МТЭ путем генетического изменения бактерий *S. oneidensis* MR-1.

Литература

1. Дебабов В.Г. Производство электричества микроорганизмами // Микробиология. 2008. Т. 77. № 2. С. 149-157.
2. Sedky H.A. Hassan, Yong Seong Kim, Sang-Eun Oh. Power generation from cellulose using mixed and pure cultures of cellulose-degrading bacteria in microbial fuel cell // Enzyme and Microbial Technology. 2012. V.51. № 5. P. 269-273.
3. Reiche A., Kirkwood K.M. Comparison of *Escherichia coli* and anaerobic consortia derived compost as anodic biocatalysts in a glycerol-oxidizing microbial fuel cell // Bioresource Technology. 2012. V. 123. P. 318-323.
4. Воейкова Т.А., Емельянова Л.К., Новикова Л.М., Мордкович Н.Н., Шакулов Р.С., Дебабов В.Г. Получение мутантов электрогенной бактерии *Shewanella oneidensis* MR-1 с повышенной редуцирующей активностью // Микробиология. 2012. Т. 81. № 3. С. 339- 344.

**ПРОДУКТИВНОСТЬ И ПРОИЗВОДСТВЕННОЕ ДОЛГОЛЕТИЕ
КОРОВ «ВОРОНЕЖСКОГО» ТИПА КРАСНО-ПЕСТРОЙ
МОЛОЧНОЙ ПОРОДЫ**

Востроилов А.В., Артемов Е.С., Востроилов С.А.

«ФГБОУ ВПО Воронежский государственный аграрный университет
имени Императора Петра I»

evgeartemov@yandex.ru

Продолжительность хозяйственного использования коров оказывает значимое влияние на экономические и зоотехнические показатели молочного животноводства.

Основные затраты в отрасли можно разделить на затраты по выращиванию ремонтного молодняка и затраты на содержание коровы. Причем окупаемость этих затрат неодинакова. Производство молока в значительной части сельскохозяйственных предприятий России рентабельно. Реализация говядины, полученной от выбракованных коров и телок, повсеместно убыточна. Различия пожизненного удоя между отдельными стадами и между коровами одного стада велики. Потому соотношение этих показателей определяется в основном изменчивостью удоя. Рентабельность отрасли молочного животноводства зависит от того, насколько прибыль от реализации молока превышает убытки от реализации выбракованных коров и телок.

С увеличением продолжительности хозяйственного использования коров растет рентабельность. Чем выше продолжительность хозяйственного использования коров, тем ниже издержки на выращивание ремонтных телок. Чем выше годовой удой и продолжительность использования коров, тем выше прибыль [4]

Красно-пестрая молочная порода крупного рогатого скота - отечественная молочная порода, официально признанная Государственной комиссией РФ по испытанию и охране селекционных достижений в 1998 г., через 40 лет после черно-пестрой породы.

Благодаря универсальной продуктивности и хорошей способности к акклиматизации порода в короткий срок распространилась в 12 регионах Российской Федерации, в том числе в пяти областях Центрального, трех - Южного, трех областях и Республике Мордовия Приволжского округа, в Республиках Бурятия, Алтай, Хакасия, Алтайском и Красноярском краях, Амурской области и Чеченской Республике Северо-Кавказского

Федерального округа.

В округах, краях и республиках РФ сосредоточено 85 племенных хозяйств с поголовьем 89410 коров, средним удоем от 4000 до 6000 кг и более, содержанием жира от 3,80 до 4,0% и более, белка - от 3,0 до 3,3% и более, живой массой 530-577 кг и выше. Молочная продуктивность коров Воронежского и Енисейского внутривидовых типов в 11 племенных хозяйствах - 5667-6224 кг с содержанием жира 3,71-4,06%, белка 3,16-3,14%. Лучшие стада по продуктивности и численности сосредоточены в 32 хозяйствах Красноярского края и в 40 - Центрального Федерального округа России. В хозяйствах, разводящих красно-пеструю породу, в 2010 г. использовали семя 105 производителей, из которых только у 27 (25,7%) удой матерей был ниже 7000 кг молока, у остальных 78 (74,3%) - от 7000 до 11000 кг молока жирностью от 3,76 до 4,26% [2].

Заводские типы в породе должны быть основными структурными подразделениями. Разведение их, связанных единой селекционной программой, позволит поддерживать структуру породы и необходимый уровень внутривидового генетического разнообразия животных для сохранения и совершенствования ее специфических качеств [3].

В этой связи для достижения экономической целесообразности, рентабельного производства молока и обеспечения населения полноценными продуктами питания необходимо иметь высокопродуктивные стада. Но не стоит забывать, что более приспособленные и адаптированные к определенному ареалу обитания животные способны больше продуцировать молока [1].

Заводские линии и семейства позволяют расчленять породы и тем самым проводить систематическое совершенствование и улучшение породы в целом. В каждом племенном заводе совершенствуются не менее 4-7 линий, как правило, по 2-3 ветвям. Это позволит исключить близкородственное спаривание животных в близких степенях. Роль заводских семейств в настоящее время возрастает в связи с интенсивным внедрением в практику трансплантации эмбрионов. Этот метод направлен на ускорение размножения высокоценных животных в племенном отношении путем получения от одной коровы-донора до 50 и более эмбрионов в год с последующей их пересадкой животным-реципиентам.

Лучших представителей семейств коров следует подбирать для зачаточного спаривания, то есть получения будущих быков-производителей, с учетом результата сочетаемости линий и семейств.

Таким образом, в породе можно создать достаточно большие группы

высокопродуктивных животных (методом трансплантации и разведения по линиям), которые будут влиять на генетический прогресс скота посредством воспроизводства быков-улучшателей, которые будут широко использоваться, лучшие из них, в первую очередь - в племенной части породы, а затем и в ее товарной части.

В целом структура породы должна способствовать реализации максимального эффекта селекции в племенной и товарной частях породы.

На территории Воронежской области в основном разводят скот красно-пестрый молочной породы, причем «Воронежский» тип скота. Который выведен методом чистопородного разведения животных красно-пестрой породы, с применением жесткого отбора поголовья желательного качества в течение ряда поколений, в период с 1985 по 2006 годы, утверждён Патентом на селекционное достижение №3881 от 13.05.2008 года.

В Воронежской области создано четыре племенных завода и 17 племенных репродукторов, в которых сосредоточено более 35000 голов крупного рогатого скота, данной породы, в том числе свыше 15000 голов - коровы с продуктивностью по полновозрастной лактации на 01.01.2013 г - 5585 кг (+543 кг к 2011 г) молока при жирности 3,82 %.

Целью нашей работы является сравнительное изучение продолжительности хозяйственного использования и молочной продуктивности, коров разных генеалогических групп - красно-пестрого скота «Воронежского» типа.

Экспериментальная работа проводилась в условиях ГПЗ колхоза «Дружба» Воронежской области, и в научно-исследовательских лабораториях ФГБОУ ВПО «Воронежский государственный аграрный университет имени императора Петра I».

Оценку производственного долголетия коров с учетом продуктивности в хозяйстве рассматривали за последние 20 лет. В рассмотрение вошли 2164 выбывшие коровы, по материалам первичного племенного учета, имеющие хотя бы одну законченную лактацию.

Анализ производственного долголетия коров красно-пестрой молочной породы ГПЗ колхоза «Дружба» представлен в таблице.

Анализируя таблицу, видим, что у коров линии Монтвик Чифтейна 95679 средний возраст составляет 2,92 лактации. Наивысшая продуктивность была достигнута в возрасте 5 отелов, и составляет 5835 кг молока. Пожизненная продуктивность в среднем за одну лактацию составляет 5262 кг. Удой по первой лактации составляет 75,7 % от продуктивности по наивысшей лактации.

У коров линии Рефлекшн Соверинг 198998 средний возраст составляет 3,04 лактации. Удой по первой лактации составляет 71,9 % от продуктивности по наивысшей лактации. В среднем пожизненная продуктивность за одну лактацию составляет 5429 кг молока. Наивысший удой был достигнут в возрасте 5 отелов, и составляет 6134 кг.

Анализируя полученные данные по коровам линии Санисайд Стендаут Твина 1428104, видим, что средний возраст составляет 2,65 лактации. Наивысший удой был достигнут в возрасте 5 отелов, и составляет 6189 кг. Средняя пожизненная продуктивность за одну лактацию составляет 5772 кг молока. Удой по первой лактации составляет 73,3 % от продуктивности по наивысшей лактации.

Анализируя данные показатели у коров линии Силинг Трайджун Рокита 252803, мы видим, что средний возраст составляет 2,66 лактации. Пожизненный удой в среднем за одну лактацию у коров составляет 5892 кг. Наивысшая лактация достигнута в возрасте 7 отелов, и составляет 6918 кг молока. Удой за первую лактацию составляет 69,8 % от продуктивности за наивысшую лактацию

Таблица 1. Производственное долголетие коров в зависимости от генеалогической принадлежности

Лактация	Монтвик Чифтейн 95679			Рефлекшен Соверинг 198998			Санисайд Стендаут Твин 1428104			Силин Трайджун Рокит 252803		
	го лов	процент выбытия к 1 лактации	удой за 305 дней лактации, кг	го лов	процент выбытия к 1 лактации	удой за 305 дней лактации, кг	го лов	процент выбытия к 1 лактации	удой за 305 дней лактации, кг	го лов	процент выбытия к 1 лактации	удой за 305 дней лактации, кг
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
1	625	-	4418	463	-	4410	308	-	4537	83	-	4827
2	501	20,1	4835	383	17,2	4915	258	16,5	5109	61	26,3	5364
3	443	36,5	5247	300	35,1	5330	202	34,3	5635	51	38,6	5361
4	333	53,4	5214	223	51,8	5295	150	51,4	5618	34	59,2	5885
5	237	61,1	5835	186	59,9	6134	101	67,7	6189	27	71,5	5880
6	104	83,4	5748	114	75,4	6018	58	81,2	6014	9	89,1	6184
7	53	91,5	5323	62	86,8	5235	28	91,1	6003	2	97,6	6918
8	7	98,9	5478	30	93,5	5435	6	98,3	6584	2	97,6	6714
9	-	100	-	5	98,9	5519	2	99,4	6257	-	100	-
10	-	-	-	1	99,9	6003	-	100	-	-	-	-
11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Наивысшая	501	-	6435	383	-	6857	258	-	6971	61	-	6835
Средний возраст в лактациях	2,92			3,04			2,65			2,66		

Продолжение таблицы 1 - Производственное долголетие коров в зависимости от генеалогической принадлежности

Лактация	Вис Бэк Айдиал 1013415			Романдейл Шейлмар 265607			Юра 7273			Хестер 127055			Желательный тип		
	го лов	процент выбытия к 1 лактации	удой за 305 дней лактации, кг	го лов	процент выбытия к 1 лактации	удой за 305 дней лактации, кг	го лов	процент выбытия к 1 лактации	удой за 305 дней лактации, кг	го лов	процент выбытия к 1 лактации	удой за 305 дней лактации, кг	го лов	процент выбытия к 1 лактации	удой за 305 дней лактации, кг
14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29
1	41	-	4235	26	-	4395	108	-	5238	164	-	5114	346	-	5798
2	32	20,8	4748	24	7,7	4980	90	16,6	5886	137	16,4	5836	286	17,2	6325
3	24	40,4	5915	21	20,5	5340	84	21,4	6425	114	30,2	6281	212	38,8	6684
4	14	66,3	5803	13	50,0	5395	62	42,3	6318	78	52,2	6270	143	58,6	6538
5	4	89,5	5996	6	76,6	5995	53	50,8	6524	51	68,8	6835	112	67,7	6827
6	4	89,5	6014	5	80,8	5890	22	79,9	6632	37	77,3	6630	69	80,1	6778
7	3	92,7	5735	3	88,5	6380	16	85,0	6427	20	87,8	6910	36	89,8	6835
8	-	100	-	2	92,3	6425	7	93,3	6835	17	89,5	6918	23	93,3	7185
9	-	-	-	1	96,1	6120	4	97,0	6710	5	96,8	6825	6	98,1	7902
10	-	-	-	-	100	-	-	100	-	3	98,2	7004	4	98,9	-
11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	98,8	6926	-	100	-
Наивысшая	32	-	6429	24	-	5285	90	-	7214	137	-	7107	286	-	7228
Средний возраст в лактациях	2,44			2,92			3,13			3,23			2,86		

У коров линии Вис Бэк Айдиала 1013415 пожизненная продуктивность за одну лактацию составляет 5492 кг молока. Средний возраст составляет 2,44 лактации. Удой по первой лактации составляет 70,4 % от продуктивности по наивысшей лактации. Наивысший удой был достигнут в возрасте 6 отелов, и составляет 6014 кг.

Средняя пожизненная продуктивность за одну лактацию у коров линии Романдейл Шейлмара 265607 составляет 5658 кг молока. При этом средний возраст был равен 2,92 лактации. Удой по первой лактации составляет 68,4 % от продуктивности по наивысшей лактации. Наивысший удой был получен в возрасте 8 отелов, и составляет 6425 кг.

У коров, полученных от Юры 7273 пожизненная молочная продуктивность в среднем за одну лактацию составляет 6333 кг молока. Удой по первой лактации составляет 78,1 % от продуктивности по наивысшей лактации. Наивысшая продуктивность была достигнута в возрасте 9 отелов, и составляет 6710 кг молока. Средний возраст составляет 3,13 лактации.

Коровы генеалогической группы Хестера 127055 имели наивысший удой в возрасте 8 отелов, и составляет 6918 кг молока. При этом удой коров данной группы животных по первой лактации составляет 73,9 % от продуктивности по наивысшей лактации. Пожизненная продуктивность в среднем за одну лактацию составляет 6504 кг молока. Средний возраст в отелах составляет 3,23 лактации.

У коров желательного типа средний возраст составляет 2,86 лактации. Пожизненный удой в среднем за одну лактацию составляет 6764 кг. Удой по первой лактации составляет 73,4 % от продуктивности

по наивысшей лактации. Наивысший удой получен в возрасте 9 отелов, и составляет 7902 кг.

Таким образом, представленные данные оценки продуктивности и производственного долголетия коров в зависимости от генеалогической принадлежности свидетельствуют о превосходстве потомков Хестера 127055.

В этой связи, для дальнейшего совершенствования «Воронежского» типа красно-пестрой молочной породы на перспективу рекомендуем к использованию животных полученных от генеалогической группы Хестера127055 .

Литература

1. Востроилов А.В. Воронежская область - зона цельномолочного скотоводства/ А.В. Востроилов, Е.С. Артемов// Актуальные проблемы животноводства, ветеринарной медицины переработки сельскохозяйственной продукции и товароведения: Материалы научно-практической конференции профессорско-преподавательского состава и аспирантского состава факультета технологии животноводства и товароведения и факультета ветеринарной медицины. - Воронеж, 2011. - С. 139-145 2
2. Дунин И.М. Перспективы разведения красно-пестрой породы крупного рогатого скота в Российской Федерации/ И.М. Дунин, К.К. Аджигбеков, Г.С. Лозовая // Зоотехния. - 2011г. - №12. - С. 2-4.4
3. Зеленков П.И. Скотоводство / П.И. Зеленков, А.И. Бараников, А.П. Зеленков. - Ростов н/Д: «Феникс», 2005. - 572 с.
4. Суллер, И. Л. Селекция крупного рогатого скота молочных пород : учебное пособие / И. Л. Суллер. — СПб.: Проспект Науки, 2012. — 128 с.

ОЦЕНКА ФИТОПАТОГЕННОГО ПОТЕНЦИАЛА ШТАММОВ МИКРОМИЦЕТОВ ВИДА *FUSARIUM SOLANI*

Габитов Р.А., Багаева Т.В.

Казанский (Приволжский) федеральный университет

rstmgbtv@gmail.com

Среди наиболее значимых и распространенных заболеваний растений выделяют группу заболеваний, связанных с развитием фитопатогенных микромицетов рода *Fusarium*.

Однако среди микромицетов рода *Fusarium* встречаются не только патогенные виды, но сапрофиты.

Для анализа посевного материала необходима разработка методов ускоренного анализа семян на наличие фитопатогенных микроорганизмов. Одним из таких методов может стать метод адгезии фитопатогенов на нитроцеллюлозной пленке (НЦП).

В литературе имеется незначительное количество работ по изучению адгезии клеток микроорганизмов на НЦП. Однако они посвящены преимущественно адгезивным свойствам микроорганизмов, патогенным для человека, среди них *Candida albicans* и *Yersinia pestis* [1,2].

Целью настоящей работы явилось определение фитопатогенного потенциала штаммов вида *Fusarium solani*, распространенных на территории Республики Татарстан и поиск экспресс-методов, позволяющих установить наличие патогенных и сапрофитных форм штаммов данного вида.

В работе были выделены 62 изолята микромицетов рода *Fusarium*, 8 из которых были идентифицированы по принятым показателям, включая ПЦР, как *F.solani*. Данные изоляты исследовались на фитопатогенность штаммов и способность к неспецифической адгезии на НЦП.

Фитопатогенность изолятов устанавливали по нескольким параметрам, первый из которых всхожесть семян пшеницы и гороха при предварительной обработке семян культуральной жидкостью (КЖ) 8 штаммов микромицетов *F.solani*. Результаты исследований показали, что наименьший процент ингибирования по сравнению с контролем отмечался в вариантах *Fsolani* и *Fsolani6* как для пшеницы, так и для гороха. В образцах *Fsol3и Fsol8* всхожесть семян ингибировалась на 17 и 24 % для пшеницы и более чем на 35% для гороха.

Следующим показателем являлось определение действия КЖ на рост

корней и проростков. Как показали результаты и в данном случае КЖ изолятов *Fsolani* и *Fsolani6* оказывали минимальный, а штаммы *Fsolani3* и *Fsolani8* максимальный ингибирующий эффект на рост корней и проростков данных семян.

Для достоверного скрининга сапрофитных и патогенных штаммов были дополнительно проведены опыты по воздействию КЖ на изменение содержания основных компонентов растительных организмов. Результаты экспериментов показали, что штаммы *Fsolani* и *Fsolani6* не оказывали существенного влияния содержание белков, сахаров и пигментов проростков семян, а штаммы *Fsolani3* и *Fsolani8* снижали концентрацию основных компонентов более чем в 5раз.

Таким образом, среди изученных изолятов к сапрофитным видам были отнесены штаммы *F. solani* и *F. solani 6*, а к патогенным - *F. solani8* и *F. solani3*.

Процессы сорбции и адгезии отличаются способностью микроорганизмов к колонизации поверхности пленки. Для доказательства способности микромицетов к адгезии на НЦП были поставлены опыты по влиянию НЦ на рост клеток и возможность использования ее в качестве субстрата.

Результаты исследований показали, что, независимо от принадлежности штаммов к сапрофитам или фитопатогенам, клетки микромицетов растут на НЦ, как в присутствии глюкозы, так в ее отсутствии, но прирост биомассы значительно ниже (в среднем в 6 раз), чем рост микромицетов на оптимальной среде. Тем не менее, поскольку рост есть, то и, по-видимому, и НЦП может служить субстратом для адгезии мицелия и конидий микромицетов рода *Fusarium*.

Процесс адгезии является сложным физико-химическим процессом, который зависит от действия различных факторов: времени, температуры, pH, наличия различных соединений в питательной среде. В связи с этим, первоначально было изучено влияние среды, где осуществляется адгезия на НЦП и необходимое время контакта НЦП с конидиями. Выбор конидий в качестве объектов объясняется тем, что они являются наиболее мобильными структурами, участвующими в распространении и выживании видов.

В качестве сред для проведения адгезии были выбраны среды для микромицетов с различным ингредиентным составом: картофельно-глюкозная среда (КГ), среда Чапека и среда Сабуро. Показания адгезии снимались на 2, 6 и 24 часа.

При сравнении адгезии на указанных средах было установлено, что процент адгезии на первые часы (2ч) выше на среде Чапека, как для

патогенных, так и для сапрофитных штаммов, причем процент сорбции патогенных штаммов *F.solani* и *F.solani*b более высок (в среднем на 32-50%), чем у сапрофитных штаммов *F.solani* и *F.solani*b. Увеличение продолжительности времени адгезии конидий на НЦП дает возможность использовать среду КГ и Сабуро, однако, для ускоренного анализа сапрофитов и патогенов среда Чапека для адгезии на НЦП является предпочтительнее.

Одним из главных соединений, составляющих основу, изучаемых сред является глюкоза. В связи с этим представляло интерес исследовать зависимость степени адгезии от количественного содержания в среде глюкозы.

Результаты исследований показали, что сапрофитные штаммы более эффективнее сорбируются на НЦП при уменьшении концентрации глюкозы в питательной среде или при полном отсутствии сахаров. Увеличение глюкозы в питательной среде способствует усилению процесса адгезии патогенных штаммов (в 3,2-4 раза) по сравнению с сапрофитами.

Изучение влияния температуры при значениях 5°, 20° и 30° С, показало, что снижение температуры (5°С) приводит к снижению адгезии, а повышение температуры (30°С) способствует увеличению процента адгезии сапрофитных штаммов, но адгезия патогенных штаммов снижается (в среднем в 2-2,6 раза), по сравнению с адгезией данных штаммов при температуре 20°С.

Изучение процессов адгезии при различных значениях pH не выявило различий в адгезии сапрофитных и патогенных штаммов.

Таким образом, проведение процесса адгезии при повышенном содержании глюкозы (2%) и температуре 20°С (повышенная адгезия патогенных штаммов), либо при пониженном содержании глюкозы (0,25 %) и температуре 30°С (повышенная адгезия для сапрофитных штаммов) позволит определить принадлежность изолята к сапрофитным и патогенным видам.

Литература

1. Ивонин, А. Г. Методы изучения адгезивных свойств микроорганизмов [Текст] / А. Г. Ивонин, В. А. Оборин // Науке нового века - знания молодых. Сборник статей 8-й научной конференции аспирантов и соискателей. - Киров: Вятская ГСХА, 2008. - С. 12-14.
2. Лисовская, С. А. Новый подход к оценке патогенного потенциала клинических штаммов *Candida albicans* [Текст]: дис. ... канд. биол. наук / С. А. Лисовская; Казанский гос. ун-т. - Казань, 2008. - 130 л.

**ИЗУЧЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ
ГЕТЕРОПАППУСА АЛТАЙСКОГО ФЛОРЫ ВОСТОЧНОЙ СИБИРИ:
МИНЕРАЛЬНЫЙ СОСТАВ**

Горячкина Е.Г., Федосеева Г.М.

Иркутский государственный медицинский университет

rosforest@mail.ru

Объектом нашего исследования выступил Гетеропаппус алтайский (или алтайская астра) *Heteropappus altaicus* Wild. (Novocor.) представитель семейства астровых (сложноцветных) - Asteraceae (Compositae). Представляет собой многолетнее травянистое растение высотой 10 - 50 см. Стебли обычно многочисленные, оттопыренно-ветвистые, почти всегда от самого основания с укороченными веточками в пазухах листьев, прямостоящие или восходящие. Стебли покрыты вверх направленными прилегающими тонкими волосками. Листья 1 - 5 см длиной, 0,2 - 0,3 см шириной сидячие, линейные или линейно-продолговатые, к основанию постепенно суженные, на верхушке тупые или короткозаостренные, с обеих сторон опушены прилегающими тонкими волосками и многочисленными очень мелкими блестящими железками; самые верхние листья - постепенно уменьшающиеся.

Цветки, собранные в многочисленные корзиночки вместе с язычками до 3,5 см в диаметре, связаны в щитковидно-метельчатое соцветие. Язычковые цветки бледно-синие или сиреневатые, 2 - 2,5 мм шириной. Трубочатые цветки - жёлтые.

Листочки-оберточки трехрядные, мелкожестковолосистые и мелкожелезистые, самые наружные линейные и короче листочков внутренних рядов. Плоды - семянки 2-3 мм длиной, продолговато-обратнояцевидные, волосистые; хохолок беловатый или бледно-коричневый, длиннее семянки, из почти равных у всех семянок щетинистых волосков.

Растет на степных, иногда солонцеватых лугах, каменных щебнистых склонах. Цветет в июле-августе.

Растение распространено в Западной и Восточной Сибири, в Приморье, Приамурье и на Сахалине.

На протяжении всего ареала этот вид является полиморфным. На исследуемой нами территории - Восточной Сибири- описывается подвид

гетеропаппус искривлённый (*H. altaicus* var. *distortus*) с прижатыми к земле, растопыренно изогнутыми стеблями и с густо расположенными мелкими и узкими листьями (1 -2,5 мм). Стебли данного подвида также покрыты направленными вверх тонкими волосками [3, 4] (рис.)

Гетеропаппус алтайский является растением народной медицины. С лечебной целью используются трава и соцветия.

По данным разных авторов в траве содержатся сапонины, терпеноиды, алкалоиды, кумарины, флавоноиды и дубильные вещества, эфирное масло. Иностранные источники сообщают, что эфирное масло гетеропаппуса алтайского содержит около 54 компонентов, основные из них: монотерпены и тритерпены. Основную часть составляет гермакрин Д (около 20%), кариофилен (около 7%), β -пинен (около 5%), β -феландрен (около 4%), лимонен (около 3%), что в общей сложности составляет 73% от идентифицированных соединений. В эфирном масле были также обнаружены этилацетат, муравьиная кислота, этиловый эфир и спатулинол.

Соцветия назначают при желудочно-кишечных болезнях. Надземная часть растения обладает антибактериальной активностью. В тибетской и монгольской медицине используются как жаропонижающее, противовоспалительное средство, при респираторных инфекциях, болезнях желудка (в том числе при язвенной болезни). В народной медицине используют в качестве отхаркивающего и противокашлевого средства [2]. Растение входит в состав сборов, используемых при лечении кори и оспы. В китайской медицине используется наряду с другими растениями для лечения половой слабости у мужчин, при кровохарканье и хронических бронхитах.

Изучение основных групп биологически активных веществ (БАВ) этого растения является актуальной задачей фармации.

Ранее сообщалось об обнаружении в траве гетеропаппуса алтайского полифенольного комплекса - дубильных веществ, флавоноидов, гидроксикоричных кислот, кумаринов, а также аминокислот [1].

Для изучения минерального комплекса (ультрамикро-, микро- и макроэлементов) образцы собирали в период массового цветения гетеропаппуса алтайского в районе деревни Оёк (Иркутского района) и в окрестностях Улан-Удэ (Бурятия). Исследование проводили с применением модифицированной методики [2].

Пробоподготовку проводили по следующей методике: предварительно взвешенные одноразовые полипропиленовые пробирки с закручивающейся крышкой (Ахуген, 15 мл) отвешивали по 50 мг сухой биомассы - навески травы гетеропаппуса алтайского, добавляли 0,3 мл

перекиси водорода 30% (ОСЧ 8-4, ТУ 2611-003-57856778-2004, ОАО «Реактив», г. Санкт-Петербург) и 1 мл кислоты азотной 70 % (ОСЧ 18-4, ГОСТ 11125-84, ОАО «Реактив», г. Санкт-Петербург). Пробирки выдерживали сутки при комнатной температуре при периодическом встряхивании - данная процедура заменяла 15 минутную ультразвуковую обработку. После окончания реакции (выделение газа) в пробирки добавляли 0,3 мл водорода перекиси 30%, герметично закрывали крышками и помещали в сушильный шкаф на сутки при температуре 60°С. Далее пробирки охлаждали, добавляли 14 мл кислоты фтороводородной 0,001% (вода очищенная была получена на приборе «Водолей», НПП «Химэлектроника», г. Москва) и снова ставили в сушильный шкаф на сутки при той же температуре. Затем аликвоты растворов отбирали в микроцентрифужные полипропиленовые пробирки (Ахуген, 2 мл), пробирки центрифугировали 20 минут (Mini Spin, 13 000 об/мин) и разбавляли в четыре раза кислотой азотной 2%, содержащим внутренний стандарт индия ($In = 12$ ppb). Аналогично готовили холостые пробы.

Все этапы пробоподготовки, численные характеристики которых необходимы для последующих расчетов (массы растворов, разбавление, приготовление рабочих растворов и пр.), выполняли весовым методом на аналитических весах Mettler Toledo AG104.

Анализируемые растворы измеряли на квадрупольном ICP-MS масс-спектрометре Agilent 7500 се. Для ввода проб использовали концентрический кварцевый распылитель, выдающий самораспылением 400 мкл/мин в кварцевой распылительной камере Скотта, кварцевая горелка с системой Shield Torch.

Для калибровки масс-спектрометра использовали смешанный стандарт, приготовленный из многоэлементных стандартных растворов фирмы HIGH-PURITY STANDARDS (Charleston, USA) :

Результаты исследований представлены в таблице.

Относительные ошибки измерения составили 5, 10 и 20 %

Как показали полученные результаты среди макроэлементов в надземных органах гетеропаппуса алтайского накапливается большего всего калия, кальция и натрия. В меньших количествах обнаружено кремния и фосфора. И гораздо меньше - магния, алюминия, хлора и серы.

Из микроэлементы гетеропаппуса алтайского можно отметить наличие значимых количеств титана, марганца, железа, меди и бария.

Изучение биологически активных веществ гетеропаппуса алтайского продолжается.

Таблица 1. Содержание элементов в образцах травы гетеропаннуса алтайского (ГА) по результатам ICP MS анализа (квадрупольный масс-спектрометр Agilent 7500ce)

Элемент	ПО*	Лист березы (СОС ЛБ-1)**	ГА	Элемент	ПО*	Лист березы (СОС ЛБ-1)**	ГА
Li	1,7	580	2200	Zr	0,058	4500	4500
B	4,9	47000	38000	Nb	0,00094	140	160
Na	3200	1800000	14000000	Mo	0,016	110	1500
Mg	11	4400000	2700000	Ag	0,014	14	46
Al	2,6	510000	2000000	Cd	0,0066	130	210
Si	2900	4000000	4500000	Sn	0,38	<0.38	<0.38
P	450	1500000	4400000	Sb	0,2	780	<0.2
S	11000	1000000	1100000	I	0,62	540	850
Cl	820	450000	2000000	Cs	0,0061	52	92
K	130	7100000	21000000	Ba	0,075	200000	29000
Ca	160	16000000	15000000	La	0,048	220	660
Sc	0,36	260	380	Ce	0,0041	1300	5100
Ti	0,64	280000	340000	Pr	0,00087	98	310
V	0,032	1900	5100	Nd	0,0047	570	1900
Cr	0,41	3800	4000	Sm	0,0013	83	230
Mn	0,2	900000	120000	Eu	0,00078	35	39
Fe	210	500000	1300000	Gd	0,0014	88	240
Co	0,05	750	990	Tb	0,0001	19	24
Ni	0,17	5300	3400	Dy	0,0013	84	150
Cu	0,54	8900	16000	Ho	0,00026	20	21
Zn	4,2	85000	66000	W	0,0047	260	77
Ga	0,011	260	1100	Tl	0,004	20	13
Br	2,7	3200	11000	Pb	0,079	5000	2900
Rb	0,047	12000	9400	Bi	0,0036	16	12
Sr	0,11	65000	80000	Th	0,00088	160	330
Y	0,0023	610	980	U	0,0072	47	35

Примечание: * - пределы обнаружения (n=3); ** -стандартный образец

Литература

1. Горячкина, Е.Г. Фармакогностическое изучение представителей семейства астровых, произрастающих в Восточной Сибири: *Heterorhappus altaicus* (Willd.) Novorokr. / Горячкина Е.Г. Федосеева Г.М., Собенин А.М. // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции : сб. научн. тр. - Пятигорск, 2012. - вып. 67. - С. 21 - 24.
2. Минаева, В.Г. Лекарственные растения Сибири/ В.Г. Минаева. - 5-е изд., перераб. и доп. - Новосибирск:Наука. Сиб. Отд-ние, 1991. - 431 с.
3. Флора Сибири. Т. 13: Asteraceae (Compositae) / Сост. И.М. Красноборов, М.И Ломоносов, Н.Н. Тупицына и др.: в 14.т. - Новосибирск: Наука. Сиб. издательская фирма РАН, 1997. - 472 с.
4. Флора Центральной Сибири. Том 2. / под ред. Л.И. Малышева, Г.А. Пешковой- Новосибирск : Изд-во «Наука», 1979 - 1045 с.
5. Oyunchimeg, Ts. Chebykin E.P. High-performance technique on thebase of ICP-MS for obtaining high-resolution records of climate-sensitive elements in bottom sediments of Lake Hovsogol (Mongolua) / Ts. Oyunchimeg, E.P. Chebykin// Химия в интересах устойчивого развития. - 2009. - Т. 17. - № 1. - С. 97 - 110.

**ВЛИЯНИЕ НЕФТИ И МЕТАБОЛИТА НА ТРАНСЛОКАЦИЮ
ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ В САХАРНУЮ СВЕКЛУ *BETA VULGARIS*
VAR. *SACCHARIFERA***

Григориади А.С., Лопатин Н.Л., Баширова Р.М., Киреева Н.А.

Башкирский государственный университет

nysha111@yandex.ru

Нефть может оказывать как прямое, так и косвенное влияние на растения [1]. Для снижения отрицательных эффектов действия нефти на биоценозы используют различного рода микробиологические препараты, нивелирующие отрицательное действие антропогенных факторов [2]. Нами проведена оценка влияния препарата «Метаболит», полученного на основе ассоциативных микромицетов облепихи *Scopulariopsis acromonium* на транслокацию тяжелых металлов (ТМ) в растения сахарной свеклы *Beta vulgaris* var. *saccharifera* сорта 'Милан'.

Варианты эксперимента следующие:

- 1 - растения, произрастающие на фоновой, незагрязненной почве (контроль- выщелоченный чернозем);
- 2 - растения, произрастающие на почве, загрязненной нефтью;
- 3-растения, обработанные «Метаболитом» и, произрастающие на фоновой, незагрязненной почве;
- 4 - растения, обработанные «Метаболитом» и, произрастающие на нефтезагрязненной почве.

Определение содержания ТМ в почве проводили в соответствии с ГОСТ 30692-2000. Содержание ТМ в растительном сырье определяли в соответствии с методикой [3]. Для анализа содержания ТМ отдельно отбирались листья и корнеплоды. Измерения проводись на атомно-абсорбционном спектрофотометре АА-6200 Shimadzu. Эффективность транслокации оценивали на основании определения:

- фактора биоконцентрации (BCF), определяемого как соотношение концентрации ТМ в надземной массе, к концентрации тяжелого металла в почве);
- фактора транслокации (TF) определяемого как соотношение концентрации тяжелого металла в надземной массе, к концентрации ТМ в корневой системе).

Как известно, свекла является гипераккумулятором свинца, что было подтверждено результатами проведенных экспериментов.

В контрольном варианте был отмечен максимальный уровень фактора транслокации свинца. На фоновых почвах в свеклу наиболее активно переходили свинец, железо и марганец. Загрязнение нефтью почвы активизировало в 4 раза транслокацию кадмия в корнеплоды, и повышало транслокацию цинка и марганца на 42% и 30% соответственно. Резкое повышение содержания кадмия в корнеплодах можно объяснить воздействием серы, содержащейся в значительном количестве в уральской нефти. Вероятно сера активизирует синтез металлотионеинов (s. кадистин), связывающих кадмий.

Одновременное влияние нефти и культуры симбионтов изменяло картину транслокации металлов. Сочетанное действие нефти и культуры микроорганизмов активизировало поступление эссенциальных для свеклы микроэлементов— кобальта, меди и железа. Как известно, кобальт оказывает влияние на накопление беталаинов *B. vulgaris*. Ионы кобальта регулируют активность Mg-хелатазы, влияя на накопление хлорофилла и начальные этапы его образования.

Неблагоприятное действие нефти на растения проявлялось в активизации накопления свеклой свинца, потенцируемое при воздействии симбионтов *S. acremonium*. Но, в то же время они снизили поступление кадмия в корнеплоды (рис.1).

Проведенные исследования свидетельствуют о возможности использования «Метаболита» для профилактики накопления кадмия в сахарной свекле на участках с высоким фоновым содержанием токсичного металла.

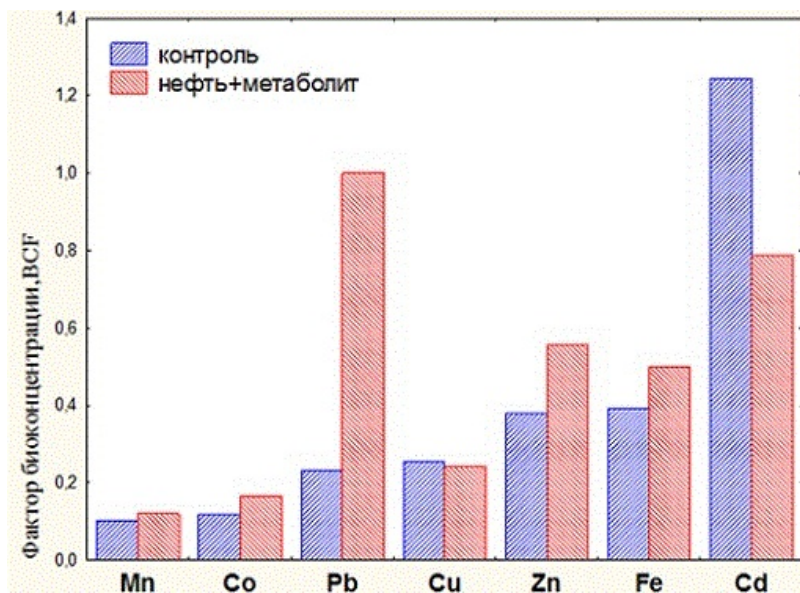


Рис.1. Влияние нефти и метаболиту на биоконцентрацию тяжелых металлов сахарной свеклой

Литература

1. Bashirova R. M., Grogoriadi A. S., Kireeva N. A. et al. Tolerance of Garden Angelica to Soil Contamination with Crude Oil Russian J. Plant Physiology, 2012, Vol. 59, No. 5, pp. 745-749
2. Киреева Н.А., Баширова Р.М., Багаутдинова Г.Г., Гуськова Н.С. Детоксицирующий и стресспротекторный эффект биопрепарата «Метаболит» при загрязнении нефтью посевов сахарной свеклы // Агрехимия. 2011. №6. С. 55-60.
3. Методика количественного химического анализа. Определение As, Cd, Co, Cr, Cu, Hg, Mn, Ni, Pb, Sb, Sn, Zn (кислоторастворимые формы) в почвах и донных отложениях атомно-адсорбционным методом. М02-902-125-2005. - С.-П., 2005.

**ПОИСК ОПТИМАЛЬНЫХ УСЛОВИЙ ДЛЯ СОЗДАНИЯ СИСТЕМЫ
IN VITRO, ПРЕДНАЗНАЧЕННОЙ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ ВЛИЯНИЯ
БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ НА
ФУНКЦИОНАЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ И ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ
МОНОНУКЛЕАРНЫХ ЛЕЙКОЦИТОВ**

Гуцол А.А., Сохоневич Н.А., Шуплецова В.В., Литвинова Л.С.

Балтийский федеральный университет имени И.Канта

gutsol.alevtina@yandex.ru

Прохождение лимфоидными клетками антигензависимых и антигеннезависимых стадий развития в живом организме (in vivo) обеспечивается микроокружением лимфоидной ткани. Сохранение и поддержание функциональной активности клеток in vitro также зависит от множества факторов. В частности, от состава питательной среды, наличия или отсутствия дополнительных ростовых факторов в культуре, а также от времени инкубации и условий, в которых проводится культивирование клеток.

Целью настоящего исследования явилось определение оптимальных условий для создания системы in vitro, предназначенной для исследования влияния биологически активных веществ (гормоны, цитокины) на функциональную активность и жизнеспособность мононуклеарных лейкоцитов.

Из периферической крови 14 условно здоровых доноров (7 женщин и 7 мужчин, 20-35 лет) выделяли фракцию мононуклеарных клеток (МНК) стандартным методом центрифугирования в градиенте плотности Ficoll-Urografin («Schering» Испания; «Pharmacia» Швеция). Жизнеспособность выделенных клеток составляла не менее 95%. Для оценки влияния сывороточных компонентов питательной среды на функциональную активность клеток, МНК культивировали в среде RPMI-1640 (с добавлением 10% инактивированной эмбриональной телячьей сыворотки (ЭТС) («Sigma», USA), и в бессывороточной среде Искова. В культуральную среду также добавлялись L-глутамин (0,3 мг/мл), раствор 2-меркаптоэтанола (10 мкл/мл) и гентамицин (100 мкг/мл). Для определения оптимального времени культивирования клетки инкубировали в течение 24 и 48 часов при 37°C и 5% CO₂. Также было проведено культивирование клеток без и с добавлением ростового фактора - ФГА (5 мкг/мл). По истечении срока инкубации методом проточной цитофлюориметрии («Millipore», США) оценивали

жизнеспособность исследуемых культур и регистрацию числа клеток, экспрессирующих молекулы CD25, CD71, HLA-DR и CD95. Методом иммуоферментного анализа («Вектор-Бест», Россия) определяли продукцию IL-2 в супернатантах клеточных культур.

В результате исследования было установлено, что общая клеточность в пробах, культивируемых с RPMI-1640, была выше, чем в образцах со средой Искова (как в присутствии митогена, так и без него). Однако следует отметить, что количество живых клеток значительно не изменялось в пробах с разными условиями культивирования, как на первые, так и на вторые сутки, составляя в среднем $93,50 \pm 3,31\%$.

Известно, что ключевую роль в запуске пролиферативного ответа играет продукция Т-клеточного ростового фактора интерлейкина-2 (IL-2) и экспрессия его рецептора (IL-2R) [Berridge M.J., 1997; Lin J., Weiss A., 2001]. Появление CD25 (α -цепи) в составе IL-2R приводит к возрастанию сродства рецептора к IL-2 на два порядка, и именно взаимодействие IL-2 с высокоаффинным рецептором IL-2 является тем ключевым моментом, который обеспечивает запуск сигнальных событий, непосредственно регулирующих вступление покоящихся Т-лимфоцитов в клеточный цикл [Ellery J.M., Nicholls P.J., 2002; Benczik M., Gaffen S.L., 2004]. Нами было показано, что число лейкоцитов, несущих на своей поверхности маркер активации CD25, через 24 часа после инкубации составляло $1,88 \pm 0,21\%$ как в образцах со средой Искова, так и в пробах с RPMI-1640. На вторые сутки количество CD25⁺-лимфоцитов возрастало в обоих вариантах культивирования в 1,4 раза. Поскольку CD25 является «ранним» маркером активации, то добавление в клеточные культуры ростового фактора (ФГА), приводило к значительному увеличению исследуемого показателя через 24 часа и последующему его снижению на вторые сутки (преимущественно в RPMI-1640 за счёт действия ЭТС), и, как следствие, его замещению более поздними молекулами активации. Также следует отметить, что через 48 часов от начала инкубации, продукция IL-2 снижалась во всех исследуемых образцах.

Одним из критериев оценки пролиферативной активности клеток является экспрессия рецептора к трансферрину - CD71 [Хаитов Р.М., 2009; Baynes R.D. et al., 1994]. Нами было установлено, что в среде RPMI-1640 количество клеток, экспрессирующих маркер CD71, не изменялось в зависимости от времени культивирования и составляло в среднем $7,75 \pm 1,11\%$, а в пробах со средой Искова число CD71⁺-клеток нарастало только на вторые сутки инкубации ($9,63 \pm 1,99\%$). Добавление ФГА приводило к значительному увеличению анализируемого параметра в обоих вариантах, и в большей степени - через 48 часов. При этом

количество CD71⁺-клеток, культивируемых в среде Искова, было выше, чем в пробах с RPMI-1640, как на первые, так и на вторые сутки инкубации.

В свою очередь, HLA-DR является маркером более поздней, а также длительной активации клеток [Череев А.Н. и соавт., 1999; Stites D. et.al., 1996]. Нами было выявлено, что через 24 часа после культивирования, количество клеток, экспрессирующих молекулу HLA-DR, в разных образцах практически не отличалось и составляло в среднем $8,22 \pm 3,77\%$. На вторые сутки произошло увеличение данного показателя в пробах со средой Искова в 1,8 раз (в т.ч., с добавлением ФГА).

Естественным завершением дифференцировочного процесса является активационный апоптоз. CD95 (APO-1, FAS) является своего рода маркером готовности клеток к запуску активационного апоптоза [Itoh N.et.al., 1991; Oehm A.et.al., 1992]. По данным проведенного исследования, количество клеток, несущих на мембране молекулу CD95, достоверно увеличивалось в культурах через 48 часов от момента начала инкубации. При этом в пробах с добавлением ФГА изучаемый показатель был наибольшим, что могло быть следствием усиления активационного апоптоза на фоне дисбаланса иницирующих сигналов [Барышников А.Ю., Шишкин Ю.В., 2002].

Таким образом, полученные в результате эксперимента данные показывают, что для регистрации поверхностных маркеров оптимальным условием культивирования является инкубация клеток в бессывороточной среде Искова (с добавлением митогена) в течение 48 часов. Это позволяет зарегистрировать как экспрессию раннего активационного маркера CD25 на мембранах клеток, так и более поздних молекул (активации, пролиферации и апоптоза). Добавление в культуру митогена способствует более выраженной экспрессии данных рецепторов, в то время как отсутствие в среде сыворотки, а значит и дополнительных ростовых факторов, позволяет избежать развития активационного апоптоза в изучаемых культурах клеток.

Для оценки влияния разных активаторов и ростовых факторов на функциональную активность исследуемых клеток, было проведено сравнительное культивирование МНК в бессывороточной среде Искова с добавлением ФГА («Difco», Германия) и реагента T-Cell Activation/Expansion Kit human (Ac/Exp) («Miltenyi Biotec», Germany), в течение 48 часов. ФГА (лектин фасоли) является сильным митогеном, который индуцирует переход клеток из стадии G₂ в митоз и способен вызывать поликлональную активацию и бласттрансформацию

Т-лимфоцитов. В свою очередь реагент T-Cell Activation/Expansion Kit human представляет собой анти-биотиновые частицы с биотинилированными антителами против CD2⁺, CD3⁺, CD28⁺. Нагруженные антителами анти-биотиновые частицы используются в качестве имитации АПК и активации покоящихся Т-клеток.

По результатам исследования количество живых лейкоцитов в интактных пробах было равным $79,82 \pm 3,13\%$, в культурах с добавлением ФГА - $90,50 \pm 2,44\%$, а в образцах с Ас/Exp - $71,29 \pm 1,96\%$.

Количество лейкоцитов, несущих на мембране рецептор к IL-2 (CD25), составляло в среднем $3,53 \pm 0,77\%$. При добавлении в культуры ФГА их количество увеличивалось в 3,7 раза, а с Ас/Exp - в 13,5 раз. Следует отметить, что продукция клетками IL-2 увеличивалась как в образцах с ФГА, так и в условиях присутствия Т-клеточного активатора в 4,5 и 2 раза, соответственно (по сравнению с интактной пробой).

В свою очередь, в нестимулированных пробах количество CD71⁺-клеток было равным $3,60 \pm 1,18\%$. ФГА и Ас/Exp приводили к увеличению исследуемого показателя в 7,7 и 3,5 раза, соответственно.

Также следует отметить, что добавление в культуры ФГА приводило к снижению количества CD95⁺-лимфоцитов (по сравнению с интактной пробой), в то время как инкубация клеток с Т-клеточным активатором (Ас/Exp), напротив, способствовала увеличению данного показателя в 2,2 раза по сравнению с контролем.

Полученные экспериментальные данные указывают на возможность использования в качестве митогена набор T-Cell Activation/Expansion Kit human («Miltenyi Biotec», Germany).

Таким образом, было установлено, что оптимальным условием для оценки основных этапов функциональной активности (активация, пролиферация и апоптоз) МНК, является инкубация клеток в бессывороточной среде Искова с добавлением митогена в течение 48 часов. Полученные экспериментальные данные указывают на возможность использования в качестве митогена/активатора набор T-Cell Activation/Expansion Kit human («Miltenyi Biotec», Germany), который отличается большей специфичностью, поскольку его активирующее действие направлено исключительно на популяцию Т-клеток, что особенно важно для дальнейшего целенаправленного изучения эффектов биологически активных веществ на функциональную активность иммунокомпетентных клеток.

Работа выполнена в рамках Федеральной целевой программы “Научные и научно-педагогические кадры инновационной России” на 2009-2013 гг. (Соглашения № 14.А18.21.1121, №14.132.21.1778 и №14.132.21.1341), а также при финансовой поддержке Совета по грантам Президента РФ № МД-4999.2012 и СП-454.2013.4.

Литература

1. Барышников А.Ю., Шишкин Ю.В. Иммунологические проблемы апоптоза. – М.: Эдиториал УРСС, 2002. – 320 с.
2. Хайтов Р.М. Иммунология. – М.: ГЭОТАР Медиа, 2009. – 311 с.
3. Чередеев А.Н., Горлина Н.К., Козлов И.Г. CD-маркеры в практике клинико-диагностических лабораторий // Клиническая лабораторная диагностика. – 1999. - №6. – С.25-31.
4. Baynes R.D., Skikne B.S., Cook J. D. Circulating transferrin receptors and assessment of iron status // J. Nutr. Biochem. – 1994. – Vol. 5. – P. 322-330.
5. Benczik M., Gaffen S.L. The interleukin (IL)-2 family cytokines: survival and proliferation signaling pathways in T lymphocytes // Immunol. Invest. – 2004. – Vol. 33 (№2). – P. 109-142.
6. Berridge M.J. Lymphocyte activation in health and disease // Crit. Rev. Immunol. – 1997. – Vol. 17 (№2). – P. 155-178.
7. Ellery J. M., Nicholls P. J. Possible mechanism for the alpha subunit of the interleukin-2 receptor (CD25) to influence interleukin-2 receptor signal transduction // Immunol Cell Biol. – 2002. – Vol. 80 (№4). – P. 351-359.
8. Itoh N., Yonehara S., Ishii A., Yonehara M., Mizushima S.I., Sameshima M., Hase A., Seto Y., Nagata S. The polypeptide encoded by the cDNA for human cell surface antigen Fas can mediate apoptosis // Cell. – 1991. – Vol. 66 (№2). – P. 233-243.
9. Lin J., Weiss A. T cell receptor signaling // J. Cell Sci. – 2001. – Vol. 114 (№2). – P. 243-244.
10. Oehm A., Behrmann I., Falk W., Pawlita M., Maier G., Klas C., Li-Weber M., Richards S., Dhein J., Traut B.C., Ponstingl H., Krammer P.H. Purification and molecular cloning of the APO-1 cell surface antigen, a member of the tumor necrosis factor/nerve growth factor receptor superfamily. Sequence identity with the Fas antigen // J. Biol. Chem. – 1992. – Vol. 267 (№15). – P. 10709-10715.
11. Stites D., Casavant C., McHugh T., et al. Flow cytometric analysis of lymphocyte phenotypes in AIDS using monoclonal antibodies and simultaneous dual immunofluorescence // Clin Immunol Immunopathol. – 1986. – Vol.38. – P.161-177.

ВЛИЯНИЕ 1-АМИНО-2-ФЕНИЛЭТИЛ ФОСФОНОВОЙ КИСЛОТЫ (ФЕФ) НА КАТАЛИТИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ ФЕНИЛАЛАНИН-АММИАК-ЛИАЗЫ ПЛОДОВ ЯБЛОНИ

Гюльяхмедов С.Г., Кулиева С.М.

Бакинский Государственный Университет

sahib66@rambler.ru

Фенилаланин-аммиак-лиаза (ФАЛ; К.Ф. 4.3.1.5) впервые была изучена в 1961 году Koukol и Sonn. Этот фермент катализирует первую и скорость лимитирующую реакцию фенилпропаноидного пути (ФПП) - реакцию дезаминирования L-фениланина (L-Phe) с образованием *транс*-коричной кислоты и аммиака. ФПП является вторичным метаболическим путем в тканях высших растений, основная роль которого сводится к формированию защитных биохимических систем в ответ к воздействию неблагоприятных факторов среды.

Функционирование ФАЛ доказано в различных тканях высших растений, в некоторых грибах и в клетках дрожжей. В животных тканях обнаружить ФАЛ - активность пока не удалось.

Однако в большинстве растительных тканях, в том числе и сочных плодах, ФАЛ изучена слабо, а в плодах яблони практически не исследована.

Изучено влияние 1-амино-2-фенилэтил фосфоновой кислоты (ФеФ) и других аналогов L-Phe на активность ФАЛ субэпидермальной ткани плодов яблони. Объектами исследования служили плоды ябллок двух сортов, Гызыл Ахмеди (зимний сорт) и Ренет Симиренко (зимний сорт), произрастающие в Кубинском районе Азербайджана.

Полученные результаты показали, что в наномолярной концентрации ФеФ практически не влияет на активность ФАЛ плодов яблони. Ингибирующий эффект этой кислоты наблюдался только ее микромолярной концентрации. При этом наиболее сильное ингибирующее влияние оказал L-изомер ФеФ с коэффициентом ингибирования (K_i) 2.5 мкМ. Тогда как, ее D-изомер в концентрации 6 мкМ ингибировал активность изученного фермента только на 8%.

Необходимо отметить, что аналогичное влияние изомеров ФеФ на активность ФАЛ наблюдалось и в плодах Ренет Симиренко с незначительной разницей. В этих плодах значение K_i для L- изомера ФеФ было чуть меньше (2.35 мкМ).

Интересно отметить, что, по нашим предварительным данным, такие слабокислые аналоги фенилаланина, как амидная форма или метиловый эфир L-Phe, тетразолий, фенилэтилтиамин, не оказывают ингибирующий эффект на активность ФАЛ. Это наводит на мысль о том, что активный центр фермента взаимодействует преимущественно с карбоксильной группой этой аминокислоты.

ГЛИЦЕРИН КАК АНТИСТЕРССОВЫЙ ФАКТОР

Давыденко С.Г., Меледина Т.В.

ОАО, Институт холода и биотехнологий НИУ ИТМО

Davydenko@spb.baltika.ru

В процессе пивоварения дрожжи подвергаются воздействию осмотического, метаболического, этанольного, гидростатический и др. стрессов. Высокое гидростатическое давление, возникающее при использовании современных цилиндроконических танков (ЦКТ) высотой до нескольких десятков метров, оказывает негативное влияние на физиологическую активность дрожжевых клеток.

Современные методы транскриптомики – сравнительного анализа увеличения транскрипционной активности генов в масштабе целостного организма *S. cerevisiae*, находящегося в условиях действия повышенного гидростатического давления, выявили активацию генов множественной устойчивости к стрессу. Кроме того наблюдалась высокая индукция генов, связанных с окислительным и высокотемпературным стрессом. Таким образом, в условиях повышенного гидростатического давления действует множественный механизм защиты, вызванный умеренным воздействием давления во время ферментативного процесса [1, 2, 3].

Известно, что внутриклеточная трегалоза повышает жизнеспособность дрожжей во время действия давления. Еще одним антистрессовым фактором, защищающим дрожжевую клетку от гибели, является глицерин. Исходным метаболитом в биосинтезе глицерина является фруктозо-1,6-дифосфат, небольшая часть которого может превращаться в дигидроксиацетонфосфат и далее расщепляться глицерин-3-фосфат дегидрогеназами, кодируемыми генами *GPD1* и *GPD2*, с образованием глицерина, который увеличивает вязкость цитоплазмы и способствует повышению эластичности мембраны в условиях повышенного давления.

Целью данных исследований являлось изучение биосинтеза глицерина при воздействии на пивные дрожжи гидростатического давления. Антистрессовая роль глицерина при воздействии на дрожжи была подтверждена при проведении ряда экспериментов на Минипивзаводе Berplan Harter GmbH в ЦКТ объемом 120 л. Использовали сусло плотностью 12°. Брожение проводили при 14°C. В контрольный и экспериментальный ЦКТ вносили одинаковое количество

культуры производственного пивоваренного штамма Y-3194 [4]. Через 3 дня брожения экспериментальный ЦКТ зашпунтовывали и создавали постоянное давление 2 бар.

Определение степени сбраживания RDF и содержания этанола проводили с помощью алколайзера фирмы Anton Paar [5]. Определение сахаров и глицерина в пробах проводили методом ВЭЖХ на приборе LC 10ADVP фирмы Shimadzu [6].

Повышенное давление привело к замедлению бродильной активности дрожжей и к снижению количества утилизированной мальтозы и уменьшению продукции этанола. В то же время в условиях стресса синтез глицерина увеличился, что подтверждает предположение о его роли в защите от неблагоприятных воздействий.

Литература

1. Freitas J.M., Bravim F., Buss D., Fernandes A.A.R., Fernandes P.M.B. Influence of the plasma membrane fluidity on the response of *Saccharomyces cerevisiae* to hydrostatic pressure stress *Current Pharmaceutical Biotechnology*. 2012. V.13. N 15. P. 39-40.
2. Bravim F., Palhano FL., Fernandes A.A.R., Fernandes P.M.B. Biotechnological properties of distillery and laboratory yeasts in response to industrial stresses *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*. 2010. V. 37. N 10. P.1071-1079.
3. Attfeld P.V. Stress tolerance: the key to effective strains of industrial baker's yeast // *Nat Biotechnol*. 1997. V. 13. P. 1351-1357.
4. Давыденко С.Г., Афонин Д.В., Дедегкаев А.Т. и др. Штамм дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* для применения в пивоваренной промышленности // Патент на изобретение 2008. № 2340666.
5. Analytica EBC. Real degree of fermentation of beer. 2004. Method 9.5.
6. Analytica EBC. Fermentable Carbohydrates in beer by HPLC. 2004. Method 9.27.

ХЛОРОПЛАСТНАЯ ТРАНСФОРМАЦИЯ РАСТЕНИЙ: ПОЛУЧЕНИЕ И ПЕРСПЕКТИВЫ

Данилова С.А., Кунакова Е.А.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение науки
Институт физиологии растений им. К.А.Тимирязева Российской
академии наук

svdan@yandex.ru

В прошлом, продуктивность сельского хозяйства значительно увеличивалась благодаря улучшению управления сельским хозяйством, более широкому использованию удобрений и пестицидов, «зеленой революции» и гибридных технологий. Согласно мнениям биологов, современные инновационные технологии это в первую очередь трансгенные технологии, с помощью которых можно получать за короткий срок (в сравнении с традиционными подходами и технологиями) сорта сельскохозяйственных культур способные противостоять вирусным, бактериальным, грибковым заболеваниям и неблагоприятным условиям окружающей среды. Биотехнология позволяет улучшать как пищевую ценность, так и декоративные качества культурных растений. Чтобы снизить стоимость высокозатратных белков медицинского назначения, трансгенные растения используют в качестве живых биореакторов для их получения.

Особое место в трансгенной инженерии растений занимают транспластные растения. Хлоропласты, имеют собственный геном и являются обязательным компонентом растительной клетки. Технология экспрессии генов хлоропластов основывается на способности этих клеточных органелл эффективно синтезировать и накапливать белки. Что особенно ценно, хлоропласты даже лучше справляются с задачей синтеза чужеродных белков, чем традиционно применяемые дрожжи и микроорганизмы, или трансгенные растения. Эта технология позволяет получать различные белки в больших количествах при меньших затратах, что чрезвычайно важно для коммерческого использования [1]. Кроме того, генетическая информация передается от пластид главным образом по материнской линии, что практически исключает перенос при помощи пыльцы любых генов, введенных в хлоропласты. Поэтому, использование таких растений приносит наименьший вред окружающей среде, и они являются экологически более безопасными.

Метод, используемый для получения хлоропластных трансгенных растений:

Хлоропласты (Рис.1) имеют собственный генетический аппарат и белоксинтезирующую систему и способны делиться внутри клетки. Хлоропластный геном имеет не более 100 генов. В отличие от линейных молекул ДНК в хромосомах ядра, хлоропластная ДНК представляет собой замкнутую кольцевую молекулу. Ее размеры варьируют у разных видов растений большей частью в интервале от 130 до 160 тыс пар оснований [2].

Наиболее широко используемый метод введения ДНК в хлоропластный геном растительной клетки это бомбардировка микрочастицами, или био-баллистика. В нашей работе используется пушка Biolistic PDS-1000/He фирмы Bio-RAD (USA), см. Рис. 2.

Вначале золотые или вольфрамовые сферические частицы диаметром 0.4-1.0 мкм покрывают векторной ДНК, осажденной CaCl₂ и спермидином, затем наносят на мембрану, которую помещают внутрь баллистической пушки. Чашки Петри с эксплантами помещают под пушку на расстоянии 10-15 см. В пушке вакуумным насосом уменьшают давление до 28-30 ед. по манометру. В момент «выстрела», сжатым воздухом или гелием, частицы разгоняются до скорости 300 - 600 м/с и пробивают клеточную стенку и мембраны, попадая в цитоплазму, пластиды или ядро растительных клеток. При этом количество частиц в расчете на клетку невелико и клетки практически не повреждаются. Попав внутрь клетки, ДНК-вектор при удачном стечении обстоятельств за счет гомологичной рекомбинации встраивает целевые гены в хлоропластный геном (Рис.3). Благодаря хлоропласт-специфичным промоторам, которые сопутствуют вводимым генам, эти гены экспрессируют только, если они встраиваются в пластидах, а дальнейшая селекция трансформированных клеток позволяет отобрать только те трансформанты, в которых произошла интеграция чужеродного гена в хлоропластный геном. Метод бомбардировки микрочастицами позволяет трансформировать растения самых разных видов. Однако, у нас к настоящему времени эффективная технология трансформации пластид отработана на растениях табака [3].

Большие перспективы пластидной трансформации растений побуждают исследователей к поискам новых методических подходов и расширению круга объектов для этой трансформации. Трансплантомные растения перспективны как для фундаментальной науки, так и для коммерческой биотехнологии.



Рис. 1. Баллистическая пушка фирмы Bio-RAD

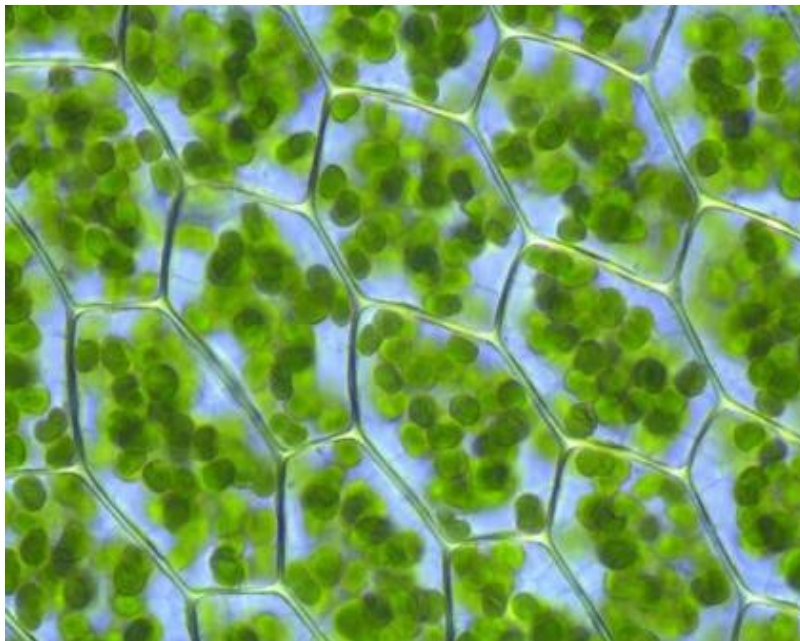


Рис. 2. Хлоропласты в клетке растений

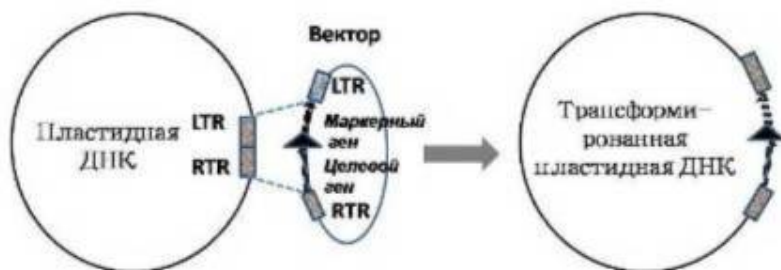


Рис. 3. Гомологичная рекомбинация целевого гена в пластидный геном.

Литература

1. Clarke, J.L. and Daniell, H. (2011) Plastid biotechnology for crop production: present status and future perspectives. *Plant Mol. Biol.* doi: 10.1007/s11103-011-9767-z.
2. Даниленко Н.Г., Давыденко О.Г. Миры геномов органелл. Мн.: Тэхналогія, 2003. 94 с. ISBN 985-458-077-6.
3. Данилова С.А. Получение транспластомных растений табака биобаллистическим методом. В сб. «Молекулярно-генетические и биохимические методы в современной биологии растений». М: Бином.Лаборатория знаний, 2011, с.26-36.

РОЛЬ АНТИОКСИДАНТНЫХ ФЕРМЕНТОВ В УСЛОВИЯХ ХРОНИЧЕСКОГО γ - ОБЛУЧЕНИЯ *ALHAGI PSEUDALHAGI* (ВИБ.)

Джафаров Э.С., Джафарлы А.К.

Институт Радиационных Проблем НАН Азербайджана, г. Баку

e_dzhafarov@rambler.ru

В связи с обострением экологического кризиса большое значение приобретает задача повышения устойчивости растений к воздействию неблагоприятных факторов внешней среды, в частности, к действию ионизирующего излучения. Для успешного решения этой проблемы крайне важно выяснение механизмов формирования защитных ответных реакций, определение функциональной роли участвующих в них физиологических систем растения.

Известно, что у живых организмов под влиянием самых разнообразных неблагоприятных факторов происходит интенсивное развитие окислительных процессов, для сдерживания которых необходимо быстрое и значительное увеличение антиоксидантных ресурсов клеток. Это требует достаточно глубоких переключений во всем клеточном метаболизме. Показано, что действие повышенных доз ионизирующей радиации приводит к нарушению клеточного метаболизма. В ответ на усиление генерации активных форм кислорода, как правило, наблюдается изменение активности антиоксидантных ферментов, таких как супероксиддисмутаза (СОД), каталаза (КАТ) и аскорбатпероксидаза (АПО) [5].

Учитывая актуальность и большой интерес к данной проблеме, важно обобщить данные и сформулировать задачи, которые ждут своего решения для более глубокого понимания процессов передачи сигналов и активизации защитных реакций организма в условиях генерации избыточных форм кислорода при стрессе.

Цель данной работы состояла в изучении механизмов формирования и регуляторной функций ответных реакций антиоксидантной системы.

Материалы и методы.

Объектами исследования были интактные листья верблюжьей колючки обыкновенной – *Alhagi pseudalhagi* (Bieb.). Выбор растения связан с тем, что оно является наиболее распространенным на выбранном нами участке, почва которого загрязнена разными природными радионуклидами.

Для решения поставленной задачи на территории завода были выбраны один контрольный и три опытных участка. На момент проведения исследований средняя мощность экспозиционной дозы на контрольном и на опытных участках составляла $(15,5 \pm 2,1)$ и (350 ± 58) мкР/час, соответственно. Выбранный в качестве контрольного участок обладал почти идентичными почвенно - климатическими характеристиками и имел мощность дозы, равную природному радиационному фону, характерному для данной местности.

Пробы листьев для фиксации и извлечения пигментов брали в трех фазах: в фазе всходов, развития и созревания растения.

Активность АПО (КФ 1.11.1.11) определяли по методике Накано и Асада [13]. Оптическую плотность регистрировали на спектрофотометре *Ultrospec 3300 Pro* (Amersham, USA) при 290 нм против контроля без ферментного экстракта. В качестве меры активности АПО использовали понижение оптической плотности за первые 30 сек реакции, с последующим расчетом активности на основе коэффициента молярной экстинкции $\epsilon = 2,8 \text{ мМ}^{-1}\text{см}^{-1}$.

Для определения активности КАТ (H_2O_2 : H_2O_2 -оксидоредуктазы, КФ 1.11.1.6) использовали методику, разработанную в работе Кумар и Кновлес [11]. На спектрофотометре измеряли падение оптической плотности при 240 нм за 1 мин. Коэффициент молярной экстинкции составлял $\epsilon = 39,4 \text{ мМ}^{-1}\text{см}^{-1}$.

Активность СОД (КФ 1.15.1.1) также определяли по методике, разработанной в работе Кумар и Кновлес [11]. Реакцию запускали добавлением рибофлавина с последующей инкубацией в течение 20 мин на белом свете (4000 лк). Максимальный уровень образования формазана наблюдали в варианте без растительного экстракта (2,65 мл исходного буфера, рН 7,8). Измерения проводили против контрольного варианта, выдержанного в темноте. Оптическую плотность измеряли на спектрофотометре при 560 нм. За единицу активность СОД принимали 50%-ное ингибирование образования формазана.

Опыты проводили в двукратной биологической и трехкратной аналитической повторности, которые давали результаты с погрешностью от 0 до $\pm 20\%$. На рисунках представлены среднеарифметические значения измеряемых величин.

Статистическую обработку проводили с помощью стандартных методов вариационной статистики. Значимость различий контрольных и экспериментальных результатов оценивали при помощи t - критерия Стьюдента [2]. Различия стали достоверными при $|t| > 2$ ($p < 0.05$).

Результаты исследования и их обсуждение.

Определение активности СОД в листьях *Alhagi pseudalhagi* (Bieb.) в разных фазах развития растения. Полученные нами данные по активности СОД представлены на рис. 1.

Как видно из результатов, активность СОД в листьях контрольного образца растения в фазе всходов по сравнению с другими фазами существенно выше (почти в 2 раза). А в фазах развития и созревания активность этого фермента для контрольного образца существенно не изменились.

Для опытного растения наблюдалась иная картина. При этом в листьях опытного растения активность СОД в фазах всходов и развития значительно снизилась. А в фазе плодоношения значение активности фермента достоверно не отличалось от величин контрольного варианта. Можно предположить, что причины снижения активности СОД в этот период развития растения могут быть разнообразными, например истощение пула ферментов усиленным его расходом на гашение супероксид радикалов. Кроме того, поскольку активность СОД является результатом как ее синтеза, так и деградации, уменьшение активности может быть следствием снижения синтеза или повышением деградации молекул СОД.

Следует отметить, что при достижении определенного уровня окислительного стресса может происходить снижение активности СОД. Например, в листьях пшеницы в условиях засухи в начале отмечена активация ферментов, затем с увеличением длительности воздействия происходило снижение активности [10]. Такая же тенденция отмечена при увеличении не только длительности воздействия, но и его интенсивности: при водном дефиците [6], переувлажнении [1], солевом стрессе [15], обработке обсаценовой кислотой [10] и тяжелыми металлами [7].

Снижение активности фермента может происходить и без его предварительной активации в случае довольно интенсивного воздействия, что отмечено при обработке растений тяжелыми металлами [14], УФ облучении [4].

Анализ данных, полученных разными авторами, показывает, что, стрессовые факторы, если в одном случае приводят к увеличению активности СОД, то в другом – снижение, что зависит от напряженности действия стрессового фактора (интенсивности и длительности воздействия), а также от восприимчивости организма, стадии развития растений.

Определение активности КАТ в листьях *Alhagi pseudalhagi* (Bieb.) в

разных фазах развития растения. Как известно, антиоксидантные ферменты характеризуются высокой специфичностью по отношению к АФК и отличаются строго определенной локализацией в клетке. Несмотря на то, что важнейшим ферментом антиоксидантной защиты является СОД, которая катализирует реакцию дисмутации супероксидного анион-радикала, роль каталазы при этом тоже существенна. Так как, в результате работы СОД образуется пероксид водорода и основным ферментом, удаляющим пероксид водорода в клетке, является каталаза [3].

Результаты проведенных нами исследований по определению активности каталазы представлены на рис. 2.

Анализ результатов показывают, что в период вегетации для контрольного образца растения в активности каталазы отмечается тенденция к ее существенному увеличению. Кроме того, опытные образцы этого растения во всех фазах ее развития по сравнению с контрольными характеризуются более высокой активностью каталазы. При этом активность этого фермента в фазах всходов и развития оставалась на стабильно высоком уровне. Иными словами, не происходило значительных изменений активности этого фермента в листьях после воздействия радиационного шока. Интерес вызывает тот факт, что в период плодоношения каталаза в опытном образце проявила наивысшую активность. Другими словами, повреждающее воздействие ионизирующего излучения вызывало существенное повышение активности каталазы уже в начале вегетационного периода, а в конце - наблюдаемый этот эффект усиливался.

Предполагаем, что увеличение активности фермента при различных стрессовых воздействиях может быть обусловлено активацией его латентных форм или синтезом новых молекул фермента.

Следует также предположить, что очень высокая активность каталазы после повреждающих воздействий могла компенсироваться весьма низкой активностью СОД, наблюдаемой нами.

Таким образом, на отдельных стадиях наблюдений в наших экспериментах проявлялась своеобразная «взаимозаменяемость» каталазы и СОД: при повышенных значениях активности каталазы отмечалась пониженная активность СОД и наоборот. Так как устойчивые растения имеют более эффективную систему защиты, что обеспечивает возможность их функционирования в условиях стресса.

Определение активности АПО в листьях *Alhagi pseudalhagi* (Bieb.) в разных фазах развития растения. Аскорбатпероксидазная реакция - это центральный процесс целого цикла реакций, направленного на удаление

основных активных форм кислорода в хлоропластах [3]. Показано, что увеличение пероксидазной активности является неспецифическим ответом на биотические и абиотические стрессоры. Предполагается, что пероксидаза может выступать в качестве регулятора формирования адаптационных процессов при различных физиологических нагрузках на клетки [5].

Полученные нами данные по определению аскорбатпероксидазы как для контрольного образца, так и для образца растения, произрастающего в зоне хронического облучения ионизирующего излучения, представлены на рис. 3.

Как видно из этого рисунка динамика активности аскорбатпероксидазы для контрольного образца согласуется с динамикой развития растения. Другими словами, в процессе онтогенеза с развитием растения отмечалась тенденция к ее увеличению. В фазе плодоношения фермент демонстрировал наивысшую активность. При этом активность этого фермента увеличивалась примерно в 2 раза. А для опытного образца характерна иная картина: в фазе развития активность аскорбатпероксидазы резко падала, а в фазе плодоношения приравнялась к активности, которую растения имела в фазе всходов.

Таким образом, если ионизирующее воздействие сначала приводило к значительному понижению активности фермента, то в дальнейшем оно, вызывая повышение его активности, способствовало сохранению активности фермента после повреждающих воздействий на более высоком уровне. Предполагаем, что засуха и низкая температура в период плодоношения, которая характерна для данной местности тоже играла определенную роль.

Отметим, что в некоторых случаях выявленный эффект согласуется с данными других авторов. Например, увеличение активности пероксидазы при одновременном снижении активности супероксид дисмутазы и каталазы показано у растений *Carthamus tinctorius* L. в условиях засухи [12]. Повышение активности экстраклеточных пероксидаз с одновременным усилением генерации супероксида наблюдалось в ответ на обезвоживание и последующую регидратацию у печеночника (*Dumortiera hir-sute*) [9].

Известно, что антиоксиданты могут обеспечивать сигнальную функцию АФК, с одной стороны, поддерживая их образование, с другой стороны, сдерживая их деструктивную окислительную активность. Например, показано, что повышенная концентрация супероксидного анион-радикала в среде может ингибировать активность аскорбатпероксидазы [8]. В то же время можно предположить, что

пероксид водорода, имея способность активировать каталазы, может обуславливать неспецифическую пероксидазную активность СОД.

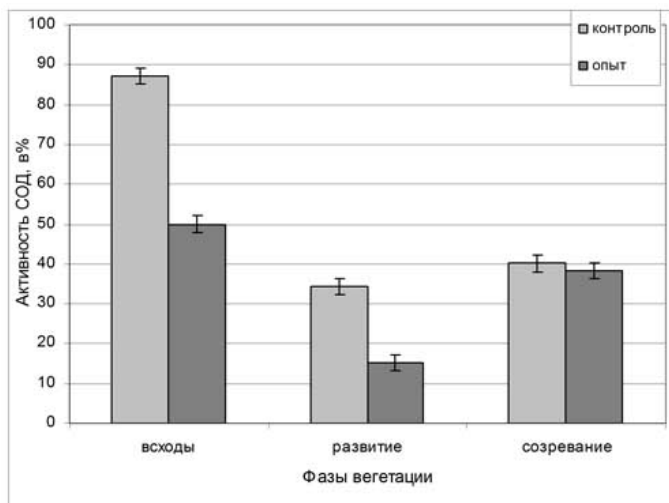


Рис. 1. Фаза - зависимое изменение активности СОД в листьях *Alhagi pseudalhagi*.

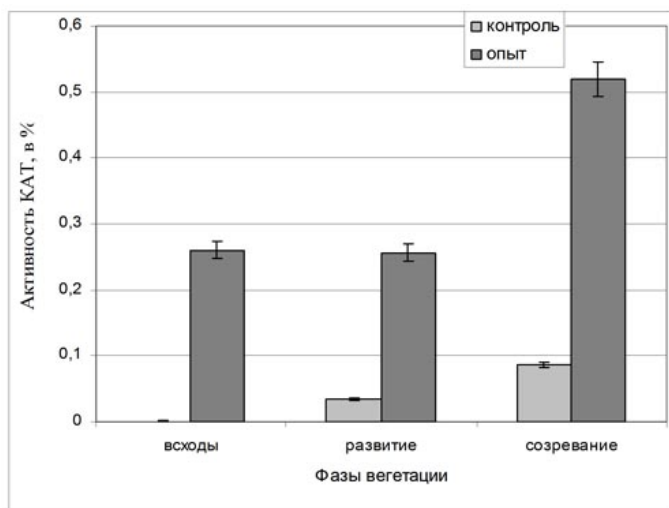


Рис. 2. Фаза - зависимое изменение активности КАТ в листьях *Alhagi pseudalhagi*.

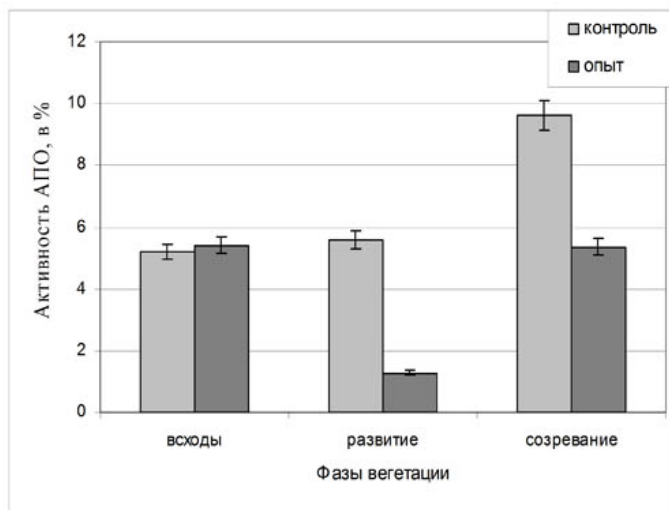


Рис. 3. Фаза - зависимое изменение активности АПОВ листьях *Alhagi pseudalhagi*

Литература

1. Калашников Ю. Е., Балахнина Т. И., Бенничелли Р. П., Степневский В., Степневская С. Активность антиокислительной системы и интенсивность перекисного окисления липидов в растениях пшеницы в связи с сортовой устойчивостью к переувлажнению почвы // Физиология растений. - 1999. - 46 (2). - С. 268-275.
2. Лакин Г.Ф. Биометрия. - М.: Наука, 1990. - 352 с.
3. Половинкина Е.О., Сеницына Ю.В. Окислительный стресс и особенности воздействия слабых стрессоров физической природы на перекисный гомеостаз растительной клетки (учебно - метод. пособие). - Нижний Новгород: Нижегородский госуниверситет. - 2010. - 62 с.
4. Barka E. A. Protective enzymes against reactive oxygen species during ripening of tomato (*Lycopersicon esculentum*) fruits in response to low amounts of UV-C //Austr. J. Plant Physiol. - 2001. - 28. - P.785—791.
5. Fang W.-C., Kao C. H. Enhanced peroxidase activity in rice leaves in response to excess iron, copper, and zinc // Plant Science. - 2000. -158. -P. 71-76.
6. Fu J., Huang B. Involvement of antioxidants and lipid peroxidation in the adaptation of two cool-season grasses to localized drought stress // Envir.

- Exp. Bot. – 2001. – 45. –P. 105-114.
7. Garcia A., Baquedano F. J., Navarro P., Castillo F. J. // Oxidative stress induced by copper in sunflower plants. *Free Radic. Res.* -1999. – 31. –P. 51-57.
 8. Hernández-Ruiz J., Rodríguez-López J.N., García-Cánovas F. et al. Characterization of isoperoxidase-B2 inactivation in etiolated *Lupinus albus* hypocotyls // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2000. – 1478. –P. 78 - 88.
 9. Jackson L., Li Y., Sulaiman M., Beckett R.P., Mini-bayeva F.V. Cell wall peroxidases in the liverwort *Dumortiera hirsuta* are responsible for extracellular superoxide production, and can display tyrosinase activity // *Physiol. Plant.* – 2010. –138. –P. 474-484.
 10. Jiang M., Zhang J. Effect of abscisic acid on active oxygen species, antioxidative defense system and oxidative damage in leaves of maize seedlings // *Plant Cell Physiol.* -2001. –42. –P. 1265—1273.
 11. Kumar C.N., Knowles N. Changes in lipid peroxidation and lipolytic and free-radical scavenging enzyme during aging and sprouting of Potato (*Solanum tuberosum* L.) seed tubers // *Plant Physiol.* – 1993. –102. –P. 115-124.
 12. Mostafa H., Mohammad M.S.A., Mojtaba K.; Faezeh G. Responses of growth and antioxidant systems in *Carthamus tinctorius* L. under water deficit stress // *Acta Physiol. Plant.* -2011. – 33. –P. 105-112.
 13. Nakano Y., Asada K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate specific peroxidase in spinach chloroplasts // *Plant. Cell. Physiol.* -1981. –22. –P. 867-880.
 14. Sandalio L., Dalurzo H., Gomez M. et al. Cadmium-induced changes in the growth and oxidative metabolism of pea plants // *Journal of Exp. Bot.* -2001. –52. –P. 2115—2126.
 15. Santos C., Campos A., Azevedo H., Caldeira G. In situ and in vitro senescence induced by KCl stress: nutritional imbalance, lipid peroxidation and antioxidant metabolism // *Journal of Exp. Bot.* -2001. – 52 . –P. 351-360.

МОДЕЛИРОВАНИЕ СКОРОСТЕЙ ОБМЕННЫХ ПРОЦЕССОВ В ВОДНОМ БАКТЕРИОЦЕНОЗЕ

Дмитриев В.В.

Санкт-Петербургский государственный университет

vasiliy-dmitriev@ramler.ru

Изученность эколого-физиологических особенностей бактериопланктона водоемов явно недостаточна. Относительно подробно исследовано микронаселение озер. В воде бактерии представлены одиночными бактериальными клетками, скоплениями клеток и микроколониями. Бактерии могут быть свободноплавающими или прикрепленными к поверхности минеральных или органических частиц, к поверхности клеток водорослей. С. Н. Виноградский (1952) в качестве одной из групп почвенной микрофлоры выделил так называемые *зимогенные* бактерии. Эти бактерии попадают в среду вместе с растительными и животными остатками, вызывая бурный распад мертвого ОВ, который, однако, быстро прекращается. Установлено, что органические вещества природных экосистем подвергаются последовательному разрушению при смене одних физиологических групп микроорганизмов другими (Кузнецов и др., 1985). Микроорганизмы, участвующие в ранних стадиях разложения фитопланктона, водной растительности и животных, должны быть непосредственно связаны с органическим субстратом, который они разлагают. Такие организмы часто называют *сапрофитной* микрофлорой.

Необходимо отметить, что отдельные таксономические группы бактерий приурочены к определенному типу водоемов. Так, бактерии рода *Pseudomonas* присутствуют в водоемах разной степени трофии, но основная масса их обнаружена в мезотрофных. Бактерии рода *Flavobacterium* выделены из мезотрофных и эвтрофных водоемов. При изучении сапрофитной микрофлоры исследователи указывали на постоянное присутствие бактерий названных родов, но лишь в конце 1970-х годов (Лаптева, Кузнецов, 1979) удалось подтвердить это количественными оценками. Оказалось, что в отдельных случаях представители сапрофитной микрофлоры могут достигать 0,1 - 1,0 млн. кл./мл. Это свидетельствует об их значительной роли в круговороте ОВ мезотрофных и эвтрофных водоемов.

Существуют различные мнения о соотношении свободноплавающих и

агрегированных бактерий в воде. Многие исследователи считают, что значительная часть бактерий ассоциирована с детритом. Другими показано, что большая часть гетеротрофной активности обусловлена свободноживущими микроорганизмами, а микроколонии ассоциированных с детритом бактерий составляют незначительную долю от общего количества бактериопланктона. Их роль возрастает по мере эвтрофирования водоемов.

Из наблюдений за концентрацией взвеси и численностью свободноплавающих и прикрепленных бактерий микробиологи (Bell, Albright 1981) сделали вывод о том, что в эстуариях по мере перехода от пресных вод к соленым уменьшается содержание взвеси и количество прикрепленных бактерий. В речных водах на долю прикрепленных бактерий приходится примерно 60% биомассы, а в водах с соленостью 25% — лишь 4%, причем сезонный аспект не вносит в эти соотношения существенных изменений. Зимогенная, сапрофитная микрофлора, которую в дальнейшем будем называть прикрепленными бактериями или *бактериями, ассоциированными с детритом*, служит объектом нашего моделирования. Многие авторы считают, что основным источником питания бактерий является растворенное органическое вещество (РОВ). Распад отмерших клеток животных или растений, согласно Х. Секи (1986), происходит следующим образом. После гибели клеток наступает первая стадия разложения — автолиз, на которой растворимые вещества не выщелачиваются, но сквозь поврежденный участок клеточной стенки в погибшую клетку проникает некоторое количество бактерий. Они ускоряют процесс распада. На следующей стадии растворимые вещества вымываются из погибшей клетки, при этом бактерии, находящиеся в погибшей протоплазме, образуют в водной среде агрегат. Колония микроорганизмов на поверхности клеточных стенок или на других нерастворимых компонентах погибшей клетки начинает разлагать эти нерастворимые вещества с помощью ферментов.

В литературе встречаются различные определения понятия "детрит". Это связано с тем, что в детрит включается либо только органическое (неживое), либо как органическое, так и минеральное (органо-минеральное) вещество, находящееся в воде во взвешенном состоянии. Кроме того, условная граница разделения взвешенного и растворенного вещества по размеру частичек также не позволяет унифицировать это понятие. Например, детрит можно разделить на крупно- и тонкодисперсную фракцию с размером частиц от 200-150 до 1-0,4 и от 1 — 0,4 до 0,001 мкм соответственно, а по другим оценкам, крупнодисперсные частицы имеют размер до 200-500 мкм,

тонкодисперсные— менее 1 мкм.

Не останавливаясь на других дискуссионных вопросах, следует отметить, что взвешенное мертвое ОВ в водных экосистемах связано в единый комплекс с населяющей его микробиотой (грибами, бактериями, простейшими), т.е. частицы детрита образуют самостоятельные микрэкосистемы, включающие живые и неживые компоненты. Поэтому под детритом целесообразно понимать единый комплекс, состоящий из частиц мертвого ОВ на разных стадиях трансформации и ассоциированных с ними микроорганизмов. Масса бактерий по отношению к самой массе детритных частиц достигает 5-50%, наиболее вероятная величина—10%. Доля прикрепленных бактерий по биомассе может быть выше их доли по численности (до 50% от биомассы), так как на детрите доминируют более крупные палочковидные бактерии.

Подтверждается способность планктонных животных потреблять детрит в сравнимых с водорослями количествах независимо от их местообитания.

Экспериментально показано, что смесь живых водорослей и свежего детрита потребляется животными в пищу практически одинаково (до 27% от массы тела в сутки). Высока и усвояемость детрита (40-80%). Между возрастом детрита и его усвояемостью существует обратная связь. Так, усвояемость снижается с 75 (однодневный детрит) до 14% (после 40 сут разложения). Накопленные в последние годы материалы свидетельствуют о том, что планктонные ракообразные, особенно эстуарные и неритические, потребляют детрит в значительных количествах, однако нет оснований считать его полноценным кормом, способным в течение длительного времени обеспечивать потребности животных. Роль детрита сводится к стабилизации системы "хищник — жертва", а комбинация детрита и фитопланктона обеспечивает зоопланктерам более надежный источник энергии, чем каждый из компонентов в отдельности.

Формирование детрита в водной среде происходит под действием биологических и физико-химических процессов: автолиза и вымывания, биогенной и абиогенной фрагментации, бактериальной деструкции и минерализации. На поверхности частиц детрита в результате сорбции осуществляется иммобилизация (связывание, фиксирование) биологически активных метаболитов, например ферментов. В то же время детрит является носителем разнообразной микрофлоры, активно взаимодействующей с РОВ.

Процесс трансформации ОВ на поверхности детрита происходит в несколько этапов: 1) адсорбция макромолекул растворенного ОВ; 2)

ферментативный гидролиз сорбированных веществ, сопровождающийся быстрой десорбцией осколков макромолекул; 3) усвоение десорбированных осколков микроорганизмами, обитающими на поверхности детрита; 4) выделение микроорганизмами метаболитов.

Детрит считается сформировавшимся, если он заселен микроорганизмами, которые изменяют его структуру и химический состав. При этом детрит повышает свою пищевую ценность за счет увеличения доли белковых компонентов на 10-24% (максимально до 300%). Доказано, что детрит, с которого удалена микрофлора, или детрит, не подвергшийся деструкции, практически не потребляется водными животными.

Рассмотрим схему трансформации вещества в бактериоценозе, которую будем использовать при моделировании. Бактерии, находясь на детрите, выделяют на его поверхность ферменты. Последние разрушают (растворяют) частицы мертвой органики, образуя в них небольшие углубления, в которых находятся сами бактерии и продукты внеклеточного гидролиза взвеси (компоненты РОВ), а также сорбированное РОВ. Компоненты РОВ — органические растворенные углерод, азот, фосфор — частично вымываются токами воды и включаются в круговорот вещества в экосистеме, а частично ассимилируются самими бактериями.

Ассимилированная пища в основном расходуется в виде трат на обмен. При этом в среду поступают продукты внутриклеточного бактериального гидролиза, расходуется кислород и выделяется углерод углекислого газа. Часть особей отмирает в результате естественной смертности, часть служит пищей зоопланктону.

Возможное разделение детрита, на лабильный и стойкий при моделировании, может быть в достаточной степени условным и зависит от принятых для бактериопланктона экономических коэффициентов. Применяемый для оценки эффективности продукционного процесса экономический коэффициент (ЭК) представляет собой *отношение ассимилированной части вещества (энергии) к полной затрате энергии* в результате жизнедеятельности бактерий, входящих в состав биоценоза (Горбунов, 1976).

Баланс массового обмена для бактерий, представленных экологически однородной группой микроорганизмов (бактерии ассоциированные с детритом), осуществляющих биохимическую деструкцию детрита, включает в себя следующие составляющие: V_D - скорость валового бактериального продуцирования (внеклеточного бактериального гидролиза); D_{DB} - скорость деструкции детрита

бактериями; Γ_{BC} , Γ_{BN} , Γ_{BP} - скорости поступления в среду растворенных органических C, N, P в результате внеклеточного бактериального гидролиза детрита; \mathcal{E}_{BC} , \mathcal{E}_{BN} , \mathcal{E}_{BP} - скорости поступления в среду растворенных органических углерода, азота, фосфора с продуктами внутриклеточного гидролиза бактерий; T_{BCO_2} , T_{BO_2} - скорости выделения в среду CO_2 и изъятия из среды O_2 в процессе дыхания бактерий (Дмитриев, 1987, 1995, 2000).

В разработанной нами концепции моделирования ЭК определен как:

$$\text{ЭК} = \mu_B B / D_{DB},$$

где μ_B - интенсивность "чистого" бактериального гидролиза детрита; B - биомасса бактерий; D_{DB} - скорость бактериальной деструкции детрита. Определения ЭК водных бактерий, использующих легко утилизируемые растворенные вещества, показывают, что его величина составляет 40-60%. У бактерий, живущих на трудно-растворимом или нерастворимом субстрате, ЭК не превышает 3%, а у анаэробных целлюлозных бактерий— 1,2%. Эффективность роста бактериопланктона варьирует в широких пределах—от 3 до 50-70%. Природные бактериальные сообщества используют на рост в среднем 20-40% энергии, получаемой с пищей из среды. Средняя величина ЭК пресноводного бактериопланктона равна 0,33-0,37 (Фурсенко, 1981).

Скорость продуцирования органического вещества бактериями в водной экосистеме. Введем в модели постоянное соотношение между тратами на обмен бактерий и валовой бактериальной продукцией:

$$a_B = R_B / \text{Ввал} = r_B B / (\mu_B + r_B) B = \text{const}$$

$$r_B = (a / (1 - a)) \mu_B;$$

$$\text{Тогда: } B_D = \text{Ввал} = (\mu_B + r_B) B = (1 / (1 - a_B)) \mu_B B,$$

где μ_B - интенсивность "чистого" бактериального гидролиза детрита; r_B - интенсивность трат на обмен бактерий B ; a_B - отношение R_B / B_D , задаваемое в модели константой.

Удельная скорость μ_B внешнего бактериального гидролиза (чистого продуцирования органического вещества бактериями) зависит от температуры воды (Гак, 1975) и содержания детрита и определяется по выражениям:

$$\mu_B = \mu_{B_{\text{max}}} = a \cdot t^e \text{ при } D > D_t$$

$$\mu_B = \mu_B^* (D - D_0) / (D_t - D_0) * (2 - (D - D_0)) \text{ при } D_t < D < D_0$$

$$\mu_B = 0 \text{ при } D < D_0.$$

Здесь: D_t и D_0 - критические концентрации детрита в воде, задаваемые в модели постоянными, при которых происходит снижение скорости роста бактерий B ; t - температура воды; a , e - эмпирические константы.

Аналогично рассчитывается скорость продуцирования органического вещества бактериями, осуществляющими ферментативный гидролиз лабильного и стойкого детрита.

Из определения экономического коэффициента бактерий найдем скорость деструкции детрита в водной экосистеме:

$$D_{DB} = (1/ЭК) \mu_B B,$$

где ЭК - экономический коэффициент бактерий, задаваемый в модели постоянным на интервале моделирования. Величина ЭК характеризует детрит как взвешенное в воде неживое органическое вещество, в определенной степени подверженное бактериальному гидролизу. Чем выше ЭК, тем более лабильным представлен в модели детрит, задаваемый агрегированной переменной D .

Аналогично рассчитывается скорость деструкции лабильного и стойкого детрита бактериями, осуществляющими ферментативный гидролиз лабильного и стойкого детрита (два уравнения для D и для B).

Скорость поступления в воду продуктов внешнего бактериального гидролиза детрита представим в виде:

$$G_B = D_{DB} - B_D$$

$$G_{BC} = \dot{a}_C * G_B, G_{BN} = \dot{a}_N * G_B, G_{BP} = \dot{a}_P * G_B,$$

где $\dot{a}_C, \dot{a}_N, \dot{a}_P$ - относительные содержания углерода, азота, фосфора в живых организмах и продуктах их метаболизма, принимаемые в модели постоянными величинами.

Аналогично рассчитывается скорость поступления в воду продуктов внешнего бактериального гидролиза лабильного и стойкого детрита.

Найдем ограничения на задание в модели параметров ЭК и a_B . Для этого воспользуемся выражением $G_B = D_{DB} - B_D$.

$$\text{Подставим в это выражение } D_{DB} = (1/ЭК_D) \mu_{BD} B \text{ и } B_D = (1/(1-a_B)) \mu_B B.$$

$$\text{Получим: } G_B = D_{DB} - B_D = (1/ЭК_D) \mu_B B - (1/(1-a_B)) \mu_B B = [(1-a_B - ЭК_D)/(ЭК_D(1-a_B))] \mu_B B.$$

В полученном выражении знаменатель не равен нулю, а числитель больше нуля. Найдем, при каких значениях $ЭК_D$ и a_B числитель больше нуля. В итоге получим: $(a_B + ЭК_D) < 1,0$.

Скорость естественного отмирания бактерий представим в виде:

$$S_B = s_B B,$$

где s_B - интенсивность естественного отмирания бактерий (1/сут), в модели зависит от температуры воды:

$$s_B = a_s (\mu_B + r_B) n p u t \geq t_k$$

$$s_B = const n p u t < t_k,$$

где a_s - эмпирическая константа; t_k - критическое значение температуры воды.

Скорость трат на обмен бактерий R_B запишем в виде:

$$R_B = r_B B,$$

$$r_B = (a_B / (1 - a_B)) \mu_B,$$

a_B - отношение трат на обмен бактерий к величине валовой бактериальной продукции ($a_B = R_B / V_{вал} = const$).

Скорости поступления в воду продуктов метаболизма бактерий запишем в виде:

$$\mathcal{E}_{BC} = \dot{a}_C R_B - \beta R_{Q_B} \delta_B R_B$$

$$\mathcal{E}_{BN} = \dot{a}_N R_B$$

$$\mathcal{E}_{BP} = \dot{a}_P R_B$$

$$T_{BCO_2} = \beta R_{Q_B} \delta_B R_B$$

Скорость изъятия из воды кислорода на дыхание бактерий запишем в виде:

$$T_{BO_2} = \delta_B R_B.$$

Здесь $\delta_B = K_B / OK_B$ - отношение калорийности бактерий к их оксикалорийному коэффициенту; R_{Q_B} - дыхательный коэффициент бактерий, β - доля углерода в составе CO_2 .

Аналогично рассчитывается скорость трат на обмен бактерий, осуществляющих ферментативный гидролиз лабильного и стойкого детрита.

В докладе приводятся примеры реализации пространственно-однородной модели функционирования водной экосистемы с включением двух переменных для бактерий ($B_{Dл}$ и B_{Dc}) и детрита $D_л$ и D_c . Содержание бактерий представлено суммарной биомассой бактерий B ассоциированных с лабильным и стойким детритом.

Литература

1. Виноградский С.Н. Микробиология почвы: Проблемы и методы М., 1952, 660 с.
2. Гак Д.З. Бактериопланктон и его роль в биологической продуктивности водохранилищ. М., 1975, 250 с.
3. Горбунов К.В. Влияние зарегулирования Волги на биологические процессы в ее дельте. М., 1976, 217 с.
4. Дмитриев В.В. Диагностика и моделирование водных экосистем. СПб, Изд. СПбГУ, 1995, 215 с.
5. Дмитриев В.В. Моделирование круговорота вещества в водных экосистемах умеренных широт. Автореф. кандид. диссертации, Л, 1987.
6. Дмитриев В.В. Эколого-географическая оценка состояния

- внутренних водоемов. Автореф. докт. диссертации, СПб, 2000.
7. Кузнецов С.И., Саралов А.И., Назина Т.Н. Микробиологические процессы круговорота углерода и азота в озерах. М., 1985, 213 с.
 8. Лаптева Н.А., Кузнецов С.И. Автохтонная микрофлора пресных водоемов // Микробиологические и химические процессы деструкции органического вещества в водоемах. Л., 1979 (Тр. Ин-та биологии внутренних вод; Вып.37(40)), с.68-79.
 9. Секи Х. Органические вещества в водных экосистемах. Л., 1986, 198 с.
 10. Фурсенко М.В. К вопросу об эффективности роста водных бактерий // Основы изучения пресноводных экосистем. Л., 1981, с.148-153.
 11. Bell C.K., Albright L.J. Attached and free-floating bacteria in the Fraser River estuary, British Columbia // Canad. Mar. Ecol. Progr. ser. 1981. Vol.6, N3, p.134-157.

НОВАЦИИ В ИММУНОДИАГНОСТИКЕ ИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

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

Государственный Научный Центр вирусологии и биотехнологии
«Вектор», ЗАО «ИмДи» (Кольцово, Новосибирская обл., Россия)

ersh_av@vector.nsc.ru

Комплексная (мультиплексная) иммунодиагностика - новое направление, предполагающее использование устройств, так называемых «белковых матриц» (protein arrays), позволяющих одновременно определять в исследуемом образце множество различных антител или антигенов. Часто такие матрицы называют «белковыми чипами» или «иммуночипами». В развитых зарубежных странах разработка таких устройств направлена по пути размещения больших белковых библиотек на миниатюрных подложках, роботизации процесса изготовления и применения чипов [1]. Такой подход требует создания новых дорогостоящих технологий, материалов, оборудования и поэтому в настоящее время далек от внедрения в широкую клиническую практику [2].

На основании имеющегося опыта работы с каталитически активными маркерами, мы пытаемся реализовать другой подход к комплексной диагностике, сочетающий мульти-плексность с простотой изготовления и применения иммуночипов. Материалы и методические подходы, использованные нами при разработке мультиплексных систем, описаны в нескольких более ранних публикациях [3-9]. В настоящем сообщении приведена сжатая информация о принципах создания, достигнутых успехах и предполагаемых перспективах развития комплексной иммунодиагностики.

Наши тест-системы рассчитаны на проведение 20 комплексных анализов и включают в себя набор иммуночипов и многоячеечные аналитические ванны, заполненные готовыми рабочими растворами и герметизированные фольгой. Иммуночипы представляют собой небольшие пластмассовые подложки с дискретно нанесенными в определенном порядке иммунореагентами захвата - антигенами или моноклональными антителами к нескольким возбудителям инфекционных заболеваний. В наших системах они выполнены в виде блоков (гребенок) по 5 белковых матриц в каждом. Число анализируемых инфекций на каждом чипе ограничено 10, что позволяет легко

контролировать нанесение реагентов на подложку, а также учитывать результаты визуально или с помощью простых компьютерных устройств. С другой стороны, это число обычно охватывает список дифференцируемых заболеваний и потому может быть и достаточным и удобным для практического использования [10]. Кроме реагентов захвата рабочая область иммуночипа содержит контроль работоспособности системы и зону, свободную от специфических белков, для оценки фоновых явлений.

Методология применения иммуночипов представляет собой дот-иммуноанализ с использованием золотых или серебряных иммунозолей, усилением оптического сигнала серебряным проявлением и стабилизации окраски путем перевода серебра в его сульфид. При наличии в пробе определяемых маркеров заболевания зоны нанесения на чип соответствующих реагентов захвата приобретают темную окраску, интенсивность которой зависит от концентрации маркера в образце. Анализ выполняется при комнатной температуре в течение 1 часа и требует 5-10 мкл образца. По предварительным данным (ограниченное число экспериментов) для выявления антител пригодна и цельная капиллярная кровь, которую легко получить проколом пальца. Последнее обстоятельство особенно важно в педиатрической практике, поскольку у малолетних детей взятие даже 5 мл крови из вены считается значительной кровопотерей. Исследование проводится в аналитических ваннах, каждая из которых рассчитана на обработку 5 иммуночипов. Технически анализ прост и выполняется путем переноса иммуночипа по рядам ячеек ванны с определенными временными интервалами. После выемки из последней ячейки проводится учет результатов.

В большинстве случаев надежную и верную трактовку результатов анализа позволяет визуальный учет, однако в некоторых случаях (до 10 % анализов) субъективная оценка слабо окрашенных пятен может вызывать затруднения. Обычно сложности возникают при исследовании сывороток с низкими уровнями специфических антител, когда трудно принять решение к положительному или отрицательному результату отнести едва видимое пятно. Чувствительность детекции такова, что фоновые сигналы на менее чистых белках могут выглядеть сходно со специфичными сигналами низкотитражных образцов на более качественных иммунореагентах. Такая проблема возникает и при регистрации конечной положительной точки разведения образца в процессе оценки чувствительности теста. Наконец, в ряде случаев, (например, при определении протективных титров антител) необходима объективная количественная оценка порога оптической плотности,

определяющего защитные свойства сыворотки. Помочь в решении таких вопросов может специально разработанная программа компьютерного анализа оцифрованного изображения белкового чипа. Эта программа выполняет следующие функции:

- импортирует изображение матрицы с любого устройства, позволяющего получить оцифрованное изображение матрицы - сканер, цифровой фотоаппарат или WEB-камера;
- автоматически распознает по контрастной рамке, очерчивающей рабочую область иммуночипа зоны нанесения на матрице определенных иммунореагентов;
- по каждой зоне нанесения определяет оптическую плотность (ОП), задает и вычитает отсекаемое значение фона и интерпретирует результаты как положительные или отрицательные;
- выдает на экран или печать протокол исследования в определенной форме;
- формирует реестр матриц с определенными реквизитами и произвольными комментариями по каждому иммуночипу.

Для каждого типа иммуночипов в программу вводится шаблон, содержащий описание конфигурации матрицы и отсекаемые значения фона по каждому антигену. Отсекаемые значения фона предварительно определяются разработчиками тест-системы. Оптическая плотность в каждой области нанесения антигена выражается в процентах диапазона от ОП контроля работоспособности системы - $K+ = 100\%$ до контроля фоновых явлений - зоны свободной от реагентов $K- = 0\%$. Такой подход позволяет устранить зависимость отображаемых результатов от условий выполнения анализа. Программа пригодна для компьютера любого уровня, работающего под системой «Windows». Ввод информации и команд от сканирования до выдачи протокола осуществляется в режиме диалога.

Производство комплексных тест-систем предполагается организовать в сотрудничестве с ЗАО «ИмДи». Для этого на промышленной базе фирмы создана высокотехнологичная линия, включающая как современную сложную аппаратуру для подготовки воды, ультразвуковой очистки поверхности подложек, лазерной выкройки иммуночипов и вакуумной упаковки, так и специально разработанные нестандартные устройства для автоматического нанесения иммунореагентов на подложки, а также заполнения и герметизации аналитических ванн. Технология получения и применения комплексных тестов защищена Патентами РФ.

К настоящему времени выпущены экспериментальные серии мультиплексных тестов для обследования беременных женщин и новорожденных на антитела к агентам TORH-комплекса (*Toxoplasma gondii*, *Rubella virus*, *Herpes simplex virus*, *Cytomegalovirus* и *Chlamydia trachomatis*), для оценки поствакцинального иммунитета к возбудителям детских вирусных инфекций (*Rubella virus*, *Mumps virus*, *Measles virus* и *Poliovirus*), а также подтверждающий дот-блот тест на антитела к вирусу гепатита С с применением 5 рекомбинантных белков. На стадии разработки комплексные тест-системы для контроля донорской крови (6 маркеров), для диагностики инфекций уро-генитальной системы (6-7 маркеров) и для выявления паразитарных инвазий (6 маркеров). В перспективе планируется создание тестов для дифференциальной диагностики инфекционных заболеваний, переносимых клещами и комарами, а в более отдаленной перспективе – мультиплексные системы для выявления маркеров аллергических и соматических заболеваний (онко- и кардиомаркеры). Технология изготовления иммуночипов универсальна и позволяет создавать системы, как для выявления антител, так и для обнаружения антигенов с любым набором и сочетанием специфичностей. Основным фактором, сдерживающим разнообразие наборов, является недоступность качественных иммунореагентов.

Лабораторные испытания наших мультиплексных систем показали хорошее (95-100 %) совпадение результатов с данными моноспецифических ИФА-тестов ведущих отечественных и зарубежных производителей. При оценке комплексных тестов с использованием отраслевых стандартных образцов панелей сывороток получены показатели диагностической чувствительности и специфичности, превышающие 95 %.

По себестоимости комплексный тест незначительно превышает одно исследование в моноспецифическом ИФА. При этом он позволяет быстрее получить результаты анализа, не требует оборудования, энергообеспечения и особой квалификации персонала, поэтому может выполняться в медицинских учреждениях, не имеющих специализированных лабораторий, в том числе в сельских больницах, где количество подлежащих обследованию невелико, а транспортировка образцов в лабораторию длительна, связана с трудностями или просто невозможна. Таким образом, создание и внедрение в практику недорогих и простых в исполнении многопрофильных серологических тестов, позволяющих оперативно проводить комплексное серологическое обследование пациентов, в том числе и в условиях слабо оснащенных

медицинских пунктов, позволит сделать такое обследование более доступным, массовым, своевременным и эффективным.

Литература

1. Biomolecular Engineering. – 2006. – Vol. 23. – P. 77-88.
2. Lueking A., Cahill D.J., Müllner S. Protein biochips: a new and versatile platform technology for molecular medicine. Review // Drug discovery today: Targets. – 2005. – V. 10, P. 789-794
3. Полтавченко А.Г., Яковченко А.М., Кривенчук Н.А. Многопрофильная иммунохимическая индикация возбудителей инфекционных заболеваний // Клиническая лабораторная диагностика. – 2006. – № 5. – С. 39-42.
4. Полтавченко А.Г., Яковченко А.М., Кривенчук Н.А., Зайцев Б.Н. Многопрофильная серодиагностика инфекционных заболеваний. 1. Выбор формата белковых чипов и материала для изготовления подложки // Биотехнология. – 2006. – № 5. – С. 77-87.
5. Полтавченко А.Г., Яковченко А.М., Кривенчук Н.А. Многопрофильная серодиагностика инфекционных заболеваний. 2. Иммунизация антигенов на подложке белкового чипа // Биотехнология. – 2007.- № 1. – С. 86-94.
6. Полтавченко А.Г., Яковченко А.М., Кривенчук Н.А., Карпышев Н.Н. Многопрофильная серодиагностика инфекционных заболеваний. 3. Визуализация результатов анализа // Биотехнология. – 2007. – № 2. – С. 63-71.
7. Полтавченко А.Г., Яковченко А.М. Многопрофильная серодиагностика инфекционных заболеваний. 4. Лабораторные испытания многопрофильного теста // Биотехнология. – 2007. – № 3. – С. 88-94. Cretich M., Damin F., Pirri G., Chiari M. Protein and peptide arrays: Recent trends and new directions
8. Ёрш А.В., Полтавченко А.Г., Агафонов А.П., Кривенчук Н.А. Мультиплексная оценка поствакцинального иммунитета к детским вирусным инфекциям. – В сб. мат. 2-ой междунар. конф. «Астана – БИОТЕХ 2011» (Астана, 10-11 октября 2011 г). – Астана: НЦБ РК. – 2011. – С. 35.
9. Полтавченко А.Г., Ёрш А.В., Кривенчук Н.А. Многопрофильная иммунодиагностика перинатального периода. – В сб. мат. 2-ой междунар. конф. «Астана – БИОТЕХ 2011» (Астана, 10-11 октября 2011 г). – Астана: НЦБ РК. – 2011. – С. 64
10. Ekins R. P. Ligand assays: from electrophoresis to miniaturized microarrays // Clin. Chem. – 1998. – Vol. 44. – P. 2015-2030.

ВЛИЯНИЕ НА РЕПРОДУКТИВНУЮ АКТИВНОСТЬ ПЧЕЛИНЫХ МАТОК БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ПРЕПАРАТОВ НОВОГО ПОКОЛЕНИЯ

Еськов Е.К., Ушарнов Д.О., Фомичев Ю.П., Ярошевич Г.С.

Российский государственный аграрный заочный университет,
Всероссийский НИИ животноводства,
Псковский НИИ сельского хозяйства

ekeskov@yandex.ru

В пчеловодстве для стимуляции репродуктивной активности маток известно применение, мелакрила, полизина (смесь незаменимых аминокислот) и сукцината хитозана (производное хитина с янтарной кислотой). Среди указанных препаратов наибольшая эффективность выявлена у полизина [1].

К новому поколению биологически активных веществ относится дигидрокверцетин (ДКВ) и арабиногалактан. Испытание этих препаратов в скотоводстве позволило установить их высокую эффективность в качестве средств, способствующих повышению продуктивности и устойчивости животных к различным заболеваниям [2, 3].

В задачу настоящего исследования входило изучение влияния на репродуктивную активность маток биологически активных веществ разного происхождения. Поскольку ранее испытанный белковый препарат «полиин» оказался наиболее эффективным стимулятором репродуктивной функции маток [1], то он был включен наряду с контролем (подкормками чистым раствором сахарозы) в число испытываемых препаратов. В число вновь испытываемых препаратов были включены «экостимул-2» и арабиногалактан, получаемые из даурской лиственницы (фирма АО «Аметис»).

Влияние испытываемых препаратов на плодовитость маток оценивали по количеству запечатанного расплоды, учитываемого в пчелиных семьях через каждые 12 суток. Во всех семьях находились матки-сестры, что снижало вероятность различий по плодовитости, обуславливаемой наследственностью.

В течение весенне-летних сезонов через каждые четыре дня скармливали по 250 мл раствора сахарозы, содержавшей один из испытываемых препаратов. Суточная доза полизина составляла 500 мг, арабиногалактана – 10 мг, ДКВ – 2 мг на 1 кг живой массы пчел.

Исследования проведены в весенне-летние сезоны 2011 и 2012 г. Эти годы отличались по продуктивности кормовых участков и погодными условиями для сбора нектара. Наиболее благоприятным был сезон 2011 г. В этом году продуктивность семей была выше, чем в 2012 г примерно на 30 %.

Таблица 1. Количество расплода (тысяч ячеек), выращиваемого пчелами, получавшими углеводную подкормку с различными добавками (2011 г)

Даты учетов	Контрольная группа	Пчелы получали в качестве добавок	
		полизин	ДКВ
	$M \pm m$	$M \pm m$	$M \pm m$
12.06	7,19±0,78	7,17±0,76	7,05±0,77
24.06	15,86±1,12	14,35±1,03	17,75±1,15
06.07	19,82±1,24	19,94±1,12	20,58±1,29
18.07	18,12±1,19	19,63±1,26	24,54±1,32
30.07	12,27±0,92	16,43±1,09	14,85±1,13
11.08	8,68±0,79	11,33±1,03	12,59±1,01

Судя по результатам учетов запечатанного расплода, плодовитость маток в течение летнего сезона 2011 г находилась на уровне 1138±87 яиц/сутки. Их максимальная плодовитость, достигавшая в среднем 1652±128 яиц/сутки приходилась на окончание июня начало июля. В первой декаде августа матки откладывали по 723±53 яиц/сутки (табл. 1).

Таблица 2. Количество расплода (тысяч ячеек), выращиваемого пчелами, получавшими углеводную подкормку с различными добавками (2012 г)

Даты учетов	Контрольная группа	Пчелы получали в качестве добавок	
		ДВК	арабиногалактан
	$M \pm m$	$M \pm m$	$M \pm m$
10.07	13,56±1,04	13,65±1,06	13,52±1,07
22.07	18,16±1,21	19,59±1, 25	17,19±1,18
03.08	17,11±1,19	18,56±1,17	16,36±1,13
15.08	10,75±1,07	11,33±1, 04	10,96±0,98

В группе пчелиных семей, потреблявших в качестве пищевой добавки полизин, плодовитость маток превышала контрольную группу в среднем на 7,8 % ($P \geq 0,9$). Наиболее существенным было их различие по

плодовитости в конце июля первой декаде августа. К этому времени плодовитость маток в семьях, получавших полизин превосходила контрольную группу в среднем на 24,5 % ($P>0,99$).

Потребление ДКВ способствовало увеличению плодовитости маток по отношению к контролю за весь сезон наблюдений в среднем на 15,8 % ($P>0,95$). Эти матки достигали максимальной плодовитости раньше контрольной группы и тех, которые получали полизин примерно на две недели. В третьей декаде июля плодовитость маток в семьях получавших ДКВ превосходила контрольную группу в среднем на 26,2 % ($P\geq 0,999$).

Исходя из того, что по результатам исследований, выполненных в 2011 г., влияние биопрепаратов прослеживалось примерно через месяц после начала их потребления пчелиными семьями, количество учетов расплода в 2012 г. сократили до четырех. Из числа испытуемых препаратов исключили полизин, но ввели дополнительно арабиногалактан и ультрадисперсный селен.

В 2012 г. применение ДКВ повлияло на повышение плодовитости маток в среднем на 5,6 % ($P>0,9$). Применение арабиногалактана оказало небольшое ингибирующим влиянием на репродуктивную функцию маток, она уменьшилась в среднем на 2,6 % (табл. 2).

Таким образом, все испытанные препараты, кроме арабиногалактана, стимулируют репродуктивную функцию маток. Наибольшим стимулирующим влиянием на их плодовитость обладает ДКВ. Но в зависимости от экологической ситуации эффективность кормовых добавок может изменяться.

Литература

1. Еськов Е.К., Ярошевич Г.С. Репродуктивная активность у пчелиных маток разной плодовитости при стимуляции хитозаном// Сельскохозяйственная биология. Биология животных. 2007. № 2. С. 115 - 118.
2. Плотников М.Б., Тюкавкина Н.А., Плотникова Т.М. Лекарственные препараты на основе диквертина. Томск. Изд Томского университета. 2005. 58 с.
3. Фомичев Ю.П., Нетеча З.А., Некрасов А.А. и др. Нормализация метаболизма и повышение качества молока у первотелок в транзитный период // Достижения науки и техники АПК. 2012. № 8. С. 31 - 33.

РАЗРАБОТКА ПАРАМЕТРОВ БИОМОДИФИКАЦИИ КОЛЛАГЕНСОДЕРЖАЩЕГО СЫРЬЯ

Зинина О.В., Соловьева А.А.

ФГБОУ ВПО «Южно-Уральский государственный университет»

oksolin@bk.ru

В успешном решении задач более полного и рационального использования сырья животного происхождения, в частности вторичного и малоценного, большая роль принадлежит целенаправленным биотехнологическим методам модификации сырья. Методы биотехнологии имеют большие перспективы с точки зрения модификации коллагенсодержащего сырья для возможности дальнейшего его привлечения в технологию мясопродуктов, что позволит существенно расширить сырьевую базу и увеличить ресурсы трудно возобновляемого животного белка.

Для введения коллагенсодержащего сырья в рецептуры мясопродуктов необходимо предварительно его обработать каким-либо способом, способствующим улучшению органолептических и структурно-механических характеристик.

В качестве объекта исследований при разработке технологических приемов предварительной обработки сырья выбран коллагенсодержащий субпродукт – сырые уши крупного рогатого скота (КРС), которые обрабатывали заквасками бифидобактерий ВВ-12, ВВ-46 и пропионовокислых бактерий PS-4.

Эффективность ферментативной обработки зависит от действия ферментов в определенных условиях на субстрат, и определяется по накоплению продуктов реакции.

Влияние времени выдержки и температуры на свойства сырья определялось по накоплению с течением времени аминного и пептидного азота.

Перед началом исследований проводили органолептическую оценку сырья. Цвет ушей КРС коричневый, равномерный, поверхность хорошо опаленная, сухая, консистенция упругая, запах специфический, свойственный данному виду продукта.

Перед ферментной обработкой уши тщательно промывали и измельчали на волчке с диаметром отверстий решетки 3-4 мм.

При определении влияния температуры и времени выдержки на

скорость гидролитического распада белков в обработанном сырье за основу были приняты параметры, рекомендуемые Хамагаевой И.С., Ханхалаевой И.А. и Заиграевой Л.И. (температура - 37°C, время выдержки 3 ч) [1].

Была исследована эффективность воздействия бифидобактерий на коллаген при температурах выдержки в интервале от 0 до 12°C в течение 16 ч, в интервале от 30 до 45°C в течение 3 ч, а также при температуре 37°C в интервале времени от 1 до 5 ч и температуре 4°C в интервале времени от 4 до 24 ч. Для обработки сырья бифидобактериями использовали жидкую лабораторную закваску бифидобактерий, выдержку осуществляли при соотношении сырья и закваски 4:1.

Обработку субпродуктов закваской пропионовокислых бактерий проводили при температурах выдержки в интервале от 0°C до 12°C в течение 16 ч., при соотношении сырья и закваски 4:1.

Результаты исследований показывают, что с увеличением температуры повышается содержание аминного азота, однако из рациональных соображений для возможности выдержки коллагенсодержащего сырья, обработанного заквасками бактерий в камере созревания, нами принята температура 4°C в связи с тем, что уровень аминного азота достаточно высок и при данной температуре выдержки. Оптимальным временем выдержки можно считать 12-15 ч, так как в этот промежуток времени происходит наиболее интенсивный гидролиз белка.

Литература

1. Хамагаева, И.С. Использование пробиотических культур при производстве колбасных изделий: монография/ И.С. Хамагаева, И.А. Ханхалаева, Л.И. Заиграева. - Улан-Удэ: Издательский центр ВСГТУ, 2006. - 204 с.

АНАЛИЗ ФАКТОРОВ, ВЛИЯЮЩИХ НА ПРОИЗВОДИТЕЛЬНОСТЬ ФОТОЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКИХ МИКРОБНЫХ ТОПЛИВНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ

Зубченко Л. С.

Национальный технический университет Украины «КПИ»

yellowjackets@ukr.net

Водород является достаточно привлекательным источником энергии, поскольку при его горении выделяется больше тепла, чем при сжигании любого традиционного ископаемого топлива, а единственный продукт, выделяющийся при его горении – вода. Основные проблемы, возникающие при использовании водорода в качестве топлива – это высокая стоимость его получения и взрывоопасность. В связи с этим ведется интенсивный поиск принципиально новых методов получения водорода.

Одним из таких методов может стать получение водорода в фотоэлектрохимических микробных топливных элементах (ФМТЭ).

Фотоэлектрохимические МТЭ являют собой модифицированные микробные топливные элементы (ММТЭ), в которых, в отличие от обычных МТЭ, добавочный восстановительный потенциал, необходимый для образования водорода, компенсируется за счет функционирования фотоэлектрохимического катода [1, 2].

Повышение производительности ФМТЭ является определяющим этапом при их исследовании и разработке. Производительность ФМТЭ, как и микробных топливных элементов вообще, зависит от многих факторов, которые можно разделить на биоэлектрохимические и технологические. Биоэлектрохимические факторы – это факторы, которые зависят от скорости и эффективности собственно электрохимических реакций преобразования органического субстрата. Под технологическими факторами понимают те факторы, которые зависят от конструкции реактора МТЭ и условий проведения процесса, в частности культивирования.

Среди биоэлектрохимических факторов, которые значимо влияют на процесс продуцирования водорода в ФМТЭ, выделяют такие как: структура анодного консорциума [3,4]; тип и концентрация субстрата [5,6]; степень нагрузки на активный ил [6,7].

В свою очередь, к технологическим факторами можно отнести такие

как: материалы, из которых изготовлены электроды; pH буферного раствора [8] и электролита; протонобменная система [6,9]; технические характеристики реактора ФМТЭ (соотношение площади поверхности протонобменной мембраны и электродов [10], расстояние между электродами [1] и др. материалы из которых изготовлены электроды [2,6]).

Для фотоэлектрохимических микробных топливных элементов, важное значение имеет также материал, из которого изготовлен катод [2]. Для того, чтобы электроны, которые генерируют на аноде микроорганизмы, присутствующие в биопленке, могли переходить на фотоэлектрохимический катод необходимо, чтобы потенциал валентной зоны материала, из которого сделан катод, был более положительным чем электрохимический потенциал белков внешней мембраны микроорганизмов, которые переносят электроны [3], а для восстановления водорода на катоде ФМТЭ необходимо, чтобы электрохимический потенциал края зоны проводимости материала, из которого сделан фотокатод, был более отрицательным чем H^+/H_2 потенциал при нейтральном pH (-0,41 V vs Ag / AgCl).

Влияние вышеперечисленных факторов на производительность ФМТЭ еще не изучено окончательно. Поэтому, большое количество исследований направлены на их изучение и анализ.

Литература

1. Кузьмінський Є.В. Біоелектрохімічне продукування електричної енергії та водню / Є.В. Кузьмінський, К.О.Щурська, І.А.Самаруха Київ: Комп'ютерпрес, 2012. – 226 с.
2. Qian F. Solar-Driven Microbial Photoelectrochemical Cells with a Nanowire Photocathode / F. Qian, G. Wang, Y. Li //Nano Lett.- № 10. – 2010. – P 4686-4691.
3. Pham H.T. Bioanode performance in bioelectrochemical systems: recent improvements and prospects / Т.Н. Pham, P. Aelterman, W. Verstraete // Elsevier. Trends in Biotechnology. – Vol.27, №3. – 2009. – P.168-178.
4. Kiely P.D. Anode microbial communities produced by changing from microbial fuel cell to microbial electrolysis cell operation using two different wastewaters / P.D Kiely., R. Cusick, D.F. Call, P.A. Selembo, J.M. Regan, B. E. Logan // Bioresource Technology. – № 102. –2011. – P. 388-394.
5. Zielke E.A. Application of microbial fuel cell technology for a waste water treatment alternative / E. A. Zielke // Microbial Fuel Cell technology. – 2006. – 21 p.

6. Reddy V. L. Microbial Fuel Cells (MFCs) - a novel source of energy for new millennium / L.V. Reddy, S. P. Kumar, Y.J. Wee // Ed. A. Mendez-Vilas Current research, technology and educational topics in applied microbiology and microbial biotechnology. - 2008. - P. 956-954.
7. Aelterman P. Improving the anodic biocatalysis in microbial fuel cells /P. Aelterman, M. Versichele, S. Freguia, J. Keller, N. Boon, K. Rabaey, W. Verstraete // Microbial Fuel Cells First International Symposium: Reports / The Pennsylvania State University. - 2008.
8. Fan Y. Sustainable power generation in microbial fuel cells using bicarbonate buffer and proton transfer mechanisms / Y. Fan, H.Q. Hu, H. Liu // Environ. Sci. Technol. - № 41. - 2007. - P. 8154-8158.
9. Rabaey K. Microbial fuel cells: novel biotechnology for energy generation / K. Rabaey, W. Verstraete // Microbial fuel cells: novel biotechnology for energy generation // Trends in Biotechnology. - Vol.23, №.6. - 2005. - P. 291 - 298.
10. Oh S.E. Proton exchange membrane and electrode surface areas as factors that affect power generation in microbial fuel cells / S.E. Oh, B.E. Logan // Appl. Microbiol. Biotechnol. - № 70. - 2006.- P. 162-169.

ТОПОГРАФИЯ КАРДИОЛИПИНСИНТАЗ В ПЛАЗМАТИЧЕСКОЙ МЕМБРАНЕ *E.coli*

Иванова В.В., Невзорова Т.А., Богданов М.В.

Казанский (Приволжский) федеральный университет,
The University of Texas Health Science Center at Houston

jassyra@mail.ru

Кардиолипин (CL) или дифосфатидилглицерин представлен не только в митохондриальных мембранах, но и является важным структурным компонентом бактериальной мембраны *E.coli* [1,2].

В настоящее время известны три кардиолипинсинтазы *E.coli* (Cls), катализирующие конденсацию ЦДФ-диацилглицерола и фосфатидилглицерола с образованием CL, которого в норме до 15% от всех фосфолипидов: ClsA, ClsB и ClsC [3]. Но направление синтеза и ориентация активных центров Cls не известны. Поэтому целью данного исследования было определение топографии Cls *E.coli*.

Некоторыми авторами было обнаружено, что мутанты с делецией в гене маннитолпермеазы A, также находящейся во внутренней цитоплазматической мембране *E.coli* - *mtlA*, выращенные на бедной среде с маннитолом, как единственным источником углерода, могут синтезировать новые фосфолипиды - фосфатидилманитол (PM) и дифосфатидилманитол (DPM) [4].

Методом транскрипции фага P1 были созданы мутанты с делециями в генах *cls* [3] и *mtlA*. Такие мутанты были выращены до середины log-фазы на жидкой бедной среде Лурия-Бертани с единственным источником углерода маннитолом при 37°C и качании, с добавлением радиоактивной метки ³²P. Негативным контролем послужил мутант с делециями в генах всех кардиолипинсинтаз. Затем липиды были экстрагированы и проведена двумерная ТСХ [3], по интенсивности сигнала от радиоактивной метки в % определяли фосфолипидный состав бактериальных мембран.

Ориентацию активного центра кардиолипинсинтаз определяли по образованию CL, PM и DPM (Рис.1).

Определили, что кардиолипин обнаруживается при работе ClsB и/или ClsC. Новые липиды такие, как фосфатидилманнитол обнаруживаются при работе ClsC или ClsB. Дифосфатидилманнитол обнаруживался только при единоличной работе ClsB. Следовательно, так как

кардиолипин в физиологических соотношениях образовывался только при работе ClsB и/или ClsC, то активные центры данных кардиолипинсинтаз обращены в периплазматическое пространство, где они могут использовать синтезированный фосфатидилглицерин и преобразовывать его в кардиолипин. Соответственно, активный центр ClsA обращен в цитоплазму.

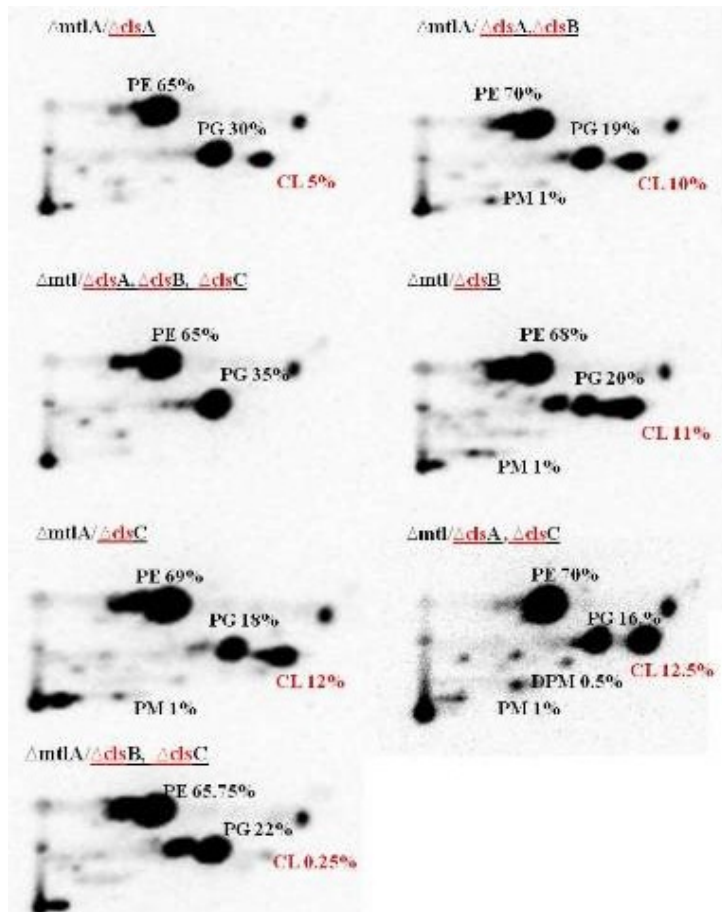


Рис. 1. умерная ТСХ с радиометкой ^{32}P фосфолипидов мутантов *E.coli* в %. Δmtl - штаммы с делецией в гене *mtlA* маннитолпермеазы. $\Delta clsA/B/C$ - штаммы с делецией в генах *cls A/B/C* соответственно, или с двойными и тройными делециями. PE - фосфатидилэтаноламин, PG-фосфатидилглицерин, CL - кардиолипин, PM - фосфатидилманнитол, DPM - дифосфатидилманнитол

Литература

1. Mileykovskaya E., Dowhan W. Cardiolipin Membrane Domains in Prokaryotes and Eukaryotes / *Biochim Biophys Acta.*- 2009.- V.1788(10).- pp.2084-2091.
2. Schlame M., Ren M. The role of cardiolipin in the structural organization of mitochondrial membranes / *Biochim Biophys Acta - Biomembranes.*- 2009.- V.1788(10).- pp.2080-2083.
3. Tan B., Bogdanov M., Zhao J., Dowhan W., Raetz C., Guan Z. Discovery of a cardiolipin synthase utilizing phosphatidylethanolamine and phosphatidylglycerol as substrates / *PNAS.*- 2012.- V.109(41).- pp.16504-16509.
4. Shibuya I., Yamagoe S., Miyazaki C., Matsuzaki H., Ohta A. Biosynthesis of Novel Acidic Phospholipid Analogs in *Escherichia coli* / *Journal of Bacteriology.*- 1985.- V.161(2).- pp.473-477.

ИНТРОДУКЦИЯ РАСТЕНИЙ *CATHARANTHUS ROSEUS* В КУЛЬТУРУ КЛЕТОК И ТКАНЕЙ

Ионова Н.Э., Гафиятова Э.И.

Казанский (Приволжский) федеральный университет

rstmgbtv@gmail.com

В настоящее время многие из промышленно важных соединений, используемых в фармацевтической, пищевой и парфюмерной промышленности, выделяют из тканей возделываемых или дикорастущих растений, часто принадлежащих к редким видам. В связи с этим идет активный поиск новых альтернативных источников получения биологически активных веществ растительного происхождения. Одним из таких источников являются культуры клеток растений, преимущества использования которых для получения биологически активных веществ (БАВ) широко признаны в настоящее время. Культуры клеток и тканей, полученные *in vitro*, как и клетки интактного растения, могут синтезировать вторичные метаболиты (ВМ), имеющие большое практическое значение.

В связи с этим на кафедре биотехнологии были начаты работы по интродукции в культуру клеток и тканей лекарственных растений - продуцентов вторичных метаболитов, используемых в медицинской практике. Основным объектом данных прикладных работ стали растения катарантуса розового (*Catharanthus roseus*). Из различных частей растения катарантуса розового (или барвинка розового) выделяют более 100 алкалоидов, производных индола. Особый интерес представляют алкалоиды винбластин, винкристин, катарантин, аймалицин, виндолин, которые широко используются для комплексной терапии некоторых форм онкологических заболеваний и лечения диабета. Некоторые алкалоиды, содержащиеся в данном растении (например, резерпин, серпентин), являются транквилизаторами.

Целью данной работы было получение каллусной культуры клеток из интактного растения *Catharanthus roseus* для выделения алкалоидов противоопухолевой природы.

Основным препятствием для массового получения выше указанных веществ является длительный период вегетации наряду с медленным накоплением вегетативной биомассы дикими растениями барвинка розового, что также было подтверждено нашими данными: период

между посевом семян и получением растения в два первых полных листами составил 5-6 недель, на фоне низкой всхожести семян и высокой частотой гибели проростков. В итоге нами были выращены 3 растения катарантуса, различные части которых мы использовали в качестве эксплантов.

Экспланты культивировали на агаризованных модифицированных питательных средах Мурасиге-Скуга (MS), дополненных НУК (нафтилуксусная кислота), ИУК и кинетином в разных концентрациях:

1. НУК + КИН = 2 мг/л + 1 мг/л (среда а)
2. НУК + КИН = 1 мг/л + 0,5 мг/л (среда в)
3. 3.ИУК + КИН = 2 мг/л + 1 мг/л (среда с)
4. 4. ИУК + КИН = 1 мг/л + 0,5 мг/л (среда d)

Полученный первичный каллус субкультивировали на питательные среды того же состава. Цикл выращивания культур составлял 50- 60 суток. Экспланты культивировали при температуре 23-25°C. Частоту каллусообразования оценивали в процентах по количеству эксплантов, давших каллус, от общего числа эксплантов.

Показано, что наиболее интенсивное формирование каллусов наблюдалось при пассировании эксплантов на среду MS(b), содержащую фитогормоны НУК + КИН = 1 мг/л + 0,5 мг/л. При этом большую частоту каллусогенеза показали экспланты взятые из стебля и листьев с срединной жилкой.

Установлено увеличение частоты образования каллуса и интенсивности накопления биомассы по мере увеличения возраста интактного растения *Catharanthus roseus*. В результате после 70-80 дней культивирования наблюдали развитие ризо- (рис.1) и геммагенеза (рис. 2) у исследуемых каллусов.



Рис.1. Ризогенез в культуре клеток *Catharanthus roseus*

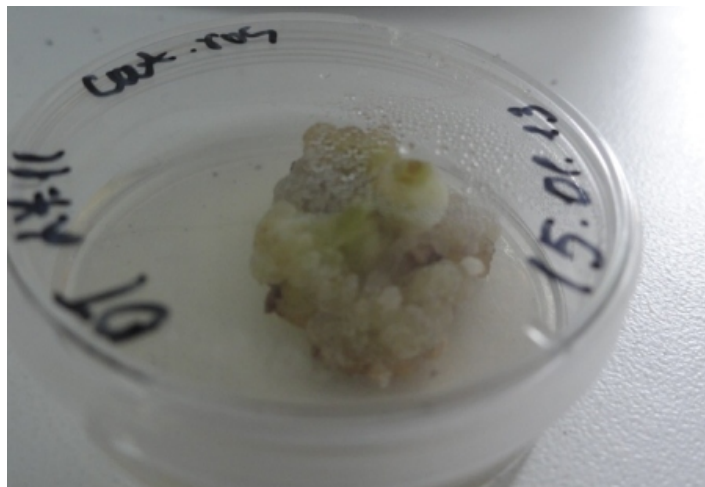


Рис.2. Геммагенез в культуре клеток *Catharanthus roseus*

**ДИФФЕРЕНЦИРОВАННОЕ ДЕЙСТВИЕ РЕГУЛЯТОРОВ РОСТА НА
МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ РАЗНЫХ КУЛЬТУР
РАСТЕНИЙ**

Ионова Н.Э., Олешко Е.А

Казанский (Приволжский) федеральный университет

rstmgbtv@gmail.com

Семенам многих дикорастущих и культурных растений свойственно состояние покоя, зачастую приводящее к пониженной всхожести даже при благоприятных для прорастания условиях. У некоторых видов покой настолько глубок, что им необходима для прорастания длительная и сложная предпосевная подготовка [1-2]. В настоящее время одним из приемов интенсивного растениеводства является применение стимуляторов роста [3-4]. В связи с этим, целью данной работы было изучение действия регуляторов роста различной природы на ростовые показатели и всхожесть семян декоративных и зерновых культур.

Объектами исследования служили семена и растения четырех культур: пшеницы, гороха, редьки и астры. Изучали энергию прорастания семян на третьи, пятые и седьмые сутки, а также морфометрические показатели растений на 7-е и 10 сутки роста. В качестве действующих веществ нами были изучены три препарата в концентрациях 10^{-5} , 10^{-7} и 10^{-9} – стимулятор корнеобразования - корневин, стрессовый адаптоген - янтарная кислота и органический препарат на основе гуминовых кислот - гумифос.

Проращивание семян изучаемых культур в контроле (дистиллированная вода) показало полную всхожесть семян гороха и редьки (100%), в то время как всхожесть пшеницы составила лишь 52%, а астры – 0%. Добавление регуляторов роста в среду выращивания негативно отразилось на энергии прорастания и всхожести семян трех культур (гороха, редьки и пшеницы), снизив данные показатели в среднем на 20-25%. Однако, нами было отмечено стимулирующее действие гумифоса и янтарной кислоты на процент всхожих семян астры. Так, применение гумифоса в концентрациях 10^{-5} и 10^{-9} увеличило процент всхожести астры на 12% и 20% соответственно, а янтарной кислоты (10^{-9}) – на 13% (табл. 1).

Таблица 1. Влияние регуляторов роста на степень прорастания семян четырех культур

Культура	Всхожесть семян, %									
	Конт-роль	Корневин, М			Гумифос, М			Янт.к-та, М		
		10 ⁻⁵	10 ⁻⁷	10 ⁻⁹	10 ⁻⁵	10 ⁻⁷	10 ⁻⁹	10 ⁻⁵	10 ⁻⁷	10 ⁻⁹
Пшеница	52	24	24	32	44	20	28	36	20	12
Редька	100	72	64	52	64	60	76	56	60	40
Горох	100	60	100	100	72	76	100	72	100	76
Астра	0	8	0	0	12	1	20	4	8	13

Изучение ростовых показателей редьки и астры были затруднены из-за крайне длительного периода формирования вегетативной массы растениями данных культур. В связи с этим мы исследовали изменения длины листьев и корней гороха и пшеницы на разных фонах регуляторов роста. Показано увеличение длины и массы растений гороха при действии всех трех препаратов, возрастающее в ряду корневин - гумифос - янтарная кислота. Существенных изменений морфометрических показателей растений пшеницы отмечено не было. Таким образом, нами было выявлено индуцирующее и ингибирующее ростовые характеристики действие регуляторов роста, зависящее от природы препарата и вида растения.

Литература

1. Николаева М.Г. Справочник по проращиванию покоящихся семян/ М.Г. Николаева, М.В. Разумова, В.Н. Гладкова. - Л.: Наука, 1985. - 348 с.
2. Муромцев Г.С. Основы химической регуляции роста и продуктивности растений / Г.С. Муромцев М., Агропромиздат, 1987. - 383 с.
3. Баранов В.Ф. Влияние регуляторов роста растений на продуктивность сои / В.Ф. Баранов, Уго Того Корреа, О.М. Ширинян // Масличные культуры (научно-технический бюллетень ВНИИМК). - Краснодар, 2006. - № 4, С. 18-22.
4. Никелл Л.Д. Регуляторы роста растений. Применение в сельском хозяйстве. - М., Колос, 1984. - 191 с.

ПЕРОКСИДАЗНАЯ АКТИВНОСТЬ РАСТЕНИЙ ОГУРЦА ПОСЛЕ ОБРАБОТКИ БИОКОНТРОЛЬНЫМИ МИКРОМИЦЕТАМИ

Истиева Р. Ф., Романова И. В., Тазетдинова Д. И., Алимова Ф. К.

Казанский (Приволжский) федеральный университет,
ООО "НПП АгротехБио"

tazetdinova.di@gmail.com

Одной из неспецифических ответных реакций растений на повреждение фитопатогенами является активация фермента пероксидазы. Она входит в антимикробную систему защиты растений, участвует в процессах лигнификации, создавая механический барьер на пути инфекции. Некоторые изоформы пероксидаз способны одними из первых вступать в контакт с инфекционными структурами патогенов. Известно, что в природе растения подвергаются действию не только патогенной микрофлоры, присутствующей в почвенном сообществе, но и антагонистических микроорганизмов, сокращающих численность фитопатогенов и благоприятно влияющих на физиологию растений. Среди таких биологических агентов биоконтроля известны грибы рода *Trichoderma*. В связи с этим целью настоящего исследования явилась оценка влияния *T.asperellum* 302 и 551 на активность пероксидазы растений огурца.

Семидневные проростки огурца обрабатывали путем внесения в стерильную почву 10 мл суспензии спор грибов в концентрации 10^6 спор/мл. К контрольным растениям вносили 10 мл стерильной воды. Активность пероксидазы определяли на 7 и 14 сутки после интродукции микроорганизмов методом Бояркина, основанным на определении скорости реакции окисления бензидина в присутствии перекиси водорода и пероксидазы.

В результате было показано увеличение активности фермента в корнях огурца на 7 и 14 сутки после обработки *T.asperellum* 551 почти в 2 раза (на 96%) и на 75% по сравнению с контролем соответственно, в листьях - на 12% на 7 сутки и на 27% на 14 сутки после интродукции микроорганизмов. Обработка *T.asperellum* 302 также увеличивала активность пероксидазы в корнях растений на 65% на 7 сутки и на 23% на 14 сутки. Существенного влияния на активность пероксидазы в листьях огурца обработка *T.asperellum* 302 не оказала.

Полученные результаты показывают, что исследуемые штаммы

Trichoderma, не снижая рост и развитие растений, вызвали индукцию фермента пероксидазы, повышение активности которой в корнях растений огурца наряду с другими механизмами защиты обеспечивает способность этих растений противостоять действию патогенов.

ГИДРОБИОНТЫ ЖИВОТНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ - ОСНОВНОЕ СЫРЬЕ В СОСТАВЕ ОБОГАЩЕННЫХ БЕЛКОВЫХ ПРОДУКТОВ

Каленик Т.К., Кравченко М.В., Лях В.А., Грищенко В.В., Бубнова Ю.Е.

Дальневосточный федеральный университет, г. Владивосток

zarco@list.ru

Современные тенденции в области здорового питания связаны с созданием продуктов функциональной направленности, способствующих улучшению здоровья при их ежедневном употреблении. К функциональным компонентам, входящим в состав таких продуктов, относятся витамины, пищевые волокна, минеральные вещества, микроэлементы, бифидобактерии, антиоксиданты, олигосахариды, полиненасыщенные жиры. Одним из важнейших направлений создания новых функциональных продуктов питания является использование в их разработке amino- и полиненасыщенных жирных кислот.

В настоящее время, во многих странах, в ряде регионов России, в том числе и на Дальнем Востоке, наблюдается дефицит белковых продуктов питания. Частично проблема недостатка животного белка решена за счет производства пищевых продуктов, обогащенных некоторыми недостающими компонентами, получаемыми из нетрадиционного пищевого сырья, путем обогащения, прежде всего, продуктов массового спроса и потребления, доступных всем группам населения. К ним относятся как мясные, так и рыбные продукты. Эта группа продуктов составляет незаменимую и неотъемлемую часть рациона питания человека. Сочетание приемлемых органолептических характеристик и относительно невысокой стоимости этих продуктов завоевали доверие потребителей [1].

В связи с этим особую актуальность приобретают исследования, посвященные расширению ассортимента безопасных и качественных продуктов на основе морского животного и наземного растительного сырья [2].

Для обогащения продуктов питания физиологически активными веществами большое значение приобретает использование местных природных ресурсов. К их числу можно отнести такой морской ресурс как северный чилим (креветка северная) - *Pandalus borealis* - распространенный на севере Дальнего востока, растительные наземные ресурсы - тыква, кабачки, горох, рис, а также дикорастущие и

культивируемые ягоды, которые являются богатыми источниками питательных, в том числе биологически активных веществ. Креветочная биомасса является источником полноценных белков (16-22%) и липидов (0,7-2,3%). Белки мяса креветки содержат высокое количество лейцина (7,26 г на 100 г белка), лизина (7,84 г на 100 г белка), глутаминовой кислоты (10,76 г на 100 г белка) и глицина (12,96 г на 100г белка). В составе липидов мяса креветки идентифицировано более 40 жирных кислот, из которых насыщенные составляют до 25%. Морковь и тыква – основной источник углевода (7,5 г на 100 г продукта) и каротина (3-9 мг на 100 г продукта) [3].

На базе Дальневосточного федерального университета Школы биомедицины был разработан ассортимент и изучен химический состав функционального продукта питания, в том числе и с использованием ферментативно-модифицированной креветочной биомассы.

В рамках исследования была разработана технология получения высококачественных комбинированных паштетов, которая включает следующие операции: подготовка креветочной биомассы, в том числе и ферментно-модифицированной, бланшировка, варка продуктов растительного происхождения (морковь и тыква), измельчение креветочной биомассы и продуктов растительного происхождения, добавление коровьего масла, молочной сыворотки, соевых пептидов и пектина. Также были исследованы показатели качества высокобелковых паштетов: органолептические, физико-химические и микробиологические.

В рамках исследования впервые был исследован жирнокислотный состав паштетов с добавлением и без добавления антиоксиданта. Огромное значение для обеспечения показателей качества и безопасности в процессе хранения этого вида изделий играют антиоксиданты.

Нами был использован новый наиболее эффективный антиоксидант «Флавит» (ТУ 9197-030-02699613-2007) с общим содержанием флавоноидов более 98 %, из которых более 90% составляет дигидрокверцетин. Дегидрокверцетин был получен из хвойных деревьев институтом биологического приборостроения РАН, г. Пущино.

Для ферментативного гидролиза белка был использован ферментативный препарат – химотрипсин, который относится к группе протеолитических ферментов. Регистрационный номер химотрипсина ЛС-000125 от 08.04.2005.

На базе экспериментальных работ исследованы аминокислотный и жирнокислотный состав ферментативно-модифицированной креветочной

биомассы для создания функциональных пищевых продуктов. Исследования показали, что необходимые для организма человека аминокислоты - аспарагиновая, глутаминовая, лейцин и глицин - превосходят по своему содержанию остальные аминокислоты.

На основании проведенной органолептической экспертизы исследуемого паштета были установлены следующие показатели качества - однородный, от светло-желтого до светло-розового оттенка, соответствующий цвету компонентов, сливочный вкус, без постороннего привкуса, приятный запах, с пастообразной, нежной, мягкой, сочной консистенцией.

Таким образом, можно считать, что стабильность жирнокислотного состава без добавления антиоксиданта выше, чем в образце. Но, некоторые жирные кислоты незначительно уступают по своему содержанию (каприловая, олеиновая, лауриновая, стеариновая и арахидоновая).

Полученный паштет является обогащенным функциональным пищевым продуктом с добавлением одного или нескольких физиологически функциональных ингредиентов с целью предотвращения возникновения или исправления имеющегося в организме человека дефицита питательных веществ, так как функциональные пищевые ингредиенты исходного животного сырья составляют в одной порции продукта менее 15 % от суточной потребности [4, 5].

Таким образом, гидробионт животного происхождения креветка северная (*Pandalus borealis*) является перспективным сырьем для создания новых видов продуктов питания с функциональной направленностью, а разработанный высококачественный комбинированный паштет с использованием ферментативно-модифицированной креветочной биомассы и продуктов растительного происхождения может быть рекомендован для корректировки рационов питания, в том числе для спортсменов различных специализаций.

Литература

1. Перспектива применения гидробионтов животного происхождения совместно с зерновыми культурами для создания продуктов функциональной направленности / Грищенко В.В., Лях В.А., Кравченко М.В., Бубнова Ю.Е. Технические науки - от теории к практике. 2013. № 17-2. С. 82-86.
2. Комбинированные продукты для здорового питания / Каленик Т.К.,

Доценко С.М., Купчак Д.В., Любимова О.И. Пищевая промышленность. 2012. № 7. С. 65-67.

3. Перспективные биологически активные добавки морского происхождения для производства хлебобулочных изделий функциональной направленности. Лях В.А., Федянина Л.Н., Смертина Е.С. Технические науки - от теории к практике. 2012. № 12. С. 76-80.
4. ГОСТ Р 52349-2005. Национальный стандарт Российской Федерации. Продукты пищевые. Продукты пищевые функциональные. Термины и определения. - введ. 01.06.07. - М.: Изд-во стандартов, 2006 - 8 с.
5. ГОСТ Р 54059-2010. Национальный стандарт Российской Федерации. Продукты пищевые функциональные. Ингредиенты пищевые функциональные. Классификация и общие требования. - введ. 01.01.12. - М.:Стандартинформ, 2011 - 8 с.

ИЗУЧЕНИЕ СОРБЦИОННОЙ АКТИВНОСТИ ПОЛИСАХАРИДОВ НЕКОТОРЫХ РАСТЕНИЙ ТАНЗАНИИ

Калмыкова Е.Н.^{1,2}, Луанда А.¹, Шаобан Р.¹, Багока Ф.¹

¹Государственный Университет Додомы, Танзания

² Липецкий государственный технический университет, Россия

veter1407@rambler.ru

Биосорбенты на основе гликанов (полисахаридов), способные связывать и удалять из живых организмов вредные вещества (нитраты, карбамид, фенольные соединения, ионы тяжелых металлов и др.), вызывают растущий интерес исследователей. Преимуществом полисахаридных сорбентов является полное отсутствие токсичности даже при длительном применении. Благодаря большой удельной поверхности макромолекулы эффективно работают даже в малых дозах.

В предлагаемой работе представлены результаты исследования сорбционной активности нейтральных и кислых полисахаридных фракций, выделенных из некоторых растений Танзании: водного гиацинта, собранного на акватории озера Виктория, плодов баобаба, листьев манго и плодов широко распространенного растения семейства пасленовых *Solanum incanum*.

Полисахариды экстрагировали из гомогенатов растений водой, водными растворами хлорида натрия, соляной и уксусной кислот при различных температурах. После упаривания и добавления 3-5 кратного объема этанола были получены осадки, которые исследовали методом гель-фильтрации на колонках с Сефадексом G-100. Фракции, элюируемые водой и буферными растворами, упаривали на воздухе. Выход полисахаридов по отношению к исходному сырому гомогенату или сухому порошку исследуемого растения варьирует в диапазоне 0.7 - 12.1 %. Для установления моносахаридного состава полисахариды подвергали полному кислотному гидролизу и исследовали методом хроматографии на бумаге. В составе выделенных нейтральных и кислых полисахаридов установлено присутствие гексоз (глюкозы, галактозы и маннозы), 6-дезоксигексозы - рамнозы; остатки глюкуроновой и галактуроновой кислот обнаружены в кислых фракциях.

Ранее сообщалось о возможности применения пьезокварцевых сенсоров для оценки активности гиалуроновой кислоты, зостерана, водного гиацинта при сорбции тяжелых металлов [1, 2]. Характеристика

эффективности сорбции токсичных веществ природными биополимерами представляет не только теоретический интерес, но и очень важна для обоснования рекомендаций по использованию гликанов в качестве биологически активных добавок.

В работе использовали пьезокварцевые резонаторы АТ-среза (10 МГц \pm 1 Гц) с золотыми электродами диаметром 5 мм, полученными магнетронным напылением золота (ОАО «Квант», ЗАО «ЭТНА», Россия). При формировании чувствительного слоя сенсора использовали технологию самоорганизующихся монослоев на основе кросс-связанных гидрогелей [3]. Высокая химическая активность формальдегида обусловлена наличием в водных растворах гидратных форм (гем-диолы), образующихся в результате присоединения молекулы воды к карбонильной группе:

Неустойчивые гем-диолы взаимодействуют с ОН-группами, входящими в состав полисахаридов, с отщеплением молекул воды и образованием ковалентных «сшивок» как между молекулами, так и внутри них. Использование водного раствора формальдегида позволяет получить биослой с высокой плотностью поперечных сшивок, что приводит к увеличению степени набухания и эластичности гидрогеля.

Оценку сорбционной активности биосорбентов осуществляли с помощью пьезокварцевых сенсоров с рецепторным слоем на основе полученных полисахаридных фракций. Аналитическим сигналом сенсора служит изменение частоты колебаний пьезокварцевого резонатора (ΔF) при увеличении или уменьшении массы биорецепторной полисахаридной пленки за счет сорбции или десорбции определяемого компонента (ионов свинца).

Измерения с использованием биосенсора проводили в статических условиях, сопоставляя данные, полученные до и после выдерживания сенсора в растворе $Pb(NO_3)_2$. Для удаления сорбированных катионов сенсор выдерживали в бидистиллированной воде и высушивали до постоянной массы.

Установлено, что все выделенные полисахаридные фракции проявляют высокую активность связывания ионов Pb^{2+} (линейный диапазон определяемых концентраций составляет 0,5 - 18,5 мкг/мл и 0,5 - 25,5 мкг/мл для нейтральных и кислых полисахаридных фракций, соответственно), чувствительность определения (C_{min}) составляет 0,5 мкг/мл. Кислые полисахариды характеризуются более высокой сорбционной активностью по отношению к ионам свинца. Величина максимальной специфической сорбции составляет $5 \pm 0,5$ мкг на каждый мкг полисахаридной пленки. Полученные характеристики рецепторного

слоя сенсора на основе исследованных полисахаридов (эффективность сорбции тяжелых металлов и устойчивость, N=24) отражают взаимосвязь сорбционной активности полисахарида с его химической природой. Проведение структурных исследований полученных полисахаридов позволит установить корреляцию между их химическим строением и сорбционной активностью.

Таким образом показано, что все исследованные полисахариды могут быть использованы в качестве биосорбентов для эффективного выведения ионов тяжелых металлов.

Литература

1. Kalmykova E.N., Pushilina M.Yu., Rogozhnikov N.A., Poletaeva Yu.V., Tereshenkova A.A., Novikova O.D. (2009) Quartz Crystal Microbalance Biosensors on the Base of Carbohydrates / International Conference "Biocatalysis-2009: Fundamental & Applications" (19-24 June 2009. Arkhangelsk). pp. 115-116.
2. Kalmykova E.N., Vuai S.A., Begum S., Gorbatovskiy A.A., Makangara J.J. Sorption Activity Of Polysaccharides from Water-Hyacinth. The Second TCS International Conference "IYC-2011-Chemistry for the Improvement of Life", 5th - 7th of October, Dar es Salaam, Tanzania, 2011.
3. Калмыкова Е.Н., Пушилина М.Ю., Рогожников Н.А. Полетаева Ю.В., Терещенкова А.А. Наноструктурирование распознающих слоев пьезокварцевых сенсоров / Материалы международной научно-практической конференции «Химическая биология - фундаментальные проблемы бионанотехнологии» 10-14 июня 2009 г., Новосибирск С. 114.

РЕШЕНИЕ ЗАДАЧ МЕДИЦИНЫ БУДУЩЕГО: КАКИЕ СПЕЦИАЛИСТЫ НАМ НУЖНЫ?

Кекконен А.Л., Сигова С.В.

Центр бюджетного мониторинга Петрозаводского государственного
университета

ishkova@psu.karelia.ru

На современном этапе экономического и технологического развития существует разрыв между потребностями бизнеса в специалистах с определенными знаниями, навыками и умениями, и формированием соответствующих компетенций у выпускников образовательных учреждений [1]. Это связано с тем, что государственные образовательные стандарты систематически отстают от требований технологий и бизнес-процессов в отраслях (особенно в высокотехнологичных, где процессы изменения идут наиболее быстро). В настоящее время не настроены коммуникативные процессы передачи требований от бизнеса к системе образования. В связи с изложенным возникает необходимость формирования перечней востребованных компетенций для приоритетных направлений развития науки, технологий и техники и соответствующая корректировка системы подготовки и переподготовки кадров инновационной экономики в Российской Федерации.

Формирование подобных перечней в России осуществляется в последние три года на основе опросов работодателей, представителей бизнеса и экспертов, проведения форсайт-исследований[1]. Для того чтобы сформировать перечень востребованных компетенций необходимо реализовать несколько важных этапов.

На первом этапе в ходе Форсайт-исследования экспертами были отобраны, скорректированы и сгруппированы «задачи будущего», сформированные для приоритетных направлений в Российской Федерации, основываясь на ключевых тенденциях развития отраслевых направлений. Такие «задачи будущего» являются критическими, приводящими к изменениям в отраслевой структуре разделения труда, а также к развитию не узких технологических решений, а комплексных технологий, ведущих к появлению семейств инновационных продуктов. Также эти «задачи будущего» определяют спрос на новые компетенции универсального и профессионального характера.

Например, для приоритетного направления «Медицина и здравоохранение» были выявлены следующие «задачи будущего»:

- Разработка методов коррекции генетических нарушений для лечения наследственных заболеваний
- Технологии адресной доставки лекарств
- Разработка стойких и неотторгаемых организмом искусственных тканей и органов
- Развитие персонифицированной медицины, например, индивидуальные диагностические устройства
- Технологии молекулярной диагностики заболеваний
- Мобильные устройства первичной медико-санитарной помощи
- Технологии моделирования человеческих патологий
- Компьютеризация и роботизация медицинских манипуляций
- Технологии массовой генной терапии
- Разработка препаратов против старения
- Технологии производства лекарственных средств в домашних условиях
- Создание и обслуживание облачных баз данных физиологических показателей человека

Анализ зарубежных источников, связанных с будущим развитием медицины, показывает высокую степень корреляции российских и мировых приоритетов в данной области. Так, на Международном конгрессе инновации и технологии XXI: стратегии и политики относительно XXI века были выявлены следующие направления развития медицины и биотехнологий [2]:

- Генетическая инженерия (создание и изменение биологических видов, био-машины, устранение генетических расстройств)
- Выращивание органов (замена повреждённых или больных органов новыми)
- Лекарства от старения: продление жизни
- Криопротектор (Трансплантология, Крионика)
- Спячка (Гибернация) или анабиоз (Трансплантология, длительные космические полёты, длительная хирургия, неотложная медицинская помощь)
- Лечение стволовыми клетками (Лечение широкого спектра заболеваний и травм)
- Персонифицированная медицина, полная расшифровка генома (Исследование и превентивное лечение рака; профилактика генетических расстройств)
- Имплантаты и протезы (Имплантаты мозга, Ретинальные

имплантаты)

- Регенеративная медицина (Имплантаты, регенерация как альтернатива протезированию, Лечение возрастных заболеваний)
- Роботизированная хирургия
- Тканевая инженерия («Печать органов»)
- Стратегии достижения пренебрежимого старения инженерными методами (Биологическое бессмертие)
- Пересадка головы, Изолированный мозг (Трансплантация мозга)
- Наномедицина

Форсайт-исследование стало важной частью работ. Основной задачей при использовании методологии форсайта стал перевод критичных угроз и ключевых возможностей развития отраслей в типовые рабочие задачи, с которыми будет сталкиваться любая конкурирующая в выбранной отрасли компания. Методология форсайта предполагает выявление трендов, технологий и форматов, представляемых в рамках дорожных карт, которые фактически могут служить основой для формирования долгосрочного кадрового спроса, а выявленные и обозначенные горизонты прогноза являются руководством к формированию разных типов образовательных программ: переквалификации и ДПО на ближнем горизонте (3 года), программ магистратуры на среднем горизонте (3-8 лет) и изменений в программах бакалавриата и специалитета ВПО (8-18 лет).

Выявленные задачи будущего позволили сформировать перечни универсальных и профессиональных компетенций. Было определено, какие из знаний и умений остаются также актуальными для работодателей на горизонте 2012 -2030 гг., а какие становятся невостребованными.

В ходе проведенных опросов экспертов и работодателей были сформулированы компетенции для приоритетного направления «Медицина и здравоохранение», которые рекомендуется включить в основной перечень компетенций специалистов выбранного профиля, в частности учитывать при формировании основных образовательных программ (ООП) и корректировке ФГОСов. Было осуществлено критическое сопоставление перечней компетенций, заложенных сегодня работодателями в профессиональные стандарты по выбранному направлению, и компетенции, востребованные в профессиях будущего. К таким компетенциям относятся, в частности универсальные профессиональные компетенции как:

- **АНАЛИТИЧЕСКОЕ МЫШЛЕНИЕ:** Способность системно и аналитически мыслить, выявлять причинно-следственные отношения

- проблемы или ситуации; проводить систематические сравнения различных свойств или аспектов; расставлять приоритеты.
- **ОРГАНИЗОВАННОСТЬ:** Способность четко определять цели, расставлять приоритеты и правильно использовать имеющиеся ресурсы; составлять планы действий с учетом возможных потенциальных препятствий, выполнение их в намеченные сроки; эффективно использовать рабочее время и своевременно выполнять задания.
 - **ОРИЕНТАЦИЯ НА РЕЗУЛЬТАТ:** Наличие стремления к достижению поставленных целей, включающее регулирование действий и расстановку приоритетов, способствующее повышению эффективности использования имеющихся ресурсов.
 - **ОРИЕНТАЦИЯ НА СТРАТЕГИЮ:** Глубокое понимание целей, возможностей и потенциала отдела/компании. Способность прогнозировать возможные риски и их влияние на особенности стратегического управления отдела/компании, на основании понимания социальных, экономических, рыночных и политических проблем, тенденций и процессов.
 - **ПОНИМАНИЕ КОМПАНИИ:** Хорошее понимание процессов, протекающих в подразделении и/или организации (таких как стратегия развития, изменения в работе, бюджетная политика и особенности принятия решений).
 - **ПРЕДАННОСТЬ КОМПАНИИ:** Способность и готовность строить свое поведение в соответствии с потребностями, приоритетами и целями компании. Продвижение целей компании и работа на удовлетворение ее потребностей.
 - **ПРИНЯТИЕ РЕШЕНИЙ:** Эффективное принятие решений в сложных ситуациях с различным уровнем риска и неопределенности.
 - **ДЕЛЕГИРОВАНИЕ:** способность передавать ответственность, распределять функции и задачи, понимать ресурсы и способности других людей.

Набор и сочетание базовых компетенций являются особенными для каждой из прорывных отраслей. Для выявления необходимых компетенций, как общекультурных, так и профессиональных, был разработан барометр компетенций, в том числе, по приоритетному направлению «Медицинские технологии».

Использование инструмента под названием «Skills barometers» является развитием идеи «Occupational barometers», популярной в странах Северной Европы. «Skills barometers» - удобный инструмент оценки текущей ситуации на рынке труда в контексте востребованных/невостребованных или излишних компетенций, а также

компетенций, которыми работники владеют в достаточной мере.

Результаты опроса с использованием «Skills barometers» представляют в структурированном виде по категориям компетенций: «дефицит», «профицит», «баланс». Указанный подход позволяет обосновывать последующие рекомендации системе профобразования по изменению образовательных программ.

Так, для отрасли «Медицина и здравоохранение» был выявлен дефицит (т.е. компетенция востребована на предприятии, но не развита в достаточной степени у данной категории сотрудников) в таких общих профессиональных компетенциях, как:

- Знания компьютерной техники, программирования
- Знания основ планирования эксперимента, методов математической обработки данных, математического моделирования и анализа и т.п.
- Знания основ экономики и менеджмента
- Знания расчетного компьютерного моделирования
- Знания современных теоретических и экспериментальных методов исследования с целью создания новых перспективных средств, в организации работ по практическому использованию и внедрению результатов исследований
- Знания фундаментальных разделов математики, физики, химии
- Способность применять иностранные языки
- Умения анализировать информацию при помощи системного подхода
- Умения анализировать отечественный и зарубежный опыт по тематике исследования, разрабатывать планы, программы и методики проведения научных исследований
- Умения прогнозировать результаты, создавать модели процессов

Выявлен дефицит в специальных профессиональных компетенциях, а именно:

- Владение навыками разработки проектной документации, навыками проектирования опытных установок производства
- Владения типовыми методиками и способностью разрабатывать новые методы инженерных расчетов технологических параметров и оборудования биотехнологических производств
- Знания основных технологических и технических решений в своей области, производства клеточных эквивалентов тканей и органов
- Способность осуществлять технологический расчет оборудования, выбор стандартного и проектирование нестандартного оборудования
- Умения применять методы статистики и прикладной математики, а

также компьютерные программные системы для решения задач вычислительной диагностики и прогнозирования

- Умения проводить детальный анализ научно-технической информации в области биотехнологии и смежных дисциплин с целью научной, патентной и маркетинговой поддержки проводимых фундаментальных исследований и технологических разработок

Главная компетенция профессионалов нового типа заключается в способности связать запросы рынка с умения разработчиков, а потом сопроводить перевод технологии из лаборатории до массового производства.

Анализ существующих ФГОСов и ООП по направлению медицина и здравоохранение был проведен на примере направления подготовки «Биотехнические системы и технологии». В целом, разработанные ООП соответствуют утвержденным ФГОСам и выявленным требованиям работодателей. Тем не менее, уточнений и дополнений требуют такие разделы, как общекультурные компетенции, профессиональные компетенции, производственно-технологическая деятельность, организационно-управленческая деятельность, сервисно-эксплуатационная деятельность. Дополнительно предложен раздел «аналитическая деятельность».

На базе проведенной работы можно выделить следующие рекомендации для системы образования:

- Основные образовательные программы должны ежегодно пересматриваться для соблюдения требования федеральных государственных образовательных стандартов. В дальнейшем корректировке основных образовательных программ должно предшествовать проведение их экспертизы на предмет соответствия формируемых в процессе обучения компетенций текущим и перспективным требованиям работодателей, а также региональной специфике. Подобную экспертизу могут осуществлять совместно заинтересованные представители работодателей, отраслей, системы образования, государственного управления.

- Приглашать к участию в обсуждении и разработке образовательных программ представителей работодателей, чтобы подготовка кадров в системе высшего профессионального образования, гармонично сочеталась с подготовкой и переподготовкой кадров в системе дополнительного профессионального образования, в рамках которой реализуются образовательные программы «под заказ».

[1] Работы осуществляются в рамках ФЦНТП по государственному контракту от «29» июня 2011 г. № 13.511.11.1002 на тему: «Исследование долгосрочного спроса на кадры, обладающие компетенциями в сфере технологических инноваций». Исполнители: Петрозаводский государственный университет, Московская школа управления «СКОЛКОВО», Центр тестирования и развития «Гуманитарные технологии» при МГУ им.Ломоносова

Литература

1. Стратегия инновационного развития Российской Федерации на период до 2020 года (Инновационная Россия - 2020).
2. Special Reports. The Era of E-Medicine. Technology Review. September, 2011
<http://www.technologyreview.com/businessreport/the-era-of-e-medicine/>

**МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОДУКТОВ
МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОГО СИНТЕЗА НА ОСНОВЕ BLAKELSEA
TRISPORA**

Киндя В.И., Калинкевич О.В., Калинкевич А.Н.

Сумский государственный университет, Медицинский институт, кафедра физиологии., Институт прикладной физики НАН Украины, г. Сумы

bio20001@yandex.ru

Штаммы гриба *Blakeslea trispora* используют в крупномасштабном микробиологическом производстве для получения каротиноидов, которые находят широкое применение в качестве красителей и биологически активных веществ в пищевой, кормовой, фармацевтической и косметической промышленности. Наибольшее значение среди каротиноидов имеет каротин (в некоторых случаях ликопин), который обычно и является конечным продуктом промышленного микробиологического синтеза. Однако обычно в клетках гриба одновременно происходит биосинтез целого ряда каротиноидов, различных по своей молекулярной массе, строению и физико-химическим свойствам. Кроме этого, синтез каротиноидов сопряжен с синтезом различных других липидов, обладающих определенной биологической активностью – фосфолипидов, стерина [1]. Поэтому при микробиологическом синтезе всегда существует важная проблема идентификации и мониторинга этих веществ в конечном продукте.

В нашей работе для идентификации липидов был использован метод мягкоионизационной плазменно-десорбционной масс-спектрометрии (²⁵²Cf ПДМС).

Для изучения были отобраны образцы биомассы, полученные промышленным культивированием на кукурузно-соевой среде методом глубокой ферментации (НПО «Витан»).

Суммарную фракцию липидов выделяли из биомассы методом Фолча смесью хлороформ: метанол (2:1). Для выделения отдельных фракций липидов использовали охлажденный до -5°С ацетон и этиловый спирт [2].

Масс-спектрометрические исследования проводили с помощью времяпролетного мягкоионизационного масс-спектрометра МСБХ-1 с ионизацией образца фрагментами деления ²⁵²Cf, производства ОАО «Селми», Украина.

Общие липиды в исследованных образцах биомассы гриба *Blakeslea*

trispора составляют от 37.80 до 53.92 %.

На масс-спектре тотальной фракции липидов, полученной по Фолчу, присутствуют пики, соответствующие основным классам липидов (Рис.1). Суммарная фракция фосфолипидов m/z 700-800, триглицериды m/z 800-900, свободные ЖК m/z 239, 257, 269, 286, диглицериды и пигменты m/z 500-600.

На масс-спектре липидного экстракта биомассы полученного с помощью ацетона (Рис.2) присутствуют пики соответствующие жирным кислотам (m/z 263, 280, 221, 236 и др.), стеринам (m/z 338, 396), диглицеридам в том числе и дифосфоглицеридам (m/z 500-600), триглицеридам и фосфолипидам. Пики с m/z 107, 125, 148, 166 могут принадлежать фрагментам жирных кислот или боковых цепей стеринам.

Сравнивая масс-спектры полной липидной фракции и липидного экстракта, полученного с помощью ацетона, следует отметить на последнем интенсивные пики, соответствующие стеринам, диглицеридам и жирным кислотам. Также на этом спектре присутствует ряд неидентифицированных пиков. Очевидно, экстракт содержит вещества нелипидной природы.

На масс-спектре липидной фракции, полученной экстракцией 96% этанолом, присутствуют пики соответствующие жирным кислотам (m/z 220, 262, 278) стеринам и их фрагментам (m/z 302, 330) и моно-, диглицеридам (m/z 500-600), а также триглицеридам и фосфолипидам. (Рис. 3) Следует отметить, что выход липидов при экстракции этанолом очень низкий. Соответственно низкая интенсивность пиков наблюдается и на масс-спектре.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о принципиальной возможности применения мягкоионизационной масс-спектрометрии для анализа общей липидной фракции мицелиального гриба *Blakeslea trispora*. Фракционирование с помощью различных растворителей позволяет выделять преимущественно те или иные фракции липидов продуцента.

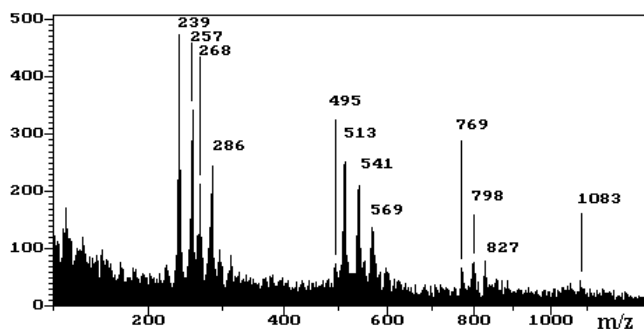


Рис.1. Масс-спектр положительных ионов суммарной липидной фракции биомассы *Blakeslea trispora*.

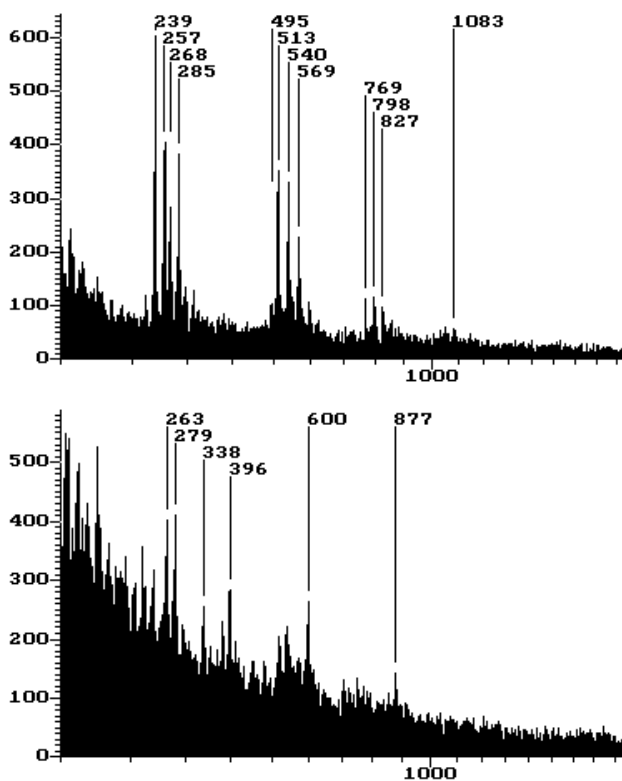


Рис.2. Масс-спектр положительных ионов суммарной липидной фракции биомассы *Blakeslea trispora* (вверху) и ацетонового экстракта биомассы (внизу).

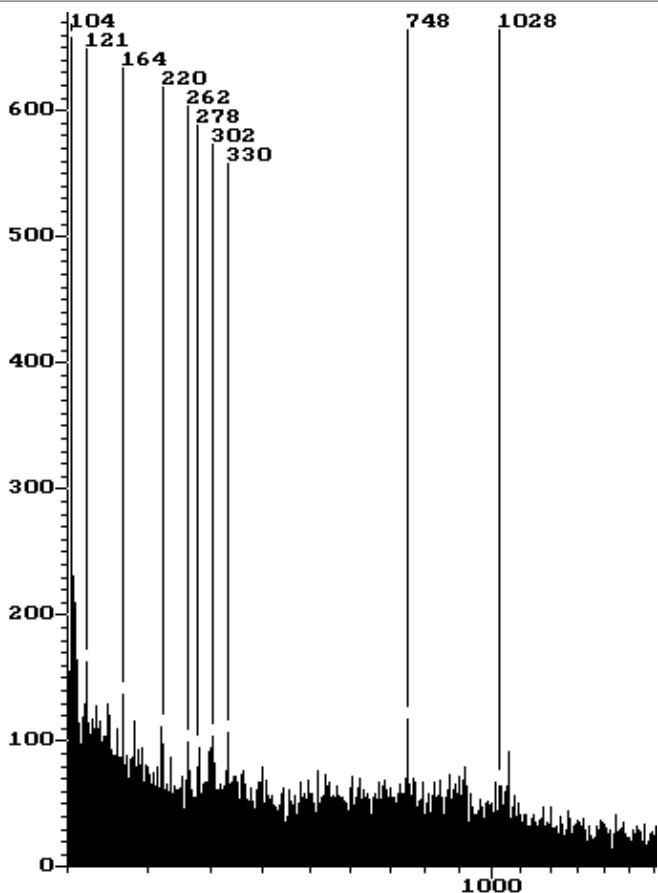


Рис.3. Масс-спектр общей липидной фракции биомассы *Blakeslea trispora* (растворитель - этанол).

Литература

1. Kuzina V. Relationships among the biosyntheses of ubiquinone, carotene, sterols, and triacylglycerols in Zygomycetes. / V. Kuzina, C. Domenech, E. Cerdá-Olmedo // Arch Microbiol - 2006.- V. 186 - P. 485 -493.
2. Кейтс С. Техника липидологии / С.Кейтс - М., 1975.

ВЛИЯНИЕ РАЗНОГО СВЕТОВОГО СПЕКТРА НА РОСТ ДРОЖЖЕЙ *SACCROMYCES CEREVISIAE*

Кобелев А.В., Багаева Т.В.

Казанский (Приволжский) федеральный университет

alexei-ksu@mail.ru

В биотехнологической промышленности огромную роль играют различные физико-химические методы, способствующие увеличению скорости роста и прироста биомассы биоагента. В литературе имеются значительное количество работ по влиянию химических соединений на микроорганизмы, например, мелафена, янтарной кислоты и других соединений [2]. Однако исследований по влиянию физических факторов на перечисленные выше процессы значительно меньше. Так, например, было проведено изучение по влиянию магнитных излучений на прирост биомассы у *Saccromyces cerevisiae* [1]. Имеются работы, где действие светового излучения изучалось на высших растениях, водорослях и других организмах, обладающих фотосинтетическим аппаратом [3]. Исследований по влиянию разного светового спектра на рост и метаболизм не фотосинтезирующих организмов было проведено значительно меньше, несмотря на то, что многие из них обладают фоторецепторной системой, близкой по структуре и функциям к фитохромам.

Целью настоящей работы являлось исследование разного светового спектра на рост дрожжей *Saccromyces cerevisiae*.

В работе использовались пекарские дрожжи *Saccromyces cerevisiae* фирмы ООО "Саф-Нева", которые наиболее часто используются в пищевой промышленности. Исходные дрожжи выращивались на твердой питательной среде Ридера до периода начала стационарной фазы роста популяции (72 часа), а затем переносилась на жидкую среду, где проводилось воздействие на клетки светом различного спектра. Эксперименты ставились 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 пропускания 420 - 460 нм), 3-й - красный свет (источник люминесцентные лампы ЛК - 40, область пропускания 620 - 640 нм). Время экспозиции - 6 часов. Контролем служила культура дрожжей, выращенная в темноте.

Результаты исследований показали, что наблюдается достоверный прирост биомассы дрожжей, как при экспозиции на синем, так и на красном свете. Было установлено, что прирост биомассы на синем свете увеличивался на 10 % по сравнению с контролем, тогда как на красном это увеличение составило 5% (Рис.1). Прирост биомассы дрожжей на белом свете соответствовал показаниям прироста биомассы в темноте.

Можно предположить, что действие синего света связано с прямым поглощением квантов синего света элементами митохондриальной энергетической системы, что приводит к повышенному синтезу макроэргов. В ранее проведенных работах было показано, что фоторецептор - аналогом, которого в дрожжевой клетке служит хромопротеид, аналогичный фитохрому растений, чувствителен к синему свету. В результате его возбуждения светом, наблюдается локальный нагрев хромопротеида, тепло которого передается мембране, а затем всему организму, усиливая процессы роста клеток. Красный свет также влияет на дрожжевые клетки, но в отличие от синего света, его действие затрагивает большее количество систем, связанных с общим метаболизмом клетки, ввиду чего уменьшается отток энергии, идущий на рост биомассы.

Таким образом, доказано, что изменение светового спектра оказывает влияние на клетки *Saccharomyces cerevisiae*. Способность синего света усиливать прирост биомассы дрожжей в 1,5 раза, может быть использовано для разработки дальнейших механизмов увеличения накопления биомассы в биотехнологических процессах.

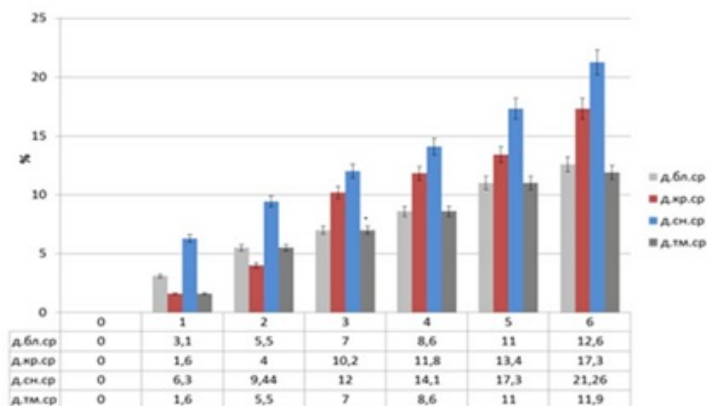


Рис. 1. Влияние света разного спектра на дрожжи *Saccharomyces cerevisiae*

Литература

1. Anton-Leberre V, Haanappel E, Marsaud N, Trouilh L, Benbadis L, Boucherie H, Massou S, François JM. Exposure to high static or pulsed magnetic fields does not affect cellular processes in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. [Text] // *Bioelectromagnetics*. - 2010. - V. 31(1). - P. 28 - 38.
2. Klaiklay S, Rukachaisirikul V, Sukpondma Y, Phongpaichit S, Buatong J, Bussaban B. Metabolites from the mangrove-derived fungus *Xylaria cubensis* PSU-MA34. [Text] // *Arch. Pharm. Res.* - 2012. - V. 35(7). - P. 1127 - 1131.
3. Liang Z, Li Q, Xu W. Effects of different light quality on growth, active ingredients and enzymes activities of *Salvia miltiorrhiza* [Text] // *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*. - 2012. - V. 37(14). - P. 2055 - 2060.

ЭФФЕКТИВНОСТЬ АЛЛОГЕННЫХ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК КОСТНОГО МОЗГА В ЛЕЧЕНИИ БОЛЬНЫХ С РЕФРАКТЕРНОЙ ФОРМОЙ БОЛЕЗНИ КРОНА

Князев О.В., Ручкина И.Н., Парфенов А.И., Коноплянников А.Г.,
Абдулатипову З.М.

ГБУЗ ЦНИИ гастроэнтерологии Департамента здравоохранения г.
Москвы, Медицинский радиологический научный центр МЗ и СР РФ,
г.Обнинск

knyazev-oleg@yandex.ru

Болезнь Крона является хроническим воспалительным заболеванием желудочно-кишечного тракта с рецидивирующим характером течения. Частота обострений составляет примерно 20—25% за 1 год и 75% за 3 года. У больных с локализацией процесса в тонкой кишке обострение наблюдается более часто, чем при толстокишечной локализации. Если ремиссия продолжалась меньше 12 мес, то имеется 65 % вероятность, что обострение наступит в последующие 18 мес. При продолжительности ремиссии в течение 12 мес и более вероятность возникновения обострения в ближайшие 18 мес снижается до 20 %.

Цель: оценить влияние культуры аллогенных мезенхимальных стромальных клеток (МСК) костного мозга на активность воспалительного процесса и поддержание ремиссии у больных болезнью Крона (БК).

Материалы и методы. Первая группа больных БК (n=30) получала МСК, доза преднизолона составляла не более 20 мг/сут. Вторая группа больных (n=30) получала стандартную противовоспалительную терапию препаратами 5-аминосалициловой кислоты (5-АСК) и глюкокортикостероидами (ГКС). Возраст больных составил от 19 до 49 лет (Me-36 лет). Заболевание имело умеренную и высокую активность, протяженность поражения - илеоколит, илеит и колит, время наблюдения составило от 42 до 60 месяцев. Клиническая активность БК оценивалась по индексу активности болезни Крона (ИАБК). Культуру аллогенных МСК вводили капельно в дозе 2,5 млн. на 1 кг массы тела по схеме 0-1-26 недель.

Результаты. Исходный ИАБК в 1-й группе составил $242,6 \pm 11,7$ баллов, во 2-й $240,9 \pm 12,9$ баллов ($p=0,83$), уровень СРБ в 1-й группе составил $29,3 \pm 6,4$ мг/л, во второй - $27,8 \pm 4,8$ ($p=0,47$). Через 1 год

наблюдения ИАБК в 1-й группе составил $70,0 \pm 11,0$ баллов, во 2-й - $133,8 \pm 22,2$ балла ($p < 0,001$), уровень СРБ в 1-й группе составил $6,36 \pm 1,5$ мг/л, во второй - $12,2 \pm 2,9$ ($p < 0,001$). Через 2 года ИАБК в 1-й группе составил $99,6 \pm 19,3$ баллов, во 2-й - $147,1 \pm 22,1$ балла ($p < 0,001$), уровень СРБ в 1-й группе составил $16,0 \pm 6,0$ мг/л, во второй - $18,8 \pm 4,4$ ($p = 0,156$). Через 3 года ИАБК в 1-й группе составил $110,5 \pm 21,9$ баллов, во 2-й - $180,6 \pm 20,3$ балла ($p < 0,001$), уровень СРБ в 1-й группе составил $10,9 \pm 2,6$ мг/л, во второй - $16,9 \pm 3,0$ ($p < 0,001$). Через 4 года - ИАБК в 1-й группе составил $120,0 \pm 22,3$ баллов, во 2-й - $208,7 \pm 17,6$ балла ($p < 0,001$), уровень СРБ в 1-й группе составил $11,3 \pm 2,6$ мг/л, во второй - $15,5 \pm 2,4$ ($p < 0,001$). Через 5 лет - ИАБК в 1-й группе составил $126,0 \pm 23,8$ баллов, во 2-й - $248,7 \pm 14,6$ балла ($p < 0,001$), уровень СРБ в 1-й группе составил $12,3 \pm 2,8$ мг/л, во второй - $19,5 \pm 3,1$ ($p < 0,001$). В первой группе больных ремиссия через 1, 2, 3, 4 года и 5 лет сохранялась у 70%, 56,6%, 50%, 46,7% и 33,3% больных соответственно. Во второй группе больных через 1, 2, 3, 4 года и 5 лет ремиссия сохранялась у 36,6%, 26,6%, 13,3%, 6,67% и 6,67% больных соответственно. Полное заживление слизистой оболочки кишки у 60% больных в первой группе в течение 1-го года наблюдения наблюдалось и у 26,7% - через 5 лет. За весь период наблюдения ни в одном случае не было выявлено злокачественной трансформации, угрожающих жизни инфекционных осложнений и летального исхода.

Выводы. Трансплантация МСК способствует снижению активности воспалительного процесса и поддержанию более длительной клинической и эндоскопической ремиссии у больных с рефрактерной формой болезни Крона по сравнению с терапией ГКС.

ВЫДЕЛЕНИЕ НОВОГО ШТАММА МАГНИТОТАКТИЧЕСКИХ БАКТЕРИЙ - MAGNETOSPIRILLUM ВВ-1

Козяева В. В., Дзюба М. В

ФГУБН центр "Биоинженерия" РАН, г. Москва

vkoziaeva@mail.ru

Магнитотактические бактерии (МТБ) - группа микроорганизмов, способных ориентироваться вдоль линий внешнего магнитного поля. МТБ населяют преимущественно водные экосистемы и широко распространены в природе. Способность к магнитной ориентации обусловлена наличием магнетосом - внутриклеточных кристаллов магнетита (Fe_3O_4) или грейгита (Fe_3S_4), окруженных липопротеиновой мембраной (Рис.1). Форма и размеры магнетосом являются видоспецифичными, размер кристаллов зрелых магнетосом составляют 35-120 нм [1]. Магнетосомы, или бактериальные магнитные наночастицы (БМЧ), обладают рядом полезных физических и химических свойств, а их поверхность может быть модифицирована *in vivo* или *in vitro* за счет модификации мембраны методами генетической инженерии.

БМЧ находят все более широкое применение в диагностике и терапии различных заболеваний. Так, показана возможность использования магнетосом для высокочувствительного иммуноферментного анализа, в качестве эффективного сорбента для выделения и очистки нуклеиновых кислот, в качестве контрастирующего агента в МРТ и во многих других областях [2, 3]. Однако применение магнетосом ограничено сложностью культивирования магнитотактических бактерий и малым выходом целевого продукта. В настоящий момент имеется лишь небольшое количество штаммов, которые доступны в виде чистых культур и могут быть использованы в качестве продуцентов магнетосом.

Цель нашего исследования заключается в поиске, выделении и описании новых штаммов магнитотактических бактерий, потенциальных продуцентов БМЧ.

В ходе работы были исследованы образцы прибрежных донных осадков р. Москва (район Строгино). Клетки бактерий, реагирующих на внешнее магнитное поле, были обнаружены с помощью магнита в верхней зоне осадков. Затем выявленных МТБ очищали от других бактерий с помощью второго раунда магнитной сепарации по методу

race track [4]. Очищенными таким образом клетками засеивали полужидкие среды состава, рекомендованного коллекцией DSMZ (Среда №380) для *Magnetospirillum* [5]. Полученную накопительную культуру рассеивали на твердые среды следующего состава (на 1 л.): НЕРЕС - 2,38г; сукцинат натрия - 3,00 г; дрожжевой экстракт - 0,10 г; соевый пептон - 3,00г; NaNO₃ - 0,34 г; КН₂РО₄ - 0,10 г; MgSO₄ • 7Н₂О - 0,15 г; активированный уголь - 3, 00 г; агар - 15,00 г; 0,01М цитрат Fe III - 50,00 мл; тиогликолят натрия - 0,05 г. Затем отдельные колонии пересевали в полужидкие среды состава, аналогичного среде №380 DSMZ. В результате была получена чистая культура МТБ. Рост в полужидкой среде проявился в виде колец, типичных для микроаэрофилов. Клетки подвижные, в форме спирилл. Способность к магнитотаксису наблюдали под световым микроскопом. С помощью филогенетического анализа, проведенного на основании последовательностей генов 16S рРНК, было показано, что выделенный штамм относится к роду *Magnetospirillum* (семейство *Rhodospirillaceae*, класс *Alphaproteobacteria*). На филогенетическом дереве последовательность выделенного штамма (ВВ-1) формировала отдельный кластер вместе с последовательностями двух штаммов рода *Magnetospirillum*, которые были выделены в другом исследовании, но еще не описаны (Рис.2) [6]. Наиболее сходным с ВВ-1 по последовательности гена 16S рРНК являлся описанный ранее вид - *Magnetospirillum gryphiswaldense*, уровень сходства составил 97%. Таким образом, правомерно определить таксономическое положение исследуемого микроорганизма как новый вид рода *Magnetospirillum*.

В ходе дальнейшего исследования планируется провести подробный анализ морфологии клеток и магнетосом штамма *Magnetospirillum* ВВ-1 с помощью просвечивающей электронной микроскопии, а также охарактеризовать физиолого-биохимические и генетические особенности с целью определения его перспективности для биотехнологии.



Рис.1. Морфология клеток магнитотактических спирилл. М - цепочка магнетосом.

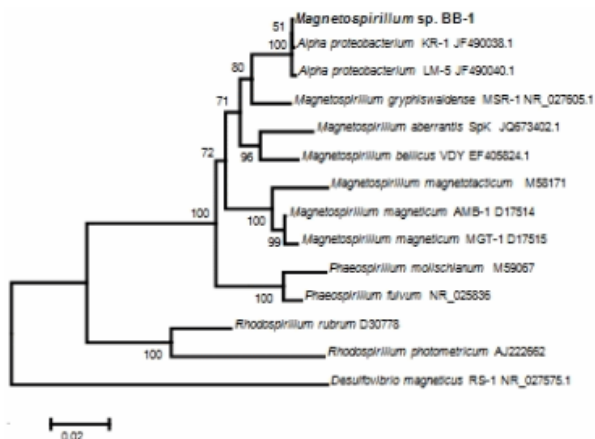


Рис. 2. Филогенетическое положение штамма *Magnetospirillum* BB-1. Алгоритм neighbor - joining. Цифры указывают достоверность "bootstrap" - анализа. Внизу дан масштаб эволюционных расстояний.

Литература

1. Schuler D. Magnetoreception and Magnetosomes in Bacteria/ D. Schuler // Springer-Verlag Berlin Heidelberg. - 2004. - Vol. 91. - P. 191 - 220
2. Arakaki A. Formation of magnetite by bacteria and its application / A.

- Arakaki, H. Nakazawa. M. Nemoto, T. Mori, T. Matsunaga // *J. of The Royal Society*. - 2008. - Vol. 5. - P. 977-999
3. Scaros O. Biomarker technology roundup: from discovery to clinical applications, a broad set of tools is required to translate from the lab to the clinic / O. Scaros, R. Fisler // *Biotechniques Suppl.* - 2005. - P. 30-32
 4. Moench T.T. A novel method for the isolation and study of a magnetotactic bacterium / T.T. Moench, W.A. Konetzka // *Arch. Microbiology*. - 1978. - Vol. 119. - P. 203-212
 5. http://www.dsmz.de/microorganisms/medium/pdf/DSMZ_Medium380.pdf
 6. Lefevre C. T. Insight into the evolution of magnetotaxis in *Magnetospirillum* spp., based on mam gene phylogenies/ M. L. Schmidt, N. Vilorio, D. Trubitsyn, D. Schuler D. A. Bazylnski// *Appl. Environ. Microbiol.* - 2012.- Vol.78. - P. - 7238-7248.

**ИЗУЧЕНИЕ ВОЗМОЖНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ НОВЫХ
ПЛЕНОЧНЫХ ПОКРЫТИЙ ДЛЯ ГОТОВОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ
ФОРМЫ ХОЛЕРНОЙ БИВАЛЕНТНОЙ ХИМИЧЕСКОЙ ВАКЦИНЫ**

Комиссаров А.В., Никифоров А.К., Еремин С.А., Задохин С.Н., Клокова
О.Д., Шульгина И.В., Лобовикова О.А.

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

Komissarov-9@yandex.ru

Вакцина холерная бивалентная химическая выпускается в виде таблетки, представляющую собой смесь холерогена-анатоксина и О-антигенов *Vibrio cholerae* O1 классического биовара штаммов 569В Инаба и М-41 Огава и наполнителей. Таблетка представляет собой серовато-желтую компактную массу, покрытую светлой блестящей кислотоустойчивой оболочкой из целлацефата.

Одним из недостатков технологии изготовления таблетки является использование 5 % раствора целлацефата в ацетоне для нанесения покрытия. Согласно ГОСТа 2768-84 ацетон является легковоспламеняющейся жидкостью, обладающей токсическим действием и работа с ним требует создания дополнительных условий (герметизация технологических процессов или использование мощного вентиляционного оборудования с целью удаления его паров) для обеспечения безопасного производства работ. Таким образом, проведение исследований по обоснованию возможности применения новых пленочных покрытий для готовой лекарственной формы холерной вакцины, лишенных вышеописанных недостатков, являются актуальными.

В исследованиях использовали водную систему плёночного покрытия Ascyl-EZE 93A фирмы Colorcon, специально разработанную для обеспечения защиты в среде желудка. Нанесение покрытия на таблетку осуществляли 20% водной суспензией Ascyl-EZE 93A в коутере фирмы GLATT GMPC I Mini. Количество использованного 20% раствора Ascyl-EZE 93A составило 400 мл на 1 кг препарата. Нанесенное покрытие давало прибавку веса 8 %. Гладкое и равномерное желтое пленочное покрытие закрывало все кромки таблеток, что существенно улучшило внешний вид таблетки. Распадаемость, растворимость и средняя масса таблетки соответствовали требованиям нормативных документов, что делает возможным применение плёночного покрытия Ascyl-EZE 93A в производстве холерной химической вакцины.

**МАТЕМАТИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ КИНЕТИКИ НАКОПЛЕНИЯ
АНТИГЕНОВ В ХОДЕ ПЕРИОДИЧЕСКОГО ГЛУБИННОГО
КУЛЬТИВИРОВАНИЯ *VIBRIO CHOLERAЕ* 569В ИНАБА С
ЛИМИТАЦИЕЙ ПО УГЛЕРОДНОМУ СУБСТРАТУ**

Комиссаров А.В., Никифоров А.К., Задохин С.Н., Еремин С.А., Волох О.А.,
Алешина Ю.А.

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

Komissarov-9@yandex.ru

Нами в ходе проведения предыдущих исследований была разработана и проверена на адекватность математическая модель кинетики накопления О-антигена, роста холерного вибриона и потребления глюкозы в ходе периодического глубинного культивирования *V. cholerae* М-41 Огава и создана программа для ЭВМ, позволяющая рассчитывать кинетические параметры системы дифференциальных уравнений, описывающих данные процессы.

Одними из основных компонентов вакцины холерной химической бивалентной таблетированной, наряду с О-антигеном *V. cholerae* М-41 Огава, являются холероген-анатоксин и О-антиген *V. cholerae* 569В Инаба. Поэтому исследования, направленные на разработку математической модели накопления токсина и О-антигена в ходе периодического глубинного культивирования *V. cholerae* 569 Инаба имеют под собой определенную практическую базу и являются актуальными.

На первоначальном этапе исследований было проведено обоснование выбора уравнения, описывающего скорость роста *V. cholerae* 569В Инаба. С этой целью были проанализированы данные по накоплению биомассы, токсина и О-антигена, скоростям их роста и выделения, утилизации глюкозы.

Анализ полученных данных показал, что накопление биомассы и выделение продукта метаболизма осуществляется пропорционально потребленному субстрату. Скорость роста биомассы и выделения токсина достигает максимума к 9 часам культивирования, а О-антигена к 8 часам, в дальнейшем происходит их уменьшение. Таким образом, был сделан вывод, что рост холерного вибриона зависит не только от концентрации субстрата, но и от концентрации продуктов метаболизма, причем их накопление снижает скорость роста микроорганизмов.

Наиболее распространенным уравнением, учитывающим влияние субстрата и продуктов на скорость роста биомассы является уравнение Моно-Иерусалимского. Однако классическое уравнение Моно-Иерусалимского учитывает влияние только одного продукта биосинтеза. Основываясь на том, что в рассматриваемом случае имеются два продукта, нами предложена модификация уравнения, учитывающая их влияние.

На основе полученных данных были сформированы уравнения удельных скоростей производства токсина и О-антигена. При этом в уравнениях изменения концентраций продуктов во времени введены члены отвечающие за зависимость кинетики накопления антигенов от концентрации холерного вибриона и глюкозы, а также - за ингибирование производства избытком биомассы.

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

На основе анализа экспериментальных данных и с использованием программного обеспечения в среде Mathcad были получены численные значения обоснованной системы уравнений и показано, что разработанная математическая модель адекватно описывает процесс биосинтеза токсина и О-антигена *V. cholerae* 569В Инаба.

ОПТИМИЗАЦИЯ ПРОЦЕССА СТЕРИЛИЗУЮЩЕЙ ФИЛЬТРАЦИИ ХОЛЕРОГЕНА-АНАТОКСИНА

Комиссаров А.В., Бронникова В.С., Лобовикова О.А., Никифоров А.К.,
Еремин С.А., Васин Ю.Г., Клокова О.Д.

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

Komissarov-9@yandex.ru

Холероген-анатоксин является одним из основных компонентов вакцины холерной бивалентной химической таблетированной. Стерилизующая фильтрация белковых растворов, к числу которых он относится, является довольно длительным и трудоемким процессом. В связи с этим, для увеличения пропускной способности используемых мембран (диаметр пор 0,2 мкм) и снижения потерь препарата нами проведены исследования процесса стерилизующей фильтрации с использованием различных вариантов прослойки мембранами с диаметром пор 0,8 и 0,45 мкм, а также глубинными фильтрами (предфильтрами). При этом мембраны брались по одной, а количество предфильтров варьировалось от 1 до 3. Определяли потери белкового раствора холерогена-анатоксина и пропускную способность каждой комбинации предфильтров и мембран.

Из результатов проведенных исследований следует, что в различных комбинациях микрофильтрационных мембран пропускная способность остается неизменной; при дополнении стерилизующей системы предфильтрами ее пропускная способность возрастает, примерно на 20 %. В то же время незначительно повышаются потери препарата. При этом увеличение количества предфильтров не оказывает влияния ни на увеличение пропускной способности стерилизующей системы, ни на уменьшение потерь препарата. Необходимо отметить, что полученные данные были одинаковы для фильтрационных мембран как фирмы «Sartoris», так и «Millipore».

Таким образом, на основании проведенных исследований, представляется целесообразным выполнять стерилизацию белкового раствора холерогена-анатоксина следующим образом: осветляющая фильтрация через один предфильтр, с последующей стерилизующей фильтрацией через микрофильтрационный фильтр с размером пор, равным 0,2 мкм.

ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ БИОТЕХНОЛОГИЙ ДЛЯ ПЕРЕРАБОТКИ ОТХОДОВ ПТИЦЕВОДЧЕСКИХ ХОЗЯЙСТВ

Коптякова С.В, Савченко И. А.

Магнитогорский государственный технический университет им.
Г.И.Носова, Магнитогорск

svetlana.cop@yandex.ru

В настоящее время в связи с возможным снижением запасов ископаемых энергоносителей существует насущная потребность во внедрении и использовании альтернативных источников энергии. Данное положение вещей придает большое значения производству биогаза на биогазовых установках. Кроме того, энергетическое использование биогаза по сравнению со сжиганием природного газа, сжиженного газа, нефти и угля является нейтральным по отношению к CO_2 , поскольку выделяемый CO_2 пребывает в пределах естественного круговорота углерода и потребляется растениями на протяжении вегетационного периода. Биогаз возникает вследствие разложения биомассы метановыми бактериями в анаэробных условиях, результате чего образуется небольшое количество тепла и биоудобрение [1]. Состав биогаза: CH_4 — 50-75%, CO_2 — 25-45%, водяной пар — 2-7%, O_2 — менее 2%, N_2 — менее 2%, H_2S - менее 1%, H_2 — менее 1% и NH_3 — менее 1%. Доля и выход метана в биогазе колеблется в зависимости от вида субстрата и способа организации технологического процесса [2].

Технология получения биогаза актуальна для фермерских хозяйств и объектов малого и среднего бизнеса, в результате функционирования которых образуются органические отходы. Например, для предприятий птицеводческой отрасли. Применение данной технологии в данном случае позволит максимально и комплексно включить в хозяйственный оборот буквально все сырьевые ресурсы, которые постоянно образуются и накапливаются в птицеводческих хозяйствах. А также исключить экологический ущерб, наносимого окружающей природной среде в результате накопления отходов, и позволит получить дополнительный доход от реализации новой побочной продукции - биоудобрений.

Регулярное поступление больших количеств пометной массы является наиболее значимым экологическим фактором воздействия на окружающую среду. Зоны хранения помета являются существенным источником не только загрязнения рельефа почв, водоемов и подземных

вод, но и причиной возникновения и распространения резкого неприятного запаха[1], ускоренного роста и развития яиц и личинок гельминтов и мух, множества других микроорганизмов, в которых могут быть возбудители опасных заболеваний. По многим причинам птичий помет включен в разряд опасного отхода птицеводческих хозяйств [3].

Проблема надежной защиты окружающей природной среды от загрязнения птичьим пометом, сточными водами и непищевыми отходами птицепереработки, является в настоящее время актуальной практически для всех птицеводческих хозяйств Российской Федерации.

Выход биогаза из органических отходов зависит от качества сырья и от процентного содержания твердой органики в нём. Наиболее выгодна переработка птичьего помета, выход газа в этом случае получается наиболее высоким 130-140 м³/т. Помет с подстилкой, убираемый раз в 35...40 дней, обеспечивает выход биогаза около 80 м³/т сырья. Кроме того, при влажности 65 % птичий помет содержит N и P₂O₅ – по 1,9 %, K₂O – 0,9. Помет также богат микроэлементами: в 100 г сухого вещества содержится: марганца 15–38 мг, цинка – 12– 39 мг, кобальта – 1 –1,3 мг, меди – 0,5 мг, железа – 367–900 мг [4].

Полученный биогаз содержит порядка 60 % CH₄ и может использоваться для сжигания в водогрейных котлах, двигателях внутреннего сгорания и теплогенераторах. Переработанную биомассу можно использовать в качестве жидкого органического удобрения, а также для изготовления концентрированных удобрений. Основное преимущество биоудобрений заключается в сохранении в легко усваиваемой форме практически всего азота, калия, фосфора и других питательных веществ, содержащихся в исходном сырье. Значительным преимуществом биоудобрений перед навозом, перепревшим в естественных условиях, является то, что при сбраживании навоза в биогазовых установках погибает значительная часть яиц гельминтов, патогенных микроорганизмов и семян сорняков, содержащихся в навозе [5].

Предлагается установить биогазовую установку на ЗАО «Бурная Птицефабрика» мощностью 300 тонн сырья в сутки. По данным 2011 года на птицефабрике вырабатывается 92000 тонн птичьего помёта в год. При условии того, что выход биогаза из тонны субстрата составляет порядка 80 м³/т, данная установка может вырабатывать около 20000 м³ биогаза в сутки. В настоящее время предприятие потребляет 52000 м³ природного газа в сутки.

К недостаткам данного процесса можно отнести необходимость улавливания H₂S, который приводит к быстрой коррозии металлических

конструкций биогазовых установок (трубопроводов, насосов и др.). Для увеличения выхода биогаза с биоустановок и получения качественного биоудобрения, появится потребность выращивания специальных растительных культур.

Строительство биогазовых установок для ЗАО «Буранная птицефабрика» позволит:

- разрешить проблему загрязнения окружающей среды отходами птицеводства;
- утилизировать все отходы собственных производств по переработке мясопродукции птицеводства и хранению зерна, а также отходы ближайших животноводческих хозяйств;
- покрыть до 20 % тепловых затрат предприятия, так как 1 м³ биогаза соответствует 0,5 м³ природного газа;
- получить дополнительный экономический эффект от реализации биоудобрения.

<http://www.verstov.info/news/society/24014-za-von-zaplattyat-rosprirodna-dzor-vozbudil-delo-o-pomete.html>

Литература

1. Руководство по биогазу: от получения до использования. Агенство по возобновляемым ресурсам, Гюльцов, 2010 – 215 с.
2. Биоэнергия. Общая информация. Агенство по возобновляемым ресурсам, Гюльцов, 2012 – 27 с.
3. <http://ptichki.net/stati/2627-utilizatsija-ptichego-pometa-na-ptitsefabrikah-puti-reshenija>
4. <http://www.biotechnolog.ru/ext/biogas.htm>
5. <http://magbiocenter.ru/articles/10-gazete-mtsb-pervye-shagi-natsionalnoj-o-trasli-bioekonomiki>

**ВОЗМОЖНОСТИ МЕТОДОВ ДИЭЛЕКТРОФОРЕЗА И
ОТОБРАЖАЮЩЕЙ ЭЛЛИПСОМЕТРИИ В ОЦЕНКЕ
ЭФФЕКТИВНОСТИ ЛЕЧЕНИЯ БОЛЬНЫХ С ДИФFUЗНОЙ
ПАТОЛОГИЕЙ ПЕЧЕНИ**

Кручинина М. В., Кручинин В. Н., Рыхлицкий С. В., Громов А. А.,
Курилович С. А., Немцова Е. Г., Белковец А. В., Генералов В. М.,
Генералов К. В.

Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Научно-исследовательский институт терапии» СО РАМН, Новосибирск,
Россия, Институт физики полупроводников им. А. В. Ржанова СО РАН,
Новосибирск, 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

kruchmargo@yandex.ru

Проблема объективной оценки эффективности проведенной терапии пациентов с диффузной патологией печени продолжает оставаться актуальной в современной гепатологии [1,11]. Ранее проведенные нами исследования показали перспективность использования показателей диэлектрофореза, отображающей эллипсометрии в верификации степени фиброза, тяжести цирроза печени, биохимической активности процесса у пациентов с хроническими гепатитами [3-5, 7].

Цель настоящей работы - оценить возможности методов диэлектрофореза и отображающей эллипсометрии в оценке эффективности терапии эссенциальными фосфолипидами (ЭФЛ) у больных с диффузной патологией печени (ДПП).

Материалы и методы. Обследованы 48 пациентов (от 37 до 68 лет) с хроническим гепатитом вирусного, алкогольного и смешанного генеза. Вирусный гепатит наблюдался у 32 человек (HCV - 17, HBV - 15); у 18 - хроническая вирусная инфекция протекала на фоне длительного злоупотребления алкоголем. Вирусная этиология болезни устанавливалась на основании обнаружения серологических маркеров и (или) ДНК и РНК вирусов. Алкогольный генез болезни установлен у 16 человек; стадия болезни определялась на основании клинических, биохимических и инструментальных исследований. У 7 пациентов выполнена биопсия печени, у остальных - непрямая эластометрия.

У больных исследовали электрические, вязкоупругие параметры эритроцитов методом диэлектрофореза (ДЭФ) в неоднородном переменном электрическом поле (НПЭП) со следующими параметрами: напряженность электрического поля - 10^5 В/м, градиент напряженности поля - 10^{11} В/м², частотный диапазон - $5 \cdot 10^4$ - 10^6 Гц. Оценивали электропроводность, емкость мембран клеток, индексы агрегации и деструкции эритроцитов, скорость их движения к электродам, положение равновесной частоты, амплитуду деформации эритроцитов, поляризуемость клеток, обобщенные показатели вязкости и жесткости.

Всем обследуемым были проведены эллипсометрические исследования пленок на основе сывороток крови методом отображающей эллипсометрии [3]. Эллипсометрические спектры $Y(l)$ и $D(l)$ измерялись с помощью спектрального эллипсометрического комплекса «ЭЛЛИПС-1771», оценивались следующие характеристики пленок: значения эффективной толщины (d), однородность пленок и дисперсия показателя преломления $n(l)$.

У 37 пациентов электрические и вязкоэластические свойства эритроцитов, оптические параметры сыворотки крови были изучены в динамике, на фоне лечения эссенциальными фосфолипидами (ЭФЛ) до и после 3-х месяцев терапии *Эссенциале форте Н (группа Санофи-Авентис)* в дозировке по 2 капсулы 3 раза в день во время еды.

Обследование выполнено с одобрения Этического Комитета ФГБУ «НИИ терапии» СО РАМН от 18 сентября 2012, протокол №36. Все обследуемые подписали информированные согласия на участие в исследованиях.

Результаты и обсуждение.

На фоне терапии *Эссенциале форте Н* отмечено достоверное повышение пластичности эритроцитов (рисунок 1 а, б) при снижении обобщенных показателей вязкости и жесткости, нарастание поляризуемости на всех частотах, скорости движения клеток к электродам, снижение склонности эритроцитов к образованию агрегатов и деструкции ($p < 0,01$). Произошло достоверное смещение равновесной частоты в низкочастотный диапазон. Особенно выраженным оказалось изменение электрической емкости мембран эритроцитов ($p < 0,001$), отражающей степень диспротеинемии при ДПП (таблица 1). Получены прямые корреляции этого показателя с уровнем альбуминов ($r = 0,511$, $p < 0,044$) и обратные - с уровнем гамма-глобулинов ($r = -0,476$, $p < 0,05$). В динамике лечения отмечено изменение биохимических параметров сыворотки крови (таблица 2). При этом снижение уровня трансаминаз, которые оказались связанными с уровнем электропроводности ($r = 0,927$,

$p < 0,003$ для АЛТ и $r = 0,520$, $p < 0,048$ для АСТ) и поляризуемости ($r = -0,908$, $p < 0,005$ для АЛТ и $r = -0,63$, $p < 0,004$ для АСТ).

Таблица 1. Динамика электрических и вязкоупругих параметров эритроцитов на фоне терапии эссенциальными фосфолипидами.

Группы	Параметры эритроцитов				
	Амплитуда деформац. [м]	Обобщен. показат. жесткости [Н/м]	Обобщен. показат. вязкости [Па·с]	Электропроводн. [см/м]	Поляризуемость [м ³] 10 ⁶ Гц
До лечения	0,52·10 ⁻⁶ +0,02·10 ⁻⁷	9,27·10 ⁻⁶ +1,13·10 ⁻⁷	0,77 +0,04	8,32·10 ⁻⁵ +1,0·10 ⁻⁶	0,43·10 ⁻¹⁵ +0,07·10 ⁻¹⁶
После лечения	0,67·10 ⁻⁶ +0,04·10 ⁻⁷	6,54·10 ⁻⁶ +1,10·10 ⁻⁷	0,61 +0,06	5,56·10 ⁻⁵ +0,81·10 ⁻⁶	0,68·10 ⁻¹⁵ +0,06·10 ⁻¹⁶
p<	0,01	0,05	0,05	0,05	0,05
Группы	Индекс агрегации [усл.ед.]	Индекс деструкц. [%]	Скорость движения [мкм/с]	Емкость мембран [Ф]	Равновесн. частота [Гц]
До лечения	0,81 +0,06	6,7 +0,4	4,1 +1,14	3,1·10 ⁻¹⁴ +0,7·10 ⁻¹⁵	0,69·10 ⁵ +0,3·10 ⁶
После лечения	0,60 +0,04	3,1 +0,5	7,9 +0,9	5,6·10 ⁻¹⁴ +0,5·10 ⁻¹⁵	0,52·10 ⁵ +0,5·10 ⁶
p<	0,02	0,01	0,01	0,0001	0,02

Исследование эллипсомерических показателей пленок, полученных из сывороток крови пациентов с ДПП в динамике проводимой терапии, позволило установить факт достоверного снижения показателя преломления, степени неоднородности в сочетании с увеличением толщины пленки ($p < 0,01-0,05$) (рисунок 2).

Анализ зависимостей экспериментальных характеристик пленок (ПГ, d , $n(l)$) от биохимических параметров показал, что эффективная толщина пленки (d) с высокой степенью достоверности коррелировала с уровнями общего холестерина X_c ($r = -0,525$, $p < 0,001$), триглицеридов ($r = -0,43$, $p < 0,01$), холестерина ЛПВП ($r = 0,64$, $p < 0,01$), АСТ ($r = -0,47$, $p < 0,05$), общего белка ($r = 0,62$, $p < 0,001$), альбуминов ($r = 0,59$, $p < 0,03$). Однородность полученных пленок также зависела от вышеописанных биохимических показателей. Этим объясняется изменение вида пленок и их толщины в динамике лечения как отражение улучшения липидного профиля, белок-синтетической функции печени (рисунок 3 а, б).

Показатель преломления пленки (n) прямо коррелировал с АЛТ ($r = 0,59$, $p < 0,03$), ГГТП ($r = 0,49$, $p < 0,02$), гамма-глобулинами ($r = -0,62$, $p < 0,02$) и обратно - с уровнями общего белка ($r = -0,71$, $p < 0,048$). Таким образом, изменение показателя преломления пленок в ходе проводимой

терапии отражало снижение синдромов холестаза, цитолиза и иммуновоспалительного под действием ЭФЛ.

Таблица 2. Динамика биохимических параметров на фоне терапии эссенциальными фосфолипидами.

Группы	Биохимические параметры				
	Общий билирубин (ммоль/л)	Прямой билирубин (ммоль/л)	АЛТ(у/л)	АСТ(у/л)	ГГТП(у/л)
До лечения	39,27 ± 2,12	12,9 ± 1,63	68,5 ± 4,47	58,51 ± 3,23	72,7 ± 4,9
После лечения	25,22 ± 2,28	6,5 ± 1,72	40,1 ± 4,32	39,28 ± 4,3	51,8 ± 4,3
p<	0,002	0,05	0,001	0,01	0,01
Группы	Общий холесте-рин (мг/дл)	Холесте-рин ЛПВП (мг/дл)	Триглице-риды (мг/дл)	Альбу-мины (г/л)	Гамма-глобулины (%)
До лечения	266,3 ± 9,2	30,8 ± 2,2	272,7 ± 9,9	30,6 ± 1,72	25,2 ± 1,7
После лечения	209,7 ± 8,3	40,1 ± 1,9	220,1 ± 9,4	43,2 ± 1,94	17,5 ± 1,6
p<	0,002	0,01	0,01	0,001	0,02

Положительный эффект Эссенциале (диглицеридного эфира фосфохолина и полиненасыщенных жирных кислот природного происхождения, с превалярованием линолевой кислоты) при заболеваниях печени хорошо известен. Исследования на животных показали, что полиненасыщенный фосфатидилхолин (ПФХ) встраивается в мембрану гепатоцитов как в норме, так и при гепатите, вызванном галактозамином [12]. В результате ПФХ замещает эндогенный насыщенный фосфатидилхолин мембран, что приводит к существенному повышению текучести мембран и стимуляции деятельности систем активного транспорта [13]. В других исследованиях на животных было показано, что ПФХ снижает чувствительность гепатоцитов к цитотоксическим воздействиям [13, 14].

Однако, влияние этого лекарственного средства на состояние клеток красной крови недостаточно изучено. Известно, что между мембранами эритроцитов и компонентами липидного спектра сыворотки крови постоянно происходит обмен, потому встраивание фосфатидилхолина в мембраны эритроцитов с последующим изменением их параметров является вполне закономерным. Так, в работах Т. Я. Леоновой с соавт. [8] установлено, что эритроциты способны адсорбировать на своей

поверхности липопротеиды плазмы крови в форме ЛПОНП, ЛПВП и ЛПНП. Эта возможность определяется содержанием липопротеидов в сыворотке крови и потребностью эритроцитов в холестерине, фосфолипидах. Между эритроцитами и адсорбированными на их поверхности липопротеидами происходит постоянный обмен холестерина, фосфолипидов [10]. Вероятно, экзогенный полиненасыщенный фосфатидилхолин замещает эндогенный насыщенный фосфатидилхолин не только в мембранах гепатоцитов [9], но и эритроцитов. Такое замещение приводит к повышению текучести клеточной мембраны и стимуляции связанных с мембраной ферментных систем, в частности, кальций-зависимой АТФ-азы. Повышенная активность ферментов в сочетании с возможным снижением потребности в образовании эндогенных фосфолипидов способна облегчать утилизацию энергии процессами, участвующими в восстановлении клетки [1, 2, 6]. Подобными процессами, вероятно, объясняются наблюдаемые при назначении ЭФЛ повышение пластичности эритроцитов, снижение жесткости и вязкости клеток, повышение их энергетического потенциала, отражаемого в увеличении количества дискоцитов, нарастании поляризуемости.

Встраиваясь в мембраны эритроцитов, ЭФЛ, очевидно, способны восстанавливать активность ферментов антиоксидантной системы (СОД и КАТ), угнетать перекисное окисление липидов мембран, тем самым, стабилизируя мембрану. Следствием этого, вероятно, является снижение склонности мембран эритроцитов к избыточному гемолизу и последующей агрегации клеток. ЭФЛ, вероятно, способствуют и восстановлению отрицательного поверхностного заряда эритроцитов, который, в свою очередь, изменяет скорость движения эритроцитов к электродам.

Подобные позитивные изменения параметров эритроцитов приводят к уменьшению степени микроциркуляторных нарушений, уровня тканевой гипоксии, которая является важным фактором прогрессирования фиброза [1, 11]. Возможно, именно эти эффекты объясняют факт того, что полиненасыщенный фосфатидилхолин увеличивает выживаемость пациентов с ДПП путем воздействия на механизм, непосредственно не связанный с гистологическими изменениями в печени (Marios Z.Panos с соавт. 1990) [1].

Заключение

На фоне 3-х месячного лечения эссенциальными фосфолипидами пациентов с ДПП наблюдается достоверное изменение оптических параметров сыворотки и улучшение функциональных свойств

эритроцитов (увеличение показателей пластичности, поляризуемости, емкости, скорости движения клеток к электродам и снижение уровней обобщенных показателей вязкости, жесткости, электропроводности, индексов агрегации и деструкции). Это позволяет предполагать и подобные позитивные изменения в мембранах гепатоцитов, что является дополнительным патогенетическим обоснованием курсового лечения ДПП эссенциальными фосфолипидами.

Оценка вязкоэластических и электрических параметров эритроцитов методом диэлектрофореза в неоднородном переменном электрическом поле (ДЭФ в НПЭП), оптических параметров сыворотки крови методом отображающей эллисометрии являются перспективными, экономически и патогенетически обоснованными методами оценки необходимости и эффективности фосфолипидзамещающей терапии диффузных заболеваний печени.

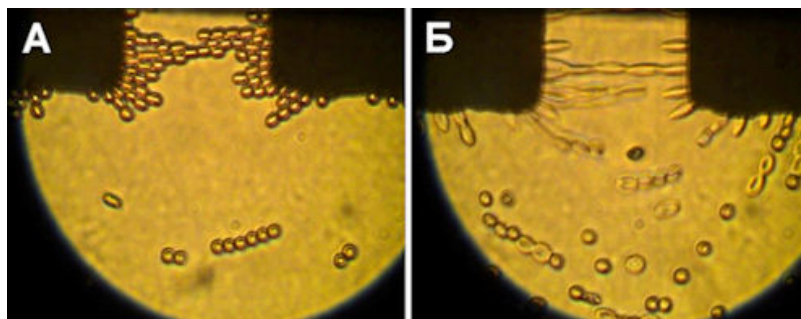


Рис. 1. Увеличение амплитуды деформации эритроцитов у пациентов с диффузной патологией печени до (А) и через 3 месяца (Б) лечения ЭФЛ

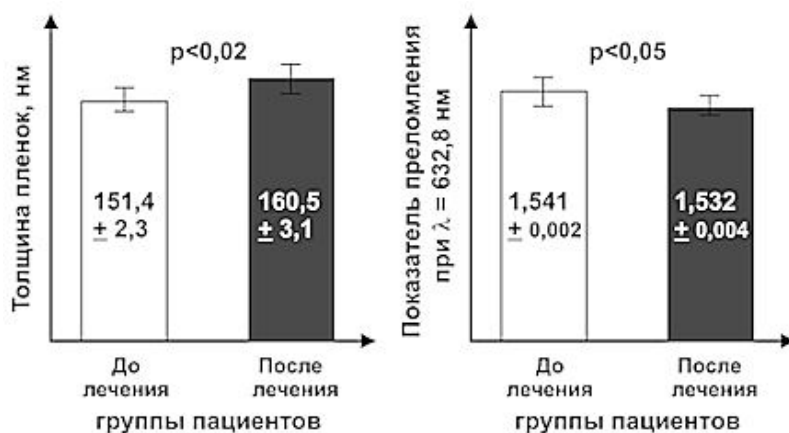


Рис. 2. Эллипсометрические показатели у пациентов с ДПП до и через 3 месяца лечения ЭФЛ

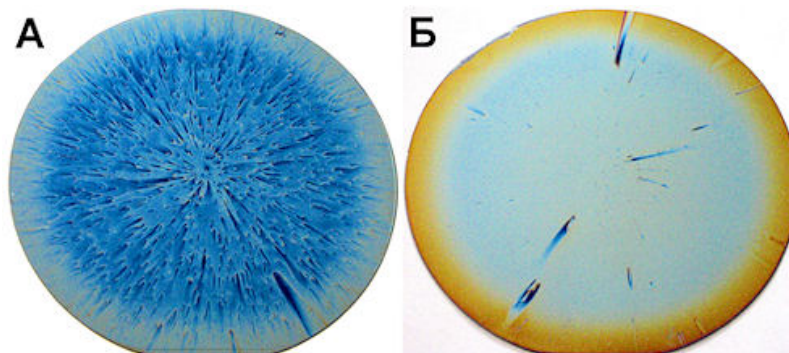


Рис. 3. Фотографии тонких пленок, полученных из сыворотки крови больных с ДПП, до (А) и через 3 месяца (Б) лечения ЭФЛ

Литература

1. Болезни печени и желчевыводящих путей / Под редакцией В.Т. Ивашкина, М., Медицина, 2005. - 536 с.
2. А. О. Буеверов, В. С. Ешану, М. В. Маевская, В. Т. Ивашкин. Эссенциальные фосфолипиды в комплексной терапии стеатогепатита смешанного генеза // Клинические перспективы гастроэнтерологии, гепатологии. - 2008. - №1. - С. 17-22.
3. М. И. Воевода, С. Е. Пельтек, М. В. Кручинина, С. А. Курилович, В. Н. Кручинин, К. П. Могильников, С. В. Рыхлицкий. Исследование

- тонких пленок, полученных центрифугированием сыворотки крови человека, методами спектральной эллипсометрии и ИК-спектроскопии // *Автометрия*. - 2010. - Т.46. - №.4. - С.106-120.
4. М. И. Воевода, С. Е. Пельтек, М. В. Кручинина, С. А. Курилович, В. Н. Кручинин, С. В. Рыхлицкий, К. П. Могильников. Применение эллипсометрии для исследования биоорганических сред. // *Автометрия*. - 2011. - Т.47. - №.5. - С.114-121.
 5. М. И. Воевода, М. В. Кручинина, С. Е. Пельтек, С. А. Курилович, В. Н. Кручинин, Е. В. Спесивцев, С. В. Рыхлицкий, В. А. Володин, В. М. Генералов, В. В. Герасимов, Б. А. Князев. Использование оптических методов исследования крови в диагностике стадии заболевания при диффузной патологии печени. // *Архив внутренней медицины*. - 2012. - №.4. - С.46-54.
 6. Геннис Р. Биомембраны: Молекулярная структура и функции / М.: Мир, 1997. - 624 с.
 7. С. А. Курилович, М. В. Кручинина, А. А. Громов, Е. Г. Немцова, В. М. Генералов, Т. С. Бакиров, М. М. Шакиров, В. А. Рихтер, Д. В. Семенов. Опыт применения новых технологий для изучения комплекса параметров эритроцитов при диффузных заболеваниях печени // *Бюллетень Сибирского отделения Российской академии медицинских наук*. - 2011. - Т.31. - №.6 - С. 21-30.
 8. Т. Я. Леонова. К вопросу об эритроцитарном механизме регулирования холестеринемии при экспериментальной гиперхолестеринемии и ишемической болезни сердца // *Автореф. дисс. ... канд. мед. наук*. - Новосибирск. - 1982. - 22 с.
 9. М. В. Маевская, В. Т. Ивашкин. Новый взгляд на эссенциальные фосфолипиды. // *Русский медицинский журнал*. - 2004. - №12. - С. 689-693.
 10. В. В. Новицкий, Н. В. Рязанцева, Е. А. Степовая. Физиология и патофизиология эритроцита. / Томск: Издательство ТГУ, 2004. - 202 с.
 11. С. Д. Подымова. Болезни печени. / М. Медицина, 1993. - 544 с.
 12. J. Delaunay. Molecular basis of red cell membrane disorders. // *Acta Haematol.* - 2002. - V.108. - № 4. - P. 210-218.
 13. M. Chwiecko, F. Holownia, A. Bielawska, R. Farbiszewski. Inhibition of non-enzymatic lipid peroxydation by «Essentiale» a drug enriched in phosphatidylcholine in ethanol-induced liver injury. // *Drug and Alcohol Dependence*. - 1993. - V.33. - P. 87-93.
 14. E. Kuntz, H. D. Kuntz. *Hepatology Principles and practice*. // Berlin; Heidelberg Springer Verlag, 2002. - P. 469-488.

**К ВОПРОСУ О МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОМ ПРОФИЛЕ ПРЕПАРАТА
«ГУМИПИТ»**

Кузьмин А.В., Назаров В.А., Назарова Л.С.

ФГБОУ ВПО Саратовский ГАУ им. Н.И. Вавилова

andr.na2012@yandex.ru

Хорошо известно, что торф является весьма ценным органическим удобрением, содержащим значительные количества азота и фосфора. Кроме того, в нем имеется большой набор и других макро- и микроэлементов, необходимых для роста и развития растений. Микробный состав торфа сырца представлен в основном гумификаторами, которых в 1 г содержится в пределах 700-800 млн. Эффективность торфа можно повысить при компостировании, при совместном внесении с навозом или минеральными удобрениями и при прогревании (Органические удобрения..., 1984).

Компания ООО «АДМ» применила другой способ активизации органической составляющей низинного торфа, изготовив препарат Гумипит, подвергнув его воздействию ультразвука высокой интенсивности. При этом происходит разложение растительных остатков до гуминовых и фульвокислот. В испытательном центре «Центр Прима» Российского университета дружбы народов установлено в сравнительных экспериментах с другими гуминовыми препаратами, что Гумипит содержит такое же количество ароматических атомов углерода, как и торфяные гуматы, а количество алифатических атомов углерода совпадает с их процентным содержанием в коммерческом препарате «Флексом».

Гумипит хорошо зарекомендовал себя в лабораторных и полевых условиях при возделывании ряда полевых и пропашных культур. Вместе с тем в доступной литературе мы не встретили упоминание о микробном составе Гумипит. Это, на наш взгляд, важно, поскольку известно, что гуминовый препарат, полученный из углей, содержит целый ряд бактерий, которые являются антагонистами фитопатогенных грибов, т.е. помимо питательных элементов в нем присутствуют и полезные бактерии.

Учитывая вышеизложенное, целью нашей работы было определение в Гумипите мезофилов, среди которых встречаются полезные для почвенного плодородия бациллы, а также нитрификаторов, азотфиксирующих, целлюлозоразрушающих микроорганизмов. Для

выделения указанных выше микроорганизмов использовали традиционные методы и среды (Теппер и др., 2004).

В результате проведенных исследований установлено, что в 1 г Гумипит присутствует в среднем 1200 мезофилов, представленных аэробными спорообразующими грамположительными палочками, относящимися к роду *Bacillus*, небольшим количеством нитчатых грибов и дрожжей. На среде Эшби в 37% случаев обнаружены дрожжи, по морфологическим и культуральным признакам, относящиеся к роду *Luromusces* (Бабьева, Чернов, 2004). Кроме того Гумипит содержал 34% целлюлозоразрушающих нитчатых грибов и дрожжей. Среди микроорганизмов первой фазы нитрификации, количество которых составляло 12%, обнаружены грамположительные толстые и тонкие палочки, кокки и дрожжи, а второй фазы - грамположительные короткие палочки с биполярным окрашиванием и дрожжи (20%).

Таким образом, можно сделать заключение, что ультразвуковая обработка торфа, очевидно, разрушала микроорганизмы в вегетативной форме с сохранением в препарате спор бацилл и грибов. Выявленные нами микроорганизмы можно отнести к полезной микрофлоре, поскольку бациллы известны как антагонисты фикомицетов и агенты, высвобождающие доступный для растений фосфор (Тихонович, Провоторов, 2009; Жиглецова и др., 2010), почвенные аскомицеты рода *Luromusces* являются спутниками бактерий - азотфиксаторов (Бабьева, Чернов, 2004). Гумипит содержит также нитрификаторы и разрушающие клетчатку грибы. Все выделенные нами микроорганизмы входят в состав микрофлоры, обеспечивающей почвенное плодородие.

Литература

1. Бабьева, И.П. Биология дрожжей /И.П. Бабьева, И.Ю. Чернов.- М., 2004.
2. Жиглецова, С.К. Возможности применения микроорганизмов для решения задач экологической и продовольственной безопасности/ С.К. Жиглецова, Дунайцев И.А., Бесаева С.Г.//Агрехимия.- 2010.-№6.-С.83-96.
3. Органические удобрения в интенсивном земледелии/ В.А.Васильев [и др.]: под ред В.Г. Минеева.- М.: Колос, 1984.- С.156-173.
4. Теппер, Е.З. Практикум по микробиологии: Учебное пособие для вузов/ Е.З. Теппер, В.К. Шильникова, Г.И. Перверзева. Под ред. В.К. Шильниковой - 5-е изд. перераб. и доп.- М.: Дрофа, 2004.- 256 с.
5. Тихонович, И.А. Симбиозы растений и микроорганизмов: Молекулярная генетика агроэкосистем будущего/ И.А. Тихонович, Н.А. Провоторов.- СПб: изд-во СПб, 2009.- 210 с.

БИОТЕХНОЛОГИЯ ВОДОПОДГОТОВКИ НЕКОНДИЦИОННЫХ ПОДЗЕМНЫХ ВОД В ВОДОНОСНОМ ГОРИЗОНТЕ ДЛЯ ПИТЬЕВЫХ НУЖД

Кулаков В.В.

Институт водных и экологических проблем ДВО РАН

vvkulakov@mail.ru

В историческом плане очистка подземных вод от повышенных концентраций железа в водоносном горизонте при использовании их для питьевых нужд населения впервые была применена в Германии. Первые две установки для подземного обезжелезивания построил в Берлине фон Ёстен в 1898 - 1899 годах [1, 4], который 3.02.1900г. получил патент «Обезжелезивание подземных вод в водоносном пласте».

Известные в настоящее время в Германии технологии SUBTERRA для дуплетных скважин и FERMANOX для одиночных скважин (более 4650 установок) широко используются для очистки подземных вод. Способ обезжелезивания подземных вод в пласте, известный как технология VYREDOX (многоскважинные установки), был разработан и запатентован в Финляндии в 1969г., и дальнейшее развитие получил в Швеции [2, 3]. В СССР с 1980 года во ВНИИ ВОДГЕО проводились комплексные гидрогеохимические и технологические исследования по обезжелезиванию подземных вод в пласте на ряде водозаборов Прибалтики и Европейской части. В 1985 году эта технология внутрислоистой очистки подземных вод была принята межведомственной экспертной комиссией ГКНТ СССР, согласована в Минздраве СССР и рекомендована к широкому внедрению [1]. Опытные технологические исследования и сооружение опытных установок обезжелезивания и деманганации подземных вод в водоносном горизонте на водозаборах и разведываемых месторождениях Приамурья выполнялись с 1989 года (Благовещенск, Хабаровск, Комсомольск-на-Амуре и др.) [2]. К сожалению, эта технология была опорочена в России в 1980-х годах при массовом ее внедрении в Западной Сибири в период освоения нефтегазовых месторождений из-за отсутствия автоматического управления процессом.

В основу технологии обезжелезивания и деманганации подземных вод заложена возможность искусственного создания на участках водозаборных скважин в водоносном пласте биогеохимических зон

(биогеохимических барьеров), резко отличающихся по окислительно - восстановительным условиям от природных [2]. В естественных условиях водоносного пласта в Приамурьи фиксируется восстановительная обстановка: Eh подземных вод изменяется от (-30) mV до 80 mV, pH составляет 5.8 - 6.5. Содержания CO₂ в воде достигает 200-250мг/л при отсутствии растворенного кислорода.

При искусственном насыщении подземных вод кислородом и при удалении H₂S и избыточных концентраций растворенного CO₂ на участках водозаборных скважин происходит изменение состояния среды с восстановительной на окислительную. Увеличивается Eh до 250-400 mV, повышается pH до 7.0 иногда и более. Водовмещающие породы пласта, окружающие эксплуатационные скважины в районе рабочей части фильтров и размножившиеся в порах водоносного горизонта железо - и марганецпоглощающие бактерии при откачке из скважины начинают работать как медленные фильтры, способствуя окислению железа и марганца и осаждению их нерастворимых соединений в пласте.

В природных условиях водоносного горизонта величины pH и Eh воды являются недостаточно высокими, поэтому для окисления растворенного железа и марганца требуется жизнедеятельность специальных бактерий. Осаждение железа происходит преимущественно во внешней, более удаленной от скважин зоне пласта. Здесь существенно увеличивается количество железозакисляющих бактерий и, соответственно, возрастает число отмирающих железобактерий. Часть из последних, перемещаясь потоком подземных вод при откачке по порам пласта в направлении фильтра скважин, поставляет органическое вещество, которое является источником органического углерода для жизнедеятельности марганецпоглощающих бактерий. Эти бактерии развиваются во внутренней биогеохимической зоне вблизи ствола скважины и окисляют марганец, переводя его в нерастворимую форму.

Подготовка или зарядка водоносного пласта перед эксплуатацией водозабора включает многократное повторение технологических циклов подачи растворенного в воде кислорода в пласт и откачки воды из скважин. В период эксплуатации водозаборных скважин на односкважинных и дуплетных установках поддерживается динамическое равновесие - циклы откачки подземной воды для подачи потребителю сменяются на циклы насыщения подземных вод кислородом таким образом, чтобы содержание железа и марганца в откачиваемой из скважины воде за весь период откачки не превышало нормативного значения. На многоскважинных установках типа VYREDOX водоотбор подземных вод из эксплуатационной скважины ведется непрерывно, а

некондиционные подземные воды насыщаются кислородом через инфильтрационные скважины, располагающиеся на некотором расстоянии по окружности вокруг эксплуатационной.

В дальнем зарубежье работают установки обезжелезивания подземных вод в пласте, где природные содержания железа и марганца достигают 38 мг/л. Нашими опытно-технологическими исследованиями в условиях Приамурья доказана возможность снижения концентраций железа в откачиваемой воде с 17-28 мг/л и даже с 70 мг/л до 0.04 мг/л, а марганца - с 1,2 - 2,5 мг/л до 0.03 мг/л и менее.

Значение очистки подземных вод в водоносном пласте возрастает по мере ухудшения природного состава подземных вод в районах площадного техногенного загрязнения (мышьяком, тяжелыми металлами, нитратами и другими компонентами).

Таким образом, основы технологии обезжелезивания и деманганации подземных вод в пласте опираются на естественные природные окислительно - восстановительные процессы по созданию искусственных биогеохимических барьеров за счет насыщения подземной воды кислородом непосредственно в водоносном горизонте.

Апробация биотехнологии обезжелезивания и деманганации подземных вод в пласте для питьевого водоснабжения в условиях Приамурья и опытно-промышленная эксплуатация пилотной установки позволила запроектировать водозабор с этой технологией для водоснабжения г. Хабаровска с производительностью 1 очереди 100 тыс. м³/сутки, пусковой комплекс которого запущен в эксплуатацию в июле 2012 года.

Известно, что на процесс деманганации и деферризации влияют железо- и марганец-поглощающие бактерии [2]. Только у пяти видов микроорганизмов - *Leptothrix ochracea*, *L. trichogenes*, *Gallionella ferruginea*, *G. minor*, *G. major*, достаточно полно выражены все существенные признаки железобактерий. Эти пять форм принадлежат к хемоавтотрофным микроорганизмам, использующим в качестве источника энергии неорганические вещества. Наибольшее значение для железобактерий играет концентрация растворенных в воде закисных соединений бикарбоната железа. Содержание его в воде, где обильно развиваются железобактерии, колеблется от 10 до 30 - 40 мг/дм³. Оптимальна для развития железобактерий слабокислая среда с pH от 3,5 до 7,6.

Наиболее изученным представителем нитчатых бактерий, накапливающих окислы марганца, является *Leptothrix (Sphaerolutilus) discoformis*, но окисление марганца осуществляют также *L. lopholea*, *L.*

pseudoochracea, *L. cholodnii*, *L. sideropus*, *Crenothrix manganifera*, *Siderocapsa* sp., *Naumanniella* sp.

Железо-марганцевые бактерии в качестве источника энергии могут использовать как железо, так и марганец. С энергетической точки зрения окисление железа более выгодный процесс, поэтому для получения одного и того же количества энергии бактерии должны окислить в 6 раз больше марганца, чем железа.

При изучении кинетики окисления FeSO_4 в присутствии двуокиси углерода при оптимальных для развития *Thiobacillus ferrooxidans* условиях (избыток кислорода, температура 31°C, pH=2,2), было рассчитано, что этот микроорганизм при непрерывной аэрации может окислять двухвалентное железо со скоростью, приблизительно в 500000 раз большей, чем скорость его химического окисления.

Стимуляция окисления марганца происходит в присутствии органического углерода, необходимого для роста и размножения этих бактерий.

В результате гидролиза в воде порового пространства образуются высокодисперсные положительно заряженные коллоидные мицеллы гидрата закиси железа. Частично адсорбированный кислород расходуется на перевод мицелл гидрата закиси в гидрат окиси железа. Первоначально образовавшиеся мицеллы гидрата закиси-окиси железа адсорбируют на себе продукты реакции, укрупняются и осаждаются на поверхности зерен водовмещающих пород. Одновременно с этим кислород из воды адсорбируется также на поверхности частиц водовмещающих пород, здесь же активизируется деятельность микроорганизмов, вызывая дополнительное обрастание поверхности минеральных частиц. Со временем вся поверхность этих частиц покрывается пленкой, состоящей из гидратированных форм железа, формируя вокруг скважин зоны осаждения железа и марганца.

Таким образом, основы биотехнологии деманганации и обезжелезивания некондиционных подземных вод в водоносном горизонте опираются на естественные природные окислительно - восстановительные процессы и направлены на создание искусственных активно функционирующих контактных зон вода - порода - бактериальные клетки. На поверхности бактериальных клеток осаждаются положительно заряженные мицеллы окислов железа и марганца. Биокаталитическая пленка образуется как результат двух параллельно протекающих гетерогенных процессов: на коллоидных мицеллах в подземной воде порового пространства, а также на поверхности зерен грунта. Отмирая, бактерии заполняют осадком

гидроокислов железа и марганца поровое пространство водоносного горизонта, а очищенная от растворенных железа, марганца и других нормируемых компонентов некондиционных подземных вод, питьевая подземная вода подается в разводящую сеть потребителя.

Литература

1. Кулаков В.В. 100 лет технологии очистки подземных вод от железа в водоносном горизонте (in-situ)// Материалы 6-го международного конгресса ЭКВАТЭК -2004 «Вода: экология и технология». М., 1 - 4.06.2004, Часть 1, с. 173 - 174.
2. Кулаков В.В., Кондратьева Л.М. Биогеохимические аспекты очистки подземных вод Приамурья// Тихоокеанская геология, 2008, том 27, № 1, с. 109 - 118.
3. Braester C., Martinell R. The Vyredox and Nytrebox methods of in situ treatment of groundwater // Water Sci. an and Techpol.1988. Vol.20, №3, Stockholm, p. 321-337.
4. Rott Ulrich und Friedle Matthias. 25 Jahre unterirdische Wasserauf-bereitung in Deutshland // J. Wasser - Abwasser, № 13, 2000. p. 99-107.

ПЯТНИСТОСТИ ЛИСТЬЕВ VICIA FABA L.

Куркина Ю.Н., Нгуен Т. Л., Нго Т. З.

ФГАОУ ВПО НИУ «БелГУ», Россия,
Quang ngai Environmental Protection Agency, Вьетнам

kurkina@bsu.edu.ru

Бобы (*Vicia faba* L.), благодаря уникальному биохимическому составу и высокому содержанию в семенах белка (до 37%), возделывают почти во всех странах мира как пищевую и кормовую культуру. Ограничивающим потенциал продуктивности культуры фактором является подверженность сортов ряду заболеваний грибковой этиологии. Для успешного осуществления профилактических и защитных мероприятий посевов бобов необходима правильная диагностика патогена. Большинство микозов бобов проявляются пятнистостью листьев. Поэтому целью многолетних исследований было определение возбудителей пятнистостей листьев бобов.

Список фитопатогенных грибов, вызывающих пятнистости листьев включает 17 видов, 12 родов: *Alternaria tenuissima* Nees.; *Ascochyta boltshauseri* Sacc.; *A. fabae* Speg.; *Botrytis fabae* Sardina; *Cercospora fabae* Fautr.; *Cladosporium herbarum* Link.; *C. pisi* Cugini et Macch.; *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. et Magn.) Briosi et Cav.; *Fusarium oxysporum* Schlechtendahl; *F. sporotrichioides* Sherbakoff; *Peronospora fabae* Jacz. et Serg. (Syd.); *P. pisi* Syd.; *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de By.; *Septoria glycines* T. Hemmi.; *Stemphylium botryosum* Wallr.; *S. sarciniforme* Wiltsh.; *Uromyces fabae* DeBary.

Альтернариоз образует на листьях оливково-бурый, бархатистый налет. Красно-бурые пятна при выпадении дождей темнеют и увеличиваются. Пятна при антракнозе бурые, с темно-красной каймой.

При аскохитозе, или бурой пятнистости, пятна без каймы, бурые, большие, округлые. В центре пятен иногда бывают заметны черные точечные приплюснутые, цилиндрические пикниды. Пятна при охряной пятнистости удлиненные, бурые, с темно-красной выпуклой каймой, могут быть довольно крупные, высыхающие. Пикниды почти черные.

Белая гниль, или склеротиниоз отличается белым налетом с хлопьевидными или ватообразными склероциями, которые сначала белые, затем черные. Оливковая плесень вызывает оливково-черный, бархатистый, плотный налет, а черная плесень отличается коричневым

налетом.

При пероноспорозе, или ложной мучнистой росе на верхней стороне листьев заметны расплывчатые сероватые, засыхающие пятна, а на нижней - серо-фиолетовый пушистый налет в виде дернинок. Септориоз, или ржавая пятнистость, отличается ржавыми угловатыми, выпуклыми пятнами с ободком. Ткань, вокруг места поражения хлоротичная.

Пятна при церкоспорозе серые, с темно-пурпурной каймой, с концентрическими зонами, сливающиеся. Черноватая пятнистость, или макроспориоз, характеризуется темно-бурыми пятнами, а при шоколадной пятнистости, или ботритиозе, пятна имеют шоколадные оттенки, по форме округлые, мелкие.

Фузариозы у бобов проявлялись ежегодно на всех этапах вегетации. Пораженные всходы быстро желтели, увядали и погибали. На поперечных срезах стеблей и корней отмечались потемневшие сосуды. Сильное поражение семян приводило к гибели проростков. В отдельные годы распространенность фузариоза достигала 72%, а потери урожая зерна - 68%. Из пораженных всходов выделили и идентифицировали *Fusarium sporotrichioides* Sherbakoff (секция *Sporotrichiella*) и *F. oxysporum* Schlechtendahl (секция *Elegans*).

Таким образом, возбудителями пятнистостей листьев бобов могут являются грибы родов *Alternaria*, *Ascochyta*, *Botrytis*, *Cercospora*, *Cladosporium*, *Colletotrichum*, *Fusarium*, *Peronospora*, *Sclerotinia*, *Septoria*, *Stemphylium*, *Uromyces*.

ИННОВАЦИОННЫЕ ПОДХОДЫ К ИСПОЛЬЗОВАНИЮ РАСТИТЕЛЬНЫХ РЕСУРСОВ АПК

Курчаева Е.Е., Крекотень М.А., Максимов И.В., Манжесов И.В.,
Мельникова Е.С.

ФГБОУ ВПО "Воронежский государственный аграрный университет им.
императора Петра I", Воронеж

alena.kurchaeva@yandex.ru

Одной из эффективных мер является создание функциональных продуктов питания с использованием растительного сырья, которые служат не только источниками энергетических и пластических материалов для организма, но также влияют на функции отдельных органов или всего организма в целом [1]. Актуальным направлением в производстве мясных изделий является технология продуктов эмульсионного типа, преимущество которой заключается в использовании ресурсов растительного и животного сырья с неадекватными функционально – технологическими свойствами и широким варьированием рецептурного состава.

Целью работы является разработка модифицированных рецептур производства эмульгированных мясных изделий комбинированного состава.

В качестве основного сырья использовали говядину 2 сорта, субпродукты 1 и 2 категории, функциональную смесь «Марстол» (на основе пищевых волокон столовой свеклы и концентрата белков бобов маша). Экспериментальные исследования проводились в условиях научно – исследовательских лабораторий кафедры технологии переработки растениеводческой продукции Воронежского государственного аграрного университета. Выработку изделий производили в условиях ИП «Кузминцев», г. Воронеж. Оценку физико – химических и органолептических показателей комбинированных изделий проводили стандартными методами, регламентированными действующей нормативной документацией.

Одной из основных задач для разработчиков новых видов мясных продуктов является получение изделий, обладающих комплексом заданных полезных свойств и имеющих высокие потребительские качества. Использование растительного сырья при производстве мясных продуктов позволяет не только обогатить их биологически активными

веществами, но и нормализовать кислотность в организме человека, повысить усвояемость этих продуктов.

В России особую актуальность приобретает возможность использования в составе мясных продуктов переработки бобовых благодаря их высокой пищевой ценности и функционально-технологическим свойствам. Эти культуры являются также источником пищевых волокон (ПВ) и в значительной мере способствуют повышению сопротивляемости организма человека вредному воздействию окружающей среды [2].

Одной из самых популярных во всем мире и третьей культурой по объему производства зерновых является бобовая культура маш, которая содержит полноценный белок (37-40 %), крахмал (45 - 50 %), обладает высокой способностью к набуханию.

Композиционная смесь «Марстол», полученная на основе концентрата белков бобов маша и пищевых волокон столовой свеклы обладает высокой влагосвязывающей способностью - 450 %. Жирсвязывающая способность (ЖСС) составляет 280 %.

На основании анализа функционально-технологических свойств смеси «Марстол» на мясных системах можно констатировать, что добавление в мясной фарш композиционной смеси повышает его влагосвязывающую (ВСС), влагоудерживающую (ВУС) и жирсвязывающую (ЖУС) способности до 78,5%, 84,3% и 80,5% соответственно.

На основе обобщенных результатов исследований была разработана модифицированная технологическая схема производства эмульгированных мясных изделий и рецептура паштета с заменой мясного сырья на функциональную добавку в количестве 10%.

Дегустационная оценка показала преимущества использования композиционной смеси «Марстол» по сравнению с аналогичной продукцией, выработанной по традиционной технологии. Опытные образцы паштетов характеризуются лучшей консистенцией, привлекательным внешним видом и вкусом. Характеристика показателей качества паштетов представлена в табл. 1.

Таким образом, использование функциональной смеси «Марстол» в технологии эмульгированных комбинированных изделий может быть весьма эффективно, так как при этом формируются высокие функционально - технологические свойства, органолептические показатели и повышается пищевая и биологическая ценности паштетных изделий.

Таблица 1. Физико - химические показатели паштетов

Показатели	Паштет «Мясной» (контроль)	Паштет «Функциональный»		
Влага, %	65,8	62,8		
Белок, %	13,5	15,2		
Жир, %	10,5	6,7		
Углеводы, %	9,0	14,0		
Зола, %	1,2	1,3		
Аминокислотный состав, г/100 г белка				
Аминокислота	Содержание	Скор, %	Содержание	Скор, %
Лейцин	8,2	117,14	8,6	122,8
Изолейцин	3,9	97,5	4,46	111,5
Лизин	8,4	152,7	8,70	158,2
Метионин + цистин	4,2	120,0	4,50	128,6
Фенилаланин + тирозин	7,6	126,7	8,3	138,3
Треонин	5,12	128,0	5,5	137,5
Триптофан	1,5	150,0	1,68	168
Валин	5,1	102,0	5,80	116
КРАС, %	-	26,75	-	23,65
БЦ, %	-	73,25	-	76,35

Работа выполнена при поддержке фонда РГНФ № 11-02-00177а.

Литература

1. Толстых Н.В. Комбинированные полуфабрикаты из многокомпонентного сырья / Н.В. Толстых, Г.П. Казюлин, Т.А. Бондарева // Мясная индустрия. - 2003. - №2. - С. 22-23.
2. Манжесов В.И. Перспективы использования бобов фасоли для получения белковых концентратов / В.И. Манжесов, С.Ю. Чурикова, Е.Е. Курчаева // Хранение и переработка сельхозсырья. - 2011. - № 8.- С. 64-65.

МОРФОГЕНЕЗ СОРТОВ ГРУШИ *IN VITRO*

Кучер Н.Н., Небыков М.В.

Национальный дендрологический парк «Софиевка» НАН Украины

natalochka_sof@ukr.net

В мировом производстве плодов листопадных пород груша занимает второе место вслед за яблоней. В культуре она повсеместно распространена во всех зонах земного шара с умеренным климатом [1]. Первые свидетельства о культуре груши сохранились в китайских одах второго тысячелетия до нашей эры, где она первоначально выращивалась в Западной и Центральной части Китая. Затем эта культура получила широкое распространение на Кавказе и в Европе. Таким образом, "возраст" этого плодового дерева превышает три с половиной тысячи лет [8].

Грушу широко выращивают в Украине, как в промышленных, так и в приусадебных и фермерских садах. Такое ее распространение обусловлено высокой зимостойкостью, ценными биологическими и хозяйственными качествами [3, 6, 9].

Для сохранения сортовых признаков плодовые и декоративные формы размножают вегетативно, преимущественно прививкой, однако этот классический и веками отработанный способ достаточно затратный и требует высокой квалификации садовника, что побуждает к поиску альтернативных способов размножения сортов груши с одновременным повышением коэффициента размножения. К таким способам принадлежат технологии *in vitro*, которые в последние десятилетия получили распространение в работе со многими культурными растениями, в том числе древесными [4, 7].

Микроклональное размножение растений с помощью эксплантов, имеющих меристемные ткани или меристемные группы клеток, позволяет быстро получить большое количество растительного материала, генетически идентичного материнскому растению и играет важную роль в ускоренном клонировании плодовых, ягодных и декоративных видов растений.

К основным преимуществам этого метода следует отнести: высокий коэффициент размножения, возможность культивирования в течение всего года, оздоровление посадочного материала, отбор (в культуре *in vitro*) растительного материала с нужными признаками.

Такой метод размножения используется для создания коллекции сортов и видов, перспективных для селекционно-генетических работ, сохранения исчезающих, редких растений, интродукции древесно-декоративных видов растений в новые условия произрастания [2].

Материалы и методы

В лаборатории микроклонального размножения Национального дендропарка «Софиевка» НАН Украины применяли стандартные приемы микроклонального размножения и модифицированные среды Мурасиге и Скуга (МС) [10].

В исследовании использовали побеги длиной 1,0-1,5 см, взятые с пятилетних растений сортов груши Бере Десятова, Уманская юбилейная, Княгиня Ольга и София.

Экспланты культивировали в культуральной комнате с кондиционированным воздухом на стеклянных стеллажах при температуре $25 \pm 1^\circ\text{C}$, относительной влажности воздуха 70-75%, 16-часовом фотопериоде и искусственном освещении интенсивностью 3-5 тыс. люкс.

Посуду, материалы, инструменты и питательные среды стерилизовали в соответствии с общепринятыми методиками [2].

На поверхности растений, произрастающих в природных условиях, находится большое количество микроорганизмов, которые попадая в питательные среды используют питательные вещества для развития своих колоний, подавляют рост и развитие эксплантов, вследствие чего, они могут погибнуть. Поэтому основным условием успешного введения эксплантов *in vitro* является качественная стерилизация исходного материала. Для определения оптимального стерилизатора испытывали водные растворы разных химических реагентов, в частности 2,5% гипохлорид натрия, 0,1% дихлорид ртути и 1,0% нитрат серебра при экспозициях от 1 до 8 мин. Для повышения эффективности реагента добавляли эмульгатор «Твин 80». Наиболее эффективным для всех сортов оказалось использование 0,1% дихлорида ртути с экспозицией 6 мин [5].

Полученные жизнеспособные стерильные побеги, высаживали для активации морфогенеза на питательную среду МС с добавлением агар-агара 7 г/л, сахарозы 30 г/л и регуляторов роста. Использовали следующие фитогормоны: цитокинины — 6-бензиламинопурин (БАП), ауксины — β -индолилуксусная кислота (ИУК), β -индолилмасляная кислота (ИМК), α -нафтилуксусная кислота (НУК), 2,4-дихлорфеноксиуксусная кислота (2,4 Д).

Результаты исследований и их обсуждение

Изучение способности к морфогенезу сортов груши проводилось на шести вариантах питательных сред, отобранных экспериментальным путем, которые имели коэффициент размножения более двух (табл. 1).

Таблица 1. Содержание регуляторов роста в модифицированных питательных средах, мг/л

Вариант среды	Регуляторы роста	
	БАП	ауксины
МС-I	0,5	0,1 НУК
МС-II	0,75	0,3 ИМК
МС-III	1,0	0,08 2,4 Д
МС-IV	1,5	-
МС-V	2,0	0,01 ИУК
МС-VI	2,0	0,1 ИУК

Побеги с апикальной меристемой при культивировании на искусственных питательных средах начинали развиваться через 10-15 суток. Пассажи эксплантов на свежую питательную среду проводили один раз в месяц.

Коэффициент размножения после первого пассажа равнялся нулю, во время второго наблюдали пролиферацию адвентивных почек. При последующих пассажах экспланты образовывали конгломераты, составляющими которых были не только почки, но и побеги. Для увеличения коэффициента размножения в первых пассажах конгломераты почек и побегов не разделяли на отдельные единицы, а переносили крупными частями.

Оценку эффективности сред и расчёт коэффициента размножения проводили после четвертого пассажа (табл. 2).

Таблица 2. Коэффициент размножения сортов груши в зависимости от содержания фитогормонов в среде

Сорт	Питательная среда					
	МС-I	МС-II	МС-III	МС-IV	МС-V	МС-VI
Бере Десятова	4,6	5,8	8,6	8,5	7,4	4,4
Княгиня Ольга	1,1	3,7	6,8	7,9	5,7	4,3
Уманская юбилейная	1,2	4,45	6,33	7,8	6,79	3,9
София	2,1	4,8	7,6	7,7	8,5	4,7

При культивировании растений на среде МС-I у всех сортов коэффициент размножения находился в пределах 1,1-4,6. Во II варианте

(МС-II) наблюдалось повышение коэффициента размножения до 3,7-5,8. На среде МС-III с добавлением 1,0 мг/л БАП и 0,08 мг/л 2,4 Д у эксплантов сорта Бере Десятова был получен высокий коэффициент размножения 8,6, а добавление 1,5 мг/л БАП способствовало увеличению коэффициента размножения сортов Княгиня Ольга и Уманская юбилейная до 7,9. При культивировании эксплантов сорта София на среде МС-V с добавлением 2,0 мг/л БАП и 0,01 мг/л ИУК коэффициент размножения составил 8,5. Состав среды МС-VI снижал выход микроклонов у всех исследованных сортов до 3,9-4,7.

Культивирование эксплантов в течение 18-24 суток на отобранных в результате эксперимента средах, обеспечивало активный рост как центрального, так и дополнительных адвентивных побегов.

В течение следующих 25-35 суток формировалось от 2 до 8 побегов. Пересадку эксплантов проводили через 35-50 суток. Для этого микропобеги длиной 3-6 см отделяли от материнского растения и разрезали на части размером около 2-3 см длиной (с одной пазушной почкой каждый).

Исследования органогенеза сортов груши Бере Десятова, Уманская юбилейная, Княгиня Ольга и София в условиях *in vitro* и методов укоренения полученных побегов для дальнейшей адаптации растений в условиях *ex vitro* и их выращивания в открытом грунте продолжаются.

Таким образом, в результате проведенных исследований установлено, что для оптимального прохождения процессов морфогенеза сорта Бере Десятова наиболее эффективной была среда с добавлением БАП 1,0 мг/л и 0,08 мг/л 2,4 Д, для сортов Княгиня Ольга и Уманская юбилейная — среда с добавлением БАП 1,5 мг/л, а для культивирования сорта София в среду необходимо добавлять БАП 2,0 мг/л и 0,01 мг/л ИОК.

Литература

1. Дрозденко Р.П., Драч А.Д. Помология. Т2. Груша и айва. К.: Урожай, 1995. 224 с.
2. Калинин Ф. Л., Сарнацкая В.В., Полищук В.Е. Методы культуры тканей в физиологии и биохимии растений. К.: Наук. думка, 1980. 488 с.
3. Капичникова Н.Г. Яблоня, груша. М.: Изд. Дом МСП, 2005. 176 с.
4. Косенко І.С., Опалко А.І., Небиков М.В. Регенерація рослин у процесі мікроклонального розмноження. Автохтонні та інтродуковані рослини: Зб. наук. праць НДП "Софіївка" НАН України. 2008. Вип. 3-4. С. 57-67.
5. Кучер Н.Н., Небыков М.В. Усовершенствование методики

- стерилизации эксплантов рода *Rugus L.* для культуры *in vitro*. Науке нового века — знания молодых: Матер. междунауч.-практ. конф. молодых ученых, аспирантов и соискателей [сб. науч. труд.: в 3 ч.]. Киров: Вятская ГСА, 2011. Ч1. С. 76–81.
6. Опалко А.І. Селекція зерняткових культур. Опалко А.І., Заплічко Ф.О. Селекція плодових і овочевих культур : [підруч. для вищ. аграр. закл. освіти]. К.: Вища шк., 2000. С. 345–385.
 7. Опалко А.І., Кучер Н.М., Небиков М.В. Мікроклональне розмноження представників роду *Rugus L.* в умовах *in vitro*. Старовинні парки і ботанічні сади - наукові центри збереження біорізноманіття рослин та охорони історико-культурної спадщини: Матер. міжнар. наук. конф. присвяченої 215-річчю зо Дня заснування Національного дендрологічного парку «Софіївка» НАН України, 5-7 жовтня 2011 р. Умань, 2011. С. 261–264.
 8. Опалко А.І., Кучер Н.М., Опалко О.А., Черненко А.Д. Філогенез і фітогеографія зерняткових плодових культур. Зб. наук. праць НДП "Софіївка" НАН України. 2012. Вип. 3–4. С. 35–44.
 9. Петрова В.П. Дикорастущие плоды и ягоды. М.: Лесн. пром-сть, 1987. 248 с.
 10. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue culture. *Physiol. Plant.* 1962. Vol.15. P. 473–497.

ВЛИЯНИЕ ПРОБИОТИКА «МОНОСПОРИН» НА СИНТЕТИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ В ОРГАНИЗМЕ ЦЫПЛЯТ-БРОЙЛЕРОВ

Лебедева И.А., Невская А.А.

ГНУ "Уральский научный исследовательский ветеринарный институт
Российской академии сельскохозяйственных наук"

solneshko@olympus.ru

В последние годы наибольшее внимание стало уделяться повышению качества и безопасности птицеводческой продукции.

В настоящее время альтернативным средством повышения безопасности продукции является применение пробиотических препаратов в сельском хозяйстве.

Свойства пробиотиков заключаются: в антагонистической активности против патогенных микробов и их метаболитов, стимулировании роста нормальной микрофлоры кишечника, активизации обмена веществ в организме, в результате чего улучшается пищеварение и усвоение корма, снижается количества аммония и токсичных биогенных аминов, образующихся при гниении белков, повышается биологический статус и иммунный ответ организма. При их применении снижается заболеваемость и количество санитарно-ветеринарных обработок.

Пробиотики не вызывают привыкания у патогенной микрофлоры, не оказывает вредного побочного действия, не токсичны, безопасны для птицы и человека, продукция после их применения может использоваться без ограничений [1,5].

Применение пробиотиков в птицеводстве положительно влияет на синтез белка в организме птицы, следовательно, пробиотики способны оказывать влияние на рост и развитие мышечного волокна [3].

Наиболее отвечающий современным методам, в качестве экспериментальной модели, для оценки влияния препаратов является метод культуры стволовых клеток. Главное преимущество - возможность прижизненного наблюдения клеточного метаболизма [3,4].

Цель исследования - повышение качества птицеводческой продукции с использованием антибиотика и пробиотика «Моноспорин», на основе *Bacillus subtilis 090*.

Для достижения цели была поставлена задача - изучить влияние продуктов жизнедеятельности *B.subtilis* на фоне антибиотика на синтез

белка на уровне стволовых клеток.

Материал исследования – кондиционированные эмбриональные культуры клеток (ЭКК) двухдневных эмбрионов цыплят-бройлеров, сохраняющие жизнеспособность в течение всего эксперимента, по общепринятым методикам для стволовых клеток в лаборатории «Молекулярных технологий» РАМН в Уральской государственной медицинской академии (под руководством д.м.н. профессора Макеева О.Г.).

Методика исследования. Культивирование ранее выделенных и замороженных ЭКК проводили в инкубаторе Sanyo (Япония) при 37°C, 5% CO₂ и 95% влажности.. Опытная группа - ЭКК инкубировали в стандартной среде с добавлением стерилизованного супернатанта культуры роста *B.Subtilis* в соотношении 1/99, 10/90, 20/80 (объем культуры *B.Subtilis*/ объем культуры ЭКК). Контрольная группа - антибиотик добавляли в среду инкубации ЭКК в количестве 0,1, 0,25, 2,5 и 25 мкг/мл среды. По завершению культивирования клетки трипсинизировали, омывали и использовали для исследования. Подсчет клеток производили на гематологическом анализаторе Cobas Micros OT (Япония).

Результаты исследования позволили установить тенденцию, что метаболиты *B.Subtilis* в зависимости от концентрации, оказывают стимулирующий эффект на синтез белка ЭКК.

В диапазоне соотношения объемов - 1/99, 10/99 - наблюдается рост стимулирующего эффекта метаболитов *B.Subtilis* на синтез белка (на 34 % и 54 % по сравнению с контрольными величинами). В диапазоне соотношения объемов 20/80 выявлено снижение стимулирующего эффекта (до 17%).

При добавлении в культуру инкубации антибиотика выявлено снижение синтеза белка клетками (от 38% при минимальной концентрации до 78% при максимальной концентрации антибиотика).

Применение продуктов жизнедеятельности *B. Subtilis* позволяет предотвратить угнетение синтеза белка под влиянием антибиотика при его минимальных концентрациях в среде (0,1 и 1 мкг/мл) [3,4].

По результатам применения пробиотика «Моноспорин» в промышленном птицеводстве в дозе 0,03 мл на голову в день с 5 по 15 день жизни цыплятам-бройлерам (с 1 по 5 день жизни применялся антибиотик для профилактики кишечных инфекции) было отмечено, что в мышечном волокне 40-дневных цыплят-бройлеров - более развитая мышечная ткань, уменьшение утолщений соединительной ткани, уменьшение жировых отложений в межмышечном пространстве, что

свидетельствовало о «здоровой» структуре мышечного волокна.

В мышечном волокне 40-дневных цыплят-бройлеров, не получавших пробиотик «Моноспорин» было выявлено – формирование большого количества гипертрофированных мышечных волокон, утолщение соединительнотканых прослоек, значительное отложение жировых вакуолей между мышечными волокнами, были зафиксированы тромбы в сосудах и явления атрофии и некроза в мышечной ткани [1,2,3].

Вывод. *B. Subtilis*, являющийся основой пробиотика «Моноспорин», обладает способностью благотворно влиять на основные синтетические внутриклеточные процессы, на синтез белка, в организме птицы.

Действие антибиотика оказывает угнетающий эффект на синтетические параметры эмбриональных клеток.

Использование метаболитов *B. Subtilis* на фоне применения антибиотика позволяет нейтрализовать ингибирующий эффект антибиотика, при минимальной концентрации антибиотика в среде.

Заключение. Рекомендуются применять пробиотик «Моноспорин» на птицеводческих производствах в дозах 0,03 мл на голову с 5 по 15 день жизни цыплятам-бройлерам для нейтрализации негативного эффекта антибиотика, применяемого для профилактики кишечных инфекций, на синтетические процессы в организме, для «оздоровления» структуры мышечного волокна, улучшения роста и развития мышечной ткани цыплят-бройлеров.

Литература

1. Лебедева И.А., Новикова М.В. Использование пробиотиков для улучшения качества и безопасности мяса бройлеров // Пища. Экология. Качество //Сборник трудов V Международной научно-практической конференции (Краснообск, 30 июня – 2 июля 2008 г.). – Новосибирск, 2008. – С. 311-312.
2. Лебедева И.А., Новикова М.В. Пробиотики как неотъемлемый компонент при выращивании цыплят-бройлеров и ремонтных курочек // Сборник научных трудов ведущих ученых России и Зарубежья «Современные проблемы диагностики, лечения и профилактики болезней животных и птиц», Выпуск 3. – Екатеринбург: УрНИВИ РАСХН, 2010. - С.-213-215.
3. Лебедева И.А. Повышение биоресурсного потенциала цыплят-бройлеров на основе усовершенствования престаптартовой и стартовой системы выращивания //Автореферат на соискание ученой степени доктора биологических наук, Екатеринбург: УрНИВИ РАСХН, УрГСХА , 2011. – С.42.

4. Мусина Р.А., Егоров Е.Е., Белявский А.В. Стволовые клетки: свойства и перспективы использования в медицине // М.: Молекулярная биология - 2004. - том 38 - С. - 563-577.
5. Омельченко Н.А., Пышманцева Н.А. Ученые рекомендуют: Взамен антибиотикам// Земля и Жизнь. Российская аграрная газета. - 2009. - №7 (12).

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ БИОПРЕПАРАТА НА ОСНОВЕ *BACILLUS MEGATERIUM* НА РАСТЕНИЯ ЛЬНА-ДОЛГУНЦА

Лисина Т.О., Круглов Ю.В.

ГНУ ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии Россельхозакадемии,
С.-Петербург-Пушкин

lisina-to@yandex.ru

Биопрепараты на основе микроорганизмов, применяемых в практике растениеводства, различаются механизмом действия.

Одни используются в качестве средств защиты растений от вредителей и фитопатогенов, другие – для стимуляции роста и развития сельскохозяйственных культур, очищения почв от ксенобиотиков и т.д.

Ряд препаратов обладает комплексным действием, что расширяет область их применения и повышает эффективность действия. К таковым относится и созданный нами биопрепарат на основе споровой бактерии *Bacillus megaterium* 501 GR. Ранее было показано, что он разлагает органические соединения фосфора, включая ряд фосфорорганических инсектицидов; является антагонистом некоторых видов микромицетов рр. *Fusarium*, *Penicillium*, *Cylindrocarpum*, *Gliokladium*, в том числе продуцентов микотоксинов; солибилизирует труднорастворимые фосфаты кальция; стимулирует развитие ряда сельскохозяйственных культур. Были разработаны жидкая и твердофазная формы препарата на основе этого штамма, оценена эффективность его действия в отношении ряда овощных, зеленных и цветочных культур.

С целью повышения эффективности и технологичности применения биопрепарата нами разработан способ получения гелевой его формы.

В настоящей работе представлены данные о действии препарата на рост и развитие льна-долгунца (сорт «Псковский 359»). Вегетационные опыты проведены на дерново-подзолистой известкованной почве. Способ обработки – замачивание семян в препарате (опыт) и, соответственно, – в воде (контроль). Показано, что предпосевная обработка семян льна биопрепаратом ускоряет рост растений уже на начальной фазе, и этот эффект сохраняется до конца вегетации (фото 1).

Заметно увеличиваются длина и облиственность стебля, при этом возрастает площадь листовой пластинки (фото 2А). Растения имеют более мощную корневую систему (фото 2Б).

Как результат - наблюдается более раннее формирование коробочек и их созревание.

Учет урожая льносоломки и семян льна подтверждают картину, описанную ранее. Как видно из таблицы 1, под влиянием биопрепарата масса льносоломки возрастает на 42% за счет увеличения длины и толщины стебля. Количество коробочек на стебле увеличивается на 57%, урожай семян - на 78%, удельная масса семян - на 10%, что говорит о более высоком качестве семенного материала.

Таблица 1. Влияние биопрепарата на структуру урожая льна

Вариант	Стебель		Семена		
	Масса, г на 20 раст.	Длина, см	Кол-во коробочек на 20 раст.	Масса, г на 20 растений	
				коробочек	семян
Контроль	4,0	51,5	58	3,8	2,3
Препарат	5,7	55,5	91	6,2	4,1

Полученные данные приводят к заключению о высокой эффективности предпосевной обработки семян биопрепаратом и хороших перспективах его использования в льноводстве.

Работа проведена при финансовой поддержке Минобрнауки РФ (ГК № МО4.11.0013).



Рис. 1. Влияние биопрепарата на динамику роста и развития растения льна



Рис. 2. Влияние биопрепарата на формирование листьев (А) и корневой системы растения льна (Б)

**ОТХОДЫ ПРОИЗВОДСТВА БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ
ДОБАВОК К ПИЩЕ ИЗ БУРЫХ МОРСКИХ ВОДОРОСЛЕЙ В
КАЧЕСТВЕ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО ИНГРЕДИЕНТА В СОСТАВЕ
ХЛЕБОБУЛОЧНЫХ ИЗДЕЛИЙ**

Лях В. А., Смертина Е. С., Федянина Л. Н.

Дальневосточный федеральный университет / Школа биомедицины,
Дальневосточный федеральный университет / Школа экономики и
менеджмента

lyah_v@bk.ru

Актуальной тенденцией современной науки является разработка новых направлений в технологии производства, направленных, в том числе, на рациональное использование вторичных продуктов переработки сырья различного происхождения.

Учеными ТИБОХ ДВО РАН разработан способ комплексной переработки бурых водорослей *Fucus evanescens*. Основные продукты данной технологии – биоактивные полисахариды: фукоидан и альгиновая кислота, на основе которых созданы БАД к пище – Фуколам-С, Фуколам, Фуколам Янтарный [1,5]. Проведенные медико-биологические исследования подтвердили положительное действие на организм этих БАД к пище.

Существующий способ комплексной переработки бурых морских водорослей предполагает на первом этапе их обработку большим количеством этанола, в результате чего образуется побочный продукт – водно-этанольный экстракт (торговое название Фуколам-Э), который в настоящее время не применяется для пищевых целей [5].

Химический состав водно-этанольного экстракта, доказанные положительные многоаспектные медико-биологические свойства, показывают целесообразность его выбора и применения в качестве функционального ингредиента для создания продуктов лечебно-профилактической направленности и в последующем возможно - основы для создания БАД к пище [1-5]. В состав водно-этанольного экстракта *Fucus evanescens* входят йод, микроэлементы (медь, цинк, железо, селен и др.), набор аминокислот (в первую очередь тирозин и фенилаланин), полиненасыщенные жирные кислоты, а также белки и олигосахариды, манит и полифенольные соединения. Водно-этанольный экстракт содержит в своем составе комплекс веществ, необходимых для нормального функционирования щитовидной железы и усвоения йода в

организме человека. Ценность водно-этанольного экстракта определяется тем, что свободные аминокислоты легко усваиваются, а фенольные соединения проявляют антиоксидантные свойства. Кроме того, была показана противоопухолевая активность экстракта на модели раковых клеток кишечника человека [1].

Научными сотрудниками ТИБОХ ДВО РАН было определено, что водно-этанольный экстракт по токсикологическому воздействию на организм относится к малоопасным веществам, не оказывает общетоксического, кожно-раздражающего и сенсибилизирующего действия на организм человека.

Полученные нами данные на выбранной модели - тест-культуры инфузории *Tetrahymena pyriformis*, не только подтвердили безопасность водно-этанольного экстракта, но и показали его положительное действие на биообъект, вероятно обусловленное многокомпонентным составом водно-этанольного экстракта и наличием выраженной биологической активности [4,5].

Определение показателей безопасности водно-этанольного экстракта в соответствии с нормативной документацией Российской Федерации показало пригодность его использования для пищевых целей. Учитывая доказанные безопасность исследуемого вещества, его положительное полифункциональное действие на организм человека, водно-этанольный экстракт вполне обоснованно, с точки зрения медико-биологических требований, может применяться в качестве функционального ингредиента, придающего продуктам лечебно-профилактическую направленность.

Однако, некоторые сомнения в употреблении водно-этанольного экстракта для создания продуктов, вызывали его органолептические показатели - это мутная жидкость, коричневого цвета со специфическим запахом морских водорослей, поэтому необходимо было оценить возможность его использования в технологическом аспекте.

Целью исследования явилось изучение возможности применения отхода производства биологически активных добавок из бурой водоросли *Fucus evanescens* - водно-этанольного экстракта в качестве функционального ингредиента при производстве продуктов питания.

Для достижения цели были поставлены и решены следующие задачи: выбор базового продукта; исследование органолептических показателей качества продукта для определения наиболее оптимальной концентрации вносимого водно-этанольного экстракта; изучение влияния водно-этанольного экстракта в выбранной концентрации на физико-химические показатели качества готового продукта;

подтверждение функциональной направленности готового продукта в соответствии с ГОСТ Р 52349 – 2005 «Продукты пищевые. Продукты пищевые функциональные. Термины и определения» (изменение № 1 от 01.03.2011 г.).

Одним из важных моментов применения функциональных компонентов является выбор продукта, в который планируется вносить данный компонент, причем, для этих целей желательно использовать продукты массового спроса. С учетом вышесказанного, в качестве базового продукта нами был выбран хлеб, который, как известно, является традиционным, повсеместным и повседневным продуктом питания. Хлебобулочные изделия изучали в соответствии с нормативной документацией, действующей на территории Российской Федерации.

На первом этапе исследования была проведена пробная выпечка хлебобулочных изделий (хлеба) с различными концентрациями водно-этанольного экстракта *Fucus evanescens*. Учитывая органолептические показатели, для подробного изучения был выбран образец с концентрацией данного экстракта 5 %, т.к. образцы с большей концентрацией водно-этанольного экстракта *Fucus evanescens* имели резкий спиртовой запах, горький вкус, а также не соответствовали нормативной документации по внешнему виду и состоянию мякиша.

Выбранная концентрация водно-этанольного экстракта *Fucus evanescens* в количестве 5 % от массы пшеничной муки положительно влияет на физико-химические показатели качества готовых изделий, что подтверждается данными исследований.

У образца с водно-этанольным экстрактом *Fucus evanescens*, по сравнению с контролем, процент влажности мякиша меньше, что вероятно объясняется тем, что спирт, содержащийся в экстракте, связывает молекулы воды и испаряется, следовательно, количество влаги уменьшается. Показатели кислотности и пористости у опытных (с добавлением водно-этанольного экстракта) и контрольных образцов были одинаковыми. Массовая доля сахара в опытном образце, по сравнению с контрольным образцом, увеличилась, что объясняется наличием в водно-этанольном экстракте полисахаридов.

Для подтверждения функциональности готовых изделий необходимо определение функционального ингредиента по количественному содержанию, поэтому нами на следующем этапе работы была изучена массовая концентрация йода в готовом изделии. Методика определения включает в себя предварительную подготовку проб путем минерализации и последующий анализ раствора минерализованной пробы катодной инверсионной вольтамперометрии.

Расчетное обеспечение суточной потребности в йоде в 100 г готового продукта составляет 22,98 %. После выпечки процент обеспечения суточной нормы йода снижается незначительно и составляет 20 %. Следовательно, экспериментально подтверждено, что внесение водно-этанольного экстракта бурой водоросли в концентрации 5 % от количества муки позволяет обеспечить функциональную направленность готовому изделию.

Таким образом, применение побочного продукта при производстве БАД из сырья морского генеза – водно-этанольного экстракта бурой водоросли *F. evanescens* – в технологии производства хлебобулочных изделий является целесообразным и перспективным. Водно-этанольный экстракт удовлетворяет требованиям, предъявляемым к функциональным ингредиентам для создания продуктов функционального питания. Учитывая достаточную сырьевую базу для получения экстракта, низкую его стоимость как побочного продукта комплексной переработки водорослей, полученные хлебобулочные изделия позволяют расширить ассортимент недорогих и полезных для здоровья продуктов, которые не требуют для своего производства существенных изменений технологического процесса.

Литература

1. Имбс Т.И. Сравнительное исследование химического состава и противоопухолевой активности водно-этанольных экстрактов бурых водорослей *Laminaria cichorioides*, *Costaria costata* и *Fucus evanescens*/ Т.И. Имбс [и др.]. – Биология моря, 2009. – Том 35, №2. – С. 140 - 146
2. Смертина, Е.С Новые хлебобулочные изделия функционального назначения / Е.С. Смертина, Т.К. Каленик, Л.Н. Федянина // Вестник ТГЭУ. – 2009. – № 3. – С. 53 – 59.
3. Смертина, Е.С.. Хлебобулочные изделия с добавкой из бурых водорослей / Е.С. Смертина [и др.]. – Пищевая промышленность, 2009. – №12. – С.66-67.
4. Федянина, Л.Н. К вопросу о безопасности ингредиентов, применяющихся для создания хлебобулочных изделий лечебно-профилактического назначения/ Л.Н. Федянина [и др.] // Вестник Тихоокеанского государственного экономического университета. 2011. №4. С.82 – 86.
5. Использование отходов производства БАД из морских водорослей в качестве функционального ингредиента в составе хлебобулочных изделий / Смертина Е.С., Федянина Л.Н., Лях В.А. // Вестник Тихоокеанского государственного экономического университета. 2012. № 4. С. 94-102.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ИНУЛИНАЗЫ В РЕЦЕПТУРАХ ХЛЕБА ЛЕЧЕБНО-ПРОФИЛАКТИЧЕСКОГО НАЗНАЧЕНИЯ

Мажулина И.В., Шевцов А.А., Яковлева С.Ф.

ФГБОУ ВПО «Воронежский государственный университет инженерных технологий»

inna210590@yandex.ru

При гидролизе инулина различных видов растительного сырья образуется фруктоза, которая рекомендуется в питании людей, страдающих сахарным диабетом, так как при ее усвоении не требуется инсулин. Для этой цели применяется ценный ферментный препарат – инулиназа [1].

Цель исследования – выбор оптимального состава питательной среды для глубинного культивирования бактерий *Bacillus polymyxa* 29, получение ферментного препарата инулиназы для использования в технологии хлеба диабетического назначения.

Задачи исследования: 1) подобрать оптимальный состав питательной среды для инулиназы; 2) исследовать влияние источников углерода и азота на биосинтез инулиназы; 3) разработать рецептуру хлеба лечебно-профилактического назначения с заменой сахара-песка в рецептуре на фруктозу.

Материалы и методы исследований. Активность инулиназы и инвертазы определяли полумикрометодом Бертрана, для определения качества хлеба использовали общепринятые в хлебопекарной промышленности методики [2].

Для исследований выбран продуцент инулиназы *Bacillus polymyxa* 29. Питательные среды готовили на водопроводной воде в колбах Эрленмейера объемом 500 см³, автоклавировали при давлении пара 0,1-0,12 МПа в течение 1 ч, охлаждали до 32-33 °С и засеивали водно-споровой суспензией бактерий в количестве 1 % к объему питательной среды. Выращивание продуцента проводили на лабораторной качалке при частоте встряхивания 1,7-1,8 с⁻¹, температуре 34-35 °С в течение 72 ч.

В качестве источника углерода изучали глюкозу, фруктозу, ксилозу, сахарозу, мальтозу, лактозу, раффинозу, крахмал, мелассу, экстракт топинамбура, целлюлозу.

Изучение азотного питания на биосинтез инулиназы проводили на

фоне среды следующего состава (%): K_2PO_4 - 0,1; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ - 0,05; KCl - 0,05 с добавлением 5 % сахарозы. В качестве источника азота исследовали влияние NaNO_3 , KNO_3 , NH_4NO_3 , $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$, $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, кукурузного и солодового экстрактов. Максимальная активность инулиназы отмечалась в присутствии $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ (0,21 %). Оптимальное значение pH среды - 7,0; температура и продолжительность культивирования соответственно - 35 °С и 72 ч. Максимальный эффект действия на биосинтез инулиназы оказывали сахароза (5 %) и ксилоза (1 %) при их совместном использовании. Активность инулиназы составляла 30-35 ед/см³.

Для получения ферментного препарата инулиназы использовали ультрафильтрацию и сублимационную сушку.

Препарат инулиназы применяли для получения гидролизатов из порошка топинамбура (ТУ 9164-001-97357430-09) для получения фруктозы как заменителя сахарозы в рецептуре хлеба, предназначенного для диабетического питания. Параметры гидролиза: гидромодуль порошка топинамбура 1:2,5; дозировка препарата инулополимиксина - 8 ед/г инулина; температура 40 °С, продолжительность - 6 ч. Степень гидролиза - 97 %. Оптимальная дозировка ферментативного гидролизата инулина порошка топинамбура в рецептуре хлеба составляет 15 % к массе муки в тесте.

Литература

1. Абрамова И.Н. Инулиназа: биосинтез, свойства, перспектива использования в пищевых технологиях / И.Н. Абрамова. - Воронеж: ЦНТИ, 2008. - 144 с.
2. Тертычная Т.Н. Исследование биосинтеза и некоторых физико-химических свойств инулазы *Aspergillus awamori* ВКМФ-2250: дис. ... канд. биол. наук. - Воронеж: ВГУ, 1994. - 169 с.

БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ ПОТЕНЦИАЛ ПОРОШКООБРАЗНОГО ПОЛУФАБРИКАТА МОРКОВИ

Максимов И.В., Манжесов В.И., Курчаева Е.Е., Кречотень М.А.

ФГБОУ ВПО «Воронежский государственный аграрный университет им. императора Петра I», Воронеж

maximus880@mail.ru

Пищевой продукт должен содержать компоненты, необходимые человеческому организму для нормального обмена веществ в требуемом соотношении [1].

На основе корнеплодов моркови сорта Рогнеда нами был получен порошкообразный полуфабрикат. Сушку проводили в инфракрасной сушилке «Феруза» при температуре 45-50°C, продолжительность сушки 3 ч. Данные о химическом составе и энергетической ценности порошкообразного полуфабриката представлены в таблице 1.

Таблица 1. Химический состав и энергетическая ценность порошкообразного полуфабриката

Показатели	Характеристика
	ПММП
Массовая доля, %:	3,10
белка	
жира	Следы
углеводов В том числе:	65,15
редуцирующие сахара	35,96
глюкоза	10,11
фруктоза	25,38
пектин	3,70
клетчатка	4,52
крахмал	Следы
влага	6,00

Как видно из данных таблицы 1, порошкообразный полуфабрикат характеризуется низкой массовой долей влаги и представляет собой концентрат основных пищевых веществ с преобладающей долей углеводов (65%). Углеводы являются основным питательным и опорным

материалом клеток и тканей. Они составляют большую часть веществ, слагающих растительный организм. Биологические свойства углеводов связаны с тем, что при их окислении в организме человека образуется основная часть энергии. Они также служат предшественниками в биосинтезе многих компонентов клеток.

Полученный порошкообразный полуфабрикат обладает богатым углеводным составом. Содержание редуцирующих сахаров колеблется в пределах 35,90 – 35,96 %. Среди них – глюкоза, которая, как известно, является наиболее легко- и быстроусвояемым источником энергии для человека. Содержание глюкозы в порошкообразном полуфабрикате находится в пределах 5,11-5,12 %. Фруктоза является менее распространенным моносахаридом, чем глюкоза. Часть фруктозы в печени человека превращается в глюкозу. Этим обстоятельством, а также значительно более медленным всасыванием фруктозы сравнительно с глюкозой в кишечнике объясняется лучшая переносимость ее больными сахарным диабетом. В овощном порошке фруктозы содержится от 20,38 до 20,40 %.

Поскольку стенки растительных клеток в значительной степени построены из сложного углевода – клетчатки, которая играет физиологическую роль при питании человека, стимулируя работу кишечника, ее содержание в порошке составило 4,50 – 4,52 %.

В порошке определен некрахмалоподобный полисахарид – пектин. Свободные карбоксильные группы, содержащиеся в пектине, обеспечивают связывание и комплексообразование ионов тяжелых металлов (свинца, циркония, стронция и др.). Образующиеся нерастворимые комплексы (пектаты и пектинаты) не всасываются в общий кровоток и выводятся из организма. Пектины при взаимодействии с водой набухают, поглощают из кишечника холестерин, канцерогенные вещества, патогенные микроорганизмы и выводят их. Массовая доля пектина в порошке находится в пределах 3,70-3,75 %.

ПМП (порошкообразный морковный полуфабрикат) содержит макроэлементы (соответственно), мг/кг: натрия - 5150,0; калия - 12300,0; кальция - 7350,0; магния - 138,0; микроэлементы, мг/кг: железа - 440,0; цинка - 36,0; меди -35,5; марганца - 3,0; кадмия - 0,25. В них идентифицирован тиамин (5,24 мг/кг); содержание рибофлавина составляет 12,91 мг/кг, а *β*-каротина - 182,6 мг/кг.

При использовании различных компонентов, особенно немясного происхождения, важна полная информация о физико-химических свойствах вновь вводимых добавок, поскольку они оказывают довольно выраженное влияние на функционально-технологические показатели

пищевых систем и связаны с качеством готовой продукции.

Прежде всего, следует отметить, что порошок из корнеплодов моркови имеет отличные органолептические показатели: цвет порошка, оцененный визуально, предполагает положительное действие на цветообразование готовых изделий при производстве колбас и ставит одновременно задачу изучения возможности снижения доли нитрита в рецептурах этих продуктов.

Среди многообразия характеристик и оценочных критериев для технологии мясных продуктов весьма важную роль играют такие показатели, как набухаемость и растворимость (табл. 2).

Таблица 2. Физико-химические и функциональные свойства порошкообразного морковного полуфабриката

Наименование показателей	ПМП
Дисперсность не менее 35 мкм, %	96,00
Объемная масса, кг	0,717
Угол естественного откоса, град.	45,00
pH раствора	6,60
Эмульгирующая способность, %	78,70
Набухаемость, %	4,5
Растворимость, %	81,5

При набухании и растворении ПМП наблюдается обычная закономерность. На первой стадии происходит набухание, что сопровождается диффузией молекул растворителя в полимер и увеличением объема последнего. И только уже затем макромолекулы, связь между которыми сильно ослабилась, отрываются от основной массы вещества и диффундируют в среду, образуя частично раствор.

pH среды в мясных системах оказывает влияние на способность мясного сырья поглощать влагу. Так, при pH ниже 5,4 связывание воды минимально, значение pH порошка лежит в пределах 6,6-6,9 и является оптимальным для фарша колбасных изделий.

При образовании эмульсии происходит механическое диспергирование дисперсной фазы в дисперсионной среде. Процесс эмульгирования состоит из собственно диспергирования, т. е. образования капелек дисперсной фазы в дисперсионной среде, и их стабилизации в результате адсорбции на поверхности эмульгатора [2]. При этом дисперсионной средой является раствор белков и низкомолекулярных веществ, а дисперсной фазой – гидратированные высокомолекулярные вещества и жировые частицы, роль эмульгатора

или стабилизатора эмульсии могут играть поверхностно-активные вещества. Присутствием последних можно объяснить относительно высокую эмульгирующую способность порошков.

Работа выполнена при поддержке фонда РГНФ № 11-02-00177а.

Литература

1. Толстых Н.В. Комбинированные полуфабрикаты из многокомпонентного сырья / Н.В. Толстых, Г.П. Казюлин, Т.А. Бондарева // Мясная индустрия. - 2003. - №2. - С. 22-23.
2. Манжесов В.И. Перспективы использования бобов фасоли для получения белковых концентратов / В.И. Манжесов, С.Ю. Чурикова, Е.Е. Курчаева // Хранение и переработка сельхозсырья. - 2011. - № 8.- С. 64-65.

БИОГАЗОВЫЙ РЕАКТОР С БАРБОТАЖНЫМ ПЕРЕМЕШИВАНИЕМ И ПОДОГРЕВОМ

Медяков А. А., Онучин Е. М.

ФГБОУ ВПО ПГТУ

arcus@live.ru

Биогазовые установки анаэробного сбраживания органических отходов являются мощным инструментом для оптимизации технологических процессов на сельскохозяйственных предприятиях.

Для повышения эффективности биогазовых установок в работах [1,2,3,5] предлагается комплексное решение задач перемешивания и обогрева с использованием каталитических обогревательных устройств. В рамках разрабатываемого устройства совершенствуются методы перемешивания и обогрева субстрата, а так же предлагается комплексное решение задач эффективных перемешивания и обогрева.

На фоне механических способов перемешивания выделяется более простой и надежный способ – это барботажное перемешивание. Оно осуществляется за счет отбора из верхней части биореактора выделяющегося биогаза и барботирования его через толщу сбраживаемого субстрата.

Достоинствами барботажного перемешивания являются простота устройства ввиду отсутствия движущихся частей, к которой так же относится простота проектирования, высокая надежность в эксплуатации, а так же легкость поддержания нерастворенной фазы субстрата во взвешенном состоянии. [4]

По сравнению с традиционными источниками тепла более эффективными являются каталитические устройства сжигания. В результате взаимодействия молекул кислорода и углеводов на поверхности катализатора происходит процесс низкотемпературного окисления с образованием паров воды и углекислого газа.

К преимуществам каталитических устройств следует отнести:

- 1) полноту сжигания топлива, которая способствует повышению эффективности процесса горения;
- 2) снижение температуры процесса горения, которое обеспечивает конструктивные преимущества каталитических устройств горения;
- 3) сокращение выбросов вредных газов в атмосферу в связи со снижением температуры горения и более полным сжиганием топлива;
- 4) снижение тепловых выбросов в атмосферу с уходящими газами [6].

Принцип функционирования разработанного устройства

Каждая установка обладает рядом характеристик, которые характеризуют процессы происходящие при их функционировании. При решении задач эффективных перемешивания и обогрева были использованы характеристики биогазовых установок, каталитических обогревателей и барботажных устройств. В результате была выработана схема комплексного решения задач, представленная на Рисунке 1.

Каталитический обогреватель, потребляя биогаз, производит тепловую энергию и уходящие после процесса горения газы. Тепловая энергия непосредственно используется для обогрева биогазовой установки, а барботажное устройство с помощью уходящих газов создает тепловой барботаж, который одновременно служит для перемешивания субстрата и для его обогрева. В результате вырабатывается биогаз, часть которого используется для отопления, а основная часть отправляется потребителям.

На рисунке 2 представлена модель биореактора для исследования системы барботажного перемешивания и обогрева.

Выводы

Применение комплексного решения задач эффективных перемешивания и обогрева позволит:

- 1) снизить материалоемкость установки ввиду отсутствия традиционных систем водяного отопления
- 2) снизить себестоимость выработки кубического метра газа ввиду повышения эффективности получения тепловой энергии, а так же более полного использования вырабатываемого тепла.



Рис. 1. Схема комплексного решения задач перемешивания и обогрева

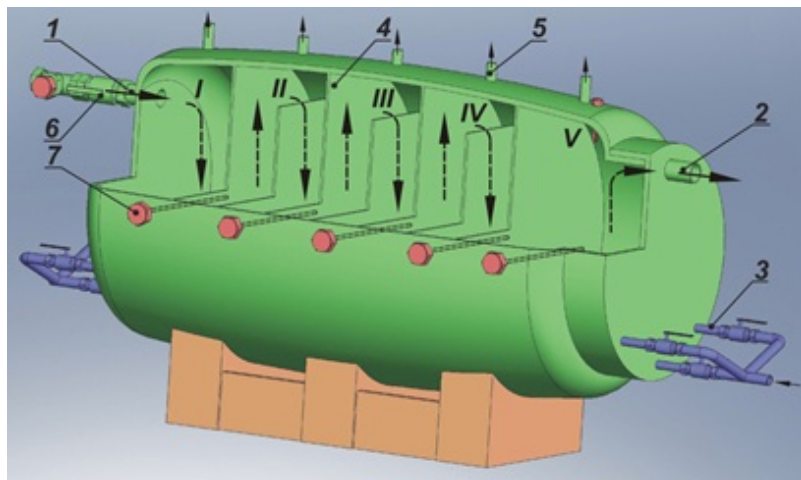


Рис. 2. Модель биореактора для исследования системы барботажного перемешивания и обогрева: 1 - входной патрубок субстрата, 2 - выходной патрубок субстрата, 3 - распределительная часть барботажной системы, 4 - поперечные перегородки, 5 - выходные патрубки для биогаза, 6 - запорная арматура, 7 - датчики температуры.

Литература

1. Онучин Е. М. Биогазовая установка с устройством для перемешивания и каталитического обогрева субстрата / Е. М. Онучин, А. А. Медяков, Р. В. Яблонский // Альтернативная энергетика и экология. - 2010. - №11. - С. 91-94.
2. Онучин Е. М. Экспериментальный стенд для исследования процессов каталитического обогрева и перемешивания субстрата при анаэробном сбраживании / Е. М. Онучин, Д. В. Костромин, Ю. Н. Сидыганов, А. А. Медяков, Р. В. Яблонский // Известия Санкт-Петербургского государственного аграрного университета. - 2011. - № 24. - С. 348-355.
3. Патент на полезную модель 106138 Российская Федерация, МПК51 В01F 15/06 (2006/01) Устройство для перемешивания субстрата с подогревом / Медяков А. А., Сидыганов Ю. Н., Онучин Е. М., Шамшуров Д. Н., Костромин Д. В., Яблонский Р. В.; заявитель и патентообладатель Марийский гос. техн. ун-т. - № 2010153209/05; заявл. 24.12.2010; опубл. 10.07.2011, Бюл. № 19. - 2 с.: ил.

4. Сидыганов, Ю. Н. Анаэробная переработка отходов для получения биогаза / Ю. Н. Сидыганов, Д. Н. Шамшуров, Д. В. Костромин // Механизация и электрификация сельского хозяйства. – 2008. – № 6. – С. 42-43
5. Патент на полезную модель 106139 Российская Федерация, МПК51 В01F 15/06 (2006/01) Устройство для перемешивания и каталитического обогрева субстрата / Яблонский Р. В., Сидыганов Ю. Н., Онучин Е. М., Шамшуров Д. Н., Костромин Д. В., Медяков А. А.; заявитель и патентообладатель Марийский гос. техн. ун-т. – № 2010153211/05; заявл. 24.12.2010; опубл. 10.07.2011, Бюл. № 19. – 2 с.: ил.
6. Лукьянов Б. Н. Экологически чистое окисление углеводородных газов в каталитических нагревательных элементах / Б. Н. Лукьянов, Н. А. Кузин, В. А. Кириллов, В. А. Куликов, В. Б. Шигаров, М. М. Данилова // Химия в интересах устойчивого развития. – 2001. – №9. – с. 667 - 677

ИССЛЕДОВАНИЕ КОМБИНИРОВАННОГО ДЕЙСТВИЯ АНТИБИОТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ РАЗЛИЧНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

Минакова В.В., Карнаухова И.В., Пряхин А.В., Бочкаева З.В., Лыкина Т.А.

ФГБОУ ВПО ОГПУ, г. Оренбург, Россия,
University of Dodoma (UDOM), Tanzania

minakova@mail.ru

В практике врач редко применяет какое-либо одно лекарственное средство, поскольку любая патология затрагивает многие системы и органы, что естественно требует воздействия разных лекарственных веществ. К таким сочетаниям и относятся различные комбинированные препараты [7].

Необходимость использования комбинированных терапевтических средств определяется двумя важнейшими задачами антибиотикотерапии: уменьшение дозы препарата, а следовательно, затрат на лечение, и снижение возникновения возможных побочных явлений, а также снижение выработки устойчивости у патогенной микрофлоры к антимикробным препаратам, от чего продлевается срок их использования в клинике [1].

Однако при этом следует помнить, что основной принцип комбинированной антибиотикотерапии – применение антибиотических средств разного механизма действия. Подобное сочетание может вызвать усиление антимикробного действия или взаимную нейтрализацию, не говоря уже об усилении негативных, побочных явлений. Вот почему разработка комбинированных препаратов весьма сложный и ответственный момент [6].

Рациональная сочетанная антибиотикотерапия ставит перед собой определенные цели, а именно:

- усиление терапевтического антибактериального эффекта;
- обогащение и расширение терапевтических возможностей;
- уменьшение побочного действия;
- уменьшение опасности возникновения резистентных штаммов.

В нашей работе были использованы культуры бактерий, выделенные из организма человека (табл.1).

В качестве лекарственных препаратов были взяты вещества, указанные в таблице 2.

Таблица 1. Список культур микроорганизмов, использованных в исследованиях

Название микроорганизмов	Источник получения
<i>Micrococcus lysodeikticus</i> (клинический штамм)	Лаборатория микробной экологии МКБ № 2, г. Оренбург
<i>Staphylococcus epidermidis</i> (клинический штамм)	
<i>Escherichia coli</i> (клинический штамм)	
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (клинический штамм)	

Таблица 2. Используемые антибиотические препараты

Антибиотик	Фирма-изготовитель
Азитрокс	ОАО «Фармстандарт-Лекстедства», Россия
Макропен	КРКА, Словения
Лизоцимы моллюсков <i>Unio pictorum</i> и <i>Anodonta cygnea</i>	Препараты, полученные методом ионообменной хроматографии из экстрактов тканей моллюсков

Макролиды относятся к числу наименее токсичных антибиотиков. Антимикробное действие макролидов обусловлено нарушением синтеза белка на этапе трансляции в клетках чувствительных микроорганизмов [2, 6].

Лизоцим является универсальным распространенным ферментом на всех этапах эволюции живых организмов - от вирусов до высших млекопитающих и человека, широко используется в области медицины, пищевой индустрии, косметологии. Гидролизуют β -гликозидные связи между остатками N-ацетилмурамовой кислоты и N-ацетилглюкозамина в пептидогликане бактериальной стенки [3, 5].

Для определения чувствительности клеток к антибиотикам использовали метод серийных разведений в жидкой питательной среде. Данный метод был использован для определения минимальной подавляющей концентрации (МПК). Оценку антибактериальной активности препаратов проводили с использованием жидкой питательной среды. Тест проводили в одноразовых стерильных планшетах для иммунологических реакций методом серийных разведений. Опыты проводили в тройной повторности.

Эксперименты по изучению комбинированного действия

антибиотиков и лизоцима проводили этим же методом. Для этого антибиотики и лизоцим в равных количествах одновременно вносили в среду культивирования. Наличие синергидного эффекта констатировалось в том случае, когда значение индекса фракционной подавляющей концентрации (ФПК) было $\leq 0,5$. Значение индекса вычислялось по следующей формуле [4]:

$$\text{ФПК}_{\text{ИНДЕКС}} = \text{ФПК}_A + \text{ФПК}_L$$

$$\text{ФПК}_A = [A] / \text{МПК}_A$$

$$\text{ФПК}_L = [L] / \text{МПК}_L$$

[A] - минимальная подавляющая концентрация антибиотика в комбинации с лизоцимом;

МПК_A - минимальная подавляющая концентрация антибиотика;

[L] - минимальная подавляющая концентрация лизоцима в комбинации с антибиотиком;

МПК_L - минимальная подавляющая концентрация лизоцима.

На первой этапе эксперимента было проведено исследование чувствительности культур микроорганизмов к отдельным антибиотикам (табл. 3).

Как видно из таблицы, из макролидных антибиотиков наиболее эффективным оказался азитрокс, который действовал в концентрациях 0,0156 мкг/мл - на грамположительные микроорганизмы и 0,0625 мкг/мл - на грамотрицательные микроорганизмы.

Таблица 3. МПК антибиотиков и лизоцима моллюсков в отношении использованных культур, мкг/мл

Название культуры	МПК азитрокса	МПК макропена	МПК лизоцима моллюсков <i>U. pictorum</i>	МПК лизоцима моллюсков <i>A. cygnea</i>
<i>Micrococcus lysodeikticus</i>	0,0156	0,0195	0,112	0,072
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	0,0156	0,0195	-	0,072
<i>Escherichia coli</i>	0,0625	-	-	0,143
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0,0625	-	-	0,143

МПК лизоцима моллюсков *A. cygnea* составили 0,072 мкг/мл для грамположительных микроорганизмов и 0,143 мкг/мл для грамотрицательных. Макропен и лизоцим моллюсков *U. pictorum* не были активны в отношении культур *E. coli* и *K. pneumoniae*.

На втором этапе результаты проведенных опытов показали, что

антибиотики и лизоцим при комбинированном применении обладают синергидным эффектом в отношении некоторых исследуемых культур микроорганизмов (табл. 4).

При комбинированном действии азитрокса с препаратами лизоцима моллюсков, слабый синергидный эффект проявился в сочетании данного антибиотика с лизоцимом моллюсков *U. pictorum* при действии на *S. epidermidis*.

В отношении *K. pneumoniae* и *E. coli* синергидный эффект проявился при комбинации макропена и лизоцима моллюсков *U. pictorum*, в то время как отдельно препараты были неактивны. Это же сочетание препаратов обладает синергидным эффектом при действии на грамположительные микроорганизмы.

Таблица 4. Синергизм действия макролидов в сочетании с лизоцимами моллюсков

Культуры микроорганизмов	ФПК _{индекс} (азитрокс+ лизоцим <i>U. pictorum</i>)	ФПК _{индекс} (азитрокс+ лизоцим <i>A. cygnea</i>)	ФПК _{индекс} (макропен+лизоцим <i>U. pictorum</i>)	ФПК _{индекс} (макропен+лизоцим <i>A. cygnea</i>)
<i>M. lysodeikticus</i>	0,56	0,75	0,5	0,71
<i>S. epidermidis</i>	0,5	1,2	0,46	0,71
<i>E. coli</i>	1	0,99	0,1	1,6
<i>K. pneumoniae</i>	1	0,9	0,1	0,8

Для объяснения причины синергидного действия макролидов и лизоцимов можно выдвинуть предположение. Известно, что лизоцим представляем собой фермент, катализирующий гидролиз пептидогликана клеточной стенки бактерий, вследствие чего происходит ее деградация, что в свою очередь может облегчить доступ к мишеням действия макролидных антибиотиков.

Таким образом, исходя из проведенных исследований можно сделать следующие выводы:

1. Среди макролидных антибиотиков в отношении исследуемых клинических штаммов микроорганизмов наиболее активным является азитрокс.

2. Лизоцим моллюсков *Anodonta cygnea* обладает более сильным антибактериальным действием, чем лизоцим моллюсков *Unio pictorum*, особенно в отношении грамотрицательных микроорганизмов (*K. pneumoniae* и *E. coli*).

3. Макропен и лизоцим моллюсков *Unio pictorum* при их комбинированном применении обнаруживают синергизм действия, усиливая антибактериальную активность друг друга.

Литература

1. Дудник Ю.В. Перспективы создания препаратов, активных в отношении устойчивых форм бактерий /Ю.В. Дудник //Антибиотики и химиотерапия. - 1999, №12. - С. 15-18.
2. Егоров Н.С. Основы учения об антибиотиках /Н.С. Егоров. - М.: Наука, 2004. - 528 с.
3. Кокряков В.Н. Биология антибиотиков животного происхождения /В.Н. Кокряков. - СПб.: Наука, 1999. - 162 с.
4. Дзержинская И. С. Методы выделения, исследования и определения антибиотической активности микроорганизмов, обладающих антагонистическими свойствами /И.С. Дзержинская. - Астрахань.: АГТУ, 2005. - 76 с.
5. Ньюмейер П. Натуральные антибиотики. Защита организма без побочных эффектов /П. Ньюмейер. - М.: Мир книги, 2008. - 160 с.
6. 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.
7. Страчунский Л.С., Козлов С.Н. Современная антимикробная химиотерапия. Руководство для врачей. /Л.С. Страчунский, С.Н. Козлов. - М.: Боргес, 2002. — 432 с.

**ЭНЕРГОСБЕРЕГАЮЩИЕ БИОТЕХНОЛОГИИ ДЛЯ ЗАЩИТЫ
ВОДНЫХ РЕСУРСОВ ОТ ЗАГРЯЗНЕНИЯ НЕФТЬЮ И
НЕФТЕПРОДУКТАМИ/b>**

Морозов Н.В.

Казанский (Приволжский) федеральный университет

morozov_nv@mail.ru

Одним из современных методов, используемых при разработке чистых биотехнологий защиты водных ресурсов от загрязнения нефтью и ее персистентными соединениями биоремедиация - это наиболее щадящий метод сокращения биоразнообразий и обеспечения устойчивости очищающих биоценозов. Основными биологическими агентами, осуществляющие процессы биоразрушения и восстановления нарушенных нефтяными углеводородсодержащими соединениями водных экосистем, является использование деятельности разнообразных видов гетеротрофных микроорганизмов, включая в симбиозе с макрофитами.

В условиях открытых водоисточников (малых и больших рек, озер, водохранилищ), стимуляция совокупно «работающего» комплекса организмов: бактерий, микроводорослей, высших водных растений и др. обеспечивает восстановление естественных качеств природных вод от разнообразных органических веществ, включая нефть и нефтепродукты.

Многолетние лабораторные, натурные исследования, а также производственные испытания показали, что в деструкции нефтяных загрязнений в воде рек и в технологических стоках определяющим выступают, взаимосвязанный в единый комплекс, процессы поглощения и метаболизма веществ, осуществляемых микроорганизмами и высшими водными растениями. Первые выступают как деструкторы и минерализаторы, а вторые индукторы, элиминаторы и потребители мало- или полностью окисленных соединений.

Создав оптимальные условия развития микроорганизмов и высшей водной растительности с совокупны биоценозом, построенных для этой цели очистных сооружениях (биоплато, окислительные каналы, многокаскадные биологические пруды, буферные, низконапорные биосистемные или водохранилища и др.), можно управлять естественным ходом самоочистения нефтезагрязненных вод до требуемых качеств. Причем подобные природные комплексы с

заселением в них высшей водной растительности малозатратны, дешевле в эксплуатации, а главное не энергоемки.

Примером использования энергосберегающей биотехнологии очистки природных вод от нефти и попутных высокоминерализованных пластовых вод являются одно-, двух-, трех- ступенчатые биологические пруды, а также биосистемы включающие заросший водными растениями ручей, длиной 1,0-2 км (штопор, I - ступень), два каскада биопрудов с макрофитами (II, III- ступень очистки), построенные и действующие на рр. Кичуй, Бигашка, Мелля, Кутаминка, Мурат и др. на территории ОАО "Татнефть". При себестоимости сбора улавливания пленочной нефти и осветления речного стока в нефтеловушках (созданных в прошлые годы на этих реках) 7,02 руб. за м³, в биосистемах с макрофитами, 99,9 %-ое освобождение воды от нефтяного загрязнения и на 83 % от минеральных солей, не превышает 5,9 руб. за м³. При этом эффективность работы последних по очистке вод от нефти и сопутствующих загрязнений на несколько порядков выше.

Современный уровень развития нефтедобывающей промышленности, рост рынка услуг, связанных с увеличением предприятий малой канализации (автохозяйства, машинотракторные, автозаправочные станции, автомойки и прочее) обуславливает разработки и применение методов и технологий, обеспечивающих полноту очистки и обезвреживания нефтезагрязненных производственных сточных вод.

Автором работы создана установка - струйно-отстойный аппарат (СОА), а на его основе биотехнологическая схема очистки и глубокой доочистки нефте- и углеводородсодержащих стоков до норм оборотного водоснабжения.

Способ очистки основан на синергическом эффекте - концентрирование загрязняющих веществ - углеводородов нефти сопутствующими веществами многообразной системе с заранее сформированными свойствами фаз. Увеличение поверхности на границе разделов фаз, сточная вода с нефтепродуктами, заданное число углеводородокисляющих микроорганизмов с биостимулирующими их деятельность веществами, достигается изменением дисперсности состава газовой фазы в широком диапазоне с использованием отселектированного консорциума нефтеокисляющих микроорганизмов.

Окисление нефтепродуктов в технологическом производственном стоке сопровождается значительным возрастанием количества углеводородокисляющих микроорганизмов (3-5 порядка) с последующей стабилизацией их по мере снижения содержания нефтепродуктов в воде. Динамика изменения таких общепринятых для экологического контроля

показателей степени загрязненности органическим веществом воды как БПК_{полное} и ХПК, свидетельствует о том, что в процессе биоремедиации происходили постепенное очищение загрязненной углеводородами сточной жидкости, интенсивность которого связана с деятельностью микроорганизмов консорциума. Анализ содержания азота, нитратов, нитритов, фосфора на выходе с СОА показал, что ни в одном из вариантов испытаний не происходило накопление вышеуказанных компонентов. Содержание азота и фосфора после биологической очистки уменьшается в среднем на 60-70%, что свидетельствует о стабильной очистке воды.

Она достигается при непрерывном режиме, длительностью биоокисления 1,2-1,4 часа при скорости потока в СОА 0,015-0,03 м/сек. При увеличении нагрузки по ХПК от 900 до 1600 мг/л (нефтепродукты свыше 200 мг/л) время пребывания сточной жидкости в СОА удлиняется до 2 часов.

Предложенный метод обеспечивает степень очистки сточных вод от нефтепродуктов с корректировкой биогенных элементов и индуцирующих веществ в сточной жидкости до норм оборотного водоснабжения.

**МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЙ СИНТЕЗ ДЕЙТЕРИРОВАННЫХ
АМИНОКИСЛОТ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ШТАММОВ
МЕТИЛОТРОФНЫХ БАКТЕРИЙ-ПРОДУЦЕНТОВ АМИНОКИСЛОТ**

Мосин О.В., Игнатов И.И.

Московский государственный университет прикладной биотехнологии,
Научно-исследовательский центр медицинской биофизики (Болгария)

mosin-oleg@yandex.ru

Синтез аминокислот, меченных стабильным изотопом водорода (^2H), является ключевым направлением в различных биомедицинских исследованиях с использованием [^2H]аминокислот, нашедший практическое применение в медицине, клинической диагностике и исследованиях метаболизма [1].

[^2H] аминокислоты могут быть синтезированы с использованием химических, ферментативных и микробиологических методов. Химический синтез часто многостадийен, требует больших расходов дорогостоящих реагентов и ^2H -меченых субстратов и приводят к рацемической смеси D- и L-форм аминокислот, для разделения которых требуются специальные методы [2]. Более перспективные технологии синтеза природных [^2H] аминокислот связаны с микробиологическим синтезом.

Перспективными объектами для микробиологического синтеза [^2H] аминокислот являются метилотрофные бактерии, способные окислять метанол и другие одноуглеродные соединения, содержащие метильную CH_3 -группу до формальдегида по рибулозо-5-монофосфатному (РМФ) и сериновому путям ассимиляции углеродных субстратов [3]. Интерес к использованию метилотрофных бактерий в биотехнологии возрастает благодаря разработке новых перспективных технологий химического синтеза метанола. Благодаря 50%-ному уровню биоконверсии метанола (при эффективности конверсии 15,5-17,3 г. сух. биомассы на 1 г потребленного субстрата) метилотрофные бактерии являются дешевыми источниками дейтерированного белка и незаменимых [^2H]аминокислот, а технологические затраты на их получение определяются, в основном, стоимостью [^2H]метанола. Традиционным подходом при этом является выращивание штаммов-продуцентов [^2H] аминокислот на средах, содержащих [^2H]метанол и тяжелую воду ($^2\text{H}_2\text{O}$) с последующим фракционированием культуральной жидкости с целью выделения [2

Н]аминокислот.

Исследования проводились с представителями двух различных таксономических групп метилотрофных бактерий: L-лейцинпродуцирующим штаммом грамотрицательных облигатных метилотрофных бактерий *M. flagellatum*, ассимилирующим метанол по 2-кето-3-дезоксиглюкозальдозиминному варианту РМФ цикла фиксации углерода [4] и L-фенилаланинпродуцирующим штаммом грамположительных факультативных метилотрофных бактерий *B. methylicum*, ассимилирующим метанол по РМФ-циклу фиксации углерода [5]. Для выращивания и адаптации штаммов метилотрофных бактерий использовали минимальные минеральные среды М9, содержащие в качестве источников дейтерия $^2\text{H}_2\text{O}$ и [^2H]метанол (г/л): KH_2PO_4 - 3; Na_2HPO_4 - 6; NaCl - 0,5; NH_4Cl - 1; L-лейцин - 0,01). В зависимости от физиологической потребности штаммов в углеродном субстрате в ростовых средах использовали 0,5-2%-ный метанол/[^2H]метанол и их смеси. Как показали эксперименты, замена протонированного метанола его дейтерированным аналогом при одинаковых концентрациях $^2\text{H}_2\text{O}$ в ростовых средах приводила к небольшим уменьшениям ростовых характеристик штамма. Поэтому в дальнейших опытах использовали среды с $^2\text{H}_2\text{O}$ и [^2H]метанолом. Для компенсации ауксотрофности по лейцину и изолейцину эти аминокислоты добавляли в ростовые среды в протонированном виде в концентрациях 10 мг/л. В обычных условиях выращивания на протонированных средах уровни накопления фенилаланина и лейцина в культуральной жидкости штаммов-продуцентов составили 0,8 г/л и 1,0 г/л соответственно.

Адаптацию исходных штаммов к дейтерию проводили рассевом до отдельных колоний и последующей селекцией на твердых (2 %-ный агар) минимальных средах М9 с добавками 0,5-2%-ного метанола или [^2H]метанола (в зависимости от физиологической потребности метилотрофных штаммов в углероде) и ступенчато увеличивающимся градиентом концентрации $^2\text{H}_2\text{O}$ (от 0; 24,5; 49,0; 73,5 до 98 об.% $^2\text{H}_2\text{O}$). Селекцию отдельных колоний проводили по признаку устойчивости к $^2\text{H}_2\text{O}$ (степень выживаемости клеток на максимально дейтерированной среде составила 40%).

Штамм *M. flagellatum* обнаружил повышенную чувствительность к $^2\text{H}_2\text{O}$: ингибирование бактериального роста наблюдалось при 74,5% $^2\text{H}_2\text{O}$ в среде, в то время как [^2H]метанол не оказывал существенного влияния на скорость роста бактерий. Штамм *B. methylicum* адаптирован к росту и биосинтезу L-фенилаланина на максимально дейтерированной среде с 98% $^2\text{H}_2\text{O}$. Полученные данные свидетельствуют о том, что адаптация к $^2\text{H}_2\text{O}$

H_2O определяется как таксономической специфичностью метилотрофных бактерий, так и особенностями ассимиляции углеродных субстратов по облигатному или факультативному типу.

Общей особенностью биосинтеза L-фенилаланина в $H_2O/{}^2H_2O$ -средах было увеличение его продукции на ранней фазе экспоненциального роста *B. methylicum*, когда выход микробной биомассы был незначителен (рисунок, а-в). Во всех опытах наблюдалось ингибирование биосинтеза L-фенилаланина на поздней фазе экспоненциального роста и снижение его концентрации в ростовых средах. Согласно данным по микроскопическому исследованию растущей популяции микроорганизмов, характер динамики секреции L-фенилаланина не коррелировал с качественными изменениями ростовых характеристик на различных стадиях роста, что являлось подтверждением морфологической однородности микробной популяции. Скорее всего, накопленный в процессе роста L-фенилаланин ингибировал ферменты собственного пути биосинтеза. Кроме того, при выращивании штамма продуцента без рН-статирования может происходить обратное превращение секретируемого L-фенилаланина в интермедиаторные соединения его биосинтеза, что отмечено в других работах [6]. Исследование культуральных жидкостей методом ТСХ показали, что кроме основных аминокислот - фенилаланина и лейцина штаммы *B. methylicum* и *M. flagellatum* синтезируют и накапливают в культуральной жидкости (на уровне 5-6 ммоль/л) метаболически связанные аминокислоты (аланин, валин, лейцин/изолейцин), присутствие которых подтверждалось масс-спектрометрическим анализом электронным ударом метиловых эфиров N-дансилхлоридных (Dns) производных [2H]аминокислот, которые получали прямой обработкой образцов лиофилизированной культуральной жидкости дансилхлоридом и диазометаном.

[2H]аминокислоты, полученные на средах с различными концентрациями 2H_2O , представляли собой смеси изотопозамещенных форм молекул с различным количеством атомов водорода, замещенных на дейтерий. Поэтому пики молекулярных ионов метиловых эфиров N-Dns-[2H]аминокислот полиморфно расщеплялись на отдельные кластеры с примесью молекул со статистическим набором массовых чисел m/z с различным вкладом в суммарный уровень дейтерированности молекулы [7]. Его расчет проводился по усредненной величине наиболее интенсивного пика молекулярного иона (M^+) (пик с наибольшим вкладом в уровень дейтерированности), зарегистрированным масс-спектрометром.

Во всех опытах наблюдалось пропорциональное возрастание уровней изотопного включения дейтерия в молекулы аминокислот при ступенчатом увеличении концентраций тяжелой воды в ростовых средах (таблица). Как предполагалось, уровни включения дейтерия в молекулы метаболически близких [^2H]аминокислот семейства пирувата – аланина, валина и лейцина при одинаковых концентрациях $^2\text{H}_2\text{O}$ в ростовых средах коррелируют между собой (таблица).

Таблица 1. Уровни включения дейтерия (ат.% ^2H) в молекулы секретируемых [^2H]аминокислот *B. methylicum** (данные получены для метиловых эфиров N-Dns-аминокислот).

[^2H]аминокислота	Содержание $^2\text{H}_2\text{O}$ в среде, об. %**			
	24,5	49,0	73,5	98,0
Аланин	24,0±0,70%	50,0±0,89%	55,0±0,83%	55,0±1,13%
Валин	20,0±0,72%	50,0±0,88%	50,0±0,72%	62,5±1,40%
Лейцин/изолейцин	20,0±0,90%	50,0±1,38%	50,0±1,37%	50,0±1,25%
Фенилаланин	17,0±1,13%	27,5±0,88%	50,0±1,12%	75,0±1,40%

* При подсчёте уровня дейтерированности протоны (дейтероны) при COOH - и NH_2 -группах аминокислот не учитывались из-за легкости изотопного (^1H - ^2H) обмена.

** Данные по включению дейтерия приведены при выращивании *B. methylicum* на водных средах, содержащих 2%-ный [^2H]метанол и указанное количество (%) $^2\text{H}_2\text{O}$.

Контроль за включением дейтерия в молекулы аминокислот за счет конверсии $\text{C}^2\text{H}_3\text{O}^2\text{H}$ при росте бактерий в среде, содержащей обычную воду и 2%-ный [^2H]метанол показал незначительное количество дейтерия, поступающее в молекулы аминокислот вместе с углеродом [^2H]метанола. Уровни дейтерированности аминокислот были вычислены по величине пика M^+ за вычетом вклада пика примеси природного изотопа (не более 5%). Полученный результат объясняется разбавлением дейтериевой метки за счёт протекания биохимических процессов, связанных с распадом [^2H]метанола при его ассимиляции клеткой, так и реакциями изотопного (^1H - ^2H) обмена и диссоциации в $^2\text{H}_2\text{O}$. Так, из четырех атомов дейтерия в молекуле [^2H]метанола, лишь один атом дейтерия при гидроксильной O^2H -группе самый подвижный и поэтому легко диссоциирует в водной среде с образованием $\text{C}^2\text{H}_3\text{OH}$. Три оставшихся атома дейтерия в молекуле $\text{C}^2\text{H}_3\text{O}^2\text{H}$ входят в цикл ферментативного окисления метанола, который приводит к потере дейтериевой метки за счёт образования соединений (формальдегид)

более окисленных, чем метанол. В частности, такое включение дейтерия в молекулу фенилаланина подтверждает классическую схему ферментативного окисления метанола до формальдегида в клетках метилотрофов, который после этого ассимилируется у данного штамма метилотрофных бактерий РМФ-путем фиксации углерода.

В условиях ауксотрофности по лейцину, который добавляли в ростовые среды в протонированном виде, уровни включения дейтерия в молекулы [^2H]аминокислот семейства пирувата, к которым относится аланин, валин и лейцин ниже, чем для фенилаланина (таблица). Отмеченная особенность отчётливее всего проявляется на среде с максимальной концентрацией $^2\text{H}_2\text{O}$. При выращивании бактерий *V. methylicum* в среде с 2%-ным [^2H]метанолом и 98%-ной $^2\text{H}_2\text{O}$ уровень изотопного включения в молекулу [^2H]фенилаланина составил 6 (75 ат.% ^2H), [^2H]аланина - 3 (55 ат.% ^2H), [^2H]валина - 5 (62,5 ат.% ^2H), [^2H]лейцина/изолейцина - 5 (50 ат.% ^2H). Таким образом, в отличие от фенилаланина, уровни включения дейтерия в сопутствующие фенилаланину аминокислоты - аланин, валин и лейцин/изолейцин сохраняют стабильное постоянство в широком интервале концентраций $^2\text{H}_2\text{O}$: от 49 % до 98% $^2\text{H}_2\text{O}$ (таблица). Кроме того, в масс-спектре ЭУ N-Dns-[^2H]фенилаланина зафиксирован пик обогащённого дейтерием бензильного $\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2$ -фрагмента молекулы [^2H]фенилаланина с m/z 97 (вместо m/z с 91 в контроле), что указывает на то, что местами локализации атомов дейтерия в молекуле [^2H]фенилаланина являются положения С1-С6 ароматических протонов в бензильном $\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2$ -фрагменте.

Суммируя полученные данные по уровням включения дейтерия в молекулы [^2H]аминокислот, можно сделать вывод о сохранении минорных путей метаболизма, связанных с биосинтезом лейцина и метаболически родственных с ним аминокислот семейства пирувата - аланина и валина, уровни дейтерированности которых в пределах одинаковых концентраций $^2\text{H}_2\text{O}$ находятся в корреляции (фенилаланин относится к семейству ароматических аминокислот, синтезируемых из шикимовой кислоты). Другим объяснением наблюдаемого эффекта, если принять во внимание происхождение лейцина и изолейцина по различным путям биосинтеза (изолейцин принадлежит к семейству аспартата), может быть ассимиляция клеткой немеченого лейцина из ростовой среды на фоне биосинтеза [^2H]изолейцина *de novo*. Для достижения более высокого уровня дейтерированности аминокислот необходимо контролировать изотопный состав ростовой среды и исключить все источники дополнительных протонов. Преимуществами

адаптированных штаммов метилотрофных бактерий для микробиологического синтеза [^2H]аминокислот являются улучшенные ростовые и биосинтетические характеристики на максимально дейтерированных средах.

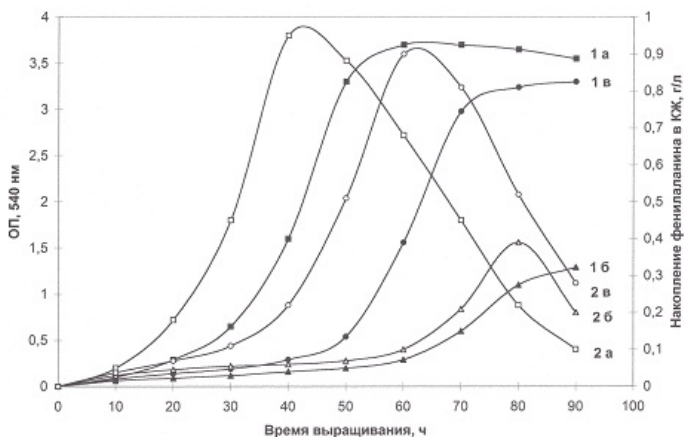


Рис. 1. Динамики роста *B. methylicum* (1 а, 1 б, 1 в) и накопления L-фенилаланина в КЖ (2 а, 2 б, 2 в) на средах М9 с различным изотопным составом: а - исходный штамм на протоннированной среде М9; в - адаптированный штамм на полностью дейтерированной среде; б - неадаптированный штамм на полностью дейтерированной среде

Литература

1. Мосин О.В., Складнев Д.А., Швец В.И. Методы получения аминокислот и белков, меченных стабильными изотопами ^2H , ^{13}C и ^{15}N // Биотехнология. 1996. № 36. С. 16-32.
2. Crespi H.L. Biosynthesis and uses of per-deuterated proteins. Synthesis and Applications of Isotopically labeled Compounds // In: Proceedings of the Second International Symposium, NY: Elsevier, 1986. P. 111-112.
3. Складнев Д.А., Мосин О.В., Егорова Т.А., Еремин С.В., Швец В.И. Метилотрофные бактерии - источники изотопномеченых ^2H - и ^{13}C -аминокислот // Биотехнология. 1996. № 5. С. 25-34.
4. Karnaukhova E.N., Mosin O.V., Reshetova O.S. Biosynthetic production of stable isotope labeled amino acids using methylotroph *Methylobacillus flagellatum* // Amino Acids. 1993. V. 5(1). P.125.
5. Mosin O.V., Skladnev D.A., Shvets V.I. Biosynthesis of ^2H -labeled phenylalanine by a new methylotrophic mutant *Brevibacterium*

- methylicum // *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*. 1998. V. 62(2). P. 225-229.
6. Boer L de, Harder W, Dijkhuizen L. Phenylalanine and Tyrosine Metabolism in the Facultative Methylophile *Nocardia* sp. 239 // *Arch Microbiol.* 1998. V. 149. p. 459-465.
7. Мосин О.В., Складнев Д.А., Егорова Т.А., Швец В.И. Масс-спектрометрическая оценка уровня включения 2Н и 13С в молекулы аминокислот бактериальных объектов // *Биоорг. Хим.* 1996. Т. 22(10-11), С. 856-869.

**КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ФЛАВОНОИДОВ В
НАДЗЕМНОЙ ЧАСТИ СЕРПУХИ ВЕНЦЕНОСНОЙ - SERRATULA
CORONATA L. (ASTERACEAE)**

Мягчилов А.В.¹, Соколова Л.И.¹, Горовой П.Г.²

¹Дальневосточный федеральный университет,

²Учреждение Российской академии наук Тихоокеанский институт
биоорганической химии ДВО РАН

DFDFDF47@yandex.ru

Ранее [1,2] мы сообщали о составе флавоноидов, выделенных из надземной части растения серпухи венценосной - *Serratula coronata*, произрастающей на территории Приморского края.

Массовую долю флавоноидов в спиртовых экстрактах надземной части растения определяли методом дифференциальной спектрофотометрии [3]. Использование в качестве раствора сравнения испытуемого экстракта без комплексообразователя позволяет исключить влияние окрашенных и других сопутствующих веществ.

Разделение и анализ флавоноидов в экстрактах проводили методом высокоэффективной жидкостной хроматографии в режиме УФ - детектирования при $\lambda=360$ нм (колонка: C_{18} , элюент - $CH_3CN : H_2O : CH_3COOH$ (20:80:1об./об.), идентификацию по - временам удерживания).

Большая часть флавоноидов в надземной части растения сосредоточена в листьях и варьирует в зависимости от места районирования и года сбора (14,87 - 18,50 %), значительно меньше в соцветиях (4,18 - 5,88 %) и минимальное - в стеблях (2,61 - 3,44 %) в пересчете на рутин (см. таблицу).

Идентифицированные флавоноиды - относятся к агликонам, около 30 % их содержится в соцветиях растения.

Преобладающий флавоноид в надземной части растения 3 - метилкверцетин, массовая доля которого в соцветиях 10,4 - 11,9 %, в листьях 2,5 - 5,1 % и стеблях 1,2 - 2,9 % (относительно суммы флавоноидов). По - видимому, содержание флавоноидов зависит с влиянием природных факторов: места произрастания, температуры, влажности и др.

Таблица 1. Компонентный состав и массовая доля флавоноидов (%) в надземной части серпухи венценосной – *Serratula coronata* L.

Флавоноиды	Массовая доля флавоноидов в серпухи венценосной, % в пересчете от общей массовой доли флавоноидов							
	Соцветия			Листья			Стебли	
	Хасанский район	Октябрьский район	Шкотковский район	Хасанский район	Октябрьский район	Шкотковский район	Хасанский район	Шкотковский район
	Сентябрь 2009	Август 2010	Сентябрь 2010	Сентябрь 2009	Август 2010	Сентябрь 2010	Сентябрь 2009	Сентябрь 2010
Кверцетин	0,70	1,16	1,02	-	0,58	-	3,97	1,21
3 - метилкверцетин	8,60	10,44	11,92	5,14	5,17	2,51	2,99	1,21
Лютеолин	2,09	3,67	2,80	1,50	2,75	1,95	-	0,97
Апигенин	8,84	3,91	2,59	0,93	0,33	-	0,97	0,48
Изокемпферид	3,49	3,39	1,45	0,21	0,25	-	0,85	-
Массовая доля флавоноидов	4,84±0,32	4,18±0,51	5,88±0,21	18,50±2,97	15,21±2,23	14,87±1,85	3,44±0,16	2,39±0,09

Литература

1. Мягчилов А.В., Гончаренко О.Э., Соколова Л.И., Горовой П.Г. Выделение и идентификация флавоноидов из соцветий серпухи венценосной – *Serratula coronata* L. (ASTERACEAE) // Международная молодежная научно - практическая конференция «Альфред Нобель и достижения мировой науки и цивилизации за 110 лет»: сборник материалов. Казань, 2011. С. 123 - 124.
2. Мягчилов А.В., Гончаренко О.Э., Соколова Л.И., Горовой П.Г., Дмитренко П.С. Выделение и идентификация флавоноидов из соцветий серпухи венценосной – *Serratula coronata* L. (ASTERACEAE) // Известия ВУЗов. Прикладная химия и биотехнология. 2011. №1. С. 51-54.
3. Ломбоева С.С, Танхаева Л.М., Оленников Д.Н. Методика количественного определения суммарного содержания флавоноидов в надземной части ортилии однобокой (ORTHILIA SECUNDA (L.) HOUSE) // Химия растительного сырья. 2008. №.2. С.65-68.

АЛЬВЕОЛЯРНЫЕ КЛЕТКИ И ИХ СПЕЦИФИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ

Мухаметшина Р.Т., Баррето Г., Багаева Т.В.

Казанский (Приволжский) федеральный университет,
Институт Макса Планка

alexei-ksu@mail.ru

В настоящее время исследования многих стран связаны с изучением различных источников получения стволовых клеток. Роль стволовых клеток многообразна. Они являются основой для формирования различных тканей и органов, способны к активному росту и размножению. В работах ряда авторов было отмечено, что базальные клетки, Clagа cells и альвеолярные клетки типа II могут быть первичными стволовыми клетками эпителия легких (1). Однако легкие представляют собой сложную структуру и прежде всего, это связано со значительным числом различных типов клеток. Например, в проводящих и дыхательных слоях легких найдены одиннадцать различных эпителиальных клеточных типов (2). Для характеристики различных типов клеток необходимы специфические молекулярные маркеры, которые позволят контролировать и идентифицировать происходящие процессы в структуре легких, выяснить механизмы взаимоотношений между различными клеточными типами, идентифицировать наличие стволовых клеток. В настоящее время определены уникальные молекулярные маркеры для некоторых клеточных типов легких, однако для большинства клеток специфические маркеры еще не найдены.

Целью настоящей работы являлся поиск и определение маркеров клеточной поверхности, специфичных для клеточных популяций альвеолярного типа II.

В работе использовали мышей С57 В16 линии. Выделение первичных клеток легких альвеолярного типа II и их культивирование с последующей экстракцией мембранных белков и протеомным масс-спектрометрическим анализом, проводили по ранее принятому методу [3].

Сравнение мембранных белковых фракций клеток АПІ, эпителиальных клеток МLE-12 и целого легкого взрослых мышей показало, что некоторые мембранные белки, являются специфичными для клеток АПІ. Получив данные после масс-спектрометрического анализа (более 3805 белков), и изучив основные показатели, такие как

молекулярная масса, специфичность, а также оценив белки по критериям, соответствующим белкам, играющим роль в развитие опухолей легких, мы выбрали шесть белков, которые отличались по присутствию в изучаемых клетках. Дальнейшие исследования их экспрессии и присутствия в белковых экстрактах альвеолярных клеток типа II, было показано, что интегрин бета 2 (Itgb2) и бета-6 (Itgb6) являются специфичными. С помощью иммуокрашивания клеток и анализа проточной цитометрии клеточных суспензий взрослых легких, было установлено, что протеины Itgb2 и Itgb6 присутствуют в субпопуляциях SFTPC-позитивных клетках. Кроме того, в субпопуляции АТII взрослых легких присутствуют, по крайней мере, два различных типа клеток. Тщательный анализ фракции мембранных белков клеток АТII типа показал, что они обогащены белками, которые участвуют в Wnt сигнализации, т.е. в одном из сигнальных путей клетки животных, регулирующих эмбриогенез, дифференцировку тканей и развитие раковых опухолей.

Таблица 1. Характеристика белков, выделенных из альвеолярных клеток

Тип протеина	SWISS-PROT accession номер	Размер	Функции
Cyclooxygenase-2	Q05769 мышка	70 kDa	Медиатор воспаления и / или простаноид в роли сигнализации, зависит от пластичности
Integrin β6	Q9Z0T9 мышка	85 kDa	Интегрин альфа В- бета 6 - это рецептор для фибронектина и цитотактина
Integrin β2 /CD 18	P11835 мышка	84 kDa	Вызывает переселение нейтрофилов во время легкого ранения в результате активации РТК2В/РΥК2-mediated
Coagulation factor III/Tissue Factor	P20352 мышка	32 kDa	Играет важную роль при нормальном гемостазе, инициируя процессы в клеточной поверхности, включая сборку и распространение каскада протеаз, вызывающих коагуляцию.

Clusterin	Q06890 мышка	51 kDa	При экспрессии защищает клетки от апоптоза и цитолиза; играет важную роль в регуляции клеточной пролиферации
Ephrin type A receptor 2	Q03145 мышка	108 kDa	Регулирует Интегрино-опосредованную адгезию

Таким образом, полученные данные подтверждают гипотезу о том, что Itgb2 и Itgb6 являются специфичными маркерами клеточной поверхности субпопуляции клеток Альвеолярного Типа II.

Литература

1. Kim C.F.B. , Jackson E.L., Wolfender A.E., Lawrence S., Babar I., Vogel S., Growley D., Bronson R.T., Jacks T. Identification of Bronchioalveolar Stem Cells in Normal Lung and Lung Cancer // Cell.-2005.-V.121.-P.832-835.
2. Xiaoming L., Engelhardt J.F. The Glandular Stem/Progenitor Cell Niche in Airway Development and Repair // Proc. Am. Thorac. Soc.-2008.-V.5.-N6.-P.682-688.
3. Wiśniewski J.R., Zougman A., Nagerian N., Mann M. Universal sample preparation method for proteome analysis // Nature Methods.-2009.-V.6.-N5.-359-362p.

МИКРОМИЦЕТЫ БОБОВЫХ РАСТЕНИЙ АГРОЦЕНОЗОВ И ЕСТЕСТВЕННЫХ ТЕРРИТОРИЙ БЕЛГОРОДСКОЙ ОБЛАСТИ

Нгуен Т. Х., Куркина Ю.Н., Нго Т. К.

ФГАОУ ВПО НИУ «БелГУ», Россия,
Quang ngai Environmental Protection Agency, Вьетнам

lanhuong_9586@mail.ru

Как показывают результаты ФАО, потери урожая от фитопатогенов достигают 30%. Каждый год потенциальные потери урожая сельскохозяйственной продукции от вредных организмов в России составляют около 100 млн. т условных зерновых единиц, т.е. сотни миллиардов рублей, а для защиты растений в стране ежегодно применяются пестициды на площади более 60 млн. га (Адиньяев, 2011; Долженко, 2011; Кузнецова, 2011).

Целью исследования было изучение микромицетов бобовых агроценозов и естественных территорий проведения экологического мониторинга некоторых районов Белгородской области.

Для сбора и обработки растительного материала использовали типовые методы фитопатологической экспертизы (Наумова, 1960). Для выделения гриба в чистую культуру использовали агаризированные питательные среды (Чапека, картофельно-морковный или питательный агар). Получение изолятов проводили кусочками мицелия, а чистые культуры получали путем отсева одиночных конидий под бинокуляром. У изолятов, выращенных в стандартных условиях, анализировали культурные и микроморфологические признаки.

Список микозов и фитопатогенных грибов, составленный по результатам исследования, представлен в основном для бобовых разных жизненных форм культурных и дикорастущих видов: бобы кормовые, фасоль обыкновенная, люпин многолетний, клевер белый, люцерна серповидная, робиния лжеакация, произрастающих или выращиваемых в Белгородской области (табл.).

Таблица 1. Список видов микромицетов, преобладающих в районах с высокой антропогенной нагрузкой

Отдел <i>Zygomycota</i>	
Класс <i>Zygomycetes</i>	
Порядок <i>Mucorales</i> Семейство <i>Mucoraceae</i>	<i>Mucor hiemalis</i> Wehmer <i>M. plumbeus</i> Bonord. <i>M. racemosus</i> Fresen. <i>Rhizopus stolonifer</i> (Ehrenb.: Fr.) Lind
Отдел <i>Ascomycota</i>	
Класс <i>Pyrenomycetes</i>	
Порядок <i>Sordariales</i> Семейство <i>Chaetomiaceae</i>	<i>Chaetomium elatum</i> Kunze: Fr. <i>Ch. globosum</i> Kunze: Fr.
Анаморфные грибы	
Класс <i>Hyphomycetes</i>	
Семейство <i>Moniliaceae</i>	<i>Acremonium butyri</i> (J.F.H. Beyma) W. Gams <i>Aspergillus candidus</i> Link : Fr. <i>A. flavus</i> Link <i>A. fumigatus</i> Fresen <i>A. niger</i> Tiegh. <i>A. sydowii</i> (Bainier et Sartory) Thom et Church <i>A. terreus</i> Thom <i>A. ustus</i> (Bainier) Thom et Church <i>A. versicolor</i> (Vuill.) Tirab. <i>Fusarium solani</i> (Mart.) Sacc. <i>Geotrichum candidum</i> Link <i>Penicillium cyclopium</i> Westling <i>P. funiculosum</i> Thom <i>Trichoderma lignorum</i> (Tode) Mart. <i>T. koningii</i> Oudem. <i>T. viride</i> Pers.: Fr.

Семейство <i>Dematiaceae</i>	<i>Alternaria alternata</i> (Fr.) Keissl. <i>Aureobasidium pullulans</i> (de Bary) G. Arnaud <i>Botrytis cinerea</i> Pers.: Fr. <i>Cladosporium brevi-compactum</i> Pidopl. et Deniak <i>C. cladosporioides</i> (Fresen.) G.A. de Vries <i>C. herbarum</i> (Pers.: Fr.) Link <i>C. sphaerospermum</i> Penz. <i>Colletotrichum atramentarium</i> (Berk. et Br.) Taub. <i>Stachybotrys chartarum</i> (Ehrenb.: Fr.) S. Hughes <i>Ulocladium botrytis</i> Preuss <i>U. chartarum</i> (Preuss) Simmons
Класс <i>Coelomycetes</i>	
	<i>Phoma herbarum</i> Westend.

Литература

1. Адиньяев Э.Д. Для защиты кормовых бобов // Защита и карантин растений. - 2011. - №2. - С.24.
2. Долженко В.И. Повысить фитосанитарную безопасность Российской Федерации // Защита и карантин растений. - 2011. - № 2. - С.4.
3. Кузнецова А.П., Ленивцева М.С. Экспресс-методы оценки устойчивости вишни и черешни к коккомикозу // Защита и карантин растений. - 2011. - № 4. - С.28-29.

ЛЕКТИНЫ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ СЕМЕЙСТВА ЗОНТИЧНЫХ (APIACEAE)

Нугманова А.И., Багаева Т.В.

Казанский (Приволжский) федеральный университет

rstmgbtv@gmail.com

В последние годы значительно расширился научный и практический интерес к поиску и использованию природных средств, обладающих противомикробной, противовирусной и иммуностимулирующей активностью. В значительной степени этому соответствуют лектины, которые являются сложными белками, металлосодержащими гликопротеидами [1, 2]. Так установлено, что лектины каланхоэ обладают противовоспалительной и противовирусной активностью [3]. Ведется поиск гликопротеинов, обладающих антифунгальной активностью [4]. Однако данных о лектинах других растительных объектов, в литературе имеется незначительное количество.

Целью настоящей работы явилось определение присутствия лектинов в составе лекарственных растений семейства Зонтичные (Apiaceae).

Объектом исследований служили семена растений семейства Зонтичных (Apiaceae).

Выделение фракции лектинов и определение их активности проводили по методу, опубликованному в ранее проводимых работах [5].

Активность лектинов выражали в величинах, обратных минимальной концентрации белка, при которой проявлялась реакция гемагглютинации.

Выделение лектинов и определение их активности осуществляли из семян четырех видов лекарственных растений семейства Зонтичных (Apiaceae): *Carum carvi L.* - Тмин обыкновенный, *Apium graveolens L.* - Сельдерей пахучий, *Pimpinella anisum L.* - Анис обыкновенный. Для данного семейства зонтичных характерно, в основном, противовоспалительное, антисептическое, спазмолитическое, слабительное действие.

Результаты исследований показали, что гемагглютинирующей активностью обладали как растворимые белки, так и белки клеточной стенки всех исследуемых растений (рис. 1).

Количество белка полученного при экстракции семян раствором

соляной кислоты (растворимые лектины) было близким по показателям для *Carum carvi* (Тмин обыкновенного) и *Apium graveolens* (Сельдерея пахучего) и составило 1,05-1,31мг/мл. Исключением являлся *Pimpinella anisum* (Анис обыкновенный), в семенах которого, содержание растворимого белка было 0,75мг/мл, это повлияло на снижение активности растворимых лектинов у данного растения в 2 раза(таблица 1).

Таблица 1. Содержание лектинов в растениях семейства Зонтичных (Apiaceae)

Экстракты	Растворимые лектины		Лектины клеточной стенки	
	Белок мг/мл	Активность мг/мл-1	Белок мг/мл-1	Активность мг/мл-1
<i>Carum carvi</i> Тмин обыкновенный	1,31±0,2	24,4±2,2	0,41±0,15	9,7±0,51
<i>Apium graveolens</i> Сельдерея пахучий	1,05±0,2	30,4±5,2	0,57±0,15	14,0±2,2
<i>Pimpinella anisum</i> Анис обыкновенный	0,75±0,15	10,7±0,51	0,55±0,15	7,2±0,41

Содержание белка связанного с клеточной стенкой у разных растений находилось в пределах 0,41-0,57мг/мл.

Определение активности растворимых лектинов показала, что она составляет в среднем 10,7-30,4 мг/мл. Наибольшая активность растворимых лектинов наблюдалась у *Apium graveolens* (Сельдерея пахучего) и составляла 30,4 мг/мл.

Активность лектинов клеточной стенки была ниже активности растворимых лектинов в 2-3 раза у всех исследуемых растений и составила в среднем 7,2-14,0 мг/мл. Наибольшая активность лектинов, связанных с клеточной стенкой, наблюдалась также в семенах *Apium graveolens* (Сельдерея пахучего) и составляла 14,0±2,2мг/мл-1. Полученные данные согласуются с ранее проведенными исследованиями, где было показано, что растворимые фракции лектинов амаранта обладают большей гемагглютинирующей активностью по сравнению с лектинами клеточной стенки [6].

Таким образом, все семена семейства Зонтичных (Apiaceae): *Carum carvi* L. - Тмин обыкновенный, *Apium graveolens* L. - Сельдерея пахучий, *Pimpinella anisum* L. - Анис обыкновенный, содержат в своем составе гликопротеины, обладающие гемагглютинирующей активностью. Среди

исследуемых семян растений в качестве источника получения лектинов наибольший интерес представляют семена Сельдерея пахучего.

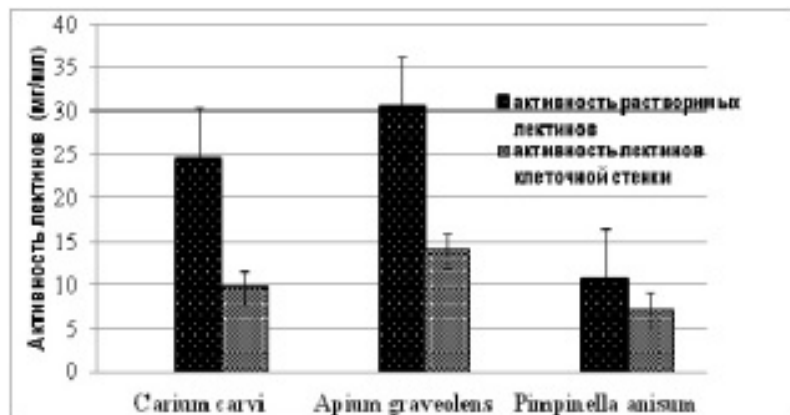


Рис. 1. Каталитический подогреватель для биогазовой установки

Литература

1. Корсун В. Ф., В. М. Лахтин, Е. В. Корсун, А. Мицконас Фитолектины, М., Издательство: «Практическая Медицина», 2007. — 288с.
2. Корсун В. Ф., Корсун Е. В. Использование фитолектинов в терапии больных псориазом. Вестник фитотерапии ФПКМР РУДН, Москва, 2004.
3. Евтушенко А. И. Антивирусные свойства лектинов каланхоэ: Изучение и применение лектинов // Уч. зап. Тартус. ун-та. — 1989. — 2, вып. 870. — С. 189-192
4. Шакирова Ф. М., Безрукова М. В. Современные представления о предполагаемых функциях лектинов растений//Журнал Общей биологии.-2007. -Т.68.-№2.-С.109-125.
5. Луцик М. Д., Панасюк Е. Н., Луцик А. Д. Лектины. - Львов: Виша школа,1981. -156с.
6. Габитов Р.А., Кочнева Т.А., Багаева Т.В. Лектины Амаранта//Актуальные проблемы биохимии и бионанотехнологии //Сб. труд. II Междунар. Интернет-Конференции.-Казань,2011.-Т.2.-С.75-80.

СТАБИЛЬНОСТЬ РАЗВИТИЯ ТРАНСГЕННЫХ РАСТЕНИЙ НА ПРИМЕРЕ ПЯТИ ПОКОЛЕНИЙ ТРАНСФОРМИРОВАННОГО ТАБАКА

Нурминская Ю.В., Максимова Л.А.

Сибирский Институт Физиологии и Биохимии Растений СО РАН г.
Иркутск

julosti@yandex.ru

Проблема стабильности трансгенных растений появилась одновременно с их созданием и внедрением их в сельскохозяйственную практику. Однако во главу угла всегда ставилось, прежде всего, изучение стабильности наследования и экспрессии привнесенного гена.

Накопилось огромное количество первичных данных о свойствах геномодифицированных растений (ГМР), при практически полном отсутствии попыток их систематизации, что, в определенной мере, обусловлено неоднозначностью и противоречивостью полученных результатов.

Физиология трансгенного растения требует дополнительных методологических концепций, рассматривающих ГМР как продукт, кардинально отличный от результатов традиционной селекции растений. Отсутствие четких представлений об особенностях физиологии трансгенного растения может стать причиной неверной интерпретации полученных результатов и, как следствие, ошибочных выводов.

Поэтому необходимо получить знание о стабильности развития ГМР на протяжении нескольких поколений, последующих за трансформацией, что позволяет ответить на вопрос не только насколько долго могут сохраняться приобретенные признаки, но и узнать степень общего воздействия трансформации на организм растения-реципиента.

Стабильность развития является чувствительным показателем общего состояния как отдельного организма, так и целой популяции. «Стабильность развития» - термин, обозначающий меру проявления онтогенетического шума, которую можно определить с помощью оценки флуктуирующей асимметрии билатеральных морфометрических признаков [Захаров, 2001].

Цель данной работы состояла в выявлении возможной генетической нестабильности в ряду поколений трансгенного табака с помощью оценки стабильности развития. Для трансформации был взят штамм 699

Agrobacterium tumefaciens, содержащий вектор CNL 65 с геном *npt*. Факт трансформации у линий, устойчивых к канамицину, был подтверждён при помощи ПЦР-анализа к гену *npt* [Maximova, 2012].

Растения пяти последовательных поколений табака выращивались в идентичных условиях среды. В число изученных параметров входила площадь листовой поверхности левой и правой стороны листа для оценки показателя флуктуирующей асимметрии. На фоне общего увеличения параметров роста и развития у трансгенных растений (с тенденцией ослабления этого эффекта к T_5), наблюдалось уменьшение параметров флуктуирующей асимметрии (с увеличением этих параметров к T_5). Минимальные значения показателей асимметричности совпадали с максимальными параметрами роста и развития растений. Уменьшение онтогенетического шума с одновременным увеличением параметров роста свидетельствует о высокой стабильности развития, которую демонстрируют трансгенные растения. Возможно, наблюдаемые связаны со стрессовым напряжением у растений поколений T_1 - T_4 , вызванным процедурой агробактериальной трансформации [Еникеев, 2008]. Так как трансгенные растения превосходили контрольные по высоте стебля и общей площади листовой поверхности, имели более ранние сроки зацветания и формирования плодов, в качестве конкурента эти растения представляются более «успешными», и, при попадании в естественный фитоценоз, они могут иметь преимущество в освоении ресурсов, что может привести к вытеснению дикого вида. Кроме того, появление изменённых или чужеродных генетических конструкций в результате вступления трансформантов в репродукционный процесс грозит изменением дикого генотипа [Muir, Howard, 1999]. Вместе с тем, возможная нестабильность генома у трансформантов, вызванная процедурой трансформации даже холостым вектором, может привести к увеличению изменчивости в ГМО-популяциях, обусловленному ростом частоты фенотипов, выходящих за рамки нормы стабилизирующего отбора.

В связи с этим может снизиться приспособленность популяции трансформированных растений в фитоценозе в дальнейшем. Нарушив своим появлением баланс экосистемы, трансгенные растения могут впоследствии и сами подвергнуться элиминации из неё под действием стабилизирующего отбора [Животовский, 2004].

Литература

1. Еникеев, А.Г., Копытина, Т.В., Семёнова, Л.А., Натяганова, А.В., Гаманец, Л.В., Волкова, О.Д. (2008) Агробактериальная

- трансформация как биотический стрессирующий фактор. Стресс-физиологии и биохимии растений, 4, 11-15
2. Животовский, Л.А. (2004) Стабилизирующий отбор и приспособленность популяций ГМО. ГМО - скрытая угроза России./ М-лы к докладу Президенту РФ «По анализу эффективности государственного контроля за оборотом генетически модифицированных продуктов питания», Москва, 93-104
 3. Захаров, В.М. (2001) Онтогенез и популяция: оценка стабильности развития в природных популяциях. Онтогенез, 6, 404-421
 4. Maximova, L.A., Nurminskaya, J.V., Kopytina, T.V., Enikeev, A.G. (2012) Agrobacterium-mediated transformation of *Nicotiana tabacum* by disarmed strain Tt 699 resulted in considerable raising of growth and development of transgenic plants. *Journ. of Stress Physiol. and Biochem.*, 1, 138-148
 5. Muir, W.M., and Howard, R.D. (1999) Possible ecological risks of transgenic organism release when transgenes affect mating success: Sexual selection and the Trojan gene hypothesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 96, 13853-13856.

КАТАЛИТИЧЕСКИЕ СИСТЕМЫ ДЛЯ УСТАНОВОК АНАЭРОБНОЙ ПЕРЕРАБОТКИ ОТХОДОВ ЖИВОТНОВОДСТВА

Онучин Е.М., Медяков А.А., Каменских А.Д.

ФГБОУ ВПО "ПГТУ"

Medyakov_Andrey@mail.ru

Каталитические устройства для полного низкотемпературного окисления горючих компонентов биогаза могут использоваться в существующих системах вместо традиционных устройств факельного сжигания. Однако по сравнению с традиционными источниками тепла каталитические устройства сжигания имеют ряд преимуществ. К ним относятся:

- 1) полнота сжигания топлива, которая способствует повышению эффективности процесса горения;
- 2) снижение температуры процесса горения, которое обеспечивает конструктивные преимущества каталитических устройств горения;
- 3) сокращение выбросов вредных газов в атмосферу в связи со снижением температуры горения и более полным сжиганием топлива;
- 4) снижение минимальной концентрации топлива в смеси до 0,5 % объема. [1]

Использование каталитических устройств в качестве устройств обогрева, предназначенных для поддержания определенной температуры в технологических объектах или производственных помещениях, позволяет повысить эффективность систем обогрева за счет повышения эффективности процесса горения и сокращения выбросов вредных газов в атмосферу. Непосредственно заменяя традиционные устройства факельного сжигания разрабатываемыми системами можно повысить эффективность поддержания необходимой температуры на объектах.

Однако особенности каталитических устройств сжигания позволяют создавать новые технические решения подогревателей, применяемых для процессов получения биогаза. На рисунке 1 представлен принцип работы каталитического подогревателя для биогазовой установки.

Каталитический подогреватель, потребляя биогаз, производит тепловую энергию и уходящие после процесса горения газы. Тепловая энергия непосредственно используется для обогрева биогазовой установки, а барботажное устройство с помощью уходящих газов создает

тепловой барботаж, который одновременно служит для перемешивания субстрата и для его обогрева.

Перспективным является создание каталитических систем с более интенсивным и направленным перемещением каталитического наполнителя. Для этого разработана схема каталитической системы с циркулирующим каталитическим наполнителем и подъемной трубой, представленная на рис. 2.

В каталитических системах с циркулирующим каталитическим наполнителем и подъемной трубой топливо и кислород подаются снизу через специальное сопло или диафрагму, которые позволяют увеличить скорость потока смеси и обеспечить интенсивный унос каталитического наполнителя в подъемную трубу. При движении по подъемной трубе осуществляется реакция, в результате которой наполнитель и уходящие газы разогреваются. На выходе из подъемной трубы сила, действующая на наполнитель со стороны потока уходящих газов, ослабляется и каталитический наполнитель под действием силы тяжести возвращается к основанию подъемной трубы. Уходящие газы удаляются через выходной патрубок каталитической системы.

Использование подобных каталитических систем позволяет интенсифицировать процесс протекания реакции за счет большего времени контакта реагентов смеси с поверхностью перемещаемого ею каталитического наполнителя, а так же обеспечить организованное возвращение прогретого в процессе реакции каталитического наполнителя в зону подачи топливно-воздушной смеси.

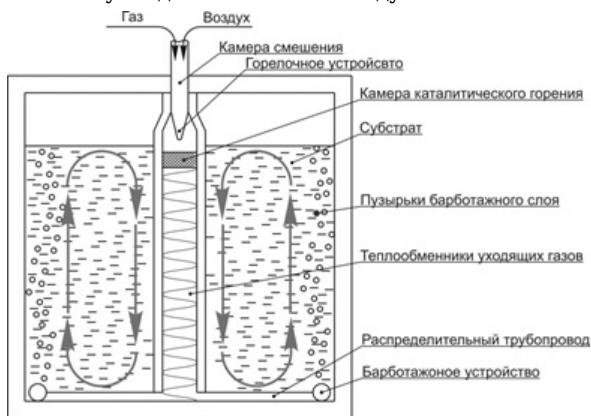


Рис. 1. Каталитический подогреватель для биогазовой установки

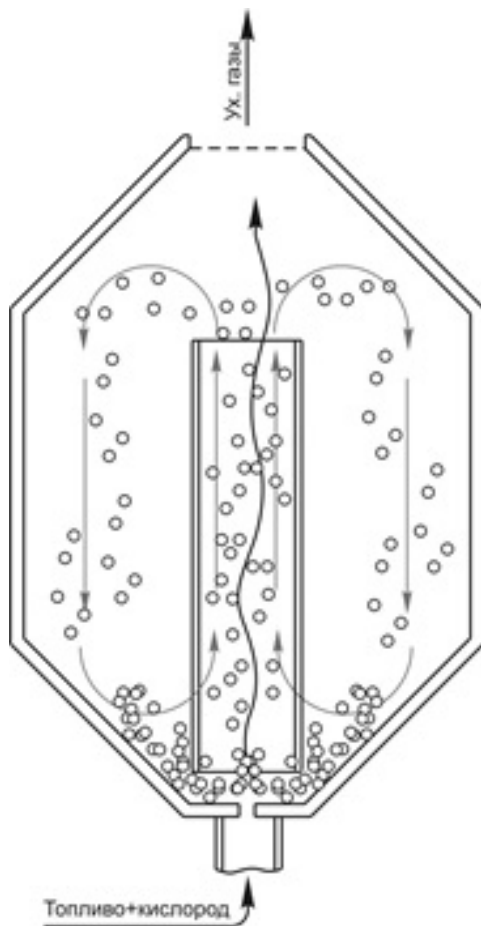


Рис. 2. Разработанная каталитическая система с циркулирующим каталитическим наполнителем и подъемной трубой

Литература

1. Лукьянов, Б. Н. Экологически чистое окисление углеводородных газов в каталитических нагревательных элементах / Б. Н. Лукьянов, Н. А. Кузин, В. А. Кириллов, В. А. Куликов, В. Б. Шигаров, М. М. Данилова // Химия в интересах устойчивого развития. - 2001. - №9. - с. 667 - 677

ТЕХНИЧЕСКАЯ СИСТЕМА ДЛЯ СБОРА И ЗАГОТОВКИ БИОГЕННЫХ ПРОДУКТОВ ЛИШАЙНИКОВ И РАСТЕНИЙ

Онучин Е.М., Ласточкин Д.М., Медяков А.А., Филенко Ю.А.

ФГБОУ ВПО "ПГТУ"

MedyakovAA@volgatech.net

Ввиду истощения ресурсов регулярно используемых человеком биогеоценозов повышение эффективности их использования является актуальной в настоящее время задачей. При этом разработка технической системы, позволяющей повысить эффективность использования малопродуктивных естественных биогеоценозов за счет получения ценных биогенных продуктов (биологически активных веществ, биомассы и природных сорбентов), в том числе вторичных метаболитов растений и лишайников, является решаемой в настоящее время задачей, в частности, путем использования предлагаемого адаптивно-модульного технологического комплекса заготовки вторичных метаболитов растений и лишайников. При этом в рамках разрабатываемого комплекса важной является строгая координация всех операций по заготовке лекарственных растений и контроль за их выполнением.

Сбор и заготовка сырья осуществляют по системе, в общем случае состоящей из срезания, сушки и расфасовки. Перечисленные элементы не всегда являются полным списком, состав их может быть больше и может включать элементы индивидуальной и групповой компоновки, например системы грубой и тонкой очистки, маркировочные элементы и т.д. Разрабатываемый адаптивно-модульный технологический комплекс для заготовки ценных биогенных продуктов, в том числе вторичных метаболитов растений и лишайников должен включать следующие технологические операции:

1) сбор сырья (вновь разрабатывается);

Сбор и заготовка сырья целесообразно осуществлять по механизированной вакуумной схеме при которой срезания осуществляются с помощью приводных движущихся ножей, передача-транспортировка срезанного сырья осуществляется при помощи шлангов и вакуумной системы,

Механизированный сбор сырья с удаленной поверхности и труднодоступных мест наиболее целесообразно осуществляет при

помощи гибкого манипулятора с внутренним вакуумным подающим шлангом.

2) первичная обработка(заимствуется);

В рамках первичной обработки устраняются следующие дефекты:

1. повышенная влажность;

2. повышенное содержание посторонних примесей;

3. повышенная примесь частей производящего организма;

4. повышенная примесь частей побуревших и изменивших свой естественный цвет вследствие плохой сушки и др. причин;

5. чрезмерная измельченность и т. д.

3) сушка (вновь разрабатывается);

Основанием сушилки является электрический калорифер, на нем установлена сушильная камера, патрубок которой посредством фланцевого соединения скреплен с вытяжной трубой. Воздух, поступающий извне, в системе воздуховодов калорифера нагревается и затем направляется в полые стенки сушильной камеры. В них имеются система распределения потока подогретого воздуха и окна для проникновения его в сушильную камеру, где на лотках располагают объект сушки. В камере воздух выполняет роль теплоносителя, подогревает продукт и одновременно отбирает избыточную влагу. Отработанный воздух через окна промежуточной полый стенки и вытяжную трубу удаляется наружу. Топочные газы выходят через вытяжную трубу в верхней части сушильной камеры. Регулировать процесс сушки, т.е. равномерно распределять температурное поле по высоте и глубине сушильной камеры можно с помощью системы заслонок.

4) прессование (вновь разрабатывается);

Процесс прессования предусмотрено осуществлять с помощью шнекового устройства обладающих преимуществом компактности и большой производительностью.

5) упаковка (заимствуется);

При упаковке должна обеспечиваться сохранность качества и количества сырья в процессе хранения и его транспортировании.

6) маркировка (заимствуется);

7) транспортировка (заимствуется);

8) хранение (заимствуется);

9) получение экстракции (заимствуется).

Вывод.

Разрабатываемая технологическая система для повышения эффективности использования малопродуктивных естественных

биогеоценозов за счет получения ценных биогенных продуктов на основе экстракции, в том числе вторичных метаболитов растений и лишайников с использованием адаптивно-модульного технологического комплекса заготовки вторичных метаболитов растений и лишайников может быть успешно использована для сбора и заготовки биогенных продуктов лишайников и растений в качестве потенциального источника ценных медицинских препаратов и продуктов промышленного производства.

КВАНТОВАЯ ТЕОРИЯ ПЕРЕДАЧИ НЕРВНОГО ИМПУЛЬСА

Осипова М. Н.

Работа дома в инициативном порядке

osipovam-777@yandex.ru

Основываясь на комплексном анализе свойств и явлений в биологической мембране и липидном бислое, была высказана гипотеза о наличии когерентных квазичастиц во внешних слоях липидного бислоя, контактирующих с водой, а внутреннюю часть бислоя, состоящую из хвостов липидов с Ван-дер-Ваальсовой связью рассматривать как слабую связь. В этом случае может быть применено уравнение Шредингера и решение с подобными граничными условиями (а именно, если две плоские пленки с когерентностью разделены слоем изолятора толщиной около 20 ангстрем) предложено Джозефсоном (Джозефсоновский сэндвич). Рассмотрение липидного бислоя, как джозефсоновского сэндвича, оказывается весьма продуктивным и позволяет объяснить многие известные свойства (магнитные, электрофизические, термодинамические, ионообменные и др.) как липидного бислоя, так и биомембраны /1/.

Биомембрана нервного аксона представляет цилиндрическую оболочку из липидного бислоя, пронизанного интегральными транспортными белками, многие из которых имеют совершенно одинаковое строение и ориентацию и несут одинаковые функции. Эти белки являются упорядоченной структурой в упорядоченной структуре липидного бислоя.

Одной из функций белков является ионообмен между внешней и внутренней частью аксона. В структуре белков имеются альфа-спиральные участки, состоящие из чередующихся аминокислот и не обладающие зеркальной симметрией. Такие структуры обладают электромагнитной возбудимостью, сопровождающейся возникновением тока по спирали /2/ и соответственно вспышкой магнитного импульса, что в свою очередь порождает вихревое потенциальное поле и вихревое движение ионов, направленное на уничтожение магнитного импульса. Магнитный импульс длится по времени, равному времени релаксации $E_{\text{рел}}$ (возбуждения) белка. Энергия перехода белка из возбужденного состояния с E_2 в основное с E_1 ($\Delta E = E_2 - E_1$) поглощается соседним белком и таким образом возбуждение, а следовательно магнитный вихрь,

проносится от белка к белку по мембране аксона с круговой скоростью v и продольной скоростью V . **Это и есть круговая и продольная скорость передачи нервного импульса.** Возникающее в белке, погруженном в диамагнитный, непроницаемый для парамагнитных ионов липидный бислой, магнитное поперечное поле и является «воротами» для перемещения заряженных ионов в аксон и обратно.

v - радиальная скорость перемещения возбуждения белка (м/сек).

$v = a / T_{\text{рел}}$, где a - расстояние между белками, (м); $T_{\text{рел}}$ - время релаксации (перехода из возбужденного состояния белка в основное), (сек).

$V_{\text{бм}}$ - продольная скорость возбуждения белка (м/сек) - скорость передачи нервного сигнала вдоль безмякотного аксона.

$$V_{\text{бм}} = a v / 3,14 D = a^2 / 3,14 D T_{\text{рел}}$$

D - диаметр безмякотного аксона, (м).

В аксоне с миелиновой оболочкой и перехватами Ранвье) скорость распространения нервного сигнала ($V_{\text{мяк}}$) равна

$$V_{\text{мяк}} = (L_1 + L_2) / (\tau_1 + \tau_2), \text{ м/сек} \quad \text{где}$$

L_1 , L_2 - длина перехвата Ранвье и миелиновой оболочки соответственно, (м);

τ_1 , τ_2 - время прохождения импульса по перехвату Ранвье и по миелиновой оболочке соответственно, (сек).

$$\tau_1 = L_1 / V_{\text{бм}} = L_1 3,14 D T_{\text{рел}} / a^2 ;$$

Поскольку в части мембраны аксона, покрытой миелиновой оболочкой нет белков, способных поглотить выделившийся квант энергии и расстояние между соседними активными белками равно длине между перехватами Ранвье (миелиновой оболочки) L_2 , поэтому $\tau_2 = T_{\text{рел}}$, и скорость прохождения импульса по миелиновому участку равна

$$V_{\text{миел}} = L_2 / T_{\text{рел}} \text{ что обычно составляет около } 10^5 \text{ м/сек.}$$

Измеренная скорость проведения нервного импульса варьирует в широких пределах - от 0,02 до 120 м/сек, /3/. В литературе приведены весьма противоречивые данные о плотности белков в мембранах аксонов - от 12/мкм² до 12000/мкм² (в аксоне кролика). Так при 12000 белков на мкм² почти вся площадь занята белками (что противоречит истине), диаметр которых согласно /4/ равен $80 \cdot 10^{-10}$ м. В основном плотность каналов находится в области 12 - 500/мкм², а в некоторых перехватах Ранвье достигает 1000 - 2000/мкм.

Приведем пример расчета скорости распространения нервного сигнала по безмякотному аксону $V_{\text{бм}}$ диаметром $D=1$ мкм и по мякотному аксону с перехватами Ранвье $V_{\text{мяк}}$ с диаметром перехвата D

=1мкм и длиной $L_1 = 1\text{мкм}$ и миелиновой оболочкой длиной $L_2 = 1\text{мм}$

Расстояние между прошивающими белками $a = 1/ N^{1/2}$, где N - плотность белков. Примем $N = 500/\text{мкм}^2$, $n = 22/\text{мкм}$,

$$a = 447 \cdot 10^{-10} \text{ м},$$

$$T_{\text{рел}} = 10^{-8} \text{ сек.} / 4 / ,$$

$$V_{\text{бм}} = a^2 / 3,14 D T_{\text{рел}} = (447 \cdot 10^{-10})^2 / 3,14 \cdot 1 \cdot 10^{-6} \cdot 10^{-8} = 0,064 \text{ м/сек}$$

$$V_{\text{мяк}} = (L_1 + L_2) / (\tau_1 + \tau_2) = (L_1 + L_2) / ((L_1 / V_{\text{бм}}) + T_{\text{рел}}) \quad V_{\text{мяк}} = V_{\text{бм}} L_2 / L_1$$

$$V_{\text{мяк}} = 0,064 \cdot 1 \cdot 10^{-3} / 1 \cdot 10^{-6} = 64 \text{ м/сек.}$$

Согласно предложенной теории при движении нервного импульса (передаче возбуждения по транспортным белкам) вокруг нерва, как и внутри него, несется магнитный вихрь по винтовой, сопровождающийся вихревым движением заряженных частиц, стремящихся уничтожить возникшее магнитное поле. Магнитное поле направлено нормально к поверхности аксона и носит аperiодический характер. Известно, что магнитное поле распространяется от точки возникновения в пространстве сколь угодно далеко, однако его измерение в точке на расстоянии несколько сантиметров затруднено из-за малой величины возникшего поля ($\Phi < \Phi_0 = 2 \cdot 10^{-15} \text{ Вб}$), тем не менее имеются средства для фиксации такого поля на расстоянии R .

Напряженность магнитного поля на расстоянии R от точечного источника будет равна $\Phi_0 / 2\pi R^2$, т.е., если измерительный прибор находится на расстоянии 0,2 - 5,0 см от нерва, по которому проходит нервный импульс, то он должен зарегистрировать импульс магнитного поля напряженностью 80 - 0,12 пТл. Это тот порядок величин амплитуд магнитных импульсов, который фиксируются различными авторами при биомагнитных измерениях /5/. Согласно закону Фарадея, если сквозь какой-либо замкнутый контур пространства проходит меняющийся во времени магнитный поток, то в контуре наводится э.д.с. $\varepsilon(t) = d\Phi/dt$. То вместе с магнитным полем вокруг аксона, как и внутри него, распространяется и потенциальное поле, которое и измеряется при электроэнцефалографии, электрокардиографии, электронеомиографии и др электрограммах, а также при измерении передачи нервного импульса /6/.

Литература

1. Осипова М.Н. Квантовые явления в биомембранах. Биофизика, Том 48, вып1, стр. 139, 2003. (Сайт «osipovam.ru»)
2. Р. Фейнман. Фейнмановские лекции по физике. Том 3, М., «Мир», 1985.

3. Шугрин С.М., Обут А.М. Солнечная активность и биосфера. - Новосибирск: Наука, 1986. - 128 с.
4. А.А. Болдыреви и др. Биомембранология. Учебное пособие. МБЦМГУим. М.В. Ломоносова, Институт биологии.
5. Слабая сверхпроводимость. Квантовые интерферометры и их применения. Под ред. Б.Б.Шварца и С.Фонера. М., «Мир», стр.256,1980
6. Ю.А.Холодов, А.Н.Козлов, А.М. Горбач. Магнитные поля биологических объектов. М,1987

**ГОСУДАРСТВЕННЫЙ ВЕТЕРИНАРНЫЙ НАДЗОР ЗА ВОДНЫМИ
РЕСУРСАМИ И ЗА БЕЗОПАСНОСТЬЮ РЫБЫ И РЫБНОЙ
ПРОДУКЦИИ**

Очирова Л.А., Будаева А.Б., Молчанов А.В.

ФГБОУ ВПО Иркутская государственная сельскохозяйственная академия,
Управление ветеринарии Республики Бурятия

luiza-ochirova@rambler.ru

Рыба является одним из важнейших продуктов питания и неотъемлемой частью пищевого рациона населения нашей страны, поэтому государственный ветеринарный надзор за средой обитания рыбы и за экологической безопасностью рыбы и рыбных продуктов на сегодня является наиболее актуальной [2, 4]. По данным Василькова из паразитарных болезней рыб наибольшую опасность предоставляет ихтиофтириоз, дактилогироз, микоспориидозы, ботриоцефалез и филометроидоз, а из инфекционных – аэромоноз и псевдомоноз [1]. В Чиверкуйском заливе в Республике Бурятия, зарегистрировано в озере Иркана заболевание окуней псевдомонозом, а в Садковом хозяйстве Гусиноозерского ГРЭС - заболевание карпа аэромонозом [3]. В Республике Бурятия основной промысловой рыбой озера Байкал считается байкальский омуль.

По состоянию на 01.01.2013 года в Республике Бурятия насчитывается 57 рыбопромысловых водоемов, куда входит и озеро Байкал с его озерно-соровой системой. Ихтиофауна озера Байкал включает 67 видов и подвидов рыб, относящихся к 13 семействам. К числу же промысловых видов рыб относятся не более 15. Базируется промысел на добыче байкальского омуля и мелкочастиковых видов рыб. Промысел сига, сазана, хариуса ограничен. К категории редких и исчезающих видов рыб отнесены байкальский осетр, даватчан, таймень, ленок.

На территории республики имеются 3 рыболовных заводов: Большереченский, Селенгинский, Баргузинский, принадлежащие ОАО «Востсибрыбцентр» и 1 осетровое хозяйство, принадлежащее ФГБУ «Байкалрыбвод» (Гусиноозёрское осетровое хозяйство).

Для обеспечения безопасности водоемов, рыбы и рыбной продукции разработана блок-схема государственного ветеринарного надзора за безопасностью водоемов и рыбы (рис. 1). Согласно блок-схемы:

ветеринарно-санитарной экспертизе подвергается каждая партия рыбы; 2 раза в год проводится оценка эпизоотического благополучия и санитарного состояния водоемов, контролируется содержание нитрозаминов, остаточное количество пестицидов (ГХЦГ, ДДТ) и уровень загрязненности солями тяжелых металлов; 1 раз в год и по показаниям оценивают степень радиоактивной загрязненности (Cs - 130, Cr - 90).

Нами проведен мониторинг рыбохозяйственных водоемов (проб воды, грунта и рыбы) из имеющихся 57 водоемов в республике при проведении мониторинговых исследований было выявлено 18 водоемов (31,6 %), которые не соответствовали требованиям ветеринарного законодательства РФ:

- 2 водоема: р. Селенга и озеро Духовое не соответствовали по гидрохимическим показателям, выявлена микробная загрязненность выше предельно-допустимых норм и соответственно данные водоёмы отнесены ко II категории;
- 3 озера: Гусиное, Баунт и Большое Капылючи обнаружено повышенное содержание меди из-за функционирования Гусиноозерского РГЭС и результатов деятельности старательских артелей, занимающихся добычей золота;
- 1 водоем - озеро Котокель Гаффская болезнь с 2008 года;
- 12 водоемов неблагополучны по дифиллоботриозу, возбудителем которого является в основном *Diphillobotrium dendriticum* (лентец чайчий), в меньшей степени *Diphillobotrium ditremum*.

С 1996 по 2009 гг. в республике 5 водоемов являлись неблагополучными по аэромонозу (оз. Гусиное, Чивыркуйский залив, оз. Большое Еравное, оз. Сосновское, оз. Исинга). После проведения ветеринарно-санитарных мероприятий по ликвидации аэромоноза, все водоемы были оздоровлены и на сегодня являются благополучными по инфекционным заболеваниям рыб.

По результатам мониторинговых исследований выявлено поражение рыб возбудителями 15 болезней таких как бунедороз, тилодельфиоз, сальминколез, диплостомоз, дактилогироз, протеоцефалез, циатоцефаллез, контрацекоз, дифиллоботриоз, триенофороз, рафидаскаридоз, протеоцефалез, лигулез, ихтиокотилуроз, диграммоз (рис. 2).

Также проведена микробиологическая оценка безопасности рыбы и рыбопродуктов в местах реализации, которая показала, что реализуемая продукция обсеменена патогенными и условно-патогенными микроорганизмами, такими как кишечная палочка (16 %), *Enterobacter*

gergovie (1,8 %), *Enterobacter clocae* (1,8 %), *Enterobacter agglomerans* (5,4 %), *Klebsiella planticola* (3,6%), *Klebsiella pneumoniae subsp. pneumoniae* (12.4 %), *Salmonella enteritidis* (1,8 %), *Salmonella arizona* (1,8 %), *Salmonella paratyphi A* (1,8 %), *Proteus vulgaris* (3,6 %), *Proteus mirabilis* (1,8 %), *Shigella boydi* (10,6 %), *Aeromonas punctate* (3,6 %), *Citrobacter freundii* (8.9 %), *Citrobacter amolonaticus* (5,4 %), *Staphylococcus aureus* (8,9 %), *Enterococcus faecalis* (1.8 %), *Serratia rubidaca* (3,6%), *Serratia oborifera* (1,8 %), *Edwardsiella ictaluri* (3.6 %).

По результатам ветеринарно-санитарной экспертизы ежегодно в среднем выбраковывается 0,4 % рыбы и рыбной продукции (табл. 1), поэтому очень важен постоянный контроль за реализуемой продукцией, для обеспечения безопасности продуктов в ветеринарном отношении. Также необходимо совершенствовать и развивать систему контроля (надзора), проводить мониторинговые исследования с использованием современных методов и критериев для своевременного выявления продуктов несоответствующих ветеринарно-санитарным требованиям.

Литература

1. Васильков Г.В. Паразитарные болезни рыб и санитарная оценка рыбной продукции. - М.; Изд-во ВНИРО, 2005
2. Друковский С.Г. Ветеринарно-санитарная и экологическая характеристика рыбохозяйственных водоёмов Московской области: автореф. дис....канд.вет.наук. М, 2006. 25 с.
3. Зверева, О.А. Биологическая характеристика микробных изолятов байкальского омуля / В.Ц. Цыдыпов, В.И. Елизов, А.К. Пуев // Мат. юб. Рес. научно-производст. конф. «Фундаментальные и прикладные аспекты ветеринарии», посвященный 75-летию ГУ РНПВЛ. - Улан-Удэ. - 2002. - С. 22-25.
4. Поздняковский В.М., Рязанова О.А., Каленик Т.К., Дацун В.М. Экспертиза рыбы, рыбопродуктов и нерыбных объектов водного промысла. Качество и безопасность. - Новосибирск: Сибирское университетское издательство, 2005. - С. 5-8.

ВЛИЯНИЕ ГУМИНОВОГО ПРЕПАРАТА СТИМУЛАЙФ И БАКТЕРИЙ *BACILLUS SUBTILIS* НА РОСТ КОРНЕЙ И УРОЖАЙНОСТЬ ПШЕНИЦЫ

Пищик В.Н.¹, Ктиторова И.Н.¹, Скобелева О.В.¹, Мирская Г.В.¹,
Воробьев Н.И.²

¹ГНУ АФИ Россельхозакадемии,

²ГНУ ВНИИСХМ Россельхозакадемии, Санкт-Петербург

veronika-bio@rambler.ru

В работе изучали влияние бактерий *Bacillus subtilis* (шт. №2, 3) на рост и биофизические характеристики корней и продуктивность яровой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) на различных этапах онтогенеза в вегетационных и полевых опытах.

Проведен скрининг биологически активных штаммов бактерий, относящихся к роду *Bacillus*. Изучено влияние отобранных штаммов и гуминового препарата Стимулайф (ТУ-2186-016-79850210-2006) на корневую систему проростков пшеницы. В течение 4 суток действия препаратов оценивали скорость роста корней и побегов и измеряли параметры корней, от которых непосредственно зависит скорость роста – внутрикорневое осмотическое давление (с помощью криосмометра); продольную и поперечную растяжимость клеточных стенок в зоне роста, а также гидравлическую проводимость мембран ризодермы (с помощью датчика малых перемещений дифференциально-индуктивного типа).

Установлено, что при использовании препарата Стимулайф активируется H^+ -помпа в зоне роста корней (индикатором является снижение гидравлической проводимости), увеличивается продольная растяжимость и скорость роста основных корней. Добавка к препарату бактерий *Bacillus subtilis* (шт. № 2, 3) обеспечивает дополнительную активацию H^+ -помпы и увеличение осмотического давления, а также прирост биомассы боковых корней. Анализ физиологических и биофизических параметров корней при действии бактерий составил основу экспресс-метода отбора наиболее эффективных штаммов.

Наиболее выраженный эффект препараты оказали на увеличение роста корней (на 70% по сравнению с контролем), за счет растяжимости клеточной стенки в зоне роста корня, благодаря экзогенным бактериальным ауксинам. Увеличение продольной растяжимости клеточной стенки (на 30%) происходило в кислой среде за

счет ослабления связей между молекулами целлюлозы и гемицеллюлозы. Уменьшение гидравлической проводимости в ответ на внесение препаратов свидетельствовало об активации H⁺-помпы, которая является источником энергии для транспортировки ионов и метаболитов в корень. Активизация физиологических процессов у проростков пшеницы при внесении изучаемых препаратов привела в дальнейшем к увеличению продуктивности пшеницы в вегетационных и полевых опытах.

В вегетационном опыте установлено, что бактерии *Bacillus subtilis* (шт. N2) и гуминовый препарат Стимулайф увеличивали продуктивность растений в 2,2-2,5 раз и ускоряли сроки созревания (до 4-6 суток) ультраскороспелых линий пшеницы (91, 177) [1].

Совместное действие бактерий *Bacillus subtilis* (шт.№2) и гуминового препарата Стимулайф при выращивании пшеницы сорта Красноуфимская на оптимальной дозе удобрений (NPK150) в полевом опыте привело к возрастанию продуктивности по сравнению с контролем на 37%; улучшению качества зерна, увеличению агрономической эффективности использования азотных удобрений в 2,8 раза.

Литература

1. Pishchik V.N., Ktitorova I.N., Skobeleva O.V., Mirskaya G.V., Vorobyov N.I. Method of instrumental assessment of plant-bacterial interaction in agricultural system in forecasting the yield//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.

ВОЗДЕЙСТВИЕ КИСЛОТНОСТИ СТРУКТУРИРОВАННОЙ ВОДЫ НА ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТЬ НАБУХАНИЯ СЕМЯН ЛЬНА

Попова Н.Н., Столбовских Л.И., Щетилина И.П.

ФГБОУ ВПО Воронежский государственный университет инженерных
технологий

smaginan@bk.ru

Восполнение недостатка витаминов, минералов, незаменимых аминокислот, жирных ω -3, ω -6 кислот и других эссенциальных компонентов – актуальная проблема современного человека. Многовариантность ее решения связана с развитием ресурсосберегающих технологий, направленных на рациональное использование вторичного сырья, разработкой продуктов питания лечебно-профилактической направленности, использование в питании биологически активных добавок, а также растений, в том числе характеризующихся фармакологической активностью. В настоящее время широкое применение в производстве продуктов питания получило использование пророщенных бобовых и злаковых культур.

Среди проращиваемых культур (пшеница, ячмень, овес, горох, нут, люпин и др.) особый интерес представляют семена льна, которые с давних времен известны своими лечебными свойствами. Они содержат в своем составе большое количество витаминов, микро- и макроэлементов, богаты растворимой и нерастворимой клетчаткой, фитосоединениями, антиоксидантами, являются источником жирных кислот омега-3, которые не синтезируются в организме человека. По аминокислотному составу не уступают белкам сои, а по содержанию триптофана превышают его количество в «идеальном» белке.

Употребление семян льна в пищу способствует регулированию холестерина обмена, снижению уровня сахара в крови, коррективке массы тела, стимулированию перистальтики желудочно-кишечного тракта, улучшению пищеварения, укреплению иммунной системы организма, снижению риска возникновения злокачественных новообразований и др.

Для каждой культуры в зависимости от строения оболочки семян процесс проращивания требует определенных оптимальных условий. Прорастанию семян предшествует их набухание. Процент поглощаемой влаги также для различных культур неодинаков. В частности, семена

льна при набухании способны поглощать более 100 % влаги от собственной массы [1]. Актуальным является сокращение продолжительности процесса набухания семян, что возможно посредством влияния на водную фазу различных физических и химических воздействий, таких как омагничивание, озонирование, электрохимическая активация, изменение кислотности и др. [2].

В работе изучено влияние кислотности структурированной воды на продолжительность набухания семян льна. Исследования проводили при рН водной среды от 2 до 11, температуре 20 ± 2 °С, влажности 100 %. Измерение рН воды осуществляли рН-метром (марка прибора рН-012). В качестве контроля применяли водопроводную воду с рН = 6,8.

Структурирование воды и изменение ее кислотности достигалось посредством воздействия на воду постоянного электрического тока в зоне поляризованных электродов, разделенных полунепроницаемой мембраной. В результате у поверхности анода происходит окисление OH^- с выделением O_2 и образованием кислой среды – анолита. В катодной зоне восстанавливаются катионы H^+ и происходит выделение газообразного H_2 с образованием щелочной среды – католита. Так как катодная и анодная зоны в электролизёре разделены диафрагмой, то католит и анолит отбираются каждый самостоятельно как целевые продукты [3].

В результате исследований установлено, что при прочих равных условиях, изменение массы семян вследствие поглощения ими воды тем интенсивнее, чем выше показатель кислотности электрохимически активированной воды. Такая закономерность характерна для воды с рН > 8. Процесс набухания семян в католите завершается через 60 – 90 мин, при этом количество влаги поглощенное семенами за это время составляет 134 – 143 %. В контрольном образце по истечении 4 ч количество поглощенной влаги составило около 110 % и масса семян не достигла своего максимального значения. То же характерно и для семян, набухание которых проводили в кислой среде, но по сравнению с контролем оно происходило более интенсивно, кроме образца с рН воды 4,9. Вероятно, связано с изоэлектрической точкой (ИЗТ) белков анализируемых семян, представленных в основном альбуминами. Значения ИЗТ варьируются в зависимости от того, какой из групп альбуминов (а, b, g) представлены белки. Пределы значений рН 4,5–4,8 характерны для а-группы, 4,9–5,9 для b- альбуминов и 6,7–8,7 для g-альбуминов [4]. Однако, это требует более детального изучения.

Интенсификация процесса набухания семян с применением католита может быть также связана с его электродонорной способностью,

антиоксидантными свойствами и образованием активных форм кислорода O_2^- растворенного в воде, которые воздействуют на тканевое дыхание и активность ферментов [4].

Применение электрохимической активированной воды с целью сокращения продолжительности набухания семян является перспективным и требует более детального исследования с целью дальнейшего стимулирования прорастания семян и получения продукта высокого качества и пищевой ценности.

Литература

1. <http://www.valleyflora.ru/nabukhaniye-semyan-rol-vody.html>
2. Борисенко, Л. А. Новые виды мясорастительных полуфабрикатов / Л.А. Борисенко и др.// Пищевая промышленность. - 2009. - № 8. - С. 16 - 17.
3. Александрова, Э. А. Влияние электрохимически активированной воды на растительные биосистемы / Э. А Александрова и др.// Научные труды VI Международного Конгресса. - 2012. - www.biophys.ru/archive/congress2012/proc-p128-d.htm.
4. <http://www.activestudy.info/albuminy/>

**ТЕРМОГРАФИЧЕСКИЕ ИЗМЕРЕНИЯ В ПРОЦЕССЕ
РЕПАРАТИВНОЙ РЕГЕНЕРАЦИИ КОСТНОЙ ТКАНИ У
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ**

Попова Л.Г., Родионова Л.В., Прудникова Н.В., Цысляк Е.С.,
Лебедев В.Ф., Лепехова С.А.

ФГБУ "НЦРВХ" СО РАМН

www.Popovalg@mail.ru

В основе термографии лежит измерение теплового излучения в инфракрасном диапазоне [1]. Однако, оно дает истинную температуру только верхнего слоя кожи толщиной в доли миллиметра [2]. О температуре подлежащих тканей можно судить опосредованно и в том случае, когда температурные изменения «проецируются» на кожные покровы [3].

Уровень теплопродукции регулируется задним отделом гипоталамуса, а также рядом гормонов и биологически активных веществ (норадреналин, адреналин, тироксин, трийодтиронин и др.). На характер термограммы влияют индивидуальные особенности организма: количество подкожно-жировой клетчатки, возраст, особенности кровоснабжения и др.

В нашей работе термографию использовали как один из критериев оценки уровня основного обмена.

Материалы и методы. Исследования проведены на 18 кроликах (самцах) породы Шиншилла, 6 месячного возраста. Предварительно на месте предстоящей операции (правая задняя конечность) и симметричной зоне (левая задняя конечность) аккуратно и полностью удаляли шерсть с помощью машинки для стрижки волос. В условиях операционной после внутримышечного наркоза выполняли модель дырчатого перелома верхней трети диафиза большеберцовой кости. Для этого после обработки операционного поля производили разрез по наружной поверхности правого бедра до кости. Длина разреза 1 - 2 см. С помощью дрели со сверлом d 2 мм выполняли сквозное отверстие в области гребня большеберцовой кости. Накладывали 3 кожных шва, сопоставляя края кожи. После операции проводили антибиотикопрофилактику линкомицином 50-70 мг/кг/сутки и в/м обезболивание анальгином 50% с димедролом в суточной дозе 400-500 мг/кг/сутки в течение 5 суток после операции.

До операции и на 1, 3, 5, 9, 14, 21, 35 сутки после оперативного вмешательства измеряли ректальную температуру электронным термометром. Термографические снимки получали с помощью тепловизора ТКВр ИФП - «СВИТ» и компьютерной программы Tv32v1 (декабрь 2005, программисты Субботин Игорь, Тарасенко Алексей, институт полупроводниковой физики). Разрешающая способность составляла до $0,001^{\circ}\text{C}$ для площади около $0,25\text{ мм}^2$. Для регистрации температурного диапазона поверхности исследуемых областей кролика помещали на точно измеренном, постоянном для всех сроков обследования расстоянии до объектива и регистрировали температурный профиль обеих конечностей, в том числе область послеоперационной раны и симметричную область на интактной конечности. Для дополнительной оценки общей температуры тела (помимо прямого измерения электронным термометром) производили тепловизионную съемку области носа и ануса. До начала эксперимента все кролики для приучения к аппаратуре предварительно проходили данные процедуры 3-5 раз с целью устранения влияния эмоционального воздействия на результаты исследования.

Результаты. Исходные дооперационные термограммы конечностей интактных кроликов отличались выраженной симметрией рисунка, при этом температура дистальных отделов конечностей была ниже температуры их проксимальных отделов. На тепловизионных снимках исследуемых частей тела кролика с помощью компьютерной программы выбирали максимальную и минимальную температуру, а также подсчитывали их разницу Δt .

Температура любой измеряемой области не была абсолютно однородной и варьировала в некоторых пределах, отличающихся для каждого отдельного сегмента. Так, разница температур одной области составляла минимально $0,63 \pm 0,11$ (для региона послеоперационной раны на 35 сутки эксперимента), максимально до $2,2 \pm 0,30$ (для региона правого бедра на 14 сутки после операции). Исходно у всех кроликов не выявлено асимметрии в температурном профиле измеренных областей (правое и левое бедро, область будущей операционной раны и симметричный ей регион).

На 1 сутки после операции отмечалось снижение температуры в области операционной раны в среднем на 5,4-6% от исходного дооперационного уровня, снижение температуры по сравнению с симметричной областью составило $0,11-0,56^{\circ}\text{C}$. На 3 сутки температура операционной раны составляла от $32,52 \pm 0,25$ до $31,56 \pm 0,30^{\circ}\text{C}$, что было ниже дооперационного уровня на 6,2-7,1%.

К 9 суткам отмечалось уменьшение разницы температур области левого бедра ($0,86 \pm 0,14$ против исходной Dt $1,39 \pm 0,15$), относительное снижение температур раны сохранялось. Кроме того отмечено снижение температуры носа (на 6,95-11,03%) и ануса (3,60-5,83%) по сравнению как с исходными величинами, так и с аналогичными значениями, измеренными на 3 сутки. Значимо увеличивался разброс температур области носа до $2,07 \pm 0,41^\circ\text{C}$ (в 2,46 раза), тогда как исходно разница между максимальной и минимальной температурой области носа составляла $0,84 \pm 0,12^\circ\text{C}$.

На 14 сутки снижалась минимальная температура правого бедра (до $32,46 \pm 0,30$ против дооперационного уровня $33,83 \pm 0,25^\circ\text{C}$) при увеличении разницы температур до $2,2 \pm 0,30^\circ\text{C}$. Достигнутая на этом этапе разница температур Dt оперированной конечности была максимальной из всех значений, наблюдаемых во время эксперимента для любых исследуемых регионов. Оставались сниженными температуры операционной раны, носа и ануса.

К 21 суткам увеличивался размах температур для левого бедра в 1,8 раза по сравнению с таковым на 9 сутки. Кроме того снижалась минимальная температура правого бедра и уменьшалась Dt на правом бедре. Температура операционной раны начинала расти, оставаясь, однако ниже исходного уровня. Разброс температур операционной раны увеличивался, достигая максимума для данного региона. Температура носа и ануса в целом оставалась на сниженном по сравнению с исходным уровне. На 28 сутки оставались сниженными температура в области раны, носа и ануса.

К 35 суткам эксперимента, несмотря на полное заживление раны, ее температурный профиль все же отличался от исходного: оставалась на 3,6% ниже максимальная ее температура и на 52,6% меньше Dt . Температура носа оставалась несколько сниженной (на 5%), в то время как температура ануса возвращалась к исходным величинам.

Данные ректальной температуры, измеренные электронным термометром не имели различий на протяжении эксперимента, в то время как различия температур, измеренных с помощью тепловизора в наружной области ануса были статистически значимыми на всех сроках. Это можно объяснить как различиями в точности методов измерения, так и разницей области исследования.

Таким образом, сниженная температура в области операционной раны сохранялась с 1 до 14 суток, затем температура начинала постепенно возвращаться к исходным значениям, не достигая их однако даже к 35 суткам, несмотря на полное заживление наружной раны и

репарацию смоделированного дырчатого перелома. К 9 суткам после операции снижалась температура носа и ануса, что свидетельствует о снижении уровня общей теплопродукции на этой стадии процесса репарации. Температура ануса достигала исходных величин к 35 суткам, а температура области носа – нет.

Полученные данные дают представление о локальной и общей теплопродукции и будут использованы как один из критериев оценки уровня основного обмена в совокупности с другими данными (гормональный профиль, морфологическая картина зоны перелома, биохимические показатели и др.) для изучения процессов репаративной регенерации дозированного повреждения костной ткани.

Литература

1. Колесов В. П. Основы термодимии. - М.: Изд-во МГУ, 1996. - 205с.
2. Merla A., Romani G. L. Functional infrared imaging in medicine: a quantitative diagnostic approach // Conference proceedings: Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society. IEEE Engineering in Medicine and Biology Society. - 2006. - Vol. 1. - P. 224-227.
3. Возможности инфракрасной термографии в комплексной диагностике заболеваний челюстно-лицевой области. Дурново Е. А., Потехина Ю. П., Марочкина М. С., Хомутичкина Н. Е., Янова Н. А. //Современные проблемы науки и образования. - 2012. №4. - С. 30.

ПРИМЕНЕНИЕ ГМО В ПИЩЕВОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ

Пузыня Т.А.

ФГБОУ ВПО "Великолукская государственная академия физической культуры и спорта"

ummniza@gmail.com

На протяжении веков люди выводили более продуктивные породы животных и сорта растений, косвенно изменяя их генотип. Появление генной инженерии дало возможность более целенаправленно и быстро воздействовать непосредственно на их генетический аппарат. Появилась возможность наделять растения и животных совершенно новыми свойствами, вводя в их клетки гены других организмов. Генетически модифицированный организм (далее - ГМО) - это организм, полученный с применением методов генной инженерии и содержащий генно-инженерный материал, в том числе гены, их ферменты или комбинации генов. С самого начала коммерческого использования ГМ-растений в сельском хозяйстве не утихают дискуссии между учеными по всему миру о том, достаточно ли они понимают заложенные эволюцией основы жизни для того, чтобы манипулировать генами и начинать массовое использование ГМО в сельском хозяйстве и производстве продуктов питания. Чтобы разобраться, имеют ли ГМО перспективу развития или они являются биологической опасностью для человечества, необходимо знать, что такое биобезопасность. Биобезопасность - раздел научных знаний, который обобщает представление о совокупности критериев и условий их применения для оценки потенциального влияния ГМО на здоровье человека и окружающую среду [1, С.24-25].

Сегодня в СМИ присутствует достаточно противоречивая информация об использовании ГМО в пищевой промышленности. Сторонники запрета использования ГМО в пищевой промышленности говорят о том, что сфера генной инженерии недостаточно изучена, но ведь и любая отрасль науки сегодня полностью не изучена. Необходимо отметить, что зачастую в СМИ не говорится о положительном влиянии ГМО, а когда пишется о вреде ГМО, то забывается о негативных последствиях для человека пестицидов, нитратов и нитритов. Мы считаем, что дальнейшее развитие предприятий пищевой промышленности немислимо без применения ГМО. Открытая информация о ГМО

позволит российским предприятиям пищевой промышленности вытеснить с рынка импортные аналоги, которые достигают иногда все 100% ГМО, в то время в некоторых продуктах питания отечественных предприятий пищевой промышленности содержание ГМО зачастую меньше 1%. Решить эту проблему возможно путем обязательного наклеивания этикеток на продукты питания с процентным содержанием ГМО.

Преимуществами использования ГМО в пищевой промышленности являются:

1. Возможность ввода в пищевые продукты недостающих человеку витаминов и микроэлементов.

2. Получение урожая от растений, возделываемых на низкоплодородных почвах, такого же объема как и на плодородных землях.

3. Повышение устойчивости к заболеваниям и вредителям у животных и растений соответственно.

4. Появление новых пищевых продуктов.

5. Возможность ведения сельского хозяйства на ограниченных площадях и в экстремальных условиях.

6. Отказ от применения ядохимикатов, за счет этого сохранение природного богатства на планете.

7. Получение дополнительной прибыли за счет экономии трудовых и энергетических ресурсов.

8. Экономия на удобрениях, вносимых в почву.

На основании вышесказанного считаем, что применение ГМО в пищевой промышленности необходимо по ряду причин:

1. За счет ввода витаминов и микроэлементов в продукты питания произойдет обогащение рациона питания человека, укрепление его здоровья и повышение иммунитета.

2. Применение биобезопасных ГМО позволит с одной стороны производить вкусную и безопасную еду для малообеспеченных слоев населения, что позволит сократить численность голодающего населения в мире, с другой стороны - сохранить в природе многообразие растений и животных.

3. Ввод обязательных этикеток на продукты питания с указанием процентного содержания ГМО в продукте позволит вытеснить с отечественного рынка импортные продукты питания с 100%-ым содержанием ГМО.

На наш взгляд, для эффективного использования ГМО в пищевой промышленности необходимо принятие нормативно-правового

документа об ответственности производителя за некачественные продукты питания и увеличение количества центров, лабораторий, методик и тестов по проверке продуктов питания на наличие ГМО, нитратов и нитритов.

Литература

1. Горчакова Н.Г., Антипова М.В. Генетически модифицированные организмы / Н.Г. Горчакова, М.В. Антипова // Ветеринарная патология. № 2. 2007. С.24-28.

УСТОЙЧИВАЯ К КАДМИЮ РАСТИТЕЛЬНО-МИКРОБНАЯ СИСТЕМА НА ОСНОВЕ МУТАНТА ГОРОХА SGECD¹, ГРИБА АРБУСКУЛЯРНОЙ МИКОРИЗЫ, КЛУБЕНЬКОВЫХ БАКТЕРИЙ И РИЗОБАКТЕРИЙ

Пухальский Я. В., Шапошников А. И., Азарова Т. С., Макарова Н. М.,
Сафронова В. И., Белимов А. А.

Всероссийский научно-исследовательский институт
сельскохозяйственной микробиологии Россельхозакадемии

Jankiss88@Gmail.com

Высокая устойчивость микроорганизмов к тяжелым металлам обуславливает возможность образования эффективных взаимодействий с растениями в стрессовых условиях и их положительные эффекты на адаптацию растений к токсикантам. Образование растительно-микробных симбиозов может служить ресурсосберегающим и экологически безопасным приемом для повышения эффективности технологий фиторемедиации (Safronova et al., 2011). Многие симбиотические микроорганизмы содержат фермент АЦК дезаминазу, который повышает устойчивость растений к стрессам за счет снижения биосинтеза стрессового фитогормона этилена (Белимов, Сафронова, 2011). Однако, о его роли в противодействии токсическому действию тяжелых металлов на растения и образование симбиоза известно мало. В связи с этим, актуальными являются поиск устойчивых к ТМ симбиотических растительно-микробных систем, обладающих высокой урожайностью вегетативной массы и активно аккумулирующих ТМ. Особую роль для восстановления плодородия и биоценоза загрязненных почв могут играть бобовые растения, активно образующие различного типа симбиозы с микроорганизмами (Safronova et al., 2011).

Целью наших исследований являлось создание симбиотической растительно-микробной системы, состоящей из устойчивых к кадмию бобового растения и комплекса симбиотических микроорганизмов, с повышенным адаптационным потенциалом для восстановления здоровых экосистем.

Основными объектами исследований были: (1) уникальный мутант гороха SGECD¹, который является единственным в мире мутантом высших растений характеризующийся одновременно повышенной устойчивостью и аккумуляцией тяжелых металлов (Tsyganov et al., 2007);

(2) устойчивый к кадмию генотип горчицы сарептской (*Brassica juncea* (L.) Czern.) ВИР263 (Belimov et al., 2007); (3) устойчивый к кадмию штамм арбускулярного микоризного гриба *Glomus* sp. 1Fo (штамм селекционирован в ходе выполнения данной НИР); (4) устойчивые к кадмию и высокоэффективные штаммы клубеньковых (*Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* 1066) и ассоциативных (*Variovorax paradoxus* 5C-2) бактерий из коллекции ВКСМ (ГНУ ВНИИСХМ, Санкт-Петербург), содержащие фермент АЦК дезаминазу.

Результаты испытания устойчивой к кадмию симбиотической растительно-микробной системы, состоящей из мутанта гороха SGECD¹ и комплекса микроорганизмов *Glomus* sp. 1Fo, *Rh. leguminosarum* bv. *viciae* 1066) и *V. paradoxus* 5C-2, показали, что в присутствии токсичных концентраций кадмия в почве происходит активное образование и функционирование симбиотических структур, включая развития микоризы (мицелия, акбускул и везикул), образования азотфиксирующих клубеньков и колонизация корней интродуцированными ризобактериями. Инокуляция гороха микроорганизмами в условиях кадмиевого стресса повысила биомассу гороха в 2-3 раза и существенно повысила ассимиляцию питательных элементов и вынос кадмия растениями из почвы. Существенный вклад в улучшение роста растений гороха и потребления ими элементов минерального питания внес также генотип растения, поскольку биомасса мутанта SGECD¹ была больше по сравнению с диким типом на 60%. Однако ростовая реакция горчицы сарептской, которая не образует микоризного и ризобияльного симбиоза, на инокуляцию микроорганизмами была несущественной и не влияла на содержание и вынос кадмия растениями из почвы.

Установлено, что предлагаемая симбиотическая система существенно повышает адаптационный потенциал бобового растения (горох является чувствительным к кадмию видом и не аккумулирует этот токсикант) к токсичному кадмию, делает его сравнимым по фитоэкстракционной способности с известным аккумулятором кадмия горчицей сарептской, и обогащает почву полезными микроорганизмами. Данный эффект достигается за счет генетической модификации растения и положительного действия микроорганизмов на рост, минеральное питание и аккумуляцию кадмия растениями. Полученные научные результаты могут быть использованы для создания эффективных экологически безопасных, ресурсо- и энергосберегающих технологий фитостабилизации восстановления здоровых фито- и микробоценозов загрязненных почв.

Работа поддержана грантами РФФИ (09-04-01614-а; 12-04-01501-а) и, Минобрнауки РФ (ГК 16.512.11.2162).

Литература

1. Белимов А.А., Сафронова В.И. АЦК деаминаза и растительно-микробные взаимодействия (обзор). Сельскохозяйственная биология. 2011, №3, 23-28.
2. Belimov A.A., Safronova V.I., Demchinskayaa S.V., Dzyuba O.O. Intraspecific variability of cadmium tolerance in hydroponically grown Indian mustard (*Brassica juncea* (L.) Czern.) seedlings. *Acta Physiol. Plant.*, 2007, 29, 473-478.
3. Safronova V.I., Piluzza G., Bullitta S., Belimov A.A. Use of legume-microbe symbioses for phytoremediation of heavy metal polluted soils: advantages and potential problems (Review). In: *Handbook for Phytoremediation*, Golubev I.A. (Ed.), NOVA Sci. Publ., USA, 2011, 443-469.
4. Tsyganov V.E., Belimov A.A., Borisov A.Y., Safronova V.I., Georgi M., Dietz K.-J., Tikhonovich I.A. A chemically induced new pea (*Pisum sativum* L.) mutant SGECdt with increased tolerance to and accumulation of cadmium. *Ann. Botany*, 2007, 99, 227-237.

**ВНЕКЛЕТОЧНАЯ ПЕПТИДАЗНАЯ АКТИВНОСТЬ
МИКРООРГАНИЗМОВ ТЕРМАЛЬНЫХ ИСТОЧНИКОВ
ЗАБАЙКАЛЬЯ**

Раднагуруева А.А., Лаврентьева Е.В.

Институт общей и экспериментальной биологии СО РАН, г. Улан-Удэ

aryuna_rg@mail.ru

В работе представлены результаты изучения внеклеточной пептидазной активности культур Um-09m, Gor-10s, Га-35, Se-1-10, выделенных из термальных источников Забайкалья. Особенностью этих гидротерм являются высокие значения температуры до 60°C и значения pH до 9,7.

По данным молекулярно-генетического анализа наибольшее сходство у культуры Um-09m выявлено с *Bacillus licheniformis* strain BPRIST006 (99,8 %), Gor-10s и Га-35 на 100 % *Paenibacillus dendritiformis* strain P411, Se-1-10 на 98,9 % с *Anoxybacillus eryuanensis* E112 и на 98,4 с *Anoxybacillus flavithermus* strain DSM 2641.

Анализ внеклеточной пептидазной активности показал, что все изученные штаммы культур активны на субтилизинподобном субстрате. Многие авторы считают, что именно усиленный синтез субтилизинподобных пептидаз является одним из способов адаптации бактерий к экстремальным условиям окружающей среды. Интересен факт, что культура Га-35, выделенная из микробного мата горячего источника Гарга, кроме субтилизиноподобной, обладает высокой аминопептидазной активностью. Характерно, что штаммы не гидролизуют субстраты, специфичные для химотрипсинподобных и цистеиновых пептидаз.

Выживание микроорганизмов в термальных источниках и их функционирование обеспечивается благодаря сохранению каталитической активности в широких пределах pH и температур.

Было показано, что все изученные культуры активны в широком диапазоне значений pH от 7,3 до 11,3. Пептидазы стабильны в диапазоне 40-60°C, оптимум активности наблюдался при 50°C.

Проведенный анализ функциональных групп активного центра показал, что активность внеклеточных пептидаз по субстрату GlpAALpNA, у большинства изученных культур, подавляется специфическим ингибитором сериновых пептидаз -

фенилметилсульфонилфторидом (ФМСФ). Полученные в работе результаты позволяют отнести их к классу сериновых пептидаз субтилизиноподобного типа.

Авторы выражают глубокую благодарность д.б.н., проф. Дунаевскому Я.Е. за оказанную помощь в проведении работы.

***Работа выполнена при поддержке грантов ФЦП МО РФ
Соглашение 8116, РФФИ №12-04-10048_к, 12-04-98079_р_сибирь_а,
Интеграционные проекты Президиума СО РАН № 5, 56, 94.***

**КУЛЬТУРАЛЬНЫЕ И МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ПРИЗНАКИ
ШТАММОВ ГРИБОВ РОДА *ALTERNARIA*, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ
РИЗОСФЕРЫ НЕКОТОРЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ
ЦЕНТРАЛЬНОГО КАЗАХСТАНА**

Рахимова Е.В., Нечай Н.Л., Шеребаева А.А.

РГП «Республиканская коллекция микроорганизмов», Астана, Казахстан

evrakhim@mail.ru

Род *Alternaria* является космополитным и включает сапрофитные, эндофитные и патогенные виды. Экономическое значение имеют возбудители заболеваний (альтарнариозов) следующих сельскохозяйственных культур: картофеля, томата, капусты, рапса, моркови, подсолнечника [1], а также плодовых, цитрусовых и зерновых культур [2]. Представители рода *Alternaria* часто встречаются в почве. Сообщества почвенных грибов, ассоциированных с корневой системой растений, играют важнейшую роль в обмене веществ, поддерживая рост растений, повышая их урожайность и обеспечивая биоконтроль болезней. В настоящее время изучению почвенных грибов в ризосфере различных растений, необходимому для активного повышения плодородия почв, а также для прогноза возможных вспышек болезней хозяина и разработки мероприятий по борьбе с их возбудителями, уделяется большое внимание.

Предлагаемая статья является частью результатов исследований по изучению разнообразия грибов ризосферы и ризопланы полыни гладкой (*Artemisia glabella* Kar. et Kir.) и аянии кустарничковой (*Ajania fruticulosa* (Ledeb.) Poljak.), с целью поиска способов повышения продуктивности данных видов растений. Исследования проводились в ходе реализации проекта «Разработка биопрепарата с ростстимулирующей и фунгицидной активностью на основе ризо- и планосферной микрофлоры лекарственных растений».

Материалы и методы исследований

Отбор почвенных грибов осуществляли из ризосферы и ризопланы полыни гладкой (*Artemisia glabella* Kar. et Kir.) и аянии кустарничковой (*Ajania fruticulosa* (Ledeb.) Poljak.), культивируемых в промышленных масштабах на территории Карагандинской области республики Казахстан. Для выделения грибов из почвы использовали методы почвенных разведений и прямого посева почвы, с поверхности корней

растений и почвы, находящейся в непосредственной близости от них, грибы изолировали методом водных смывов [3]. Для роста изолятов применяли культивирование на среде Чапека и картофельном агаре в термостате при температуре $23 \pm 2^\circ\text{C}$ в течение 5-7 суток [3]. Образцы грибов изучали с помощью фотомикроскопа Polyvar с интерференционной оптикой Номарского при различных увеличениях. Измерение размеров отдельных грибных структур проводили при помощи микрофотографий. Для идентификации почвенных грибов на основе культуральных признаков и морфологии конидий и конидиеносцев использовались определители и монографические сводки [1, 4]. Названия видов изолированных грибов и авторы приведены в соответствии с базой данных Index Fungorum [5].

Результаты исследований

В результате исследований получено 6 штаммов, идентифицированные как *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl. (= *A. tenuis* Nees, *A. fasciculata* (Cooke & Ellis) Jones & Crout.) и *Alternaria sp.*, различающихся по плотности, текстуре, окраске и скорости нарастания колоний, а также по морфологии конидий и конидиеносцев.

Штамм № 1-11 (*A. alternata*). Колонии на среде картофельный агар буро-черные, войлочные (Рисунок 1), по краю беловатый ободок, быстро растущие (заросло почти 2/3 чашки). Обратная сторона колонии черная с беловатым краем. При микроскопировании воздушного мицелия обнаружены гифы разного диаметра и окраски. Диаметр тонких гиф составляет (0,97-1,93) мкм, толстых - (3,86-5,79) мкм. Конидиеносцы одиночные, коричневые, короткие (длина 23,17 (38,61) мкм), диаметром около 3,86 мкм. Конидии окрашенные (темно-коричневые), гладкие, в цепочках, муральные, 3-5 поперечных перегородок с перетяжками и 1 (редко 2) продольная неполная перегородка. Размеры конидий (30,89-42,47 x 9,65-11,58) мкм. Один из концов конидии несколько оттянут и обычно не окрашен.

Штамм № 1-16 (*A. alternata*). Колонии на среде картофельный агар серовато-черные, войлочные, плотные, край серовато-белый. Реверс черный. Запах неприятный. Гифы воздушного мицелия тонкие бесцветные диаметром от 1,92 мкм до 3,85 мкм. На них наблюдаются одиночные конидиеносцы, более толстые, диаметром около 3,85 мкм, длиной (30,77-48,08) мкм, светло-коричневые. Конидии в коротких цепочках (по 1-3), окрашенные, темно-коричневые, гладкие, муральные, 3-6 поперечных перегородок и 1 (редко 2) продольная неполная перегородка. Размеры конидий (26,92-30,77 x 7,69-9,62) мкм. Перегородки с перетяжками. Один из концов конидии оттянут и обычно

не окрашен.

Штамм № 5-1 (*A. alternata*). Колонии на среде Чапека распростертые, слабо-войлочные, видимо сначала белые, затем коричневые, потом черные. Обратная сторона колонии черно-серо-коричневого цвета. Гифы воздушного мицелия септированные, разного диаметра. Зрелые гифы становятся окрашенными. Конидиеносцы одиночные, коричневые (Рисунок 2). Конидии в неветвящихся и ветвящихся цепочках (Рисунок 3), окрашенные, темно-коричневые, гладкие или шероховатые (Рисунок 4), муральные, 4-6 поперечных перегородок и 1 (редко 2) продольная неполная перегородка. Размеры конидий (28,86-48,07 x 11,54-15,38) мкм. Перегородки с перетяжками. Один из концов конидии оттянут и обычно не окрашен.

Штамм № 11-3 (*A. alternata*). Колонии на среде картофельный агар, плотные войлочные, серовато-грязно-зеленого цвета. Реверс черный. При микроскопировании воздушного мицелия обнаружены септированные, не окрашенные гифы разного диаметра. Диаметр тонких извилистых гиф 0,97-2,90 мкм, толстых - 3,87-5,80 мкм. Зрелые гифы становятся окрашенными. Конидиеносцы одиночные, коричневые. Конидии окрашенные, темно-коричневые, в неветвящихся (редко - ветвящихся) цепочках, муральные, 4-6 поперечных перегородок и 1 (редко 2) продольная неполная перегородка. Размеры конидий (21,28-38,68 x 9,67-11,60) мкм. Перегородки с перетяжками. Один из концов конидии оттянут.

Штамм № 52 (*A. alternata*). Колонии на среде Чапека плотные войлочные, серовато-коричневые, край колонии более светлый. Обратная сторона колонии не окрашена. Гифы воздушного мицелия септированные, не окрашенные. Диаметр тонких гиф 1,91-2,87 мкм, толстых - 3,83-5,75 мкм. Конидиеносцы одиночные, коричневые. Конидии окрашенные, темно-коричневые, в неветвящихся (редко - ветвящихся) цепочках, муральные, 3-7 поперечных перегородок и 1 (редко 2) продольная неполная перегородка. Размеры конидий (28,73-51,72 x 9,58-13,41) мкм. Перегородки с перетяжками. Верхушечная клетка короткая или удлиненная, в виде бесцветного отростка.

Штамм № 7-6 F. (*Alternaria sp.*) Колонии на среде Чапека быстро растущие (на всю чашку), бархатисто-пушистые, розоватые, центр серый, обратная сторона колонии розоватая, запах слабый, неприятный. При микроскопировании воздушного мицелия обнаружены гифы, диаметр большей части которых составляет 1,2-2,4 мкм. Конидии коричневые, шиповатые, муральные с 4-7 поперечными перегородками и 1-2

продольными, в неветвящихся коротких цепочках. Длина конидий составляет около 38,63 мкм, ширина – 21,86 мкм.

Основываясь на культуральных признаках изолятов можно выявить 3 типа колоний. Первый тип характеризуется относительно быстро растущими войлочными колониями серовато-грязно-зеленого, буро-черного, серовато-черного, коричневатого-черного цвета, оборотная сторона колонии черная, черная с беловатым краем, черно-сери-коричневая. К этому типу относятся колонии большинства штаммов (№№ 1-11, 1-16, 5-1, 11-3). Для второго типа характерны плотные войлочные, серовато-коричневые колонии с более светлым краем (№ 52). Обратная сторона колонии не окрашена. Третий тип характеризуется очень быстро растущими бархатисто-пушистыми, розоватыми колониями с сероватым центром (№ 7-6 F). Обратная сторона колонии розоватая, запах слабый, неприятный.

На основании габитуса спороношения у выделенных изолятов можно выявить 3 типа конидиального спороношения. Для первого типа характерны конидии в ветвящихся длинных цепочках (№ 5-1). Ко второму типу отнесены изоляты с конидиями в неветвящихся (редко – ветвящихся) цепочках (№№ 11-3, 52). Для третьего типа характерны конидии в коротких неветвящихся цепочках (№№ 1-11, 1-16, 7-6 F).

Размеры конидий выделенных изолятов *A. alternata* и варьируют незначительно. Самыми крупными являются конидии штамма № 52, длина которых достигает 51,72 мкм. В целом, у выделенных штаммов *A. alternata* и *Alternaria sp.* размеры конидий составляют (21,28-51,72 x 9,58-21,86) мкм. По данным некоторых авторов [6, 7], представители рода выказывают высокую экологическую пластичность в зависимости от условий культивирования (питательной среды, температуры, освещения и влажности), даже внутри одной культуры наблюдается значительное варьирование морфологии конидий (размеров, формы, септирования, окраски и орнаментации) в зависимости от возраста конидии. Необходимо также отметить, что на естественных субстратах размеры конидий представителей рода *Alternaria* всегда значительно крупнее, чем на искусственных средах [6].

Штаммы № 1-16 и 7-6 F проявляют фитопатогенные свойства, несмотря на то, что исследованные виды лекарственных растений содержат биологически активные природные сесквитерпеновые лактоны, эфирные масла, флавоноиды, экдистероиды и алкалоиды, которые проявляют антимикробную активность.

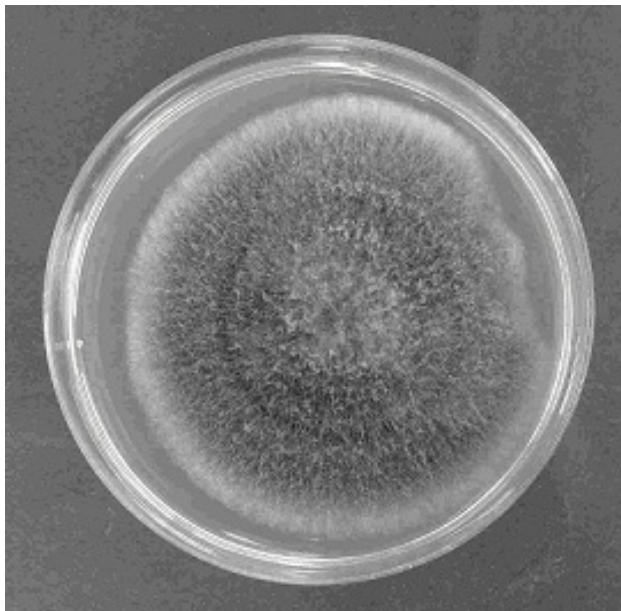


Рис. 1. Колонии штамма № 1-11 (*A. alternata*) на среде картофельный агар

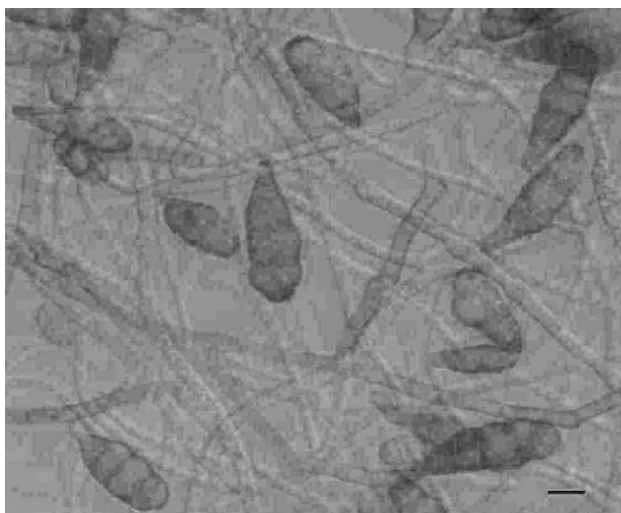


Рис. 2. Конидиеносец (стрелка) и конидии штамма № 5-1 (*A. alternata*), шкала 15 мкм

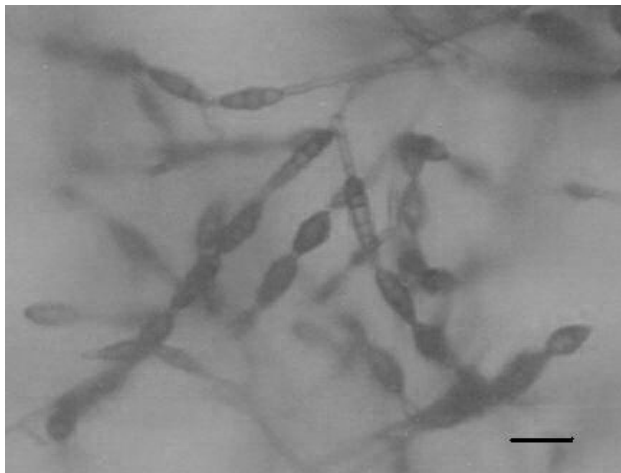


Рис. 3. Вид конидиальных цепочек штамма № 5-1 (*A. alternata*), шкала 50 мкм

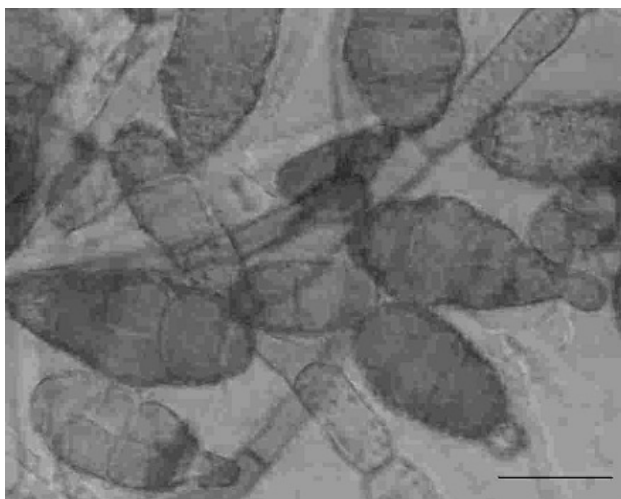


Рис. 4. Конидии штамма № 5-1 (*A. alternata*), с шероховатой поверхностью, шкала 15 мкм

Литература

1. Ганнибал Ф.Б. Мониторинг альтернариозов сельскохозяйственных культур и идентификация грибов рода ALTERNARIA. - СПб, 2011. - 71с.
2. Pryor В.М., and Michailides Т.Ј. Morphological, pathogenic, and molecular characterization of Alternaria isolates associated with Alternaria late blight of pistachio. - Phytopathology. - 2002. - Vol. 92. - P. 406-416.
3. Методы экспериментальной микологии / под ред. В.И.Билай. - Киев: Наук.думка, 1982. - 552с.
4. Watanabe Т. Pictorial atlas of soil and seed fungi: Morphologies of cultured fungi and key to species. - CRC Press, 2002 - 486 p.
5. База данных Index Fungorum (<http://www.indexfungorum.org/names/names.asp>).
6. Misaghi, I. J., Grogan, R. G., Duniway, J. M., and Kimble, K. A. Influence of environmental and culture media on spore morphology of Alternaria alternata. - Phytopathology. - 1978. - Vol. 68. - P. 29-34.
7. Simmons, E. G. 1992. Alternaria taxonomy: Current status, viewpoint, challenge. Pages 1-35 in: Alternaria Biology, Plant Diseases and Metabolites. J. Chelkowski and A. Visconti, eds. Elsevier Science Publishers, Amsterdam.

МАТЕМАТИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ РЕГУЛЯТОРНОГО КОНТУРА ROB, MARR И MARA ГЕННОЙ СЕТИ *ESCHERICHIA COLI*

Ри М.Т., Хайрулин С.С.

ООО "АкадемДжин"

maxim.ree@googlemail.com

Введение

Одной из актуальных задач системной биологии, является исследование динамических свойств генных сетей в зависимости от структурно-функциональной организации, с использованием математического моделирования и высоко воспроизводительных вычислений [1, 2]. Концепция исследования генной сети *E.coli* состоит в разработке математических моделей отдельных регуляторных контуров, их анализа и последующего объединения подмоделей. Выбор генной сети *E.coli* связан с тем, что элементы сети и процессы наиболее хорошо исследованы и представлены как в научной литературе, так и в базах данных, таких как RegulonDB и EcoCyc. Особенностью *E.coli* является способность адаптироваться к быстро меняющимся условиям окружающей среды посредством переключения метаболизма на новый режим функционирования. Данное переключение осуществляется за счет работы регуляторных белков, элементов генной сети, которые либо непосредственно реагируют на внешний сигнал, либо участвуют в системе распространения сигнала внутри клетки.

Передача сигнала обеспечивается за счет положительных и отрицательных связей между регуляторными белками. Ранее в работе Ри М.Т. [3] была представлена генная сеть *E.coli* (прим. авт. Генная сеть - ориентированный граф, вершины которого являются регуляторными белками, а связи - тип регуляции). Основываясь на данной сети, нами рассмотрена взаимная регуляция трех регуляторных белков - Rob, MarR и MarA. Rob является мономером, относится к AraC/XylS белковому семейству, которые регулируют гены, вовлеченные в ответ на действия антибиотиков, органических солей и тяжелых металлов [4, 5]. В частности, к таким генам относятся гены белков MarR и MarA, входящие в состав оперона marRAB (рис. 1, а). Белок Rob положительно влияет на регуляцию оперона marRAB и повышает экспрессию в 1.5-2 раза [6]. В свою очередь регуляция экспрессии гена белка Rob находится под негативным контролем со стороны мономерного белка MarA и

собственного белка Rob [5, 7]. Сайты связывания MarA и Rob перекрывается с сайтом посадки РНК полимеразы (рис. 1, б) и между собой, в результате чего экспрессия оперона *rob* снижается в 2-4 раза благодаря MarA и в 3 раза при действии Rob [7]. Регуляторный белок MarA повышает экспрессию оперона *marRAB* в 1.5-3 раза [6, 8]. Белок MarR является гомодимером [9] и связывается с двумя сайтами связывания в регуляторной области оперона *marRAB*, один из которых перекрывается с сайтом посадки РНК полимеразы (рис. 1, а), что приводит к снижению экспрессии в 19 раз [10]. Помимо Rob, MarR и MarA в регуляции оперона *marRAB* задействованы регуляторные белки – SoxS, Fis, Crp и Cra [6, 11, 12], также SoxS негативно регулирует оперон *rob* [7]. Сложность взаимной регуляции между генами и их продуктами является основной особенностью природных генных сетей, которая помогает клетке выживать в самых разнообразных условиях. Представленные белки Rob, MarR и MarA, взаимно регулируются пятью регуляторными связями (рис. 1, в).

Таким образом, на основе имеющихся данных, целью настоящей работы было продемонстрировать динамические свойства данного контура с помощью математического моделирования и проанализировать механизмы прямой и обратной связей. Поскольку большинство динамических процессов со сложной регуляцией демонстрируют стохастическое поведение и процессы запаздывания в регуляции, то в настоящей работе вначале рассматриваются детерминистическая и стохастическая модель, без учета запаздывающего аргумента, а затем в обе модели вводится запаздывающий аргумент. Важно отметить, что ранее данный контур не моделировался и не представлен в научной литературе.

Материалы и методы

Математическая модель (M) строилась как система обыкновенных дифференциальных уравнений, описывающая глобальные скорости изменения концентраций белков. Глобальные скорости вычислялись на основании закона суммирования локальных скоростей, описывающих процесс синтеза или деградации белка. Численные расчеты и анализ модели (M) проводились средствами программы «Mathematica 7.0». Математическая модель, код программы и результаты анализа данных доступны по адресу https://dl.dropbox.com/u/52461630/DATA_KAZAN.zip

Результаты исследования

Математическая модель регуляторного контура Rob, MarA и MarR.

Переменные математической модели (M) – Rob (x_1), MarA (x_2), MarR (x_3). f_1 и f_2 – функции, описывающие регуляцию экспрессии оперонов rob и marRAB, соответственно. Структура функций f_1 и f_2 записана с учетом структурно-функциональной организации регуляторной области оперонов (рис. 1, а, б). Параметры модели представлены в табл. 1.

$$\begin{cases} \frac{dx_1}{dt} = k_{10} \times f_1 - k_8 \times x_1[t] \\ \frac{dx_2}{dt} = k_{11} \times f_2 - k_9 \times x_2[t] \\ \frac{dx_3}{dt} = k_{12} \times f_2 - k_{13} \times x_3[t] \end{cases} \quad f_1 = \frac{1}{1 + \frac{x_1[t]}{k_0} + \frac{x_2[t]}{k_1}}, \quad f_2 = \frac{1 + \frac{x_1[t]}{k_2} + \frac{x_2[t]}{k_4}}{1 + \frac{x_1[t]}{k_3} + \frac{x_2[t]}{k_5}} \times \frac{1}{1 + \left(\frac{x_2[t]}{k_6}\right)^{k_7}} \quad (M)$$

Параметр	Описание
$k_0=3448$ [молекул]	Константа ингибирования экспрессии оперона rob белком Rob
$k_1=6667$ [молекул]	Константа ингибирования экспрессии оперона rob белком MarA
$k_2=1000$ [молекул]	Константы, характеризующие активацию экспрессии оперона marRAB белком Rob
$k_3=2333$ [молекул]	
$k_4=1000$ [молекул]	Константы, характеризующие активацию экспрессии оперона marRAB белком MarA
$k_5=3333$ [молекул]	
$k_6=2913$ [молекул]	Константа ингибирования экспрессии оперона marRAB белком MarR
$k_7=4$	Константа, характеризующая степень нелинейности влияния MarR на регуляцию экспрессии оперона marRAB
$k_8=0.0023$ [сек ⁻¹]	Константа деградации белка Rob
$k_9=0.0023$ [сек ⁻¹]	Константа деградации белка MarA
$k_{10}=97$ [молекул/сек]	Обобщенная константа синтеза белка Rob
$k_{11}=312$ [молекул/сек]	Обобщенная константа синтеза белка MarA
$k_{12}=312$ [молекул/сек]	Обобщенная константа синтеза белка MarR
$k_{13}=0.0077$ [сек ⁻¹]	Константа деградации белка MarR

Результаты численного расчета математической модели (M).

Результаты модели (M) демонстрируют, что система имеет стационарное решение. Полученные стационарные значения концентраций регуляторных белков, соответствуют литературным данным для Rob [13, 14, 15] и MarA [11, 17]. Значение концентрации MarR соответствует теоретической оценке на основании количественных данных по мРНК marR [16]. Решение является асимптотически устойчивым, поскольку собственные числа матрицы Якоби являются отрицательными, при начальных данных трех переменных Rob (x_1), MarA (x_2), MarR (x_3), соответствующих значениям из литературы.

Параметрический анализ модели (M). На первом этапе проведен параметрический анализ поведения модели (M). Численный анализ показал, что варьирование по отдельности каждого параметра k_0, k_2, \dots, k_7 обеспечивает наличие разных наборов устойчивых стационарных значений трех переменных Rob (x_1), MarA (x_2), MarR (x_3). На рис. 2 представлен пример изменения значения MarR (x_3) в зависимости от варьирования каждого параметра на один порядок, как в сторону уменьшения, так и в сторону увеличения. Для данного интервала параметры $k_0 - k_5$ и $k_8 - k_{11}$ изменяют стационарное значение MarR (x_3) не более чем на 56%. Оставшиеся два параметра k_6 и k_7 являются более чувствительными. Стоит отметить, что параметры $k_2 - k_5$, характеризующие активацию экспрессии оперона marRAB белком Rob и белком MarA, представляют наибольший интерес для изучения, поскольку входят в функцию f_3 , как и параметры k_6 и k_7 . Более детально рассмотрим влияние варьирования параметра k_7 на динамику изменения стационарных значений трех переменных. Напомним, параметр k_7 характеризует степень нелинейности влияния MarR на регуляцию экспрессии оперона marRAB. Значение параметра равно 4, поскольку MarR является гомодимером [9] и взаимодействует с двумя перекрывающимися сайтами связывания [10]. При увеличении параметра k_7 на два порядка значения величины трех переменных изменяется не более чем в два раза, а при уменьшении до 1 количество Rob снижается в 1.8 раза, а MarA и MarR увеличивается в 3 раза (рис. 3). Соответствующие расчеты показывают, что параметр k_7 является чувствительным для всех трех переменных и может быть выбран в качестве дальнейшего изучения в экспериментах *in silico*.

Запаздывающий аргумент. На следующем этапе модель (M) рассматривается с учетом запаздывающих аргументов T . В результате мы перепишем функции f_1 и f_2 следующим образом:

$$f_1 = \frac{1}{1 + \frac{x_1[t-T]}{k_0} \times \frac{x_2[t-T]}{k_1}}, \quad f_2 = \frac{1 + \frac{x_1[t-T]}{k_2} + \frac{x_2[t-T]}{k_4}}{1 + \frac{x_1[t-T]}{k_3} + \frac{x_2[t-T]}{k_5}} \times \frac{1}{1 + \left(\frac{x_3[t-T]}{k_6}\right)^{k_7}} \quad (M1)$$

Система дифференциальных уравнений остается той же самой. Стоит отметить, что для генетических процессов в клетки *E. coli* время задержки лежит в интервале от десятков секунд до нескольких минут [18-20]. Численные расчеты демонстрируют, что в зависимости от численного значения запаздывающего аргумента возможны два предельных случая поведения системы: стационарное решение (*прим. авт.* обозначим «СР») и периодические автоколебания («ПА»). На рис. 4 продемонстрированы примеры «ПА». Интересно, что режим функционирования «ПА» реализуется при значениях запаздывающего аргумента 67 секунд и более. Возможность существования предельного цикла в виде незатухающих автоколебаний порождает ряд интересных вопросов. Во-первых, какие регуляторные петли генерируют автоколебания? Во-вторых, как варьирование величины параметра k_7 , характеризующего степень нелинейности влияния MarR на регуляцию экспрессии оперона marRAB, меняет динамику системы? И в-третьих, являются ли колебания внутренним шумом, в зависимости от величины периода и амплитуды?

Влияние регуляторных петель на динамику модели (M1). На рис. 1 в и представлены пять регуляторных связей, которые обозначены через $L_1 - L_5$. Две регуляторных петли L_1 и L_2 регулируют по механизму прямой связи. Остальные три L_3 , L_4 и L_5 контролируют по механизму обратной связи. L_3 , L_4 и L_5 - отрицательные связи, а L_2 и L_3 - положительные связи. Введем данные обозначения в функции f_1 и f_2 модели (M1):

$$f_1 = \frac{1}{1 + (1-L_5) \times \frac{x_1[t-T]}{k_0} + (1-L_1) \times \frac{x_2[t-T]}{k_1}},$$

$$f_2 = \frac{1 + (1-L_2) \times \frac{x_1[t-T]}{k_2} + (1-L_3) \times \frac{x_2[t-T]}{k_4}}{1 + (1-L_2) \times \frac{x_1[t-T]}{k_3} + (1-L_3) \times \frac{x_2[t-T]}{k_5}} \times \frac{1}{1 + (1-L_4) \times \left(\frac{x_3[t-T]}{k_6}\right)^{k_7}} \quad (M2)$$

Положим, что при $L_i=1$, где $i=1,2,3,4,5$ регуляторная связь отсутствует, а если, $L_i=0$ то петля присутствует. Таким образом, численный анализ 32-х версий

(32 – комбинаторика пяти связей) модели (M2) показал, что автоколебания возникают в 16-ти версиях модели (M2), в которых учитывается влияние регуляторной петли L_1 и L_4 (рис. 1, в). Если убрать из рассмотрения контур L_1 , то только белки MarR и MarA изменяются периодически. Таким образом, можно заключить, что регуляторная петля L_4 по механизму обратной отрицательной связи генерирует автоколебания, а через механизмы прямой отрицательной связи запускает автоколебания белка Rob. При этом регуляторная петля L_5 по механизму обратной отрицательной связи не генерирует автоколебания.

Влияние параметра k_7 на динамику системы. Для любого $T \geq 67$ уменьшение k_7 приводит к стационарному решению, а увеличение к предельному циклу. Важно отметить, что параметр k_7 , характеризует нелинейный процесс, осуществляемый через регуляторную петлю L_4 по механизму обратной отрицательной связи, наличие которой обеспечивает колебания в системе.

Взаимосвязь периода и амплитуды с запаздывающим аргументом. Исходя из того, что для генетических процессов в клетки *E. coli* время задержки лежит в интервале от десятков секунд до нескольких минут [18-20] нами выбран интервал запаздывающего аргумента от 67 сек., величина, с которой реализуются колебания до 5 минут. Численные расчеты модели (M1) продемонстрировали, что для данного интервала значение периода колебаний концентраций белков Rob, MarA и MarR растет линейно в интервале от 229 сек. (≈ 4 мин.) до 985 сек. (≈ 16 мин.) (рис. 5, а). При этом амплитуда изменяется нелинейно (рис. 5, б). Численные значения амплитуды для переменной Rob составляют несколько десятков молекул, а для MarA и MarR тысячи молекул. Таким образом, колебания, как внутреннее свойство системы не является внутренним шумом.

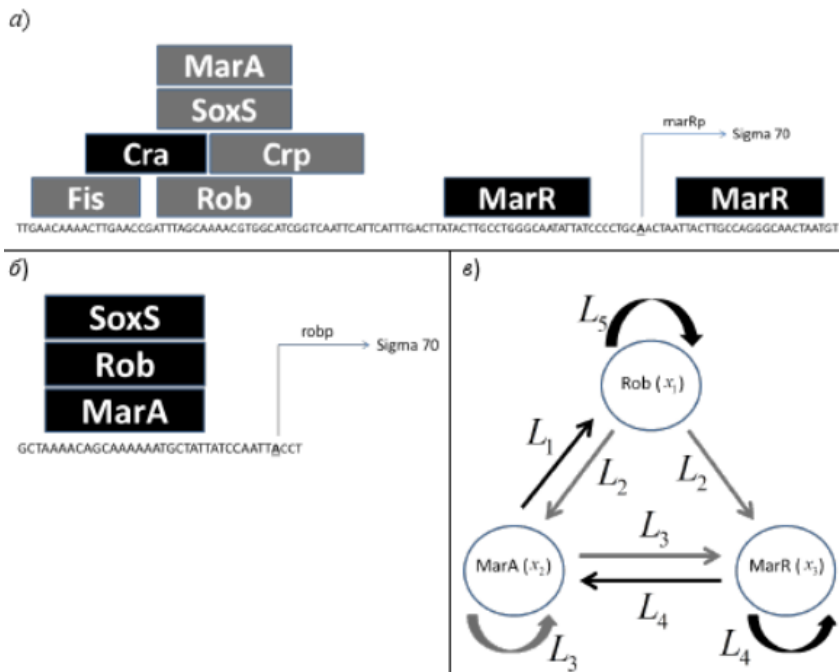


Рис. 1. (а) Регуляторная область оперона *marRAB*. (б) Регуляторная область оперона *rob*. (в) Общая схема регуляторного контура, состоящего из трех белков. Обозначения для (а) и (б): прямоугольничком черного цвета обозначены регуляторные белки, выступающие в роли ингибиторов, серого цвета – активаторы. *marRp* и *robp* - название промоторов оперона *marRAB* и *rob*, соответственно. Sigma 70 – сигма фактор в составе РНК полимеразы. Обозначения для (в): овалами белого цвета обозначены белки. Черные стрелки – ингибирование экспрессии гена, соответствующего белка, Серые – активация. x_1 , x_2 и x_3 - переменные математической модели (M). L_1 , L_2 , L_3 , L_4 , L_5 - обозначения регуляторных контуров. Поскольку гены белков *MarR* и *MarA* входят в состав одного оперона *marRAB*, то L_2 , L_3 , L_4 повторяются дважды.

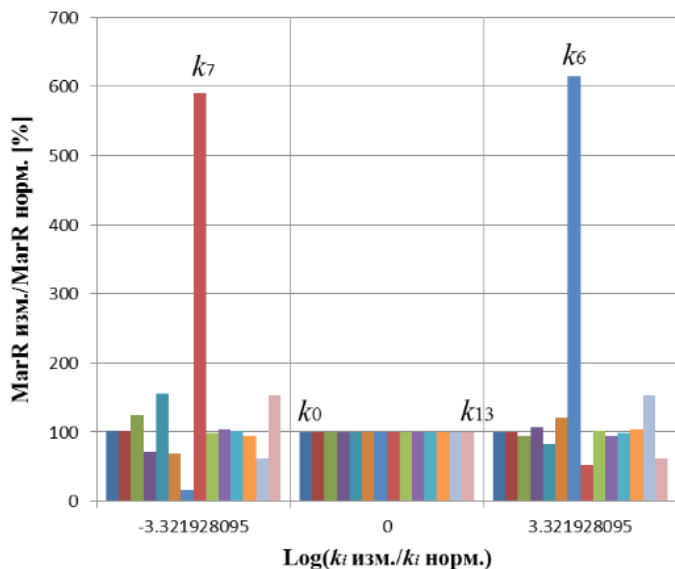


Рис. 2. Изменение стационарного значения $MagR$ в зависимости от изменения параметров $k_0 - k_{13}$. По оси абсцисс отложен логарифм отношения измененного параметра (прим. авт. обозначено изм.) к не измененному параметру (прим. авт. обозначено норм.). По оси ординат отношение измененного значения $MagR$ к не измененному значению.

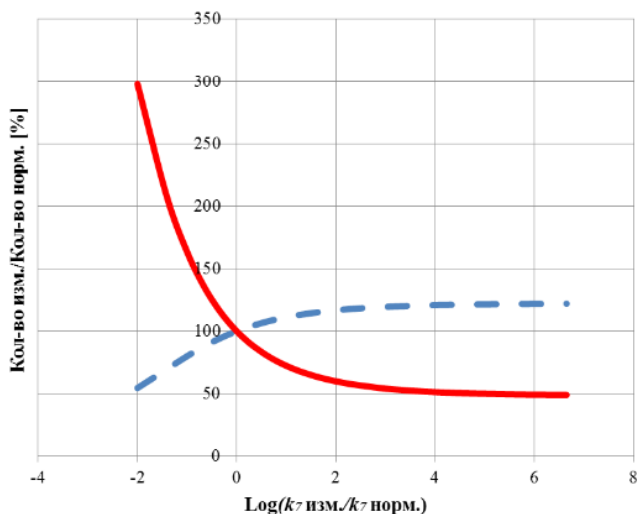


Рис. 3. Изменение стационарного значения Rob (штриховая линия) и MarR (сплошная линия) в зависимости от изменения параметра k_7 . По оси абсцисс отложен логарифм отношения измененного параметра (прим. авт. обозначено изм.) к не измененному параметру (прим. авт. обозначено норм., и k_7 норм =4). По оси ординат отношение измененного значения к неизмененному значению. Кривая по MarA совпадает с кривой MarR.

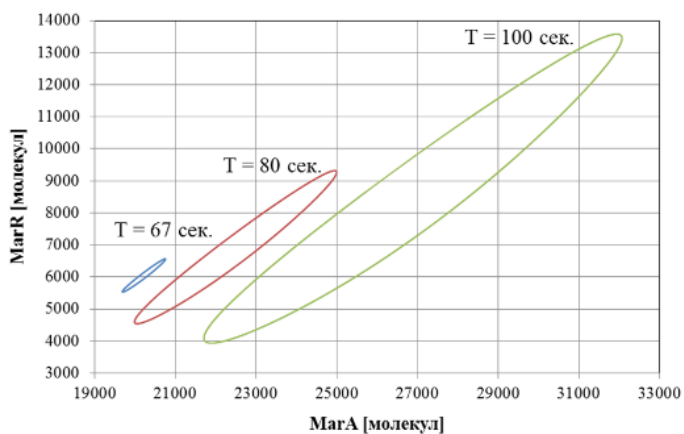


Рис. 4. Фазовый портрет двух переменных MarA (x_2) и MarR (x_3). Предельные циклы в виде незатухающих автоколебаний представлены при разных значениях времени запаздывания.

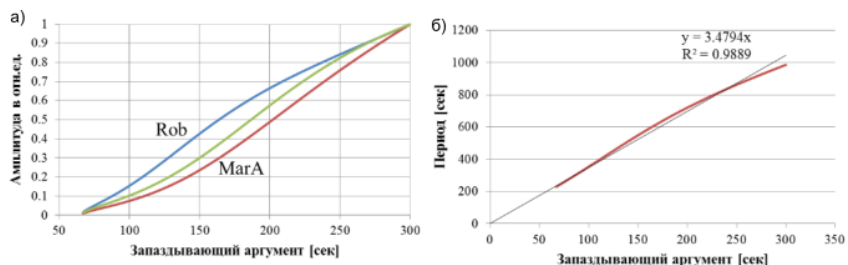


Рис. 5. Зависимость периода (а) и амплитуды (б) от запаздывающего аргумента для трех переменных Rob, MarA и MarR. Для (б) величина оси ординат вычисляется, как значение амплитуды в каждой точке поделенное на значение амплитуды при запаздывающем аргументе 300 сек.

Литература

1. Лихошвай В.А., Голубятников В.П., Демиденко Г.В., Фадеев С.И., Евдокимов А.А. Теория генных сетей. Системная компьютерная биология. Интеграционные проекты. Новосибирск: Издательство СО РАН, 2008. - 14, 397-480 с.
2. Казанцев Ф.В., Акбердин И.Р., Безматерных К.Д., Лихошвай В.А. Система автоматизированной генерации математических моделей генных сетей // Вестник ВОГиС. - 2009. - Т. 13, № 1. - С. 163-169.
3. Ри М.Т. Анализ и математическое моделирование генной сети *Escherichia coli* // Ученые записки Казанского Университета. Серия Естественные науки. - 2012. - Т. 154, книга 2. - С. 247-262.
4. Kwon H.J., Bennik M.H., Demple B., Ellenberger T. Crystal structure of the *Escherichia coli* Rob transcription factor in complex with DNA // Nat Struct Biol. - 2000. - V. 7. - P. 424-430.
5. Domínguez-Cuevas P., Ramos J.L., Marqués S. Sequential XylS-CTD binding to the Pm promoter induces DNA bending prior to activation // J Bacteriol. - 2010. - V. 192. - P. 2682-2690.
6. Martin R.G., Rosner J.L. Fis, an accessory factor for transcriptional activation of the mar (multiple antibiotic resistance) promoter of *Escherichia coli* in the presence of the activator MarA, SoxS, or Rob // J Bacteriol. - 1997. - V. 179. - P. 7410-7409.
7. Schneiders T., Levy S.B. MarA-mediated transcriptional repression of the rob promoter // J Biol Chem. - 2006. - V. 281. - P. 10049-10055.
8. Martin R.G., Rosner J.L. Promoter discrimination at class I MarA regulon promoters mediated by glutamic acid 89 of the MarA transcriptional

- activator of *Escherichia coli* // *J Bacteriol.* - 2011. - V. 193. - P. 506-515.
9. Wilkinson S.P., Grove A. Ligand-responsive transcriptional regulation by members of the MarR family of winged helix proteins // *Curr Issues Mol Biol.* - 2006. - V. 8. - P. 51-62.
 10. Martin R.G., Rosner J.L. Transcriptional and translational regulation of the marRAB multiple antibiotic resistance operon in *Escherichia coli* // *Mol Microbiol.* - 2004. - V. 53. - P. 183-191.
 11. Wall M.E., Markowitz D.A., Rosner J.L., Martin R.G. Model of transcriptional activation by MarA in *Escherichia coli* // *PLoS Comput Biol.* - 2009. - V. 5, No 12. - URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2787020/>, свободный.
 12. Shimada T., Yamamoto K., Ishihama A. Novel members of the Cra regulon involved in carbon metabolism in *Escherichia coli* // *J Bacteriol.* - 2011. - V. 193. P. 649-659.
 13. Skarstad K., Thöny B., Hwang D.S., Kornberg A. A novel binding protein of the origin of the *Escherichia coli* chromosome // *J Biol Chem.* - 1993. - V. 268. - P. 5365-5370.
 14. Ali Azam T., Iwata A., Nishimura A., Ueda S., Ishihama A. Growth phase-dependent variation in protein composition of the *Escherichia coli* nucleoid // *J Bacteriol.* - 1999. - V. 181. - P. 6361-6370.
 15. Rosner J.L., Dangi B., Gronenborn A.M., Martin R.G. Posttranscriptional activation of the transcriptional activator Rob by dipyrindyl in *Escherichia coli* // *J Bacteriol.* - 2002. - V. 184. - P. 1407-1416.
 16. Lu P., Vogel C., Wang R., Yao X., Marcotte E.M. Absolute protein expression profiling estimates the relative contributions of transcriptional and translational regulation // *Nat Biotechnol.* - 2007. - V. 25. - P. 117-124.
 17. Martin R.G., Gillette W.K., Martin N.I., Rosner J.L. Complex formation between activator and RNA polymerase as the basis for transcriptional activation by MarA and SoxS in *Escherichia coli* // *Mol Microbiol.* - 2002. - V. 43. - P. 355-370.
 18. Rosenfeld N., Elowitz M.B., Alon U. Negative autoregulation speeds the response times of transcription networks // *J Mol Biol.* - 2002. - V. 323. - P. 785-793.
 19. Friedman N., Vardi S., Ronen M., Alon U., Stavans J. Precise temporal modulation in the response of the SOS DNA repair network in individual bacteria // *PLoS Biol.* - 2005. - V. 3, No 7. - URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1151601/>, свободный
 20. Wunderlich Z., Mirny L.A. Spatial effects on the speed and reliability of protein-DNA search // *Nucleic Acids Res.* - 2008. - V. 36. - P. 3570-3578.

**ИЗМЕНЕНИЯ В СЕКРЕЦИИ ГОРМОНОВ ГИПОФИЗА И ПОЛОВЫХ
ЖЕЛЕЗ, ХАРАКТЕРНЫЕ ДЛЯ ПАЦИЕНТОВ С
ПОСЛЕОПЕРАЦИОННЫМ РУБЦОВО-СПАЕЧНЫМ ЭПИДУРИТОМ**

Родионова Л.В., Кошкарева З.В., Сороковиков В.А., Скляренко О.В.,
Горбунов А.В.

ФГБУ "НЦРВХ" СО РАМН

greidmacho@yandex.ru

В каскаде сложных и многообразных реакций, протекающих в организме, ключевую роль играют гормоны, действие которых часто не ограничивается тропными тканями. В частности, половые стероиды помимо регуляции половых функций тесно связаны и непосредственно влияют на уровень основного метаболизма, термогенез, метаболизм костной ткани, могут влиять на обмен гормонов щитовидной железы, что, несомненно, сказывается на процессах саногенеза и дальнейшей адаптации пациентов с любой патологией [1].

Женщины в менопаузе имеют более высокую активность остеокластов по сравнению с женщинами в пременопаузе. Менопауза естественным образом сопровождается снижением продукции эстадиола, необходимого для регуляции ремоделирования кости у женщин. Поэтому женщины в постменопаузе могут испытывать внезапную и быструю потерю костной массы, что способствует развитию остеопороза.

Известны факты о роли половых стероидов в обмене йодтиронинов. Так, эстрадиол увеличивает активность дейодиназы 3 типа, фермента, участвующего в деградации гормонов щитовидной железы [2]. У взрослых этот изофермент присутствует в коже, мозге, а у женщин еще и в эндометрии, однако он может быть реактивирован во многих тканях, например, при ишемии или гипоксии. Дейодиназы могут повышать или снижать концентрацию йодтиронинов независимо от их секреции, что является еще одним путем регуляции функции щитовидной железы. Кроме того, эстрогены также являются наиболее значимыми индукторами повышения уровня тироксина (Т4) в плазме крови. Они увеличивают включение в Т4 сиаловых кислот, повышая его устойчивость к деструкции и способствуя накоплению в крови, кроме того эстрогены стимулируют процессы деления клетки и окостенение [3].

В отличие от эстрогенов, андрогены и анаболические стероиды

снижают уровень ТСГ в крови, а, соответственно, и общее содержание T_4 . Эутиреоидное состояние при этом обычно не нарушается [4]. Андрогены интенсивно влияют на обмен веществ, повышая синтез белка, особенно в мышцах, в результате чего увеличивается их объем. Укрепление мышечного корсета благоприятно при патологии позвоночника. Кроме этого, мужские половые гормоны активируют рост костей, усиливают процессы тканевого дыхания и накопление энергии [3].

Показано также, что половые стероиды стимулируют экспрессию мРНК тиоредоксина, играющего важную роль в поддержании окислительно-восстановительного потенциала клетки. Кроме того, имеются данные о влиянии половых гормонов на активность изоферментов глутатионпероксидаз, необходимых для защиты организма от окислительной модификации макромолекул.

Недавно доказана ассоциация между эстрогеном и статусом селена, что может быть важным в регулировании метаболизма селена и отражается на многих важных функциях организма (антиоксидантная защита, иммунные реакции, обмен йодтиронинов, костное ремоделирование, репродукция и др.) [5]. Есть работы, обосновывающие закономерности развития возрастной патологии в связи с угнетением функций основных органов иммунной и нейроэндокринной систем - тимуса и эпифиза [6].

Ранее мы сообщали что, у больных с послеоперационными рубцово-спаечными эпидуритами (ПРСЭ) с увеличением возраста выявлено нарастание неблагоприятных изменений функции щитовидной железы, способствующих снижению интенсивности обменных процессов, что может неблагоприятно влиять на реабилитацию таких пациентов [7]. Нарастание неблагоприятных эндокринных изменений с возрастом может быть связано с естественным уменьшением секреции половых гормонов. Важно также и то, что лекарственные препараты, используемые при лечении, могут в качестве побочных эффектов вызывать изменение гормонального баланса в организме, что целесообразно учитывать при назначении терапии. Исходя из этого целью работы было определение продукции гормонов гипофиза, половых желез и надпочечников у больных с послеоперационными рубцово-спаечными эпидуритами и оценка влияния стандартной схемы консервативного лечения на их секрецию.

Материалы и методы. В основу анализа взяты результаты обследования и лечения 45 человек с послеоперационным рубцово-спаечным эпидуритом. Все пациенты, включенные в исследование были ранее оперированы по поводу грыж межпозвонковых

дисков на поясничном отделе позвоночника.

Для оценки гормонального профиля в сыворотке крови с помощью иммуноферментного анализа определяли концентрацию гормонов аденогипофиза: пролактина, лютеинизирующего гормона (ЛГ), фолликулостимулирующего гормона (ФСГ); половых стероидов: эстрадиола и тестостерона. Для анализа результатов исследований больные были разделены на подгруппы: 1) мужчины - 11 чел. в возрасте $52,4 \pm 2,2$ лет; 2) женщины репродуктивного возраста - 12 чел. в возрасте $39,6 \pm 2,31$ лет; 3) женщины в менопаузе - 22 чел. в возрасте $57,1 \pm 1,7$ лет.

Обследование проводилось до и после курса консервативного лечения.

Контрольную группу составили 38 разовых доноров крови, жителей г. Иркутска, без патологии опорно-двигательной системы и не имеющие хронической соматической патологии. Доноры были разделены на аналогичные подгруппы: 1) мужчины - 12 чел. в возрасте $55,2 \pm 1,2$ лет; 2) женщины репродуктивного возраста - 15 чел. в возрасте $38,8 \pm 1,8$ лет; 3) женщины в менопаузе - 11 чел. в возрасте $56,3 \pm 1,9$ лет.

Результаты. При анализе полученных результатов в мужской подгруппе выявлен повышенный исходный уровень пролактина (на 75% выше, чем у доноров) и эстрадиола (в 3,5 раза), а также снижение концентрации тестостерона в сыворотке крови (на 20%), в то время как уровень кортизола имел лишь тенденцию к увеличению.

У женщин репродуктивного возраста исходно обнаружены более низкие значения ФСГ (ниже на 40% от уровня доноров) и тенденция к некоторому увеличению пролактина и тестостерона, которые, однако, оставались в диапазоне нормальных значений.

После курса проведенного лечения в подгруппе мужчин пролактин снижался в 1,4 раза, а эстрадиол в 2,1 раз, оставаясь все же значительно выше донорского уровня, кроме того увеличивалась секреция ЛГ в 1,78 раз и намечалась тенденция к повышению тестостерона (на 12%).

В подгруппе женщин репродуктивного возраста после лечения исчезали все различия с группой доноров, однако тестостерон имел тенденцию к незначительному повышению.

У женщин в менопаузе не было обнаружено сколько-нибудь значимых различий с группой условно здоровых лиц сопоставимого возраста, как до, так и после курса проведенного лечения.

Таким образом, изменение изучаемых гормонов как исходно, так и в процессе лечения было обнаружено в подгруппе мужчин и подгруппе женщин репродуктивного возраста. Некоторые из выявленных

нарушений нивелировались после проведенного консервативного лечения. При наступлении менопаузы у пациенток с ПРСЭ при отсутствии противопоказаний возможно рассмотрение вопроса о заместительной гормональной терапии.

В результате проведенного исследования показано, что у мужчин и женщин репродуктивного возраста с дегенеративно-дистрофическими заболеваниями позвоночно-двигательного сегмента имеются характерные изменения в секреции гормонов аденогипофиза и гонад. Стандартная схема лечения частично нивелирует эндокринные нарушения, характерные для пациентов с ПРСЭ. В программу обследования пациентов с послеоперационными рубцово-спаечными эпидуритами, целесообразно включать исследование гормонального профиля для решения вопроса о его возможной коррекции с привлечением специалиста эндокринолога, что поможет в дальнейшем совершенствовании схемы лечения.

Литература

1. Дизрегуляционная патология: Руководство для врачей и биологов / Под ред. Г.Н.Крыжановского.- М.: Медицина. 2002. - 632 с.
2. Casula S., Bianco A.C. Thyroid Hormone Deiodinases and Cancer // *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2012; 3: 74.
3. Методы клинических лабораторных исследований / под ред. проф. В.С.Камышникова. - М.: МЕДпресс-информ, 2011. - 752 с.
4. Щитовидная железа. Фундаментальные аспекты / А.И.Кубарко, S.Yamashita, С.Д.Денисов, Ю.Е. Демидчик, Б.В. Дубовик, Д.И. Романовский, К. Ashizava, М. Ito, N. Takamura / под ред. проф. А.И.Кубарко и проф. S.Yamashita. - Минск - Нагасаки, 1998. - 368 с.
5. Estrogen status alters tissue distribution and metabolism of selenium in female rats / Zhou X, Smith AM, Failla ML, Hill KE, Yu Z. // *J. Nutr. Biochem*. 2011 Jun 16. [Epub ahead of print].
6. Соловьева Д.В. Коррекция возрастных нарушений иммунной, эндокринной систем и метаболизма пептидными биогеруляторами тимуса и эпифиза: Автореф. дис. канд. мед. наук СПб: Воен.-мед. акад.- 1999.- 20 с.
7. Родионова Л.В. Оценка показателей функции щитовидной железы в зависимости от возраста у больных рубцово-спаечными эпидуритами / Родионова Л.В., Кошкарева З.В., Сороковиков В.А., Складенко О. В.// *Сибирский медицинский журнал (г. Иркутск)*. 2011. Т. 105. № 6. С. 66-68.

ЭКСПРЕСС-ТЕХНОЛОГИИ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ ВОЗДЕЙСТВИЯ СТРЕССОВЫХ ФАКТОРОВ НА СОСТОЯНИЕ РАСТЕНИЙ

Романов В.А., Груша В.М., Ковырѐва А.В.

Институт кибернетики имени В.М. Глушкова НАН Украины

vromanov@i.ua

В Институте кибернетики имени В.М. Глушкова НАН Украины создан и поставлен на серийное производство компьютерный прибор "Флоратест" (рис. 1) [1, 2]. В основе работы прибора лежит измерение индукции флуоресценции хлорофилла (ИФХ) растений (спектральный диапазон измерения интенсивности флуоресценции от 670 до 770 нм) [3]. Область применения прибора достаточно широка и охватывает как научные исследования, так и промышленное сельское хозяйство.

Листок растения облучается в синей области спектра, а измерение осуществляется в красной. Типовая кривая ИФХ приведена на рис. 2.

Для оценки состояния фотосинтетического аппарата растений используют ряд числовых показателей кривой ИФХ: F_0 – начальное значение индукции флуоресценции после включения облучения; F_p – значение индукции флуоресценции «плато»; F_m – максимальное значение индукции флуоресценции; F_{st} – стационарное значение индукции флуоресценции после световой адаптации листа растения; $F_m - F_0$ – вариабельная флуоресценция [3].

С целью оценки чувствительности флуориметра к обнаружению действия стрессовых факторов на состояние растений в ИК НАН Украины выполнены натурные исследования. Изучалось изменение индукции флуоресценции хлорофилла сорняка "Дурман" (лат. *Datura*) под воздействием гербицида "Раундап" и ИФХ овощной культуры "Огурцы обыкновенные" (лат. *Cucumis sativus*) при обезвоживании [4].

Измерения с помощью флуориметра "Флоратест" проводились следующим образом: фиксировалось время начала измерения; с помощью метеостанции фиксировалась температура и влажность окружающей среды; фиксировалась температура, влажность и кислотность почвы; темновая адаптация перед измерением равна 3 минутам; время каждого измерения равнялось 160 с; листья для измерений выбирались из одного яруса.

Исследование ИФХ дурмана под воздействием пестицида "Раундап" проводилось с 19.07.2012 по 13.09.2012. Произведено 16 циклов

измерений. Растения были поделены на 3 группы, группа № 3 являлась контрольной. Раствор гербицида "Раундап" [5] изготовлен матричным методом 25.07.2012. Сначала 2 мл гербицида разведены в 0,5 л воды, далее 0,5 мл этого раствора разведено в 200 мл воды и таким образом получен рабочий раствор № 1. Для получения раствора № 2 предварительно приготовленный 1 мл раствор разведен в 200 мл воды. Растения из группы № 1 опрысканы рабочим раствором № 1 (200 мл на каждый горшок с тремя растениями), растения из группы № 2 опрысканы рабочим раствором № 2 (200 мл на каждый горшок с тремя растениями, площадь поверхности горшка 0,04 м²). Предварительные измерения показали зависимость кривых ИФХ от прямого солнечного излучения, поэтому было принято решение проводить дальнейшие измерения в тени.

Анализ кривых после первого опрыскивания рабочим раствором № 1 и рабочим раствором № 2 показал незначительные различия от кривых из контрольной группы № 3. Это связано с низкой концентрацией гербицида "Раундап". Поэтому растения из группы № 1 09.08.2012 опрыскали рабочим раствором № 3 (5 мл предварительно подготовленного раствора развели в 100 мл воды). Первые различия зафиксированы 17.08.2012. Растения, опрысканные гербицидом, имели больший уровень флуоресценции, наибольшая разница отмечена на участке между F_m и F_{st} .

Произведен поиск корреляции между параметрами кривой F_m , F_{st} , F_o и параметрами окружающей среды: температурой воздуха ($t_{\text{воздуха}}$), влажностью воздуха ($H_{\text{воздуха}}$), температурой почвы ($t_{\text{почвы}}$), влажностью почвы ($H_{\text{почвы}}$). Обнаружена связь параметра ИФХ F_o с температурой воздуха, влажностью воздуха и температурой грунта (табл. 1).

Исследования ИФХ огурцов при обезвоживании проводились в период с 04.06.2012 по 01.08.2012. При анализе результатов измерений с оценкой параметров F_m , F_{st} , F_o обнаружено, что их средние значения для контрольной и опытной групп мало отличаются. Отмечены различия в для каждой из групп на участке от F_m до F_{st} . В контрольной группе спад участка происходил быстрее, в опытной - медленней.

Выводы: 1. В результате выполненного исследования показано, что чувствительность флуориметра "Флоратест" на латентном периоде достаточна для обнаружения действия стрессовых факторов на состояние растений.

2. Экспериментальные исследования влияния гербицидов на дурман и обезвоживания на огурцы неинвазивным методом ИФХ показали эффективность этого метода как для использования в аграрной отрасли,

так и в научных исследованиях биологического профиля.

Таблица 1. - Корреляции основных параметров кривой ИФХ с параметрами окружающей среды и последних между собой

Дата	F_m	F_{st}	F_o	$t_{\text{почвы}}, ^\circ\text{C}$	$H_{\text{воздуха}}, \%$	$t_{\text{почвы}}, ^\circ\text{C}$	$H_{\text{почвы}}, \%$
24.07.2012	2041,3	618,7	494,7	20,8	39,9	17,8	70,0
27.07.2012	1698,7	558,7	633,3	30,1	35,0	28,1	62,8
30.07.2012	1779,7	592,0	635,1	29,9	30,8	29,6	24,1
14.08.2012	1785,3	596,0	362,7	13,8	90,5	14,1	50,6
17.08.2012	1458,7	533,3	465,3	22,2	60,7	20,8	42,8
21.08.2012	1621,3	581,3	552,5	18,5	47,2	18,0	23,1
Коэффициент корреляции							
$t_{\text{воздуха}}$	-0,06	-0,28	0,89	1	-0,82	0,98	-0,04
$H_{\text{воздуха}}$	-0,18	-0,05	-0,92	-0,82	1	-0,75	0,07
$t_{\text{почвы}}$	-0,13	-0,30	0,88	0,98	-0,75	1	-0,18
$H_{\text{почвы}}$	0,50	0,17	-0,24	-0,04	0,07	-0,18	1

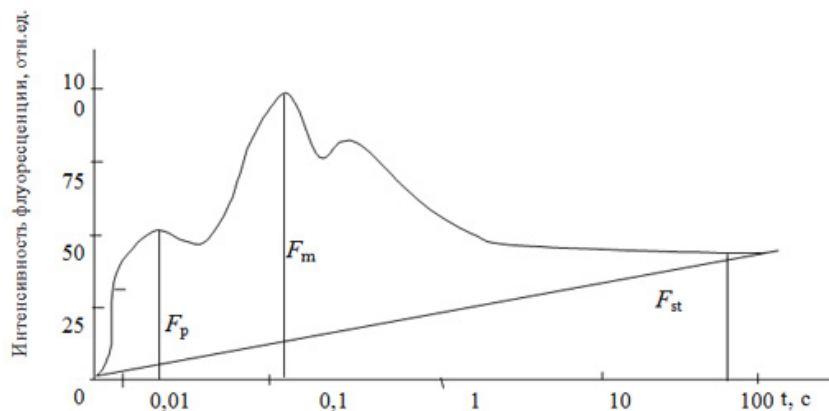


Рис. 1. Типовая кривая индукции флуоресценции хлорофилла



Рис. 2. Портативный флуориметр "Флоратест"

Литература

1. Романов В.А., Галелюка И.Б., Сахаран Е.В. Портативный флуориметр и особенности его применения // Сенсорная электроника и микросистемные технологии. - 2010. - 1 (7). - № 3. - С. 146 - 152.
2. <http://dasd.com.ua>
3. Корнеев Д.Ю. Информационные возможности метода индукции флуоресценции хлорофилла. - Киев: "Альтерпрес", 2002. - 188с.
4. Груша В.М., Ковирьова О.В. Дослідження чутливості флуориметра "Флоратест" до дії стресових факторів на стан рослин// Комп'ютерні засоби, мережі та системи. - 2012. - № 11. - С. 119 - 126.
5. <http://www.monsanto.com.ua/produkty/himichni-produkty/raundap-ekstra>

**НАНОЧАСТИЦЫ ЗОЛОТА В БИОТЕХНОЛОГИЯХ
КУЛЬТИВИРОВАНИЯ БИОМАССЫ *BACILLUS ANTHRACIS*
ВАКЦИННОГО ШТАММА**

Романько М.Е.¹, Мачусский А.В.², Ушкалов В.А.²

¹Национальный научный центр «Институт экспериментальной и клинической ветеринарной медицины» НААН, г. Харьков, Украина,

²Государственный научно-исследовательский контрольный институт биотехнологии и штаммов микроорганизмов, г. Киев, Украина

marina_biochem@list.ru

Усовершенствование существующих биотехнологических процессов при производстве иммунобиологических препаратов, направленных на увеличение эффективности конечного продукта (специфичности, иммуногенности, индукции иммунной памяти и др.), остается приоритетным направлением современной биотехнологии. Одним из возможных путей решения таких проблемных вопросов есть использование достижения относительно нового сегмента научного поиска - нанотехнологий. Поэтому целью наших исследований стало экспериментальное обоснование возможного использования наночастиц металлов в технологических процессах регулирования накопления биомассы микроорганизмов *in vitro* на модели периодических культур клеток *Bacillus anthracis* вакцинного штамма *Sterne 34F2*.

Осуществление цели проводили в модельных экспериментах, используя биомассу периодических культур клеток *Bacillus anthracis* штамма *Sterne 34F2* (из коллекции Национального центра штаммов микроорганизмов Государственного научно-исследовательского контрольного института биотехнологии и штаммов микроорганизмов, г. Киев, Украина) и коллоидные дисперсии наночастиц золота среднего размера ($19,0 \pm 0,9$) нм с исходной концентрацией $19,3$ мкг/см³ по металлу, синтезированных методом химической конденсации путем восстановления аурата калия ацетоном или этанолом по Девису Институте биоколлоидной химии им. Ф.Д. Овчаренко НАН Украины.

Размер полученных наночастиц золота обсчитывали, используя метод лазерно-кореляционной спектрометрии (ЛКС) (рис. 1). В случае монодисперсных систем метод ЛКС позволяет с высокой точностью определить константы скорости диффузии частиц, а также рассчитать их гидродинамический диаметр, исходя из гипотезы относительно

сферической формы этих частиц.

Для культивирования и накопления биомассы клеток *Bacillus anthracis* использовали как источник азота коммерческую стандартную среду бульона из гидролизата рыбной муки и бульона Хоттингера (рН=(7,2 - 7,6); аминный азот (100 - 120) мг%), к составу которой в условиях асептики добавляли дисперсии наночастиц золота в соотношении 1:2, 1:4, 1:6, 1:8, 1:10, 1:12 и 1:20 соответственно. Стерилизацию приготовленной среды проводили путем автоклавирования при 0,7 атм, после чего выдерживали при температуре $(37 \pm 1)^{\circ} \text{C}$ в течение 48 часов с целью контролирования стерильности.

После контролирования стерильности в емкости с приготовленной средой засеивали по 1 см^3 культуру клеток *Bacillus anthracis* с известной концентрацией и культивировали при температуре $(37 \pm 1)^{\circ} \text{C}$ в течение (20 - 24) часов.

«Контролем» служила коммерческая стандартная среда бульона из гидролизата рыбной муки и бульона Хоттингера (рН=(7,2 - 7,6); аминный азот (100 - 120) мг% без внесения наночастиц металла.

Полученные результаты исследований свидетельствуют, что внесение дисперсий наночастиц золота в питательную среду для культивирования *Bacillus anthracis* штамма Sterne 34F2 стимулировало размножение и накопление биомассы данного микроорганизма (табл. 1).

Так, при культивировании в коммерческих стандартных средах («контроль») прирост биомассы *Bacillus anthracis* опытного штамма составлял не больше чем 10^9 колоний образующих единиц (КОЕ) в 1 см^3 , тогда как при внесении в среду наночастиц золота накопление биомассы данного микроорганизма увеличивалось и достигало за значением 10^{15} КОЕ в 1 см^3 в зависимости от типа стандартной питательной среды, взятой за классическую.

Установлено, что максимум увеличения прироста биомассы бактериальных клеток в среде культивирования, содержащей наночастицы золота в разведении 1:8 (концентрация золота $1,9 \times 10^{-3} \text{ г/дм}^3$) и 1:10 (концентрация золота $2,38 \times 10^{-3} \text{ г/дм}^3$), регистрируется при разведении культуры *Bacillus anthracis* вплоть до 10^{-15} . Увеличение количества биомассы антракса по значению КОЕ на 2 и 6 логарифмов превышало такое в «контроле» (культивирование на стандартной среде). При культивировании микробной массы, начиная с разведения 10^{-10} , в среде с наночастицами в диапазоне концентраций (1:2 - 1:6), 1:12 и 1:20, а также в стандартной питательной среде фиксировали задержку роста *Bacillus anthracis* изучаемого штамма.

Результаты исследований были защищены декларационным патентом на полезную модель № 58450 «Спосіб отримання біомаси *Bacillus anthracis* з використанням наночастинок золота», опублікований 11.04.2011, Бюл. № 7, 2011р.

Таблица 1. Результаты накопления биомассы *Bacillus anthracis* штамма *Sterne 34F2* в питательной среде с внесением наночастиц золота среднего размера (19,0±0,9) нм в диапазоне концентраций в сравнении с стандартной питательной средой («контроль»).

№ п/п	Разведение культуры <i>Bacillus anthracis</i>	Тип культивирования							Стандартная питательная среда («контроль»)
		Питательная среда с внесением наночастиц золота в диапазоне концентраций (исходная концентрация 19,3 мкг/см ³ по металлу)							
		1:2	1:4	1:6	1:8	1:10	1:12	1:20	
1	10 ⁻¹	+	+	+	+	+	+	+	+
2	10 ⁻²	+	+	+	+	+	+	+	+
3	10 ⁻³	+	+	+	+	+	+	+	+
4	10 ⁻⁴	+	+	+	+	+	+	+	+
5	10 ⁻⁵	+	+	+	+	+	+	+	+
6	10 ⁻⁶	+	+	+	+	+	+	+	+
7	10 ⁻⁷	+	+	+	+	+	+	+	+
8	10 ⁻⁸	+	+	+	+	+	+	+	+
9	10 ⁻⁹	+	+	+	+	+	+	+	+
10	10 ⁻¹⁰	-	-	-	+	+	-	-	-
11	10 ⁻¹¹	-	-	-	+	+	-	-	-
12	10 ⁻¹²	-	-	-	-	+	-	-	-
13	10 ⁻¹³	-	-	-	-	+	-	-	-
14	10 ⁻¹⁴	-	-	-	-	+	-	-	-
15	10 ⁻¹⁵	-	-	-	-	+	-	-	-
16	10 ⁻¹⁶	-	-	-	-	-	-	-	-

Примечания:

1. «+» - регистрировали прирост биомассы *Bacillus anthracis*;
2. «-» - задержка прироста биомассы какой-либо микрофлоры.

Таким образом, полученные результаты указывают на выраженную биологическую активность наночастиц золота и биосовместимость с бактериальными клетками *Bacillus anthracis* штамма *Sterne 34F2*, что сопровождается усилением прироста их биомассы в условиях культивирования в среде с внесением таких наночастиц. С другой стороны - данные исследования дают основание считать предложенный способ получения биомассы промышленно значимого вакцинного штамма в присутствии в среде культивирования наночастиц металлов в качестве стимуляторов роста найдет широкое внедрение и использование в биотехнологической отрасли при изготовлении иммунобиологических препаратов, сырьем для которых является качественная биомасса *Bacillus anthracis*, в частности, - при изготовлении вакцинных препаратов против сибирки животных;

сибирковых антигенов для дифференциальной диагностики; гипериммунных и агглютинирующих специфических сывороток и т.д.

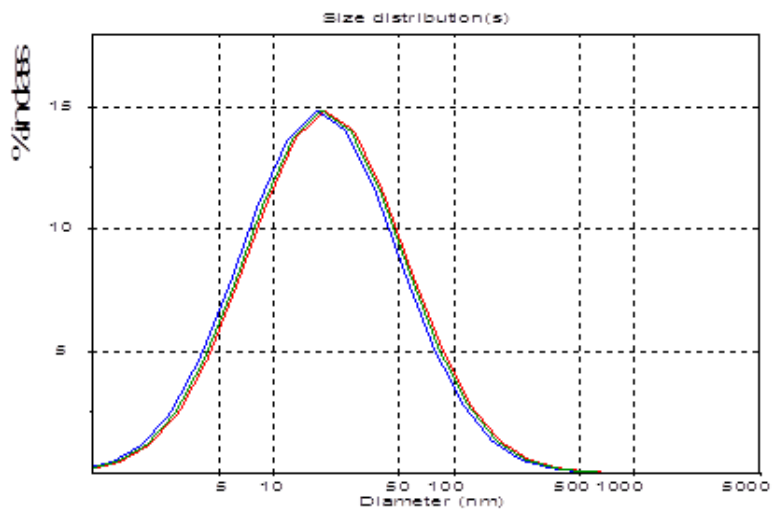


Рис. 1. Средний размер наночастиц золота, $19,0 \pm 0,9$ нм (за данными ЛКС).

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕСТНЫХ СОРТОВ АМАРАНТА КАК ПЕРСПЕКТИВНОГО ИСТОЧНИКА ПОЛУЧЕНИЯ ПЕКТИНОВ

Ружи́ло Н.С., Живчи́кова Р.И.

ДФУ, Школа биомедицины г. Владивосток,
Приморская плодово-ягодная опытная станция

natali-1980-03@mail.ru

В условиях постоянно нарастающего ухудшения экологической обстановки чрезвычайную актуальность представляет производство специальных средств, обладающих защитным, диетическим и лечебно-профилактическим действием для всего населения. В настоящее время особый интерес представляет культура амаранта универсального использования: пищевое, кормовое, лекарственное и декоративное. Особенностью амаранта является большой прирост биомассы, что позволяет получать большое количество зеленой массы на относительно небольших площадях. Большая урожайность амаранта, наличие нескольких классов практически полезных веществ делают культуру амаранта перспективным воспроизводимым растительным сырьем. Помимо дальнейшего исследования амаранта, встает проблема комплексной переработки растительного сырья, так как единая технологическая цепочка позволяет использовать побочные продукты одного процесса в последующем, не затрачивая для этого энергию, оборудование и материалы. Тем самым увеличивается глубина переработки исходного сырья, снижаются удельные затраты и повышается рентабельность процесса в целом. Одним из перспективных направлений комплексной переработки растительных сырьевых ресурсов является производство пектиновых веществ. Благодаря природному происхождению, не имеющие полноценных заменителей в некоторых областях медицины и пищевых производств пектин завоевал прочное место в современной технологии пищевой промышленности. Пектины используют в качестве студне-, структуре- и комплексообразователей, эмульгаторов при производстве кондитерских изделий, джемов, конфитюров, желе, фруктовых напитков, соков, майонезов и других масло-жировых и молочных продуктов. Многочисленные исследования подтвердили способность пектинов снижать накопление радионуклидов в организме и выводить тяжелые металлы. Связывающая способность пектина по отношению к поливалентным металлам обусловлена

наличием свободных карбоксильных групп (-COOH), образующих с ионами металлов стойкие мало диссоциирующие соединения, возникновение которых препятствует поступлению тяжелых металлов во внутреннюю среду организма. Таким образом, пектин представляет собой уникальный биологически активный продукт с детоксицирующими, радиопротекторными и другими лечебно-профилактическими свойствами. Его используют для лечения заболеваний пищеварительного тракта, диабета, атеросклероза, при заживлении ран и ожогов. Однако современная отечественная промышленность испытывает серьезные затруднения с производством столь ценного продукта. Классические технологии пектина, по которым ранее работали предприятия устарели и являются небезопасными с точки зрения охраны окружающей среды. По подсчетам экономистов, потребность основных отраслей пищевой промышленности Российской Федерации в пектинах составляет 3,5 тыс. тонн ежегодно. Потребность кондитерской промышленности в пектинах достигает более 5 тыс. тонн в год. С учетом нормы потребления пектинов в профилактических целях (2 г на человека в сутки) его количество при круглосуточном потреблении пектиновых продуктов для 100 млн. человек составляет более 70 тыс. тонн. Дефицит пектина компенсируется закупками за рубежом, но это не решает проблем. Между тем объемы сырьевых ресурсов для производства пектина в России значительны и, несмотря на трудности с технологической базой, выход из сложившейся ситуации возможен. Это поиск эффективных источников сырья и разработка технологий, позволяющих получать пектины высокого качества.

В настоящее время в России пектин получают из яблок и цитрусовых, что в климатических условиях это нерентабельно. Поэтому новым источником пектиновых веществ может стать амарант — культура, дающая значительный прирост биомассы на небольших площадях возделывания. В Приморском крае амарант перспективен благодаря своей высокой продуктивности и адаптивным качествам. Биологический ритм развития амаранта удачно соответствует климатическим условиям вегетационного периода. Так, максимум нарастания биомассы приходится на период оптимального обеспечения растений теплом и влагой (июль - август).

В процессе исследовательской работы на Приморской плодово - ягодной станции сформировались 3 гибридных популяции амаранта: *Amarantus paniculatus* (*A. cruentus*) амарант метельчатый (пурпурный); *Amarantus hypochondriacus* L. амарант темный печальный (красный); *Amarantus albus* L. амарант (белый).

Поскольку размножение и поддержание этих популяций проводится без пространственной изоляции, происходит спонтанная гибридизация, в результате которой появляются особи, резко отличающиеся по морфологическим признакам от основной массы растений, что она может явиться таким перспективным источником полисахаридов. Амаранту в условиях Приморья до укосной спелости требуется от 45 до 62 дней, до полной спелости семян – от 90 до 112 дней. Причем, срок созревания семян наступает за 1 – 2 недели до заморозков (1-15 октября), что важно, так как амарант при первых заморозках прекращает вегетировать, критическая температура -0,5...-1,0 С.

Данные, полученные в наших исследованиях, подтверждают многочисленные сведения о высокой продуктивности амаранта. Популяция *Amarantus albus* L. характеризовалась самой высокой урожайностью зеленой массы – 4,036 кг с 1м². Выход сырья для переработки (листья с метелками) выше был у популяции *Amarantus hypochondriacus* L. – 64,4 %.

В течение всего периода наблюдений растения амаранта в продуктивную фазу поражаются болезнями и вредителями в малой степени не переходящей порог вредоносности.

Таблица 1. Урожайность зеленой массы амаранта

Название популяции	Высота перед укосом, см	Общий вес, кг/ кв. м	Масса листьев с метелками, кг./кв.м.	Выход сырья, %
<i>Amarantus albus</i> L.	200	4,036	2,540	62,9
<i>Amarantus paniculatus</i> (<i>A. cruentus</i>)	220	3,842	2,274	59,2
<i>Amarantus hypochondriacus</i> L.	150	3,194	2,058	64,4

Таким образом, результаты изучения местных популяций амаранта позволяют сделать вывод о высокой продуктивности амаранта, что способствует получению большого количества зеленой массы при небольших площадях засева. Амарант является одним из перспективных направлений комплексной переработки растительного сырья при производстве пектиновых веществ.

БИОТЕХНОЛОГИЯ В ЗАЩИТЕ ЧЕРНОЙ СМОРОДИНЫ ОТ БОЛЕЗНЕЙ В ЛЕСОСТЕПИ НОВОСИБИРСКОЙ ОБЛАСТИ

Рябова А.А., Торопова Е.Ю.

Новосибирский государственный аграрный университет

annaryabova@ngs.ru

Эпифитотийный характер распространения болезней сельскохозяйственных культур создает потребность в обновлении сортовых ресурсов и использовании адаптивных технологий возделывания, включающих в себя экологизированные системы защиты растений [1].

Для ягодных культур, поступающих в пищу в свежем виде, нежелательно использование химических средств защиты растений, поэтому оптимизация их фитосанитарного состояния должна осуществляться экологически безопасными методами, включающими применение биопрепаратов.

Целью наших исследований было изучение активности антагонистических микроорганизмов против патогенных микромицетов сельскохозяйственных культур *in vitro* и полевые испытания различных технологий применения биологического препарата Бинорама против септориоза черной смородины.

Материалы и методика исследований.

Полевые исследования проводили на Новосибирской ЗПЯОС им. Мичурина, расположенной в лесостепи Новосибирской области.

Объектами исследования являлись патогены (*Septoria ribis*, *Fusarium oxysporum*, *Botrytis cinerea*, *Phoma betae*), штаммы *Pseudomonas fluorescens* и *Streptomyces spp.*, сорта смородины черной. Штаммы 17-2, 7Г, 7Г2К *Ps. fluorescens* выделены из ризосферы диких злаков, растущих в лесостепи Ордынского района Новосибирской области, путем рассевов ризосферной микрофлоры на различных средах. Штамм *Streptomyces spp.* предоставлен нам из коллекции микроорганизмов ИЦИГ СОРАН.

Лабораторный скрининг проводили с использованием метода агаровых блоков и метода перпендикулярных штрихов [2].

Статистическую обработку экспериментальных данных проводили общепринятыми методами [3].

Результаты и их обсуждение. Результаты оценки биологической активности штаммов антагонистов представлены в таблице 1.

Таблица 1. Биологическая активность штаммов антагонистов

Фитопатоген	Радиус свободной зоны, мм				Среднее	
	<i>Pseudomonas fluorescens</i>					
	17-2	7Г	7Г2К	17-2 + 7Г + 7Г2К (Био-рам, Ж)		
<i>Fusarium oxysporum</i>	10	12	10	10	23	13,0
<i>Botrytis cinerea</i>	5	7	4	6	16	7,6
<i>Septoria ribis</i>	8	14	10	10	18	12,0
<i>Phoma betae</i>	12	16	14	16	24	16,4
Среднее	8,8	12,3	9,5	10,5	20,3	

Данные таблицы 1 позволяют сделать вывод, что штамм *Streptomyces* spp. проявлял наибольшую биологическую активность по сравнению с *Ps. fluorescens*. Максимальную биологическую активность данный штамм проявил против *Phoma betae* и *Fusarium oxysporum*, радиус свободной зоны - 24 мм и 23 мм соответственно. Антагонистическая активность штамма связана с высокой антибиотической активностью *Streptomyces* spp.

Наибольшую биологическую активность против *Phoma betae* по сравнению с другими штаммами *Ps. fluorescens* имеет штамм 7Г и смесь штаммов 17-2 + 7Г + 7Г2К (препарат Бинорам), радиус свободной зоны составляет 16 мм. Штамм 7Г был наиболее эффективен против *Fusarium oxysporum*, радиус свободной зоны 12 мм. Смесь штаммов и штаммы 17-2 и 7Г2К показали одинаковую биологическую активность, радиус свободной зоны 10 мм.

Штамм 7Г2К проявляет наименьшую антагонистическую активность по отношению к *Botrytis cinerea*, радиус свободной зоны составляет 4 мм. Штамм 17-2 и смесь штаммов 17-2 + 7Г + 7Г2К проявили среднюю активность, радиус свободной зоны 5 и 6 мм соответственно. Штамм 7Г проявил наибольшую биологическую активность против *Botrytis cinerea* и *Septoria ribis* по сравнению с другими штаммами *Ps. fluorescens*. Наименьшую биологическую активность против *Septoria ribis* проявляет штамм 17-2, радиус свободной зоны составляет 8 мм. Штамм 7Г2К и смесь штаммов проявляют среднюю биологическую активность против *Septoria ribis*, радиус свободной зоны составляет 10 мм.

Таким образом, можно сделать вывод, что наиболее эффективными

являются штаммы 7Г *Ps. fluorescens* и *Streptomyces spp.*

В 2008-2012 годах с учетом активной первичной споруляции возбудителя септориоза на растительных остатках нами были испытаны различные технологии применения биологического препарата Бинорама в норме 0,05 л/га на основе *P. fluorescens* (штамм 17-2 + 7Г + 7Г2К). Было проведено опрыскивание Бинорамом инфицированных растительных остатков (ИРО) и листьев при первых признаках заболевания. Результаты исследований приведены в таблице 2.

Таблица 2. Влияние Бинорама на развитие септориоза черной смородины (среднее по трем сортам), %

Вариант	Развитие болезни	Биологическая эффективность
Контроль	10,3	-
Обработка ИРО	6,6	42,7
Обработка ИРО и листьев	6,8	42,2
Обработка листьев	8,3	24,5
НСР ₀₅	1,2	

Возделывание устойчивых сортов и биологический препарат оказались эффективными приемами фитосанитарной оптимизации экологически безопасной технологии возделывания черной смородины.

Применение биопрепарата оказало достоверное угнетающее влияние на развитие септориоза. Биологическая эффективность применения препарата Бинорам на сорте Подарок Куминову (обработка ИРО) составила 31,3%, то есть обработка снизила развитие болезни по сравнению с контролем в 1,5 раза.

Установлено, что биопрепарат подавлял интенсивность споруляции *S. ribis* (таблица 3). При обработке растительных остатков препаратом Бинорам снижалось количество пикнид на одно некротическое пятно. Например, на сорте Дегтяревская в 1,5 раза по сравнению с контролем. Наиболее эффективной была обработка инфицированных растительных остатков.

Данные таблицы свидетельствуют о том, что разные технологии применения биопрепарата влияли на развитие болезни различными путями. При обработке ИРО снижалось число некротических пятен и число пикнид на пятно. При обработке листьев снижалось среднее число пикнид на одну пикниду (например, на сорте Памяти Потапенко в 1,4 раза по сравнению с контролем).

На устойчивом сорте Плотнокистная наиболее эффективна была обработка растительных остатков, обеспечившая снижение тактики

выживаемость на факторе передачи. Обработка листьев была менее эффективной и экономически не выгодной.

Таблица 3. Влияние Бинорама на интенсивность споруляции *Septoria gibis* на листьях черной смородины (среднее по 10 сортам)

Вариант	Число некротических пятен / 1см ²	Число пикнид / 1 некротич. пятно	Ср. число пикноспор / 1 пикниду
Контроль	4,1	7,4	167
Обработка ИРО	1,8	3,8	80
Обработка ИРО и листьев	2,0	3,7	98
Обработка листьев	2,8	5,2	102
НСП ₀₅	0,08	0,6	10,8

На восприимчивых сортах (Памяти Потапенко, Подарок Куминову) наибольший эффект наблюдался при обработке ИРО и листьев при появлении первых симптомов. На сорте Памяти Потапенко уменьшалось число пикнид на пятно и число пикноспор на пикниду в 1,8 и 1,7 раз соответственно по сравнению с контролем.

На устойчивых сортах достаточно было одной обработки, на восприимчивых при сильном развитии заболевания потребовалась вторая обработка биопрепаратом при появлении первых симптомов болезни.

Заключение. Скрининг перспективных для биологической защиты растений штаммов антагонистов в лабораторных условиях показал, что самая высокая антагонистическая активность наблюдалась у штаммов 7Г *Pseudomonas fluorescens* и коллекционного штамма *Streptomyces* spp., что позволяет сделать вывод о перспективности использования данных штаммов в производстве биопрепаратов.

Применение биопрепаратов сдерживало скорость эпифитотического процесса, снижало число пикнид и пикноспор до 1,6 и 1,3 раза соответственно. Наиболее эффективной являлась технология применения препарата Бинорам путем обработки растительных остатков и достигала 61,7 %.

Литература

1. Чулкина В.А. Интегрированная защита растений: фитосанитарные системы и технологии / В.А. Чулкина, Е.Ю. Торопова, Г.Я. Стецов /Под ред. М.С. Соколова и В.А. Чулкиной. – М.: Колос, 2009. – 670с.
2. Руководство к практическим занятиям по микробиологии: учеб.

пособие / под ред. Н.С. Егорова. – М.: Изд-во МГУ, 1995. – 224 с.

3. Сорокин О.Д. Прикладная статистика на компьютере /О.Д. Сорокин// Краснообск. - ГУП РПО СО РАСХН - 2004. – 162с.

ЛЕКАРСТВЕННЫЕ РАСТЕНИЯ САХАЛИНА И ИХ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ

Сабилова Н. Д., Сабиров Р. Н.

ИМГиГ ДВО РАН

renat@imgg.ru

Почти тысячекилометровая вытянутость Сахалина в субмеридиональном направлении, горный рельеф, неоднократные трансгрессии моря и другие природные процессы обусловили генезис и структуру растительности и флоры острова. В этой связи во флоре северной части Сахалина, где располагается светлохвойная тайга из лиственницы Каяндера (*Larix cajanderi*), доминируют бореально-лесные виды, а на юге в сложении растительного покрова усиливается роль японо-маньчжурских элементов. Современная флора Сахалина охватывает более 1521 видов сосудистых растений (Сосудистые..., 1985-1996; Баркалов, Таран, 2004), довольно значительная часть которой относится к лекарственным, кормовым, пищевым, эфирномасличным, дубильным, техническим и другим группам.

Дикорастущая лекарственная флора включает 255 видов из 176 родов и 79 семейств, что составляет 16,8% от общего состава флоры сосудистых растений сахалинского субрегиона. Подавляющее количество таксонов лекарственной флоры острова представлено покрытосеменными растениями, среди которых преобладают двудольные. Споровые сосудистые и голосеменные растения составляют всего лишь 9% (или 23 вида) от всего установленного состава лекарственной флоры и представлены следующими семействами: *Huperziaceae*, *Equisetaceae*, *Lycopodiaceae*, *Athyricaceae*, *Dryopteridaceae*, *Hypolepidaceae*, *Osmundaceae*, *Pinaceae*, *Cupressaceae*, *Taxaceae*.

Безусловно, наибольшим количеством лекарственных растений на Сахалине отличается семейство *Asteraceae* – 31 вид (или 12,1% от состава рассматриваемой категории растений), вслед за которым следуют *Rosaceae*, охватывающее 26 видов (10,2%), *Ranunculaceae* – 14 (5,5%), *Ericaceae* – 12 (4,7%), *Lamiaceae*, *Apiaceae* – по 10 видов (3,9%). В целом они содержат 103 вида (40,4%) из 74 родов лекарственных растений. Затем таксоны, охватывающие лекарственные растения, ранжируются следующим образом: семейство *Salicaceae* включает 8 видов (3,1%), *Polygonaceae*, *Fabaceae* – по 7 (по 2,7%), *Betulaceae*,

Crassulaceae, *Equisetaceae*, *Grossulariaceae* – по 5 видов (по 2%). В остальных 66 семействах островной флоры представлены по 1 - 3 вида лекарственных растений.

Более 50% состава лекарственных растений сосредоточено в лесах Сахалина. Кроме характерных в регионе древесных видов, как пихта сахалинская, тис остроконечный, можжевельники, кедровый стланик, березы каменная и плосколистная, ольха волосистая, черемухи обыкновенная и Съори, рябина смешанная, тополя, дуб монгольский, здесь широко распространены ягодные растения многоцелевого использования: черника овальнолистная и Смолла (*Vaccinium ovalifolium* Smith, *V. smallii* A. Gray), малина (*Rubus sachalinensis* Levl.), брусника (*Vaccinium vitis-idaea* L.), смородины сахалинская и широколистная (*Ribes sachalinense* (Fr. Schmidt) Nakai, *R. latifolium* Jancz.), рябина бузинолистная (*Sorbus sambucifolia* (Cham. et Schlecht.) M. Roem.), красника (*Vaccinium praestans* Lamb.), калина Саржента (*Viburnum sargentii* Koehne), шиповники иглистый и тупоушковый (*Rosa acicularis* Lindl., *R. amblyotis* C. A. Mey), боярышник зеленомякотный (*Crataegus chlorosarca* Maxim.) и др. Большинство указанных растений формирует в лесах острова весьма продуктивные заросли, часто и успешно используется как лекарственное сырье, особенно при простудных заболеваниях, авитаминозах и пр. Помимо этого в лесах региона произрастают весьма экзотические лекарственные растения, обладающие высокими биостимулирующими и общеукрепляющими действиями: лимонник китайский (*Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill.), аралии сердцевидная и высокая (*Aralia cordata* Thund., *A. elata* (Miq.) Seem.), элеутерококк колючий (*Eleutherococcus senticosus* (Rupr. et Maxim.) Maxim.). Они являются дальневосточными эндемиками, очень популярны среди местного населения, а целебные свойства их давно используются в странах Юго-Восточной Азии.

Значительная часть (около 10%) состава лекарственных растений встречается среди болотной растительности. В частности, здесь произрастают айр обыкновенный (*Acorus calamus* L.), вахта трехлистная (*Menyanthes trifoliata* L.), сабельник болотный (*Comarum palustre* L.), а также ряд вересковых кустарников и кустарничков - голубика (*Vaccinium uliginosum* L.), клюквы мелкоплодная и болотная (*Oxycoccus microcarpus* Turcz. ex Rupr., *O. palustris* Pers.), багульник болотный (*Ledum palustre* L.), рододендрон мелколистный (*Rhododendron parvifolium* Adams) и др. Они употребляются в народной медицине при лечении ревматизма, подагры, лихорадки, простуды и других болезней.

Немало лекарственных видов выявлено в группе сорных и

адвентивных растений. Из них наиболее часто в лечебных целях используются лепидотека душистая (*Lepidotheca suaveolens* (Pursh) Nutt.), трехребросемянник продырявленный (*Tripleurospermum perforatum* (Merat) M. Lainz), крапивы плосколистная и узколистная (*Urtica platyphylla* Wedd., *U. angustifolia* Fisch. ex Hornem.), подорожник большой (*Plantago major* L.), горец птичий (*Polygonum aviculare* L.), чистотел азиатский (*Chelidonium asiaticum* (Hara) Krachulkova), одуванчик лекарственный (*Taraxacum officinale* Wigg.), пастушья сумка обыкновенная (*Capsella bursa-pastoris* (L.) Medik.), тысячелистник обыкновенный (*Achillea millefolium* L.), череда лучевая (*Bidens radiata* Thuill.) и др. Эта группа представлена 42 видами или 16,5% от всего состава лекарственных растений острова.

В луговых растительных сообществах Сахалина количество выявленных видов лекарственных растений достигает до 20% от их общего состава. Наиболее часто здесь встречаются следующие лекарственные растения: *Hypericum perforatum* L., *Rhodiola rosea* L., *Achillea millefolium* L., *Plantago cornuti* Gouan, *Veratrum grandiflorum* (Maxim. Ex Baker) Loes. fil., *Cimicifuga simplex* (DC.) Wormsk. ex Turcz., *Urtica platyphylla* Wedd и др. Безусловно, значительное количество лекарственных растений встречается в нескольких типах растительности, формациях и экотопах. В этой связи, отнесение их к той или иной формации или типу растительности носит несколько условный характер.

Несмотря на довольно внушительное количество лекарственных растений на острове они в целом используются крайне недостаточно. В государственную фармакопею официально включено не более 3% состава лекарственных растений Сахалина. К ним в первую очередь относятся: лимонник китайский (*Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill.), айр обыкновенный (*Acorus calamus* L.), элеутерококк колючий (*Eleutherococcus senticosus* (Rupr. et Maxim.) Maxim.), родиола розовая (*Rhodiola rosea* L.), брусника (*Vaccinium vitis-idaea* L.), вахта трехлистная (*Menyanthes trifoliata* L.), тысячелистник обыкновенный (*Achillea millefolium* L.), толокнянка обыкновенная (*Arctostaphylos uva-ursi* (L.) Spreng.).

Кроме фармакопейных таксонов, на Сахалине встречается значительное количество викарирующих видов, которые замещают широко распространенные в других регионах страны лекарственные растения. Они по своему систематическому положению, химическому составу и фармакологическим свойствам близки к официально признанным видам, но вместе с тем для их использования в лечебных целях необходима нормативная документация, утвержденная в

установленном порядке. Так, например, наш региональный ландыш Кейске (*Convallaria keiskei* Miq.) весьма близок к фармакопейному ландышу майскому, адонис амурский (*Adonis amurensis* Regel et Radde) к адонису весеннему, термопсис люпиновидный (*Thermopsis lupinoides* (L.) Link) к термопсису ланцетному, чемерица остроподольная (*Veratrum oxysepalum* Turcz.) к чемерице Лобеля, арника (*Arnica sachalinensis* (Regel) A. Gray) к арнике горной, пижма (*Tanacetum boreale* L.) к пижме обыкновенной и т. д.

Лекарственные растения на Сахалине в советский период заготавливались централизованно и весьма активно. В частности, в качестве лекарственного сырья для аптечной сети заготавливали листья брусники и толокнянки, плоды шиповника, черемухи обыкновенной и лимонника китайского, корни родиолы розовой и элеутерококка колючего, траву череды, чистотела и др. Однако в постперестроечные годы отлаженная система заготовок на острове, не только лекарственных, но также пищевых растений и грибов, была полностью нарушена. В настоящее время основные заготовки осуществляются местным населением для личного использования, иногда и для продажи, соответственно, пополнения своего семейного бюджета. Разумеется, что эти заготовки ведутся бессистемно, без должного контроля видовой принадлежности растительного сырья и знания их запасов. В основном эксплуатируются одни и те же уголья, что приводит к их истощению, а порой и деградации.

Безусловно, лекарственные растительные ресурсы Сахалина исследованы слабо, следовательно, используются неэффективно и поэтому требуют пристального внимания. Вместе с тем следует особо отметить, что потенциал применения лекарственных растений острова весьма высок, и в этом отношении опыт и традиции местных коренных народностей (айнов, нивхов, орочей и др.) служит лишним тому подтверждением.

Литература

1. Баркалов В. Ю. Список видов сосудистых растений острова Сахалин/В. Ю. Баркалов, А. А. Таран//Растительный и животный мир острова Сахалин (Матер. Международного сахалинского проекта. Часть 1). - Владивосток: Дальнаука. - 2004. - С. 39-66.
2. Сосудистые растения советского Дальнего Востока/Под ред. С. С. Харкевича. - Л., СПб.: Наука. - ТТ. 1-8. - 1985-1996.

**ИННОВАЦИОННЫЕ ТЕХНОЛОГИИ ПЕРЕРАБОТКИ СЕМЯН
СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ КУЛЬТУР НА ПРИНЦИПАХ
БИОТЕХНОЛОГИИ**

Самофалова Л.А., Сафронова О.В.

ФГБОУ ВПО "Госунiversитет-УНПК"

lalsamof@rambler.ru

Выбор объектов исследований продиктован известными сведениями о филогенетическом родстве запасных белков семян двудольных растений, таких как бобовые и масличные. Основную часть их белков составляют специфичные запасные глобулины. По константам седиментации – это 11S и 7S белки.

Структурное родство 11S-глобулинов, проявляется в высокой степени гомологии первичной структуры полипептидных цепей, в очень близкой вторичной структуре и единообразном способе объединения субъединиц в гексамерную четвертичную структуру, а, следовательно, и в идентичности условий диссоциации в метаболических процессах при прорастании.

При применении технологических приёмов выделения таких белков главной проблемой является их растворимость. Исследователи сходятся во мнении, что компактные третичные и четвертичные структуры препятствуют растворению и оно достижимо только при определённой модификации гетерогексамеров и гетеромеров до субъединичного и полипептидного состава, как правило, с помощью химических воздействий (кислотный и щелочной гидролиз) или ферментации. На распад четвертичной структуры при прорастании, предшествующий гидролизу, указывают ряд авторов. Общность поведения 11S белков при прорастании выражается в диссоциации на полумолекулы и изменении ионогенных свойств, при достижении «критической» влажности, и образовании низкомолекулярных соединений при гидролитических процессах, связанных с появлением корешка. Таким образом, естественная биологическая активация семян способствует функционализации белков и может эффективно использоваться в технологических процессах.

Данная концепция легла в основу нового направления переработки семян двудольных культур в инновационные продукты, технологии которых разработаны и апробированы в условиях предприятий. Это позволило получить широкий спектр различных по функциональной

направленности и технологическим характеристикам продуктов, включающий:

- белково-жировую, белково-полисахаридную основы для непосредственного потребления в виде растительных напитков молочного типа;
- использование белковой основы в технологии комбинированных растительно-молочно-фруктовых напитков с заданным составом;
- использование белковой основы в технологии функциональных растительно-кисломолочных напитков с пробиотическими и пребиотическими свойствами;
- получение эмульгированных продуктов, имитирующих традиционные молочные для людей с непереносимостью молочных белков - типа мороженого на растительной основе, майонезов, соусов;
- получение белковых паст, обогащённых функциональными ингредиентами путём сгущения растительной основы;
- получение структурированных форм белоксодержащих продуктов с лечебно-профилактическими свойствами.

Технология является универсальной для предлагаемого ряда продуктов и предусматривает: набухание семян - запуск прорастания, выбор фазы, измельчение, экстрагирование, фильтрация - получение белково-жировой или белково-полисахаридной основы, гомогенизация, пастеризация, смешивание рецептурных ингредиентов, дальнейшие технологические действия.

Высокая пищевая ценность, технологическая совместимость растительных заменителей молока с разнообразным сырьём, присутствие функциональных ингредиентов, стойкость при хранении позволяют вырабатывать продукты диетического и лечебно-профилактического назначения, рекомендовать применение в детском питании.

Литература

1. Самофалова Л.А. Биоактивация белкового комплекса двудольных семян при прорастании и перспективы использования в технологии растительных аналогов молока // *Хранение и переработка с/х сырья*. № 11. 2008. С. 40-43.
2. Самофалова Л.А., Шмаркова Л.И. Анализ влияния технологических параметров на агрегационную устойчивость растительной основы и эффективность извлечения белков из прорастающих семян // *Технология и товароведение инновационных пищевых продуктов* № 2. 2010. С. 17-23.

ГЕННАЯ ТЕРАПИЯ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА

Сапронова М.Р., Шнайдер Н.А., Похабов Д.В.

ГБОУ ВПО "КрасГМУ им. проф. В.Ф.Войно-Ясенецкого"
Минздравсоцразвития

sapronova.mr@yandex.ru

Болезнь Паркинсона (БП) - нейродегенеративное заболевание, при котором происходит потеря дофаминергических нейронов черного вещества. Среди лиц старше 60 лет частота встречаемости БП достигает 1%. В большинстве случаев БП является мультифакторным заболеванием, моногенные формы БП встречаются в 5-10% случаев. До настоящего времени лечение БП остается на уровне симптоматической терапии. Применяемые методы терапии не оказывают существенного влияния на развитие патологического процесса. В связи с постарением населения, численность пациентов, страдающих БП, неуклонно растет. Разработка новых методов лечения, способных остановить гибель дофаминергических нейронов, остается актуальной задачей для ученых всего мира.

Для лечения БП могут быть использованы два основных направления генной терапии: метод выключения гена и метод введения гена в клетки пациента с целью изменения их функциональности. Метод выключения гена осуществляется с использованием коротких интерферирующих РНК (short interfering RNA, англ. — siРНК). Суть метода заключается в способности siРНК подавлять экспрессию мутантного белка. При этом экспрессия практически любого гена с известной последовательностью нуклеотидов может быть целенаправленно изменена. РНК-интерференция относится к посттранскрипционному процессу последовательность-специфического сайленсинга, опосредованного двухцепочечными РНК (дцРНК). Присутствующая в клетке дцРНК, которая часто представляет собой чужеродный геном РНК-вирусов, разрезается на короткие фрагменты ферментом Dicer. Одна из двух цепей РНК-фрагмента включается в белковый комплекс RISC (RNA-induced silencing complex, англ.) и взаимодействует с комплементарной вирусной мРНК, которая затем расщепляется RISC комплексом. В результате синтез белка, кодируемого данной мРНК, прекращается. Наряду с ответом на чужеродную РНК, клетки синтезируют собственные короткие siРНК из так называемой микроРНК

(miРНК). miРНК процессируются аналогично двухцепочечным РНК вирусом и подавляют синтез клеточных белков за счет деградации мРНК либо путем создания препятствий на мРНК для работы рибосом. Одной из ключевых проблем этого метода является быстрое разрушение молекул siРНК, а также разработка способа преодоления гематоэнцефалического барьера. Один из возможных вариантов решения поставленной задачи предложил Профессор Парас Прасад из Нью-Йоркского университета в Баффало и его коллеги. В своих экспериментах на лабораторных культурах клеток исследователи показали, что использование наночастиц золота позволяет стабилизировать молекулы РНК, адсорбированные на поверхности наночастиц, и беспрепятственно проходить через гематоэнцефалический барьер, эффективно доставляя лекарство прямо к клеткам мозга. При этом теряется всего лишь чуть больше половины введенного вещества. Цилиндрическая форма наночастиц в этом случае более выгодна по сравнению со сферической, так как такие частицы обладают большей поверхностью и могут нести на себе больше активных молекул РНК. Описан метод интраназального введения соединений, вызывающих РНК-интерференцию. К побочным эффектам метода РНК интерференции относится возможность сбоя мишени. Неоспоримым достоинством метода является избирательное подавление экспрессии мутантного белка и сохранение экспрессии нормального белкового продукта. В качестве основной мишени для лечения БП методом РНК интерференции рассматривается мажорная мутация гена LRRK2 (leucine-rich repeat kinase 2, англ.) G2019S (локус PARK8) с аутосомно-доминантным типом наследования. Мутация G2019S встречается у 1 - 2 % пациентов с БП европейского происхождения, 15 - 20 % еврейских пациентов, и приблизительно у 40 % северных африканских арабов. Метод выключения гена является весьма перспективным направлением в лечении БП. Исследования в данной области продолжаются и, возможно, в будущем РНК интерференция будет использоваться для патогенетического лечения моногенных форм БП.

Основываясь на терапевтическом эффекте прямых инъекций гаммааминомасляной кислоты (ГАМК) в мозг пациентов с БП, американские ученые предложили с помощью метода генной терапии увеличить в нейронах синтез ГАМК. По мнению исследователей, введение в нейроны субталамического ядра дополнительных генов GAD, кодирующих фермент глутаматдекарбоксилазу, приведет к долгосрочному повышению экспрессии ГАМК. В ходе двойного слепого

плацебо-контролируемого исследования получены многообещающие результаты. В группе больных, получивших лечение (введение в субталамические ядра генов GAD при использовании вирусного вектора), в среднем на 23,1% улучшились двигательные функции. Это статистически достоверное различие сохранялось в течение всех 6 месяцев наблюдения.

Таким образом, генная терапия БП обладает весьма широкими возможностями, она, по-прежнему, нуждается в проведении дальнейших исследований, но возможно, уже в скором времени станет доступным и эффективным методом лечения БП.

**ИЗУЧЕНИЕ ФЛАВОНОИДОВ ОСОБО ЦЕННОГО
ЛЕКАРСТВЕННОГО ВИДА *ASTRAGALUS MEMBRANACEUS* (FISCH.)
BUNGE И ПЕРСПЕКТИВНОГО *ASTRAGALUS TENUIS* TURCZ. В
ЮГО-ВОСТОЧНОМ ЗАБАЙКАЛЬЕ**

Сараева Л. И., Коцулий О. В.

Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Государственный природный биосферный заповедник «Даурский»,
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Центральный сибирский ботанический сад СО РАН

bagul72@mail.ru, olnevaster@gmail.com

Территория Юго-Восточного Забайкалья расположена в степной и лесостепной природных зонах на юге Сибири, простираясь от южного побережья оз. Байкал на западе до границы с Амурской областью на востоке, с государственной границей РФ с Монголией и Китаем на юге (Малая энциклопедия Забайкалья, 2009). Экспедиционные исследования по изучению особо ценных лекарственных видов растений, в частности видов из рода *Astragalus* L., проводились совместно в 2000-2001 и в 2007 годах, на территории Адун-Челонского участка Даурского заповедника и трёх административных районов: Борзинском, Краснокаменском, Агинском. Данные районы, в 2010 г., вошли в состав созданной зоны сотрудничества биосферного заповедника «Даурский». Зона сотрудничества (транзитная зона) расположена в приграничье России, Монголии и Китая и призвана согласовывать хозяйственную деятельность человека по разным направлениям (Кирилук, 2012). С природоохранной целью необходимо ограничивать массовые бесконтрольные заготовки редких и особо ценных лекарственных видов, предотвращая сокращение их численности и ущерба видового разнообразия экосистем.

Род *Astragalus* объединяет около 2500 видов из семейства *Fabaceae* (Бобовые), из них в Забайкалье встречается 22 вида (Малая энциклопедия Забайкалья, 2009).

На территории зоны сотрудничества Даурского заповедника, в научном и хозяйственном отношении, представляют интерес произрастающие здесь виды растений: *A. membranaceus* – редкое особо ценное лекарственное растение, используемое в китайской, монгольской и тибетской медицине и *A. tenuis* – малоизученный, но достаточно

перспективный с точки зрения ресурсоведения вид.

A. membranaceus - многолетнее растение, отличительными морфологическими признаками которого служат опушенный боб и завязь. Цветки в рыхлых кистях при отцветании поникающие. Чашечка ширококолокольчатая, сильно скошенная, с очень маленькими, опушёнными зубцами. Бобы поникающие, полуовальные, тонкоперепончатые, одногнездные. Лесной вид, описанный из Даурии, произрастает по опушкам в осветленных лесах, суходольным лугам и луговым степям, в зарослях кустарников на территории Бурятии, Якутии, на Дальнем Востоке и в Забайкальском крае. Маньчжуро-даурский ареал вида охватывает Монголию, Северный Китай, Корейский полуостров (Флора Сибири, 1994). Редкий уязвимый и ценный лекарственный вид, резко сокращающий ареал и подверженный опасности исчезновения в результате деятельности человека, при бесконтрольной заготовке корневого сырья (Красная книга .., 2002). В Даурском заповеднике вид встречается изредка в луговых и настоящих степях по степным каменистым склонам на Адун-Челонском скальном массиве и по степным склонам западного побережья оз. Барун-Торей (Сараева, Горюнова, 2007(a)).

A. tenuis - многолетнее травянистое растение с голыми стеблями. Листочки линейные или нитевидно-линейные, снизу голые или слабо опушены, на верхушке притупленные. Степной вид, в России встречается только в Даурии, находясь на северной границе маньчжуро-даурского ареала, основная часть которого находится в Северной Монголии (Флора Сибири, 1994). В Даурском заповеднике произрастает повсеместно в степях, по каменистым склонам, на песках, в разреженном сосновом Цасучейском бору (Сараева, Горюнова, 2007(б)).

Возрастающий в последние десятилетия интерес исследователей к флавоноидам, входящим в состав комплекса БАВ большинства лекарственных растений, связан с широким спектром их биологического действия и большой распространенностью в природе.

Методами высоко-эффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) и хроматографией на бумаге (БХ) нами были изучены состав и содержание флавоноидов надземной части растений у видов *A. membranaceus* и *A. tenuis*, произрастающих на территории зоны сотрудничества Даурского заповедника.

В надземной части *A. membranaceus* ранее обнаружены кверцетин, кемпферол, рамноцитрин, куматокенин, содержание флавоноидов - $1,95 \pm 0,09$ % (Дунгэрдорж, 1978); в стеблях и листьях найден

рамноцитрин–3-β-D-глюкозид, его содержание в стеблях составило 0,122, в – листьях 0,506 % (Tian et al., 1993). В корнях этого растения обнаружены изофлавоноиды – 3'-гидрокси-4'-метоксиизофлаван-7-гликозид (Kosuge et al., 1986); (3R)-8, 2'-дигидрокси-7, 4'-диметокси-изофлаван, (3R)-7, 2', 3'-тригидрокси-4'-метокси-изофлаван, (3R)-2'-гидрокси-7, 3', 4'-тримет-оксиизофлаван, 2'-гидрокси-3', 4'-диметокси-изофлаван-O-β-D-глюкопиранозид (Song et al., 1997; Song et al., 1997a); формонетин, каликозин, каликозин-7-O-β-D-глюкозид, каликозин-7-O-β-D-глюкозид-6"-O-малонат, ононин, формонетин-7-O-β-D-глюкозид-6"-O-малонат, (3R)-7, 2'-дигидрокси-3', 4'-димет-оксиизофлаван-7-O-β-D-глюкозид, (3R)-7, 2' & # 8242; -дигидрокси-3', 4'-диметоксиизофлаван, астро–изофлаванглюкозид-6'-O-малонат (Lin et al., 2000).

Лекарственные свойства и терапевтическое действие *A. membranaceus* довольно широко изучаются отечественными и зарубежными исследователями. Вид известен как особо ценное лекарственное растение, оказывающее общеукрепляющее и тонизирующее действие. В восточной медицине, в Забайкалье и на Дальнем Востоке, его употребляют в качестве гипотензивного, кардиотонического, диуретического, потогонного (Ибрагимов, Ибрагимова, 1960), ранозаживляющего, нормализующего процессы пищеварения средства, а также при нарушениях обмена веществ, для лечения инфицированных ран. В Монголии корень Хунчир (монгольское название *A. membranaceus*) применяется как консервант молока. Корни имеют приятный сладковатый вкус и могут использоваться в пищу (Малая энциклопедия Забайкалья, 2009). В тибетской медицине применяют и цветки Хунчира под названием «Нян-ар» при кожных заболеваниях «от плохой крови» (Хайдав и др., 1985). В китайском языке корни *A. membranaceus* (а также корни *A. mongholicus* и *A. propinquus*) называют «хуан ци». Они имеют широкое применение в китайской медицине, ценятся как универсальное лекарственное средство и поэтому истреблялись на территории Монголии в больших количествах для вывоза в Китай (Юнатов, 1954). В китайской народной медицине растение входит в состав рецептов, в том числе используемых при злокачественных опухолях (Растительные..., 2010). При отеках, водянке и как родовспомогательное, ускоряющее отделение плаценты, употребляют в Восточном Забайкалье, в тибетской медицине – при гастронтеритах, заболеваниях селезенки (Варлаков, 1963). В эксперименте обнаружена противотрихомонадная активность

водно-спиртового извлечения из надземной части *A. membranaceus* (Рубинчик, 1972).

В надземной части *A. tenuis* обнаружены изокверцитрин, 3-О-β-глюкобиозид кверцетина. Густой экстракт *A. tenuis* в эксперименте проявляет гипотензивные свойства (Растительные., 2010).

Методом ВЭЖХ у *A. membranaceus* нами обнаружены шесть веществ агликоновой природы. Идентифицированы флавонолы кверцетин, кемпферол, рамноцитрин и изорамнетин (Коцупий (Сиднева) и др., 2009).

На примере *A. membranaceus* подробно изучена изменчивость состава и содержания гликозидов флавоноидов. Было показано, что на изменение общего содержания флавоноидов и количественного соотношения компонентов влияют фаза развития, год сбора, онтогенетическое состояние, географические условия произрастания, на изменение состава - онтогенетическое состояние растения и географические условия произрастания (Сиднева, 2007). Максимумы накопления флавоноидов в листьях *A. membranaceus* приходятся на фазы вегетации и плодоношения (соответственно 4,16 и 4,70 % от массы абсолютно сухого сырья), в надземной части - на фазу плодоношения (3,31 %). Высокое содержание и полный, стабильный состав флавоноидов представлен в листьях растений генеративного состояния. Оптимальными сроками сбора сырья следует считать фазы массового цветения и плодоношения, так как именно в это время происходит наибольшее накопление суммы флавоноидов в пересчете на одно растение - 41.5 и 68.14 мг соответственно. В эти фазы листья и стебли, составляющие основную массу надземной части, содержат максимальное количество веществ (Сиднева, 2005).

Методом ВЭЖХ в листьях *A. membranaceus* обнаружено от 21 до 30 компонентов - флавоноидов и фенолкарбоновых кислот.

Суммарное содержание гликозидов флавоноидов в листьях растений из 18 ценопопуляций, взятых из разных точек ареала *A. membranaceus*, колеблется от 3.01 до 5.00 %. Результаты исследования двух ценопопуляций (из заповедника «Даурский» - окр. с. Адун-Челун и из зоны сотрудничества - окр. с. Маргуцек) показали, что содержание флавоноидов растений этих местообитаний достаточно высокое (таблица)

Методом ВЭЖХ в гидролизатах экстрактов листьев *A. tenuis* идентифицированы кверцетин, кемпферол, лютеолин, в экстрактах обнаружено от 10 до 12 компонентов (флавоногликозидов и фенолкарбоновых кислот). Содержание флавоноидов в листьях растений *A. tenuis* с изучаемой территории находится в пределах 3,86-4,42 %, что

также является высокими показателями (таблица)

Таблица 1. Содержание флавоноидов в листьях *A. membranaceus* и *A. tenuis* в юго-восточной части Забайкальского края, в % от массы абсолютно сухого сырья

Место сбора	Дата, фаза вегетации	Содержание флавоноидов
<i>A. membranaceus</i>		
Краснокаменский р-н, окр. с. Маргуцек, ковыльно-нителистниковая степь	ПЛ 21.07.2000	4,22
Борзинский р-н, окр. с. Адун-Челун, гора Цаган-Обо, нителистниковая степь	ПЛ 20.07.2000	4,03
<i>A. tenuis</i>		
Агинский р-н, окр. п. Цырик-Нарасун, злаково-разнотравная степь	МЦ 29.07.2007	4,42
Агинский р-н, оз. Ножий, степь, ильмовник	МЦ 15.07.2001	3,86

Примечание: МЦ – массовое цветение, ПЛ – плодоношение.

Таким образом, растения видов *A. membranaceus* и *A. tenuis*, произрастающие на территории Государственного природного биосферного заповедника «Даурский» и в зоне его сотрудничества, с содержанием флавоноидов 3,86 – 4,22 % от массы абсолютно сухого сырья и большим набором флавоногликозидов, представляют интерес как перспективные с точки зрения ресурсоведения. Учитывая бесконтрольные массовые заготовки лекарственных растений, особенно *A. membranaceus* в последние годы, необходим контроль за численностью, состоянием и пространственной структурой популяций, с последующей возможной разработкой рекомендаций для органов власти по сохранению вида в зоне сотрудничества, проведение эколого-просветительской работы с населением. Биологическая интродукция и методы биотехнологии лекарственных растений являются одним из перспективных и актуальных направлений сбережения генофонда особо ценных и уязвимых лекарственных видов растений.

Литература

1. Дунгэрдорж Д. Изучение флавоноидных соединений некоторых видов рода астрагал (*Astragalus* L.), применяемых в народной медицине Монголии: автореф. дис...канд. фарм. наук. М., 1978. 23 с.
2. Кирилюк О.К. Развитие сети ООПТ региона с учётом современных проблем природопользования // Проблемы адаптации к изменению климата в бассейнах рек Даурии: экологические и водохозяйственные аспекты. Сборник научных трудов Государственного природного биосферного заповедника «Даурский». Вып.5. / под ред. О.К. Кирилюк, Е.А.Симонова. Чита: Экспресс-издательство, 2012. С. 74-87.
3. Коцупий О.В. (Сиднева), Храмова Е.П., Высочина Г.И. Состав и содержание агликонов флавоноидов в листьях сибирских видов рода *Astragalus* секций *Cenantrum* и *Onobrychium* (Fabaceae) // Растит. ресурсы. 2009. Т. 45. № 3. С. 76 – 82.
4. Малая энциклопедия Забайкалья: Природное наследие /Г. ред. Р.Ф. Гениатулин. Новосибирск: Наука, 2009. С. 53-54.
5. Растительные ресурсы СССР: Цветковые растения, их химический состав, использование: семейства Hydrangeaceae – Haloragaceae. Л., 1987. С. 109-125.
6. Растительные ресурсы России. Т. 3 / Отв. ред. А. Л. Буданцев. Спб; М.: 2010. 601 с.
7. Сараева Л.И., Горюнова С.В. Редкие сосудистые растения Даурского заповедника / Ботанические исследования в Даурском заповеднике. Вып. 4 / Отв. ред. В.Н. Рыбкина. Чита: Поиск, 2007. С.138-157. (а)
8. Сараева Л.И., Горюнова С.В. Сосудистые растения биосферного заповедника "Даурский" и заказника "Цасучейский бор" / Ботанические исследования в Даурском заповеднике. Вып.4 / Отв. ред. В.Н. Рыбкина. Чита: Поиск, 2007. С.38-138.(б)
9. Сиднева О.В. Изменчивость состава содержания флавоноидов *Astragalus membranaceus* (Fischer) Bunge из Восточной Сибири // Сибирский ботанический вестник. 2007. Т. 2. Вып. 2. С. 69 – 78. <http://journal.csbg.ru/pdfs/42.pdf>.
10. Сиднева О.В. Сезонная динамика содержания флавоноидов в надземной части *Astragalus membranaceus* (Fabaceae) в Восточном Забайкалье // Растит. ресурсы. 2005. Т. 41, вып. 4. С. 81–85.
11. Флора Сибири. Т.9. Fabaceae (Leguminosae) / Сост. А.В.Положий, С.Н. Выдрина, В.И. Курбатский, О.Д. Никифорова. В 14 томах. – Новосибирск: Сибирская издательская фирма ВО «Наука», 1994. 280

с.

12. Хайдав Ц., Алтанчимэг Б., Варламова Т.С. Лекарственные растения в монгольской медицине. Улан-Батор, 1985. С. 51–53.
13. Юнатов А.А. Кормовые растения пастбищ и сенокосов Монгольской Народной Республики. М.–Л., 1954. С. 248–151.
14. Kosuge T., Ishida K., Nagasawa M. Preparation of an isoflavone derivative from Astragalus roots // Chem. Abstrs. 1986. V. 105, N 12081.
15. Lin L.-Z., He X.-G., Lindenmaier M., Nolan G., Yang J., Cleary M., Qiu S.-X., Cordell A. G. Liquid chromatography–electrospray ionization mass spectrometry study of the flavonoids of the roots of Astragalus mongholicus and A. membranaceus // J. of Chromatogr. 2000. V. 876. P. 87–95.
16. Song Ch., Zheng Zh., Liu D., Hu Zh. Antimicrobial isoflavans from Astragalus membranaceus (Fisch.) Bunge // Zhiwu Xuebao. 1997. V. 39. N 5. P. 486-488.
17. Song Ch., Zheng Zh., Liu D., Hu Zh., Sheng W. Pterocarpans and isoflavans from Astragalus membranaceus (Fisch.) Bunge // Zhiwu Xuebao. 1997a. V. 39. N 12. P. 1169-1171.
18. Tian Zh., Ma Y., Meng R., Li B. Quantitative determination of flavonoids in the stalk and leaves of Astragalus membranaceus by TLS // Shenyang Yaoxueyuan Xuebao. 1993. V. 10. N 1. P. 24.

ВЛИЯНИЕ ЗАСУХИ НА ГУМИФИКАЦИЮ РАСТИТЕЛЬНЫХ ОСТАТКОВ ПОЧВЕННЫМИ МИКРОБНЫМИ БИОСЕТАМИ

Свиридова О.В.¹, Воробьев Н.И.¹, Андронов Е.Е.¹, Попов А.А.¹,
Толмачев С.Ю.²

¹ГНУ ВНИИСХМ Россельхозакадемии, Санкт-Петербург,
²ООО «МНТЦ ВЕНТ», Москва

osviridova@newmail.ru

Введение. Нестабильные экологические условия постоянно стимулировали микробно-растительные системы (МРС) в направлении повышения адаптационного потенциала, интегрированности компонентов систем и стабильности их репродуктивных характеристик [1]. В рамках эволюционных процессов был осуществлен высококачественный генетический дизайн метагеномных библиотек детерминированных адаптационных планов (А-планов) [2, 3]. Однако из-за конечности размеров метагенома с некоторого момента рост числа А-планов замедлился и снизились темпы развития биосистем в этом направлении [4]. Кроме этого, появилась проблема выбора А-плана, адаптированного к заранее неизвестным экологическим условиям и необходимого для выживания биосистем в меняющихся экологических условиях. Для решения этой проблемы был задействован механизм групповой адаптации МРС. Эта адаптация базируется на распределении между отдельными экземплярами биосистем всего спектра А-планов, обеспечивая этим возрастание вероятности адаптации хотя бы одной биосистемы.

Каждый А-план регулирует процессы в МРС и задает индивидуальные темпы развития МРС. В связи с этим, в биометрическом пространстве биосистем наблюдается группировка данных в кластеры, и число кластеров определяется числом активизированных А-планов. Кластеризацию можно обнаружить в тонкой структуре распределения плотности вероятности биометрических данных. В области кластеризации плотность вероятности заметно возрастает и образует локальный максимум. Таким образом, число локальных максимумов несет в себе информацию о числе активизированных в биосистеме А-планов и об адаптационном ранге биосистемы [5]. В данном исследовании мы оценивали адаптационный ранг биосистемы по фрактальной размерности биометрических данных [6-8], проводя

фрактальный анализ длины кусочно-линейной линии графика интегральной функции вероятности (рис. 1).

Микробные компоненты МРС в зависимости от А-планов меняют структуры биосетей, трансформирующих почвенные субстраты [9]. Структура биосетей доступна для исследования молекулярно-генетическими методами [10]. Биосети обладают особой формой ранжированного ряда частот встречаемости микроорганизмов, которая описывается рекурсивными функциями фрактального самоподобия [11, 12]. Фрактальные соотношения частот микроорганизмов биосети предопределены фрактальным распределением мономерных фрагментов в полимерных молекулах [13], то есть для разрыва соответствующих молекулярных связей необходимы количества ферментов и продуцирующих их микроорганизмов, связанные фрактальным соотношением.

Микробные биосети построены из разного количества ячеек, выполняющих соответствующие элементарные биохимические преобразования. Каждая ячейка биосети образуется фрактальным триплетом разных по генотипу микроорганизмов, частоты встречаемости которых связаны фрактальным рекурсивным соотношением Фибоначчи [14]. Исследования показали, что, чем больше погрешность измерения частот встречаемости микроорганизмов, тем больше фрактальных триплетов удастся выделить в микробном сообществе. Эта зависимость характеризует фрактальную размерность микробной биосети, которая возрастает при увеличении сложности биохимических преобразований в биосети.

Целью данного исследования являлось изучение микробных биосетей, образующихся при гумификации в почве соломы зерновых культур в условиях временной засухи. Для этого за осенне-весенний период была проведена гумификация соломы ячменя (СЯ) в почве. В вариантах №3,4,5 (табл.1) гумификация происходила под действием препарата Баркон. В вариантах №5,6,7 к СЯ добавлялся козлятник и листья осины. В варианте № 4 СЯ перед внесением в почву обрабатывалась препаратом Баркон, а затем полностью высушивалась (имитация засухи). В вариантах №6,7 СЯ перед внесением в почву обрабатывалась дистиллированной водой (вода «Баркон»), в которой с помощью генератора торсионного магнитного поля [15] была записана информация о конфигурации микробной биосети препарата Баркон. Весной по 7-ми вариантам опыта был посажен ячмень, а в конце вегетации были измерены высоты всех выросших растений. Образцы почв вариантов №1,2,3 были исследованы молекулярно-генетическим

методом. По полученным данным была рассчитана фрактальная размерность микробных биосетей и значений высот растений (табл. 1).

Таблица 1. Фрактальные размерности значений высоты растений (ФРР) и микробной биосети (ФРС).

Варианты МРС	ФРР	ФРС
1.Почва	0,104	0,825
2.Почва + солома	0,137	0,946
3.Почва + солома + Баркон	0,077	0,892
4.Почва + солома + Баркон (засуха)	0,104	-
5.Почва + солома + козлятник + Баркон	0,098	-
6.Почва+солома+ козлятник+вода«Баркон»	0,074	-
7.Почва+солома+листья осины+вода «Баркон»	0,077	-

Обсуждение и выводы. Приблизительное равенство фрактальных размерностей значений высоты растений в вариантах №1,4 и №3,6,7 позволяет утверждать, что вода является основным каналом информационного обмена между микробными и растительными компонентами биосистем, то есть при засухе микробная сеть не образуется при применении препарата Баркон.

Сравнение фрактальных размерностей в вариантах №2,3 указывает на то, что биопрепарат Баркон содержит более эффективную гумификационную биосеть.



Рис. 1. Интегральная функция вероятности значений высоты растений ячменя.

Литература

1. Проворов Н.А., Воробьев Н.И. Генетические основы эволюции растительно-микробного симбиоза. -СПб.:Информ-Навигатор, 2012.400 с.
2. Dembski W.A., Wells J. The Design of Life: Discovering Signs of Intelligence in Biological Systems. Foundation for Thought and Ethics, Dallas. -2008, 339 p.
3. Meyer S.C. Signature in the Cell: DNA and the Evidence for Intelligent Design. HarperOne. -2009, 611 p.
4. В.А. Гусев. Арифметика и алгебра в структуре генетического кода, логика в структуре генома и биохимическом цикле самовоспроизводства живых систем. Вестник ВОГИС. Т. 9, №2, 2005, с.153-161.
5. Н.И. Воробьев, Н.А. Проворов и др. Фрактальный анализ адаптационных свойств микробно-растительных систем. Науковий вісник Національного університету біоресурсів і природокористування України: Сер. [Біологія, біотехнологія, екологія]. - К., 2012, вип. 178, с. 75-83.
6. Мандельброт Б. Фрактальная геометрия природы. -М.:Институт компьютерных исследований. -2002, 656 с.
7. Кроновер Р.М. Фракталы и хаос в динамических системах. -М.:Постмаркет. - 2000, 352 с.
8. Шредер М. Фракталы, хаос, степенные законы. -Ижевск:НИЦ «Регулярная и хаотическая динамика». -2005, 528 с.
9. Воробьев Н.И., Свиридова О.В и др. Граф-анализ генно-метаболических сетей почвенных микроорганизмов, трансформирующих растительные остатки в гумусовые вещества. Сельскохозяйственная биология. Сер. «Биология растений», №3, 2011, с. 88-93.
10. Schütte U.M. E., Abdo Z., Bent S.J., Shyu C., Williams C.J., Pierson J.D., Forney L.J. 2008. Advances in the use of terminal restriction fragment length polymorphism (T-RFLP) analysis of 16S rRNA genes to characterize microbial communities. Appl. Microbiol. Biotechnol. -2008, 80(3), p. 365-380.
11. Б.А.Богатых. Фрактальная природа живого.-М.:Либроком. -2012, 256 с.
12. Гелашвили Д.Б. и др. Основы мультифрактального анализа видовой структуры сообщества. Успехи соврем. биол. -2008, №128(1), с. 21-34.
13. Долгоносов Б. М., Губернаторова Т. Н. Кинетика ферментативной

- деструкции органических макромолекул с фрактальной структурой. Теоретические основы химической технологии.- 2007, № 6, с. 671-680.
14. Воробьев Н. Н. Числа Фибоначчи. -М.:Наука,1969. -112 с.
 15. Воробьев Н.И., Свиридова О.В и др. Новая концепция межорганизменного сигналинга, наблюдаемого при растительно-микробных взаимодействиях. Сб. тр. 1-й Интернет-Конференции «Растения и микроорганизмы». -Казань, 2011, с. 208-213.

БИОКАТАЛИТИЧЕСКОЕ ПОЛУЧЕНИЕ ФУМАРОВОЙ КИСЛОТЫ ИЗ НЕПИЩЕВОГО ВОЗОБНОВЛЯЕМОГО СЫРЬЯ

Сенько О.В., Мамедова Ф.Т., Степанов Н.А., Ефременко Е.Н.

Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля, РАН

senko@enzyme.chem.msu.ru

В настоящее время значительно возрос интерес к получению органических кислот, в частности, к фумаровой, представляющих собой мономеры для получения биоразлагаемых композиционных материалов. Биокаталитическое получение фумаровой кислоты позволяет использовать различное углеродсодержащее сырье, например биомассу фототрофных организмов.

В работе предобработку биомассы микро- и макроводорослей, а также цианобактерий осуществляли культуральной жидкостью, полученной от иммобилизованных клеток-продуцентов гидролитических ферментов, способных функционировать при щелочных и нейтральных значениях pH среды. Для оценки эффективности предобработки сырья проводилась обработка того же сырья методом кислотного гидролиза и термолиза. Полученные гидролизаты образцов различной биомассы подвергались трансформации под действием гетерогенных биокатализаторов на основе клеток мицелиальных грибов, продуцирующих фумаровую кислоту. Максимальные концентрации фумаровой кислоты были получены при использовании термолизованной биомассы или ее ферментативных гидролизатов. Выходы целевого продукта в таких процессах составляли 80÷95 % от теоретически возможного уровня накопления.

Работа выполнена при финансовой поддержке Президиума РАН (Программа «Энергетические аспекты глубокой переработки ископаемого и возобновляемого углеродсодержащего сырья»).

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ ИММОБИЛИЗОВАННЫХ КЛЕТОК AZOTOBACTER CHROOCOCCUM

Сидорова Н. А., Савушкин А. И., Образцова А. М.

Петрозаводский госуниверситет, Карельский госсортоучасток

fagafon@yandex.ru

В последние годы в биотехнологии широкое распространение получило применение иммобилизованных клеток микроорганизмов. Преимущество иммобилизованных клеток по сравнению с иммобилизованными ферментами заключается в том, что при их использовании отпадают стадии выделения, очистки и иммобилизации ферментов, которые обходятся производству дороже в осуществлении полного технологического процесса. Ферменты в микроорганизме находятся в своем естественном окружении (они термостабильны, работают длительно, сохраняют свои каталитические свойства достаточно долго, они не уступают иммобилизованным ферментам в свойствах гетерогенных биокатализаторов). Иммобилизация целых клеток микроорганизмов проводится аналогично иммобилизации ферментов, предотвращая размножение клеток, увеличивая сохранность и срок работы в качестве катализатора по сравнению с необработанными биообъектами.

Для экосистем северо-западного региона России актуальность исследования иммобилизованных клеток микроорганизмов определяется, прежде всего, климатическими факторами. Низкие среднегодовые температуры снижают скорости естественного самоочищения окружающей среды от загрязнителей, что вызывает их накопление в поверхностных водоемах и почве [3]. Наиболее стойкими являются органические загрязнители (ОЗ) - соединения природного или антропогенного происхождения, которые трудно подвергаются фотолитическому, химическому или биологическому разложению [1, 2].

В лабораторных условиях разработана и апробирована технология иммобилизации клеток *Azotobacter chroococcum* гидратированным фуллереном, позволяющим увеличить деструкционный потенциал и азотфиксирующую активность микроорганизма. Показано, что C_{60} в гидратированном состоянии восстанавливает негативные изменения в клетке за счет антиоксидантных свойств фуллеренов, которые рассматриваются как один из механизмов их биологической активности.

Эффект объясняется тем, что предложенная система для иммобилизации *Azotobacter chroococcum* является абсорбентом, вблизи которого происходит концентрирование свободных радикалов. Гидрозоли не обладают прооксидантной активностью, поскольку их прочная гидратная оболочка не позволяет молекулам кислорода непосредственно взаимодействовать с поверхностью молекулы фуллерена, что могло бы способствовать генерированию синглетного кислорода и других АФК (активных форм кислорода). Гидратированные фуллерены остаются химически неизменными и продолжают действовать и как поглотители свободных радикалов, и как регуляторы нормальных уровней перекисного окисления биологических мембран микроорганизма длительное время без побочных действий для клетки. Высокая эффективность гидрозолей фуллеренов при регулировании свободно-радикальных процессов в биологической системе приводит к увеличению уровня метаболической активности штаммов *Azotobacter chroococcum*, выделенных из загрязненных почв Карелии и способствует интенсификации процесса биоремедиации.

Выделение чистых культур *Azotobacter chroococcum* из почв Карелии проводилось поэтапно в течение 2009 – 2011 гг. За этот период на территории Карельского государственного сортоиспытательного участка заложено 9 опытных площадок и методом селекции на элективных средах в чистую культуру выделено и идентифицировано 12 культур *Azotobacter chroococcum*, отличающихся по способности к пигментообразованию и утилизации углеводов.

С целью изучения способности выделенных изолятов азотобактера колонизировать поверхность корней растений проведены стерильные микровегетационный опыты с 3 вариантами растений: 1. Клевер луговой «Саба», 2. Рожь озимая «Славия», 3. Пшеница «Ленинградская-97». Семена проращивали в условиях светокультуры. Эффективность действия азотфиксаторов на рост растений определяли путем измерения высоты coleoptилей и степени прорастания корневой системы. Учет производили через 4 суток, инкубирование - при комнатной температуре. Полученные результаты позволили констатировать положительное влияние инокуляции иммобилизованных азотфиксаторов на рост и развитие растений в условиях стерильной модельной системы. Стимулирующим эффектом обладали все иммобилизованные клетки, независимо от способности к пигментообразованию и утилизации углеводов.

Таким образом, экспериментально показано, что интродукция иммобилизованных культур азотобактера в ризосферу опытных растений

может обеспечивать увеличение роста и развития растений в условиях низких среднегодовых температур северо-запада России, что является перспективным не только для восстановления загрязненных почв, но и для повышения продуктивности сельскохозяйственных культур.

Литература

1. Вельков В.В. Биоремедиация; принципы, проблемы, подходы / В.В. Вельков // Биотехнология.- 1995.- № 3-4.- С. 20-27.
2. Черников В.А., Алексахин Р.М., Голубев А.В. и др. Агрэкология. - М.: Колос, 2000. - 536с.
3. Environmental Microbiology, Second Edition. Wiley-Blackwell. 2009. 375 P.

**ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЛИШАЙНИКОВ Р.
CLADONIA, ПРОИЗРАСТАЮЩИХ В ЯКУТИИ, ДЛЯ ИХ
БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКОГО ИСПОЛЬЗОВАНИЯ**

Степанова А.В., Аньшакова В.В.

ФГАОУ ВПО СВФУ им. М.К. Аммосова

anshakova_v@mail.ru

Наша республика благополучно обосновалась на Севере-Востоке страны, порождая удивительные растения с уникальными свойствами, которые позволяют выжить в суровой северной природе. Среди них ярко выделяются лишайники своими индивидуальными характеристиками, потому не раз привлекающие внимание ученых и обывателей. Всем известно, что лишайниковые сообщества используются в качестве кормовой базы северного оленеводства. Но многим будет интересно знать, что лишайников можно использовать в сельском хозяйстве, пищевой, химической, фармацевтической, парфюмерной промышленности, при оценке экологических характеристик окружающей среды.

Целью исследования является изучение экологической характеристики лишайников рода *Cladonia*, произрастающих в Якутии, и разработка экологически чистых, безотходных, ресурсосберегающих технологий сбора и биотехнологической переработки лишайникового сырья для получения высокоэффективных биопрепаратов широкого спектра действия.

В Якутии лишайники встречаются на почве в сосновых борах, среди растительности тундр, в различных растительных поясах таежной зоны региона. Наиболее распространенным видом является Кладония оленья — *Cladonia rangiferina* (L.) Web (ягель).

В слоевище ягеля содержится до 70% углеводов, близких по своей химической природе к целлюлозе. Кроме того, в составе слоевища ягеля обнаружены уникальные лишайниковые кислоты, минеральные соли, витамины.

Известно, что лишайники концентрируют радионуклиды из воздуха. Поэтому сбор лишайникового сырья необходимо вести в экологически чистой зоне. По результатам ежегодных измерений удельной активности техногенных радионуклидов цезия-137 и стронция-90 на универсальном спектрометрическом комплексе УСК «Гамма плюс» исследуемое

биосырье признано соответствующим нормативам СанПиН 2.3.2.1078-01, что свидетельствует об экологичности зон сбора лишайникового сырья.

Слоевища кладонии заготавливались в летний период, количество сырьевой фитомассы оценивали в соответствии с требованиями инструкции по сбору и сушке (ГОСТ 13727-68). Согласно полученным данным, в таежной зоне с одного гектара смешанных зарослей сбор составил 41,0 г/м² лишайникового сырья при влажности 7,1 %.

Ресурсосберегающая технология сбора слоевищ лишайников рода *Cladonia* учитывает особенности восстановления ягельников и ареалы их произрастания, предполагает сбор на таежных территориях произрастания, где наименьший процент выпаса оленей, и срезание в ходе заготовки не более 1/3 подеция, в результате чего период восстановления исходной биомассы не превысит 8 лет.

Дальнейший передел лишайникового сырья происходит механохимической технологией, являющейся новой рациональной твердофазной технологией нанодиспергирования сухого природного биосырья. Механохимическую активацию проводили в воздушной среде в мельнице-активаторе проточного типа ЦЭМ 7-80, где воздействие гравитационного поля на рабочее тело (мельющие шары) заменено центробежной силой.

Большая часть биологически активных веществ (БАВ) в растительном сырье связана в комплексы различными связями физической и химической природы и лишь небольшая их часть может находиться в биодоступной форме. Ударно-истирающее воздействие сопровождается наряду с разрушением клеточных стенок изменением химического состава компонентов растительного сырья в результате разрыва ряда химических связей (β -гликозидных) и протекания химических реакций с участием образовавшихся активных частиц.

Кроме того, целесообразность применения механохимических технологий объясняется возможностью исключения экологически небезопасных и энергозатратных стадий при получении веществ из природного сырья, таких как экстракция, термическое воздействие, слив отработанных реактивов и др.

Использование механохимической обработки лишайникового сырья в одну технологическую стадию приводит к повышению биодоступности некоторых биогенных элементов в водной вытяжке, таких как Se, Ca, Na [1].

С целью наиболее полного изучения потребительских характеристик лишайника были проведены микробиологические, санитарно-гигиенические исследования по методикам ГОСТ. По

результатам определения микробиологической чистоты и антимикробных свойств лишайникового сырья и его продукта (нанодисперсного порошка) было установлено отсутствие патогенной микрофлоры во всех пробах, что свидетельствует о самой высокой степени микробиологической чистоты как сырья, так и биопродукции, также абсолютной его безопасности для человека.

Рассмотрена возможность использования таких показателей аккумулирующей способности лишайников, как накопления тяжелых металлов. Доказано, что лишайниковое сырье и биопродукция на его основе являются экологически чистыми, т.к. содержание тяжелых металлов не превышает ПДК.

Более того, методом атомно-абсорбционной спектрометрии доказано, что при механообработке содержание некоторых токсичных элементов, например мышьяка, существенно уменьшается (в десятки раз). Вероятно, это связано с процессом комплексообразования во время механоактивации [2].

Таким образом, анализ экологических характеристик исходного лишайникового сырья и его биопродукта, полученного экологически чистой, безотходной механохимической биотехнологией доказал их полное соответствие всем гигиеническим нормативам, применение ресурсосберегающей технологии промышленного сбора слоевищ лишайников рода *Cladonia* в таежных регионах Якутии способствует его максимально быстрому самовосстановлению.

Литература

1. Аньшакова В.В. Влияние механоактивации биокомплексов на основе слоевищ лишайников на экстрагируемость эссенциальных микроэлементов в модельных средах / В.В. Аньшакова, Б.М. Кершенгольц // Химия в интересах устойчивого развития. - 2011. - № 4. - С. 433-436.
2. Лишайниковые аминокислоты-β-олигосахариды - структура, свойства, практическое применение, сравнение с хитозаном / Б.М. Кершенгольц, В.В. Аньшакова, А.А. Шейн // Современные проблемы науки и образования. - 2012. - № 3; URL: <http://www.science-education.ru/103-6332>

СОЦИАЛЬНЫЕ И ЭКОНОМИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ГЛУБОКОЙ ПЕРЕРАБОТКИ ЗЕРНА НА БИОТОПЛИВО

Тарасов В. И.

Аграрный центр Евразийского экономического сообщества

Cisnet@mail.ru

Экспорт сырой нефти и газа также как и экспорт зерна – уже давно не рассматривается в качестве приемлемой экспортной стратегии. При современных технологиях их выгоднее перерабатывать и получать высококачественное топливо и другие продукты и материалы.

По мнению академика Сергея Глазьева, при переходе к новому технологическому укладу нефть или газ вообще остаются в прошлом. Пусть далеко не все согласятся с этим, однако нельзя отрицать, что биотехнологии сегодня зримо и реально меняют наши представления о роли нефти и газа в энергетике. К настоящему времени в Латинской и Северной Америке и в АТР в целом накоплен большой опыт производства альтернативного топлива.

В этой сфере лидирующее положение заняли США, незначительно обогнав Бразилию. Американцы производят в год 30 млрд л биоэтанола – необходимого компонента автомобильного топлива качества Евро-4 и Евро-5. Российским нефтепереработчикам необходимо задуматься над этим. Переход на новые евростандарты вряд ли можно до бесконечности откладывать.

Россия бесконечно отстала и от США, и от Бразилии в выработке и применении биотоплива. США перерабатывают сегодня на биотопливо больше кукурузы, чем Россия в целом производит зерновых. Потенциал зернового производства в нашей стране не стоит недооценивать, но два года неурожаев – нынешний и позапрошлый – действуют отрезвляюще. Экспорт зерна, которое закупается у фермеров за бесценок (по 150-200 долл. за тонну при ожидаемых мировых ценах 400-500 долл.), – не самый эффективный бизнес. Дешевое зерно выгоднее перерабатывать и получать из него в результате глубокой переработки не только биотопливо, но и другие продукты.

Критики говорят, что мы предлагаем перерабатывать зерно в топливо, когда в мире столько голодающих. Однако проблема продовольственной безопасности обсуждалась не раз на мировых саммитах. Основной вывод обсуждения состоит в том, что причиной роста голодающих является не

эмбарго на экспорт зерна, объявленное Россией в позапрошлом году, а недостаточная покупательская способность определенных стран или групп населения.

И в этом убеждают мировые цены на кукурузу, которые выросли в последние годы в полтора раза и продолжают держаться на этом исторически высоком уровне. Несмотря на это США продолжают перерабатывать 150 млн т кукурузы в год на биотопливо. Напомним, что когда Барак Обама первый раз баллотировался в президенты, он обещал, что ни одного зерна не будет снято с конвейера по производству биотоплива. И он сдержал свое обещание.

Следует отметить, что США поставили биотопливо в конце цепочки продуктов переработки кукурузы. При глубокой переработке зерна наряду с биотопливом получается патока, которую на Руси производили всегда. Вся кондитерская промышленность США обеспечивается этими сахаросодержащими продуктами. Затем получают органические кислоты и биокомпоненты для фармацевтики. В частности, сырье для производства инсулина, который мы сегодня покупаем на десятки миллионов долл. в год и только на следующем этапе – биотопливо и корма для животных.

Таким образом, из одной тонны зерна получается продукции на 600-750 долл. США. Биотопливо при такой комплексной переработке становится в производстве не дороже 8-10 руб. за литр.

Нужен ли нашим нефтяникам такой конкурент? Безусловно, нет. Поскольку именно этот сегмент станет регулировать цены на моторное топливо. Наше вступление в ВТО и позиция, что цены на энергоносители на российской территории должны обеспечивать энергодобывающим компаниям нормальную прибыль, прямо говорит о том, что цены на российском рынке должны подниматься до мировых цен. При этом монополисты рынка моторного топлива ориентируются на европейский рынок, где цены безбожно завышены.

Итак, биотопливо может выступить регулятором цен на моторное топливо. Но Россия пока ничего не сделала, чтобы заимствовать необходимые для его производства технологии. В то время как Китай заимствовал все известные и открыл новые технологии его производства источники сырья.

США и Великобритания также работают над производством новых видов биотоплива. В частности, фантастическим видом сырья сегодня стала генномодифицированная сахарная свекла. Она отмечается высокой урожайностью, не требует при своем выращивании дополнительных трудозатрат, поскольку все процессы высоко

механизированы. Очень неприхотлива. Сахаристость значительно повышена, в связи с чем выход биоэтанола заметно увеличивается. Это очень серьезный альтернативный вариант. Ведь именно биоэтанол позволил американским фермерам стать в США одним из самых высокооплачиваемых слоев населения. В России сегодня сельский житель по уровню доходов живет в два раза хуже городского жителя, уже не говоря о том, что его доход в среднем в 5 раз ниже уровня доходов работников нефтедобывающей отрасли. Таким образом, производство биотоплива – это для России решение не только энергетических, но и социальных проблем.

Развивая производство биотоплива, Россия может успешно решать две задачи. Прежде всего, обеспечивать энергоресурсами удаленные регионы, куда вести трубопроводы и даже энергосети сложно и затратно, зато гораздо эффективнее развивать местное энергетическое обеспечение. Вторая задача – возможность создания оперативного автономного энергообеспечения в условиях ЧС и даже вооруженных конфликтов.

Кроме того, активизация этого направления исследований и производства дает широкий фронт работ для резервируемых мощностей технологических линий оборонно-промышленного комплекса. Резервы заводов ОПК позволяют выпускать транспортабельные мини-заводы по производству биотоплива. На реорганизацию ОПК наша страна готова сегодня потратить около 4 трлн рублей. Но есть ли нужда в одномоментном перепроизводстве огромного количества военной техники и боеприпасов? Не лучше ли использовать зарезервированные производственные мощности для повышения энергетической безопасности страны и улучшения социальных условий жизни ее будущих защитников.

Литература

1. Биоэнергетика: мировой опыт и прогноз развития. Научное издание – М.: ФГНУ «Росинформагротех», 2008
2. Васильев Р.Г. (2007) Биоэкономика, основанная на знаниях – стратегическая задача развития России в XXI веке. Москва
3. Магомедов А.Н., Таран В. (2008) Мировые тенденции производства и использования моторного топлива из биомассы сельскохозяйственных культур. АПК: экономика, управление №4
4. Тарасов В.И. (2008 а) Технологические и экономические перспективы и нормативно-правовое обеспечение производства и реализации российского биотоплива. Промышленник России, №9

5. Тарасов В.И. (2008 б) Фактор продовольственной безопасности в формировании современной аграрной политики России. Местное самоуправление в Российской Федерации, №11
6. Тарасов В.И. (2013). Биотопливо и стратегические интересы страны. СМИ Экспертный канал «Экономическая политика». По материалам выступления В.И. Тарасова на Втором Азиатско-Тихоокеанском форуме 12-13 октября 2012 г., г. Москва. Подготовил к публикации Петр Иванов
7. Ушачев И.Г., Пашенко А.И., Тарасов В.И. (2008) Экономическая оценка влияния производства биотоплива на продовольственную безопасность. Доклад на Международной конференции «Проблемы обеспечения продовольственной безопасности: национальный и международный аспекты». Москва
8. IFPRI International Food Policy Research Institute (2008) Biofuels and grain prices: impact and policy responses. Mark W. Rosegrant. Testimony for the US Senate Committee on Homeland Security and Governmental Affairs. Washington, DC
9. RFA (Renewable Fuels Association) (2008) Renewable Fuels Standard. Web site (available at www.ethanolrfa.org/resource/statdard)
10. USDA (United States Department of Agriculture) (2008) Agricultural Baseline Projections: U.S. Crops, 2008-2017. Web site (available at www.ers.usda.gov/Briefing/Baseline/crops.htm)

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ АГРОБИОТЕХНОЛОГИЙ ДЛЯ ОБЕСПЕЧЕНИЯ ПРОДОВОЛЬСТВЕННОЙ БЕЗОПАСНОСТИ

Тарасова Е.В.

ГНУ Всероссийский научно-исследовательский институт экономики
сельского хозяйства Россельхозакадемии

lenaronet@mail.ru

В условиях мирового продовольственного кризиса, усугубляемого мировыми финансовым, экономическим и экологическим кризисами, на первый план выходят вопросы обеспечения продовольственной безопасности. Традиционные технологии земледелия показали свою несостоятельность в подходах к решению проблем борьбы с голодом, эрозией и засоленностью почв, деградации сельхозугодий. Инструментом обеспечения продовольственной безопасности могут выступить новые наукоемкие технологии, такие как современные агrobiотехнологии.

Достижения агrobiотехнологии позволяют производить генетически-модифицированные сельскохозяйственные культуры (ГМ-культуры), устойчивые к гербицидам, пестицидам, насекомым-вредителям, с улучшенными питательными свойствами, способные адаптироваться к изменениям климата, а также с увеличенной урожайностью и более длительным сроком хранения.

Использование биотехнологий в сельском хозяйстве ориентировано на стабильное развитие сельскохозяйственного производства, решение проблемы продовольственной безопасности, получение высококачественных продуктов питания, восстановление плодородия почв. Агrobiотехнологии являются наиболее интенсивно внедряемыми технологиями за всю историю мирового сельского хозяйства.

О темпах внедрения новых технологий свидетельствует, в первую очередь, непрерывное увеличение посевных площадей, отведенных под выращивание ГМ-культур. Так, с 1996 года, когда впервые в мире были выращены ГМ-культуры в США, Австралии, Аргентине, Мексике, Китае и Канаде, по 2012 год размер посевных площадей под ГМ-культурами увеличился в 100 раз, с 1,7 млн.га до 170 млн. га [1]. По оценкам экспертов к 2020 году размер посевных площадей под ГМ-культурами в мире может достигнуть 250 млн. га. [2]

В настоящее время выращиванием ГМ-растений занимается 28 стран,

среди них первую десятку формируют США, Бразилия, Аргентина, Канада, Индия, Китай, Парагвай, ЮАР, Пакистан и Уругвай. В данных странах в первую очередь сделана ставка на развитие агробиотехнологий, потому что они в перспективе позволят обеспечить население стран пищей, кормами для животных, хлопко-волокном и биотопливом.

На протяжении последних 17 лет наиболее распространенными ГМ-культурами в мире являются ГМ-соя, ГМ-кукуруза, ГМ-хлопчатник и ГМ-рапс, при этом размер посевных площадей под традиционными сортами сокращается за счет приращения посевных площадей, занятых под ГМ-культурами (Рисунок 1).

В 2012 году наибольший размер посевных площадей был отведен под выращивание ГМ-сои - 47% (80,7 млн.га) от общей площади, занятой в мире под выращивание ГМ-культур. Доля ГМ-кукурузы составила 32% (55,1 млн.га), ГМ-хлопчатника - 14% (24,3 млн.га), ГМ-рапса - 5% (9,2 млн.га) [1]. Кроме того, в последнее время разрабатываются и внедряются новые ГМ-культуры, такие как ГМ-сахарная свекла, ГМ-рис, ГМ-пшеница, причем темпы внедрения новых культур предельно высоки (Рисунок 2).

В качестве продовольственных ГМ-культур в мире выращиваются ГМ-соя, ГМ-кукуруза, ГМ-рапс, а также ГМ-сахарная свекла. В ближайшие годы к наиболее распространенным продовольственным ГМ-культурам, выращиваемым в мире, добавится ГМ-пшеница и ГМ-рис. Все более актуальным является внедрение в сельское хозяйство ГМ-пшеницы, поскольку выращивание традиционных сортов пшеницы перестало быть прибыльным по сравнению с выращиванием ГМ-сортов сои, кукурузы и рапса. Так в США за период с 2001 по 2009 год увеличение урожайности пшеницы составило 3,8%, в то время как за тот же период времени увеличение урожайности кукурузы составило 14,7%, а сои 9,7% [3].

ГМ-рис, «золотой рис» с улучшенными питательными свойствами, планируется к одобрению для коммерческого сельскохозяйственного производства в 2013 году на Филиппинах, а также в Бангладеш, Индонезии и Вьетнаме [4]. Важность разработки и внедрения ГМ-риса заключается в том, что более 90% риса, производимого в мире потребляется в бедных и наиболее населенных странах мира.

ГМ-соя и ГМ-кукуруза в основном используются в качестве корма для животных, позволяя при этом решить проблему повышения производства мяса для удовлетворения спроса населения развитых и развивающихся стран, с учетом роста их благосостояния. По данным многочисленных экспериментальных исследований, проведенных Европейской

организацией по безопасности пищи (EFSA - European Food Safety Authority), не обнаружено различий в продуктивности, состоянии здоровья и усвоении питательных веществ между животными, которых кормили традиционными и ГМ-культурами или кормами из них.

Не удалось обнаружить и биологически значимых различий и в составе продукции животноводства, включая мясо, молоко и яйца, полученных от животных и птиц, которых кормили обычными и ГМ-кормами. В этих продуктах, а также в лимфоцитах, крови и тканях органов животных, получавших в качестве корма ГМ культуры, не обнаружили ни трансгенных белков растений, ни их иммунологически реактивных фрагментов или ДНК [5,6].

Использование биотехнологий интенсивно продвигается и в выращивании технических сельскохозяйственных культур - в первую очередь, ГМ-хлопчатника. Ярким примером активного внедрения биотехнологий в сельское хозяйство развивающихся стран является выращивание ГМ-хлопчатника в Индии, где за 10 лет посевные площади под ГМ-хлопчатником были увеличены более чем в 200 раз и достигли 10,8 млн. га. в 2012 году. До внедрения биотехнологий в выращивание хлопчатника, его урожайность в Индии была одной из самых низких в мире. С 2002 по 2012 гг. урожайность хлопчатника выросла в 1,7 раза с 308 кг до 499 кг с га, и Индия превратилась из нетто-импортера хлопчатника в нетто-экпортера.

Использование биотехнологий позволяет частично приблизить решение проблемы дефицита энергоресурсов, помогая при этом одновременно решать сопутствующие проблемы. В первую очередь, проблему этичности использования продовольственных культур, таких как сахарный тростник, маниока, кукуруза и соя в качестве источника для производства биотоплива. Потребность в альтернативном источнике энергии не должна снижать уровень, а тем более ставить под угрозу продовольственную безопасность населения. Решение данной проблемы может предложить агrobiотехнология путем разработки сортов ГМ-культур с более высокой выработкой биотоплива с гектара. Так в Бразилии в 2009 году около 1,4 млн.га ГМ-сои было выращено исключительно для производства биодизеля [3].

Экономический эффект от внедрения агrobiотехнологий в целом в мире за период с 1996 по 2011 года составляет 98,2 млрд.долл.США. Важнейшими факторами, определяющими экономическую эффективность производства генетически-модифицированных культур являются снижение производственных издержек (51% дохода) и повышение продуктивности культур (49% дохода, увеличение сбора

урожая на 328 млн.тонн) [7].

Так, внедрение биотехнологий позволило кроме увеличения урожайности генетически-модифицированных сортов растений, получать второй урожай за сезон, благодаря сокращению вегетативного периода растений. Сокращение издержек происходит также за счет перехода на безотвальную обработку почвы перед посевом, что позволяет уменьшить затраты на использование сельхозтехники, а также уменьшение расходов на пестициды и гербициды и их внесение.

Кроме того, увеличение посевных площадей под генетически-модифицированными культурами, а также увеличение урожайности и доходности производства позволило многим странам создать новые рабочие места. Так, в Аргентине с 1996 по 2010 года было создано 1,8 млн. дополнительных рабочих мест [8].

Получение экономической выгоды от использования биотехнологий в сельском хозяйстве способствует ежегодному увеличению количества фермеров занятых в коммерческом выращивании генетически-модифицированных сортов растений. Так, в 2012 году их количество составило 17,3 млн. человек, из них 15 млн. фермеров проживают в бедных развивающихся странах [1].

Таким образом, использование агrobiотехнологий в сельском хозяйстве является главной, существующей на сегодняшний день, альтернативой для обеспечения устойчивого развития сельскохозяйственного производства в мире и решения проблемы продовольственной безопасности.

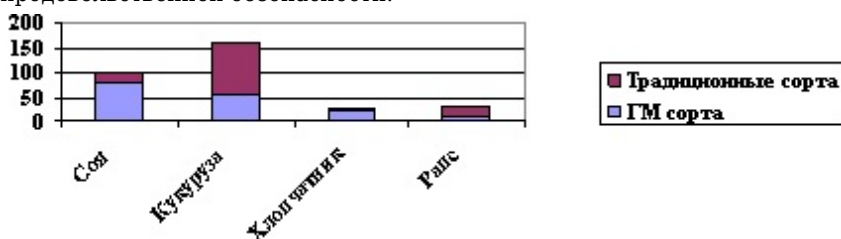


Рис. 1. Соотношение посевных площадей под традиционными и генетически-модифицированными сортами сельскохозяйственных культур в мире (млн.га), 2012

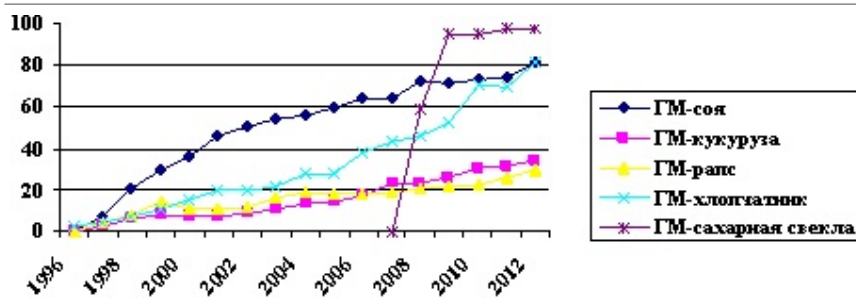


Рис. 2. Темпы внедрения ГМ-культур в сельское хозяйство стран мира, использующих агrobiотехнологии (%)

Литература

1. Clive J. Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops: 2012. ISAAA Brief №44, 2012.
2. Тарасова Е.В., Производство продукции в генетически-модифицированном сегменте мирового сельского хозяйства// АПК: экономика и управление.- 2011.- №11.- с.84-89.
3. Clive J. Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops: 2010. ISAAA Brief №42, 2010.
4. IRRI (International Rice Research Institute). 2011. Annual report 2010. p. 31
<http://www.scribd.com/lcolumbres/d/61973419-IRRI-Annual-Report-2010>
5. Snell C., Bernheim A., Bergé J-B., Kuntz M., Pascal G., Paris A., Agnès E. R. Assessment of the health impact of GM plant diets in long-term and multigenerational animal feeding trials: A literature review, Food and Chemical Toxicology, Volume 50, Issues 3-4, March-April 2012, Pages 1134-1148
6. Statement on the fate of recombinant DNA or proteins in the meat, milk or eggs of animals fed with GM feed
<http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/doc/744.pdf>
7. Brookes G., P. Barfoot. GM crops: global socio-economic and environmental impacts 1996-2010 // PG Economics Ltd, UK- 2011
8. Trigo E.J., Cap E.J. Fifteen Years of Genetically Modified Crops in Argentine Agriculture // ArgenBio (Argentine Council for Information and Development of Biotechnology) - 2011

РОСТОВЫЕ РЕАКЦИИ РАСТЕНИЙ АБРИКОСА НА ДЕЙСТВИЕ НАТУРАЛЬНОГО СТЕРОИДНОГО ГЛИКОЗИДА ЛИНАРОЗИД

Титова Н.В., Шишкану Г.В., Мащенко Н.Е.

Институт Генетики и Физиологии Растений АН Молдовы

ntvmd@mail.ru

В последнее время всё больший интерес проявляется к биорегуляторам натурального происхождения, повышающим урожайность и устойчивость растений в неблагоприятных условиях среды путем изменения активности донорных и акцепторных органов. Одной из важнейших задач исследований в этом плане является регуляция ответственных периодов онтогенеза растительного организма для реализации его потенциальных возможностей [1].

В течение ряда лет на плодовых растениях нами изучалась регуляторная роль природных стероидных гликозидов Тригонеллозид, Молдстим и Мелонгозид О, выделенных в нашем Институте их растений родов *Trigonella*, *Capsicum* и *Melongena* [2]. Выявлена высокая отзывчивость растений на обработку этими веществами и стимуляция ростовых процессов и фотосинтеза подвойных сеянцев миндаля, абрикоса, жердели, персика и привитых растений абрикоса и персика разного возраста [3,4]. Препараты Молдстим и Мелонгозид О рекомендованы для широкого внедрения в плодовых насаждениях Молдовы. Продолжается отбор биологически активных соединений природного происхождения, которые в малых дозах способны активизировать рост и улучшить качество получаемой продукции. К таким веществам относится Линарозид, выделенный из растения *Linaria vulgaris* Mill [5].

Объект и методы исследований

Исследования проводили в условиях лизиметров Института с четырёхлетними, вступившими в плодоношение, растениями абрикоса сорта Костюженский (подвой MVA), а также с растениями абрикоса новых перспективных сортов Олимп и NJA-42 однолетнего возраста. Во время интенсивного роста (май-июнь) опытные растения опрыскивали 0,01% раствором Линарозида и контрольные - водой. Повторность опыта трехкратная, 8 растений в варианте. Через 10-15 дней после обработки в течение вегетации изучали особенности роста, фотосинтетической продуктивности и урожайности исследуемых растений. Данные

обработаны статистически с использованием критерия Стьюдента и были достоверны при $P \leq 0,05$.

Результаты исследований

Изучение влияния Линарозида на растения абрикоса было начато на вступивших в влодоношение четырехлетних растениях сорта Костюженский. Установлено, что опрыскивание этим препаратом увеличивает массу одного плода на 6-7% и общий урожай на растении на 25-29%. В таблице 1 показано стимулирование роста плодов Линарозидом в сравнении с контролем и Молдстимом. Линарозид был эффективнее Молдстима на 18-20%.

Таблица 1. Урожайность растений абрикоса с.Костюженский, обработанных Линарозидом, июль 2011 г.

Вариант	Контроль	Молдстим	Линарозид
Масса одного плода, г	48,4	51,6	62,3
Урожай на одном растении, % от контроля	100	107	129

В дальнейших исследованиях выявлено значительное стимулирующее действие препарата Линарозид на однолетние растения абрикоса. Это проявилось в активизации процессов нарастания листовой поверхности, интенсивности роста побегов, штамба и корневой системы (табл. 2,3). Количество листьев, общая масса и площадь листьев на одном растении у сортов Олимп и NJA-42, обработанных Линарозидом, превышают эти величины в контроле в среднем на 7-10% (табл.2).. Растения сорта Олимп были более отзывчивыми на обработку Линарозидом, чем сорт NJA-42.

Таблица 2. Влияние стероидного гликозида Линарозид на количество, массу и площадь листьев на одном растении абрикоса.

Вариант	Сорт Олимп		Сорт NJA-42	
	Контроль	Линарозид	Контроль	Линарозид
Количество листьев, шт	591	874	887	914
Сухая масса, г	271,9	413,6	550,0	621,5
Листовая поверхность, дм ²	289,82	377,33	556,05	608,72

Указанные изменения могут быть обусловлены изменениями удельной поверхностной плотности (УППЛ) листьев, которая в контрольном варианте сорта Олимп составляет 9,38 мг сухой массы в 1

см² и у растений обработанных БАВ - 10,96 мг•см⁻². УППЛ является важным показателем как информативный индикатор, отражающий мезоструктурную организацию листа [6].

Масса и площадь одного листа у всех растений практически не отличается, но по количеству листьев обработанные растения значительно превышают контрольные и потому общая масса и площадь соответственно отличаются в пределах 15-30%. Более контрастные отличия были у сорта Олимп. Измерение параметров листьев (ширина и длина) и побегов (длина и диаметр) в течение всего периода вегетации не выявило существенных различий у разных вариантов.

В исследованиях продукционных процессов как основы биологической продуктивности и урожайности важнейшим является организация донорно-акцепторных отношений на уровне целого растения. Аккумуляция биомассы и её распределение по органам растения отражают эти отношения. В таблице 3 показаны особенности накопления биомассы во всех органах у растений двух сортов абрикоса под влиянием Линарозида. Обнаружено значительное преимущество опытных растений над контролем.

Масса надземных органов и общая масса одного растения у сорта Олимп при обработке БАВ превышает контроль на 32 и 36 % соответственно. У сорта NJA-42 эти значения меньше и представляют 27 и 30%. Обработка растений абрикоса Линарозидом изменяет структуру компонентов биомассы и способствует изменению направленности донорно-акцепторных отношений в сторону увеличения аттрагирующей функции ствола, побегов и корневой системы.

Таблица 3. Влияние Линарозида на накопление биомассы в органах растений абрикоса (сухая масса, г на 1 растение).17.09.2012.

Вариант	Штамб	Побеги	Листья	Корни	Надземная часть	Целое растение
Сорт Олимп						
Контроль	669	434,2	272,0	275	1375,2	1650,2
Линарозид	710,4	689,1	413,6	440	1812,5	2252,5
Сорт NJA-42						
Контроль	825,6	713,3	550,4	398	2089,3	2487,3
Линарозид	1028,6	1002,5	621,5	592,6	2652,6	3245,2

Для характеристики физиологического состояния растений

используют показатели соотношения масс различных органов. Одним из таких косвенных коррелирующих признаков является отношение сухой массы органов к сырой, по которому судят о соотношении фитогормонов в различных органах [7]. Биологически активный препарат Линарозид проявляет тенденцию к повышению величины этого отношения в надземной части, корнях и целом растении молодых растений абрикоса, более выраженной у сорта NJA-42. У опытных растений наблюдалось увеличение отношения массы корневой системы и надземной части, что свидетельствует об усилении защитной реакции в конце засушливого летнего сезона и экологической стабильности [8].

Полученные данные показали стимулирующий эффект натурального препарата Линарозид на ростовые процессы в надземной части и корневой системе растений абрикоса, что способствует более полной реализации фотосинтетического потенциала и повышению продуктивности растений.

Литература

1. Шевелуха В.С. Современные проблемы гормональной регуляции живых систем и организмов. // Регуляция роста и развития растений. М., 1997, с.3-4.
2. Kintea P.K. Chemistry and biological activity of steroidal saponins from moldavian plants. In. Saponines used in traditional and modern medicine.-New-York - London - Washington, 1996. P.309-334.
3. Şişcanu Gh., Piscorscaea V., Titova N., Chintea P. Răspunsul fotosintetic al plantelor pomicele la aplicarea preparatului Moldstim. // Bul. AŞM, s. Şt. vieţii. 2006. № 2. P. 21-25;
4. Шишкану Г., Титова Н. Стероидные гликозиды как регуляторы фотосинтеза семян плодовых растений. // В: Mater. Simp. Şt. Inter., 21 - 23.10.2008. Chişinău. P. 30 - 33.
5. Mashcenko Natalia, Kintia Pavel, Gurev Angela et.al.. Glycosides from *Linaria vulgaris* Mill. // Chemistry J. of Moldova. 2008. V..3. № 2 P..98-100.
6. Храмова Е.В., Киселева И.С., Малкова Н.А. Взаимосвязь продукционных параметров с ростовыми и мезоструктурными характеристиками фотосинтетического аппарата рода *Triticum* L. // Современные проблемы сельского хозяйства. Калининград. 2002. С.163-171.
7. Трунова Т.И., Бочарова М.А., Кузина Г.В. Теоретическое и экспериментальное обоснование применения физиологически активных веществ для повышения морозостойкости растений. // В Матер. Всес. симп. » Физиолого-биохимические механизмы регуляции

адаптивных реакций растений и агрофитоценозов». Кишинев. 1984. С. 116-117.

8. Breveton A. J., Fleming G.A. An assessment of plant nutrient contact as a guide to nutritional status. In : Potassium biochemistry and physiology. Berne. 1971. P. 134-140.

ПОЛИМЕРАЗНАЯ ЦЕПНАЯ РЕАКЦИЯ (ПЦР-РВ) В МИКРОЧИПАХ

Тупик А.Н.

Институт аналитического приборостроения РАН

tunix@yandex.ru

Полимеразная цепная реакция (ПЦР) это один из наиболее известных методов молекулярной диагностики, обладающий высокой чувствительностью, специфичностью, позволяющий проводить анализ по нескольким параметрам одновременно и пр. [1] Особенностью ПЦР является специальный температурный режим, требующий циклического нагрева (до 95С) и охлаждения раствора. Проведение реакции с регистрацией результатов в реальном времени (ПЦР-РВ) позволяет оценить исходное количество нуклеиновых кислот в образце. Метод ПЦР-РВ широко применяется в клинической медицине, судмедэкспертизе, геной инженерии и т.д.

Традиционно для проведения ПЦР-РВ используется коммерчески доступное оборудование, ориентированное на проведение реакции в полимерных пробирках (объемом от 0,2 мл). Однако наиболее перспективным является реализация ПЦР на основе миниатюрных устройств — микрочипов. Миниатюрные устройства обладают высоким соотношением площади поверхности к объему, что способствует увеличению скорости и однородности нагрева смеси, позволяет повысить эффективность реакции и уменьшить общее время анализа. К тому же, интегрирование всех стадий анализа на одном миниатюрном устройстве позволит исключить ручной труд на этапе подготовки и дозирования образцов, уменьшить расход дорогостоящих реагентов, объединить все стадии анализа на одном микрочипе. На базе микрочиповых устройств можно разработать портативные автоматизированные микроаналитические системы, в том числе для анализа особо опасных биологических проб.

На базе Института аналитического приборостроения РАН проводятся исследования по созданию микрочипов для ПЦР. В большинстве случаев ПЦР подразумевает оптические методы регистрации результатов амплификации, поэтому следует создавать реакционные камеры из оптически прозрачных материалов. Для создания прототипа микрочипа применяли стеклянные материалы марки К8 и Ф1. В таких материалах микроструктуры могут быть изготовлены с высоким разрешением,

например с применением метода фотолитографии и травления. Однако недостатком этих материалов можно считать относительно высокую стоимость стеклянного изделия, поэтому применяли дополнительные методы регенерации поверхности для многократного повторного использования микрочипа. Кроме того, в настоящее время наметилась устойчивая тенденция применения полимерных материалов для создания микрочипов. Преимуществом полимерных материалов является низкая себестоимость и относительно низкая стоимость изготовления при массовом производстве, что позволяет создавать чипы для одноразового использования, а также большое разнообразие полимеров позволяет подобрать материал с наиболее подходящими физическими и химическими свойствами.

Различают два основных подхода при разработке миниатюрных устройств для ПЦР: создание стационарных или проточных реакционных камер. В первом случае реакционная смесь нагревается и охлаждается в реакционной камере малого объема. Однако для увеличения скорости ПЦР необходимо минимизировать тепловую инерцию стенок камеры, например за счет создания «виртуальных» камер (из минерального масла). [2] Второй способ достигает уменьшения тепловой инерции за счет создание проточных камер. В таких устройствах жидкость движется по каналу и последовательно проходит несколько температурных зон. При этом измерение температуры жидкости происходит гораздо быстрее, чем в стационарной камере. Недостатком проточных устройств является трудности при создании стабильных регулируемых высокоскоростных потоков в каналах, адсорбция на стенках канала и диффузное размытие пробы. Некоторые из этих недостатков можно преодолеть, применяя жидкость-носитель (на основе масла), в которой по каналу транспортируются капли реакционной смеси. [3]

Первоначально для создания прототипа микрочипа был выбран наиболее простой вариант стационарного чипа с открытыми реакционными камерами. Микрочип представлял собой две герметично соединенные стеклянные пластины, в одной из которых были выполнены отверстия диаметром 2,5 мм. Пластины герметично соединялась посредством термического связывания (спекания), которое обеспечивало прочность и долговечность соединения. На одном микрочипе размером 15x15 мм располагалось несколько реакционных камер с рабочим объемом 3-5 мкл. После заполнения реакционной смесью камеры микрочипа герметизировались минеральным маслом (по 3 мкл). Тестирование стеклянных прототипов показало возможность

проведения ПЦР в микрочипе с регистрацией результатов в реальном времени [4], однако недостатком конструкции микрочипа является наличие открытых камер, допускающих перекрестное «заражение» лунок ампликонами (контаминацию) при проведении ПЦР. Поэтому в дальнейшем были разработаны микрочипы с закрытыми реакционными камерами. Преимуществом закрытых микроструктур помимо предотвращения контаминации является точность и воспроизводимость объема вводимой реакционной смеси, а также высокая скорость термоциклирования, так как в закрытой камере значительно повышается соотношение площади поверхности к объему. Создание микрочипов с закрытыми микроструктурами является более перспективным, так как позволяет в дальнейшем объединить реакционные камеры с другими функциональными элементами, что позволит создать интегрированные системы анализа на чипе. Однако при переходе к закрытым микроструктурам возрастает сложность и трудоемкость регенерации поверхности микрочипа после проведения реакции. Поэтому актуальным является создание микрочипов для однократного применения, что можно реализовать с применением полимерных материалов.

Были выбраны следующие коммерчески доступные сертифицированные полимерные материалы: поликарбонат (ПК), полиимид (ПИ), полидиметилсилоксан (ПДМС) и полиметилметакрилат (ПММА), который представляется особо привлекательным из-за хорошей химической устойчивости к кислотам, щелочам, маслам. Проведены исследования по применению полимерных материалов для создания ПЦР микрочипов, в которых реакционные камеры получали методами термоформования, лазерной абляции или микромеханической обработкой. Создан полимерный микрочип, состоящий из двух герметично соединенных пластин ПММА. В нижней пластине методом механической обработки получена реакционная камера объемом менее 20 мкл. В верхней пластине выполнены отверстия для ввода пробы. Пластины соединены фотоотверждаемыми полимерными композициями (ACRIFIX).

На микрочипах из ПММА осуществляли обнаружение онкомаркера цитокератина (СК-19) методом ПЦР-РВ. Термоциклирование и регистрацию результатов ПЦР-РВ проводили на макете анализатора нуклеиновых кислот для микрочипов (ИАП РАН). Калибровочная зависимость значения порогового цикла (y) от концентрации исходной мишени (x) для кДНК онкомаркера СК-19, полученная на полимерных микрочипах, описывается уравнением: $y = -3.7x + 44.5$, а полученная в

пробирках при проведении традиционной ПЦР-РВ: $y = -3.6x + 46.0$.

На основании анализа калибровочных зависимостей можно сделать вывод, что два способа проведения ПЦР-РВ (в пробирке и микрочипе) по своим характеристикам очень близки. Однако проведение ПЦР-РВ на микрочипе позволило существенно снизить расход реагентов, а также потенциально дает возможность увеличить скорость анализа.

Литература

1. Huikko K., Kostianen R., Kotiaho T. Introduction to micro-analytical systems: bioanalytical and pharmaceutical applications // *European journal of pharmaceutical sciences*. – 2003. – № 20. – P. 149-171.
2. Neuzil P., Pipper J., Hsieh T.M. Disposable real-time microPCR device: lab-on-a-chip at a low cost // *Molecular BioSystems*. – 2006. – № 2. – P. 292-298.
3. Walt R.D. Optical methods for single molecule detection and analysis // *Analytical Chemistry*. – 2013. – № 85. – P. 1259-1263.
4. Тупик А.Н., Евстапов А.А. Методы очистки поверхности стеклянных микрочипов для полимеразной цепной реакции // *Научно-технический вестник СПбГУ ИТМО*. 2009. № 4. С. 42-47.

БИОПРЕПАРАТЫ В ПОВЫШЕНИИ ПРОДУКТИВНОСТИ И УСТОЙЧИВОСТИ ЭСПАРЦЕТА К БОЛЕЗНЯМ

Тутуржанс Л.В., Васянкина Н.Д., Диво Т.С.

ФГБОУ ВПО Ставропольский государственный аграрный университет

tuturzhans2014@yandex.ru

Многоцелевое использование химических средств защиты растений кроме решения специфических задач, создало серьезные экологические проблемы, связанные с накоплением долгоживущих соединений в биотической и абиотической среде и их негативном влиянии на живые организмы. Вопросы экологизации защиты растений требуют расширения объема применения биологических средств, в борьбе с болезнями сельскохозяйственных культур. Биопрепараты на основе грибов-антагонистов подавляют возбудителей почвенных патогенов, семенной инфекции и листовых болезней растений.

Многолетним бобовым травам принадлежит ведущая роль не только в создании кормовой базы и повышении урожайности культур севооборота, но и вовлечение атмосферного азота в агроценоз. Эспарцет как представитель многолетних бобовых трав является одной из традиционных кормовых культур южной зоны России, способной наиболее полно удовлетворять потребности животных в питательных веществах (Грязева, 2009; Алметов, 2011). Получение стабильных урожаев этой культуры лимитирует ряд факторов, в том числе поражение комплексом болезней, которые снижают семенную продуктивность и качество корма.

Наши исследования проводились на опытной станции ФГБОУ ВПО «Ставропольский государственный аграрный университет», расположенной на Ставропольской возвышенности в зоне неустойчивого увлажнения на участке, почва которого представляет собой чернозем выщелоченный в течение трех лет.

В опыте изучалось влияние на продуктивность и развитие болезней эспарцета следующих биологических препаратов: смеси алирин Б + алирин С, бактофит. Обработку проводили в период вегетации, норма расхода биологических препаратов – 2 л/га.

Бактофит – бактериальный препарат на основе спорообразующей палочки *Bacillus subtilis*, штамм ИПМ-215 и продуцируемого антибиотика, (ВНИИ прикладной микробиологии). Обладает антагонистическими и

антибиотическими свойствами в отношении широкого круга фитопатогенов (Павлюшин, Агансонова, 2001).

Алирин Б – биопрепарат на основе отселектированного штамма *Bacillus subtilis* 10 ВИЗР. В состав биопрепарата входят живые клетки и комплекс метаболитов, обуславливающих антагонистическую активность культуры. В его состав входят полипептидные антибиотики оригинального строения.

Алирин С – биопрепарат на основе отселектированного штамма *Streptomyces felleus* 8 ВИЗР. В состав биопрепарата входят живые клетки продуцента и комплекс БАВ. Специфическую активность в отношении фитопатогенных грибов обуславливают оригинальные неполиеновые макролидные антибиотики. Подавляет развитие фитопатогенных грибов, способствует повышению урожайности и снижению содержания нитратов в продукции, увеличивает накопление сахара и аскорбиновой кислоты (Новикова и др., 2003).

Патогенный комплекс на посевах эспарцета был представлен корневой гнилью - возбудители грибы рода *Fusarium* Lk., аскохитозом, листовой и стеблевой формами - возбудитель - *Ascochyta onobrychidis* Bond. Mont., рамуляриозом, или бурой пятнистостью - возбудитель - *Ramularia onobrychidis* All.

Учет на пораженность эспарцета корневой гнилью проводился в начале отрастания и в конце вегетации, рамуляриозом, аскохитозом в фазу бутонизации и полного образования бобов.

Корневые гнили – сложное заболевание, в возникновении которого участвует ряд возбудителей. По вопросу о причинах преждевременной гибели эспарцета известно, что кроме бактериальных заболеваний и действия неблагоприятных условий среды, в выпадении эспарцета играют определенную роль и корневые гнили.

Нами установлено, что первые признаки корневой гнили эспарцета появляются на первом году жизни растений, на втором и третьем – пораженность увеличивается и сопровождается изреживанием посева. Количество пораженных растений на третьем году жизни в контроле составило – 30%, а степень развития – 17,3%. В среднем за годы исследований существенных различий между биопрепаратами, применяемыми, в период вегетации мы не отметили. Так, в варианте с использованием бактофита распространенность корневых гнилей составила – 21,9%, а при использовании алирина Б + алирин С – 23,8%. Степень развития болезни соответственно равнялась 13,0-14,0%.

Пятнистости не вызывают гибель растений, но снижают количество и качество урожая. Эти заболевания продолжаются в течение нескольких

вегетационных периодов и постепенно прогрессируют.

В результате проведенных исследований установлено, что факторами оптимизации фитосанитарного состояния посевов эспарцета является использование биопрепаратов в период вегетации, пораженность возбудителями в среднем снижается в 2 раза.

Применение биопрепарата бактофит (2л/га) в период бутонизации обеспечивает снижение степени развития аскохитоза в 1,5 - 2,2 и рамуляриоза в 1,6 - 2,4 раза.

Изучаемые приемы защиты эспарцета оказали влияние на элементы структуры урожая: в среднем за годы исследований самая высокая густота растений была в варианте с бактофитом - 103 шт/м², что на 16 растений больше в сравнении с контролем. Масса 1000 бобов увеличивалась на 2,9 - 3,7 г.

Использование биопрепаратов на эспарцете способствовало увеличению урожайности. Следует отметить, что наиболее эффективным оказалось применение, бактофита, прирост урожайности к контролю составил - 30,8%, Достигнутый уровень урожайности оказался выше, не только по сравнению с контролем, но и относительно других изучаемых вариантов.

Литература

1. Алметов, Н.С. Влияние биопрепаратов и минеральных удобрений на урожайность и качество многолетних трав / Н.С. Алметов, Н.В. Горячкин, Х.З. Назмиев и др. // Достижения науки и техники АПК.-2011.-№8.-С.21-24.
2. Грязева, Т.В. Сорта эспарцета для выращивания в засушливых условиях / Т.В. Грязева, С.А. Игнатъев, Н.Г. Игнатъева // Зерновое хозяйство.-2009.-№1.-С 8-11.
3. Новикова, И. И. Биологическая эффективность новых микробиологических препаратов алиринов Б и С для защиты растений от болезней в разных природно-климатических зонах // Биологическая эффективность алиринов в отношении болезней зерновых, плодовых, ягодных, цветочных культур и винограда / И. И. Новикова, А. И. Литвиненко, И. В. Бойкова, В. А. Ярошенко, Г. В. Калько // Микология и фитопатология. - 2003. - Т.37. Вып.1. - С. 99-103.
4. Павлюшин, В. А. Биопрепараты. Перечень разрешенных к применению и новых перспективных биопрепаратов для защиты растений / В. А. Павлюшин, Н. Е. Агансонова. - Санкт - Петербург, 2001. - 37с.

ПОЛУЧЕНИЕ РЕКОМБИНАНТНОГО БЕЛКА ГЛИКОПРОТЕИНА ВИРУСА БЕШЕНСТВА "МОСКВА 3253".

Тучков И.В., Волох О.А, Киреев М.Н, Никифоров А.К

ФКУЗ Российский научно-исследовательский противочумный институт
"Микроб"

Tuchkov_igor@mail.ru

Бешенство абсолютно летальная инфекция, поражающая человека и теплокровных животных. Геном вируса бешенства это несегментированная, антисмысловая РНК, длиной 12000 п.о. Вирусная РНК кодирует пять основных белков. Хотя вирусные белки содержат антигенные и иммунодоминантные участки, гликопротеин G считается основным иммуногеном и антигеном вируса бешенства.

С целью создания конструкции, которую можно использовать как ДНК-вакцину и вектор для экспрессии белков под контролем T7 промотера, нами проведено клонирование гликопротеина вируса бешенства и различных его эпитопов в плазмиду pcDNA4/HisMax-TOPO (Invitrogen), содержащую полигистидиновый участок. Плазмиду трансформировали в клетки штамма *E.coli* BL21 (DE3)p LysS. С помощью ПЦР отбирали клоны с правильной ориентацией вставки. Клон BL21 (DE3)p LysS RVG, инокулировали в логарифмической фазе роста бактерий ($OD_{600} = 0,6$ О.Е) 0,5мМ ИПТГ (изопропилтиогаляктозид). Клетки, экспрессирующие белок в течении 6-и часов, охлаждали, собирали и разрушали с помощью ультразвукового дезинтегратора. Осветленный лизат наносили на Ni-колону входящую в набор ProBond™ Purification System (Invitrogen). Собранные фракции собирали и наносили на гель-электрофорез в денатурирующих условиях по Лэмли.

Предположение того, что выделенный нами белок молекулярной массой 58 кДа, является именно гликопротеином вируса бешенства, подтвердили ДОТ-иммуноанализом с использованием коммерческого антирабического иммуноглобулина и стафилококкового белка А, меченного коллоидным золотом.

Полученный белок можно использовать как для бустерной вакцинации совместно с ДНК-вакциной, так и для создания диагностических препаратов

**АЛГОРИТМ ОТБОРА РЕКОМБИНАНТНЫХ ШТАММОВ *E.coli* -
ПРОДУЦЕНТОВ ПРОТЕКТИВНЫХ АНТИГЕНОВ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ
ЧУМЫ И ХОЛЕРЫ**

Уваров М.Н., Волох О.А., Тучков И.В.

ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб»

troi.mmobil@yandex.ru

Кишечная палочка остаётся до настоящего времени актуальной биосистемой для исследований как в современной промышленной биотехнологии, так и универсальной моделью в геномной инженерии. На её основе сконструировано достаточно большое количество рекомбинантных продуцентов для получения протективных антигенов, используемых в разработке и производстве профилактических и диагностических препаратов.

Целью настоящей работы является разработка схемы отбора рекомбинантных штаммов *Escherichia coli*, продуцирующих протективные антигены возбудителей чумы и холеры.

В работе использовали генетически модифицированные штаммы *E.coli* из Государственной коллекции патогенных бактерий РосНИПЧИ «Микроб». Проводили информационный анализ по базе данных коллекции, молекулярно-генетический анализ на наличие специфических участков ДНК - *caf1* и *lcrV* антигенов для чумы и *stxВ* гена для холеры. Учёт результатов проводили постановкой ДНК-электрофореза. Для детекции продукта (синтезируемых антигенов) использовался дот-иммуноанализ (ДИА) со специфическими поликлональными антителами к В-ХТ и F1, в качестве конъюгата использовали антивидовые антитела, меченные пероксидазой (производство «МЕДГАМАЛ»).

Информационный анализ базы данных коллекции позволил отобрать из 58 рекомбинантных штаммов *E.coli*, несущих участки ДНК чумного микроба, 1 штамм - продуцент F1 (КМ 40) и 3 штамма - продуцента V антигена (*E.coli* КМ 3, 5 и 27), из 16 штаммов *E.coli*, несущих участки ДНК холерного вибриона, 2 штамма - продуцента В- субъединицы ХТ (КМ 147 и КМ 148).

На следующем этапе была проведена работа по молекулярно-генетическому анализу рекомбинантных штаммов. Использовали 24 ч культуры 2 пассажа, выращенные на агаре LB с соответствующими для каждого исследуемого штамма антибиотиками. Из подготовленных проб с исследуемым материалом выделяли ДНК с

помощью набора PureYield™ Plasmid Miniprep System фирмы «Promega». Далее проводили ПЦР-анализ с использованием Тест-системы для выявления ДНК *Yersinia pestis* ГенПест, производства «ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб», на обнаружение F1-антигена, Тест-системы для выявления ДНК *Vibrio cholerae* ГенХол, производства «ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб», на обнаружения В-субъединицы ХТ и применили в исследованиях на детекцию V - антигена экспериментальные праймеры. В качестве матрицы использовали ДНК штамма *Y.pestis* EV для определения V и F1 антигена, и ДНК штамма *V.cholerae* 569В, для определения В-субъединицы ХТ. В результате было подтверждено наличие специфических фрагментов ДНК, ответственных за синтез V-антигена в штаммах *E.coli* KM 3, 5 и 27, капсульного антигена в штамме *E.coli* KM 40, и В-субъединицы ХТ в *E.coli* KM 147 и KM 148.

В результате ДИА было установлено, что генно-инженерные штаммы *E.coli* синтезируют заявленные антигены (KM 40 продуцирует F1-антиген, KM 147 и 148 - В- субъединицу ХТ), большее количество регистрируется на поверхности у штаммов *E.coli* KM 147 и 148 (титр в ДИА 1:100).

На следующем этапе будет проведена работа по оптимизации условий культивирования и выделения антигенов с целью масштабирования.

Таким образом, учитывая полученные экспериментальные данные и результаты информационного поиска по данным литературы, мы предлагаем следующий алгоритм отбора рекомбинантных штаммов *E.coli* - продуцентов протективных антигенов чумного микроба и холерного вибриона, представленный в таблице.

Алгоритм отбора рекомбинантных штаммов <i>E.coli</i> - продуцентов протективных антигенов чумного микроба и холерного вибриона	
1 этап	цель получения рекомбинантных антигенов
2 этап	информационный поиск имеющихся (экспериментальных или коммерческих) штаммов-продуцентов, выбор перспективных по паспортным характеристикам рекомбинантов
3 этап	молекулярно-генетический анализ штаммов-продуцентов
4 этап	анализ продукции антигенов
5 этап	оптимизация условий культивирования рекомбинантного продуцента и выделения продукта (антигена) для оценки возможности использования рекомбинантного штамма в условиях масштабированного получения антигена
6 этап	получение рекомбинантного антигена, его характеристика

ИССЛЕДОВАНИЕ КОМПЛЕКСООБРАЗОВАНИЯ РУТИНА С ФОСФАТИДИЛХОЛИНОМ МЕТОДОМ ^{13}C ЯМР СПЕКТРОСКОПИИ

Усманова С.И., Сетченков М.С., Юсупова З.Д., Насибуллин Р.С.

Башкирский государственный медицинский университет

usmanovasvetlana@mail.ru

Природные флавоноиды находят широкое применение в пищевой, текстильной, кожевенной и металлургической промышленности. Для медицины в значительной степени они ценны как источники капилляроукрепляющих, антиаллергических, противовоспалительных, противоязвенных, желчегонных, антисклеротических, противоопухолевых, кровостанавливающих и иных препаратов для профилактики и лечения многих заболеваний. Широкий спектр биологической активности обусловлен взаимодействием с активными центрами ферментов или различными рецепторами и образованием стабильных комплексов с липидами.

В проведенных нами исследованиях по взаимодействию биологически активных молекул с фосфатидилхолином было показано образование комплексов через систему π -электронов [1]. Методами квантовой химии AM1 и DFT определены геометрическое и электронное строение комплекса рутин-фосфатидилхолин [2]. В данной работе представлены результаты исследований взаимодействия рутина, обладающего Р-витаминной активностью с фосфатидилхолином методом ЯМР спектроскопии от ядер ^{13}C . Спектры растворов в диметилформамиде фосфатидилхолина в концентрации 0.005 М и его смеси с рутином в концентрации 0.02 М записаны на импульсном спектрометре Bruker Avance-III 500 MHz с рабочей частотой 500.13 МГц (^1H), 125.47 МГц (^{13}C). Химические сдвиги в спектрах ЯМР ^{13}C приведены в м.д. относительно сигнала внутреннего стандарта тетраметилсилана. Спектры ЯМР ^{13}C с развязкой от протонов переменной мощности с использованием составных импульсов WALTZ-16 были зарегистрированы при следующих условиях: спектральное окно – 29.8 кГц, количество точек – 64К, длительность возбуждающего импульса (30°) – 3.2 мкс, релаксационная задержка – 2 с, количество прохождений 512÷2048. Химический сдвиг (ХС) для углеродов холиновой группы, равный 54.00 м.д. для свободного фосфатидилхолина (рис.1), смещается в слабое поле при формировании комплекса с рутином на 0.12 м.д.(рис.2)

Во взаимодействующей системе рутин-фосфатидилхолин формируется значительное количество комплексов, между которыми происходит быстрый обмен в шкале времени ЯМР, что приводит к усреднению величины изменений ХС. Результаты ЯМР спектроскопии качественно согласуются с рассчитанными значениями изменения электронной плотности с учетом взаимодействия п-электронов флавоноидов с холиновой и фосфатной группами лецитина.

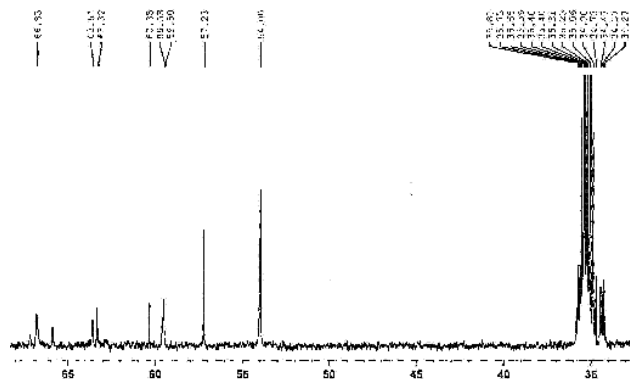


Рис. 1. Фрагмент спектра ЯМР ^{13}C свободного фосфатидилхолина

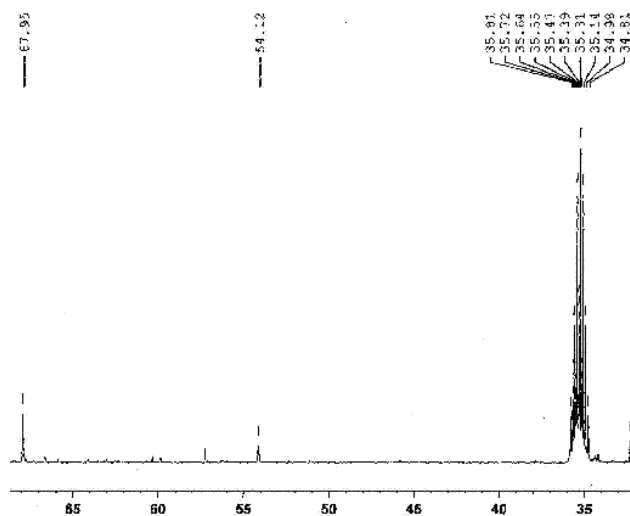


Рис. 2. Фрагмент спектра ЯМР ^{13}C фосфатидилхолина в комплексе с рутином

Литература

1. Насибуллин Р.С., Спирихин Л.В., Пономарева В.А., Биофизика, 1991, т. 36, вып.4., 594-598.
2. Усманова С.И., Фахретдинова Е.Р., Насибуллин Р.С., Химическая физика и мезоскопия, 2011, т.13, №2, 281-284.

**УЛУЧШЕНИЕ ТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК
ЛАКТОБАКТЕРИЙ ШТАММА *LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS*
ВКПМ В-4992**

Устюжанинова Л.В., Сушкова В.И.

Вятский Государственный Университет

ujilucy9i@gmail.com

Известен штамм *Lactobacillus acidophilus var. coccoidens* М-86 ВКПМ В-4992, используемый в ассоциативной композиции со штаммами *Lactobacillus casei* МБ ВКПМ В-4486 и *Streptococcus lactis* 3186 К12 ВКПМ В-4989 на промышленном производстве пробиотика для жвачных животных [1, 2].

Согласно паспорту, штамм *L. acidophilus* ВКПМ В-4992 выделен из желудочно-кишечного тракта здорового телёнка, устойчив к бензилпенициллину, канамицину, неомицину, оксипиллину, полимиксину. Штамм не является генетически модифицированным, относится к микроорганизмам, непатогенным для человека, поэтому работа с ним не требует специальных мер предосторожности. Морфологические, культуральные и физиолого-биохимические свойства данного штамма указаны в патенте [1]. Основные пробиотические и технологические свойства исследуемого штамма были изучены в предыдущих работах [3-4]. Показано, что штамм *L. acidophilus* ВКПМ В-4992 обладает выраженными пробиотическими свойствами, и поэтому может быть использован для получения кормовых пробиотиков и синбиотиков для телят и в виде монокультуры. Но при ферментации данного штамма на фугате ферментолизата отрубей с мочевиной (ФФО+М) наблюдался период индукции продолжительностью 4-6 ч и были получены недостаточно высокие результаты по эффективности роста культуры на данном субстрате.

Технологические характеристики молочнокислых бактерий можно улучшить с помощью мутаций [5]. В качестве мутагенов часто используют ультрафиолетовый свет или различные химические агенты, например, N-метил-N'-нитро-N-нитрозогуанидин и другие нитрозосоединения, этилметансульфонат, β-пропиолактон и т.д. [5-6].

Целью данной работы было получение мутаций у лактобактерий штамма *Lactobacillus acidophilus* ВКПМ В-4992 после облучения ультрафиолетовым светом и изучение пробиотических и технологических свойств выбранного УФ-мутантного штамма в сравнении со свойствами исходного штамма.

Методика проведения селекции заключалась в следующем. Сначала получали активную культуру (после 12-16 ч ферментации на ФФО+М), готовили серию десятикратных разведений. Из каждого разведения производили высев на несколько чашек Петри. По одной чашке Петри с высевом каждого разведения облучали ультрафиолетовым светом в течение 0, 5, 15, 30 минут. После этого чашки Петри убрали в термостат (37°C) на 48 ч. Далее подсчитывали количество колоний полученных УФ-мутантов.

Ниже приведены результаты по исследованию основных пробиотических и технологических свойств одного из выделенных УФ-мутантных штаммов.

Для выбранного УФ-мутантного штамма *L. acidophilus* ВКПМ В-4992 были исследованы следующие свойства: антагонистическая активность, устойчивость к желудочному пищеварению, ряду веществ и к интервалу изменения pH 4,0-9,0, кислотообразующая способность.

Антагонистическая активность штамма по отношению к *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* M-17, *Staphylococcus aureus*, и *Pseudomonas aeruginosa* представлена в таблице. Как видно из представленных данных, УФ-мутантный штамм *L. acidophilus* ВКПМ В-4992 обладает выраженной антагонистической активностью в отношении взятых тест-культур. Наиболее чувствительными к исследуемому штамму оказались бактерии *Pseudomonas aeruginosa*, наименее чувствительными - *Staphylococcus aureus*.

Таблица 1. Определение антагонистической активности лактобактерий УФ-мутантного штамма *L. acidophilus* ВКПМ В-4992 методом перпендикулярных штрихов после культивирования в течение 3 сут на средах MRS (pH 7,0±0,2) и Лактобакагар (pH 7,4±0,2)

Агаризо-ванная питательная среда	Зона задержки роста тест-культуры, мм				
	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Escherichia coli</i> M-17	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
MRS	17,4±3,9	16,8±1,8	17,8±1,6	6,2±1,4	31,0±4,2
Лактобакагар	18,7±2,5	18,7±2,6	19,7±2,7	8,0±2,1	38,7±2,5

Исследуемый штамм достаточно устойчив к действию поваренной соли и желчи, слабоустойчив к фенолу. Максимальные концентрации данных веществ в субстрате, при которой наблюдался рост культуры, составили (мас. %): поваренная соль - 5; желчь - 10; фенол - 0,20.

Данный УФ-мутантный штамм растет при pH от 4,5 до 9,0. Также он устойчив к желудочному пищеварению (выдерживает инкубирование в растворе соляной кислоты (pH 2,0) с добавлением пепсина в течение 3,5

часов).

Исследуемый мутантный штамм обладает хорошей кислотообразующей способностью. После 5 и 14 суток ферментации данного штамма на маложирном молоке титруемая кислотность сгустка составила 81,7° Т и 95,7° Т соответственно (для исходного штамма эти показатели были равны 78,3° Т и 94,7° Т соответственно).

Таким образом, УФ-мутантный штамм *L. acidophilus* ВКПМ В-4992 обладает выраженными пробиотическими свойствами, и поэтому может быть использован для получения кормовых пробиотиков или синбиотиков для телят. Выбранный УФ-мутантный штамм по исследованным свойствам практически не отличается от родительского штамма *L. acidophilus* ВКПМ В-4992.

Также нами была определена кинетика изменения концентрации жизнеспособных клеток при ферментации исходного и УФ-мутантного штаммов *L. acidophilus* ВКПМ В-4992 на ФФО+М в течение первых 8 ч. Результаты представлены на рисунке.

Как видно на графике, мутантный штамм рос на ФФО+М заметно активнее, чем родительский штамм, несмотря на то, что период индукции уменьшился незначительно. Таким образом, мутации, возникшие под действием ультрафиолетового облучения, благоприятно сказались на активности роста культуры. При этом штамм не утратил свои пробиотические свойства. Поэтому для дальнейших исследований нами выбран УФ-мутантный штамм *L. acidophilus* ВКПМ В-4992 вместо исходного штамма. Но необходимо продолжить работу по селекции этого штамма с целью усиления его пробиотических свойств.

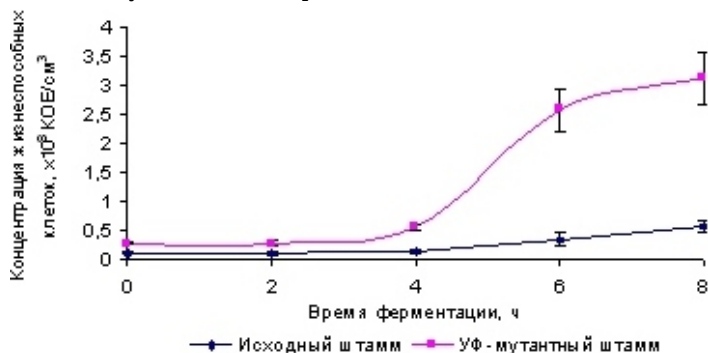


Рис. 1. Изменение концентрации жизнеспособных бактериальных клеток во времени при ферментации исходного и УФ-мутантного штаммов *L. acidophilus* ВКПМ В-4992 на ФФО+М

Литература

1. Штамм бактерий *Lactobacillus acidophilus* var. *coscoideus*, используемый при промышленном производстве пробиотика для жвачных животных: пат. 2154102 РФ, № 93013425/13; заявл. 16.03.1993; опубл. 10.08.2000.
2. Сухой пробиотик для жвачных животных Руменолакт: пат. 2063755 РФ, № 93036410/13; заявл. 14.07.1993; опубл. 20.07.1996.
3. Устюжанинова Л.В., Сушкова В.И. Изучение пробиотических и технологических свойств лактобактерий [Электронный ресурс] // Всерос. ежегод. науч.-технич. конф. «Общество, наука, инновации» (НТК-2012), 16-27 апр. 2012.: сб. материалов / Вят. гос. ун-т; отв. ред. С.Г.Литвинец. – Киров, 2012. – 1 электрон. опт. диск (CD-ROM). – (Биологический факультет, секция «Биотехнология», ст.3).
4. Устюжанинова Л.В., Сушкова В.И. Технология производства кормовых синбиотических продуктов // Современные тенденции в сельском хозяйстве. Сб. трудов I междунар. Интернет-конф., 15-17 окт. 2012 г. / Отв. редактор Изотова Е.Д. – Казань: Изд-во "Казанский университет", 2012. – с. 190-196.
5. Оганесян Г.Г., Барсебян А.А., Григорян Н.Г., Топчян А.В. Генетическое улучшение технологических характеристик заквасок кисломолочных продуктов // Прикладная биохимия и микробиология. – 2010. – том 46. – № 4. – с. 433-437.
6. Инге-Вечтомов С.Г. Генетика с основами селекции: Учеб. для биол. спец. ун-тов. – М.: Высшая школа, 1989. – 591 с.

ЛЕЙКОТРИЕНЫ КАК БИОХИМИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ ВОСПАЛЕНИЯ У БОЛЬНЫХ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ

Костина Е.М.

ГБОУ ДПО ПИУВ Минздрава России

giuv.sura.ru

Резюме

В работе показана значимость лейкотриенового механизма в патогенезе инфекционно-зависимой бронхиальной астмы, осложненной полипозом носа. Лейкотриены суммарные C4D4E4 и лейкотриен B4 являются биохимическими маркерами аллергического воспаления и их определение необходимо для точности диагностики механизмов патологии и оптимального выбора метода терапии. Повышение цистениловых лейкотриенов выявлено у 75,5% больных. Назначение антагониста лейкотриеновых рецепторов (монтелукаста) является патогенетически обоснованным у данной категории больных, клиническая эффективность лечения данным препаратом составила 81,1%.

Введение

В патогенезе бронхиальной астмы участвуют различные иммунокомпетентные клетки (эозинофилы, базофилы, тучные клетки, нейтрофилы и т.д.), вырабатывающие более 100 биологически-активных веществ. Медиаторы оказывают непосредственное влияние на гладкие мышцы бронхов, сосудов, слизепroduцирующие клетки, посылают сигнал другим клеткам, привлекая их в очаг воспаления, тем самым формируя хроническое воспаление в дыхательных путях [1]. Современной патогенетической концепцией бронхиальной астмы (БА) является теория двойного воспаления, при котором ведущая роль отводится лейкотриенам (ЛТ), что отражено в результатах научных исследований и международных согласительных документах [5]. Выделение ЛТ происходит под действием множества факторов: аспирин и нестероидных противовоспалительных препаратов (НПВП), стресса, аллергенов, физической нагрузке и инфекции. Причем доказано, что именно цистениловые лейкотриены C4D4E4 и B4, образующиеся путем активации липооксигеназного пути, играют ведущую роль в бронхоконстрикции и развитии воспаления у больных БА [3,4]. Суммарные ЛТ C4D4E4 выделяются различными клетками, B4

преимущественно нейтрофилами, что может свидетельствовать о значимости инфекционного фактора в развитии БА. Для достижения полного контроля БА необходима терапия, направленная на все звенья патогенеза, в том числе на блокаду ЛТ [5]. Роль лейкотриенового механизма наиболее изучена на примере аспириновой формы БА, которая встречается примерно у 20% пациентов [2]. Значение ЛТ в воспаление у больных инфекционно-зависимой бронхиальной астмой (ИЗБА) до настоящего времени не определено. Клинически это приводит к формированию особого фенотипа БА, в основе которого лежит повышение значимых лейкотриенов [5].

С точки зрения клинициста крайне важно иметь в практике диагностические маркеры, позволяющие определить ведущий патогенетический механизм, исходя из которых, можно выбрать наиболее эффективный способ лечения.

Цель работы: изучить роль лейкотриенов C4D4E4 и В4 в патогенезе ИЗБА, их динамику на фоне терапии монтелукастом и клиническую эффективность данной терапии.

Материалы и методы: Проведено обследование 53 пациентов ИЗБА с хроническим полипозным риносинуситом (ХПРС). Возраст пациентов от 18 до 60 лет. В качестве групп контроля для сравнительной оценки уровня лейкотриенов обследованы здоровые доноры (25 человек).

Диагноз бронхиальная астма установлен в соответствии с Международным консенсусом по диагностике и терапии БА (Джина, 2008г.) [5]. При поступлении пациентов в аллергологическое отделение проводилось комплексное клиничко-лабораторное и аллерго-иммунологическое обследование. Суммарные лейкотриены C4D4E4 и лейкотриен В4 в плазме крови определяли иммуноферментным методом, наборами фирмы «Neogen corporation» на базе Центральной научно-исследовательской лаборатории (ЦНИЛ) ГБОУ ДПО ПИУВ Минздрава России (зав. ЦНИЛ - профессор Б.А. Молотилев) согласно инструкции.

Статистическая обработка материала проводилась с помощью пакета прикладных программ «Статистика 6» на персональном компьютере. При сравнении двух выборочных средних при сравнении групп между собой использовали критерий Манн-Уитни (U).

Результаты и обсуждение

Средняя длительность течения БА составила $9,88 \pm 0,60$ лет. У пациентов наблюдалось в среднем $4,21 \pm 0,34$ обострения в год, средней длительностью до $11,92 \pm 1,06$ дней. В среднем пациенты имели $1,89 \pm 0,08$ госпитализаций в год. Тяжесть клинических показателей

соответствовала среднетяжелому течению БА в среднем - $2,36 \pm 0,08$ баллов.

Все пациенты имели связь обострений БА с ОРЗ/ОРВИ и/или обострением имеющихся очагов хронической инфекции (хронический бронхит, тонзиллит, гайморит, полипоз и т.д.) и применением антибактериальных препаратов, в среднем до $3,19 \pm 0,22$ курсов в год.

У всех пациентов БА преобладающей сопутствующей патологией был хронический полипозный риносинусит. ННПВП без полипов выявлена у 21 (39,6%) пациента и полная аспириновая триада (БА, полипоз и НПВП) у 15 (28,3%) больных.

Исходно показатели функции внешнего дыхания незначительно отличались от нормы. Но у 2/3 пациентов с нормальными значениями ОФВ₁ наблюдалась гиперреактивность бронхов на неспецифические раздражители, суточный разброс ПСВ более 20%, что на фоне противовоспалительной терапии свидетельствует о персистенции воспаления в дыхательных путях. По объему противовоспалительной терапии преобладали пациенты с высокими дозами противовоспалительных препаратов (стероидов) (41,5%).

В соответствии с целью нашей работы мы провели изучение уровня суммарных лейкотриенов C₄D₄E₄ и лейкотриена В₄ в плазме крови у пациентов ИЗБА с ХПРС. При сравнительном анализе полученных данных выявлено достоверное увеличение высвобождения лейкотриенов у больных данной формой БА по сравнению со здоровыми лицами, причем увеличение уровня лейкотриенов было достоверным (тест Mann-Whitney, $p=0,000$).

Повышение ЛТ выявлено у 40 пациентов (75,5%). Показатель уровня лейкотриена В₄ у больных БА колебался от 4,40 нг/мл до 21,40 нг/мл. Средний уровень лейкотриена В₄ составил - $15,66 \pm 0,70$ нг/мл (медиана 15,85), у здоровых людей - $1,42 \pm 0,20$ нг/мл (медиана 1,40). Показатель уровня суммарных лейкотриенов C₄D₄E₄ колебался от 0,08 нг/мл до 4,80 нг/мл. Средний уровень лейкотриенов C₄D₄E₄ составил- $2,12 \pm 0,24$ нг/мл (медиана 1,70), у здоровых людей - $0,58 \pm 0,07$ (медиана 0,60) нг/мл (рис.1). Как видим, значения лейкотриенов у изучаемых больных значительно отличались от таковых у здоровых лиц ($p < 0,05$).

Повышение уровня ЛТ свидетельствует об участии лейкотриенового механизма в патогенезе ИЗБА, осложненной ХПРС. Кроме того значимое повышение лейкотриена В₄ может свидетельствовать о напряженном функционировании нейтрофилов и других фагоцитов, подтверждая роль хронической инфекции у данных больных.

Следует отметить, что значимое повышение уровня ЛТ у больных БА

(в 2-3 раза) наблюдалось у пациентов с нормальными значениями ФВД, что может служить дополнительным критерием наличия ГРБ и персистенции воспаления в респираторном тракте у наблюдаемых пациентов. ЛТ C4D4E4 и B4 могут служить биохимическими маркерами хронического воспаления респираторного тракта и тяжести течения у больных ИЗБА с ХПРС.

Назначение только ГКС при данной патологии не приводит к полному устранению воспаления в дыхательных путях, что поддерживает неконтролируемое течение БА у большинства больных. Таким образом, при выборе метода терапии необходимо учитывать участие лейкотриенового механизма в данной патологии.

Назначение антилейкотриеновых препаратов, в частности монтелукаста, имеющего фармакологическую активность в отношении цистениловых лейкотриенов, является патогенетически обоснованным.

Клинический эффект терапии монтелукастом сопровождался положительной динамикой уровня изучаемых эйкозаноидов у наблюдаемых пациентов. Получены статистически значимые результаты при сравнении уровня C4D4E4 и B4 до и после проведенной терапии как у больных БА, так и ХК. Так содержание C4D4E4 уменьшилось с $2,12 \pm 0,23$ нг/мл до $1,23 \pm 0,13$ нг/мл ($p < 0,05$) и B4 с $15,66 \pm 0,70$ нг/мл до $9,23 \pm 0,46$ нг/мл ($p < 0,05$) у больных БА (рис. 1).

Данные результаты говорят о положительном влиянии антилейкотриенового препарата монтелукаст на снижение уровня цистениловых лейкотриенов у больных ИЗБА с ХПРС. Снижение уровня этих ЛТ у больных БА является критерием эффективности проводимой терапии.

Динамика уровня изучаемых ЛТ сопровождалась изменениями клинико-функциональных показателей течения БА, а именно: уменьшением симптомов астмы, повышением контроля заболевания, уменьшением тяжести течения и частоты рецидивов, улучшением легочной функции и уменьшением объема противовоспалительной терапии. Значительно изменился объем противовоспалительной терапии после курса: увеличилось число пациентов, получающих низкие дозы ИГКС с 5,7% до 18,9% (10 человек), уменьшилось число больных на высоких дозах ИГКС - с 22 (41,5%) до 16 (30,0%) пациентов.

Клиническая эффективность монтелукаста у больных БА составила 81,1%. Препарат хорошо переносился пациентами. Побочных реакций при приеме монтелукаста зарегистрировано не было.

Выводы:

Таким образом, определение значений лейкотриенов у больных БА

имеет важное диагностическое значение в определении лейкотриенового механизма и выбора адекватного метода терапии. Сочетание биохимического диагностического обследования и клинических данных анализа течения БА повышает результативность лечения больных. Лейкотриены могут служить биохимическими маркерами аллергического воспаления. Динамика уровня лейкотриенов является критерием эффективности лечения.

Назначение антилейкотриеновых препаратов, в частности монтулукаста, имеющего фармакологическую активность в отношении цистениловых лейкотриенов является наиболее рациональным при данной патологии.

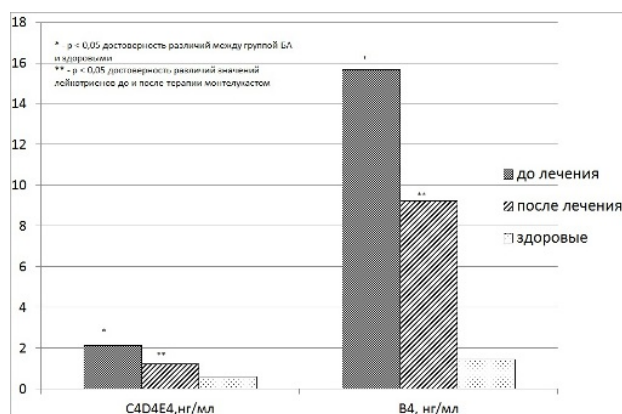


Рис. 1. Сравнительная оценка значений лейкотриенов у больных БА до и после лечения монтулукастом и здоровыми.

Литература

1. Княжеская Н.П. Аспириновая бронхиальная астма и антагонисты лейкотриенов // Российский медицинский журнал. - 2000. - Т. 8. - № 12. - С.505-509
2. Drug allergy / Vervloet D., Pradal M., Castelain M.I.- Sweden, Uppsala: Pharmacia & Upjohn' Diagnostics AB, 1999. - 323 p.
3. Fal A.M., Kopeć A. Status of leukotrienes in the pathophysiology of asthma. Necessity for antileukotrienes treatment // Pneumonologia i alergologia polska. - 2010. - № 78(1). - p. 68-73
4. Riccioni G., Della Vecchia R., Menna V., et al. Antileukotrienes in the therapy of bronchial asthma // Recenti progressi in medicina. - 2003. - № 94(11). - p. 509-515

5. Global Initiative for Asthma. Global Strategy for Asthma Management and Prevention (GINA). National Institutes of Health; National Heart, Lung, and Blood Institute [accessed June 8, 2009; updated 2008].

**РАЗРАБОТКА БИОПРЕПАРАТОВ ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ И
ЛЕЧЕНИЯ КЛИНИЧЕСКОЙ И СУБКЛИНИЧЕСКОЙ ФОРМ
МАСТИТОВ У КОРОВ**

Фролова Л. Н., Василенко Л. И., Кривова А. С.

ФГБОУ ВПО ВГУИТ

fln-84@mail.ru

Актуальной проблемой сельскохозяйственного производства в нашей стране является постоянное и широкое внедрение новых технологий, направленных, в первую очередь, на обеспечение продовольственной безопасности России. Для этого одно из ведущих мест должна занимать высокая продуктивность такой отрасли сельского хозяйства, как животноводство, включающая в себя получение максимального количества продукции, соответствующей требованиям мировых стандартов. Однако одним из главных факторов, препятствующих достижению данных показателей, являются незаразные болезни сельскохозяйственных животных.

Основными перспективными направлениями в профилактике и терапии внутренних незаразных болезней являются: изучение их динамики и особенностей в условиях интенсивного животноводства с промышленной технологией, дальнейшее совершенствование и разработка методов диагностики, изучение эндемических болезней, изыскание эффективных диетических и лечебных средств, премиксов и оптимальных по витаминно-минеральному составу комбикормов и кормосмесей для профилактики патологии обмена веществ, разработка эффективных методов групповой терапии и профилактики болезней

Проблемы мастита у коров всегда остро стояли у производителей молока, так как маститное молоко не подлежит реализации и даже при малейшем попадании в молоко от здоровых животных приводит к необратимым изменениям его функционально технологических свойств при дальнейшей переработке. В свою очередь при лечении животных от мастита антибиотиками, что очень распространено в животноводческих хозяйствах, остаточное их количество всегда оказывается в молоке, что недопустимо, согласно ГОСТ Р 52054-2003.

Нами предложено применение комплексного биопрепарата на основе пробиотиков который с первых дней жизни животных способствует заселению полезной микрофлоры в желудочно-кишечном тракте на

раннем этапе развития и у взрослых животных в дальнейшем. Пробиотики, благодаря своей способности нормализовать кишечный микробиоценоз организма животного, являются труднозаменимым компонентом питания но, к сожалению, характеризуются непродолжительным сроком хранения и не стабильными свойствами.

Для решения данной проблемы исследована возможность микрокапсулирования сублимированных препаратов молочнокислых стрептококков и лактобацилл в капсулы из жмыхов. Доказан положительный терапевтический эффект применения этой БАД при подостром гнойно-катаральном мастите в период лактации. Биопрепарат обладает высокой бактерицидной активностью в отношении основных возбудителей мастита: стафилококков - 0,023 ЛЕ/см³, псевдомонад-5,25-11,5 ЛЕ/см³.

При этом происходит повышение продуктивности коров, связанное с улучшением обменных процессов в организме животного. Использование данного биопрепарата является эффективным решением проблемы мастита у животных и не требует специальной подготовки обслуживающего персонала, так как вводится с основным рационом перорально, а не непосредственно в молочную железу через сосковый канал. При профилактических дозах отмечено снижение заболеваемости коров на 58,5 %.

При переработке молока животных, получающих биопрепарат, установлено изменение сорта молока со второго на первый, причем увеличивается плотность сгустка, что говорит о повышении сыропригодности молока, сыворотка не горькая и не тянется.

Таблица 1. Физико-химические показатели молока животных до и после применения биопрепарата

Показатель	Группа	
	1	2
-		
Сухое вещество	10,11	10,75
Жир	3,32	3,58
Общий белок	2,69	2,85
в т.ч. казеин	2,08	2,21
Лактоза	4,16	4,32
Плотность	28,30	29,10
Кислотность	17,3	17,5

Также было отмечено увеличение термостабильности молока в процессе обработки.

Таким образом, доказан ярко-выраженный эффект применения разработанного препарата при профилактике и лечении клинической и субклинической форм мастита. При сравнении с традиционным методом лечения стоимость лечения снижается в 3, 3 раза, а затраты труда в 1,9 раза.

Литература

1. Щербаков Г.Г., Коробов А.В. Внутренние болезни животных. - М., Лань, 2002

ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ КОРЫ ДУБА В МЕДИЦИНЕ

Хохленкова Н.В., Ярных Т.Г., Буряк М.В.

Национальный фармацевтический университет

marinaburjak@rambler.ru

В последние годы наблюдается расширение диапазона научных исследований по изучению свойств лекарственных средств растительного происхождения и научного обоснования целесообразности широкого внедрения фитотерапии в медицину. По данным ВОЗ (2011), почти 80% населения Земли в пределах организации первой медико-санитарной помощи использует в основном препараты растительного происхождения. Согласно результатам центра исследования общественного мнения в Германии, более чем 50% опрошенных предпочитает лечиться препаратами натурального происхождения, и лишь 20% считает, что синтетические вещества более надежны. Такие исследования свидетельствуют о преимуществе растительных препаратов в выборе лекарств, что обусловлено их широким спектром действия, возможностью индивидуального выбора в процессе лечения сопутствующих заболеваний, гибкой схемой дозировки и снижением риска лекарственных осложнений [2, 4, 5].

Одним из растений, наиболее часто применяющихся в медицине, является Дуб обыкновенный (*Quercus robur L.*), семейство Буковые (*Fagaceae*). Род дубов насчитывает около 600 видов, которые распространены в умеренном и тропическом климате. На территории Украины встречаются 23 вида дуба. Наиболее распространенными являются дуб обыкновенный, дуб скальный, дуб пушистый, дуб австрийский, дуб красный, дуб монгольский, и др. Кора дуба широко используется в народной и официальной медицине и фармации. Листья, желуди и галлы дуба обыкновенного используют в народной медицине и гомеопатии [1, 3, 6].

Экспериментальные и клинические данные свидетельствуют, что препараты из коры дуба обладают широким спектром фармакологической активности, включает вяжущее, противовоспалительное, антимикробное и противовирусное, спазмолитическое, гипотензивное, антиоксидантное, антиканцерогенное и радиопротекторное действие.

Широкий спектр использования коры дуба обусловлен ее химическим составом. Основной группой биологически активных веществ коры различных видов дуба являются дубильные вещества. Среди них преобладает группа конденсированных дубильных веществ. Кроме дубильных веществ кора дуба содержит органические кислоты (галловая, эллаговая), углеводы, слизь, пентозаны, флавоноид кверцетин, белковые вещества, сапонины, микро и макроэлементы.

Кора дуба широко используется в практической медицине, как в Украине, так и в некоторых зарубежных странах. Однако, в связи с недостаточным ассортиментом готовых лекарственных препаратов на основе коры дуба, в клинических условиях чаще используют преимущественно галеновые препараты из этого сырья. Также, кора дуба входит в состав сборов и авторских прописей и комплексных лекарственных средств.

Для расширения возможностей применения коры дуба и с целью создания различных лекарственных препаратов на основе этого вида сырья, на кафедре технологии лекарств НФаУ была разработана технология и проведена стандартизация густого экстракта коры дуба (ГЭКД). Фармакологическими исследованиями доказано антимикробное, мембраностабилизирующее, антиэкссудативное, кровостанавливающее действие ГЭКД. Учитывая фармакологическую активность ГЭКД актуальным является создание на его основе твердых, жидких и мягких лекарственных форм для применения в стоматологии, отоларингологии, дерматологии, гастроэнтерологии, урологии, проктологии.

НЕКОТОРЫЕ АСПЕКТЫ КУРСА « МЕДИЦИНСКИЕ БИОТЕХНОЛОГИИ»

Хусаинов М.Б.

Казанский (Приволжский) федеральный университет

marat.kfu@yandex.ru

Курс “Медицинские биотехнологии” имеет своей целью дать студенту целостное представление о новом направлении научной и практической деятельности, имеющем в своей основе использование биологических объектов (клетки микроорганизмов, клетки тканей животных и растений и т.д.) или молекул (нуклеиновые кислоты, белки-ферменты, антитела и т.п.) для решения различных задач, прежде всего в области здравоохранения и медицины. Другой целью курса « Медицинские биотехнологии» является ознакомление студентов с общими принципами и методами использования биотехнологических процессов для получения различных лекарственных и биологически активных веществ, с основами биотехнологических процессов и методами их совершенствования, прежде всего на основе использования последних достижений генной инженерии, молекулярной биологии, биохимии и других фундаментальных наук.

Курс " Медицинские биотехнологии" логически взаимосвязан с другими профессиональными дисциплинами, необходимыми для реализации профессиональных функций. Перед изучением курса студент должен освоить следующие дисциплины: «Общая биохимия», «Молекулярная биология», «Общая и медицинская генетика», «Микробиология», «Основы биотехнологии».

В вводной части лекционного курса студенты должны получить общее представление о медицинской биотехнологии, ее взаимосвязи с химическими, медико-биологическими и техническими дисциплинами, истории возникновения, особенностях и основных достижениях современного этапа развития.

В следующем разделе курса студенты знакомятся с базовыми понятиями биотехнологии, необходимыми для освоения данной дисциплины. Этот раздел включает такие вопросы, как теоретические основы и основные объекты биотехнологии, структура биотехнологического производства, стерилизация и поддержание асептических условий, специфика аппаратуры для реализации

биотехнологических процессов, методы азирования, перемешивания, теплоотвода и пеногашения. Рассматриваются также методы выделения и очистки продуктов биотехнологического производства: методы сепарации клеток (флотация, фильтрация, центрифугирование), методы дезинтеграции клеток-продуцентов (механические, химические, ферментативные) и методы, используемые для получения чистых продуктов (хроматография, электрофорез), использование иммобилизованных биообъектов в медицинских биотехнологиях и в диагностике различных заболеваний.

Сравнительно много времени отводится ознакомлению студентов с различными аспектами использования современных клеточных технологий. Эти разделы курса включают такие вопросы, как основные методы клеточных технологий, практическое использование культур клеток и тканей животных, технологии клонирования, этические и юридические проблемы, связанные с клонированием человека и человеческих органов и тканей, применение репродуктивных медицинских биотехнологий для лечения бесплодия, методы криоконсервации сперматозоидов, яйцеклеток, эмбрионов и культивируемых клеток, источники получения и перспективы использования стволовых клеток, методы выращивания биомассы клеток лекарственных растений, криобанки культур клеток животных и растений.

Далее студенты знакомятся с иммунологической биотехнологией – направлением биотехнологии, изучающим возможность создания и внедрения новых биопрепаратов для диагностики, вакцинирования и лечения. Иммунологические методы применяются для обнаружения различных белков, идентификации вирусов и бактерий, а также для определения низкомолекулярных соединений в широком спектре биологических образцов. Методы иммунодиагностики обладают высокой чувствительностью и специфичностью, являясь в тоже время достаточно простыми. Они широко используются для тестирования лекарственных препаратов, оценки и мониторинга различных онкологических заболеваний, определения специфических метаболитов, идентификации и контроля патогенных микроорганизмов, хотя и имеют свои ограничения. В данном разделе курса рассматриваются вопросы гибридной технологии получения моноклональных антител, применение моноклональных антител в иммунной диагностике и в качестве лекарственных препаратов.

При изучении курса центральное место занимает ознакомление студентов с достижениями генной инженерии и возможностями

применения методов генной инженерии в медицинской биотехнологии. В данном разделе курса рассматриваются вопросы клонирования генов, полимеразная цепная реакция (ПЦР), клинико-диагностическое значение ПЦР, рекомбинантные белки и полипептиды (инсулин, гормон роста, интерфероны), рекомбинантные вакцины, использование рекомбинантных микроорганизмов для получения коммерческих продуктов, потенциальные опасности трансгенных организмов, методы ДНК-диагностики, молекулярная генетика человека и персонализированная медицина, генная терапия.

В заключительном разделе курса студенты знакомятся с основными направлениями развития медицинской биотехнологии в “постгеномную эру”. Студенты получают представление о таких вопросах как геномика, протеомика, биоинформатика и их значение для поиска новых лекарств, основы создания биосенсоров и микрочипов, применение наноматериалов и нанобиотехнологий в медицине.

В ходе изучения курса предусмотрены следующие виды самостоятельной работы студентов: подготовка к устному опросу, подготовка презентации, подготовка к контрольной работе, подготовка реферата, самостоятельный поиск информации по медицинским биотехнологиям в Интернете.

К формам промежуточной аттестации студентов при изучении курса относятся: устный опрос, выступление с докладом-презентацией, контрольная работа, реферат.

Литература

1. Б.Глик, Дж.Пастернак. Молекулярная биотехнология. Принципы и применение. М. "Мир". 2002.
2. Фармацевтическая биотехнология. Руководство к практическим занятиям.: учебное пособие / Орехов С.Н. / Под ред. В.А. Быкова, А.В. Катлинского - М. ГЭОТАР-Медиа, 2009. - 384 с.
3. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология: том 1 : учебник / Под ред. В.В. Зверева, М.Н. Бойченко, - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2010.
4. Сазыкин Ю.Ю., Орехов С.Н., Чакалева И. И. Биотехнология. М.: Академия, 2008.

НЕКОТОРЫЕ АСПЕКТЫ ПРЕПОДАВАНИЯ КУРСА «КРИОБИОТЕХНОЛОГИЯ»

Хусаинов М.Б.

Казанский (Приволжский) федеральный университет

marat.kfu@yandex.ru

Целью лекционного курса «Криобиотехнология» является ознакомление студентов с основными достижениями криобиотехнологии на современном этапе и направлениями ее применения в сельском хозяйстве, пищевой промышленности и в медицине. В качестве теоретической базы криобиотехнологии рассматриваются биотехнология, криобиология, криомедицина, биофизика. К настоящему времени сформировалось несколько разделов криобиотехнологии, в которых изучается действие низких и сверхнизких температур на различные биологические объекты.

При прохождении дисциплины «Криобиотехнология» студенты должны познакомиться не только с основными методами биотехнологии, но и с аппаратурой для подготовки и криоконсервации биологического материала - здесь основную роль играет программный замораживатель (фризер), который осуществляет программируемое, контролируемое, протоколируемое и воспроизводимое серийно охлаждение объекта до заданной температуры.

После приведения криоконсервируемого материала к температуре хранения (обычно —196^оС - температура жидкого азота) биологический объект помещается в криохранилище на более или менее длительный срок. Криохранилище обычно представляет собой сосуд дьюара большого объема (от 100 до 1000 л) с широкой горловиной для удобного доступа внутрь и размещения материала. Внутреннее пространство хранилища снабжается системой стоек, выдвижных боксов и ячеек, обеспечивающих удобную систематизацию и быстрый доступ к нужному образцу. Для обеспечения надежности сохранения материала криохранилища оборудуют системой сигнализации уровня жидкого азота и температурных параметров, влажности и оксигенации с возможностью ведения протокола условий хранения ценных препаратов на компьютере. Также для большей надежности и удобства эксплуатации криохранилища могут быть оборудованы системой автоматического долива жидкого азота из резервуара, который можно

разместить вне стен криобанка и заправлять привозным азотом или производить собственный жидкий азот из атмосферного воздуха используя азотные установки различной мощности. Питание всей электрической аппаратуры может быть продублировано системами бесперебойного питания и автономных электростанций.

При освоении дисциплины студенты должны ознакомиться с применением криобиотехнологий криосохранения клеток растений и животных, используемых в том числе, для сохранения генетического разнообразия существующего на Земле животного и растительного мира.

Криосохранение соматических клеток растений в жидком азоте (температура - 196° С) - направление в криобиотехнологии, которое широко стало развиваться с начала 70-х годов XX столетия. Цель данной технологии заключается в сохранении в культуре *in vitro* генофонда редких, исчезающих, декоративных, лекарственных растений, а также в обеспечении селекционеров в любое время генотипами, имеющим искомые признаки: необходимая пыльца для проведения гибридизации; уникальные и единичные семена; трансформированные, мутантные, гибридные клетки разных видов растений, способных к морфогенезу *in vitro*; зиготические и соматические зародыши. Изучение физиологических, генетических и биотехнологических особенностей формирования криоустойчивости растительного материала, в том числе, культивируемого *in vitro*: изолированных тканей и органов, а также каллусов и клеток суспензионных культур растений позволило биотехнологам разработать методы криосохранения семян, пыльцы, меристем, каллусных и суспензионных культур.

При криосохранении растительного материала необходимо учитывать специфику растительных клеток и разрабатывать в каждом отдельном случае методики замораживания и последующего размораживания растительных клеток. В процессе криосохранения требуется защита замораживаемых клеток и тканей от осмотического стресса и механического разрушения структур в результате образования и роста кристаллов льда внутри клетки. Одновременно с этим необходимо подбирать условия, обеспечивающие высокую выживаемость клеток при размораживании и последующем культивировании.

Обычно для криоконсервирования клеток растений используются следующие методы: обработка клеток перед замораживанием, применение криопротекторов (веществ, уменьшающих повреждение клеток), соблюдение определенного режима замораживания в интервале от 0 до -40°С (в редких случаях до -70° С), а также специальные предосторожности при размораживании.

В лекционном курсе также рассматриваются методы получения жизнеспособных животных из криосохраненных клеток, методы криосохранения яйцеклеток животных, методы криосохранения сперматозоидов животных. Методы криосохранения сперматозоидов широко применяют при разведении крупного рогатого скота, в частности в развитых странах подавляющее большинство коров осеменяют спермой, хранившейся в замороженном виде. Метод криосохранения сперматозоидов сельскохозяйственных животных позволяет сохранить и использовать сперму производителей, дающих высококачественное потомство, а также транспортировать сперму в отдаленные районы и создавать криобанки ценных генов.

При изучении данной дисциплины студенты должны получить представление о применении криобиотехнологии в различных областях медицины. В медицине криобиотехнологии широко используются в различных вспомогательных репродуктивных технологиях. Криоконсервирование спермы и создание криобанков спермы предоставляет широкие возможности подбора доноров для искусственного оплодотворения и сохранения спермы мужчин, которым предстоит лечение, отрицательно воздействующее на репродуктивную систему или опасная работа, а также для решения проблемы мужского бесплодия. Криоконсервирование ооцитов позволяет решить проблему сохранения фертильности при онкологическом заболевании. Криоконсервирование эмбрионов дает возможность регулировать сроки переноса эмбрионов, которые используются при экстракорпоральном оплодотворении (ЭКО). Криоконсервирование тестикулярной ткани мужчин проводится при возможных хирургических вмешательствах либо химиотерапии, что в дальнейшем позволяет решить проблемы, связанные с нарушением фертильности.

Криоконсервирование тканей также используется для трансплантации органов, поскольку для трансплантации необходимо обеспечить долговременное хранение органов и тканей до того периода времени, когда они могут понадобиться нуждающимся пациентам. В настоящее время разработаны методы криоконсервации органов и тканей (вены, артерии, хрящи, сердечные клапаны) для последующей трансплантации пациентам.

Криобиотехнологии могут использоваться для криосохранения клеток пуповинной крови. Пуповинная или плацентарная (кордовая) кровь -это источник стволовых кроветворных клеток, являющихся предшественниками всех клеток крови, которые формируют иммунитет человека. Если раньше клетки пуповинной крови применяли только для

лечения гематологических заболеваний, то теперь, учитывая их высокую пластичность и многофункциональность, криоконсервированные клетки пуповинной крови рассматриваются как потенциальный источник для клеточной терапии широкого спектра заболеваний.

Стволовые клетки являются мощным фактором, мобилизирующим и стимулирующим собственные защитные силы организма. После трансфузии суспензии стволовых клеток активизируются все функциональные системы организма. Клеточная терапия - это оздоровление или лечение не только с помощью стволовых клеток и тканей, а также биологически активных веществ, которые они содержат. Ее применяют при лечении многих заболеваний с целью устранения этиологических, патогенетических и клинических проявлений болезни, восстановления полноценного иммунитета, стимулирования всех функций организма, продления биологической молодости и творческой активности на длительное время.

Крихирургия наряду с криоконсервацией клеток и тканей является одной из областей современных медицинских криобиотехнологий. Современная крихирургия базируется на теоретических и экспериментальных исследованиях в области криобиологии и современных криотехнологиях. Крихирургические операции проводятся практически без потери крови, без последующего образования шрамов и рубцов, а также при низких болевых симптомах, что позволяет использовать минимальное количество анестезии. В последние годы крихирургия все больше применяется как метод лечения злокачественных новообразований. Под действием низкой температуры происходит замораживание (при помощи жидкого азота) тканей на определенном участке, что вызывает омертвление тканей без воспалительной реакции, которая часто возникает во время лечения опухолей высокими температурами (электрокоагуляция). Отторжение отмерших тканей после замораживания идет быстрее, чем после электрокоагуляции, благодаря чему образуется менее заметный рубец. Механизм криогенной деструкции опухоли заключается в воздействии на сосуды, которые спазмируются, в них возникает замедление тока крови, образование тромбов, острый недостаток кислорода в тканях и в итоге их гибель. Экстремально низкие температуры также непосредственно влияют на клетки, вода в них замерзает и разрывает клетки изнутри. Крихирургия может применяться для лечения злокачественных новообразований печени, поджелудочной железы, молочной железы, толстой и прямой кишки, желудка, поверхностных раковых опухолей, в частности рака кожи. Применение крихирургии

показано, в тех случаях, когда традиционное хирургическое удаление опухоли на лице может привести к серьезному косметическому дефекту или когда нужно удалить много новообразований по всему телу.

Криотерапия - это другая область применения низких температур в медицине. Криотерапия - это физиотерапевтическая процедура, лечебное действие которой основано на ответных реакциях организма на переохлаждение наружного (рецепторного) слоя кожи. Непродолжительное переохлаждение не приводит к повреждению тканей, но оказывает мощное раздражающее действие на центральную нервную систему, которое вызывает ряд положительных сдвигов в иммунной, эндокринной и других системах организма. Положительный эффект основан на изменении деятельности сосудов - первоначальный спазм мелких артерий сменяется их расширением. В результате происходит усиленное теплообразование и улучшение питания тканей кожи внутренних органов, стимулирование работы сердца и сосудов, облегчение венозного оттока. Все это очень помогает реабилитации после травм опорно-двигательного аппарата и оперативных вмешательств, при воспалительных и обменных заболеваниях суставов, при многих кожных заболеваниях. В спортивной медицине обезболивающее и регенеративное действие криотерапии позволяет ускорить процесс лечения травм и переломов. Подавление болей и преодоление скованности суставов облегчает реабилитацию после травм, пациент может активно нагружать травмированный орган, что значительно ускоряет восстановление физической формы и предупреждает осложнения. Основные противопоказания при криотерапии - это повышенная температура тела, острые инфекционные заболевания, туберкулез, заболевания дыхательных путей, сердечно-сосудистой и нервной системы, болезни крови, эпилепсия. Следует различать общую и локальную криотерапию. Общая криотерапия раздражает все рецепторное поле кожи и оказывает воздействие на центральную нервную систему. Локальная криотерапия вызывает местные эффекты. Для общей криотерапии применяют криотерапевтические комплексы (КТК или криосауны), которые предназначены для криогенного стимулирующего воздействия. В основе лечебного действия жидкого азота лежит его низкая температура. Для того, чтобы вызвать сужение кровеносных сосудов с последующим расширением не только действующих, но и резервных капилляров и значительно усилить приток крови, жидкий азот применяется кратковременно. Для криогенной деструкции удаляемого новообразования используют более длительное воздействие жидким

азотом. В косметологии криотерапию применяют для борьбы с бородавками, папилломами, для лечения угрей, для криомассажа лица и волосистой части головы.

Лиофилизация биологических объектов является одним из разделов криобиотехнологии. Лиофилизация фармацевтических препаратов (высушивание в вакууме предварительно замороженных биологических препаратов, термолабильных соединений) широко используется в медицинской промышленности при производстве лечебных, профилактических и диагностических препаратов, таких как вакцины, сыворотки, антибиотики. В процессе сублимационной сушки лед непосредственно переходит в пар, минуя жидкую фазу. При лиофилизации молекулы воды из биологических объектов удаляются без нарушения нативной структуры белков, при этом резко замедляются биохимические реакции, в результате чего они становятся более устойчивыми к факторам внешней среды и сохраняют полезные свойства в течение длительного периода времени. Лиофилизированные препараты легко переводятся в нативное состояние после введения растворителя (вода, физиологический раствор). Лиофилизация также применяется в пищевой промышленности, поскольку лиофилизированные продукты питания могут сохраняться длительное время. Процесс лиофилизации используется для получения растворимого (сублимированного) кофе и позволяет сохранить максимум вкуса и аромата продукта.

В лекционном курсе также рассматриваются некоторые проблемы биоэтики, поскольку разделы криобиотехнологии, связанные с вспомогательными репродуктивными технологиями, тканевой и клеточной терапией, трансплантацией могут восприниматься неоднозначно общественностью и представителями некоторых (католики, мусульмане) конфессий.

СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ БИОТЕХНОЛОГИИ В ЭКВАДОРЕ

Хусаинов М.Б., Баугиста Х.

Казанский (Приволжский) федеральный университет

marat.kfu@yandex.ru

Современное состояние биотехнологии в Эквадоре характеризуется, с одной стороны, отставанием объемов производства от уровня и темпов роста стран, являющихся технологическими лидерами в этой области, а с другой – возрастающим спросом на биотехнологическую продукцию со стороны потребителей. Результатом является высокая импортозависимость по важнейшим традиционным биотехнологическим продуктам: лекарственным препаратам и кормовым добавкам, отсутствие на рынке Эквадора собственных инновационных биотехнологических продуктов.

Одним из направлений биотехнологии Эквадора являются экологические биотехнологии. В Эквадоре применение биодеструкторов для очистки почв, воды от загрязнений в большинстве случаев сводится к ликвидации аварийных разливов нефти и нефтепродуктов. Для биоремедиации загрязненных нефтью и нефтепродуктами водоемов и почв используются несколько десятков препаратов, разработанных в США (90%) и разработанных в Эквадоре (8%). Таким образом, в Эквадоре существуют научные разработки в сфере биоремедиации нефтяных загрязнений, но достаточно слабо проработана научная база по созданию штаммов-деструкторов отходов химической и нефтехимической промышленности. Отсутствуют промышленные технологии по использованию биодеструкторов для биодеградации токсичных веществ, содержащихся в природных ландшафтах, местах техногенных загрязнений.

В Эквадоре развитие растениеводства является важным фактором экономики. К основным направлениям растениеводства относятся выращивание цветов и бананов. Именно для этих культур проводятся разработки в области биотехнологии растений. Выращивание генно-модифицированных культур в Эквадоре законодательно запрещено. В результате сложившейся практики урегулирования сферы выращивания и переработки генно-модифицированных культур, создаются преимущества для импорта сельскохозяйственной продукции.

Биотехнология является одним из мощных рычагов подъема

национальной экономики, поэтому развитие биотехнологии является стратегической задачей Эквадора. В последние годы развитию биотехнологии стало уделяться большее внимание со стороны руководства государства, общества и представителей бизнеса.

НЕКОТОРЫЕ АСПЕКТЫ РАЗВИТИЯ BIOTEХНОЛОГИИ В СЕВЕРНОМ КИТАЕ

Хусаинов М.Б., Чжан С.

Казанский (Приволжский) федеральный университет

marat.kfu@yandex.ru

Пищевые биотехнологии в северном Китае представлены производством традиционных китайских продуктов, таких как производство соевого соуса и производство различных видов традиционной китайской водки.

Биотехнология применяется также для получения нетрадиционных энергоносителей(биометан,биоэтанол). В последнее время биометан становится одним из главных источников энергии в сельской местности. Другим направлением является производство топливного биоэтанола из сельскохозяйственных отходов. После добавки специальных стабилизаторов бензин и этанол могут смешиваться в любых пропорциях. Самыми популярными видами спиртобензинового топлива являются Е30(содержит 30% этанола) и Е50(содержит 50% этанола). Спиртобензиновое топливо впервые в Китае было использовано в городе Чанчунь.

Методы биотехнологии растений используются для создания сортов риса устойчивых к полеганию и болезням, а также для создания тритикале.Тритикале обладает повышенной устойчивостью к низким температурам, устойчивостью к фитопатогенным грибам и вирусам,меньшей требовательностью к плодородию почвы. Медицинская биотехнология представлена производством антибиотиков, например большая часть эритромицина производится в г.Харбин. В последние годы быстро развивается производство интерферона.

**РАЗРАБОТКА УЧЕБНЫХ РУССКО-ИСПАНСКИХ И
РУССКО-КИТАЙСКИХ СЛОВАРЕЙ ПО БИОТЕХНОЛОГИИ
РАСТЕНИЙ**

Хусаинов М.Б., Баутиста Х., Чжан С.

Казанский (Приволжский) федеральный университет

marat.kfu@yandex.ru

Уже много лет в Казанском (Приволжском) Федеральном университете наблюдается устойчивая тенденция увеличения числа иностранных студентов. В Институте фундаментальной медицины и биологии К(П)ФУ в течение ряда лет обучаются студенты из таких стран Латинской Америки, как Мексика, Боливия, Эквадор и др. В последние годы наблюдается приток студентов из Китая.

В настоящее время в магистратуре кафедры биотехнологии обучаются студенты из Латинской Америки и Китая, при этом преподаватели сталкиваются с тем что, у иностранных студентов при усвоении курса биотехнологии растений могут возникать языковые проблемы. Одна из причин этого явления заключается в том, что хотя на подготовительных курсах иностранные студенты получают неплохую общую подготовку по русскому языку, но в задачи обучения русскому языку на данном этапе не входит ознакомление с русскоязычной терминологией по биотехнологии растений. Самостоятельно решить эту проблему иностранные студенты часто также не имеют возможности, поскольку русско-испанские и русско-китайские словари по биотехнологии растений практически отсутствуют.

Для решения этой проблемы нами были разработаны русско-испанские и русско-китайские учебные словари, в которых содержатся основные термины, используемые в биотехнологии растений. Знание этих терминов (при систематических занятиях) вполне достаточно для успешного усвоения курса биотехнологии растений иностранными студентами.

По разным оценкам, во всем мире на испанском языке говорят от 450 до 500 миллионов человек. Китайский язык является наиболее распространенным современным языком с общим числом говорящих на нем около 1,213 миллиарда человек. В связи с тем, что международные связи России с Китаем и странами Латинской Америки интенсивно развиваются, разработанные нами учебные словари по биотехнологии

растений могут быть полезны не только иностранным и русскоязычным студентам, бакалаврам, магистрам, но и аспирантам и научным сотрудникам, занимающимся биотехнологией растений.

СОВМЕСТНАЯ ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ ИНТЕРФЕРОНА-АЛЬФА16 ЧЕЛОВЕКА И ПРОТЕИНДИСУЛЬФИДИЗОМЕРАЗЫ В ДРОЖЖАХ *PICHA PASTORIS*.

Цыганков М.А., Филатова Е.В., Падкина М.В.

Санкт-Петербургский государственный университет

gene.arch@yandex.ru

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- α 16) - лейкоцитарный интерферон, вместе с ИФН- β составляют семейство интерферонов I типа. ИФН- α 16 относится к подтипу ИФН α 4, который совместно с ИФН α 1 и ИФН α 2 составляет основную фракцию интерферонов в индуцированных лейкоцитах [1]. Интерфероны - секреторные белки и синтезируются в виде предшественников, содержащих сигнальные последовательности. Масса ИФН- α 16 без сигнального пептида - 19 кДа, белок имеет две дисульфидные связи [3]. В настоящее время интерфероны совместно с другими препаратами активно используются в лечении различных онкологических и аутоиммунных заболеваний человека [1].

Протеиндисульфидизомераза (ПДИ) - белок массой 57 кДа, который находится в эндоплазматическом ретикулуме эукариотических клеток. Он катализирует формирование, восстановление и изомеризацию дисульфидных связей в синтезируемых белках. Помимо каталитической функции, ПДИ выступает в качестве шаперона, ингибируя агрегацию неправильно свернутых белков и является частью по крайней мере двух мультиэнзимных комплексов [6,10].

Существуют данные о том, что сверхэкспрессия структурного гена ПДИ в дрожжах *Saccharomyces cerevisiae* увеличивает продукцию гетерологичных белков [9]. В дрожжах *Pichia pastoris* для некоторых белков показан как положительный эффект сверхэкспрессии [4,5,7,11],

так и отсутствие какого-либо эффекта на продукцию гетерологического белка [2].

В составе созданных нами векторов на основе pPIC9 и pPICZ α (Invitrogen, USA) гены *HuIFN α 16* и *PpPDI* находятся под контролем промотора и терминатора гена алкогольоксидазы 1 дрожжей *P. pastoris* (*AOX1*), что позволяет регулировать экспрессию генов источником углерода. Присутствие в плазмиде pPIC9-HuIFN α 16 сигнального пептида α -фактора дрожжей *S. cerevisiae* обеспечивает секрецию гетерологического белка в культуральную жидкость. Вектор pPICZ α -PpPDI сконструирован таким образом, что продукт гена *PpPDI* не секретируется в культуральную среду, а остается внутри клетки.

Штамм *P. pastoris* трансформированный плазмидами pPIC9-HuIFN α 16 и pPICZ α -PpPDI жизнеспособен и секретирует ИФН- α 16 человека в культуральную среду. Количество секретируемого белка возросло по сравнению со штаммом-продуцентом ИФН- α 16 без сверхэкспрессии гена PpPDI. Результаты экспериментов показывают более высокую биологическую активность секретируемого ИФН- α 16. Активность рекомбинантного ИФН- α 16 человека определяли по подавлению цитопатической активности вируса везикулярного стоматита в культуре кожномышечной ткани эмбрионов человека.

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. Damasceno L.M., Anderson K.A., Ritter G., Cregg J.M., Old L.J., Batt C.A. Cooverexpression of chaperones for enhanced secretion of a single-chain antibody fragment in *Pichia pastoris*. // Appl Microbiol Biotechnol. 2007 Feb;74(2):381-9.
3. <http://www.uniprot.org/uniprot/P05015>
4. Huo X., Liu Y., Wang X., Ouyang P., Niu Z., Shi Y., Qiu B. Co-expression of human protein disulfide isomerase (hPDI) enhances secretion of bovine follicle-stimulating hormone (bFSH) in *Pichia pastoris*. // Protein Expr Purif. 2007 Aug;54(2):234-9.
5. Inan M., Aryasomayajula D., Sinha J., Meagher M.M. Enhancement of protein secretion in *Pichia pastoris* by overexpression of protein disulfide isomerase. Biotechnol Bioeng. 2006 Mar 5;93(4):771-8.
6. Kersteen E.A. and Raines R.T. Catalysis of Protein Folding by Protein

- Disulfide Isomerase and Small-Molecule Mimics // *Antioxid Redox Signal*. 2003 August ; 5(4): 413.
7. Patricia McClory, Co-expression of PDI and *P. falciparum* vaccine candidate AMA1 in *Pichia pastoris*. University Honors in Biology, Spring 2008. [<http://aladinrc.wrlc.org/handle/1961/4763>]
 8. Robinson A.S., Hines V., Wittrup K.D. Protein disulfide isomerase overexpression increases secretion of foreign proteins in *Saccharomyces cerevisiae*. *Biotechnology (N Y)*. 1994 Apr;12(4):381-4.
 9. Shusta E.V., Raines R.T., Plückthun A., Wittrup K.D. Increasing the secretory capacity of *Saccharomyces cerevisiae* for production of single-chain antibody fragments. *Nat Biotechnol*. 1998 Aug;16(8):773-7.
 10. Warsame A., Vad R., Kristensen T., and Oyen T. B. Characterization of a Gene Encoding a *Pichia pastoris* Protein Disulfide Isomerase // *Biochemical and Biophysical Research Communications* 281, 1176-1182 (2001).
 11. Zhang S.T., Fang H.M., Zhao L., Tian Q.N., Qin Y.F., Lu P., Chen S.J., Bao Z.X., Liang F. Co-overexpression of PpPDI enhances secretion of ancrod in *Pichia pastoris*. // *Appl Biochem Biotechnol*. 2011 Aug;164(7):1037-47.

**ВАРИАбельНОСТЬ СЕРДЕЧНОГО РИТМА В КОНТЕКСТЕ
МЕМБРАННОЙ ПАТОЛОГИИ У БОЛЬНЫХ ГИПЕРТОНИЧЕСКОЙ
БОЛЕЗНЬЮ.**

Чугунова Д. Н., Хасанов Н. Р., Ослопов В. Н., Газиев А. Р.

Казанский государственный медицинский университет

d0129@yandex.ru

Цель: Оценить показатели variability сердечного ритма у больных гипертонической болезнью в ассоциации со скоростью $\text{Na}^+\text{-Li}^+$ -противотранспорта в мембране эритроцита.

Материал и методы. В исследование было включено 138 больных гипертонической болезнью I-II стадии в возрасте от 18 до 65 лет, длительность течения заболевания составила $9,04 \pm 1,2$ года. Среди больных было 84 женщины и 54 мужчин, средняя длительность заболевания у женщин - $9,03 \pm 1,02$ лет, у мужчин - $9,06 \pm 0,76$ лет.

Всем больным проводилось определение скорости $\text{Na}^+\text{-Li}^+$ -противотранспорта в мембране эритроцита по методу M. Canessa (1980), определение временных показателей variability сердечного ритма по данным холтеровского мониторинга ЭКГ. Статистическую обработку материала проводили с использованием программы Microsoft Excel 7.0 и пакета прикладных программ Statistika 6.0.

Результаты. Все больные согласно индивидуальной скорости $\text{Na}^+\text{-Li}^+$ -противотранспорта в мембране эритроцита были отнесены к четырем квартилям:

- I квартиль (скорость НЛП до 204 мкмоль $\text{Li}/\text{л}$ кл. в час) - 25 больных,
- II квартиль (скорость НЛП 204-271 мкмоль $\text{Li}/\text{л}$ кл. в час) - 34 больных,
- III квартиль (скорость НЛП 272-345 мкмоль $\text{Li}/\text{л}$ кл. в час) - 23 больных,
- IV квартиль (скорость НЛП более 345 мкмоль $\text{Li}/\text{л}$ кл. в час) - 43 больных.

При анализе временных показателей variability сердечного ритма у больных гипертонической болезнью в зависимости от квартильной принадлежности выявлено, что у больных, относящихся к IV квартилю скорости, уровень показателя мода достоверно выше, чем у больных, относящихся к III квартилю скорости $\text{Na}^+\text{-Li}^+$ -противотранспорта в мембране эритроцита ($0,19 \pm 0,02$ и $0,13 \pm 0,01$; $p=0,015$).

Выводы. Существует ассоциация показателя мода, указывающего на уровень функционирования систем регуляции сердечно-сосудистой системы со скоростью $\text{Na}^+\text{-Li}^+$ -противотранспорта в мембране эритроцита.

ПРЕСНОВОДНЫЕ ДВУСТВОРЧАТЫЕ МОЛЛЮСКИ КАК СОСТАВНОЙ КОМПОНЕНТ КОРМОВЫХ ДОБАВОК ДЛЯ ДОМАШНИХ ЖИВОТНЫХ

Шаплыгина Ю.Н., Курочкина Т.Ф.

ФГБОУ ВПО "Астраханский государственный университет"

shaplugina@yandex.ru

Энергия представляет собой один из основных показателей питательной ценности корма для животного организма. Для нормальной жизнедеятельности организму необходимо постоянное поступление энергии и комплекса питательных и биологически активных веществ. За счёт поступившей энергии обеспечиваются процессы обмена веществ, переваривания питательных веществ корма, поддержание температуры тела, работа внутренних органов, мышечная работа и образование продукции. Источником энергии для животного являются органические вещества корма.

По литературным данным [Калашников А.П., Фисинин В.И., Щеглов В.В., Клейменов Н.И., Первов Н.Г., 2003], объём потребляемого корма зависит от количества заключённой в нём обменной энергии: чем выше содержание энергии, тем меньше уровень потребляемого корма. Поэтому для нормального обеспечения организма животного всеми питательными веществами необходимо выдерживать определённое соотношение обменной энергии и протеина.

В ходе проведенных экспериментов по определению сырого веса, сухого веса, зольного остатка и калорийности мяса пресноводных моллюсков родов *Anadonta* и *Unio* установлены следующие характеристики:

- сырой вес мяса пресноводных моллюсков составил в среднем 70-90 г при длине раковины моллюсков 10-15 см и 9,5 - 13,8 г при длине раковины моллюсков 4-6 см;
- сухой вес пресноводных моллюсков - 17-20% от сырого веса - 15,6 и 1,63 г соответственно;
- зольный остаток - 7,3 и 0,79 г соответственно;
- калорийность сухого веса тела - 5,13 кал/мг;
- калорийность органического вещества - 5,57 кал/мг;
- тело пресноводных моллюсков содержит 77 и 82% воды соответственно;

Содержание золы в организме пресноводных моллюсков

увеличивается по мере роста животного, калорийность органического вещества с возрастом практически не меняется.

В мясе моллюсков содержится сбалансированный набор макро- и микроэлементов, в том числе истинных биоэлементов. Ткани моллюсков богаты калием, что оказывает благоприятное воздействие на здоровье живых организмов. Мясо беззубок содержит 61 % белка, 15 % углеводов и 7,7 % жира. Мясо перловиц состоит на 60% из белка, на 17% из углеводов и на 5% из жира. По калорийности они могут даже превосходить мясо многих рыб, как морских, так и пресноводных.

Нами была разработана серия биологически активных кормовых добавок на основе пресноводных моллюсков для таких пород животных, как:

- куры-несушки, утки, индюки (птицеводство);
- ондатра, нутрия (звероводство).

Разработанная нами серия биологически активных кормовых добавок для различных пород домашних животных может быть использована фермерами с целью повышения продуктивности и сохранности поголовья, снижения затрат корма на прирост, повышения качества продукции.

Из мяса моллюсков, прежде всего, приготавливалась мука. Технология приготовления муки из мяса пресноводных моллюсков такая же, как из рыб и мяса теплокровных животных. В лабораторных условиях нами использовался способ сушки в сушильном шкафу при температуре 40-50⁰С с целью сохранения питательных веществ. Для приготовления муки из мяса моллюска использовались крупные двустворчатые моллюски (беззубки, перловицы) длиной до 20 см.

Куры нуждаются в разнообразных кормах, содержащих белки, жиры, углеводы, минеральные вещества и витамины. Правильное кормление кур несушек в домашних условиях будет способствовать регулярному увеличению их веса, и давать больше яиц.

Являющаяся пищевым продуктом для кур-несушек, кормовая добавка с использованием крошки ракушек и мяса пресноводных моллюсков родов *Anadonta* и *Unio* как источник кальция, совместно с витаминной травяной муки на основе листьев и стеблей верблюжьей колючки, позволяет повысить продуктивность, качество продукции, снизить себестоимость выращивания птицы, за счет использования в их рационе выгодной и сбалансированной кормовой добавки.

Ондатра (*Ondatra zibethica* L.) относится к отряду грызунов, по строению тела и образу жизни близка к нашей водяной крысе (точнее, к водяной полевке). Она ведет земноводный образ жизни и тесно связана с

водоемом, где живет в течение всего года. Иногда она поедает лягушек, раков, рыбу (обычно снулю), крупных водных жуков, двустворчатых моллюсков, причем отдает предпочтение последним. Именно поэтому очень часто рыбаки и охотники находят в ондатровых домиках много раковин моллюсков.

Нами была разработана питательная композиция на основе пресноводных моллюсков родов *Anadonta* и *Unio* для пушных зверей. Задача предлагаемого изобретения - повышение сохранности, жизнеспособности пушных зверей, сохранности щенков, воспроизводства и качества пушнины.

Цель достигается, тем, что кормовая смесь состоит из мяса пресноводных моллюсков родов *Anadonta* и *Unio*, обезжиренного творога, поваренной соли, листьев и стеблей околородной и водной растительности (рогоза узколистного и широколистного, кувшинки белой, рдеста, сусака зонтичного), зерна, муки из раковины моллюска как источника кальция при следующем соотношении компонентов мас. %: мяса пресноводных моллюсков родов *Anadonta* и *Unio* - 7,4%; творога - 7,4%; листьев и стеблей околородной и водной растительности - 55%; зерна - 30%; поваренной соли - 0,1%; муки из раковины моллюска - 0,1% (суточный рацион на одного зверька).

Таким образом, разработанная серия биологически активных кормовых добавок для различных пород домашних животных может быть использована в сфере сельского хозяйства с целью повышения продуктивности и сохранности поголовья, снижения затрат корма на прирост, повышения качества продукции.

Литература

1. Андрощук П. Винегрет для ондатры // Приусадебное хозяйство. - 2002. - №2. - С.15-16.
2. Богданов В.Д., Дацун В.М., Ефимова М.В. Общие принципы переработки сырья и введение в технологии производства продуктов питания: Учебное пособие. - Петропавловск-Камчатский: КамчатГТУ. - 2007. - 213 с.
3. Бондаренко С.П. Содержание ондатры и шиншиллы / Автор-составитель С.П.Бондаренко. - М.: ООО «Издательство АСТ»; Донецк: «Сталкер». - 2002. - 223с.
4. Бондаренко С.П. Энциклопедия травоядных пушных животных. - М.: АСТ «Сталкер» . - 2003. - 409 с.
5. Калашников А.П., Фисинин В.И., Щеглов В.В., Клейменов Н.И., Первов Н.Г. и др. Нормы и рационы кормления сельскохозяйственных животных. - М.: Агропромиздат. - 2003. - 456 с.

ПРИМЕНЕНИЕ ТРАНСГЛУТМИНАЗЫ В ПРОИЗВОДСТВЕ СЪЕДОБНЫХ БИОПОЛИМЕРНЫХ УПАКОВОЧНЫХ ПЛЕНОК И ПОКРЫТИЙ

Шлейкин А. Г., Шаталов И. С., Шаталова А. С.

СПб НИУ ИТМО Институт холода и биотехнологий

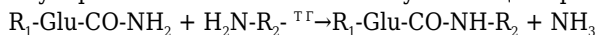
shataloff.iv@gmail.com

Ежегодно разные отрасли пищевой промышленности, в том числе молочная и соевая, перерабатывают тысячи тонн белок-содержащего сырья. При этом используются также белки, утилизация которых представляет трудности. Известно, в частности, что яичный желток находит большее применение в технологиях пищевых продуктов, чем яичный белок (овальбумин), в связи с чем наблюдается значительный избыток последнего. Это послужило предпосылками расширения сферы применения белков путём включения их в состав биodeградируемых и съедобных пленок с целью дальнейшего применения их в качестве упаковочных материалов для пищевых продуктов. Однако, несмотря на высокие барьерные свойства белковых материалов против различных газов, они показывают слабые механические свойства, для улучшения которых используются различные способы, основанные на сшивке полимерных цепей белка. Данная модификация может осуществляться как химическими агентами, так и с помощью ферментативных методов.

С помощью химической модификации добиваются увеличения пластичности пленки. К наиболее широко применяемым пластификаторам относятся различные полиолы (глицерол), олигосахариды и липиды (моноглицериды, фосфолипиды), которые, разрушая водородные связи между полимерными цепями, делают эти цепи более подвижными, в результате чего возрастает эластичность. Однако при этом происходит снижение барьерных характеристик пленки [5]; к тому же данные вещества значительно повышают гидрофильность материала и, как следствие, увеличивают его паропроницаемость. Были предприняты успешные попытки увеличения степени удлинения плёнок при разрыве с помощью этиленгликоля и формальдегида [9], однако из-за высокой токсичности этих соединений применение их в пищевой промышленности запрещено.

Наиболее перспективным подходом для модификации структуры белковых компонентов пленок является использование ферментативных

методов, и особое место среди них занимает применение транскламиназы (ТГ). ТГ (протеин-глутамин γ -глутамилтрансфераза, КФ 2.3.2.13) – распространённый в живой природе фермент, участвующий в жизненно важных биологических функциях [1]. ТГ катализирует реакции ацил-переноса между γ -карбоксамидной группой пептид-связанных остатков глутамина (ацильных доноров) и различными первичными аминами (ацил-акцепторов), в том числе ϵ -аминогруппой остатков лизина. Это сшивание может быть как внутри-, так и межмолекулярным, что в последнем случае приводит к увеличению молекулярной массы белковых молекул. Реакция протекает по схеме:



Получаемые в промышленных масштабах препараты микробной ТГ применяют в технологиях переработки молока, мяса и других видов пищевого сырья [7]. В зависимости от используемого белка в составе пленки, а также наличия таких композитных материалов как, например, хитозан, пектин и др., обработка ТГ давала различные результаты. Однако практически во всех случаях наблюдалось улучшение барьерных и механических характеристик плёнок, а также снижение прозрачности. Так, в случае использования концентрата сывороточного белка, соевого изолята (СИ) и их смесей в различных соотношениях наблюдалось снижение проницаемости как для кислорода, так и для водяного пара, однако удлинение при разрыве в этих условиях увеличивалось [8]. Паропроницаемость снижалась в некоторых случаях при использовании смеси желатина и казеина [3]. Снижение паропроницаемости, а также уплотнение полимерной структуры наблюдались и при обработке препаратом ТГ пленок, созданных на основе казеината натрия [2]. При использовании рыбьего желатина было отмечено снижение прозрачности и удлинения при разрыве, увеличение прочности и барьерных свойств по отношению к кислороду, в то время как на проницаемости для водяного пара обработка ТГ практически не сказалась [10].

В случаях применения в составе пленочного материала различных композитов обработка этим ферментом также приводит к улучшению некоторых характеристик получаемых материалов. Так, пектин-СИ пленки, полученные с использованием ТГ, показывают увеличение прочностных характеристик, но при этом падает эластичность плёнок [6]. Обработка ферментом хитозан-овальбуминовых пленок снижает их растворимость в воде; одновременно увеличиваются механическая прочность, барьерные свойства по отношению к газам и пару, а также снижается величина набухания [4].

На основании изложенного можно заключить, что ТГ является перспективным сшивающим агентом в технологии съедобных пленок, а полученные таким способом пленки могут служить экологичной альтернативой для существующих в настоящее время аналогов. Применение для производства плёнок белков, входящих в состав отходов производства, в свою очередь, способствует решению проблемы загрязнения окружающей среды.

Литература

1. Шлейкин А.Г., Данилов Н.П. Эволюционно-биологические особенности трансглутаминазы. Структура, физиологические функции, применение. «Журнал эволюционной биохимии и физиологии», 2011. Т. 47, № 1, С. 3 - 14.
2. Bruno M. et al. Engineering Properties of Edible Transglutaminase Cross-Linked Caseinate-Based Films // Food and Biopr. Tech., 2008. № 1 (4). pp. 393-404
3. Chambi H., Grosso C. Edible films produced with gelatin and casein cross-linked with transglutaminase // J. Food Res. Int., 2006. № 39 (4). pp. 458-466
4. Di Pierro P. et al. Transglutaminase-catalyzed preparation of chitosan-ovalbumin films // Enzyme and Microbial Technology, 2007. № 40 (3). pp. 437-441.
5. Hettiarachchy N. S. and Eswaranandam S. Edible Films and Coatings from Soybean and Other Protein Sources // Bailey's Industrial Oil and Fat Products, 2005. pp. 374-390.
6. Mariniello L et al. Preparation and mechanical properties of edible pectin-soy flour films obtained in the absence or presence of transglutaminase // J. of Biotech., 2003. № 102 (2). pp. 191-198.
7. Shleikin A.G., Krasnikova L.V., Danilov N.P. Substrate specificity of transglutaminase. Influence of transglutaminase on milk whey proteins cross-linking. In: Food technology operations. New Vistas. Monography, ed. W. Kopec, M. Korzeniowska, Wroclaw, 2009, 317 p.
8. Su G. et al. Formation of Edible Soybean Films // Food Technol. Biotechnol, 2007. № 45 (4) p. 381-388.
9. Wu Q. X. and Zhang L. N. Properties and structure of soy protein isolate-ethylene glycol sheets obtained by compression molding // Indust. Eng. Chem., 2001. № 40. pp. 1879-1883.
10. Yi J. B. et al. Influence of Transglutaminase-Induced Cross-Linking on Properties of Fish Gelatin Films // J. of Food Sci., 2006. № 71 (9). pp. E376-E383.

ТЕРМОГРАФИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ У КАРДИОХИРУРГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ

Шлыков В.В.

Национальный технический университет Украины

vvshlykov@mail.ru

Приведены данные термографических исследований у кардиохирургических больных, которые связывают распространение электрического возбуждения и механического сокращения мышц сердца с колебаниями температуры на поверхности миокарда в исследуемой области при гипотермии и гипертермии.

Введение

Метод инфракрасной термографии (ИКТ) имеет самостоятельную роль среди других информативных инструментальных методов диагностики [1] и позволяет реализовать бесконтактный контроль температуры сердца при операциях в условиях искусственного кровообращения (ИК). Термография позволяет уточнять локализацию функциональных изменений в миокарде, активность процесса и его распространение, характер изменений - воспаление или злокачественность [2]. Метод бесконтактного контроля температуры сердца помогает выявить взаимосвязь между электромеханическими характеристиками миокарда (по данным ЭКГ) и колебаниями температуры на поверхности миокарда (методом ИКТ).

Метод исследования

При применении метода бесконтактного контроля температуры сердца использован термограф FLIR i7 со спектральным диапазоном 8-14 мкм на базе не охлаждаемой матрицы размером 320 × 240 элементов и температурной чувствительностью 0.1 °С.

Наименьшая температура операционного поля регистрируется тепловизором в точке фокусировки Sp2 - 28,2 °С, а сравнительно высокая в точке Sp1 - 32,6 °С, т.е. на участках открытой поверхности миокарда разница температур может достигать 6 - 7 °С. Распространение электрического возбуждения и механического сокращения мышц сердца обуславливают колебания температуры на поверхности миокарда в исследуемых областях, которые имеют определенную периодическую закономерность изменения температуры от 28,1 °С в минимуме до 32,1 °С в максимуме. Вид операционного поля с тепловым портретом

миокарда представлен на рисунке 1.

Колебания температуры на поверхности миокарда в исследуемой области четко определяются при гипотермии и гипертермии в условиях ИК. Графическое изображение тепловых портретов миокарда вдоль области Ar1 - (28,1 ° C - 32,1 ° C) представлено на рисунке 2.

Выводы

Дистанционный контроль температуры является одним из главных факторов защиты от гипоксического поражения органов в случае исключения их из кровообращения при операциях на открытом сердце [3]. Подобный контроль температуры позволяет минимизировать время проведения ИК и обеспечить условия максимальной защиты миокарда во время операции.

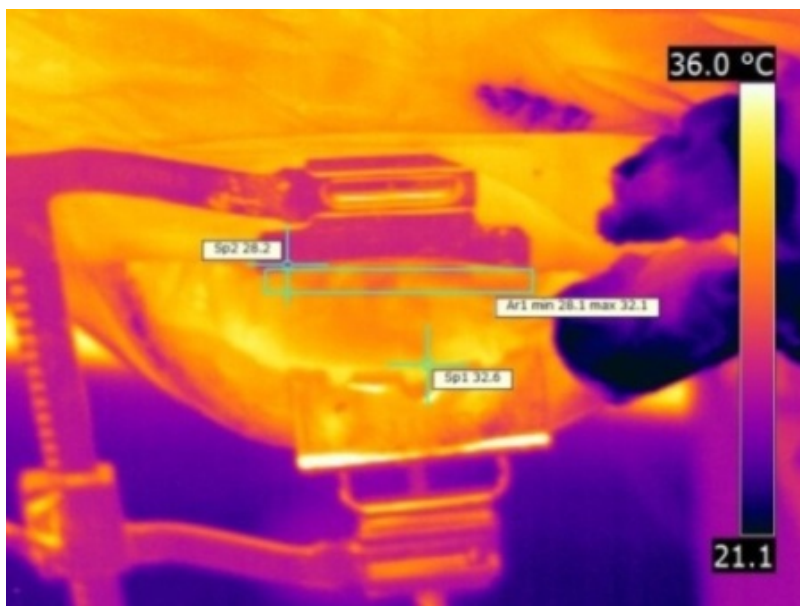


Рис. 1. Тепловой портрет миокарда

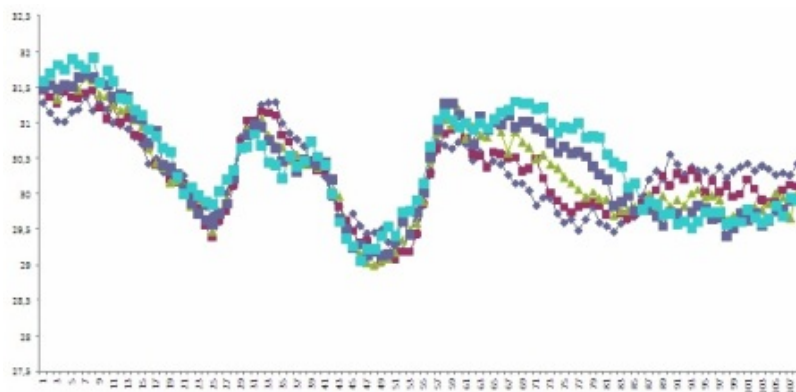


Рис. 2. Графическое изображение тепловых портретов миокарда

Литература

1. Найда С.А., Бурикина В.В. Обзор неинвазивных методов измерения глубинной температуры тела человека //Международная научно-практическая конференция "Современные проблемы и пути их решения в науке, транспорте, производстве и образовании 2011": Сборник научных трудов. – Одесса, 2011.
2. Kotovskiy V. Current status of the development and application of thermal imaging technology in medicine and industry //V. Kotovskiy, V. Fedorov, E. Venger, S. Voronov, V. Dunaevsky, E. Soloviev //Electronics and Nanotechnology: XXXI International Scientific Conference, 2011. – Kyiv. – Ukraine – P. 130.
3. Кнышов Г.В., Захарова В.П., Максименко В.Б. и др. Применение общей управляемой гипертермической перфузии при хирургическом лечении активного инфекционного эндокардита //Щорічник наукових праць Асоціації серцево-судинних хірургів України: Серцево-судинна хірургія. – 2011, Вип. 19. – С. 202-205.

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ЭРЕМОТЕЦЕВОГО МАСЛА

Шпичка А.И., Косматова Е.А., Семенова Е.Ф.

ФГБОУ ВПО «Пензенский государственный университет»

ana-shpichka@yandex.ru

Введение.

Одними из ценнейших продуктов, получаемых с использованием растительного сырья, являются эфирные масла. Но их производство связано с рядом факторов (сезонность, местность выращивания и др.), которые способны значительно влиять на их качество. В связи с этим возрастает интерес к новым источникам получения эфирного масла, которые позволяли бы избежать или снизить влияние неблагоприятного воздействия. Эту цель возможно достигнуть с применением биотехнологий, основанных на биосинтезе микроорганизмами летучих душистых веществ [1, 2]. Одними из перспективных продуцентов эфирного масла являются представители рода *Eremothecium* [1]. Нами было ранее показано [3-5], что эремотецевое масло по содержанию главных компонентов (гераниол, цитронеллол, нерол, β -фенилэтиловый спирт) близко к розовому маслу, которое является одним из самых дорогостоящих и высоко востребованных масел в мире. Целью данного исследования было проведение физико-химического анализа эфирного масла, получаемого из культуральной жидкости *Eremothecium*.

Материалы и методы.

Объектами изучения служили образцы эремотецевого масла, полученные методом трехкратной экстракции органическим растворителем (диэтиловым эфиром, гексаном) с последующим его удалением при помощи роторно-вакуумного испарителя культуральной жидкости штаммов *Eremothecium ashbyi* Guilliermond 1935 ВКМ F-124, ВКМ F-3009, ВКПМ F-36, ВКПМ F-6, ВКПМ F-340. Микроорганизмы поддерживали на скошенной агаризованной среде, содержащей соевую муку (4%) и сахарозу (1%), сусло-агаре, агаре Сабуро, картофельно-глюкозном агаре, мясо-пептонном агаре, среде Чапека, питательном агаре. Посевной материал культивировали на жидких питательных средах различного состава: соево-сахарозной и глюкозо-пептонной - при непрерывном встряхивании в течение 24...72 часов. Ферментацию осуществляли на соево-сахарозной жидкой питательной среде в течение 27...64 часов. Объем инокулята - от 5 до 10

% от объема засеваемой среды.

Определение показателя преломления эромотецевого масла осуществлялось методом рефрактометрии при помощи рефрактометра Аббе типа ИРФ-454. Кислотное число анализируемых образцов масла, растворенных в 95%-ном этиловом спирте, нейтрализованном по фенолфталеину, определялось методом кислотно-основного титрования (вариант нейтрализации), где в качестве титранта использовался 0,1 Н раствор NaOH. Определение компонентного состава эфирного масла проводилось методом газожидкостной хроматографии при помощи газового хроматографа PerkinElmer Clarus 680. Условия хроматографирования были следующими: длина колонки 60 м; внутренний диаметр колонки 0,32 мм; наполнитель колонки - INNOWAX (полярная фаза); газ-носитель - гелий; скорость потока - 1 мл/мин.; расщепление потока - 1:10; объем пробы - 0,5 мкл; температура впрыскивания пробы - 250°C; температура детектирования - 250°C; тип детектора - пламенно-ионизационный; продолжительность 40 мин.

Результаты и обсуждение.

Как было сказано выше, ближайшим «растительным» аналогом эромотецевого масла является розовое масло, поэтому целесообразно при определении и разработке стандартных показателей данного эфирного масла использовать в качестве эталона сравнения показатели, регламентируемые нормативной документацией на масло из цветков розы. В настоящий момент на территории Российской Федерации действуют следующие стандарты, в которых указаны требования, предъявляемые к розовому маслу: ОСТ 10-60-87 «Розовое масло» и ГОСТ Р 53593-2009 РФ «Продукция и сырье эфиромасличное, травянистое и цветочное. Технические условия». Кроме того, в связи со вступлением России в ВТО и мировой ценностью розового масла стоит также принять во внимание показатели, регламентируемые международным стандартом ISO 9842:2003 «Rose Oil».

Одним из важных и обязательных физико-химических показателей для всех масел (паровых и экстрактовых) является показатель преломления (рефракция), который косвенно подтверждает подлинность масла. Высокая рефракция указывает на обогащенность эфирного масла кислородсодержащими соединениями (спирты, простые и сложные эфиры, кетоны, альдегиды). Показатель преломления в исследуемых образцах эромотецевого масла варьирует в пределах 1,4630...1,4680, что соответствует международному стандарту (1,4520...1,4700), но не согласуется с требованиями российских стандартов (1,4800...1,5200). Данное несоответствие эромотецевого масла розовому маслу,

регламентируемому ГОСТом и ОСТом, обусловлено более низким процентным содержанием в его составе, кислородсодержащих веществ, в том числе β -фенилэтилового спирта, что ведет к снижению рефракции и косвенно подтверждает более высокое качество по данному показателю эрмотецевого масла.

Кроме того, нами было определено кислотное число анализируемых образцов масла, показывающее количество гидроксида калия (КОН, в мг), которое идет на нейтрализацию свободных кислот, содержащихся в 1 г эфирного масла. Увеличение данного показателя происходит в связи с окислением монотерпенов и разложением эфиров в процессе кислотного гидролиза. Для эрмотецевого масла значение кислотного числа варьирует в пределах 2,99...3,93, что соответствует требованиям российских стандартов (не более 7). Данный показатель не регламентируется ISO.

Что касается компонентного состава, то в российских и международном стандартах используются разные показатели. По ГОСТу и ОСТу регламентируется общая массовая доля спиртов (75-88%), массовая доля монотерпеновых спиртов (не менее 8%) и массовая доля стеароптенов (2-7%), по ISO же методом газожидкостной хроматографии определяется соотношение показательных и характерных компонентов (этанол, цитронеллол, гераниол, нерол, фенилэтанол, гептадекан, нонадекан, генеайкозан). Кроме того, в компонентном составе розового масла, соответствующего российским стандартам, значительно более высокое содержание β -фенилэтилового спирта, по сравнению с маслом, отвечающим международному стандарту. По количеству этого компонента в составе эрмотецевого масла занимает промежуточное положение между маслами указанных выше стандартов. Но на наш взгляд следует в качестве эталона использовать именно данные ISO, так как эфирное масло, регламентируемое международным стандартом, отличается более высоким качеством за счет сниженного содержания фенилэтанола. Относительно монотерпеновых спиртов, то их доля в эрмотецевом масле увеличена за счет снижения доли фенилэтилового спирта и соответствует требованиям российских стандартов. Процентное содержание отдельных монотерпеноидов в эрмотецевом и розовом, регламентируемом ISO, маслах представлены в таблице 1. Как видно из представленных данных, эрмотецевоое масло имеет более низкое значение содержания цитронеллола и более высокое – гераниола и по этим показателям не соответствует розовому маслу, отвечающему международному стандарту. Но хотелось бы заметить, что гераниол является предшественником цитронеллола, и при корректировке

параметров биотехнологического процесса биосинтеза продуцентом эфирного масла возможно достижение указанных показателей по розовому маслу.

Таблица 1. Процентное содержание монотерпеновых спиртов в эремотецевом и розовом маслах

Компонент	Эремотецевое масло	Розовое масло (ISO)
Цитронеллол	5,20...16,62%	20,00...49,00 %
Гераниол	36,20...67,59%	8,00...29%
Нерол	1,34...14,30%	3,00...12%

Выводы.

В ходе проведенного исследования по анализу физико-химических свойств эфирного масла, синтезируемого представителями рода *Eremothecium*, нами было выявлено, что показатель преломления и кислотное число имели сниженные значения по сравнению с российскими стандартами на розовое масло, что указывает на более низкое содержание в эремотецевом масле кислородсодержащих веществ, в том числе фенилэтилового спирта. После проведения анализа компонентного состава газохроматографическим методом данное предположение было подтверждено. Доля монотерпеновых спиртов в эремотецевом масле увеличена за счет снижения доли фенилэтанола. Эфирное масло, продуцируемое *Eremothecium*, имеет более низкое значение содержания цитронеллола и более высокое - гераниола по сравнению с розовым маслом, регламентируемым международным стандартом. Но хотелось бы заметить, что гераниол является предшественником цитронеллола, и при корректировке параметров биотехнологического процесса получения эремотецевого масла возможно достижение требуемых показателей по розовому маслу.

Литература

1. Семенова, Е.Ф. Мицелиальные грибы - перспективные культуры для биотехнологического получения ароматических продуктов / Семенова Е.Ф., Бугорский П.С.// V симпозиум «Основные направления научных исследований по интенсификации эфиромасличного производства» (тезисы докладов). Кишинев, 1990. - С. 88-89.
2. Семенова, Е.Ф. Некоторые результаты биотехнологии ароматических продуктов / Семенова Е.Ф., Богданов Н.И. / Сб. трудов «Инновационные технологии и продукты». Новосибирск, 2000. - Вып. 4. - С. 9 - 13.
3. Semenova, E.F. About explanation of elaboration of essential

- Eremothecium oil biotechnology/ Semenova E.F., Shpichka A.I., Moiseeva I.Ya.// International journal of experimental education, 2012.-№3.-С. 35-36.
4. Semenova, E.F. Some pharmbiotechnological characteristics of Eremothecium, producer of riboflavin and essential oil/ Semenova E.F., Shpichka A.I.// "International journal of applied and fundamental researches", 2012.-№1.- P. 170-172.
5. Семенова, Е.Ф. К обоснованию разработки биотехнологии эремотецевого эфирного масла / Семенова Е.Ф., Шпичка А.И., Моисеева И.Я.// Сборник материалов Международной конференции «Биология - наука XXI века», 24 мая 2012 года. - Москва: РЭУ им. Г.В.Плеханова, Общество биотехнологов России, 2012. - С. 825-826.

**ПРЕПАРАТЫ НА ОСНОВЕ МИКРОБОВ-АНТАГОНИСТОВ
ВОЗБУДИТЕЛЕЙ БОЛЕЗНЕЙ РАСТЕНИЙ КАК ФАКТОР
БИОЛОГИЗАЦИИ ЗАЩИТЫ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ**

Шутко А.П., Мищерин А.М., Караченцева Т.В.

ФГБОУ ВПО Ставропольский государственный аграрный университет

schutko.an@yandex.ru

Составной частью стратегии защиты растений является разработка биологического метода, основанного на сохранении и насыщении биоценозов антагонистически активными в отношении фитопатогенов микроорганизмами. Концепция микробиологической защиты растений от болезней базируется на представлении о растении как основе агробиоценоза. Экологические связи растения, как с фитопатогенными микроорганизмами, так и с полезным микробным сообществом, сложны и многообразны. В связи с этим главная задача защиты растений от возбудителей болезней – разработка биотехнологий восстановления и активации природных регуляторных механизмов в агробиоценозах (Новикова, и др., 2003).

Для микробиологической защиты растений от фитопатогенов используют два способа. Первый – создание условий для массового спонтанного развития микроорганизмов (внесение органических и органо-минеральных удобрений и применение оптимальных агротехнических приемов), предпосылкой которого является способность их спорангий сохраняться в недействительном, но жизнеспособном состоянии в течение длительного времени. Второй способ – искусственное насыщение микробиоты штаммами микробов-антагонистов (использование различных биопрепаратов) (Новикова, 2005).

Биологическая защита растений – это целенаправленное использование микроорганизмов и продуктов их жизнедеятельности для снижения ущерба, причиняемыми вредными организмами. Данное направление в последние годы получает распространение во многих странах. По данным А.В. Фокина (2010), достигнутый уровень биологизации растениеводства варьирует в отдельных странах от 1,5-2,0% (США) до 9-10% (Швеция). По предварительным данным Международной организации по биологической борьбе с вредными животными и растениями «IOBC-Global», доля биологической защиты в

международном масштабе к 2050 году достигнет 35-40%.

В мире официально зарегистрированы и применяются 30 природных биологически активных веществ (в России - 3), 45 (3) феромонов, 60 (12) бакуловирусов, бактерий, грибов простейших, нематод, 40 (27) видов членистоногих для контроля вредителей (Фокин, 2010). При этом О.В. Бизюкова (2012) и М.В. Штерншис (2012), отмечают, что начало развитию биотехнологии микробных средств защиты растений было положено еще в XIX веке в работах выдающегося русского ученого И.И. Мечникова, который первый в мире создал биологический препарат на основе выделенного им энтомопатогенного гриба *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sor. Приоритет России в биотехнологии производства микробиологических средств защиты растений признается современными зарубежными учеными (Lord, 2005).

По данным Д.Н. Говорова, А.В. Живых, М.Ю. Проскуракова (2012), в филиалах ФГБУ «Россельхозцентр» в 2011 году производство энтомофагов составило 6058,6 млн. экз., биопрепаратов (Планриз, Псевдобактерин, Алирин-Б, Глиокладин и др.) - 576,6 т, причем основным производителем биопрепаратов является Ставропольский край (270,7 т). Производство Планриза составило 203 т, Псевдобактерина - 246 т, Алирина-Б - 42 т, Глиокладина - 11,7 т. Обработки биопестицидами в 2011 г. в Российской Федерации проведены на площади 1075,7 тыс. га. Пять лет назад биометод использовался на 823 тыс. га (Монастырский, 2007).

Наиболее широко для защиты зерновых культур от болезней применяются препараты на основе грибов рр. *Trichoderma*, *Penicillium*, актиномицетов р. *Streptomyces*, живых культур и продуктов жизнедеятельности бактерий родов *Bacillus* и *Pseudomonas* (Санин и др., 2012).

Бактерии рода *Pseudomonas* относятся к ризосферным бактериям PGPR (от Plant Growth-Promotion Rhizobacteria). Механизм действия этих микроорганизмов на фитопатогены включает конкуренцию за источник питания, эффективную колонизацию ризосферы, синтез антибиотических и рострегулирующих веществ (Минаева, Акимова, Семенов, 2008; Benizri, Baudon, Guckert, 2001; Weller, 2007).

В Институте биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрябина разработан биопрепарат Псевдобактерин-2, действующим началом которого являются живые бактериальные клетки штамма *Pseudomonas aureofaciens*, колонизирующие корни и побеги растений и синтезирующие ряд метаболитов, подавляющих рост фитопатогенов, прежде всего антибиотики феназинового типа: феназин-1-карбоновую

кислоту, 2-оксифеназин-1-карбоновую кислоту и 2-оксифеназин (Боронин, Кочетков, 2000).

Vacillus subtilis В-10 ВИЗР и *Streptomyces felleus*, являющиеся продуцентами биопрепаратов Алирин-В и Алирин-С, предназначенных для защиты растений от микозов, обладают выраженной фиторегуляторной активностью (Новикова и др., 1995).

Литературные данные о влиянии биопрепаратов Алирин, Бактофит, Псевдобактерин-2 на возбудителей болезней зерновых культур, в том числе озимой пшеницы, очень немногочисленны (Вялых, 1994; Васецкая и др., 1995; Меснянкин и др., 1999; Гаврилов, Бойко, 2001; Жалиева, 2001; Коробов, Коробова, 2007; Санин и др., 2012).

В 2011-2012 гг. в условиях опытной станции Ставропольского ГАУ на посевах озимой пшеницы сорта Петровчанка были проведены исследования биологической эффективности ранневесеннего опрыскивания посевов озимой пшеницы биопрепаратами Алирин-Б и Псевдобактерин-2 в борьбе с корневыми гнилями озимой пшеницы.

Опытная станция Ставропольского ГАУ расположена в зоне неустойчивого увлажнения на участке, почва которого представляет собой чернозем выщелоченный мощный малогумусный тяжелосуглинистый на лессовидных суглинках.

Опыты закладывали на естественном инфекционном фоне (предшественник - озимая пшеница), площадь делянки - 10 м² в трехкратной повторности. Обработка почвы - общепринятая под культуру. Посев в оптимальные для агроклиматической зоны сроки. Норма высева 4-5 млн. всхожих зерен на гектар. Глубина заделки семян - 5-6 см. Способ посева - рядовой с междурядьями 15 см.

Норма расхода препаратов: Альто Супер 330 КЭ (0,5 л/га), Феразим 500 КС (0,5 кг/га), Алирин Б, Ж (2,0 л/га), Псевдобактерин-2, Ж (2,0 л/га). Норма расхода рабочей жидкости - 300 л/га.

Исследования показали, что биологическая эффективность биопрепаратов в отношении корневых гнилей озимой пшеницы при применении их в фазу конец-кущения-начало трубкования превышает показатели химических средств защиты растений: Альто Супер 330 КЭ (0,5 л/га) и Феразим 500 КС (0,5 кг/га), в 1,5 раза (табл.).

Причем погодные условия вегетационного периода (избыточное увлажнение весной 2011 г. и дефицит влаги в 2012 г.) оказывали непосредственное влияние как на распространенность и степень развития болезней, так и на эффективность препаратов. Установлено, что погодные условия в меньшей степени оказывают влияние на эффективность химических средств защиты растений и в значительной

определяют данный показатель у биологических.

Таблица 1. Влияние ранневесеннего опрыскивания биологическими и химическими средствами защиты растений на пораженность растений озимой пшеницы корневыми гнилями (фаза колошения-цветения)

Вариант	2011 г.		2012 г.		Среднее за 2011-2012 гг.	
	Распространенность, %	Степень развития болезни, %	Распространенность, %	Степень развития болезни, %	Распространенность, %	Степень развития болезни, %
Альто Супер, КЭ (0,5 л/га)	74,1	21,4	60,3	16,8	67,2	19,1
Феразим, КС (0,5 кг/га)	81,3	23,9	63,6	17,5	72,5	20,7
Алирин-Б, Ж (2,0 л/га)	65,3	15,1	41,9	15,3	53,6	15,2
Псевдобактерин-2, Ж (2,0 л/га)	60,2	13,8	52,5	14,3	56,4	14,1
Контроль (без обработки)	98,4	36,5	84,4	26,9	91,4	31,7
НСР ₀₅	13,1	11,3	8,6	2,6		

Ранневесенняя обработка фунгицидами и биопрепаратами также положительно сказалась на урожайности озимой пшеницы. Таким образом, результаты исследований свидетельствуют о комплексном характере действия штаммов микробов-антагонистов на растения и позволяют более полно использовать их в системах биологической защиты растений озимой пшеницы.

Литература

1. Бизюкова, О.В. Обзор мирового рынка микробиопрепаратов / О.В. Бизюкова // Защита и карантин растений. - 2012. - № 3. - С. 9-12.
2. Боронин, А.М. Биологические препараты на основе псевдомонад / А.М. Боронин, В.В. Кочетков // Агро XXI. - 2000. - № 4. - С. 14-15.
3. Васецкая, М.Н. Использование биопрепаратов и биологически активных веществ в защите зерновых культур от грибных болезней (в условиях ЦЧО России) / М.Н. Васецкая, В.П. Крашенко, В.П. Голобоков // Производство экологически безопасной продукции растениеводства: Региональные рекомендации. - Вып. 1. - Пушкино, 1995. - С. 136-139.
4. Вялых, А.К. Снижение распространения болезней хлебных злаков при использовании биопрепаратов / А.К. Вялых // Экологически

- безопасные и беспестицидные технологии получения растениеводческой продукции. Ч. II. – Материалы Всероссийского научно-производственного совещания (Краснодар, 1994). – Пушино, 1994. – С. 13-14.
5. Гаврилов А.А. Биопрепараты для защиты озимой пшеницы от болезней / А.А. Гаврилов, А.П. Бойко // Защита и карантин растений. – 2001. – № 1. – С. 29.
 6. Говоров, Д.Н. Производство биопрепаратов и энтомофагов в системе ФГБУ «Россельхозцентр» в 2011 г. / Д.Н. Говоров, А.В. Живых, М.Ю. Проскуракова // Вестник защиты растений. – 2012. – № 3. – С. 18-20.
 7. Жалиева, Л.Д. Видовой состав возбудителей корневых и прикорневых гнилей озимой пшеницы / Л.Д. Жалиева // Микология и фитопатология. – 2001. – Т. 35. – Вып. 6. – С. 52-57.
 8. Коробов, В.А. Применение бактофита в качестве антидепрессанта / В.А. Коробов, Л.Н. Коробова // Защита и карантин растений. – 2007. – № 3. – С. 41-42
 9. Меснянкин, А.С. Биопрепараты в земледелии / А.С. Меснянкин, В.И. Лазарев, М.Н. Казначеев // Земледелие. – 1999. – № 1. – С. 15-16
 10. Минаева, О.М. Антагонистическое действие на фитопатогенные грибы и стимулирующее влияние на рост и развитие растений формальдегидутилизирующих бактерий *Pseudomonas* sp. В-6798 / О.М. Минаева, Е.Е. Акимова, С.Ю. Семенов // Вестник Томского государственного университета. – 2008. – № 2. – С. 28-42.
 11. Монастырский, О.А. Биологизация защиты растений: отставание России становится все более очевидным / О.А. Монастырский // Защита и карантин растений. – 2007. – № 3. – С. 20-21
 12. Новикова, И.И. Биологическая эффективность новых микробиологических препаратов Алиринов Б и С для защиты растений от болезней в разных природно-климатических зонах. II. Биологическая эффективность Алиринов в отношении болезней зерновых, плодовых, ягодных, цветочных культур и винограда / И.И. Новикова, А.И. Литвиненко, И.В. Бойкова, В.А. Ярошенко, Г.В. Калька // Микология и фитопатология. – 2003. – Т. 27, вып. 1. – С. 99-103.
 13. Новикова, И.И. Полифункциональные биопрепараты для защиты растений от болезней / И.И. Новикова // Защита и карантин растений. – 2005. – № 2. – С. 22-24.
 14. Санин, С.С. Эффективность биопестицидов и регуляторов роста растений в защите пшеницы от болезней / С.С. Санин, Л.Н. Назарова, Н.П. Неклеса, Т. М. Полякова, С. Гудвин // Защита и карантин

- растений. - 2012. - № 3. - С. 16-18.
15. Фокин, А.В. Биологизация защиты растений - процесс циклический? / А.В. Фокин // Защита и карантин растений. - 2010. - № 3. - С. 25.
 16. Штерншис, М.В. Тенденции развития биотехнологии микробных средств защиты растений в России / М.В. Штерншис // Вестник Томского государственного университета. - Биология. - 2012. - № 2 (18). - С. 92-100.
 17. Benizri E., Baudon E., Guckert A. Root colonization by inoculated plant growth-promoting rhizobacteria // Biocontrol science and technology. 2001. № 11. P. 557-574.
 18. Lord J.C. From Metschnikoff to Monsanto and beyond: The path of microbial control // J. Invertebrate Pathology. 2005/ Vol. 89. P. 19-29.
 19. Weller D.M. Pseudomonas biocontrol agents of soilborne pathogens: looking back over 30 years. Phytopathology. 2007. Vol. 97. P. 250-256.

МОДЕЛИРОВАНИЕ ПАРАМЕТРОВ КОЛЕБАТЕЛЬНЫХ СПЕКТРОВ ПОЛИЦИКЛИЧЕСКИХ МОЛЕКУЛ ДИОКСИНОВОГО РЯДА

Елькин М.Д., Джалмухамбетова Е.А., Нуржанова Г.Б., Гречухина О.Н.

Саратовский государственный технический университет,
Астраханский государственный университет

nurzhanovagb@mail.ru

Экологическая обстановка в низовьях Волги непрерывно ухудшается. Бесконтрольные сбросы сточных вод предприятиями и очистными сооружениями, применяющими хлорирование воды, привели к накоплению хлорорганических соединений, в том числе и полихлорзамещенных диоксинов, в бассейне Каспия. В настоящее время для определения содержания этой группы соединений в окружающей среде применяют хромато-масс-спектрометрию и анализ с помощью биотестов. Альтернативный вариант исследования - инфракрасная (ИК) спектроскопия. Данный метод основан на уникальности набора частот колебаний молекулы идентифицируемого соединения.

Под диоксинами понимают достаточно большую группу веществ и их полихлорзамещенных с похожими токсическими свойствами. Базовыми соединениями являются дибензо-*n*-диоксин и дибензофуран (рис.1). Всего существуют 75 различных полихлорированных дибензо-*n*-диоксинов и 135 полихлорированных дибензофуранов, отличающихся количеством и местом присоединения атомов хлора. Из них наиболее токсичными являются 17 изомеров. В лабораторных условиях крайне сложно получить соединение, у которого заместитель будет находиться в заданном положении. Обычно экспериментальный спектр представляет собой суперпозицию колебаний различных изомеров, поэтому его крайне сложно интерпретировать. А при анализе исследуемых образцов на наличие экотоксикантов важно знать, какое вещество присутствует в пробе, из-за различия их по степени токсичности.

Получить модельный спектр каждого изомера в отдельности позволяют методы квантовой механики, в частности, одни из наиболее популярных, методы функционала плотности (DFT). Они описывают систему не волновой функцией, а функцией электронной плотности, учитывающей вклад всех электронов системы. Благодаря этому методы DFT обладают надежной предсказательной способностью и по

вычислительной эффективности являются наиболее предпочтительными.

Данная работа посвящена теоретическому исследованию колебательной динамики и построению модельных спектров дибензо-*n*-диоксина, дибензофурана и их окто- и тетрахлорзамещенных.

Моделирование колебательных состояний осуществлялась в предположении плоской конфигурации соединений (симметрии D_{2h} для дибензо-*n*-диоксина, C_{2v} для дибензофурана) методом DFT/B3LYP/6-311G**[1]. Модельные спектры базовых соединений и их сравнение с имеющимися экспериментальными данными представлены на рисунках 2 и 3. Отметим, что выбор базиса расчета на оценку геометрических параметров фенильных колец в дибензоциклах и их полихлорированных аналогах принципиального значения не имеет. Учет поляризационных и диффузионных эффектов атомного базиса не сказывается и на интерпретации колебательных состояний.

Рассмотрим влияние заместителя на спектры базовых соединений. Полосы в диапазоне $1400 - 1500 \text{ см}^{-1}$, интерпретируемые как деформационные колебания связей С-Н, проявляются в спектрах как диоксина, так и его полихлорзамещенных, но существенно отличаются по интенсивности для различных соединений. Также касается диапазона $1300 - 1400 \text{ см}^{-1}$, которые интерпретированы как колебания фрагментов фенольных циклов, а в отдельных таутомерах как колебания мостика С-О.

Полосы в диапазоне $1100 - 1200 \text{ см}^{-1}$ в спектре дибензофурана интерпретированы как деформационные колебания связей С-Н. Это характерно для его хлорзамещенных. То же самое касается и полос в диапазоне $1000 - 1100 \text{ см}^{-1}$. А в диапазон $900 - 1000 \text{ см}^{-1}$, согласно модельным расчетам, попадает валентное колебание связи С-Cl. При этом интенсивность полос существенно зависит от рассматриваемого соединения. Этот факт можно использовать для спектральной идентификации, т.к. располагающиеся в этом диапазоне неплоские деформационные колебания связей С-Н имеют крайне низкую интенсивность.

Заметные по интенсивности в спектрах окто- и тетрахлордибензофурана полосы в диапазоне $800 - 900 \text{ см}^{-1}$ интерпретированы как валентные колебания связей С-Cl. Плоские деформационные колебания связей С-Cl располагаются в диапазоне ниже 300 см^{-1} . Их интенсивность в ИК спектрах оценивается как слабая, однако данная область идентифицирует наличие указанных молекулярных фрагментов.

Заклучение. Результаты проведенного вычислительного эксперимента по моделированию дибензо-*p*-диоксина и дибензофурана и ряда их полихлорзамещенных дают основание утверждать, что методы функционала плотности позволяют осуществлять предсказательные расчеты геометрической структуры и колебательных состояний соединений, содержащих исследуемые молекулярные фрагменты.

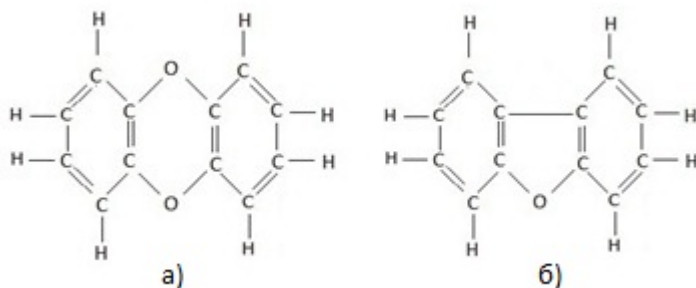


Рис. 1. Структурные формулы: а) дибензо-*p*-диоксин; б) дибензофуран.

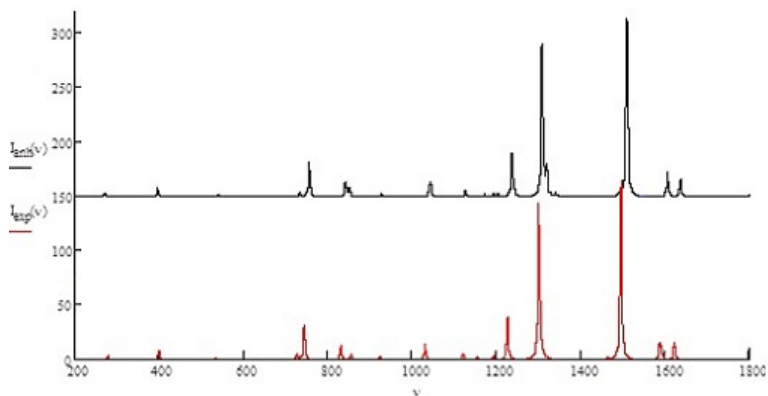


Рис. 2. Модельные спектры дибензо-*p*-диоксина: верхний - в ангармоническом приближении; нижний - по экспериментальным данным

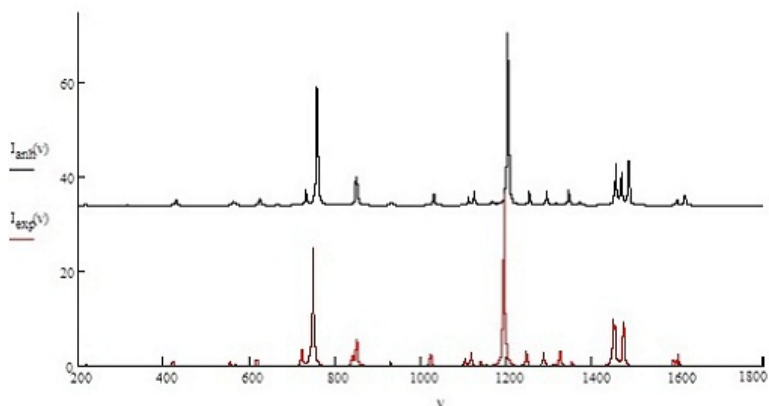


Рис. 3. Модельные спектры дибензофурана: верхний - в ангармоническом приближении; нижний - по экспериментальным данным.

Литература

1. Gaussian 03. Revision B.03. Frisch M.J. [et al.]. - Pittsburgh: Gaussian, Inc., 2003.
2. Элькин П.М., Эрман М.А., Пулин О.В. Структурно-динамические модели и ангармонический анализ колебательных состояний полихлорзамещенных дибензо-*n*-диоксинов. // Журнал прикладной спектроскопии. 2007. Т. 74, №1. С. 21-24.
3. Джалмухамбетова Е.А., Элькин Л.М. Структурно-динамические модели и колебательные спектры дибензогетероциклов. // Вестник Саратовского государственного технического университета. 2007. №2 (2). С. 7-12.

**ВЛИЯНИЕ ЭКСТРАКТА ЧЕРНОГО ТМИНА, ШАЛФЕЯ И
КУЛЬТУРАЛЬНОЙ ЖИДКОСТИ TRICHODERMA НА НЕКОТОРЫЕ
ПОКАЗАТЕЛИ РАСТЕНИЙ IN VIVO**

Эльшафей С.М.А, Мухаметзянова А.М., Абдельрахман А.А.,
Тухбатова Р.И., Иванова Е.В., Акинина Е.А., Воронкова Ю.Е., Букуру Л.С.,
Алимова Ф.К.

Агрохимия, Факультет сельского хозяйства, Университет Минья,
г.Эль-Минья, Египет,

Кафедра биохимии, институт фундаментальной медицины и биологии,
Казанский (Приволжский) федеральный университет, г. Казань, Россия.

alsoumsmail@mail.ru

Известно, что препараты на основе натуральных веществ с конца XX века занимают все большее место в разработке современных инновационных технологий не только в области растениеводства и животноводства, но и в медицине и природоохранной сфере [1]. В настоящее время регуляция биологических процессов с помощью пестицидов приводит к деградации почв: почвы в питомниках значительно отличаются в худшую сторону по физическим, агрохимическим и биологическим свойствам от почв под лесом, находящихся рядом с питомниками [2]. В связи с этим, важной задачей является разработка биопрепаратов для увеличения роста и продуктивности растений без ущерба для окружающей среды. Поэтому целью настоящей работы является изучение влияния обработки семян кукурузы перед посадкой с водным экстрактом черного тмина, шалфея и культуральной жидкости *Trichoderma harzianum*1 на рост и содержание хлорофилла растительного листа. Исследуемые сорта кукурузы (Поволжский 188 и Краснодарский 194) обрабатывали водным экстрактом черного тмина, шалфея, культуральной жидкостью *Trichoderma harzianum* 1, средой Чапека и водой. Обработанные семена положили на влажную фильтровальную бумагу в чашки Петри и инкубировали семена при 28⁰С в течение 48 часов. После инкубации прорастающих семян, посадили их в горшки и поставили в специальную камеру при 37⁰С. Через 14 дней после посадки все растения собрали и измерили длину корней, проростков и содержание хлорофилла листьев. В результате было выявлено, что обработка семян кукурузы экстрактом шалфея, черного тмина, культуральной жидкостью (КЖ) *Trichoderma harzianum* 1,

полученной на жидкой картофеле-глюкозной (КГ) среде и жидкой среде Чапека до посадки, значительно ($P \leq 0.05$) увеличивает длину корней на 68, 76, 69 и 59 % и увеличивает высоту проростков на 21, 36, 23 и 25 % соответственно по сравнению с контролем у сорта Поволжский 188. Данные по сорту Краснодарский 194 не значительно ($P \leq 0.05$) отличаются от данных сорта Поволжский 188. Содержание хлорофилла в листьях было увеличено на 33, 40, 39 и 42 % соответственно по сравнению с контролем у сорта Поволжский 188, семена были обработаны выше приведенным способом. Результаты нашего исследования доказывают что, обработка семян кукурузы экстрактом черного тмина, шалфея и КЖ *Trichoderma* увеличивает рост и содержание хлорофилла в листьях растений, что в свою очередь приводит к повышению интенсивности фотосинтеза, а значит, и к повышению производства. Поэтому мы рекомендуем использовать данный тип обработки в области сельского хозяйства для увеличения продуктивности кукурузы без ущерба для окружающей среды.

Литература

1. Воронина, Л.П. Оценка биологической активности промышленных гуминовых препаратов / Л.П. Воронина, О.С. Якименко, В.А. Терехова // АГРОХИМИЯ, 2012, № 6, с 50-57.
2. Гродницкая, И.Д. Использование микромикетов *Trichoderma* в биоремедиации почв лесопитомников / И.Д. Гродницкая, Н.Д. Сорокин // Известия РАН. Серия биологическая. 2006. № 3. С.1-5.

ЭКЗОГЕННАЯ РЕГУЛЯЦИЯ РОСТОВЫХ И СИНТЕТИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ СОРТА ФОРТУНА

Яблонская Е.К.

ФГБОУ ВПО Кубанский Государственный Аграрный Университет,
г.Краснодар

yablonskay@mail.ru

Одним из перспективных направлений сельскохозяйственной биотехнологии является использование биологически активных веществ, позволяющих одновременно повысить как продуктивность, так и адаптационную устойчивость растений. К таким соединениям относятся регуляторы роста фуrolан и метионин, повышающие устойчивость растений к поражению фитопатогенами.

Цель настоящей работы - изучить влияние препаратов фуrolан, метионин и их композиции на ростовые и синтетические процессы озимой пшеницы сорта Фортуна.

Исследования проводили на опытных делянках КФХ ООО «Кубань» Павловского района Краснодарского края в условиях засушливого лета 2012 г. Препараты применяли в виде водных растворов путем опрыскивания посевов в период начала выхода в трубку. Норма внесения каждого препарата - 5 г/га.

Установлено, что метионин и его композиция с фуrolаном в условиях засухи достоверно увеличивают высоту растений пшеницы в фазу восковой спелости на 8,9 и 12,8 %, соответственно, в сравнении с контролем (46,1 см), что обусловлено большей длиной верхнего междоузлия на 20,2 - 24,7 % (в контроле - 17,8 см). Фуrolан достоверно уменьшал длину 1 - 3 междоузлий на 28,0 %, 31,5 % и 20,2 %, соответственно, в сравнении с контролем (2,5 см - 7,3 см - 9,9 см), что подтверждает ранее установленную для него ретардантную активность. Содержание ИУК в солоmine растений в варианте с фуrolаном превысило контроль в 3,7 раза, с метионином - в 4,8 раза и их композиции - в 3,9 раза в сравнении с контролем, что согласуется с более интенсивными ростовыми и синтетическими процессами в условиях засухи. Фуrolан и его композиция с метионином повышают содержание суммы хлорофилла (а+б) в листьях в фазу молочной спелости зерна на 32,5 и 29,7 %, при этом увеличивается эффективность первичных процессов фотосинтеза (К эпф= 1,13 и 1,28, соответственно,

против 1,44 в контроле), что обеспечивает более активное накопление пластических веществ в колосе и способствует увеличению массы зерна в колосе на 10,8 - 13,5 % в сравнении с контролем.

Таким образом, обработка вегетирующих растений озимой пшеницы сорта Фортуна препаратом фуrolан и его композицией с метионином позволяет одновременно повысить их устойчивость к засухе и продуктивность - на 10,8 - 13,5 % в сравнении с контролем.

**SCREENING OF ULTRASTRUCTURAL CHANGES IN MAIZE
SEEDLINGS TREATED WITH TRICHODEMA, BLACK CUMIN AND
SALVIA EXTRACT**

El-Shafei S.M.A.

Department of Agricultural chemistry, Faculty of Agriculture, Minia
University, El-Minia, ET-61517, Egypt

lion_lionman2007@yahoo.com

There is a new urgency, prompted by recent spikes in food prices around the world, to boost global food production in order to feed a rapidly growing population [1]. Maize (*Zea mays* L.) is the most important grain crop in many countries of the world and is produced throughout these countries under diverse environments [2,3]. In a search for new methods to increase the yield and quality of maize crop, the overall objective for this study was to evaluate the efficacy of treatment maize grains before germination with *Trichoderma* cultural filtrate, black cumin and salvia extract on the root seedling length, seedling length and the enzymatic activity in root and vegetative part of seedlings (cellulase, amaylase, xylanase). To assess the efficacy of selected extracts on selected parameters. Two sorts of Russian maize were carefully chosen (Krasnodar 194 and Povolgske 188) and treated with cultural filtrate of *Trichoderma harzianum*, water extract of black seed and salvia plant, Shabeka liquid media and water. Then were germinated in incubator at 30°C for two weeks under the laboratory conditions. Results of our study indicated that, treatment grains before planting with cultural filtrate of *T. harzianum*, and water extract of salvia plant significantly increased ($P \leq 0.05$) the root seedling length by 25 and 40 % and the seedling length by 22 and 35% respectively in both two maize sorts, but the treatment with extract of black seed decreased the same parameters by 60 and 84% respectively compared with the control. Significantly changes ($P \leq 0.05$) were observed in the enzymatic activity represented an increase of cellulase activity in root of seedling treated with *Trichoderma* and salvia extract by 25 and 50% respectively and by 29 and 40% respectively compared with the control of the same enzyme activity in vegetative part of seedling, but the treatment with black seed extract decreed the activity of this enzyme by 50 % in both root and vegetative part. The changes in amaylase and xylanase activity were taken the same trend as in cellulase activity. From the results of our study, we can recommend using salvia extract to improve the productivity of maize

crop and use it instead of *Trichoderma* to achieve this purpose.

References

1. Union of concerned scientists (2009). Biotechnology has broken promises. Issue Briefing. July 2009. USA.
2. Hajieghrari, B. (2010). Effects of some Iranian *Trichoderma* isolates on maize seed germination and seedling vigor. African J. Biotechnol. 9: 4342-4347.
3. Harman G.E. (2011). Multifunctional fungal plant symbionts: new tools to enhance plant growth and productivity. New Phytologist.189: 647-649.

Абдулина И.Р., Вафин Р.Р., Зайнуллин Л.И. СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ	4
СПОСОБА ПЦР-ИДЕНТИФИКАЦИИ АЛЛЕЛЬНЫХ ВАРИАНТОВ WX-B1-ЛОКУСА WAXY-ГЕНОВ ПШЕНИЦЫ	
Ахметов А.А., Морозов Н.В. ИБИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ ПРИЁМЫ ОЧИСТКИ	6
ВОД ОТ НЕФТЯНЫХ ЗАГРЯЗНЕНИЙ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ РАСТИТЕЛЬНЫХ ОТХОДОВ	
Бажукова Н.В., Новаковская И.В., Матистов Н.В. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ	11
МИКРОВОДОРОСЛЕЙ EUSTIGMATOS MAGNUS, DICTYOCOCCUS VARIANS И PSEUDOCOCCOMYXA SIMPLEX КАК ПЕРСПЕКТИВНЫХ ОБЪЕКТОВ ДЛЯ БИОТЕХНОЛОГИИ	
Басырова Л.Ф. ДЕЙСТВИЕ ДЕЛЬТА-ЭНДОТОКСИНА VASILLUS	14
THURINGIENSIS НА МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ CUCUMIS SATIVUS L. IN VITRO	
Бахов Ж.К., Мугалиева Б.Ж., Коразбекова К.У. РАЦИОНАЛЬНЫЕ	16
РЕШЕНИЯ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКОЙ ПЕРЕРАБОТКИ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ОТХОДОВ	
Баширова Р.М., Данилова Е. Д., Долотовский И. М., Галкин Е. Г.	20
ФИТОХИМИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА КУРИЛЬСКОГО ЧАЯ POTENTILLA FRUTICOSA . (L.) ИНТРОДУЦИРОВАННОГО НА ЮЖНОМ УРАЛЕ	
Белокурова Е. В., Солохин С. ВОЗМОЖНОСТЬ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ	23
ФРУКТОВО-КРУПЯНЫХ СМЕСЕЙ В ТЕХНОЛОГИИ ХЛЕБОБУЛОЧНЫХ ИЗДЕЛИЙ	
Болаева К.В. ЦИТОЛОГИЧЕСКОЕ ОПИСАНИЕ ИЗМЕНЕНИЙ,	27
ПРОИСХОДЯЩИХ С КЛЕТОЧНОЙ КУЛЬТУРОЙ МДСК-II ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ ГЕПАТОЦИТНОГО РОСТОВОГО ФАКТОРА В УСЛОВИЯХ МЕХАНИЧЕСКОГО СТРЕССА	
Бондаренко А. В., Рытик А. П., Усанов Д. А. РОЛЬ КИСЛОРОДА В	34
АВТОКОЛЕБАТЕЛЬНОЙ РЕАКЦИИ БРИГТСА-РАУШЕРА	
Бухарина И.Л., Ведерников К.Е., Камашева А.А. ПЕРСПЕКТИВЫ	35
ПОВЫШЕНИЯ УСТОЙЧИВОСТИ ДРЕВЕСНЫХ КУЛЬТУР С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ СИМБИОТИЧЕСКИХ СВЯЗЕЙ РАСТЕНИЙ С МИКОРИЗОБРАЗУЮЩИМИ ГРИБАМИ	
Василенко М.А., Фаттахов Н.С., Мазунин И.О., Литвинова Л.С. АДАПТАЦИЯ	38
МЕТОДИКИ ВЫДЕЛЕНИЯ ТОТАЛЬНОЙ РНК ИЗ ЖИРОВОЙ ТКАНИ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ТКАНЕСПЕЦИФИЧЕСКОЙ ЭКСПРЕССИИ КЛЮЧЕВЫХ МЕДИАТОРОВ, ВОВЛЕЧЕННЫХ В РЕГУЛЯЦИЮ ПРОЦЕССОВ МЕТАБОЛИЗМА ЖИРОВОЙ ТКАНИ	
Венцова И.Ю., Пелевина Г.А., Артемов Е.С. АКУШЕРСКАЯ ПАТОЛОГИЯ У	41
ВЫСОКОПРОДУКТИВНЫХ МОЛОЧНЫХ КОРОВ КАК СЛЕДСТВИЕ НАРУШЕНИЙ В	

СИСТЕМЕ ПОЛ-АОЗ	
Вердиян Г.Г., Манвелян Э.А. ИЗМЕНЕНИЕ АНТИКОНФЛИКТНОЙ	44
АКТИВНОСТИ ДИАЗЕПАМА У САМЦОВ КРЫС ПОД ВЛИЯНИЕМ	
СОЦИАЛЬНОЙ ИЗОЛЯЦИИ	
Ветчинникова Л.В., Титов А.Ф. ВОСПРОИЗВОДСТВО РЕСУРСОВ	46
КАРЕЛЬСКОЙ БЕРЕЗЫ С ПОМОЩЬЮ СОВРЕМЕННЫХ	
БИОТЕХНОЛОГИЙ	
Витавская А.В., Дудикова Г.Н., Баймуханова Д.Б., Пронина Ю.Г.	50
МОЛОЧНОКИСЛЫЕ БАКТЕРИИ - ОСНОВА ПРОБИОТИЧЕСКИХ	
ПРОДУКТОВ ПИТАНИЯ, РАЗРАБОТАННЫХ УЧЕНЫМИ КАЗАХСТАНА	
Воейкова Т.А., Емельянова Л.К., Новикова Л.М., Сидорук К.В., Смирнов, И.	58
А., Ильин В. К., Солдатов П. Е., Тюрин-Кузьмин А. Ю., Смоленская Т. С., Дебабов В.	
Г. БАКТЕРИАЛЬНЫЕ ЭЛЕКТРОСТАНЦИИ - ЭКОЛОГИЧЕСКИ ЧИСТЫЙ ИСТОЧНИК	
ЭНЕРГИИ	
Востройлов А.В., Артемов Е.С., Востройлов С.А. ПРОДУКТИВНОСТЬ И	60
ПРОИЗВОДСТВЕННОЕ ДОЛГОЛЕТИЕ КОРОВ «ВОРОНЕЖСКОГО» ТИПА	
КРАСНО-ПЕСТРОЙ МОЛОЧНОЙ ПОРОДЫ	
Габитов Р.А., Багаева Т.В. ОЦЕНКА ФИТОПАТОГЕННОГО ПОТЕНЦИАЛА	66
ШТАММОВ МИКРОМИЦЕТОВ ВИДА FUSARIUM SOLANI	
Горячкина Е.Г., Федосеева Г.М. ИЗУЧЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ	69
ВЕЩЕСТВ ГЕТЕРОПАПУСА АЛТАЙСКОГО ФЛОРЫ ВОСТОЧНОЙ СИБИРИ:	
МИНЕРАЛЬНЫЙ СОСТАВ	
Григориади А.С., Лопатин Н.Л., Баширова Р.М., Киреева Н.А. ВЛИЯНИЕ	74
НЕФТИ И МЕТАБОЛИТА НА ТРАНСЛОКАЦИЮ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ В	
САХАРНУЮ СВЕКЛУ BETA VULGARIS VAR. SACCHARIFERA	
Гуцол А.А., Сохоневич Н.А., Шуплецова В.В., Литвинова Л.С. ПОИСК	77
ОПТИМАЛЬНЫХ УСЛОВИЙ ДЛЯ СОЗДАНИЯ СИСТЕМЫ IN VITRO,	
ПРЕДНАЗНАЧЕННОЙ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ ВЛИЯНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИ	
АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ НА ФУНКЦИОНАЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ И	
ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ МОНОНУКЛЕАРНЫХ ЛЕЙКОЦИТОВ	
Гюльяхмедов С.Г., Кулиева С.М. ВЛИЯНИЕ 1-АМИНО-2-ФЕНИЛЭТИЛ	82
ФОСФОНОВОЙ КИСЛОТЫ (ФЕФ) НА КАТАЛИТИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ	
ФЕНИЛАЛАНИН-АММИАК-ЛИАЗЫ ПЛОДОВ ЯБЛОНИ	
Давыденко С.Г., Меледина Т.В. ГЛИЦЕРИН КАК АНТИСТЕРССОВЫЙ	84
ФАКТОР	
Данилова С.А., Кунакова Е.А. ХЛОРОПЛАСТНАЯ ТРАНСФОРМАЦИЯ	86
РАСТЕНИЙ: ПОЛУЧЕНИЕ И ПЕРСПЕКТИВЫ	
Джафаров Э.С., Джафарлы А.К. РОЛЬ АНТИОКСИДАНТНЫХ ФЕРМЕНТОВ	90

В УСЛОВИЯХ ХРОНИЧЕСКОГО γ - ОБЛУЧЕНИЯ ALHAGI PSEUDALHAGI (ВИБ.)	
Дмитриев В.В. МОДЕЛИРОВАНИЕ СКОРОСТЕЙ ОБМЕННЫХ ПРОЦЕССОВ	98
В ВОДНОМ БАКТЕРИОЦЕНОЗЕ	
Ерш А.В., Полтавченко А.Г., Кривенчук Н.А. НОВАЦИИ В	106
ИММУНОДИАГНОСТИКЕ ИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ	
Еськов Е.К., Ушарнов Д.О., Фомичев Ю.П., Ярошевич Г.С. ВЛИЯНИЕ НА	111
РЕПРОДУКТИВНУЮ АКТИВНОСТЬ ПЧЕЛИНЫХ МАТОК БИОЛОГИЧЕСКИ	
АКТИВНЫХ ПРЕПАРАТОВ НОВОГО ПОКОЛЕНИЯ	
Зинина О.В., Соловьева А.А. РАЗРАБОТКА ПАРАМЕТРОВ	114
БИОМОДИФИКАЦИИ КОЛЛАГЕНСОДЕРЖАЩЕГО СЫРЬЯ	
Зубченко Л. С. АНАЛИЗ ФАКТОРОВ, ВЛИЯЮЩИХ НА	116
ПРОИЗВОДИТЕЛЬНОСТЬ ФОТОЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКИХ	
МИКРОБНЫХ ТОПЛИВНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ	
Иванова В.В., Невзорова Т.А., Богданов М.В. ТОПОГРАФИЯ	119
КАРДИОЛИПИНСИНТАЗ В ПЛАЗМАТИЧЕСКОЙ МЕМБРАНЕ	
emE.coli/em	
Ионова Н.Э., Гафиятова Э.И. ИНТРОДУКЦИЯ РАСТЕНИЙ SATNARANTHUS	122
ROSEUS В КУЛЬТУРУ КЛЕТОК И ТКАНЕЙ	
Ионова Н.Э., Олешко Е.А ДИФФЕРЕНЦИРОВАННОЕ ДЕЙСТВИЕ	125
РЕГУЛЯТОРОВ РОСТА НА МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ	
РАЗНЫХ КУЛЬТУР РАСТЕНИЙ	
Истиева Р. Ф., Романова И. В., Тазетдинова Д. И., Алимова Ф. К.	127
ПЕРОКСИДАЗНАЯ АКТИВНОСТЬ РАСТЕНИЙ ОГУРЦА ПОСЛЕ	
ОБРАБОТКИ БИОКОНТРОЛЬНЫМИ МИКРОМИЦЕТАМИ	
Каленик Т.К., Кравченко М.В., Лях В.А., Грищенко В.В., Бубнова Ю.Е.	129
ГИДРОБИОНТЫ ЖИВОТНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ - ОСНОВНОЕ СЫРЬЕ В	
СОСТАВЕ ОБОГАЩЕННЫХ БЕЛКОВЫХ ПРОДУКТОВ	
Калмыкова Е. Н., Луанда А., Шабан Р., Багока Ф. ИЗУЧЕНИЕ	133
СОРЕБЦИОННОЙ АКТИВНОСТИ ПОЛИСАХАРИДОВ НЕКОТОРЫХ	
РАСТЕНИЙ ТАНЗАНИИ	
Кекконен А.Л., Сигова С.В. РЕШЕНИЕ ЗАДАЧ МЕДИЦИНЫ БУДУЩЕГО:	136
КАКИЕ СПЕЦИАЛИСТЫ НАМ НУЖНЫ?	
Киндя В.И., Калинин О.В., Калинин А.Н.	143
МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ	
ПРОДУКТОВ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОГО СИНТЕЗА	
НА ОСНОВЕ BLAKELSEA TRISPORA	
Кобелев А.В., Багаева Т.В. ВЛИЯНИЕ РАЗНОГО СВЕТОВОГО СПЕКТРА НА	147
РОСТ ДРОЖЖЕЙ SACCROMYCES CEREVISIAE	

Князев О.В., Ручкина И.Н., Парфенов А.И., Конопляников А.Г.,	150
Абдулатипову З.М. ЭФФЕКТИВНОСТЬ АЛЛОГЕННЫХ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК КОСТНОГО МОЗГА В ЛЕЧЕНИИ БОЛЬНЫХ С РЕФРАКТЕРНОЙ ФОРМОЙ БОЛЕЗНИ КРОНА	
Козяева В. В., Дзюба М. В. ВЫДЕЛЕНИЕ НОВОГО ШТАММА	152
МАГНИТОТАКТИЧЕСКИХ БАКТЕРИЙ - MAGNETOSPIRILLUM BV-1	
Комиссаров А.В., Никифоров А.К., Еремин С.А., Задохин С.Н., Клокова	156
О.Д., Шульгина И.В., Лобовикова О.А. ИЗУЧЕНИЕ ВОЗМОЖНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ НОВЫХ ПЛЕНОЧНЫХ ПОКРЫТИЙ ДЛЯ ГОТОВОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЫ ХОЛЕРНОЙ БИВАЛЕНТНОЙ ХИМИЧЕСКОЙ ВАКЦИНЫ	
Комиссаров А.В., Никифоров А.К., Задохин С.Н., Еремин С.А., Волох О.А.,	157
Алешина Ю.А. МАТЕМАТИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ КИНЕТИКИ НАКОПЛЕНИЯ АНТИГЕНОВ В ХОДЕ ПЕРИОДИЧЕСКОГО ГЛУБИННОГО КУЛЬТИВИРОВАНИЯ VIBRIO CHOLERAE 569В ИНАБА С ЛИМИТАЦИЕЙ ПО УГЛЕРОДНОМУ СУБСТРАТУ	
Комиссаров А.В., Бронникова В.С., Лобовикова О.А., Никифоров А.К.,	159
Еремин С.А., Васин Ю.Г., Клокова О.Д. ОПТИМИЗАЦИЯ ПРОЦЕССА СТЕРИЛИЗУЮЩЕЙ ФИЛЬТРАЦИИ ХОЛЕРОГЕНА-АНАТОКСИНА	
Коптякова С.В., Савченко И. А. ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ	160
БИОТЕХНОЛОГИЙ ДЛЯ ПЕРЕРАБОТКИ ОТХОДОВ ПТИЦЕВОДЧЕСКИХ ХОЗЯЙСТВ	
Кручинина М. В., Кручинин В. Н., Рыхлицкий С. В., Громов А. А.,	163
Курилович С. А., Немцова Е. Г., Белковец А. В., Генералов В. М., Генералов К. В. ВОЗМОЖНОСТИ МЕТОДОВ ДИЭЛЕКТРОФОРЕЗА И ОТОБРАЖАЮЩЕЙ ЭЛЛИПСОМЕТРИИ В ОЦЕНКЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ЛЕЧЕНИЯ БОЛЬНЫХ С ДИФФУЗНОЙ ПАТОЛОГИЕЙ ПЕЧЕНИ	
Кузьмин А.В., Назаров В.А., Назарова Л.С. К ВОПРОСУ О	171
МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОМ ПРОФИЛЕ ПРЕПАРАТА «ГУМИПИТ»	
Кулаков В.В. БИОТЕХНОЛОГИЯ ВОДОПОДГОТОВКИ	173
НЕКОНДИЦИОННЫХ ПОДЗЕМНЫХ ВОД В ВОДОНОСНОМ ГОРИЗОНТЕ ДЛЯ ПИТЬЕВЫХ НУЖД	
Куркина Ю.Н., Нгуен Т. Л., Нго Т. З. ПЯТНИСТОСТИ ЛИСТЬЕВ VICIA	178
FAVA L.	
Курчаева Е.Е., Крекотень М.А., Максимов И.В., Манжесов И.В.,	180
Мельникова Е.С. ИННОВАЦИОННЫЕ ПОДХОДЫ К ИСПОЛЬЗОВАНИЮ РАСТИТЕЛЬНЫХ РЕСУРСОВ АПК	

Кучер Н.Н., Небыков М.В. МОРФОГЕНЕЗ СОРТОВ ГРУШИ IN VITRO	183
Лебедева И. А., доктор б. н. ВЛИЯНИЕ ПРОБИОТИКА «МОНОСПОРИН»	188
НА СИНТЕТИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ В ОРГАНИЗМЕ ЦЫПЛЯТ-БРОЙЛЕРОВ	
Лисина Т.О., Круглов Ю.В. ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ	192
БИОПРЕПАРАТА НА ОСНОВЕ BACILLUS MEGATERIUM НА	
РАСТЕНИЯ ЛЬНА-ДОЛГУНЦА	
Лях В. А., Смертина Е. С., Федянина Л. Н. ОТХОДЫ ПРОИЗВОДСТВА	195
БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ДОБАВОК К ПИЩЕ ИЗ БУРЫХ МОРСКИХ	
ВОДОРΟΣЛЕЙ В КАЧЕСТВЕ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО ИНГРЕДИЕНТА В	
СОСТАВЕ ХЛЕБОБУЛОЧНЫХ ИЗДЕЛИЙ	
Мажулина И.В., Шевцов А.А., Яковлева С.Ф. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ	199
ИНУЛИНАЗЫ В РЕЦЕПТУРАХ ХЛЕБА	
ЛЕЧЕБНО-ПРОФИЛАКТИЧЕСКОГО НАЗНАЧЕНИЯ	
Максимов И.В., Манжесов В.И., Курчаева Е.Е., Крекотень М.А.	201
БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ ПОТЕНЦИАЛ ПОРОШКООБРАЗНОГО	
ПОЛУФАБРИКАТА МОРКОВИ	
Медяков А. А., Онучин Е. М. БИОГАЗОВЫЙ РЕАКТОР С БАРБОТАЖНЫМ	205
ПЕРЕМЕШИВАНИЕМ И ПОДОГРЕВОМ	
Минакова В.В., Карнаухова И.В., Пряхин А.В., Бочкаева З.В., Лыкина Т.А.	209
ИССЛЕДОВАНИЕ КОМБИНИРОВАННОГО ДЕЙСТВИЯ АНТИБИОТИЧЕСКИХ	
ПРЕПАРАТОВ РАЗЛИЧНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ	
Морозов Н.В. ЭНЕРГОСБЕРЕГАЮЩИЕ БИОТЕХНОЛОГИИ ДЛЯ ЗАЩИТЫ	214
ВОДНЫХ РЕСУРСОВ ОТ ЗАГРЯЗНЕНИЯ НЕФТЬЮ И НЕФТЕПРОДУКТАМИ	
Мосин О.В., Игнатов И.И. МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЙ СИНТЕЗ	217
ДЕЙТЕРИРОВАННЫХ АМИНОКИСЛОТ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ	
ШТАММОВ МЕТИЛОТРОФНЫХ БАКТЕРИЙ-ПРОДУЦЕНТОВ	
АМИНОКИСЛОТ	
Мягчилов А.В., Соколова Л.И., Горовой П.Г. КОЛИЧЕСТВЕННОЕ	224
ОПРЕДЕЛЕНИЕ ФЛАВОНОИДОВ В НАДЗЕМНОЙ ЧАСТИ СЕРПУХИ	
ВЕНЦЕНОСНОЙ - SERRATULA CORONATA L. (ASTERACEAE)	
Мухаметшина Р.Т., Баррето Г., Багаева Т.В. АЛЬВЕОЛЯРНЫЕ КЛЕТКИ И	226
ИХ СПЕЦИФИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ	
Нгуен Т. Х., Куркина Ю.Н., Нго Т. К. МИКРОМИЦЕТЫ БОБОВЫХ	229
РАСТЕНИЙ АГРОЦЕНОЗОВ И ЕСТЕСТВЕННЫХ ТЕРРИТОРИЙ	
БЕЛГОРОДСКОЙ ОБЛАСТИ	
Нугманова А.И., Багаева Т.В. ЛЕКТИНЫ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ	232
СЕМЕЙСТВА ЗОНТИЧНЫХ (APIACEAE)	
Нурминская Ю.В., Максимова Л.А. СТАБИЛЬНОСТЬ РАЗВИТИЯ	235

ТРАНСГЕННЫХ РАСТЕНИЙ НА ПРИМЕРЕ ПЯТИ ПОКОЛЕНИЙ ТРАНСФОРМИРОВАННОГО ТАБАКА	
Онучин Е.М., Медяков А.А., Каменских А.Д. КАТАЛИТИЧЕСКИЕ	238
СИСТЕМЫ ДЛЯ УСТАНОВОК АНАЭРОБНОЙ ПЕРЕРАБОТКИ ОТХОДОВ ЖИВОТНОВОДСТВА	
Онучин Е.М., Ласточкин Д.М., Медяков А.А., Филенко Ю.А.	241
ТЕХНИЧЕСКАЯ СИСТЕМА ДЛЯ СБОРА И ЗАГОТОВКИ БИОГЕННЫХ ПРОДУКТОВ ЛИШАЙНИКОВ И РАСТЕНИЙ	
Осипова М. Н. КВАНТОВАЯ ТЕОРИЯ ПЕРЕДАЧИ НЕРВНОГО ИМПУЛЬСА	244
Очирова Л.А., Будаева А.Б., Молчанов А.В. ГОСУДАРСТВЕННЫЙ	248
ВЕТЕРИНАРНЫЙ НАДЗОР ЗА ВОДНЫМИ РЕСУРСАМИ И ЗА БЕЗОПАСНОСТЬЮ РЫБЫ И РЫБНОЙ ПРОДУКЦИИ	
Пищик В.Н., Ктигорова И.Н., Скобелева О.В., Мирская Г.В., Воробьев Н.И.	251
ВЛИЯНИЕ ГУМИНОВОГО ПРЕПАРАТА СТИМУЛАЙФ И БАКТЕРИЙ <i>VACILLUS</i> <i>SUBTILIS</i> НА РОСТ КОРНЕЙ И УРОЖАЙНОСТЬ ПШЕНИЦЫ	
Попова Н. Н., Столбовских Л. И., Щетилина И. П. ВОЗДЕЙСТВИЕ	253
КИСЛОТНОСТИ СТРУКТУРИРОВАННОЙ ВОДЫ НА ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТЬ НАБУХАНИЯ СЕМЯН ЛЬНА	
Попова Л.Г., Родионова Л.В., Прудникова Н.В., Цысляк Е.С., Лебедев В.Ф.,	256
Лепехова С.А. ТЕРМОГРАФИЧЕСКИЕ ИЗМЕРЕНИЯ В ПРОЦЕССЕ РЕПАРАТИВНОЙ РЕГЕНЕРАЦИИ КОСТНОЙ ТКАНИ У ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ	
Пузыня Т.А. ПРИМЕНЕНИЕ ГМО В ПИЩЕВОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ	260
Пухальский Я. В., Шапошников А. И., Азарова Т. С., Макарова Н. М.,	263
Сафронова В. И., Белимов А. А. УСТОЙЧИВАЯ К КАДМИЮ РАСТИТЕЛЬНО-МИКРОБНАЯ СИСТЕМА НА ОСНОВЕ МУТАНТА ГОРОХА <i>SGESDT</i> , ГРИБА АРБУСКУЛЯРНОЙ МИКОРИЗЫ, КЛУБЕНЬКОВЫХ БАКТЕРИЙ И РИЗОБАКТЕРИЙ	
Раднагуруева А.А., Лаврентьева Е.В. ВНЕКЛЕТОЧНАЯ ПЕПТИДАЗНАЯ	266
АКТИВНОСТЬ МИКРООРГАНИЗМОВ ТЕРМАЛЬНЫХ ИСТОЧНИКОВ ЗАБАЙКАЛЬЯ	
Рахимова Е.В., Нечай Н.Л., Шегебаева А.А. КУЛЬТУРАЛЬНЫЕ И	268
МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ПРИЗНАКИ ШТАММОВ ГРИБОВ РОДА <i>ALTERNARIA</i> , ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ РИЗОСФЕРЫ НЕКОТОРЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ ЦЕНТРАЛЬНОГО КАЗАХСТАНА	
Ри М.Т., Хайрулин С.С. МАТЕМАТИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ	275
РЕГУЛЯТОРНОГО КОНТУРА <i>ROB</i> , <i>MARR</i> И <i>MARA</i> ГЕННОЙ СЕТИ <i>ESCHERICHIA COLI</i>	
Родионова Л.В., Кошкарева З.В., Сороковиков В.А., Складенко О.В.,	286

Горбунов А.В. ИЗМЕНЕНИЯ В СЕКРЕЦИИ ГОРМОНОВ ГИПОФИЗА И ПОЛОВЫХ ЖЕЛЕЗ, ХАРАКТЕРНЫЕ ДЛЯ ПАЦИЕНТОВ С ПОСЛЕОПЕРАЦИОННЫМ РУБЦОВО-СПАЕЧНЫМ ЭПИДУРИТОМ	
Романов В.А., Груша В.М., Ковырёва А.В. ЭКСПРЕСС-ТЕХНОЛОГИИ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ ВОЗДЕЙСТВИЯ СТРЕССОВЫХ ФАКТОРОВ НА СОСТОЯНИЕ РАСТЕНИЙ	290
Романько М.Е., Мачусский А.В., Ушкалов В.А. НАНОЧАСТИЦЫ ЗОЛОТА В БИОТЕХНОЛОГИЯХ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ БИОМАССЫ <i>VACILLUS ANTHRACIS</i> ВАКЦИННОГО ШТАММА	294
Ружило Н.С., Живчикова Р.И. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕСТНЫХ СОРТОВ АМАРАНТА КАК ПЕРСПЕКТИВНОГО ИСТОЧНИКА ПОЛУЧЕНИЯ ПЕКТИНОВ	298
Рябова А.А., Торопова Е.Ю. БИОТЕХНОЛОГИЯ В ЗАЩИТЕ ЧЕРНОЙ СМОРОДИНЫ ОТ БОЛЕЗНЕЙ В ЛЕСОСТЕПИ НОВОСИБИРСКОЙ ОБЛАСТИ	301
Сабирова Н. Д., Сабиров Р. Н. ЛЕКАРСТВЕННЫЕ РАСТЕНИЯ САХАЛИНА И ИХ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ	306
Самофалова Л.А., Сафронова О.В. ИННОВАЦИОННЫЕ ТЕХНОЛОГИИ ПЕРЕРАБОТКИ СЕМЯН СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ КУЛЬТУР НА ПРИНЦИПАХ БИОТЕХНОЛОГИИ	310
Сапронова М.Р., Шнайдер Н.А., Похабов Д.В. ГЕННАЯ ТЕРАПИЯ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА	312
Сараева Л. И., Коцупий О. В. ИЗУЧЕНИЕ ФЛАВОНОИДОВ ОСОБО ЦЕННОГО ЛЕКАРСТВЕННОГО ВИДА <i>ASTRAGALUS MEMBRANACEUS</i> (FISCH.) BUNGE И ПЕРСПЕКТИВНОГО <i>ASTRAGALUS TENUIS</i> TURCZ. В ЮГО-ВОСТОЧНОМ ЗАБАЙКАЛЬЕ	315
Свиридова О.В., Воробьев Н.И., Андронов Е.Е., Попов А.А., Толмачев С.Ю. ВЛИЯНИЕ ЗАСУХИ НА ГУМИФИКАЦИЮ РАСТИТЕЛЬНЫХ ОСТАТКОВ ПОЧВЕННЫМИ МИКРОБНЫМИ БИОСЕТЯМИ	322
Сенько О.В., Мамедова Ф.Т., Степанов Н.А., Ефременко Е.Н. БИОКАТАЛИТИЧЕСКОЕ ПОЛУЧЕНИЕ ФУМАРОВОЙ КИСЛОТЫ ИЗ НЕПИЩЕВОГО ВОЗОБНОВЛЯЕМОГО СЫРЬЯ	327
Сидорова Н. А., Савушкин А. И., Образцова А. М. ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ ИММОБИЛИЗОВАННЫХ КЛЕТОК <i>AZOTOBACTER CHROOOSCUM</i>	328
Степанова А.В., Аньшакова В.В. ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЛИШАЙНИКОВ Р. <i>CLADONIA</i>, ПРОИЗРАСТАЮЩИХ В ЯКУТИИ, ДЛЯ ИХ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКОГО ИСПОЛЬЗОВАНИЯ	331
Тарасов В. И. СОЦИАЛЬНЫЕ И ЭКОНОМИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ГЛУБОКОЙ	334

ПЕРЕРАБОТКИ ЗЕРНА НА БИОТОПЛИВО	
Тарасова Е.В. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ АГРОБИОТЕХНОЛОГИЙ ДЛЯ	338
ОБЕСПЕЧЕНИЯ ПРОДОВОЛЬСТВЕННОЙ БЕЗОПАСНОСТИ	
Титова Н.В., Шишкану Г.В., Мащенко Н.Е. РОСТОВЫЕ РЕАКЦИИ	343
РАСТЕНИЙ АБРИКОСА НА ДЕЙСТВИЕ НАТУРАЛЬНОГО СТЕРОИДНОГО	
ГЛИКОЗИДА ЛИНАРОЗИД	
Тупик А.Н. ПОЛИМЕРАЗНАЯ ЦЕПНАЯ РЕАКЦИЯ (ПЦР-РВ) В	348
МИКРОЧИПАХ	
Тутуржанс Л.В., Васянкина Н.Д., Диво Т.С. БИОПРЕПАРАТЫ В	352
ПОВЫШЕНИИ ПРОДУКТИВНОСТИ И УСТОЙЧИВОСТИ ЭСПАРЦЕТА	
К БОЛЕЗНЯМ	
Тучков И.В., Волох О.А, Киреев М.Н, Никифоров А.К ПОЛУЧЕНИЕ	355
РЕКОМБИНАНТНОГО БЕЛКА ГЛИКОПРОТЕИНА ВИРУСА БЕШЕНСТВА	
Уваров М.Н., Волох О.А., Тучков И.В. АЛГОРИТМ ОТБОРА	356
РЕКОМБИНАНТНЫХ ШТАММОВ emE.coli/em - ПРОДУЦЕНТОВ	
ПРОТЕКТИВНЫХ АНТИГЕНОВ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ЧУМЫ И	
ХОЛЕРЫ	
Усманова С.И., Сетченков М.С., Юсупова З.Д., Насибуллин Р.С.	358
ИССЛЕДОВАНИЕ КОМПЛЕКСООБРАЗОВАНИЯ РУТИНА С	
ФОСФАТИДИЛХОЛИНОМ МЕТОДОМ 13С ЯМР СПЕКТРОСКОПИИ	
Устюжанинова Л.В., Сушкова В.И. УЛУЧШЕНИЕ ТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ	361
ХАРАКТЕРИСТИК ЛАКТОБАКТЕРИЙ ШТАММА LACTOVACILLUS	
ACIDOPHILUS ВКПМ В-4992	
Костина Е.М. ЛЕЙКОТРИЕНЫ КАК БИОХИМИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ	365
ВОСПАЛЕНИЯ У БОЛЬНЫХ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ	
Фролова Л. Н., Василенко Л. И., Кривова А. С. РАЗРАБОТКА	371
БИОПРЕПАРАТОВ ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ	
КЛИНИЧЕСКОЙ И СУБКЛИНИЧЕСКОЙ ФОРМ МАСТИТОВ У	
КОРОВ	
Хохленкова Н.В., Ярных Т.Г., Буряк М.В. ПЕРСПЕКТИВЫ	374
ИСПОЛЬЗОВАНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ	
СОЕДИНЕНИЙ КОРЫ ДУБА В МЕДИЦИНЕ	
Хусаинов М.Б. НЕКОТОРЫЕ АСПЕКТЫ КУРСА « МЕДИЦИНСКИЕ	376
БИОТЕХНОЛОГИИ»	
Хусаинов М.Б. НЕКОТОРЫЕ АСПЕКТЫ ПРЕПОДАВАНИЯ КУРСА	379
«КРИОБИОТЕХНОЛОГИЯ»	
Хусаинов М.Б., Баутиста Х. СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ	385
БИОТЕХНОЛОГИИ В ЭКВАДОРЕ	

Хусаинов М.Б., Чжан С. НЕКОТОРЫЕ АСПЕКТЫ РАЗВИТИЯ	387
БИОТЕХНОЛОГИИ В СЕВЕРНОМ КИТАЕ	
Хусаинов М.Б., Баутиста Х., Чжан С. РАЗРАБОТКА УЧЕБНЫХ	388
РУССКО-ИСПАНСКИХ И РУССКО-КИТАЙСКИХ СЛОВАРЕЙ ПО БИОТЕХНОЛОГИИ РАСТЕНИЙ	
Цыганков М.А., Филатова Е.В., Падкина М.В. СОВМЕСТНАЯ	390
ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ ИНТЕРФЕРОНА-АЛЬФА16 ЧЕЛОВЕКА И ПРОТЕИНДИСУЛЬФИДИЗОМЕРАЗЫ В ДРОЖЖАХ <i>PICNIA</i> <i>PASTORIS</i> .	
Чугунова Д. Н., Хасанов Н. Р., Ослопов В. Н., Газиев А. Р.	393
ВАРИАбельность СЕРДЕЧНОГО РИТМА В КОНТЕКСТЕ МЕМБРАННОЙ ПАТОЛОГИИ У БОЛЬНЫХ ГИПЕРТОНИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЮ.	
Шаплыгина Ю.Н., Курочкина Т.Ф. ПРЕСНОВОДНЫЕ ДВУСТВОРЧАТЫЕ	395
МОЛЛЮСКИ КАК СОСТАВНОЙ КОМПОНЕНТ КОРМОВЫХ ДОБАВОК ДЛЯ ДОМАШНИХ ЖИВОТНЫХ	
Шлейкин А. Г., Шаталов И. С., Шаталова А. С. ПРИМЕНЕНИЕ	398
ТРАНСГЛУТМИНАЗЫ В ПРОИЗВОДСТВЕ СЪЕДОБНЫХ БИОПОЛИМЕРНЫХ УПАКОВОЧНЫХ ПЛЕНОК И ПОКРЫТИЙ	
Шлыков В.В., ТЕРМОГРАФИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ У	401
КАРДИОХИРУРГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ	
Шпичка А.И., Косматова Е.А., Семенова Е.Ф. ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЙ	404
АНАЛИЗ ЭРЕМОТЕЦЕВОВОГО МАСЛА	
Шутко А.П., Мищерин А.М., Караченцева Т.В. ПРЕПАРАТЫ НА ОСНОВЕ	409
МИКРОБОВ-АНТАГОНИСТОВ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ БОЛЕЗНЕЙ РАСТЕНИЙ КАК ФАКТОР БИОЛОГИЗАЦИИ ЗАЩИТЫ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ	
Элькин М.Д., Джалмухамбетова Е.А., Нуржанова Г.Б., Гречухина О.Н.	415
МОДЕЛИРОВАНИЕ ПАРАМЕТРОВ КОЛЕБАТЕЛЬНЫХ СПЕКТРОВ ПОЛИЦИКЛИЧЕСКИХ МОЛЕКУЛ ДИОКСИНОВОГО РЯДА	
Эльшафей С.М.А, Мухаметзянова А.М., Абдельрахман А.А., Тухбатова Р.И.,	419
Иванова Е.В., Акинина Е.А., Воронкова Ю.Е., Букуру Л.С., Алимова Ф.К. ВЛИЯНИЕ ЭКСТРАКТА ЧЕРНОГО ТМИНА, ШАЛФЕЯ И КУЛЬТУРАЛЬНОЙ ЖИДКОСТИ <i>TRICHODERMA</i> НА НЕКОТОРЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ РАСТЕНИЙ <i>IN VIVO</i>	
Яблонская Е.К. ЭКЗОГЕННАЯ РЕГУЛЯЦИЯ РОСТОВЫХ И	421
СИНТЕТИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ СОРТА ФОРТУНА	
El-Shafei S.M.A. SCREENING OF ULTRASTRUCTURAL CHANGES IN MAIZE	423
SEEDLINGS TREATED WITH TRICHODEMA, BLACK CUMIN AND SALVIA	

EXTRACT