

Министерство сельского хозяйства Российской Федерации
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования

«Саратовский государственный аграрный университет имени Н.И. Вавилова»

Факультет ветеринарной медицины, пищевых и биотехнологий

Кафедра микробиологии, биотехнологии и химии

«ЗЫКИНСКИЕ ЧТЕНИЯ»

Материалы национальной научно-практической конференции, посвященной
памяти доктора медицинских наук, профессора Леонида Федоровича Зыкина

САРАТОВ 2020

УДК 636

ББК 48

ЗЫКИНСКИЕ ЧТЕНИЯ: Материалы национальной научно-практической конференции посвященной памяти д.м.н., профессора Л.Ф. Зыкина / под редакцией О.С. Ларионовой, И.А. Сазоновой. – Саратов: Саратовский ГАУ, 2020. – 206 с.

ISBN 978-5-7011-0813-2

Сборник статей предназначен для студентов, аспирантов, научных работников, профессорско-преподавательского состава.

Материалы опубликованы в авторской редакции

ISBN 978-5-7011-0813-2

© ФГБОУ ВО Саратовский ГАУ, 2020

УДК 619:616-073.584:578.828

Д.А. Артемьев, С.В. Козлов

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

МИКРОСПЕКТРАЛЬНЫЙ АНАЛИЗ КАК СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ АГРУНОЛОЦИТОВ КРС ПРИ РЕТРОВИРУСНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ

Аннотация. Микроспектральный анализ является высокоинформативным способом оценки морфофункционального состояния клеток, в том числе иммунокомпетентных. Результаты микроспектрального анализа показали, что для лимфоцитов коров с сочетанной патологией (BLV/BIV) значения поглощения в спектре эозина У и азура II составили $351,2 \pm 17,6$ и $751,4 \pm 37,6$ counts соответственно. Для животных с BLV и BIV моно-инфекцией эти показатели составили $253,3 \pm 12,7$; $383,3 \pm 19,2$ и $371,5 \pm 18,5$; $500,2 \pm 24,9$ counts. В то время как у интактных коров данные показатели регистрировались на уровне $210,3 \pm 10,5$ и $173,6 \pm 8,6$ counts. У интактных животных соотношение кислотных и основных компонентов в клетке составил $0,83 \pm 0,04$, а для BIV, BLV и BLV/BIV-инфицированных животных этот коэффициент в среднем составил; $1,34 \pm 0,06$ $1,51 \pm 0,08$ и $2,13 \pm 0,11$, то есть оказался в 1,6; 1,8 и 2,6 раз выше, чем у интактных, что может являться индикатором метаболического ацидоза в клетке.

Ключевые слова: крупный рогатый скот, лимфоциты, спектрофотометрия, микроскопия, лейкопения, иммунодефицит, гомеостаз.

D.A. Artemyev, S.V. Kozlov

Saratov State Agrarian University named after N.I. Vavilova, Saratov, Russia

MICROSPECTRAL ANALYSIS AS A COMPARATIVE EVALUATION OF THE MORPHOFUNCTIONAL STATE OF CATTLE AGRUNOLOCYTES IN RETROVIRAL DISEASES

Annotation. Microspectral analysis is a highly informative way to assess the morphofunctional state of cells, including immunocompetent ones. The results of microspectral analysis showed that for cows lymphocytes with combined pathology (BLV / BIV), the absorption values in the spectrum of eosin U and azure II were 351.2 ± 17.6 and 751.4 ± 37.6 counts, respectively. For animals with BLV and BIV mono-infection, these indicators were 253.3 ± 12.7 ; 383.3 ± 19.2 and 371.5 ± 18.5 ; 500.2 ± 24.9 counts. While in intact cows these indicators were recorded at the level of 210.3 ± 10.5 and 173.6 ± 8.6 counts. In intact animals, the ratio of acidic and basic components in the cell was 0.83 ± 0.04 , and for BIV, BLV and BLV / BIV-infected animals, this coefficient averaged; 1.34 ± 0.06 1.51 ± 0.08 and 2.13 ± 0.11 , that is, it turned out to be 1.6; 1.8 and 2.6 times higher than intact, which may be an indicator of metabolic acidosis in the cell.

Keywords: cattle, lymphocytes, spectrophotometry, microscopy, leukemia, immunodeficiency, homeostasis.

Проблема энзоотического лейкоза крупного рогатого скота (ЭЛ КРС), с момента выделения заболевания в самостоятельную нозологическую единицу, является одной из первостепенных для сельского хозяйства. Выявление еще одного ретровирусного заболевания - вирусного иммунодефицита крупного рогатого скота (ИД КРС), стало важным открытием в области ветеринарной нозологии. Известно, что инфицированные ретровирусами клетки животных, так же как злокачественно-трансформированные, приобретают отличные от здоровых биофизические и морфофункциональные свойства [4, 11].

Для исследования звеньев эффекторно-аффлекторных механизмов в кинетике иммунного ответа с феноменом антителозависимого усиления инфекции, обусловленный образованием комплекса рецептора возбудителя с Fc-фрагментом на поверхности фагоцитирующих клеток, результатом чего

является размножение микроорганизма в фагоцитах подходит люминесцентно-микроскопический метод исследования [1,2,7]. Данный метод основан на поглощении монохроматического излучения. Способность регистрировать, с помощью данного метода, ранние биохимические и морфофункциональные сдвиги (фотохимические изменения), развивающиеся в клеточных структурах до возникновения клинической и патоморфологической картины, определенно является приоритетом для дифференциальной диагностики заболеваний на ранних этапах их развития.

Цель данного исследования - сравнительная оценка морфофункционального состояния агранулоцитов BLV, BIV и BLV/BIV - инфицированных и интактных животных с помощью микроспектрального анализа.

Для достижения указанной цели были определены следующие **задачи**:

1. Выполнить спектрофотометрический анализ выделенных клеточных субпопуляций агранулоцитов от *BLV*, *BIV*, *BLV/BIV* - инфицированного и интактного, крупного рогатого скота, а также провести сравнительный анализ полученных результатов.

Материал и методы исследования

Исследования проводились на базе межкафедральной научно-исследовательской лаборатории «ГЕНОМ» и ЦКП «Молекулярная биология» ФГБОУ ВО Саратовский ГАУ. **Материал**: периферическая кровь крупного рогатого скота из КХ «Заря» Тамалинского района Пензенской области. **Объект исследования**: агранулоциты (лимфоциты) интактного (n=30), BLV-инфицированного (n=30), BIV-инфицированного (n=30), BLV/BIV инфицированного крупного рогатого скота (n=30).

Методы исследования. Диагноз «*BLV* и/или *BIV* инфекция» основывался на данных госветслужбы и лабораторных исследованиях с использованием ПЦР набора «ЛЕЙКОЗ» (InterLabServis, Россия) и собственных разработок (патент №2615465) на оборудовании BioRad T100 и Gel Doc XR (USA).

Выделение рабочей фракции агранулоцитов периферической крови выполняли по следующей схеме:

Наслоение 2-3 мл периферической крови на градиент плотности Фиколл-Урографин ($1,077 \text{ г/см}^3$) в соотношении 1:1 с последующим центрифугированием при 3000 об./мин в течение 30 мин для разделения фракций форменных элементов в градиенте плотности и сбора лимфоцитов из кольца, образовавшегося между и плазмой и градиентом плотности в отдельную пробирку. После добавление фосфатно-солевого буфера (PBS, Росмедбио РМБ) в объеме 1 мл с последующим трехкратным ресуспендированием и центрифугированием при 1800 об./мин в течение 5 мин, для очистки от остатков градиента плотности.

Приготовление разведения фракции лимфоцитов осуществляли по стандарту мутности Макфарланда (0,5) на PBS. Равномерно распределяли и высушивали 1 каплю клеточной взвеси на обезжиренном предметном стекле. Фиксировали и окрашивали полученный препарат набором реагентов Лейкодиф 200 (LDF 200) по стандартной методике. Спектральный анализ агранулоцитов осуществляли с помощью универсального цветоанализатора микроскопа-спектрофотометра ЛОМО МСФУ-К (Россия). Замеры производили при использовании штатного монохроматора МСФУ-К при мощности 800А с шагом измерения 0,5 нм и диаметром точки сканирования 10^{-4} мм при 480-и кратном увеличении (12x40). Регистрировали величину интенсивности поглощения светового пучка (I_λ) в видимой области спектра при спектральной ширине ($\delta\lambda$) 300 - 700 нм. По полученным данным определяли степень поглощения окрашенных лимфоцитов в спектре эозина У и азура II. Статистическая обработка цифровых данных включала определение средней арифметической (M) и ошибки средней арифметической (m). Различие контроля и опытных групп считали статистически достоверными при $P \leq 0,05$.

Методом микроспектрального анализа были измерены степень и диапазоны поглощения монохроматического светового пучка окрашенными

лимфоцитами периферической крови исследуемых животных. По полученным данным были рассчитаны коэффициенты соотношения оксифильных и базофильных компонентов в них. Эозин У, входящий в состав набора для окрашивания «Лейкодиф 200», относят к кислотным красителям, с помощью которых выявляют вещества и структуры основной (белковой) природы. Спектр поглощения чистого органического красителя эозина – 470 нм. Другой компонент красящего раствора, азур II, является основным красителем, используется для окраски структур, богатых нуклеиновыми кислотами (ядра, ядрышки, рибосомы), а также аморфного компонента межклеточного вещества, со спектром поглощения в диапазоне 620-665 нм. При окрашивании биологических объектов часто наблюдается явление метахромазии, что может быть связано с взаимодействием красителей между собой и зависит от кинетики биологических процессов в клетке, поэтому диапазон поглощения варьирует [3,6,8].

Результаты исследования. Для лимфоцитов коров с сочетанной патологией (*BLV/BIV*) значения поглощения (I_{λ}) в спектре эозина У и азура II составили $351,2 \pm 17,6$ и $751,4 \pm 37,6$ counts соответственно. Для животных с *BLV* и *BIV* моно-инфекцией эти показатели составили $253,3 \pm 12,7$; $383,3 \pm 19,2$ и $371,5 \pm 18,5$; $500,2 \pm 24,9$ counts соответственно. В то время как у интактных коров данные показатели регистрировались на уровне $210,3 \pm 10,5$ и $173,6 \pm 8,6$ counts. Интенсивность поглощения светового пучка определенной длины волны окрашенными клетками тем выше, чем больше концентрация вещества в клетке, окрашенного красителем, диапазон поглощения которого находится в известных пределах, используя полученные данные возможно рассчитать соотношение основных и кислых компонентов в клетке.

Ядерно-цитоплазматическое отношение является важной морфологической характеристикой, позволяющей оценить уровень метаболизма и выявить проявление компенсаторных реакций в клетке. Мононуклеары крови характеризуются высоким ядерно-цитоплазматическим

соотношением. Однако этот показатель не тождественен соотношению базофильных и оксифильных клеточных компонентов, который на наш взгляд является более информативным, так как отражает не столько структурные особенности, сколько функциональное состояние клетки.

По нашим данным у интактных животных соотношение кислотных и основных компонентов в клетке было равномерно пропорциональным, то есть коэффициент соотношения составил $0,83 \pm 0,04$. Для *BIV*, *BLV* и *BLV/BIV*-инфицированных животных этот коэффициент в среднем составил; $1,34 \pm 0,06$, $1,51 \pm 0,08$ и $2,13 \pm 0,11$, то есть оказался в 1,6; 1,8 и 2,6 раз выше, чем у интактных. Однако утверждать, что в клетке резко увеличилось содержание нуклеиновых кислот, мы не можем, так как азур II окрашивает все базофильные структуры, включая аморфный компонент межклеточного вещества. Кроме того, АСМ-сканирование лимфоцитов крупного рогатого скота с ретровирусной инфекцией не выявило столь значительных морфотопографических изменений по сравнению с интактными животными [5, 9, 10].

То есть можно предположить, что в данном случае в клетке развивается метаболический ацидоз. В данном случае в равной степени это может быть обусловлено продукцией вирусных частиц и поликлональной пролиферацией лимфоцитов. Причиной метаболического ацидоза служит накопление кетоновых тел и других недоокисленных промежуточных метаболитов. Вероятно, что предрасполагающим фактором является токсичное действие вирусных белков в инфицированных лимфоцитах. Полученные в настоящем исследовании данные демонстрируют прямую корреляцию с результатами выполненных нами гематологических исследований и свидетельствуют об изменении гомеостаза организма инфицированных животных, в том числе и на уровне клетки.

Заключение. Таким образом, в инфицированных ретровирусами лимфоцитах содержание базофильных веществ в 1,6 - 2,6 раз превышает таковое у интактных, что может являться индикатором метаболического ацидоза. Ориентируясь на вышеприведенные данные, мы считаем, что

зарегистрированные нами отклонения были вызваны структурно-метаболическими изменениями в клетках, по которым можно оценивать инфекционный статус и состояние гомеостаза организма животного.

Список литературы

1. Агольцов В.А., Красникова Е.С., Щербаков А.А., Мелкина П.С., Горельникова Е.А., Дружаева Н.А. Сравнительная диагностическая оценка серологического и молекулярно-генетического методов лабораторных исследований на лейкоз крупного рогатого скота. Вестник Алтайского государственного аграрного университета. 2012. № 4 (90). С. 56-59.

2. Красникова Е.С., Агольцов В.А., Щербаков А.А., Семёнова О.Е. Сравнительный анализ эффективности ПЦР и ИХА при диагностике вирусных иммунодефицитов и лейкозов животных. Вестник ветеринарии. 2012. № 4 (63). С. 60-62.

3. Агольцов В.А., Щербаков А.А., Красникова Е.С., Мелкина П.С., Горельникова Е.А., Дружаева Н.А. Эпизоотологические особенности и лабораторная диагностика лейкоза крупного рогатого скота в хозяйствах Татищевского района Саратовской области. Вестник Саратовского госагроуниверситета им. Н.И. Вавилова. 2012. № 1. С. 3-7.

4. Утанова Г.Х., Красникова Е.С. Применение полимеразной цепной реакции для детекции возбудителя энзоотического лейкоза. Вестник ветеринарии. 2014. № 3 (70). С. 27-29.

5. Красникова Е.С., Плютина Т.А. О необходимости ужесточения мер контроля над энзоотическим лейкозом крупного рогатого скота. Труды Кубанского государственного аграрного университета. 2014. № 50. С. 131-133.

6. Красникова Е.С., Плютина Т.А. Новые аспекты необходимости ужесточения мер контроля над энзоотическим лейкозом крупного рогатого скота. В сборнике: Современные проблемы ветеринарной онкологии и иммунологии. - Материалы Международной научно-практической конференции. Министерство сельского хозяйства Российской Федерации, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение

высшего профессионального образования "Саратовский государственный аграрный университет им. Н.И. Вавилова" / Под редакцией А.А. Волкова, А.В. Молчанова. - 2014. - С. 124-128.

7. Красникова Е.С., Кудинов А.В., Белякова А.С. Иммунобиологические проявления ретровирусных инфекций крупного рогатого скота. Научная жизнь. 2015. № 1. С. 168-175. 14

8. Красникова Е.С., Агольцов В.А., Ларионова О.С., Красников А.В. Новый подход к разработке противоэпизоотических мероприятий при BLV-инфекции и его научное обоснование. Научная жизнь. 2015. № 6. С. 157-165.

9. Красникова Е.С. Ретровирусные инфекции сельскохозяйственных животных. В сборнике: Фундаментальные и прикладные проблемы повышения продуктивности животных и конкурентоспособности продукции животноводства в современных экономических условиях АПК РФ Материалы Международной научно-практической конференции. 2015. С. 324-326.

10. Красникова Е.С., Ларионова О.С., Агольцов В.А., Красников А.В. Научное и практическое обоснование необходимости внедрения новых средств и способов контроля распространения энзоотического лейкоза крупного рогатого скота. В сборнике: АГРАРНАЯ НАУКА: ПОИСК, ПРОБЛЕМЫ, РЕШЕНИЯ Материалы Международной научно-практической конференции, посвященной 90-летию со дня рождения Заслуженного деятеля науки РФ, доктора сельскохозяйственных наук, профессора В.М. Куликова. Главный редактор А.С. Овчинников. 2015. С. 236-240.

11. Красникова Е.С., Агольцов В.А., Кудинов А.В. Гемато-биохимический статус коров при BLV- и BIV-инфекции. Научная жизнь. 2016. № 2. С. 159-167.

УДК 636.2:616-076:578.828

Д.А. Артемьев, С.В. Козлов

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

АНАЛИЗ СТРУКТУРНО-МЕТАБОЛИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ АГРУНОЛОЦИТОВ КРС ПРИ РЕТРОВИРУСНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ

D.A. Artemyev, S.V. Kozlov

Saratov State Agrarian University named after N.I. Vavilova, Saratov, Russia

ANALYSIS OF THE STRUCTURAL-METABOLIC STATE OF CATTLE AGRUNOLOCYTES IN RETROVIRAL DISEASES

Annotation. Microspectral analysis is a highly informative way to assess the morphofunctional state of cells, including immunocompetent ones. The results of microspectral analysis showed that for cows lymphocytes with combined pathology (BLV / BIV), the absorption values in the spectrum of eosin U and azure II were 351.2 ± 17.6 and 751.4 ± 37.6 counts, respectively. For animals with BLV and BIV mono-infection, these indicators were 253.3 ± 12.7 ; 383.3 ± 19.2 and 371.5 ± 18.5 ; 500.2 ± 24.9 counts. While in intact cows these indicators were recorded at the level of 210.3 ± 10.5 and 173.6 ± 8.6 counts. In intact animals, the ratio of acidic and basic components in the cell was 0.83 ± 0.04 , and for BIV, BLV and BLV / BIV-infected animals, this coefficient averaged; 1.34 ± 0.06 1.51 ± 0.08 and 2.13 ± 0.11 , that is, it turned out to be 1.6; 1.8 and 2.6 times higher than intact, which may be an indicator of metabolic acidosis in the cell.

Keywords: cattle, lymphocytes, spectrophotometry, microscopy, leukemia, immunodeficiency, homeostasis

Проблема энзоотического лейкоза крупного рогатого скота (ЭЛ КРС), с момента выделения заболевания в самостоятельную нозологическую единицу, является одной из первостепенных для сельского хозяйства. Выявление еще одного ретровирусного заболевания - вирусного иммунодефицита крупного рогатого скота (ИД КРС), стало важным открытием в области ветеринарной нозологии. Известно, что инфицированные ретровирусами клетки животных,

так же как злокачественно-трансформированные, приобретают отличные от здоровых биофизические и морфофункциональные свойства [1,2,7].

Для исследования звеньев эффекторно-аффлекторных механизмов в кинетике иммунного ответа с феноменом антителозависимого усиления инфекции, обусловленный образованием комплекса рецептора возбудителя с Fc-фрагментом на поверхности фагоцитирующих клеток, результатом чего является размножение микроорганизма в фагоцитах подходит люминесцентно-микроскопический метод исследования [3,4,8]. Данный метод основан на поглощении монохроматического излучения. Способность регистрировать, с помощью данного метода, ранние биохимические и морфофункциональные сдвиги (фотохимические изменения), развивающиеся в клеточных структурах до возникновения клинической и патоморфологической картины, определенно является приоритетом для дифференциальной диагностики заболеваний на ранних этапах их развития [5,6,9].

Цель данного исследования – сравнительная оценка морфофункционального состояния агранулоцитов BLV, BIV и BLV/BIV - инфицированных и интактных животных с помощью микроспектрального анализа.

Для достижения указанной цели были определены следующие **задачи**: выполнить спектрофотометрический анализ выделенных клеточных субпопуляций агранулоцитов от *BLV*, *BIV*, *BLV/BIV* - инфицированного и интактного, крупного рогатого скота, а также провести сравнительный анализ полученных результатов.

Материал и методы исследования

Исследования проводились на базе межкафедральной научно-исследовательской лаборатории «ГЕНОМ» и ЦКП «Молекулярная биология» ФГБОУ ВО Саратовский ГАУ. **Материал**: периферическая кровь крупного рогатого скота из КХ «Заря» Тамалинского района Пензенской области. **Объект исследования**: агранулоциты (лимфоциты) интактного (n=30), BLV-

инфицированного (n=30), BIV-инфицированного (n=30), BLV/BIV инфицированного крупного рогатого скота (n=30).

Методы исследования. Диагноз «BLV и/или BIV инфекция» основывался на данных госветслужбы и лабораторных исследованиях с использованием ПЦР набора «ЛЕЙКОЗ» (InterLabServis, Россия) и собственных разработок (патент №2615465) на оборудовании BioRad T100 и Gel Doc XR (USA).

Выделение рабочей фракции агранулоцитов периферической крови выполняли по следующей схеме: Наслоение 2-3 мл периферической крови на градиент плотности Фиколл-Урографин (1,077 г/см³) в соотношении 1:1 с последующим центрифугированием при 3000 об./мин в течение 30 мин для разделения фракций форменных элементов в градиенте плотности и сбора лимфоцитов из кольца, образовавшегося между и плазмой и градиентом плотности в отдельную пробирку. После добавление фосфатно-солевого буфера (PBS, Росмедбио РМБ) в объеме 1 мл с последующим трехкратным ресуспендированием и центрифугированием при 1800 об./мин в течение 5 мин, для очистки от остатков градиента плотности.

Приготовление разведения фракции лимфоцитов осуществляли по стандарту мутности Макфарланда (0,5) на PBS. Равномерно распределяли и высушивали 1 каплю клеточной взвеси на обезжиренном предметном стекле. Фиксировали и окрашивали полученный препарат набором реагентов Лейкодиф 200 (LDF 200) по стандартной методике. Спектральный анализ агранулоцитов осуществляли с помощью универсального цветоанализатора микроскопа-спектрофотометра ЛОМО МСФУ-К (Россия). Замеры производили при использовании штатного монохроматора МСФУ-К при мощности 800А с шагом измерения 0,5 нм и диаметром точки сканирования 10⁻⁴ мм при 480-и кратном увеличении (12x40). Регистрировали величину интенсивности поглощения светового пучка (I_λ) в видимой области спектра при спектральной ширине (δλ) 300 - 700 нм. По полученным данным определяли степень поглощения окрашенных лимфоцитов в спектре эозина У и азура II.

Статистическая обработка цифровых данных включала определение средней арифметической (M) и ошибки средней арифметической (m). Различие контроля и опытных групп считали статистически достоверными при $P \leq 0,05$.

Методом микроспектрального анализа были измерены степень и диапазоны поглощения монохроматического светового пучка окрашенными лимфоцитами периферической крови исследуемых животных. По полученным данным были рассчитаны коэффициенты соотношения оксифильных и базофильных компонентов в них. Эозин У, входящий в состав набора для окрашивания «Лейкодиф 200», относят к кислотным красителям, с помощью которых выявляют вещества и структуры основной (белковой) природы. Спектр поглощения чистого органического красителя эозина – 470 нм. Другой компонент красящего раствора, азур II, является основным красителем, используется для окраски структур, богатых нуклеиновыми кислотами (ядра, ядрышки, рибосомы), а также аморфного компонента межклеточного вещества, со спектром поглощения в диапазоне 620-665 нм. При окрашивании биологических объектов часто наблюдается явление метахромазии, что может быть связано с взаимодействием красителей между собой и зависит от кинетики биологических процессов в клетке, поэтому диапазон поглощения варьирует [21].

Результаты исследования. Для лимфоцитов коров с сочетанной патологией (*BLV/BIV*) значения поглощения (I_{λ}) в спектре эозина У и азура II составили $351,2 \pm 17,6$ и $751,4 \pm 37,6$ counts соответственно. Для животных с *BLV* и *BIV* моно-инфекцией эти показатели составили $253,3 \pm 12,7$; $383,3 \pm 19,2$ и $371,5 \pm 18,5$; $500,2 \pm 24,9$ counts соответственно. В то время как у интактных коров данные показатели регистрировались на уровне $210,3 \pm 10,5$ и $173,6 \pm 8,6$ counts. Интенсивность поглощения светового пучка определенной длины волны окрашенными клетками тем выше, чем больше концентрация вещества в клетке, окрашенного красителем, диапазон поглощения которого находится в

известных пределах, используя полученные данные возможно рассчитать соотношение основных и кислых компонентов в клетке.

Ядерно-цитоплазматическое отношение является важной морфологической характеристикой, позволяющей оценить уровень метаболизма и выявить проявление компенсаторных реакций в клетке. Мононуклеары крови характеризуются высоким ядерно-цитоплазматическим соотношением. Однако этот показатель не тождественен соотношению базофильных и оксифильных клеточных компонентов, который на наш взгляд является более информативным, так как отражает не столько структурные особенности, сколько функциональное состояние клетки.

По нашим данным у интактных животных соотношение кислотных и основных компонентов в клетке было равномерно пропорциональным, то есть коэффициент соотношения составил $0,83 \pm 0,04$. Для *BIV*, *BLV* и *BLV/BIV*-инфицированных животных этот коэффициент в среднем составил; $1,34 \pm 0,06$, $1,51 \pm 0,08$ и $2,13 \pm 0,11$, то есть оказался в 1,6; 1,8 и 2,6 раз выше, чем у интактных. Однако утверждать, что в клетке резко увеличилось содержание нуклеиновых кислот мы не можем, так как азур II окрашивает все базофильные структуры, включая аморфный компонент межклеточного вещества. Кроме того, АСМ-сканирование лимфоцитов крупного рогатого скота с ретровирусной инфекцией не выявило столь значительных морфотопографических изменений по сравнению с интактными животными [4,10].

То есть можно предположить, что в данном случае в клетке развивается метаболический ацидоз. В данном случае в равной степени это может быть обусловлено продукцией вирусных частиц и поликлональной пролиферацией лимфоцитов. Вероятно, что предрасполагающим фактором является токсичное действие вирусных белков в инфицированных лимфоцитах. Полученные в настоящем исследовании данные демонстрируют прямую корреляцию с результатами выполненных нами гематологических исследований и свидетельствуют об изменении гомеостаза организма инфицированных животных, в том числе и на уровне клетки.

Заключение. Таким образом, в инфицированных ретровирусами лимфоцитах содержание базофильных веществ в 1,6 - 2,6 раз превышает таковое у интактных, что может являться индикатором метаболического ацидоза. Ориентируясь на вышеприведенные данные, мы считаем, что зарегистрированные нами отклонения были вызваны структурно-метаболическими изменениями в клетках, по которым можно оценивать инфекционный статус и состояние гомеостаза организма животного.

Список литературы

1. Stolbovskaya O.V., Khairullin R.M., Kostishko B.B., Pchelintseva E.S., Krasnikova E.S., Fomin A.A., Skaptsov A.A. The study of the structural features of the lymphocytes in patients with diabetes using atomic force microscopy. В сборнике: Progress in Biomedical Optics and Imaging - Proceedings of SPIE 2016. С. 99171P.

10. Krasnikova E.S., Artemev D.A., Krasnikov A.V., Stolbovskaya O.V., Kostishko B.B. Comparative analysis of cats' lymphocytes structural features with and without retroviral infection using atomic force microscopy. В сборнике: Journal of Physics: Conference Series Krasnoyarsk Science and Technology City Hall of the Russian Union of Scientific and Engineering Associations; Polytechnical Institute of Siberian Federal University. Bristol, United Kingdom, 2019. С. 22013.

2. Stolbovskaya O.V., Khairullin R.M., Saenko Y.V., Krasnikova E.S., Krasnikov A.V., Fomin A.A., Skaptsov A.A. In vitro metabolism study of normal and tumor cells when exposed to red led light. В сборнике: Progress in Biomedical Optics and Imaging - Proceedings of SPIE 2016. С. 99171Q.

3. Красникова Е.С., Агольцов В.А., Ларионова О.С., Красников А.В. Научно-практические и социально-экономические аспекты в разработке комплекса мероприятий по борьбе с лейкозом крупного рогатого скота. В сборнике: Актуальные проблемы и перспективы развития ветеринарной медицины, зоотехнии и аквакультуры материалы международной научно-практической конференции, посвящённой 85-летию Заслуженного деятеля науки РФ, Почётного работника ВПО РФ, доктора ветеринарных наук,

профессора, Почётного профессора Саратовского ГАУ, профессора кафедры "Морфология, патология животных и биология" ФГБОУ ВО Саратовский ГАУ Дёмкина Григория Прокофьевича. 2016. С. 81-84.

4. Артемьев Д.А., Красников А.В., Красникова Е.С., Козлов С.В. Внедрение инновационных подходов изучения морфофункциональных характеристик лимфоцитов крупного рогатого скота при ретровирусных инфекциях. В сборнике: СОВРЕМЕННЫЕ ПРОБЛЕМЫ И ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗВИТИЯ АГРОПРОМЫШЛЕННОГО КОМПЛЕКСА Сборник статей по итогам международной научно-практической конференции. 2019. С. 33-36.

5. Белякова А.С., Красникова Е.С., Смагина А.А. Сравнение ущерба от снижения продуктивности при различных подходах к лечению диспепсии телят, полученных от BLV-инфицированных коров. В сборнике: Аграрная наука - сельскому хозяйству Сборник материалов XIV Международной научно-практической конференции. В 2-х книгах. 2019. С. 259-260.

6. Радионов Р.В., Красникова Е.С., Белякова А.С. Применение новой лекарственной композиции для лечения диспепсии телят, полученных от BLV-инфицированных коров. Вестник КрасГАУ. 2019. № 2 (143). С. 77-84.

7. Ларионова О.С., Красников А.В., Утанова Г.Х. Анализ инфицированности крупного рогатого скота ретровирусными инфекциями в Саратовской области. Аграрный научный журнал. 2015. № 2. С. 15-18.

8. Stolbovskaya O.V., Khairullin R.M., Kostishko B.B., Pchelintseva E.S., Krasnikova E.S., Fomin A.A., Skaptsov A.A. The study of the structural features of the lymphocytes in patients with diabetes using atomic force microscopy В сборнике: Progress in Biomedical Optics and Imaging - Proceedings of SPIE 2016. С. 99171P.

9. Stolbovskaya O.V., Khairullin R.M., Saenko Y.V., Krasnikova E.S., Krasnikov A.V., Fomin A.A., Skaptsov A.A. In vitro metabolism study of normal and tumor cells when exposed to red led light. В сборнике: Progress in Biomedical Optics and Imaging - Proceedings of SPIE 2016. С. 99171Q.

А. С. Белякова¹, Павленко В.В.²

¹Мичуринский государственный аграрный университет, г. Мичуринск, Россия

²Саратовский государственный аграрный университет имени Н.И. Вавилова, г. Саратов, Россия

БИОХИМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ КРОВИ КРЫС ПРИ РАЗЛИЧНЫХ СПОСОБАХ ВОСПРОИЗВЕДЕНИЯ *BLV*-ИНФЕКЦИИ

Аннотация. В статье описаны исследования сравнительного анализа биохимических показателей крови крыс при различных способах воспроизведения BLV-инфекции.

Ключевые слова: биохимические показатели, BLV-инфекции.

A. S. Belyakova¹, V. V. Pavlenko²

¹Michurinsky State Agrarian University, Michurinsk, Russia

²Saratov state agrarian University named after N. I. Vavilov, Saratov, Russia

BIOCHEMICAL ANALYSIS OF RAT BLOOD IN VARIOUS WAYS OF REPRODUCING BLU-INFECTION

Annotation. The article describes studies of comparative analysis of the biochemical parameters of rat blood in various ways of reproduction of BLV infection.

Keywords: biochemical indicators, BLV infections.

Энзоотический лейкоз крупного рогатого скота широко распространен в большинстве стран мира, в том числе и в Российской Федерации [8, 9, 15, 19]. Возбудитель инфекции – вирус (*BLV*) паразитирует в иммунокомпетентных клетках, влияя не только на их морфологические свойства, но и на их функциональный статус [2, 16, 21]. Это проявляется изменением комплекса иммунно-биохимических маркеров, что служит индикатором нарушения

гомеостаза у *BLV*-инфицированных животных [4, 17], в том числе и иммунореактивности [5]. Данный факт часто является причиной диагностических ошибок, следствием чего является дальнейшее распространение инфекции среди животных [13, 14, 15], что обуславливает необходимость всестороннего изучения вируса и совершенствования комплекса мероприятий по борьбе с данным заболеванием [10, 11, 12]

Существует мнение, что к *BLV*-инфекции восприимчив не только крупный рогатый скот, но и другие гетерологичные организмы [6, 7, 10]. Изучение энзоотического лейкоза *in vivo* - высоко затратное мероприятие, так как в качестве биологической модели используют крупный рогатый скот и овец. В то время как использование с этой целью лабораторных животных было бы значительно эффективнее в экономическом отношении [18, 20]. Последние наши исследования показали, что белые лабораторные крысы линии Wistar являются адекватной лабораторной моделью при воспроизведении *BLV*-инфекции путем пероральной инфекции их молоком, полученным от больных и инфицированных лейкозом коров [1, 3].

Целью настоящего исследования стал сравнительный анализ биохимических показателей крови крыс при различных способах воспроизведения *BLV*-инфекции.

Объектом исследования послужили 5-6 месячные крысы линии Wistar (n=20), которым двукратно с интервалом в 1 неделю внутрибрюшинно вводили стерильную фракцию лимфоцитов *BLV*-инфицированных коров, разведенную стерильным физиологическим раствором по стандарту мутности МакФарланда (R092B стандарт 1 ед.) в объеме 0,5 мл. В качестве контроля использовали крысы линии Wistar (n=10), которым вместо лимфоцитарной фракции внутрибрюшинно вводили физиологический раствор в аналогичном объеме. Наличие *BLV*-инфекции у крыс опытной группы устанавливали методом ПЦР на оборудовании Bio-Rad (USA) с использованием набора Лейкоз (ИЛС, Россия).

Кровь у экспериментальных животных отбирали из боковой хвостовой вены двукратно: через 3 и через 6 месяцев после введения лимфоцитов. Осуществление биохимического анализа крови выполняли на биохимическом анализаторе полуавтоматического типа BioChemSA (USA) с использованием реагентов линии Диакон-ДС (АО «ДИАКОН-ДС», Россия).

При сравнительной оценке данных биохимического анализа крови мы использовали результаты исследований, полученные нами при пероральном воспроизведении *BLV*-инфекции у крыс (путем выпаивания им молока инфицированных и больных лейкозом коров), ориентируясь на референсные значения для крыс линии Wistar, при этом эталонными считали результаты исследований контрольных групп [3].

При первом биохимическом исследовании крови крыс опытной группы было выявлено снижение общего белка у животных в среднем на 9%, при этом уровень альбуминовой фракции снижался наиболее значительно – на 24-25% по сравнению с контрольной группой. Кроме того, у некоторых крыс опытной группы несколько возросли содержание креатинина и активность аминотрансфераз в сыворотке крови.

Биохимическое исследование крови крыс через 6 месяцев после заражения выявило повышение содержания билирубина в крови крыс опытной группы в 2,7-3,2 раз по сравнению с контролем. А также значительное увеличение содержания не только креатинина, но и мочевины крови. На фоне роста активности печеночных ферментов было отмечено увеличение коэффициента де Ритиса (в 3-5 раз).

При сравнительном анализе данных исследования крови крыс с пероральным и внутрибрюшинным способами заражения было установлено, что при пероральной инфекции молоком инфицированных и больных лейкозом коров происходило увеличение белка крови, что может быть связано с высококалорийной диетой животных, однако при этом сохранялась тенденция снижения альбуминовой фракции белка крови при обоих способах инфицирования. При внутрибрюшинной инфекции не было отмечено

выраженной динамики активности фермента щелочной фосфатазы и содержания глюкозы в сыворотке крови, в отличие от пероральном инфицировании крыс.

Таким образом, полученные нами данные позволяют предположить нарушения в работе печени, почек, сердца у экспериментальных животных, что может являться следствием интоксикации при прогрессировании инфекции у животных. А внутрибрюшинный способ заражения крыс фракцией лимфоцитов *BLV*-инфицированных коров проявил себя, как высоко эффективный.

Список литературы

1. Биохимические изменения крови крыс линии Wistar при экспериментальной *BLV*-инфекции / Е.С. Красникова и др. // Инновации и продовольственная безопасность. - 2019. - № 2 (24). - С. 69-75.

2. Внедрение инновационных подходов изучения морфофункциональных характеристик лимфоцитов крупного рогатого скота при ретровирусных инфекциях / Д.А. Артемьев, А.В. Красников, Е.С. Красникова, С.В. Козлов // Современные проблемы и перспективы развития агропромышленного комплекса: сборник статей по итогам Международной научно-практической конференции. – Саратов: Амирит, 2019. - С. 33-36.

3. Гематологические показатели крыс линии wistar при экспериментальной *BLV*-инфекции / Е.С. Красникова и др. // Инновации и продовольственная безопасность. - 2018. - № 4 (22). - С. 138-145.

4. Красникова, Е.С. Гемато-биохимический статус коров при *BLV*- и *BIV*-инфекции / Е.С. Красникова, В.А. Агольцов, А.В. Кудинов // Научная жизнь. - 2016. - № 2. - С. 159-167.

5. Красникова, Е.С. Иммуно-биологические проявления ретровирусных инфекций крупного рогатого скота / Е.С. Красникова, А.В. Кудинов, А.С. Белякова // Научная жизнь. - 2015. - № 1. - С. 168-175.

6. Красникова, Е.С. Новые аспекты необходимости ужесточения мер контроля над энзоотическим лейкозом крупного рогатого скота / Е.С. Красникова, Т.А. Плютина // Современные проблемы ветеринарной онкологии

и иммунологии: материалы Международной научно-практической конференции. – Саратов: ИЦ «Наука», 2014. - С. 124-128.

7. Красникова, Е.С. О необходимости ужесточения мер контроля над энзоотическим лейкозом крупного рогатого скота / Е.С. Красникова, Т.А. Плютина // Труды Кубанского государственного аграрного университета. - 2014. - № 50. - С. 131-133.

8. Красникова, Е.С. Ретровирусные инфекции сельскохозяйственных животных / Е.С. Красникова // Фундаментальные и прикладные проблемы повышения продуктивности животных и конкурентоспособности продукции животноводства в современных экономических условиях АПК РФ: материалы Международной научно-практической конференции. – Ульяновск: Ульяновский государственный аграрный университет им. П.А. Столыпина, 2015. - С. 324-326.

9. Ларионова, О.С. Анализ инфицированности крупного рогатого скота ретровирусными инфекциями в Саратовской области / О.С. Ларионова, А.В. Красников, Г.Х. Утанова // Аграрный научный журнал. - 2015. - № 2. - С. 15-18.

10. Научное и практическое обоснование необходимости внедрения новых средств и способов контроля распространения энзоотического лейкоза крупного рогатого скота / Е.С. Красникова, О.С. Ларионова, В.А. Агольцов, А.В. Красников // Аграрная наука: поиск, проблемы, решения: материалы Международной научно-практической конференции. – Волгоград: Волгоградский государственный аграрный университет, 2015. - С. 236-240.

11. Научно-практические и социально-экономические аспекты в разработке комплекса мероприятий по борьбе с лейкозом крупного рогатого скота / Е.С. Красникова, В.А. Агольцов, О.С. Ларионова, А.В. Красников // Актуальные проблемы и перспективы развития ветеринарной медицины, зоотехнии и аквакультуры: материалы Международной научно-практической конференции. – Саратов: Научная книжка, 2016. - С. 81-84.

12. Новый подход к разработке противоэпизоотических мероприятий при BLV-инфекции и его научное обоснование / Е.С. Красникова, В.А. Агольцов, О.С. Ларионова, А.В. Красников // Научная жизнь. - 2015. - № 6. - С. 157-165.
13. Сравнительная диагностическая оценка серологического и молекулярно-генетического методов лабораторных исследований на лейкоз крупного рогатого скота / Агольцов В.А. и др. // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. - 2012. - № 4 (90). - С. 56-59.
14. Утанова, Г.Х. Применение полимеразной цепной реакции для детекции возбудителя энзоотического лейкоза / Г.Х. Утанова, Е.С. Красникова // Вестник ветеринарии. - 2014. - № 3 (70). - С. 27-29.
15. Эпизоотологические особенности и лабораторная диагностика лейкоза крупного рогатого скота в хозяйствах Татищевского района Саратовской области / В.А. Агольцов и др. // Вестник Саратовского госагроуниверситета им. Н.И. Вавилова. - 2012. - № 1. - С. 3-7.
16. Comparative analysis of cats' lymphocytes structural features with and without retroviral infection using atomic force microscopy / E.S. Krasnikova et al. // Journal of Physics: Conference Series. - 2019. - № 1399. - С. 22013.
17. Analysis of hemo-biochemical status of cows infected with retroviruse / E.S. Krasnikova et al. // Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences. - 2018. - Т. 9. - № 3. - С. 1122-1128.
18. Hemato-biochemical status of laboratory mice with a GM corn based diet / E.S. Krasnikova et al. // IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. - 2019. - № 315. - С. 42005.
19. Population and biological preconditions for the cattle retroviruses' expansion / D. Abdessemed, E.S. Krasnikova, V.A. Agoltsov, A.V. Krasnikov // Теоретическая и прикладная экология. - 2018. - № 3. - С. 116-124.
20. The hematobiochemical status of wistar rat line under the bovine leukemia virus experimental infection / E.S. Krasnikova et al. // Veterinary World. - 2019. - Т. 12. - № 3. - С. 382-388.

21. The study of the structural features of the lymphocytes from cattle with and without retroviral infection using atomic force microscopy / D.A. Artemev et al. // Progress in Biomedical Optics and Imaging - Proceedings of SPIE 5, Optical Technologies in Biophysics and Medicine. - 2018. – Vol. 10716. - С. 107160G.

УДК 619:616–006.44:599.735.51:578.828

А.С. Белякова¹, Павленко В.В.²

¹Мичуринский государственный аграрный университет, г. Мичуринск, Россия

²Саратовский государственный аграрный университет имени Н.И. Вавилова, г. Саратов, Россия

ОБЩИЙ АНАЛИЗ КРОВИ КРЫС ПРИ РАЗЛИЧНЫХ СПОСОБАХ ВОСПРОИЗВЕДЕНИЯ *BLV*-ИНФЕКЦИИ

Аннотация. В статье описаны исследования сравнительного анализа морфологических показателей крови крыс при различных способах воспроизведения *BLV*-инфекции. Полученные нами данные позволяют рекомендовать внутрибрюшинный способ заражения лабораторных крыс взвесью лимфоцитов инфицированного скота для более быстрого воспроизведения экспериментальной *BLV*-инфекции.

Ключевые слова: сравнительный анализ, *BLV* –инфекция, лимфоциты.

A.S. Belyakova¹, V. V. Pavlenko²

¹Michurinsky State Agrarian University, Michurinsk, Russia

²Saratov state agrarian University named after N.I. Vavilov, Saratov, Russia

GENERAL ANALYSIS OF RAT BLOOD IN VARIOUS WAYS OF REPRODUCING *BLU*-INFECTION

Annotation. The article describes studies of comparative analysis of morphological parameters of rat blood in various ways of reproduction of *BLV*

infection. Our data allow us to recommend an intraperitoneal method of infecting laboratory rats with a suspension of lymphocytes from infected livestock for faster reproduction of experimental BLV infection.

Keywords: comparative analysis, HBV infection, lymphocytes.

Комплекс иммуно-биохимических и молекулярно-генетических маркеров служит индикатором здоровья животных, в том числе *BLV*-инфицированных [4, 17]. Лейкоз крупного рогатого скота является эпизоотически значимой инфекцией [8, 9, 15, 19] и представляет собой системное заболевание, приводящее к изменению морфофункционального статуса иммунокомпетентных клеток [2, 16, 21], следствием чего становится изменение иммунореактивности зараженного организма [5], что усложняет процесс выявления вовлеченных в эпизоотический процесс животных [13, 14, 15].

Лабораторных животных часто используют при осуществлении иммунобиологических исследований, так как они являются чувствительными к большинству биологических и физиологических факторов и быстро самовоспроизводятся, что позволяет изучить эффект того или иного воздействия в нескольких генерациях [18, 20]. Последние наши исследования показали, что белые лабораторные крысы линии Wistar являются адекватной лабораторной моделью при воспроизведении *BLV*-инфекции путем пероральной инфекции их молоком, полученным от больных и инфицированных лейкозом коров [1, 3].

Целью настоящего исследования стал сравнительный анализ морфологических показателей крови крыс при различных способах воспроизведения *BLV*-инфекции.

Объектом исследования послужили 5-6 месячные крысы линии Wistar (n=20), которым двукратно с интервалом в 1 неделю внутрибрюшинно вводили стерильную фракцию лимфоцитов *BLV*-инфицированных коров, разведенную стерильным физиологическим раствором по стандарту мутности МакФарланда

(R092B стандарт 1 ед.) в объеме 0,5 мл. Контрольной группе животных (n=10) вводили аналогичное количество физиологического раствора.

Кровь у экспериментальных крыс отбирали из латеральной хвостовой вены двукратно: через 3 и через 6 месяцев после введения лимфоцитов. Исследование общего анализа крови выполняли на гематологическом анализаторе автоматического типа PCE-90VET (USA). Наличие *BLV*-инфекции у крыс опытной группы устанавливали методом ПЦР на оборудовании Bio-Rad (USA) с использованием набора Лейкоз (ИЛС, Россия).

При сравнительной оценке данных общего анализа крови (ОАК) мы использовали результаты исследований, полученные нами при пероральном воспроизведении *BLV*-инфекции у крыс (путем выпаивания им молока инфицированных и больных лейкозом коров), ориентируясь на референсные значения для крыс линии Wistar, при этом эталонными считали результаты исследований контрольных групп [3].

Общий анализ крови крыс через 3 месяца с начала эксперимента выявил выраженный в той или иной степени лимфолейкоз у 75% животных и лейкоцитоз со сдвигом нейтрофильного ядра влево. Количество лимфоцитов крови крыс опытной группы было на 17-36% больше, чем у животных контрольной группы, лейкоцитов – в среднем на 30%, при этом количество сегментоядерных нейтрофилов возрастало в среднем на 39%. У некоторых крыс опытной группы отмечался незначительный тромбоцитоз при увеличении среднего объема тромбоцитов, у других животных, напротив, отмечали тромбоцитопению. Кроме того, у животных опытной группы присутствовали признаки эритроцитарной аплазии, гемолитической или апластической анемии. У отдельных животных отмечали маркеры аллергии.

Исследования крови крыс через 6 месяцев после начала эксперимента показали сохранение наметившихся тенденций. Стоит отметить, что при индивидуальном отслеживании гематологических показателей через 3 и 6 месяцев после заражения, было установлено, что у 80% животных степень выраженности лимфолейкоза изменялась в значительных пределах. Это

позволяет нам предположить наличие цикличности инфекционного процесса по аналогии с цикличностью лейкозного процесса у крупного рогатого скота. Нейтрофильный лимфоцитоз и признаки нарушения в эритроцитарном звене крови сопровождали животных на всем этапе исследования. К 6-му месяцу после инфицирования увеличилось количество животных с маркерами аллергии.

Полученные нами данные подтверждают восприимчивость гетерологичных для *BLV*-инфекции животных к данному вирусу. Это обуславливает необходимость ужесточения мер по контролю за распространением *BLV*-инфекции [6, 7, 10] и совершенствования комплекса мероприятий по борьбе с данным заболеванием у крупного рогатого скота [10, 11, 12].

Таким образом, при сравнительном анализе данных исследования крови крыс с пероральным и внутрибрюшинным способами заражения было установлено, что характерные для лейкозной инфекции признаки развивались у них более стремительно при внутрибрюшинном способе заражения. Характерным было также то, что количество животных с маркерами аллергической реакции при внутрибрюшинном заражении было несколько меньше, чем при пероральном. Полученные нами данные позволяют рекомендовать внутрибрюшинный способ заражения лабораторных крыс взвесью лимфоцитов инфицированного скота для более быстрого воспроизведения экспериментальной *BLV*-инфекции.

Список литературы

1. Биохимические изменения крови крыс линии Wistar при экспериментальной *BLV*-инфекции / Е.С. Красникова и др. // Инновации и продовольственная безопасность. - 2019. - № 2 (24). - С. 69-75.

2. Внедрение инновационных подходов изучения морфофункциональных характеристик лимфоцитов крупного рогатого скота при ретровирусных инфекциях / Д.А. Артемьев, А.В. Красников, Е.С. Красникова, С.В. Козлов // Современные проблемы и перспективы развития

агропромышленного комплекса: сборник статей по итогам Международной научно-практической конференции. – Саратов: Амирит, 2019. - С. 33-36.

3. Гематологические показатели крыс линии wistar при экспериментальной BLV-инфекции / Е.С. Красникова и др. // Инновации и продовольственная безопасность. - 2018. - № 4 (22). - С. 138-145.

4. Красникова, Е.С. Гемато-биохимический статус коров при BLV- и BIV-инфекции / Е.С. Красникова, В.А. Агольцов, А.В. Кудинов // Научная жизнь. - 2016. - № 2. - С. 159-167.

5. Красникова, Е.С. Иммуно-биологические проявления ретровирусных инфекций крупного рогатого скота / Е.С. Красникова, А.В. Кудинов, А.С. Белякова // Научная жизнь. - 2015. - № 1. - С. 168-175.

6. Красникова, Е.С. Новые аспекты необходимости ужесточения мер контроля над энзоотическим лейкозом крупного рогатого скота / Е.С. Красникова, Т.А. Плютина // Современные проблемы ветеринарной онкологии и иммунологии: материалы Международной научно-практической конференции. – Саратов: ИЦ «Наука», 2014. - С. 124-128.

7. Красникова, Е.С. О необходимости ужесточения мер контроля над энзоотическим лейкозом крупного рогатого скота / Е.С. Красникова, Т.А. Плютина // Труды Кубанского государственного аграрного университета. - 2014. - № 50. - С. 131-133.

8. Красникова, Е.С. Ретровирусные инфекции сельскохозяйственных животных / Е.С. Красникова // Фундаментальные и прикладные проблемы повышения продуктивности животных и конкурентоспособности продукции животноводства в современных экономических условиях АПК РФ: материалы Международной научно-практической конференции. – Ульяновск: Ульяновский государственный аграрный университет им. П.А. Столыпина, 2015. - С. 324-326.

9. Ларионова, О.С. Анализ инфицированности крупного рогатого скота ретровирусными инфекциями в Саратовской области / О.С. Ларионова, А.В. Красников, Г.Х. Утанова // Аграрный научный журнал. - 2015. - № 2. - С. 15-18.

10. Научное и практическое обоснование необходимости внедрения новых средств и способов контроля распространения энзоотического лейкоза крупного рогатого скота / Е.С. Красникова, О.С. Ларионова, В.А. Агольцов, А.В. Красников // Аграрная наука: поиск, проблемы, решения: материалы Международной научно-практической конференции. – Волгоград: Волгоградский государственный аграрный университет, 2015. - С. 236-240.

11. Научно-практические и социально-экономические аспекты в разработке комплекса мероприятий по борьбе с лейкозом крупного рогатого скота / Е.С. Красникова, В.А. Агольцов, О.С. Ларионова, А.В. Красников // Актуальные проблемы и перспективы развития ветеринарной медицины, зоотехнии и аквакультуры: материалы Международной научно-практической конференции. – Саратов: Научная книжка, 2016. - С. 81-84.

12. Новый подход к разработке противозепизоотических мероприятий при *BLV*-инфекции и его научное обоснование / Е.С. Красникова, В.А. Агольцов, О.С. Ларионова, А.В. Красников // Научная жизнь. - 2015. - № 6. - С. 157-165.

13. Сравнительная диагностическая оценка серологического и молекулярно-генетического методов лабораторных исследований на лейкоз крупного рогатого скота / Агольцов В.А. и др. // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. - 2012. - № 4 (90). - С. 56-59.

14. Утанова, Г.Х. Применение полимеразной цепной реакции для детекции возбудителя энзоотического лейкоза / Г.Х. Утанова, Е.С. Красникова // Вестник ветеринарии. - 2014. - № 3 (70). - С. 27-29.

15. Эпизоотологические особенности и лабораторная диагностика лейкоза крупного рогатого скота в хозяйствах Татищевского района Саратовской области / В.А. Агольцов и др. // Вестник Саратовского госагроуниверситета им. Н.И. Вавилова. - 2012. - № 1. - С. 3-7.

16. Comparative analysis of cats' lymphocytes structural features with and without retroviral infection using atomic force microscopy / E.S. Krasnikova et al. // Journal of Physics: Conference Series. - 2019. - № 1399. - С. 22013.

17. Analysis of hemo-biochemical status of cows infected with retroviruse / E.S. Krasnikova et al. // Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences. - 2018. - Т. 9. - № 3. - С. 1122-1128.

18. Hemato-biochemical status of laboratory mice with a GM corn based diet / E.S. Krasnikova et al. // IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. - 2019. - № 315. - С. 42005.

19. Population and biological preconditions for the cattle retroviruses' expansion / D. Abdessemed, E.S. Krasnikova, V.A. Agoltsov, A.V. Krasnikov // Теоретическая и прикладная экология. - 2018. - № 3. - С. 116-124.

20. The hematobiochemical status of wistar rat line under the bovine leukemia virus experimental infection / E.S. Krasnikova et al. // Veterinary World. - 2019. - Т. 12. - № 3. - С. 382-388.

21. The study of the structural features of the lymphocytes from cattle with and without retroviral infection using atomic force microscopy / D.A. Artemev et al. // Progress in Biomedical Optics and Imaging - Proceedings of SPIE 5, Optical Technologies in Biophysics and Medicine. - 2018. – Vol. 10716. - С. 107160G.

УДК 619:576.3:599.735.51:578.828

А.С. Белякова

Мичуринский государственный аграрный университет, г. Мичуринск,
Россия

ЦИТОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ BLV-ИНФЕКЦИИ

Аннотация. В статье описаны цитологические исследования мазки-отпечатки селезенки *BLV*-инфицированных крыс линии Wistar позволяющие нам выявить присутствие в мазках-отпечатках селезенки крыс не свойственные для интактных животных клеточные элементы, свидетельствующие о

присутствии у них аденокарциномы, гиперплазии, фибросаркомы и мастоцитомы селезенки.

Ключевые слова: цитологические исследования, мазки отпечатки, крысы, клеточные элементы.

A. S. Belyakova

Michurinsky State Agrarian University, Michurinsk, Russia

CYTOLOGICAL STUDIES IN EXPERIMENTAL BLV INFECTION

Annotation. The article describes cytological studies of spleen smears of BLV-infected Wistar rats that allow us to detect the presence of cell elements that are not typical for intact animals in rat spleen smears, indicating the presence of adenocarcinoma, hyperplasia, fibrosarcoma and mastocytoma of the spleen.

Keywords: cytological studies, smears, fingerprints, rats, cell elements.

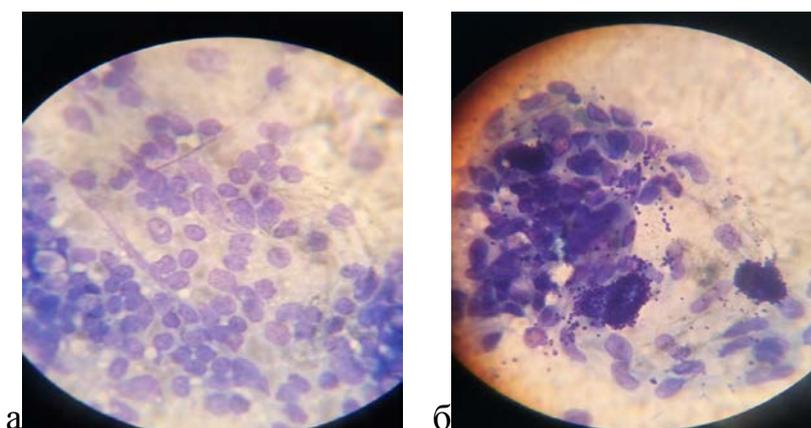
Ретровирусные заболевания довольно распространены, как среди мелких непродуктивных, так и среди продуктивных домашних животных [9, 10]. Актуальность проблемы распространения ретровирусных инфекций животных заключается в том, что до сих пор не доказана невосприимчивость к ним человека [5, 6]. Другая особенность заболеваний, вызываемых ретровирусми, заключается в том, что, паразитируя в иммунокомпетентных клетках, возбудитель провоцирует изменение их морфофункциональных свойств [3, 13], что влечет за собой нарушение гомеостаза и иммунной реактивности организма животного [4, 14]. Следствием изменения иммунобиологических свойств и гомеостаза организма животного является то, что традиционные методы диагностики данных заболеваний могут быть не эффективными в отношении животных, находящихся в латентной стадии инфекции или в состоянии иммуносупрессии [11, 12]. Таким образом, изучение ретровирусов и поиск путей, препятствующих их распространению, является актуальной задачей ветеринарной вирусологии.

Лейкоз крупного рогатого скота (возбудитель – *BLV*) является ретровирусной инфекцией, наносящей значительный ущерб животноводству не только в Российской Федерации, но и во всем мире [15]. Последние исследования выявили, что к возбудителю лейкоза крупного рогатого скота восприимчивы крысы линии Wistar. Гематологические исследования инфицированных крыс показали, что изменения в их организме имеют высокую степень гомологии с изменениями в организме естественных хозяев данного возбудителя [1, 2, 16]. По имеющимся данным, морфологические изменения органов и тканей животных с ретровирусными заболеваниями имеют определенную специфику и выраженную тенденцию [7, 8].

Целью наших исследований явилось изучить цитологические изменения в селезенке *BLV*-инфицированных крыс линии Wistar.

Материал и методы. Материалом для исследования послужили мазки-отпечатки селезенки *BLV*-инфицированных крыс линии Wistar (через 3, 6, 9 и 12 месяцев после инфицирования). В качестве контроля использовали мазки-отпечатки селезенки интактных крыс. Мазки фиксировали и окрашивали набором «Лейкодиф 200». Просматривали на биомедицинском микроскопе «Биомед 5» при увеличении $\times 400$ и $\times 1000$.

Результаты исследований. Цитологические исследования позволили нам выявить присутствие в мазках-отпечатках селезенки крыс не свойственные для интактных животных клеточные элементы, свидетельствующие о присутствии у них аденокарциномы, гиперплазии, фибросаркомы и мастоцитомы селезенки (рис. 1).



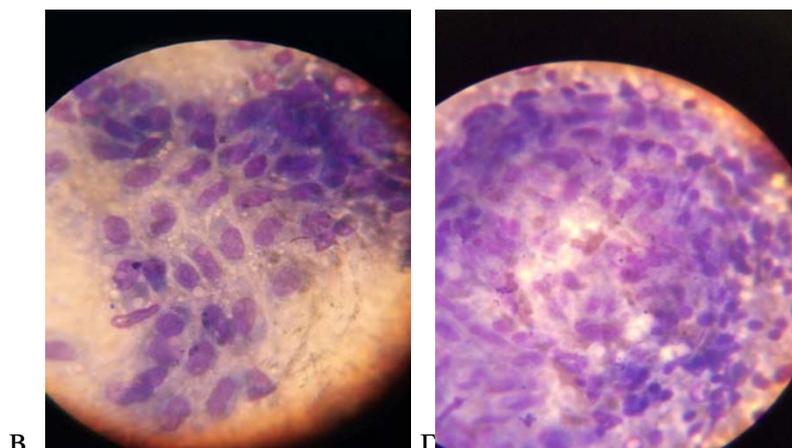


Рисунок 1. а - Гиперплазия, б - фибросаркома, в – мастоцитомы, г - аденокарцинома селезенки (x400)

Как показано на рисунке 1, в цитограмме помимо зрелых лимфоцитов, нейтрофилов и эозинофилов на фоне базофильного межклеточного вещества обнаруживали лимфобласты, centroциты, центробласты, плазматические клетки, гистиоциты и мастоциты. В ряде случаев обнаруживались атипичные клетки эпителиального и мезенхимального происхождения с высоким ядерно-цитоплазматическим отношением. У некоторых атипичных клеток отмечалось неравномерное распределение хроматина, утолщение ядерной оболочки, увеличение ядрышек.

Заключение. Выявленные нами изменения в цитограмме селезенки исследованных животных свидетельствуют, что *BLV*-инфекция у крыс сопровождается характерными для злокачественных процессов явлениями, что позволяет нам рекомендовать их в качестве лабораторной модели для изучения морфогенеза лейкоза крупного рогатого скота на клеточном уровне.

Список литературы

1. Биохимические изменения крови крыс линии wistar при экспериментальной *BLV*-инфекции / Е.С. Красникова и др. // Инновации и продовольственная безопасность. - 2019. - № 2 (24). - С. 69-75.

2. Гематологические показатели крыс линии wistar при экспериментальной BLV-инфекции / Е.С. Красникова и др. // Инновации и продовольственная безопасность. - 2018. - № 4 (22). - С. 138-145.

3. Изучение структурно-функционального состояния лимфоцитов здоровых и FeLV-инфицированных кошек методом атомно-силовой микроскопии / Е.С. Красникова, О.В. Столбовская, Д.А. Артемьев, Б.Б. Костишко // Научная жизнь. - 2014. - № 6. - С. 156-162.

4. Красникова, Е.С. Гематологические показатели FIV-инфицированных кошек / Е.С. Красникова, А.В. Кудинов // Вестник ветеринарии. - 2012. - № 1 (60). - С. 23-25.

5. Красникова, Е.С. Новые аспекты необходимости ужесточения мер контроля над энзоотическим лейкозом крупного рогатого скота / Е.С. Красникова, Т.А. Плютина // Современные проблемы ветеринарной онкологии и иммунологии: материалы Международной научно-практической конференции. - Саратов: ИЦ «Наука», 2014. - С. 124-128.

6. Красникова, Е.С. О необходимости ужесточения мер контроля над энзоотическим лейкозом крупного рогатого скота / Е.С. Красникова, Т.А. Плютина // Труды Кубанского государственного аграрного университета. - 2014. - № 50. С. 131-133.

7. Красникова, Е.С. Патоморфологические и гистологические закономерности при развитии СПИДа у кошек / Е.С. Красникова, А.С. Белякова // Современные проблемы ветеринарной онкологии и иммунологии: материалы Международной научно-практической конференции. - Саратов: Саратовский ГАУ, 2014. - С. 129-133.

8. Красникова, Е.С. Патоморфологические изменения при развитии СПИДа у кошек / Е.С. Красникова, А.С. Белякова // Современные проблемы анатомии, гистологии и эмбриологии животных: V Всероссийская научная Интернет-конференция с международным участием. – Казань: ИП Синяев Д.Н., 2014. - С. - 92-95.

9. Красникова, Е.С. Эпизоотическая ситуация по вирусному иммунодефициту крупного рогатого скота в городе Саратове и Саратовской области / Е.С. Красникова // Вестник ветеринарии. - 2011. - № 4 (59). - С. 70-71.
10. Красникова, Е.С. Эпизоотология вирусного иммунодефицита кошек в городе Саратове и Саратовской области / Е.С. Красникова, В.В. Анников // Вестник ветеринарии. - 2011.- № 4 (59). - С. 99-100.
11. Марушева, Ю.А. Совершенствование диагностики вирусного иммунодефицита кошек / Ю.А. Марушева, Е.С. Красникова // Вестник ветеринарии. - 2014. - № 3 (70). - С. 29-32.
12. Сравнительный анализ эффективности ПЦР и ИХА при диагностике вирусных иммунодефицитов и лейкозов животных / Е.С. Красникова, В.А. Агольцов, А.А. Щербаков, О.Е. Семёнова // Вестник ветеринарии. - 2012. - № 4 (63). - С. 60-62.
13. Comparative analysis of cats' lymphocytes structural features with and without retroviral infection using atomic force microscopy / E.S. Krasnikova et al. // Journal of Physics: Conference Series. – Krasnoyarsk: Institute of Physics and IOP Publishing Limited, 2019. - С. 22013.
14. Analysis of hemo-biochemical status of cows infected with retroviruse / E.S. Krasnikova et al. // Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences. - 2018. - Т. 9. - № 3. - С. 1122-1128.
15. Population and biological preconditions for the cattle retroviruses' expansion / D. Abdessemed, E.S. Krasnikova, V.A. Agoltsov, A.V. Krasnikov // Теоретическая и прикладная экология. 2018. № 3. С. 116-124.
16. The hematobiochemical status of wistar rat line under the bovine leukemia virus experimental infection / E.S. Krasnikova et al. // Veterinary World. - 2019. - Т. 12. - № 3. - С. 382-388.

УДК 636.22/.28.084:636.087.74

**Н.П. Буряков¹, М.А. Бурякова¹, И.А. Касаткина², Л.В. Смирнова³,
А.С. Заикина¹, А.Э. Ставцев⁴, Д.Е. Алешин¹**

¹ФГБОУ ВО «Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева, г. Москва, Россия

²Сельскохозяйственный производственный кооператив «Племзавод Майский», п. Майский, Вологодская обл., Россия

³ФГБОУ ВО «Вологодская государственная молочнохозяйственная академия имени Н.В. Верещагина», п. Молочное, Вологодская обл., Россия

⁴Общество с ограниченной ответственностью "Научно-производственное объединение «Агро-Матик», п. Молочное, Вологодская обл., Россия

ВЛИЯНИЕ БЕЛКОВОГО КОНЦЕНТРАТА НА ПРОДУКТИВНОСТЬ И ПЕРЕВАРИМОСТЬ ПИТАТЕЛЬНЫХ ВЕЩЕСТВ РАЦИОНОВ КОРОВ

Аннотация. В статье представлены экспериментальные данные научно-хозяйственного опыта по применению разного уровня белкового концентрата в рационе лактирующих коров с высокой долей нерасщепляемого в рубце протеина.

Показана молочная продуктивность коров в период раздоя, переваримость питательных веществ рационов. При введении в рацион коров 1,5 кг белкового концентрата валовой удой молока натуральной жирностью жирности был достоверно выше по отношению к контролю и составил 4297,5 кг молока за период раздоя.

Ключевые слова: кормление, корма, белковый концентрат, нерасщепляемый протеин, аминокислоты, молочная продуктивность, переваримость.

N.P. Buryakov¹, M.A. Buryakov¹, I.A. Kasatkina², L.V. Smirnova³, A.S. Zaikina¹, A.E. Stavtcev⁴, D.E. Aleshin¹

¹Russian State Agrarian University - Moscow Agricultural Academy named after K.A. Timiryazev, Moscow, Russia

²Agricultural production cooperative "Maysky Plemzavod", Maysky settlement, Vologda region, Russia

³Vologda State Dairy Academy named after N.V. Vereshchagin ", p. Molochnoye, Vologda region, Russia

⁴Limited Liability Company "Scientific and Production Association" Agro-Matic ", p. Molochnoye, Vologda Region, Russia

EFFECT OF PROTEIN CONCENTRATE ON PRODUCTIVITY AND DIGESTIBILITY OF NUTRIENTS IN COWS ' DIETS

Annotation. The article presents experimental data of scientific and economic experience on the use of different levels of protein concentrate in the diet of lactating cows with a high proportion of non-cleavable protein in the rumen.

Dairy productivity of cows during the period of milking, digestibility of nutrients of diets is shown. When introduced into the diet of 1.5 kg of protein concentrate, the gross milk yield with natural fat content was significantly higher in relation to the control and amounted to 4297.5 kg of milk for the period of separation.

Keywords: feeding, feed, protein concentrate, non-split protein, amino acids, milk productivity, digestibility.

В России и за рубежом важное внимание уделяется вопросам протеинового и аминокислотного питания высокопродуктивного молочного скота. Недостаток протеина и незаменимых аминокислот в рационе коров в полной мере не может восполняться за счет микробного синтеза белка. В связи с этим полноценный белок кормовых средств у коров с высокой и рекордной молочной продуктивностью должен поступать в неизменном виде в кишечник, избегая переваримости в рубце и обеспечивать животных незаменимыми аминокислотами для синтеза молока и образования плода [1, 4, 5].

Целью исследования являлось изучение включения в состав рациона разного уровня белкового концентрата «Агро-Матик» для молочного скота взамен других белковых кормов.

Материал и методика исследований. Исследования проводили в хозяйстве СХПК «Племзавод Майский» Вологодской области. Объектом

исследования являлись чистопородные нетели во вторую половину стельности, первотелки и высокопродуктивные коровы старшего возраста айрширской породы с молочной продуктивностью более 8000 кг молока. Животных отбирали по методу пар-аналогов на 8-ом месяце стельности с учетом происхождения, пола, возраста, живой массы, молочной продуктивности за предыдущую лактацию, физиологического состояния. Коровы и нетели были распределены на 3 подопытные группы по 15 голов в каждой.

Животные контрольной группы получали основной рацион, применяемый в хозяйстве, который был сбалансирован по питательности, соответствовал рекомендациям по детализированному кормлению молочного скота (ВИЖ) [6] и рассчитан на получение суточного удоя 39 кг молока в период раздоя. Коровы контрольной группы получали основной рацион, применяемый в хозяйстве, однако в состав рациона опытных групп коров включали разный уровень белкового концентрата «Агро-Матик» (1,0 и 1,5 кг соответственно) с одновременным снижением уровня других белковых кормов. Рационы по содержанию обменной энергии и сырого протеина соответствовали уровню контрольной группе.

Качество молока и продуктивность коров в течение опыта измеряли методом контрольных доений с одновременным определением массовой долей жира и белка. В молоке определяли процент молочного жира согласно стандартной методике по Герберу [2] и массовую долю белка методом определения общего азота по Кьельдалю [3].

Биометрическая обработка полученных экспериментальных данных была выполнена на ПК с использованием современных программ Microsoft Office Excel (2010) с помощью метода математической статистики по В.С. Антоновой, Г.М. Топурия, В.И. Косилу (2011).

Результаты. В процессе проведения опыта учитывали такие показатели, как суточный и валовой удой молока натуральной и 4%-й жирности, массовую долю молочного белка и жира, выход молочного белка и жира.

Анализируя валовой удой молока натуральной жирности, был достоверно выше у животных 3-ей опытной группы, где составил 4297,5 кг молока против 3910,1 кг в контроле. При этом следует обратить внимание на то, что валовой удой при пересчете на 4 % молоко было отмечено увеличение этого показателя во 2-ой и 3-ей опытной группах коров. Так, коровы этих групп превосходили животных, не получавших белковый концентрат на 231,9 кг и 387,4 кг молока соответственно. Использование белкового концентрата в количестве 1,0 кг способствовало повышению в молоке коров массовой доли молочного белка и жира. Однако при пересчете на валовой выход жира и белка молока было отмечено достоверное увеличение этого показателя у животных, получавших в составе рациона белковый концентрат в количестве как 1,0 кг, так и 1,5 кг соответственно. Валовой выход жира и белка молока коров у опытных групп составили по содержанию жира – 137,7 кг во 2-ой опытной группе, 141,4 кг во 2-ой опытной группе, а достоверные различия по содержанию были только у коров, получавших 1,5 кг белкового концентрата в составе рациона.

Переваримость протеина в желудочно-кишечном тракте коров зависит от состава аминокислот, структурной связи в составе белка, соотношению разных фракций, степени расщепления, растворения, скорости распада белка на отдельные аминокислоты в процессе пищеварения, дисперсности [1, 7, 8].

Анализируя результаты балансового опыта и способность животных к перевариванию питательных веществ, следует отметить, что включение в рационы лактирующих коров белкового концентрата «Агро-Матик» в количестве 1,0-1,5 кг на голову в сутки положительно сказалось на коэффициентах переваримости некоторых питательных веществ. Коровы контрольной группы уступали коровам из 2-ой опытной группы по переваримости сухого вещества на 3,20 %; органического – на 2,7 %; сырого протеина – на 5,90 %; БЭВ – на 3,3 %. При этом переваримость сырого жира и сырой клетчатки в контрольной группе оказалась выше, чем у животных опытных групп и составила 71,2 % и 59,9 % соответственно.

Комплексные исследования в условиях СХПК «Племзавод Майский» позволяют сделать следующие выводы: включение белкового концентрата «Агро-Матик» в количестве 1,5 кг/гол/сутки способствовало достоверному увеличению суточного удоя молока коров натуральной жирности. Выход молочного белка за период раздоя был достоверно выше у животных, получавших разный уровень белкового концентрата по сравнению с животными контрольной группы. Применение белкового концентрата «Агро-Матик» в количестве 1,0 кг в составе рациона оказало благоприятное воздействие на переваримость сырого протеина. Так, переваримость сырого протеина в рационе с 1,0 кг белкового концентрата составила 73,9 %, что было достоверно выше против 68,0 % в рационе без белкового концентрата.

Список литературы

1. Буряков, Н.П. Кормление высокопродуктивного молочного скота: Монография / Н.П. Буряков. – М.: Проспект, 2009. – 416 с.
2. ГОСТ 5867-1990 Молоко и молочные продукты. Методы определения жира. Введ. 07.01.1991. – М.: Стандартинформ, 2009. – 15 с.
3. ГОСТ Р 55246-2012 Молоко и молочные продукты. Определение содержания небелкового азота с применением метода Кьельдаля. Дата введения 01.01.2014. – М.: Стандартинформ, 2013. – 11 с.
4. Гунькова, П.И. Биотехнологические свойства белков молока: Монография / П.И. Гунькова, К.К. Горбатова. – СПб.: Гиорд, 2015. – 216 с.
5. Миколайчик, И.Н. Влияние комплексных биотехнологических кормовых добавок на продуктивность и качество молока коров / И.Н. Миколайчик, Л.А. Морозова [и др.] // Аграрный вестник Урала. – 2018. – №10(177). – С. 29-34.
6. Рекомендации по детализированному кормлению молочного скота: Справочное пособие / А.В. Головин, [и др.]. – Дубровицы: ВИЖ, 2016. – 242 с.
7. Barchiesi-Ferrari C. & Anrique R. 2011. Ruminant Degradability of Dry Matter and Crude Protein from Moist Dehulled Lupin and Extruded Rapeseed Meal. Chilean Journal of Agricultural Research. 71(3): 430-436.

8. Burgos Zimbelman R. and. Collier R.J. Feeding Strategies for High-Producing Dairy Cows During Periods of Elevated Heat and Humidity Tri-State Dairy Nutrition Conference, April 19 and 20, 2011

УДК 579.64

¹*Е.Н. Волкова, ¹А.Г. Здоровцева, ²А.С. Галушко, ²А.С. Журавлева, ²Г.Г. Панова*

¹Санкт-Петербургский государственный университет промышленных технологий и дизайна, Высшая школа технологии и энергетики г. Санкт-Петербург, Россия

²Агрофизический научно-исследовательский институт, г. Санкт-Петербург, Россия

ПОИСК ТЕРМОФИЛЬНЫХ НЕФТЕРАЗРУШАЮЩИХ ПОЧВЕННЫХ БАКТЕРИЙ НА МЕСТЕ НЕСАНКЦИОНИРОВАННОЙ СВАЛКИ НА ОКРАИНЕ Г. САНКТ-ПЕТЕРБУРГА

Аннотация. В статье описывается процесс получения накопительной культуры термофильных аэробных нефтеразрушающих микроорганизмов, извлеченных из почвы на месте свалки отходов.

Ключевые слова: нефтезагрязнение почвы, биодеструкция, накопительная культура, нефтедеструкторы, микроорганизмы.

¹*E.N. Volkova, ¹A.G. Zdorovceva., ²A.S. Galushko, ²A.S. Zhuravleva, ²G.G. Panova*

¹ St Petersburg State University of Industrial Technology and Design, Graduate School of Technology and Energy, St. Petersburg, Russia

² Agrophysical Research Institute, St. Petersburg, Russia

SEARCH FOR THERMOPHILIC OIL-DESTROYING SOIL BACTERIA AT THE SITE OF AN UNAUTHORIZED LANDFILL ON THE OUTSKIRTS OF ST. PETERSBURG

Annotation. The article describes the process of obtaining a cumulative culture of thermophilic aero-explosive microorganisms

Keywords: soil pollution, biodestruction, cumulative culture, oil refiners, microorganisms.

В настоящее время актуальной проблемой является загрязнение почв нефтью и нефтепродуктами. Источниками загрязнения являются предприятия нефтедобычи, газодобычи, нефтепереработки, транспорта нефти и нефтепродуктов. Механические, физические и химические способы очистки зачастую являются дорогостоящими, трудоемкими и не всегда безопасными, поэтому возможность использования для очистки загрязнений микроорганизмов, способных расти и проявлять активную деятельность в среде с высоким содержанием нефтепродуктов и способных к биодеструкции этих веществ, можно считать перспективным и эффективным средством.

При нефтяном загрязнении тесно взаимодействуют три группы факторов:

1) сложность состава нефти, находящегося в процессе постоянного изменения;

2) сложность, гетерогенность состава и структуры любой экосистемы, находящихся в процессе постоянного развития и изменения;

3) многообразие и изменчивость внешних факторов, влияющих на экосистему (температура, влажность, давление и др.).

Действие нефтепродуктов на почвенный микробоцез многообразно: подавляется дыхательная активность и микробное самоочищение, изменяется соотношение между отдельными группами естественных микроорганизмов, угнетаются процессы азотфиксации, нитрификации, разрушения целлюлозы, происходит накапливание трудно окисляемых продуктов.

Цель исследования – культивирование штаммов микроорганизмов, способных к деструкции нефтепродуктов фракций различной тяжести (нефть, гексадекан, толуол).

Объект – загрязненная почва, отобранная в зоне влияния несанкционированной свалки, вблизи шиномонтажного комплекса (Санкт-Петербург, Кудрово).

Предмет – способность микроорганизмов разрушать нефть и углеводороды. На месте свалки преобладали отходы с находящегося в непосредственной близости шиномонтажного комплекса, такие как обрезки резины (шиноремонтные работы), обтирочный материал, загрязненный маслами (содержание масел менее 15 %), отходы изделий из пластмасс в смеси, загрязненных нефтепродуктами (содержание нефтепродуктов менее 15%) и т.д. [1]. Площадь территории, подвергшейся загрязнению, составляла около 4252 м². С данной территории с различных мест были отобраны почвенные пробы с глубины 20 см. Затем они помещались в стерильные емкости для дальнейшего посева микроорганизмов на питательные среды.

Первый этап исследования заключался в получении накопительных культур микроорганизмов. Для посева микроорганизмов использовалась среда Ворошиловой – Диановой (ВД). Среду стерилизовали в автоклаве при температуре 120⁰С и давлении 1 атм. Затем, 5мл среды помещали в стерильные пробирки, в которые вносили около 0,5 г почвы. Так как нефть представляет смесь линейных насыщенных и ароматических углеводородов, для выявления микроорганизмов, способных разрушать различные углеводороды, мы использовали в качестве субстратов нефть, гексадекан – линейный насыщенный углеводород, толуол – ароматический моноциклический углеводород. Субстраты в каждую пробирку вносились по отдельности: нефть – 50 мкл, гексадекан (C₁₆H₃₄) – 90 мкл и толуол- 30 мкл. Так как толуол является токсичным для живых организмов, для снижения токсичности применялся ГМН 98 %, который не может быть поглощен микроорганизмами, но делает толуол более доступным к усвоению. Все манипуляции со стерильными

средами и посудой проводили в стерильном боксе. Термостатирование проводили при 60°C, необходимой для роста термофильных бактерий.

По мере появления мутности (проявление роста микроорганизмов) инокулом — часть суспензионной культуры, [2] переносился в среду со свежим субстратом для уменьшения микроорганизмов, которые используют для своего роста питательные вещества, внесенные вместе с почвой. Таким образом, в каждой новой пробирке увеличивалось количество микроорганизмов, питающихся за счет субстрата. Получение накопительных культур стабильно растущих за счет разрушения нефти было достигнуто путем последовательных пересевов на соответствующих субстратах. Микроорганизмы, растущие на нефти, были пересеяны 5 раз, на гексадекане – 3, на толуоле с ГМН – 4. Это было сделано для того, чтобы «отсеять» посторонние микроорганизмы, не являющиеся нефтеразрушающими. Полученные накопительные культуры микроорганизмов, стабильно растущие на использованных нами субстратах, были использованы для выделения чистых культур.

Второй этап исследования включал в себя выделение чистых культур микроорганизмов. Для выделения чистых культур из накопительных необходима среда ГРМ – агар. Среду стерилизовали и разливали в стерильные чашки Петри в объеме 12-15 мл на одну чашку. Методом истончающегося штриха были получены отдельные колонии, которые были пересеяны на «скошенные среды» ГРМ в пробирках. Таким образом, из накопительных культур, растущих на нефти, было получено – 3 штамма микроорганизмов, на гексадекане – 3 штамма, на толуоле – 1 штамм (таблица 1). В дальнейшем была произведена проверка выделенных культур бактерий на способность к разрушению углеводов методом посева колоний со «скошенной» среды ГРМ в жидкую среду ВД с субстратами. Посев производится петлей (штрихами). По мере роста культур, извлекали отдельные колонии, которые высевали заново на стерильную среду для получения чистой культуры. Также

для контроля чистоты культуры производили микроскопирование на микроскопе ZEISS, оснащенный фазово-контрастным устройством.

Таблица 1

Наблюдение за термофильными нефтедеструкторами

Вид субстрата	День эксперимента	Описание поведения в пробирке
нефть	6	Наблюдается рост, микроорганизмы пересеяны в обновленную среду с обновленным субстратом
нефть	8	Наблюдается рост, образуется мутность
толуол	8	Наблюдается рост, образуется мутность. Микроорганизмы пересеяны в обновленную среду с обновленным субстратом с обеих пробирок
нефть	10	Наблюдается рост, образуется мутность
гексадекан	10	Наблюдается рост, образуется мутность
нефть	13	Микроорганизмы пересеяны в обновленную среду с обновленным субстратом
гексадекан	13	Микроорганизмы пересеяны в обновленную среду с обновленным субстратом
нефть	15	Наблюдается рост, образуется мутность
гексадекан	15	Наблюдается рост, образуется мутность. В пробе № 2 мутность сильнее, чем в №6. Микроорганизмы пересеяны в обновленную среду с обновленным субстратом с обеих пробирок
нефть	16	Наблюдается рост
нефть	20	Наблюдается рост
гексадекан	20	Наблюдается рост, образуется мутность. В пробе № 2 мутность сильнее, чем в №6.
нефть	21	Наблюдается сильная мутность, Микроорганизмы пересеяны в обновленную среду с обновленным субстратом с обеих пробирок.
гексадекан	21	Наблюдается рост, образуется мутность. В пробе № 2 мутность сильнее, чем в №6. Микроорганизмы пересеяны в обновленную среду с обновленным субстратом с обеих пробирок
нефть	23	Наблюдается сильная мутность. В пробе № 2 мутность сильнее, чем в №6.
гексадекан	23	Наблюдается рост, образуется мутность. В пробе № 2 мутность сильнее, чем в №6.
нефть	28	Микроорганизмы пересеяны в обновленную среду с обновленным субстратом с обеих пробирок
гексадекан	28	Микроорганизмы пересеяны в обновленную среду с обновленным субстратом с обеих пробирок

При микроскопировании среды выросших культур с толуолом и ГМН, а также с нефтью были обнаружены подвижные палочки разных размеров, а с гексадеканом были обнаружены подвижные кокки.

Таким образом, получены накопительные культуры термофильных аэробных нефтеразрушающих бактерий, которые опривлены на секвенирование для установления рода. В дальнейшем, полученная накопительная культура может послужить основой для создания штамма микроорганизмов, предназначенного для ремедиации нефтезагрязненной почвы. Подобная микробная биомасса при внесении не будет чужеродной для почвенной микрофлоры. Кроме того деструкторы должны иметь высокую жизнестойкость и непатогенность, что будет изучаться в последующих экспериментах.

Список литературы

1. Об утверждении Федерального классификационного каталога отходов (Зарегистрировано в Минюсте России 08.06.2017 N 47008) [электрон. Ресурс]: Режим доступа: <http://www.consultant.ru/> (дата обращения 14.03.2020).

2. Биотехнологии.рф [электрон. Ресурс]: словарь терминов. Режим доступа: <http://xn—90aeflcasphcb7b1b.xn—p1ai/terms/164> (дата обращения 15.03.2020).

УДК 579.62

А.П. Воротников

Ульяновский государственный аграрный университет имени П.А. Столыпина, г. Ульяновск, Россия

ИЗУЧЕНИЕ ВОЗМОЖНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ АЗИДА НАТРИЯ ПРИ КОНСТРУИРОВАНИИ СЕЛЕКТИВНОЙ СРЕДЫ ДЛЯ *Y.RUCKERI*

Аннотация. В статье описано воздействие азида натрия на бактерию *Yersinia ruckeri*. В ходе исследований удалось установить, что при постоянной концентрации азида натрия рост бактерии *Y.ruckeri* отсутствует, но если

обеспечить постоянное снижение концентрации, то микроорганизм растёт достаточно активно.

Ключевые слова: азид натрия, *Yersinia ruckeri*, иерсиниоз рыб.

A.P. Vorotnikov

Ulyanovsk state agricultural University named after p. A. Stolypin, Ulyanovsk, Russia

STUDY OF THE POSSIBILITY OF USING SODIUM AZIDE IN THE DESIGN OF A SELECTIVE MEDIUM FOR YERSINIA RUCKERI

Annotation. The article describes the effect of sodium azide on the bacterium *Yersinia ruckeri*. In the course of research, it was found that at a constant concentration of sodium azide, the growth of the bacterium *Y. ruckeri* is absent, but if a constant decrease in concentration is provided, the microorganism grows quite actively.

Keywords: sodium Azide, *Yersinia ruckeri*, fish Yersiniosis.

Целью данной работы являлось изучение воздействия азиды натрия на рост бактерий *Y.ruckeri*.

Введение

В настоящее время *Y.ruckeri* является широко распространённым инфекционным агентом рыб [1, 2]. В 2010 году данный микроорганизм был зарегистрирован в России [3]. Имеются данные, что *Y.ruckeri*, вызывает заболевания у широкого спектра видов рыб: *Onchorhyncus mykiss* (радужная форель), *Acipenser schrencki* (Амурский осётр), *A. Baerii* (Сибирский осётр), а также многие другие важные промысловые виды рыб [1,2,3].

Материалы и методы. Работы выполнялись на кафедре микробиологии, вирусологии, эпизоотологии и ветеринарно-санитарной экспертизы УлГАУ.

Использовались МПБ, физ. раствор и МПА. Экспериментально разработанный питательный субстрат для создания селективной среды.

Для изучения свойств были использованы: штамм *Yersinia ruckeri* № 58639, штамм *Yersinia ruckeri* № 46-123 полученные из музея кафедры.

Для инкубирования применялся термостат настроенный на 26⁰С, ТС-1/20 производства СКТБ-СПУ.

Ход исследования

Была подготовлена суточная культура двух указанных штаммов *Y. ruckeri* которая была посеяна в объёме 1 мл в 4 мл МПБ в пробирках содержащих различные концентрации азид натрия: 0.01%, 0.02%, 0.04%, 0.08%, 0.1%, 0.12%, 0.15%.

Затем происходила инкубация в течение 1 недели при температуре, 26⁰С. Для обеспечения контроля над показателем количества КОЕ на субстрате с азидом натрия. На первые сутки, третьи сутки и седьмые сутки производился отбор 1 мл суспензии с указанными бактериями и исследуемым химическим соединением, и его последующей высева на МПА с содержанием агара 1.5%, и толщиной слоя минимум 5 мм. Наслоенная жидкость не убиралась с поверхности агара. Инкубация производилась непосредственно с субстратом содержащим азид натрия не переворачивая чашку Петри. Данная методика обеспечивала постепенное снижение концентрации азид натрия в связи с его распределением во всем объёме агара.

Наслоённая жидкость не мешала наблюдению, поскольку по истечению суток полностью впитывалась в агар.

Такой метод использовался из-за того что азид натрия в большой концентрации ингибировал рост бактерии и наблюдения роста непосредственно на субстрате содержащий азид натрия не возможны. А при наслоении жидкого субстрата на агар происходит постепенное снижение концентрации азид натрия из-за миграции молекул в толщу агара.

Согласно результатам эксперимента оптимальная концентрация азид натрия не убивающая, но бактериостатирующая исследуемый микроорганизм в жидком субстрате находилась в пределах от 0.08% до 0.1%.

Более подробно результаты эксперимента представлены в таблице 1.

Определение устойчивости бактерии *Y.ruckeri* к различным концентрациям азид натрия по показателям созданного питательного субстрата

Время	№ штамма	Пробирки с азидом натрия	Чашки с МПА на который наложен субстрат содержащий азид натрия в различных концентрациях.
1 сутки	№ 58639	0.01%-0.15%. Роста нет.	0.01%-0.08% Газонный рост. 0.1% отдельные колонии. 0.12% единичные колонии 0.15% роста нет
	№ 46-123	0.01%-0.15%. Роста нет	0.01%-0.08% Газонный рост. 0.1% отдельные колонии. 0.12% единичные колонии 0.15% роста нет
3 сутки	№ 58639	0.01%-0.15%. Роста нет	0.01%-0.08% Газонный рост. 0.1% отдельные колонии. 0.12% единичные колонии 0.15% роста нет
	№ 46-123	0.01%-0.15%. Роста нет	0.01%-0.08% Газонный рост. 0.1% отдельные колонии. 0.12% единичные колонии 0.15% роста нет
7 сутки	№ 58639	0.01%-0.15%. Роста нет	0.01%-0.08% Газонный рост. 0.1% отдельные колонии. 0.12% единичные колонии 0.15% роста нет
	№ 46-123	0.01%-0.15%. Роста нет	0.01%-0.08% Газонный рост. 0.1% отдельные колонии. 0.12% единичные колонии 0.15% роста нет

В дальнейшем было проведено исследование чувствительности субстрата к концентрации микроорганизмов в нем. Для этого суточная культура микроорганизма *Y.ruckeri* была раститрована с последовательным разведением 1мл культуры бактерий на 9 мл физ. раствора. В дальнейшем 1 мл физ. раствора

был перенесён на 4 мл исследуемого субстрата состоящего из МПБ с добавлением азида натрия в концентрации 0.08%.

Далее, после тщательного перемешивания субстрат в количестве 1 мл наслаивался на МПА. Параметры плотной среды были такие же как и в предыдущем эксперименте. Жидкий субстрат не убирался со среды, а чашки инкубировались крышкой вверх.

В ходе эксперимента было установлено, что наблюдался рост даже при максимальном разведении бактерий в физ. растворе 10^6 степени. Более подробно результаты представлены в таблице 2.

Таблица 2

Выживаемость различных разведений бактерий *Y.ruckeri* к среде с содержанием азид натрия 0.08% наслоенной на плотную среду

Время	№ штамма	Степень разведения бактерий <i>Y.ruckeri</i> в изучаемом питательном субстрате, содержащем азид натрия								
		1	2	3	4	5	6	7	8	9
1 сутки	58639	Г	Г	Г	К	М	М	-	-	-
	46-123	Г	Г	Г	К	М	М	-	-	-
3 сутки	58639	Г	Г	Г	К	М	М	-	-	-
	46-123	Г	Г	К	К	М	М	-	-	-
7 сутки	58639	Г	Г	К	К	К	М	-	-	-
	46-123	Г	Г	К	К	К	М	-	-	-

Комментарий: г- газонный рост к-количество колоний больше 10. м- количество колоний меньше 10. «-»-роста нет.

Вывод: питательный субстрат с содержанием азид натрия 0.08% оказывает бактериостатический эффект на культуры *Y. ruckeri*, но не убивает их. Это позволяет использовать его в качестве селективного компонента для конструирования среды индикации и идентификации, при условии что концентрация азид натрия будет составлять не менее 0,08%, учитывая то что при наслоении на агар она будет снижаться.

Список литературы

1. Ewing, W.H., Ross, A.J., Brenner, D.J., Fanning, G.R. (1978). *Yersinia ruckeri* SD. nov. redmouth (RM) bacterium. Int. J. Syst. Bacteriol.28: p. 37-44.
2. Ross, A.J., Rucker, R.R., Ewing, W.H. (1966). Description of a bacterium associated with redmouth disease of rainbow trout (*Sulmo gairdneri*). Can. J. Microbial. 12: p. 763-770.
3. Казарникова А.В. Первое обнаружение *Y. ruckeri* у выращиваемого в прудах карпа *сyrpinus carpio* на юге России /Казарникова А.В., Шестаковская Е.В., Тришина А.В., Галеотти М., Манзано М.// Наука юга России, Издательство: южный научный центр РАН (Ростов-на-Дону) 2017. — 102-114 с.
4. DOMINIQUE J. M. VIDONI, AND CLAUDE L. DELMAS/Incidence of *Yersinia enterocolitica* in Raw Milk in Eastern France// APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY, Feb. 1981, p. 355-359.

УДК 579.62

А.П. Воротников

Ульяновский государственный аграрный университет имени П.А. Столыпина, г. Ульяновск, Россия

ИЗУЧЕНИЕ ВОЗМОЖНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ ДОДЕЦИЛСУЛЬФАТА НАТРИЯ ПРИ КОНСТРУИРОВАНИИ СЕЛЕКТИВНОЙ СРЕДЫ ДЛЯ *Y.RUCKERI*

Аннотация. В статье описывается воздействие додецилсульфата натрия на бактерию *Yersinia ruckeri*. В ходе работ было установлено, что ни одна из использованных в ходе эксперимента концентраций не оказала никакого влияния на рост исследуемого микроорганизма.

Ключевые слова: додецилсульфат натрия, *Yersinia ruckeri*, иерсиниоз рыб.

А.Р. Vorotnikov

Ulyanovsk state agricultural University named after p. A. Stolypin, Ulyanovsk,
Russia

STUDY OF THE POSSIBILITY OF USING SODIUM DODECYL SULFATE IN THE DESIGN OF A SELECTIVE MEDIUM FOR YERSINIA RUCKERI

Annotation. The article describes the effect of sodium dodecyl sulfate on the bacterium *Yersinia ruckeri*. During the work it was found that none of the concentrations used in the experiment had any effect on the growth of the studied microorganism.

Keywords: sodium dodecyl sulfate, *Yersinia ruckeri*, fish yersiniosis.

Целью данной работы являлось изучение воздействия азидата натрия на рост бактерий *Y.ruckeri*.

Микроорганизм *Y.ruckeri* широко распространённый инфекционный агент рыб [1, 2]. Известно, что *Y.ruckeri*, поражает широкий спектр рыб: *Onchorhyncus mykiss* (радужная форель), *Acipenser schrencki* (Амурский осётр), *A. Baerii* (Сибирский осётр), а также многие другие важные промысловые виды рыб [1, 2].

Материалы и методы исследований

Использовался МПБ с добавлением додецил сульфата натрия (SDS).

Для изучения свойств были использованы:

- Штамм *Yersinia ruckeri* № 58639
- Штамм *Yersinia ruckeri* № 46-123

Для инкубирования применялся термостат настроенный на 26⁰С градусов использовались ТС-1/20 производства СКТБ-СПУ.

Ход исследования

Была подготовлена суточная культура двух вышеуказанных штаммов *Y. ruckeri* которая была посеяна в количестве 1 мл в 4 мл МПБ в котором были различные разведения SDS.

Среда имела различные содержания SDS: 0.2%, 0.5%, 0.7%, 1%, 1.2%, 1.5%, 1.7%, 2%.

Затем происходила инкубация в течение 1 недели при температуре, 26⁰С. На среде с SDS наблюдалось помутнение, сообщающее о наличии роста уже на первые сутки. Исходя из результатов эксперимента, можно судить, что даже высокие концентрации SDS не подавляют рост *Y.ruckeri* независимо от своей концентрации.

В дальнейшем было произведено исследование чувствительности различных концентраций данного микроорганизма к среде, содержащий SDS. Поскольку в предыдущем эксперименте оптимальная концентрация не выявлена, была взята максимальная в 2%. В ходе эксперимента использовался ряд последовательных разведений. Для этого суточная культура микроорганизма *Y.ruckeri* была раститрована с последовательным разведением 1мл культуры бактерий на 9 мл физ. раствора. Затем 1 мл физ. раствора вносили в 4 МПБ с содержанием 2% SDS. В ходе эксперимента было установлено, что даже при максимальных разведениях додецилсульфат натрия никаким образом не подавляет рост *Y.ruckeri*.

Вывод

Додецилсульфат натрия не подавляет рост микроорганизма *Y.ruckeri*, что позволяет использовать его в качестве селективного компонента при разработке среды для индикации и идентификации данного микроорганизма.

Список литературы

1. Ewing, W.H., Ross, A.J., Brenner, D.J., Fanning, G.R. (1978). *Yersinia ruckeri* SD. nov. redmouth (RM) bacterium. Int. J. Syst. Bacteriol.28: p. 37-44.
2. Ross, A.J., Rucker, R.R., Ewing, W.H. (1966). Description of a bacterium associated with redmouth disease of rainbow trout (*Sulmo gairdneri*). Can. J. Microbial. 12: p. 763-770.
3. Казарникова А.В. Первое обнаружение *Y. ruckeri* у выращиваемого в прудах карпа *сyrpinus сarpio* на юге России /Казарникова А.В., Шестаковская

Е.В., Тришина А.В., Галеотти М., Манзано М.// Наука юга России, Издательство: южный научный центр РАН (Ростов-на-Дону) 2017. — 102-114 с.

4. DOMINIQUE J. M. VIDONI, AND CLAUDE L. DELMAS/Incidence of *Yersinia enterocolitica* in Raw Milk in Eastern France// APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY, Feb. 1981, P. 355-359.

УДК 636:616-001.28

М.Ю. Галлямова, К.Т. Ишмухаметов, А.В. Фролов, А.М. Идрисов, Н.М. Василевский

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

РАДИОЗАЩИТНОЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ КОМПОЗИЦИОННОГО АПИСОГЕННО-МОНТМОРИЛЛОНИТОВОГО ПРЕПАРАТА

Аннотация. В *in vitro* тесте снижает 79,4 % цезия-137. Защищает 80 % летально облученных животных, способствует 2,8-кратному снижению накопления цезия-137 в мышечной ткани. При скармливании препарата пороссятам-отъемышам в дозе 30 г/гол в сутки обеспечивает 100 % сохранность молодняка, предотвращает желудочно-кишечные и респираторные заболевания, способствует 1,4-кратному увеличению привесов.

Ключевые слова: композиционный аписогенно-монтмориллонитовый препарат, радиозащита, декорпорация, метаболизмстимуляция.

M. Yu. Gallyamova, K. T. Ishmukhametov, A.V. Frolov, A. M. Idrisov, N. M. Vasilevsky

Federal center for Toxicological, radiation and biological safety, Kazan, Russia

RADIOPROTECTIVE EFFECT OF COMPOSITE APOLOGISE- MONTMORILLONITE PREPARATION

Annotation. In vitro test reduces 79.4 % of caesium-137. It protects 80 % of fatally irradiated animals and contributes to a 2.8-fold reduction in the accumulation of caesium-137 in muscle tissue. When feeding the drug to weaning pigs at a dose of 30 g / head per day, it provides 100 % safety of young animals, prevents gastrointestinal and respiratory diseases, and contributes to a 1.4-fold increase in weight gain.

Keywords: composite apoligise-montmorillonite preparation, radioasia, decorporate, metabolismrelated.

Введение. Большая часть современного человечества проживает в условиях интенсивного загрязнения окружающей среды токсическими веществами, искусственными радионуклидами и ксенобиотиками [8,9]. В нашей стране контаминации радионуклидов способствовали ядерные испытания прошлых лет, многолетняя производственная деятельность ПО «Маяк», аварии на «Маяк», ЧАЭС и другое [1]. Спустя 34 года уровень антропогенного загрязнения территорий вследствие чернобыльской аварии значительно снизился, однако в наиболее загрязненных регионах нашей страны получение нормативно «чистой» продукции животноводства до сих пор требует применения селективных сорбентов радионуклидов [2,3,4,5]. Известно множество кормовых добавок для животных обладающих комплексом полезных свойств, многие из них далеки до совершенства, производство которых в широких масштабах затруднительно в связи с их высокой себестоимостью [6,7].

Цель исследований – разработать и испытать эффективные методы и средства ограничения поступления и ускорения выведения радионуклидов из организма сельскохозяйственных животных.

Материалы и методы. В качестве исходного объекта была использована разработанная нами аписогенная биологически активная кормовая добавка «Витафорце», которую совместно с нативным или очищенным бентонитами применяли в создании препарата. Для проведения экспериментов были

использованы соль железистосинеродистой кислоты - гексацианоферрат железа ($[\text{Fe}(\text{CN})_6]_3$), аптечные препараты «Бифеж» и «ХЖ-90». Мелкодисперсную фракцию бентонита получали методом очистки природного вещества от механических примесей. Сорбционные свойства известных и тестируемых препаратов оценивали в «in vitro» тест-системе стандартными методами. Радиозащитное воздействие определяли путем скармливания облученным в летальной дозе животным рационов, содержащих КАМП в расчете 30 г/гол/сут в течение 30 сут (1-я группа), животным 2-й группы в аналогичных условиях рациона с добавлением известного сорбента «Бифеж», животным 3-й группы обычного рациона без добавления каких-либо компонентов. Радиопротекторную эффективность композиций оценивали по 30-суточной выживаемости и активности фермента антиоксидантной защиты СОД. Моделирование сочетанного внешнего и внутреннего радиационного поражения осуществляли путем облучения овец на стационарной гамма-установке «Пума» в дозе 6,0 Гр и внутрижелудочного введения животным контаминированной цезием-137 воды 0,1 кБк/кг. Препараты задавали со 2 дня после внешнего облучения и инкорпорации радионуклида до 30 суток. За животными вели клиническое наблюдение, оценивая аппетит и жизнеспособность.

Результаты исследований. Изучена возможность модификации известного радиосорбента «Бифеж». С этой целью древесные опилки, составляющие основу препарата, были заменены биологически активной кормовой добавкой «Витафорце». При оценке в «in vitro» пробе обоих веществ было установлено, что активность модифицированного препарата была практически идентичной исходной (73,25 к 74,91%). В следующем эксперименте ферроцин в препарате «Бифеж» был заменен на ОБ. В «in vitro» пробе были оценены активности известных препаратов «Бифеж» и «ХЖ-90» и двух тестируемых на основе «Витафорце» и ОБ и НБ. Результаты радиометрии показали, что сорбционные активности известных и тестируемых веществ составляли: 73,25% (Бифеж), 61,17 % (ХЖ-90), 38,40 % (Витафорце-НБ) и

79,39 % (Витафорце-ОБ), из чего следует, что замена ферроцина на бентонит не только не снижала сорбирующую активность тестируемого препарата, но и приводила к увеличению сорбирующей способности активированного аписогенно-сорбционного препарата в 1,1 раза.

В «in vivo» опыте на 30 гол. 60-80-дневных поросятах-отъемышах была изучена метаболизмрегулирующая активность композиционного аписогенно-сорбционного препарата. Было установлено, что добавление его в рацион пороссятам из расчета 30 г/гол в сутки обеспечивало 100 %-ную сохранность молодняка, предотвращало заболеваемость их желудочно-кишечными и респираторными заболеваниями. Прирост живой массы за этот период составил 1,15 кг против 0,8 кг в группе контроля препарата.

Результаты исследования 5-месячных поросят, получавших на фоне летального облучения в течение 30 суток рацион, содержащий кормовую добавку «Витафорце-бентонит» в количестве 30 г/гол/сут показали, что их выживаемость составляла 80 % при 10 %-ной у животных, получавших рацион с содержанием известно сорбента «Бифеж». Повышение выживаемости облученных животных на фоне применения композиционного аписогенно-сорбционного препарата реализовывалось путем усиления системы антиоксидантной защиты (АОЗ) организма, осуществляемой механизмом антиоксидантного фермента супероксиддисмутазы (СОД), активированной витаминами, аминокислотами и хитозаном, содержащихся в аписогенно-сорбционной композиции «Витафорце-бентонит».

На перорально затравленных цезием-137 и летально облученных гамма-лучами овцах установлено, что добавление в корм животных композиционного аписогенно-сорбционного препарата из расчета 30 г/гол/сут в течение 30 сут оказывало радиозащитный эффект, обеспечивая 66,6 %-ную выживаемость животных на фоне 2,9-кратного снижения накопления изотопа в организме. Радиозащитная активность известного сорбента «Бифеж» в отличии от тестируемого композиционного аписогенно-сорбционного препарата была в 2 раза ниже - выживаемость составила 33,3 %. Отсутствие в составе известного

препарата «Бифеж» биологически активных веществ не обеспечивало достаточную радиозащиту при сочетанном внешнем и внутреннем облучении животных.

Заключение. Установлено, что композиционный аписогенно-сорбционный препарат «Витафорце-бентонит» обладает метаболизмстимулирующим и лечебно-декорпорирующим действиями. Добавление его в рацион поросятам обеспечивало сохранность молодняка, профилактировало респираторные и желудочно-кишечные заболевания, увеличивало прирост живой массы, защищало от гибели 80 % летально облученных животных и 66,6 % при комбинированном внешнем и внутреннем радиационном воздействии, способствовало трехкратному ускорению выведения из организма животных радиоцезия.

Список литературы

1. Алексахин, Р.М. Крупные радиационные аварии: последствия и защитные меры / Алексахин Р.М., Булдаков Л. А., Губанов В. А. и др. // М. - 2001. - 752 с.

2. Бударков, В.А. Применение ферроцианидных сорбентов в условиях острого и хронического облучения животных / В.А. Бударков, Д.В. Куренков и др. // Матер. Межд. симп. - Казань, 2005. - Ч. 1. - С. 285-285.

3. Вагин, К.Н. Декорпорирующая активность препаратов на основе апипродуктов и пчел среднерусской породы / К.Н. Вагин, К.Т. Ишмухаметов и др. // Сб. мат. Всерос. науч.-практ. конф. «Состояние и перспективы развития среднерусской породы пчел», Казань, Изд-во «Бриг». С. 75-78.

4. Низамов, Р.Н. Радиозащитная эффективность натуральной биологически активной кормовой добавки «Вита-Форце М» / Р.Н. Низамов, К.Т. Ишмухаметов и др. // Вестник Российской Военно-мед. академии. - 2015. - № 3. - С. 156.

5. Вагин, К.Н. Создание радиозащитных препаратов - приоритетное направление радиационной безопасности /Вагин К.Н., Конюхов Г.В., Низамов Р.Н., Василевский Н.М., Тарасова Н.Б.//Сборник: Актуальные проблемы

ветеринарной медицины Материалы международной научно-практической конференции посвященной 90-летию со дня рождения профессора В.А. Киршина. 2018. С. 35-38.

6. Низамов, Р.Н. Биологически активная кормовая добавка для поросят /Низамов Р.Н., Конюхов Г.В., Никитин А.И., Шарифуллина Д.Т., Василевский Н.М., Вагин К.Н.//Патент на изобретение RU 2655802 С1, 29.05.2018. Заявка № 2017126820 от 25.07.2017.

7. Никитин, А.И. Биологически активная кормовая добавка для сельскохозяйственных животных и птицы/Никитин А.И., Низамов Р.Н., Конюхов Г.В., Василевский Н.М., Тухватулов М.З., Сычев К.В., Вагин К.Н., Титов А.С.//Патент на изобретение RU 2641907 С1, 23.01.2018. Заявка № 2016129774 от 20.07.2016.

8. Конюхов, Г.В. Разработка методов и средств для снижения поступления и ускорения выведения радионуклидов из организма животных/Конюхов Г.В., Тарасова Н.Б., Низамов Р.Н., Шашкаров В.П., Василевский Н.М., Ишмухаметов К.Т., Новиков Н.А.//Ученые записки учреждения образования Витебская ордена Знак почета государственная академия ветеринарной медицины. 2018. Т. 54. № 4. С. 58-61.

9. Тухфатуллов, М.З. Оценка радиозащитных свойств натуральной биологически активной кормовой добавки нового поколения "Вита-форце М" на лабораторных животных/Тухфатуллов М.З., Низамов Р.Н., Тарасова Н.Б., Василевский Н.М., Ишмухаметов К.Т. // Ветеринария, зоотехния и биотехнология. 2018. № 12. С. 72-78.

УДК 544.773.432, 547.485.5

Д.Р. Зяйнитдинов, А.В. Евтеев, А.С. Блинохватов, А.В. Банникова

ФГБОУ ВО «Саратовский государственный аграрный университет им. Н.И. Вавилова», г. Саратов, Россия

ХАРАКТЕРИСТИКА ПРЕБИОТИЧНЫХ СВОЙСТВ ЭКСТРАКТОВ КСИЛООЛИГОСАХАРИДОВ ИЗ ОТРУБЕЙ ОВСА

Аннотация. В статье описаны способы получения концентрата ксилоолигосахаридов из отрубей овса. изучены рост и развитие пребиотических культур *Lactobacillus acidophilus* и *Bifidobacterium bifidum* на средах, содержащих полученные экстракты, в том числе ксилоолигосахариды, в условиях *in vitro*. Показано положительное влияние ксилоолигосахаридов овсяных отрубей на рост пребиотических культур, в сравнении с лактулозой и обезжиренным молоком.

Ключевые слова: отруби овса, ксилоолигосахариды, пребиотики

D.R. Zaynitdinov A.V. Evteev, A.S. Blinohvatov A.V. Bannikova

Saratov State Agrarian University named after N. I. Vavilov, Saratov, Russia

CHARACTERIZATION OF PREBIOTIC PROPERTIES OF XYLOOLIGOSACCHARIDES EXTRACTS FROM OAT BRAN

Abstract. The article describes methods for producing of xyloligosaccharide concentrate from *oat bran*. The growth and development of prebiotic cultures of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium bifidum* on media containing the obtained extracts, including xyloligosaccharides, have been studied *in vitro*. The positive effect of oat bran xyloligosaccharides on the growth of prebiotic cultures has been shown in comparison with lactulose and skim milk.

Keywords: oat bran, xyloligosaccharides, prebiotics

Овес является одной из наиболее важных зерновых культур Российской Федерации. Зерно овса отличается питательностью, повышенным содержанием белка, незаменимых аминокислот, витаминов и жира, что обуславливает его ценные пищевые и кормовые свойства. Это ценнейшая зернофуражная культура для лошадей, свиней, крупного рогатого скота и птицы. Он используется в виде целого или дробленого зерна, муки и отрубей [3].

Большой интерес при разработке продуктов функционального питания, предназначенных для коррекции нарушений микробиоценоза у человека, представляют биологически активные вещества, наделенные свойствами пребиотиков. Вещества могут быть классифицированы как пребиотики, если не расщепляются пищеварительными ферментами в верхних отделах желудочно-кишечного тракта, в неизменном виде достигают толстого кишечника, селективно ферментируются его микрофлорой, стимулируя активный рост бифидобактерий, лактобактерий и других полезных микроорганизмов [1, 2]. К пребиотикам относятся: фруктоолигосахариды (инулин), ксилоолигосахариды (КОС), арабиногалактоолигосахариды, изомальтоолигосахариды, изомальтулоза, лактулоза, галактоолигосахариды, раффиноза, стахиоза, гентиоолигосахариды, циклодекстрины, палатиноза, ксилотриозы, ксилотетразы, ксилотриозы, устойчивые крахмалы, пищевые волокна, лектинаны, гетероглюканы, гликопептиды, лактоглобулины, пантотеновая кислота, пантотенаты, инозит. В отличие от пробиотиков, которые содержат живые микроорганизмы, пребиотики представляют собой вещества и только способствуют развитию полезной кишечной микрофлоры.

В последние годы актуальными являются проблемы глубокой и комплексной переработки сельскохозяйственного сырья, являющихся основополагающими в развитии импортозамещения и экономики в целом [2]. В настоящей работе были получены экстракты биологически активных веществ из овсяных отрубей пребиотического характера, изучены рост и развитие *пребиотических культур Lactobacillus acidophilus и Bifidobacterium bifidum* на средах, содержащих полученные экстракты, в том числе КОС, в условиях *in vitro*.

Для получения экстрактов предварительно измельченные отруби заливали дистиллированной водой в соотношении 1/10 и гомогенизировали в течение 30 мин. При гидротермическом методе экстракции отруби подвергали ультразвуковому воздействию в ванне лабораторной ультразвуковой «Сапфир

2,5» (35 кГц, 30 мин, температура 50 °С). При ферментативном методе экстракции, измельченные отруби обрабатывали ферментными препаратами: *α-амилазой* (0,01% к массе отрубей), *глюкоамилазой* (0,006% к массе отрубей) в ацетатном буферном растворе (рН = 5), *протеазой* (0,005% к массе отрубей), *α-1,4-глюкогидролазой*, обладающей ферулоэстеразной, гемицеллюлазной, ксилазной и целюлазной активностями. При химическом методе, предварительно измельченные отруби подвергали гидратированию в 0,2М водном растворе соляной кислоты в соотношении 1:10 и последующей гомогенизацией в течение 30 мин. Полученные таким образом супернатанты объединяли, концентрировали до конечной влажности 30±2%, что позволило получить концентрат биологически активных веществ (БАВ). Для получения КОС проводили спиртовую экстракцию полученного концентрата.

Фракционный состав препаратов КОС анализировали методом тонкослойной хроматографии по значению R_f использованных метчиков (таблица 1). Анализ выявил присутствие в концентратах КОС ди-, три-, тетра- и пентаксилоолигосахаридов. Полученные данные свидетельствуют о преобладании в препаратах КОС из овсяных отрубей ксилотриозы и ксилотетрозы, в суммарном количестве до 42,4%.

Таблица 1

Качественный анализ фракционного состава концентратов КОС из овсяных отрубей. Значение показателя R_f углеводов

Качественный состав КОС	Значение R _f		
	Гидротермический метод	Химический метод	Ферментативный метод
Ксилоза	0,51	0,56	0,53
Ксилобиоза	0,53	0,52	0,56
Ксилотриоза	0,40	0,38	0,41
Ксилотетроза	0,28	0,30	0,33
Ксилопентоза	0,34	0,31	0,29

Из литературных источников известно, что углеводные олигомеры ксилана проявляют значительный пребиотический эффект среди прочих

ксилоолигосахаридов, что делает их объектом интереса с точки зрения применения как самостоятельного компонента для пищевых продуктов.

Исследование пребиотических свойств ксилоолигосахаридов и полифенолов, полученных путем биомодификации овсяных отрубей разными способами (ферментативным, механическим и химическим), проводили согласно ГОСТ 10444.11-89 [4]. Для установления пребиотических свойств были использованы следующие штаммы микроорганизмов *L. acidophilus* и *B. bifidum*. Культивирование пребиотических культур проводили на стандартных средах с добавлением исследуемых пребиотиков (ксилоолигосахаридов и смесь БАВ, состоящую из ксилоолигосахаридов и полифенолов), из расчета 2% массовой доли в культуральной жидкости в течение 72 часов. В качестве контроля использовали стандартную питательную среду с добавлением лактулозы и обезжиренное молоко. Массовая доля вносимой стартерной культуры составила 2%. Данные представлены в таблицах 1-3.

Таблица 2

Число колоний микроорганизма *Lactobacillus acidophilus*, выросших за время культивирования (72 часа), КОЕ/см³

1 сутки (24 часа)				
Микроорганизм	Субстрат			
	№ 1 Обезжиренное молоко	№ 2 Лактулоза	№ 3 Препарат КОС	№ 4 Смесь БАВ
<i>Lactobacillus acidophilus</i>				
Ферментативный способ	$3,7 \cdot 10^5$	$1,3 \cdot 10^7$	$1,2 \cdot 10^7$	$5,8 \cdot 10^6$
Химический способ	$3,7 \cdot 10^5$	$1,3 \cdot 10^7$	$1,1 \cdot 10^7$	$5,3 \cdot 10^6$
Механический способ	$3,7 \cdot 10^5$	$1,3 \cdot 10^7$	$1,1 \cdot 10^7$	$5,3 \cdot 10^6$
2 сутки (48 часов)				
Ферментативный способ	$3,0 \cdot 10^8$	$3,1 \cdot 10^9$	$2,9 \cdot 10^9$	$1,3 \cdot 10^9$
Химический способ	$3,0 \cdot 10^8$	$3,1 \cdot 10^9$	$3,0 \cdot 10^9$	$1,4 \cdot 10^9$
Механический способ	$3,0 \cdot 10^8$	$3,1 \cdot 10^9$	$2,5 \cdot 10^9$	$1,1 \cdot 10^9$
3 сутки (72 часа)				
Ферментативный способ	$3,7 \cdot 10^{10}$	$3,2 \cdot 10^{11}$	$3,1 \cdot 10^{11}$	$1,4 \cdot 10^{11}$
Химический способ	$3,7 \cdot 10^{10}$	$3,2 \cdot 10^{11}$	$2,8 \cdot 10^{11}$	$1,2 \cdot 10^{11}$
Механический способ	$3,7 \cdot 10^{10}$	$3,2 \cdot 10^{11}$	$2,0 \cdot 10^{11}$	$8,1 \cdot 10^{10}$

Число колоний микроорганизма *Bifidobacterium bifidum*, выросших за время культивирования (72 часа), КОЕ/см³

1 сутки (24 часа)				
Микроорганизм	Субстрат			
	№ 1 Обезжиренное молоко	№ 2 Лактулоза	№ 3 Препарат КОС	№ 4 Смесь БАВ
<i>Bifidobacterium bifidum</i>				
Ферментативный способ	$3,1 \cdot 10^5$	$5,4 \cdot 10^7$	$5,2 \cdot 10^7$	$2,6 \cdot 10^7$
Химический способ	$3,1 \cdot 10^5$	$5,4 \cdot 10^7$	$5,0 \cdot 10^7$	$2,5 \cdot 10^7$
Механический способ	$3,1 \cdot 10^5$	$5,4 \cdot 10^7$	$4,7 \cdot 10^7$	$2,4 \cdot 10^7$
2 сутки (48 часов)				
Ферментативный способ	$2,0 \cdot 10^8$	$2,3 \cdot 10^9$	$2,3 \cdot 10^9$	$1,3 \cdot 10^9$
Химический способ	$2,0 \cdot 10^8$	$2,3 \cdot 10^9$	$1,8 \cdot 10^9$	$1,0 \cdot 10^9$
Механический способ	$2,0 \cdot 10^8$	$2,3 \cdot 10^9$	$1,6 \cdot 10^9$	$9,0 \cdot 10^8$
3 сутки (72 часа)				
Ферментативный способ	$1,5 \cdot 10^{10}$	$2,3 \cdot 10^{11}$	$2,3 \cdot 10^{11}$	$1,2 \cdot 10^{11}$
Химический способ	$1,5 \cdot 10^{10}$	$2,3 \cdot 10^{11}$	$1,9 \cdot 10^{11}$	$1,0 \cdot 10^{11}$
Механический способ	$1,5 \cdot 10^{10}$	$2,3 \cdot 10^{11}$	$1,7 \cdot 10^{11}$	$9,3 \cdot 10^{10}$

Как показали результаты, использование ксилоолигосахаридов овсяных отрубей в качестве пребиотика оказывает значительное стимулирующее действие на рост пребиотических культур *Lactobacillus acidophilus* и *Bifidobacterium bifidum*, в сравнении с лактулозой и обезжиренным молоком. При этом количество клеток *L. acidophilus* и *B. bifidum*, выросших на среде с добавлением концентрата КОС и с добавлением лактулозы, известного пребиотика с доказанным эффектом, незначительно различается.

Список литературы

1. Bituykova, A., Amelkina, A., Evteev, A., Vorobieva, D., Evdokimov, I., Bannikova, A. Advanced technology of oat bran biotransformation into functional ingredients. Journal of Hygienic Engineering and Design. 2019. Vol. 28. P. 51-60.

2. Kaprelyants, L.V., Voloshenko, O. S., Zhurlova, E. D. Bioactive compounds and dietary fibers in new developed cereal products. Cereal products and Fodder. 2012. 3. P. 17–21.

3. Битюкова А.В., Амелькина А.А., Евтеев А. В., А.В. Банникова. Разработка технологии получения фитовеществ из вторичных продуктов переработки зерна Техника и технология пищевых производств. 2019. №1 (49). С.5-13.

4. ГОСТ 10444.11-89. Продукты пищевые. Методы определения молочнокислых микроорганизмов.

УДК 544.723:622.357.5

А.В. Кондрашова

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

ОЧИСТКА СТОЧНЫХ ВОД ПРИРОДНЫМ СОРБЕНТОМ И БИОПРЕПАРАТОМ

Аннотация. Показана эффективность использования микроорганизмов биопрепарата "Тамир", дополнительно иммобилизованных на природной опоке. Проведена сравнительная характеристика природных сорбентов при адсорбции и биологической очистке. Изучены физико-химические методы очистки сточных вод.

Ключевые слова: сточные воды, микроорганизмы, биопрепарат «Тамир», природный сорбент, опока, очистка.

A. V. Kondrashova

Saratov State Agrarian University named after N.I. Vavilova, Saratov, Russia

WASTEWATER TREATMENT WITH NATURAL SORBENT AND BIOLOGICS

Annotation. The effectiveness of using microorganisms of the biological preparation "Tamir", additionally immobilized on natural flask, is shown. A comparative characteristic of natural sorbents during adsorption and biological purification is carried out. Physical and chemical methods of wastewater treatment have been studied.

Key words: wastewater, microorganisms, biological product "Tamir", natural sorbents, silica clay, cleaning.

Сточные воды на мясоперерабатывающих предприятиях сильно загрязнены различными вредными загрязнениями. В процессе производства 90% сточной воды загрязняется. Такого вида стоки содержат крупные взвешенные частицы. Большой опасностью является то, что в сточных водах мясоперерабатывающих предприятий содержатся патогенные микроорганизмы [1]. Поэтому для уменьшения загрязнения сточных вод проводятся мероприятия по очищению их дешёвыми и доступными средствами. Была проведена очистка сточных вод мясного предприятия природным минералом – опокой [2].

В данной работе одной из задач являлась иммобилизация на природной опоке биологического препарата «Тамир, состоящий из молочнокислых и фотосинтезирующих бактерий, а также продуктов жизнедеятельности микроорганизмов, дрожжей. Препарат «Тамир» - это живое сообщество полезных микроорганизмов, специальный концентрат для утилизации органических отходов (остатки пищи, жировые отложения).

Биопрепарат «Тамир» удаляет неприятные запахи; подавляет патогенную микрофлору в помещениях и оборудовании переработки отходов убойных цехов; уменьшает содержание подвижных форм тяжелых металлов в осадках сточных вод; очищает сточные воды и ускоряет переработку осадков сточных вод.

Для исследования эффективности очистки сточной воды взяли природный сорбент-опоку (фракция 1-3 мм). Результаты очистки сточной воды представлены в таблице 1.

Таблица 1

Очистка сточной воды (фракция опоки 1-3 мм)

Наименование показателя	Проба сточной воды	Вода, очищенная исходной опокой фракцией 1 – 3 мм
Нитриты	0,88±0,06	0,71±0,20
Аммоний – ион	0,62±0,21	0,39±0,11
Жиры	3,52±0,39	3,49±0,45

Из таблицы 1 видно, что при очистке сточной воды природным сорбентом – опокой (фракция 1-3 мм) физико-химические показатели снизились на несколько десятых.

Как известно, чем меньше фракция сорбента, тем выше его адсорбционная поверхность [3]. Поэтому в нашей работе мы решили применять природный сорбент - опоку только фракции 1-3 мм. Далее было решено небольшую часть опоки прокалить, чтобы увеличить адсорбционные свойства данного сорбента. Для этого применяли муфельную печь, температура прокаливания составила 500 °С.

Далее в течение 2-х и 4-х часов исходную и прокалённую опоку пропитали раствором ЭМ-препаратом «Тамир». Сначала использовали природную и прокалённую опоку, пропитанную биопрепаратом в течение 2-х часов (табл. 2).

Из полученных результатов (табл. 2) видно, что адсорбция опоки, пропитанной ЭМ-препаратом в течение 2-х часов, также успешно проходит, как и адсорбция природной опоки.

Также были проведены такого же вида исследования, но уже пропитка биопрепаратом длилась четыре часа. Полученные физико-химические данные представлены в таблице 3.

Таблица 2

Очистка сточной воды после пропускания ЭМ-препарата «Тамир» через природную и прокалённую опоку (фракция 1-3 мм) (2 часа)

Наименование показателя	Проба сточной воды	Вода пробы через исходную опоку, пропитанную ЭМ-препаратом	Вода пробы через прокалённую опоку, пропитанную ЭМ-препаратом
<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>
рН	7,44±0,01	7,39±0,01	7,38±0,01
Аммоний-ион	0,62±0,21	0,13±0,94	0,15±0,05
Нитрит-ион	0,89±0,06	0,69±0,05	0,68±0,04
Жиры	3,52±0,39	3,47±0,38	3,48±0,38

Таблица 3

Очистка сточной воды после пропускания ЭМ-препарата «Тамир» через природную и прокалённую опоку (фракция 1-3 мм) (4 часа)

Наименование показателя	Проба сточной воды	Вода пробы через опоку, пропитанную ЭМ-препаратом	Вода пробы через прокалённую опоку, пропитанную ЭМ-препаратом
<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>
рН	7,44±0,01	7,32±0,01	7,42±0,01
Аммоний-ион	0,61±0,21	0,12±0,04	0,15±0,05
Нитрит-ион	0,89±0,06	0,68±0,05	0,71±0,04
Жиры	3,51±0,39	3,22±0,38	3,24±0,38

По всем полученным можно сделать вывод, что адсорбционные свойства исходного минерала - опоки, и опоки, пропитанной ЭМ-препаратом «Тамир» и прокалённого сорбента, пропитанного тем же биопрепаратом, велики.

После очистки сточной воды опоккой, пропитанной ЭМ-препаратом, физико-химические показатели уменьшились: концентрация ионов аммония

уменьшилась в 1,58 раз, нитриты – приблизительно в 1,27 раз, и произошёл максимальный спад основного показателя - жиры.

Список литературы

1. Пономарёв, В.Я. Математическое моделирование процесса биологической очистки сточных вод предприятий пищевой промышленности / В.Я. Пономарёв, М.А. Чижова, Э.Ш. Юнусов // Вестник Казанского технологического университета – 2010. - № 9. – С. 601-608.

2. Шаблин, П.А. Микробиологическое удобрение «Байкал ЭМ 1» и «ЭМ-технология» / П.А. Шаблин // Сборник трудов «Достижения ЭМ-технологии в России». – М.: «ЭМ-кооперация», 2004. – С. 18-20.

3. Кондрашова, А.В. Физико-химические характеристики дисперсного кремнезёма / А.В. Кондрашова // Проблемы и перспективы современной науки. – 2014. - № 2. – С. 15-16.

УДК 615.331

Л.Г. Ловцова, К.Ю. Усков, И.В. Ловцов

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

СИСТЕМНЫЙ ПОДХОД К ЛЕЧЕНИЮ С/Х ПТИЦЫ ИОНОФОРНЫМИ КОКЦИДИОСТАТИКАМИ СОВМЕСТНО С АНТИБИОТИКАМИ МЕТОДОМ МНОГОМЕРНОЙ РЕГРЕССИИ

Аннотация. В статье приводятся данные о применении ионофорных кокцидиостатиков и тилозина при одновременном использовании данных препаратов в птицеводстве методом многомерной регрессии.

Ключевые слова: лекарственный препарат, переносимость, цыплята-бройлеры, ионофорные кокцидиостатики, тилозин, микроструктурный оптический волновод.

L.G. Lovtsova, K.Yu. Uskov, I.V. Lovtsov

A SYSTEMATIC APPROACH TO THE TREATMENT OF POULTRY WITH IONOPHORIC COCCIDIOSTATICS TOGETHER WITH ANTIBIOTICS USING A MULTIDIMENSIONAL REGRESSION METHOD

Annotation. The article presents data on the use of ionophoric coccidiostatics and tylosin while using these drugs in poultry farming by multidimensional regression.

Keywords: drug, tolerance, broiler chickens, ionophore coccidiostatics, tylosin, microstructural optical waveguide.

Основное применение антибиотики получили в медицинской практике, другая же важная область их использования - сельское хозяйство, особенно, животноводство. Во-первых, в промышленном производстве большое количество животных содержат на относительно малых площадях, что и предопределяет распространение различных инфекций. Во-вторых, выращивание и содержание животных предусматривает медикаментозную обработку. В-третьих, широкомасштабная профилактика антибиотиками необходима и при транспортировке животных для снятия стресса [1].

Использование антибиотиков в сельском хозяйстве в качестве стимуляторов привело к появлению бактерий, резистентных к антибиотикам, и передачи генов-переносчиков человеку. Два важных фактора влияют на появление и распространение устойчивости к антибиотикам: гены-переносчики и избирательное действие самих антибиотиков. Препараты антибиотиков, введённые в рацион птицы, оказывают стимулирующее действие на её рост, яйценоскость, инкубационные качества яиц, эффективное использование корма, снижение расхода протеина [2].

В течение ряда лет противомикробные средства используются также как стимуляторы роста, особенно, в свиноводстве и птицеводстве. С целью повышения эффективности откорма практикуют введение в корма

антибиотиков в относительно малых дозах на протяжении длительного периода времени. Наибольший ущерб среди желудочно-кишечных заболеваний наносит колибактериоз. В комплексе мероприятий по профилактике и лечению желудочно-кишечных заболеваний большую роль играют антибиотики аминогликозидной группы.

Высокая лабильность, высокая патогенность, ассоциативный характер и приспособляемость патогенных штаммов по отношению к применяемым антибактериальным средствам при заболеваниях сельскохозяйственной птицы предполагает разработку комплексных системных подходов и сочетание лекарственных препаратов в борьбе за бактериальную безопасность в птицеводстве.

Цель исследования. Изучение применения ионофорных кокцидиостатиков и тилозина при одновременном использовании данных препаратов в птицеводстве методом многомерной регрессии.

Материалы и методы. Исследования проводились на базе кафедры «Микробиологии, биотехнологии и химии» и лицензированной лаборатории Центра коллективного пользования лабораторным оборудованием ФГБОУ ВО Саратовский ГАУ им. Н.И. Вавилова и базе кафедры общей и неорганической химии ФГБОУ ВО «Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского».

Для исследований было сформировано 8 групп цыплят-бройлеров по 15 голов в каждой, возраст 21 день.

Птица опытных групп получала в виде схемы: ежедневно в течение 5 суток с водой для поения антибактериальный препарат тилозин из расчета 3 мл/10 л питьевой воды, указанным раствором полностью заменить питьевую. Одновременно с этим в корм цыплятам вносят полиэфирные ионофоры: наразин (1 опытная группа); семдурамицин (2 опытная группа); ласалоцид (3 опытная группа). В контрольных группах № 1, 2 и 3 применяли только кокцидиостатики в дозах и кратности что и в опытных группах. В 4-ой контрольной группе птице выпаивают только антибактериальный препарат

тилозин в той же дозе и кратности, что и в опытных группах. 5-я контрольная группа – интактный контроль, цыплята не получают лекарственных препаратов.

Взятие крови производили из подкрыльцовой вены. Предварительно по ходу вен удаляли перо, дезинфицировали кожу раствором этилового спирта.

Аспирацию крови с целью биохимических исследований осуществляли в вакуумные пробирки для *in vitro* диагностики «Improvacuter» (Guangzhou Improve Medical Instruments Co. Ltd, China) с использованием тромбина в качестве активатора сгустка по 0,5 – 1 мл. Для получения сыворотки пробы центрифугировали 5 мин при 10000 об/мин.

Спектры поглощения КТ измеряли на спектрофотометре UV-VIS Spectrophotometer UV-1800 (Shimadzu, Япония), спектры люминесценции – на спектрофлуориметре Cary Eclipse Fluorescence Spectrophotometer (Agilent Technologies) в кварцевых кюветах ($l = 10$ мм).

Спектры пропускания и люминесценции микроструктурных оптических волноводов (МОВ) регистрировали на анализаторе AvaSpec-HS2048XL, источник излучения лампа Torlabs sl5600. Полученные спектры МОВ ПС нормировали относительно спектра источника и максимального значения пропускания отдельного спектра.

Результаты и обсуждение. Анализ полученных данных показывает, что контрольные образцы спектров пропускания МОВ заполненных растворами сывороток (рис. 1) характеризуются меньшей дисперсией по сравнению с опытными. Образец К9 сильно отличается от остальных и не учитывался в дальнейших расчетах.

Таким образом, изменение положения полос в спектре пропускания МОВ может быть использовано для оценки глубины протекания процесса медикаментозного влияния препаратов на показатели крови цыплят-бройлеров.

Установлено, что максимумы полос в спектрах пропускания МОВ смещаются в область конечного спектра. Наиболее характеристичной является полоса ~ 760 нм, для которой наблюдается закономерное уменьшение интенсивности. По сравнительной характеристике изменений положения

локальных максимумов в спектре пропускания МОВ видно незначительные отклонения в пределах 2-3% между соответствующими группами.

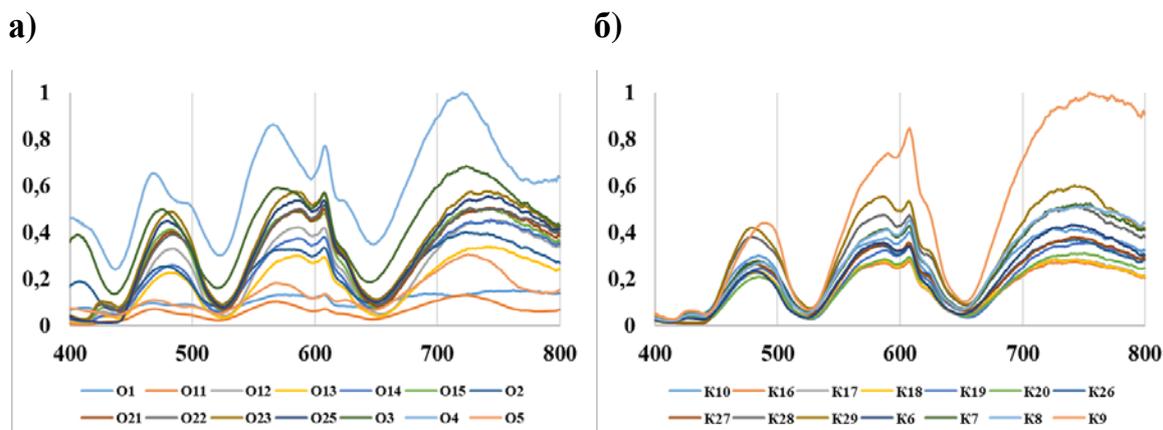


Рисунок 1. Спектры пропускания МОВ для опытных (а) и контрольных (б) образцов

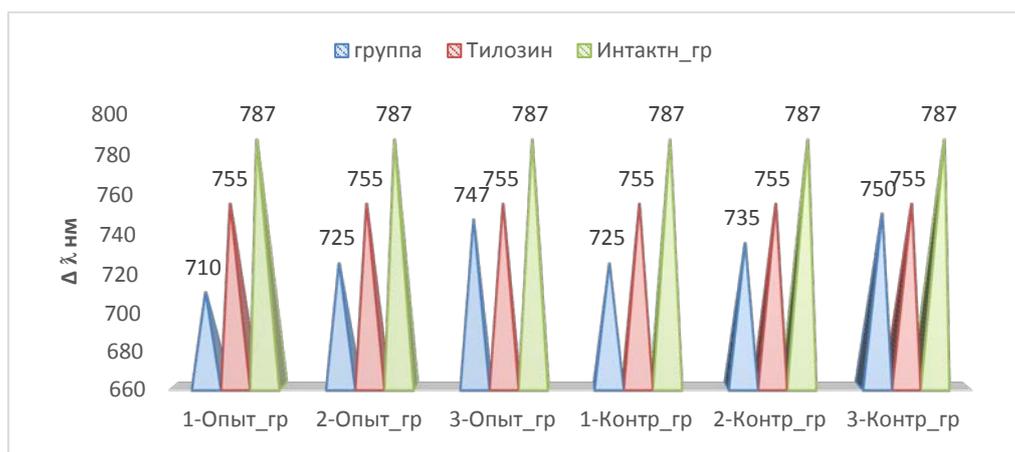


Рисунок 2. Изменение положения локальных максимумов в спектре пропускания МОВ

Полученные нами данные методом многомерной регрессии коррелируются с анализом биохимических показателей крови птиц который так же не выявил статистически значимых отличий от биохимических параметров, полученных у 5 контрольной группы птиц [3]. Эти данные косвенно свидетельствуют об отсутствии нарушений в функциональном состоянии почек, печени и минерального обмена у цыплят-бройлеров опытных групп при оральном применении ионоформных кокцидиостатиков совместно с тилозином [4].

Анализируя выше изложенное, очевидно, что цыплята-бройлеры хорошо переносят курсовое совместное оральное применение тилмикозина и ионофорных кокцидиостатиков, а полученные данные показывают перспективность использования МОВ в качестве оценки диагностики совместного применения данных препаратов.

Список литературы

1. Рождественская, Т.Н. Создание комплексной системы профилактики бактериальных болезней птиц в хозяйствах промышленного типа [Текст] / Т.Н. Рождественская // Дисс. докт. вет. наук. – СПб. – 2011. – 284 с

2. Полубояров, Д.В. Инновационная комплексная система профилактики вирусных заболеваний птицы и животных / Д.В. Полубояров, Л.А. Комова // Птица и птицепродукты. – 2017. – №5. – С. 59-62.

3. Усков, К.Ю. Влияние применения ионофорных кокцидиостатиков совместно с антибиотиками на биохимические показатели крови цыплят-бройлеров /Ловцов И.И., Свищев И.А., Ловцова Л.Г., Забелина М.В.// материалы конференции профессорско-преподавательского состава и аспирантов по итогам научно-исследовательской, учебно-методической и воспитательной работы за 2019 год, 2020. – С.156-159

4. Усков, К.Ю. Зависимость интенсивности роста цыплят-бройлеров при совместном применении ионофорных кокцидиостатиков с макролидами /Ловцов И.И., Ловцова Л.Г., Забелина М.В. // материалы конференции профессорско-преподавательского состава и аспирантов по итогам научно-исследовательской, учебно-методической и воспитательной работы за 2019 год, 2020. – С.160-163

УДК 579.842.23: 16-097:546.593

***В.Э. Маниесон¹, С.В. Иващенко¹, А.С. Фомин², К.П. Габалов²,
С.А. Староверов^{1,2}, Л.А. Дыкман²***

¹ Саратовский государственный аграрный университет им. Н.И. Вавилова, г. Саратов, Россия

²Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН,
г. Саратов, Россия

ПОЛУЧЕНИЕ КОНЬЮГАТА НАНОЧАСТИЦ ЗОЛОТА С АНТИГЕНОМ *YERSINIA ENTEROCOLITICA* И ИЗУЧЕНИЕ ЕГО ИММУНОГЕННОГО И ПРОТЕКТИВНОГО ЭФФЕКТА

Аннотация. В статье изучена возможность применения золотых наночастиц (НЧЗ) как иммуномодулятора при вакцинации мышей антигеном, выделенным из *Y. enterocolitica*. Применение НЧЗ значительно повышало дыхательную активность перитонеальных макрофагов и пролиферативную активность мононуклеарных клеток селезёнки мышей, а также предупреждало гибель грызунов после заражения их бактерией *Y. enterocolitica*.

Ключевые слова: золотые наночастицы, диметилсульфоксид антиген, *Yersinia enterocolitica*, иммуномодулятор, вакцинация мышей.

*V.E. Manieson*¹, *S.V. Ivaschenko*¹, *A.S. Fomin*², *K.P. Gabalov*²,
S.A. Staroverov^{1,2}, *L.A. Dykman*²

¹ Saratov State Agrarian University named after N.I. Vavilova, Saratov, Russia

² Institute of biochemistry and physiology of plants and microorganisms RAS,
Saratov, Russia

OBTAINING A GOLD NANOPARTICLE CONJUGATE WITH *YERSINIA ENTEROCOLITICA* ANTIGEN AND STUDYING ITS IMMUNOGENIC AND PROTECTIVE EFFECT

Annotation. The article examines the possibility of using gold nanoparticles (NPS) as an immunomodulator when vaccinating mice with an antigen isolated from *Y. enterocolitica*. The use of NPS significantly increased the respiratory activity of peritoneal macrophages and the proliferative activity of mononuclear cells of the spleen of mice, and also prevented the death of rodents after infection with the bacterium *Y. enterocolitica*.

Keywords: gold nanoparticles, dimethylsulfoxide antigen, *Yersinia enterocolitica*, immunomodulator, mouse vaccination.

Yersinia enterocolitica является возбудителем иерсиниоза – острого инфекционного заболевания, характеризующегося преимущественным поражением желудочно-кишечного тракта, сопровождающегося диареей, энтеритом, псевдоаппендицитом, илеитом, узловой эритремой и иногда септицемией или острым артритом.

Проблема кишечного иерсиниоза, вызываемого *Y. enterocolitica*, является весьма актуальной для медицины и ветеринарии и требует использования серо- и иммунодиагностики для выявления возбудителя в организме человека и животных и продуктах животноводства [1]. Низкая результативность бактериологических методов исследования (25-30%) ввиду тропности бактерий данного вида к тканям человека, и длительность их проведения (5-14 дней) повышают значимость иммуноаналитических методов диагностики.

Одним из самых популярных наноносителей антигенов (АГ), используемых для иммунизации и вакцинации, являются наночастицы золота (НЧЗ). Опубликовано большое количество работ, авторы которых применяли и развивали этот метод для получения антител к целому ряду гаптенов и полноценных АГ [2]. Были обнаружены адьювантные свойства, присущие самим НЧЗ [3]. В настоящее время с использованием НЧЗ ведутся работы по созданию новых диагностических тестов и вакцин против вирусных, бактериальных, паразитарных инфекций, в том числе против бактерий рода *Yersinia*: *Y. pseudotuberculosis* и *Y. pestis* [4, 5].

Целью нашего исследования было изучение возможности применения НЧЗ как иммуномодулятора при иммунизации и вакцинации АГ, выделенным из *Y. enterocolitica*.

Материалы и методы

В исследованиях использовали штамм *Y. enterocolitica* 66-82 сероварианта О:3 из государственной коллекции патогенных микроорганизмов РосНИПЧИ

«Микроб». Для освобождения от свободных липидов бактериальные клетки обрабатывали ацетоном. Для разрушения клеточных стенок обработанные ацетоном микробные клетки инкубировали в шестикратном объеме диметилсульфоксида при 37°C в течение 30-40 мин, после чего клетки отделяли центрифугированием (5000 g, 20 мин, +4 C) и диализовали против 0.01 М карбонатно-бикарбонатного буфера (pH 9.6) в течение 2-х суток с пятикратным сменой буфера [6]. После проведения диализа АГ концентрировали с помощью фильтрационной установки Amicon и мембран PLGC, разливали на аликвоты по 300 мкл и лиофильно высушивали.

В экспериментах по иммунизации животных конъюгатами АГ с НЧЗ использовали золотые наносферы диаметром 15 нм, которые получали по методу Боровской-Туркевича-Френса, используя реакцию восстановления золотохлористоводородной кислоты цитратом натрия [7].

Полученный конъюгат был использован для иммунизации лабораторных мышей. Было сформировано 6 групп животных по 6 голов в каждой группе. Препараты вводили внутривентриально 2-хкратно с интервалом в 10 дней в дозе по белку 25 мкг на животное и объеме 0.5 мл, эвтаназию проводили через 10 дней после последней инъекции. 1-й группе вводили раствор АГ; 2-й группе – конъюгат АГ с НЧЗ; 3-й группе – раствор АГ, эмульгированный 1:1 в полном адьюванте Фрейнда (ПАФ); 4-й группе – конъюгат АГ с НЧЗ, эмульгированный 1:1 в ПАФ, 5-й группе – раствор НЧЗ, 6-й группе (контроль) – фосфатно-солевой буфер (ФСБ).

После завершения иммунизации проводили выделение перитонеальных макрофагов и клеток селезенки для изучения дыхательной и пролиферативной активности [8]. Определение дыхательной активности проводили по общепринятому методу (МТТ-тест) [9]. Оценку пролиферативной активности лимфоидных клеток проводили по стандартной методике [10].

Для выявления протективного эффекта животных предварительно вакцинировали конъюгатами АГ и препаратами сравнения. Было сформировано 6 групп животных по 10 голов в каждой группе. Вакцинацию проводили

трехкратно с интервалом в 2 недели. Препараты вводили белым мышам внутрибрюшинно в объёме 0.5 мл с содержанием АГ 6.25 мкг/животное (если предполагалось введение АГ). 1-й группе вводили раствор АГ; 2-й группе – конъюгат АГ с НЧЗ; 3-й группе – раствор АГ, эмульгированный в ПАФ; 4-й группе – конъюгат АГ с НЧЗ, эмульгированный в ПАФ, 5-й группе – раствор НЧЗ; 6-й группе (контроль) – ФСБ. Через две недели после последней вакцинации мышам внутрибрюшинно вводили 3-х суточную культуру *Y. enterocolitica* 66-82 сероварианта O:3 в дозе 5×10^9 м.т./мышь.

Результаты и обсуждение

Дыхательная активность перитонеальных макрофагов мышей повышалась при иммунизации АГ+ПАФ на 34%, АГ/НЧЗ на 64%, АГ/НЧЗ+ПАФ на 100% по сравнению с контрольной группой (ФСБ) (рис. 1). Пролиферативная активность мононуклеарных клеток мышей повышалась при иммунизации АГ/НЧЗ в 1.7 раза, АГ+ПАФ – в 2.2 раза, АГ/НЧЗ + ПАФ – в 3.9 раза по сравнению с контролем (рис. 2).

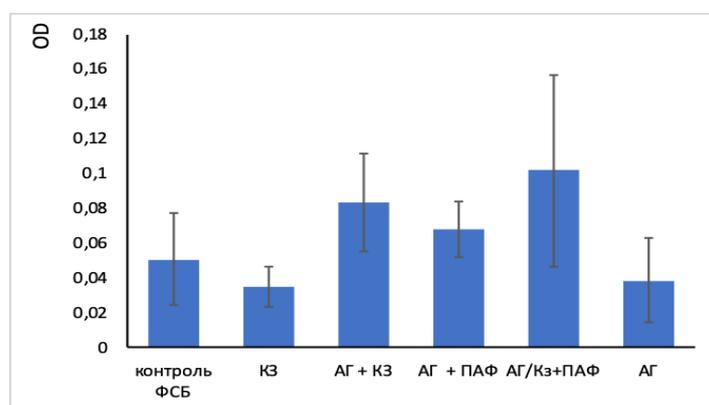


Рисунок 1. Изменение дыхательной активности перитонеальных макрофагов мышей при иммунизации конъюгатами АГ, выделенного из *Y. enterocolitica*

Для определения протективного эффекта животных предварительно вакцинировали конъюгатами иерсинеозного АГ с НЧЗ и препаратами сравнения. Установлено, что контрольные мыши, иммунизированные ФСБ, погибли все. Группа, иммунизированная НЧЗ, сократилась на 70%, группы,

иммунизированные АГ и АГ + ПАФ – на 40%. Самый высокий протективный ответ показали группы, иммунизированные АГ/НЧЗ + ПАФ – 80% выживших животных и АГ/НЧЗ – 70%.

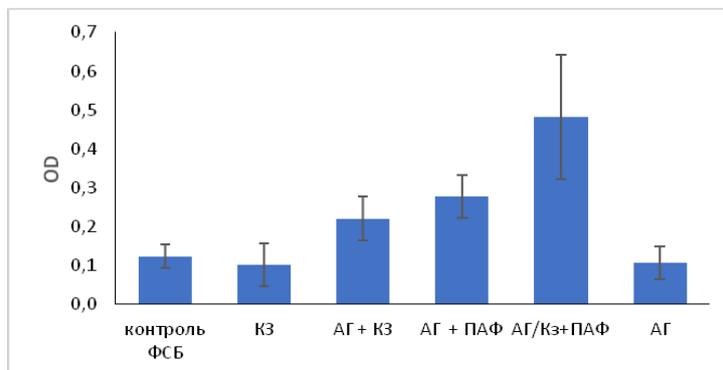


Рисунок 2. Изменение пролиферативной активности спленоцитов мышей при иммунизации конъюгатами АГ, выделенного из *Y. enterocolitica*

Таким образом, конъюгаты НЧЗ с иерсиниозным АГ обладают более высокой иммуномодулирующей активностью по сравнению с неконъюгированным АГ. На наш взгляд, полученные антитела можно использовать для эффективной иммунодиагностики иерсиниозов. Кроме того, конъюгаты НЧЗ с АГ *Y. enterocolitica* могут послужить основой для создания профилактической вакцины.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ, грант 19-14-00077.

Список литературы

1. Ленченко Е.М., Куликовский А.В., Павлова И.Б. Иерсиниоз. Этиология, эпизоотология, диагностика, меры борьбы и профилактики. М.: МГУПБ; 1998; 124 с.
2. Dykman L.A., Khlebtsov N.G. Immunological properties of gold nanoparticles. Chem Sci 2017; 8(3): 1719-1735.
3. Дыкман Л.А., Староверов С.А., Богатырев В.А., Щеголев С.Ю. Адъювантные свойства наночастиц золота. Российские нанотехнологии 2010; 5(11-12): 58-68.

4. Староверов С.А., Ермилов Д.Н., Щербаков А.А., Семенов С.В., Щеголев С.Ю., Дыкман Л.А. Получение антител к антигенам *Yersinia pseudotuberculosis* с использованием в качестве адъюванта частиц коллоидного золота. Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии 2003; (3): 54-57.

5. Gregory A.E., Williamson E.D., Prior J.L., Butcher W.A., Thompson I.J., Shaw A.M., Titball R.W. Conjugation of *Y. pestis* F1-antigen to gold nanoparticles improves immunogenicity. Vaccine 2012; 30(48): 6777-6782.

6. Хаджу А., Иващенко С.В., Фомин А.С., Щербаков А.А., Староверов С.А., Дыкман Л.А. Использование гипериммунной сыворотки, полученной к ДМСО-антигену кишечной эшерихии, в непрямом до-иммуноанализе с конъюгатом коллоидного золота. Научное обозрение 2015; (5): 30-34.

7. Дыкман Л.А., Хлебцов Н.Г. Методы химического синтеза коллоидного золота. Успехи химии 2019; 88(3): 229-247.

8. Leiter E.H. The NOD mouse: a model for insulin dependent diabetes mellitus. Curr Protoc Immunol 2001; 24(1): 15.9.1-15.9.23.

9. Bernas T., Dobrucki J.W. The role of plasma membrane in bioreduction of two tetrazolium salts, МТТ, and СТС. Arch Biochem Biophys 2000; 380(1): 108-116.

10. Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. J Immunol Methods 1983; 65 (1-2): 55-63.

УДК 636.084.

Т.Е. Маринченко

ФГБНУ «Росинформгротех», р.п. Правдинский, Россия

**ОТЕЧЕСТВЕННЫЕ РАЗРАБОТКИ ДЛЯ ПОВЫШЕНИЯ
ЭФФЕКТИВНОСТИ КОРМЛЕНИЯ**

Аннотация. Более широкое применение средств биологического происхождения в кормлении сельскохозяйственных животных и птиц позволит повысить рентабельность производства, стимулировать развитие экспорта отечественной высококачественной продукции, в том числе органической. В статье описаны некоторые перспективные отечественные разработки в области кормления сельскохозяйственных животных и птиц.

Ключевые слова: кормление, добавки, биотехнологии, эффективность.

T.E. Marinchenko

Rosinformagrotekh FSBSI, Pravdinsky Township, Russia

DOMESTIC PROJECTS TO INCREASE FEEDING EFFICIENCY

Annotation. The wider use of biological products in the feeding of farm animals and poultry will increase the profitability of production and stimulate the development of export of domestic high-quality products including organic ones. The article describes some promising domestic projects in the field of feeding farm animals and poultry.

Keywords: feeding, additives, biotechnology, efficiency.

Внедрение средств биологического происхождения в растениеводстве и животноводстве является одним из направлений повышения эффективности и рентабельности производства, снижения экологической нагрузки и роста конкурентоспособности производителей. Научные исследования, приводящие к появлению технологий и средств, повышающих эффективность кормления, активно ведутся во всем мире наблюдается большая инвестиционная и инновационная активность в области кормопроизводства, анонсируются крупные проекты, в техническом и технологическом обеспечении которых будут применяться последние достижения и разработки [1, 2]. Так, в ходе Всероссийской агропромышленной выставки «Золотая осень-2018» правительство Московской области заключило соглашение с ООО «Мустанг

Технологии Кормления» о строительстве завода по производству кормов стоимостью 1,7 млрд руб. в Ступине. Завод запустили в конце 2019 г., создано более 200 рабочих мест [3].

В последнее время представлено много решений частных проблем в области кормления, повышающие реализацию генетического потенциала животных [4]. Так, Красноярским ГАУ предложена технология обеспечения легкоусвояемыми углеводами рационов КРС. Известно, что недостаток таких углеводов в рационах дойных коров особенно в зимний период не позволяет реализовать генетический уровень молочной продуктивности. Молодняк также зачастую имеет ежесуточные привесы ниже расчетных. В научной литературе приводятся сведения о том, что выдача дойным коровам сахара в количестве 0,5 кг на голову в сутки повышает молочную продуктивность на 1,5 л в сутки, а телятам – 50-100 г сахара в сутки увеличивают суточный прирост живой массы на 70-80 г.

Метод ферментативного гидролиза крахмала до глюкозы, по мнению специалистов, является очень перспективным. В Красноярском ГАУ нашли микроорганизм-продуцент амилолитического фермента, который отвечает за гидролиз – некоторые штаммы *Bacillus subtilis* (сенная палочка) [5].

Разработанная биотехнология позволяет получать из зернового сырья сахаросодержащий продукт в виде зерновой патоки с содержанием сахара 65-70%. Количество общего сахара в ней в пересчёте на сухое вещество составляет 68,28%, из них на долю дисахарида – сахарозы пришлось 58,95, моносахаров – 9,33%. Помимо сахаров, в зерновой патоке содержалось достаточно большое количество белка – 6,41%. Технология отличается простотой, низкой себестоимостью и высокой эффективностью применения [6].

Опыты в СПК «Солонцы» по изучению влияния зерновой патоки на рост и развитие телят показали, что добавление в молоко двухмесячным телятам кормовой патоки в течение 30 дней в дозе 100 мл на голову в сутки приводит к увеличению приростов. Разница в средней массе телят в опытной (81 кг) и контрольной (79 кг) группах составила 2 кг ($P < 0,01$).

Суточный расход патоки на телят опытной группы составил 3 л, всего за время проведения опыта было израсходовано 90 л патоки. Расчёты показали, что затраты на патоку в сутки для одного телёнка составили 5 руб., на 30 голов – 150, на 30 голов за месяц – 4500 руб. при себестоимости патоки 50 руб./л. Средний дополнительный привес опытной группы животных – 69,75 кг. При цене реализации 150 руб/кг живой массы, дополнительный доход предприятия составил 10462 руб. [7].

ООО «АгроИнновации» разработала неавтоматизированные установки «Лакомка» (производительность от 0,5-1 т за рабочий цикл – 3,5 ч) для небольших хозяйств и автоматизированные линии ЛПЗГ (от 1-16 т за рабочий цикл) – для средних и больших ферм с автоматической загрузкой зерна и выгрузкой готового продукта для переработки некондиционного зерна (пшеница, тритикале, ячмень, рожь, овес) в кормовые высокоуглеводные патоки для КРС и свиней.

Переработка зернового сырья происходит с помощью диспергатора в условиях кавитационных воздействий с последующей ферментацией (осахариванием). Запатентованная технология позволяет получить до 30% сахаров, что близко к максимально возможному количеству, с минимальным расходом ферментов и электроэнергии. Патока имеет низкую себестоимость, в среднем 1-1,5 руб/кг с учетом всех затрат и амортизации оборудования.

Оборудование по сравнению с аналогами имеет несколько преимуществ: технология переработки в условиях кавитации позволяет получить больший выход сахаров из одного сырья в сравнении с другим оборудованием; конструкция диспергатора не содержит быстроизнашивающихся узлов и деталей, что обеспечивает длительный срок службы; затраты на ферменты на производство 1 т патоки меньше в среднем в 2 раза; не требуется предварительного дробления сырья; диспергатор стерилизует сырье.

На выходе получается стерильный и здоровый продукт, кормление которым обходится дешевле, чем свекловичной патокой [8].

Биотехнологическая компания «Биоамид» разработала ОМЭК – органический микроэлементный комплекс, который обогащает премиксы и комбикорма органическими формами микроэлементов железа, марганца, цинка, меди, кобальта. Эффективность комплекса высокая – для восполнения нужд в микроэлементах их достаточно всего 5-10% в виде ОМЭК в сравнении с неорганическими солями микроэлементов.

Испытания добавки, которые проводились на Михайловской и Татищевской птицефабриках Саратовской области, Галичской птицефабрике – в Костромской, а также в г. Волгограде и Республике Беларусь, показали, что концентрация микроэлементов в крови животных, по оценкам биохимиков, в норме. Полученные результаты по замене неорганических солей микроэлементов L-аспарагинатами показали, что эффективность последних значительно выше традиционно используемых минеральных солей, отмечена высокая усвояемость и более высокая сохранность цыплят – 1% потерь вместо обычных 2%. В Белоруссии на агрокомбинате «Дзержинский» ОМЭК испытывали на 75 тыс. цыплят. В ходе 42 дней привес составил 62,7 г в сутки, конверсия корма – 1,73 кг.

Хелатные комплексы ОМЭК зарегистрированы, запатентованы и разрешены к применению в качестве кормовых добавок. Имеется несколько более дорогих зарубежных аналогов, самые известные – американской компании «Alltech» и немецкой «Biokey».

В настоящее время компания идет работа по объединению отдельных базовых элементов в один комплекс и усовершенствованию производства. Финансирование осуществляется Фондом «Сколково», который выделил грант в 22,5 млн руб. и частным инвестором, вкладывающим аналогичную сумму [9].

Динамичное развитие отечественного биотехнологического производства, появление конкурентоспособных продуктов позволяет снизить импортозависимость по этой категории товаров [10].

Перевод аграрного производства на принципы более экологического производства может стать толчком для развития отечественного АПК,

позволяющим решить актуальные задачи по повышению рентабельности производства, развитию экспорта отечественной высококачественной продукции, в том числе органической. Внедрение средств биологического происхождения в кормлении сельскохозяйственных животных и птиц стимулирует также развитие превентивной ветеринарии.

Список литературы

1. Маринченко Т.Е. «Зелёная экономика» как условие устойчивого развития России» // Инновации природообустройства и защиты окружающей среды: мат. I Национ. науч.-практ. конф. с межд. участ. 2019. С. 361-367.

2. Крылова Л.С., Ларионова О.С., Миргородская О.А., Ковтунова А.С. Биоэкономика и роль новых технологий в получении кормового белка: Актуальные проблемы ветеринарной медицины, пищевых и биотехнологий: сб. ст. 2016. С. 361-364.

3. Мониторинг инновационной активности в области сельского хозяйства: науч. аналит. обзор. – М.: ФГБНУ «Росинформагротех, 2018. – 104 с.

4. Гулий О.И., Ларионова О.С., Потемкина Е.Г., Фауст Е.А. Основы промышленной микробиологии. Саратов, 2015. – 119 с.

5. Маринченко Т.Е. Повышение эффективности молочного скотоводства // Вестник Всероссийского научно-исследовательского института механизации животноводства. 2019. № 2 (34). С. 193-203.

6. Донкова Н.В. Биотехнология получения легкоусвояемых сахаров из зерна для животноводства / Н.В. Донкова, С.А. Донков // Вест. КрасГАУ. – 2018. – № 1. – С. 222-227.

7. Никифоров А.К., Комиссаров А.В., Абрамова Е.Г., Волох О.А., Ларионова О.С. Биотехнология. Технологические аспекты биотехнологии. Том Часть 1 Методы биотехнологии. Саратов, 2018 – 168 с.

8. Линии производства патоки для КРС из зерна» [Электронный ресурс]. – URL: https://moskva.zol.ru/Prodazha/Linii-proizvodstva-patoki-dlyakrs-iz-zerna_Prodam_pshenitsa_2942194.html (дата обращения: 09.02.2019).

9. Инновационная органическая добавка в корм [Электронный ресурс]. URL: <https://agrovesti.ru/rubrika/article/innovacionnaya-organicheskayadobavka-v-korm> (дата обращения: 10.02.2019).

10. Маринченко Т.Е. Мировой и российский рынки биотехнологий // Модернизация аграрного образования: интеграция науки и практики: сб. научн. тр. по мат. IV Межд. науч.-практ. конф. 2018. – С. 119-122.

УДК 579.62

А.В. Мастиленко, С.С. Картакаева, А.А. Ломакин

Ульяновский государственный аграрный университет имени П.А. Столыпина, г. Ульяновск, Россия

РАЗРАБОТКА БИОТЕХНИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ ДЛЯ ИДЕНТИФИКАЦИИ МИКРООРГАНИЗМА *BORDETELLA HOLMESII*

Аннотация. В статье представлены результаты исследований подбора селективных компонентов для наработки бактериальной массы бактерий вида *B. holmesii*. Установлена устойчивость к линкомицину, фурадониу, кларитромицину, колистину, тиамулину, левомецетину и цефтазидину, что позволяет использовать данные антибактериальные вещества в качестве селективных компонентов в средах накопления. Бактерии *B.holmesii* устойчивы к гуанидина гидрохориду в концентрациях 0,4 г/л, 0,5 г/л, 0,7 г/л и 0,9 г/л; при этом додецилсульфат натрия в концентрации в диапазоне от 0,2 г/л до 0,4 г/л подавляет рост бактериальных клеток.

Ключевые слова: Bordetella, *B.holmesii*, антибактериальные вещества, гуанидина гидрохорид, додецилсульфат натрия.

A.V. Mastilenko, S.S. Kartakaeva, A.A. Lomakin.

Ulyanovsk State Agrarian University named after P.A. Stolypin, Ulyanovsk, Russia

DEVELOPMENT OF BIOTECHNICAL PARAMETERS FOR IDENTIFICATION OF MICROORGANISM BORDETELLA HOLMESII

Abstract. The article presents the results of studies on the selection of selective components for the production of the bacterial mass of bacteria of the species *B. holmesii*. Resistance to lincomycin, furadonin, clarithromycin, colistin, tiamulin, chloramphenicol and ceftazidime has been established, which allows the use of these antibacterial substances as selective components in storage media. The bacteria *B. holmesii* are resistant to guanidine hydrochloride at concentrations of 0.4 g / l, 0.5 g / l, 0.7 g / l and 0.9 g / l; while sodium dodecyl sulfate in a concentration in the range from 0.2 g / l to 0.4 g / l inhibits the growth of bacterial cells.

Key words: *Bordetella*, *B. holmesii*, antibacterial substances, guanidine hydrochloride, sodium dodecyl sulfate.

Виды *Bordetella* исторически подразделяются на «классические» *bordetellae*, представленные респираторными патогенами *Bordetella bronchiseptica*, *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis* и шестью менее изученными видами (Goodnow, 1980; Mattoo & Cherry, 2005; Diavatopoulos, 2005). Последние, «неклассические» *bordetellae*, включают *Bordetella hinzii* (Vandamme et al., 1995), *Bordetella holmesii* (Weyant et al., 1995), *Bordetella petrii* (von Wintzingerode et al., 2001), *Bordetella avium* (Kerstens et al., 1984), *Bordetella trematum* (Vandamme et al., 1996) и *Bordetella ansorpii* (Ko et al., 2005), помимо недавно предложенных видов *Bordetella sputigena*, *Bordetella bronchialis* и *Bordetella flabilis* (Vandamme et al., 2015) и *Bordetella muralis*, *Bordetella tumbaе* и *Bordetella tumulicola* из проб окружающей среды (Tazato et al., 2015) [1].

Бактерия B. holmesii, небольшая грамотрицательная коккоидная палочка, о которой впервые было сообщено в 1995 году, первоначально была идентифицирована в Центрах по контролю и профилактике заболеваний как представитель 2-й группы неокислителей. Известно, что микроорганизм выделен от пациентов с бактериемией, а также из мокроты пациентов с

симптомами коклюша [2,3]. Предполагается, что *B. holmesii* является исключительно возбудителем инфекций у людей. Но не исключено, что эти бактерии могут являться патогенами животных, так как *B. holmesii* филогенетически связана с *B. avium* [4]. Данный вопрос недостаточно изучен.

Целью исследования является подбор селективных компонентов для наработки бактериальной массы бактерий вида *B. holmesii*.

Задачи:

1. Установить действие антимикробных веществ на бактерии вида *B. holmesii*.

2. Установить влияние разных концентраций гуанидина гидрохлорида и додецилсульфата натрия на ростовые свойства и накопление бактериальной массы бактерий вида *B. holmesii*.

Материалы и методы

В работе был использован референс-штамм ATCC *B. holmesii* 51541 из музея кафедры микробиологии, вирусологии, эпизотологии и ветеринарно-санитарной экспертизы ФГБОУ ВО Ульяновский ГАУ.

В работе были использованы: питательный бульон для культивирования микроорганизмов сухой (ФБУН ГНЦПМиБ, Россия, г. Оболенск), гидрохлорид натрия (PanReas AppliChem, Германия), соляная кислота (PanReas AppliChem, Германия), диски с антибиотиками (OXOID, Великобритания), додецилсульфат натрия (PanReas AppliChem, Германия), гуанидина гидрохлорид (Sigma-Aldrich, США).

Результаты исследований

При исследовании чувствительности штамма *Bordetella holmesii* ATCC 51541 к антибактериальным препаратам при помощи диско-диффузного метода (ДДМ) было выявлено следующее: чувствительность исследуемого штамма к римфапицину, тилмиказину, гентамицину, тобрамицину, офлоксацину, неомицину, бензилпенициллину, цефамандолу, фузадиеновой кислоте, цефоперазону, апрамицину, доксициклину, энрофлоксацину, флорфениколу, сульфаметоксазолу + триметоприму, амоксициллину, флумеквину,

стрептомицину, ампициллину, карбопенициллину, цефтриаксону, амикацину, тетрациклину и эритромицину. Исследуемый штамм показал устойчивость к линкомицину, фурадонину, кларитромицину, колистину, тиамулину, левомицетину и цефтазидину.



Рис. 1 Чувствительность штамма *Bordetella holmesii* ATCC 51541 к амоксициллину, флумеквину и стрептомицину и устойчивость к колистину при культивировании на ГРМ-агаре в течение 24 ч при 37°С

В ходе эксперимента установлено, что додецилсульфат натрия подавляет рост *B.holmesii* в концентрациях 0,2 г/л, 0,3 г/л, 0,4 г/л. Исследуемый штамм растет на ГРМ-бульоне с гуанидина гидрохлоридом в концентрации 0,4 г/л, 0,5 г/л, 0,7 г/л и 0,9 г/л. Рост отмечается уже через 24 ч культивирования при 37°С. Это позволяет нам сделать вывод о том, что гуанидин не оказывает ингибирующего действия на рост исследуемого штамма в указанных концентрациях.

Выводы

1. Исследуемый штамм показал устойчивость к линкомицину, фурадонину, кларитромицину, колистину, тиамулину, левомицетину и цефтазидину, что позволяет использовать данные антибактериальные вещества в качестве селективных компонентов в средах накопления.

2. Бактерии *B.holmesii* обладают устойчивостью к гуанидина гидрохориду в концентрациях 0,4 г/л, 0,5 г/л, 0,7 г/л и 0,9 г/л; при этом додецилсульфат натрия в концентрации в диапазоне от 0,2 г/л до 0,4 г/л подавляет рост бактериальных клеток.

Список литературы

1. Ivanov Y.V. et al. Identification and taxonomic characterization of *Bordetella pseudohinzii* sp. nov. isolated from laboratory-raised mice //International journal of systematic and evolutionary microbiology. – 2016. – Т. 66. – №. 12. – С. 5452.

2. Njamkepo E. et al. Significant finding of *Bordetella holmesii* DNA in nasopharyngeal samples from French patients with suspected pertussis //Journal of clinical microbiology. – 2011. – Т. 49. – №. 12. – С. 4347-4348.

3. Vancraeynest E. et al. Bacteremia and complicated parapneumonic effusion caused by *Bordetella holmesii* in an elderly patient //Acta Clinica Belgica. – 2020. – С. 1-3.

4. Pittet L. F., Posfay-Barbe K. M. *Bordetella holmesii* infection: current knowledge and a vision for future research //Expert review of anti-infective therapy. – 2015. – Т. 13. – № 8. – С. 965-971.

УДК 579.62

А.В. Масиленко, С.С. Картакаева, А.А. Ломакин

Ульяновский государственный аграрный университет имени П.А. Столыпина, г. Ульяновск, Россия

РАЗРАБОТКА СХЕМЫ ПОЛУЧЕНИЯ БАКТЕРИАЛЬНОЙ МАССЫ МИКРООРГАНИЗМА *BORDETELLA HOLMESII* ДЛЯ СОЗДАНИЯ ДИАГНОСТИКУМА

Аннотация. В статье описан подбор оптимальных условий для наработки бактериальной массы бактерий вида *B. holmesii*. В результате исследований нами было установлено, что бактерии *B.holmesii* растут в температурном

диапазоне 11-37⁰С. Наиболее оптимальной температурой для наработки бактериальной массы является температура 37⁰С. Наиболее оптимальным показателем рН среды для накопления бактериальной массы бактерии *B.holmesii* является значение 7,0.

Ключевые слова: бактерии, *Bordetella*, *B.holmesii*, условия культивирования.

A.V. Mastilenko, C.C. Kartakaeva, A.A. Lomakin

Ulyanovsk State Agrarian University named after P.A. Stolypin, Ulyanovsk, Russia

DEVELOPMENT OF A SCHEME FOR OBTAINING A BACTERIAL MASS OF THE BORDETELLA HOLMESII MICRO-ORGANISM FOR CREATING A DIAGNOSTICUM

Abstract. The article describes the selection of optimal conditions for the production of the bacterial mass of bacteria of the species *B. holmesii*. As a result of research, we found that the bacteria *B.holmesii* grow in the temperature range of 11-37⁰С. The most optimal temperature for producing the bacterial mass is 37 ° С. The most optimal pH indicator for the accumulation of the bacterial mass of the bacterium *B.holmesii* is 7.0.

Key words: bacteria, *Bordetella*, *B.holmesii*, cultivation conditions.

Бактерии рода *Bordetella* имеют первостепенное значение в медицине и ветеринарии из-за их способности колонизировать дыхательные пути, вызывая широкий спектр легочных и бронхиальных инфекций. Общие, адаптированные для человека и животных, патогены *B. pertussis*, *B. parapertussis* и *B. bronchiseptica* известны как «классические» виды *Bordetella* [1,2].

Бактерии вида *B.holmesii* впервые были выделены в 1983 году, а первая рукопись с названием нового бактериального вида была опубликована в 1995 году. Они были связаны с бактериемией, эндокардитом и респираторными

заболеваниями у людей. Вид *B.holmesii* первоначально был описан как CDC nonoxidizer group 2 (NO-2) изолятов, собранных из культур крови, как правило, от молодых взрослых, имевших характерные нарушения [3]. Предполагается, что *B.holmesii* является строго человеческим патогеном, потому что о животных резервуарах пока не сообщалось. Тем не менее, эта исключительность не была тщательно исследована и может быть оспорена, так как *B.holmesii* тесно связана с видом *B.avium*. Кроме того, в двух сообщениях отмечается, что животные являются потенциальными источниками инфекции [4].

Целью исследования является подбор оптимальных условий для наработки бактериальной массы бактерий вида *B. holmesii*.

Задачи:

1. Установить оптимальную температуру культивирования бактерий вида *B. holmesii*.

2. Установить оптимальный уровень pH (водородный показатель) для наработки бактериальной массы бактерий вида *B. holmesii*.

Материалы и методы

В работе был использован референс-штамм ATCC *B. holmesii* 51541 из музея кафедры микробиологии, вирусологии, эпизоотологии и ветеринарно-санитарной экспертизы ФГБОУ ВО Ульяновский ГАУ.

В работе были использованы: питательный бульон для культивирования микроорганизмов сухой (ФБУН ГНЦПМиБ, Россия, г.Оболенск), гидрохлорид натрия (PanReas AppliChem, Германия), соляная кислота (PanReas AppliChem, Германия), диски с антибиотиками (OXOID, Великобритания), додецилсульфат натрия (PanReas AppliChem, Германия), гуанидина гидрохлорид (Sigma-Aldrich, США).

Результаты исследований

В результате проведённых исследований нами было установлено, что бактерии растут в температурном диапазоне 11-37⁰С.

При температуре 11⁰С *B. holmesii* дала рост на ГРМ-бульоне через 96 часов культивирования. При этом произошло слабое помутнение столбика среды.

При температуре 25⁰С слабое помутнение произошло в верхней части среды через 48 часов культивирования. При этом увеличение степени мутности происходило в течение всего времени культивирования (72 часа).

При температуре 37⁰С значимый рост бактерий был отмечен уже через 24 часа культивирования. Но при температуре 42⁰С рост отсутствовал на протяжении всего периода эксперимента (72 часа).

Нами было установлено, что бактерии *B. holmesii* растут при показателях рН среды в диапазоне 6-9. Следует обратить внимание на то, что рост при показателях рН 6-8 был отмечен через 24 часа культивирования, но при рН 9,0 рост бактерий был выявлен только через 48 часов. При этом лучше всего *B. holmesii* растет при рН 7,0. При рН 5,0 рост культуры вовсе не был отмечен.

Выводы

1. В результате проведённых исследований нами было установлено, что бактерии *B.holmesii* растут в температурном диапазоне 11-37⁰С. Наиболее оптимальной температурой для наработки бактериальной массы является температура 37⁰С.

2. Наиболее оптимальным показателем рН среды для накопления бактериальной массы бактерии *B.holmesii* является значение 7,0.

Список литературы

1. Pittet L. F. et al. *Bordetella holmesii*: an under-recognised *Bordetella* species //The Lancet Infectious Diseases. – 2014. – Т. 14. – № 6. – С. 510-519

2. Hamidou Soumana I., Linz B., Harvill E. T. Environmental origin of the genus *Bordetella* //Frontiers in microbiology. – 2017. – Т. 8. – С. 28

3. Weyant R. S. et al. *Bordetella holmesii* sp. nov., a new gram-negative species associated with septicemia //Journal of Clinical Microbiology. – 1995. – Т. 33. – № 1. – С. 1-7

4. Pittet L. F., Posfay-Barbe K. M. Bordetella holmesii infection: current knowledge and a vision for future research //Expert review of anti-infective therapy. – 2015. – Т. 13. – № 8. – С. 965-971.

УДК 579.62

А.В. Мاستиленко, А.А. Ломакин, Д.А. Васильев

Ульяновский государственный аграрный университет имени П.А. Столыпина, г. Ульяновск, Россия

РАЗРАБОТКА И ПОДБОР ОПТИМАЛЬНОГО ПИТАТЕЛЬНОГО СУБСТРАТА ДЛЯ НАРАБОТКИ БАКТЕРИАЛЬНОЙ МАССЫ ДЛЯ СОЗДАНИЯ ДИАГНОСТИКУМА ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ *B.PETRII*

Аннотация. В статье представлены результаты исследования подбора оптимального субстрата для накопления бактериальной массы *B.petrii*. Бактерии *B. petrii* растут на среде с включением в состав до 7% натрия хлорида. Способны утилизировать цитрат, глюконата глутамата и сукцината, продукции свободного азота (денитрификации).

Ключевые слова: Bordetella, *B. petrii*, субстрат, бактериальная масса.

A. V. Mastilenko, A.A. Lomakin, D.A. Vasiliev

Ulyanovsk State Agrarian University named after P.A. Stolypin, Ulyanovsk, Russia

DEVELOPMENT AND SELECTION OF AN OPTIMAL NUTRIENT SUBSTRATE FOR PRODUCING BACTERIAL WEIGHT FOR CREATING A DIANGNOSTICUM FOR IDENTIFICATION OF *B.PETRII*

Abstract. The article presents the results of a study of the selection of the optimal substrate for the accumulation of bacterial mass *B.petrii*. Bacteria *B. petrii*

grow on medium with up to 7% sodium chloride. Able to utilize citrate, glutamate gluconate and succinate, free nitrogen production (denitrification).

Key words: *Bordetella*, *B. petrii*, substrate, bacterial mass.

Ряд представителей рода *Bordetella*, *B. parapertussis*, *B. bronchiseptica*, *B. avium*, *B. hinzii*, *B. pseudohinzii*, являются возбудителями инфекций животных, в том числе и сельскохозяйственных [1].

Бактерия вида *B. petrii* первый представитель рода, который был выделен из окружающей среды [2]. В литературе есть данные, что *B. petrii* была выделена от людей с ослабленным иммунитетом и инфекциями: муковисцидозом и хронической легочной болезнью, с остеомиелитом нижней челюсти [3]. *B. petrii* содержит гены, которые позволяют синтез и секрецию факторов, конкретно связанных с вирулентностью патогенных *Bordetella* sp., а именно регулятор BvgAS и нитевидный гемагглютинин [4]. Это наталкивает на мысль о том, что *B. petrii* так же может являться возбудителем инфекционных процессов у животных.

Целью данного исследования подбор оптимального субстрата для накопления бактериальной массы *B. petrii*.

Задачами работы являются: 1. Изучить устойчивость *B. petrii* к разным концентрациям соли; 2. Изучить особенности метаболизма *B. petrii*; 3. Изучить способность бактерий использовать глутамат и сукцинат в качестве единственного источника углерода в среде.

Материалы и методы

В работе был использован референс-штамм *Bordetella petrii* ATCC ВАА-461, полученный из музея кафедры микробиологии, вирусологии, эпизоотологии и ветеринарно-санитарной экспертизы УлГАУ. Для оценки биохимических свойств нами были использованы: бульон LB по Lennox (Difco, Германия), набор для идентификации неприхотливых грамотрицательных аэробных/микроаэрофильных палочек API 20NE (bioMerieux SA, Франция), неферментест 24 (Lachema, Чехия), глюконат натрия (Sigma-Aldrich, Франция),

При помощи среды на расщепления глюконата, установлено, что спустя 48 часов культивирования выявлено, что в среде происходит накопление 2-кетоглюкона, детектированное после добавления реактива Бенедикта. Это говорит о способности *B. petrii* использовать глюконат как единственный источник углерода.

Так же нами было проверено, что бактерии *B. petrii* используют сукцинат и глутамат, как единственные источники углерода.

В дополнении к этому, была изучена способность использовать в качестве единственного источника углерода такие соединения как глутамат и сукцинат. Для этого в качестве солевой основы нами был использован следующий солевой состав: хлорид аммония- 0,08 г/л, сульфат магния- 0,002 г/л, хлорид натрия-4 г/л. Глюконат и сукцинат в среды добавляли в концентрациях 5 г/л, 10г/л, 1,5 г/л. После пяти суток инкубирования в термостате при температуре 37⁰С рост был во всех пробирках. Из этого можно сделать вывод, что *B. petrii* штамма АТСС ВАА-461 способны использовать эти соединения, как единственный источник углерода.

Выводы

По результату проведенных исследований нами было установлено, что *B. petrii* растут на среде с включением в состав до 7% натрия хлорида. Бактерии способны утилизировать цитрат и глюконата, продукции свободного азота (денитрификации). Этот вид бактерий способен использовать соли глутамата и сукцината в качестве единственного источника углерода в среде.

Список литературы

1. Hamidou Soumana I., Linz B., Harvill E. T. Environmental origin of the genus *Bordetella* //Frontiers in microbiology. – 2017. – Т. 8. – С. 28.
2. Von Wintzingerode F. et al. *Bordetella petrii* sp. nov., isolated from an anaerobic bioreactor, and emended description of the genus *Bordetella* //International journal of systematic and evolutionary microbiology. – 2001. – Т. 51. – №. 4. – С. 1257-1265.

3. Kwon S. S. et al. Persistent *Bordetella petrii* Infection Related to Bone Fractures //Annals of laboratory medicine. – 2016. – Т. 36. – №. 1. – С. 70-72.

4. Gross R. et al. The missing link: *Bordetella petrii* is endowed with both the metabolic versatility of environmental bacteria and virulence traits of pathogenic *Bordetellae* //BMC genomics. – 2008. – Т. 9. – №. 1. – С. 449.

УДК 579.62

А.В. Мاستиленко, А. Н. Минаева, А.А. Ломакин

Ульяновский государственный аграрный университет имени П.А. Столыпина, г. Ульяновск, Россия

ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОТЕОМА *BORDETELLA TREMATUM* ДЛЯ СОЗДАНИЯ БИОПРЕПАРАТОВ

Аннотация. В статье представлены результаты исследования изучение протеома *B. trematum* для создания биопрепаратов. Среди полученных белков в ходе анализа in-silico, наибольшая доля приходится на ферменты (SDR family oxidoreductase, enoyl-CoA hydratase, CoA ester lyase) и трансмембранные белки (ABC transporter permease, ABC transporter ATP-binding protein, tripartite tricarboxylate transporter substrate binding protein).

Ключевые слова: *Bordetella*, *B. trematum*, протеом, in-silico.

A.V. Mastilenko, A.N. Minaev, A.A. Lomakin

Ulyanovsk State Agrarian University named after P.A. Stolypin, Ulyanovsk, Russia

RESEARCH OF *BORDETELLA TREMATUM* PROTEOM FOR CREATION OF BIOLOGICAL PRODUCTS

Abstract. The article presents the results of a study on the study of the *B. trematum* proteome for the creation of biological products. Among the obtained proteins during the in-silico analysis, the largest share is made up of enzymes (SDR

family oxidoreductase, enoyl-CoA hydratase, CoA ester lyase) and transmembrane proteins (ABC transporter permease, ABC transporter ATP-binding protein, tripartite tricarboxylate transporter substrate binding protein)

Key words: *Bordetella*, *B. trematum*, proteome, in-silico.

Род *Bordetella* объединяет грамотрицательные, не ферментирующие глюкозу бациллы [2]. К настоящему моменту известно о существовании 16 видов данного рода: *B.pertussis*, *B. parapertussis*, *B. bronchiseptica*, *B. holmesii*, *B. avium*, *B. hinzii*, *B. pseudohinzii*, *B. ansorpii*, *B.petrii*, *B. trematum*, *B. bronchialis*, *B. flabilis*, *B. sputigena*, *B. muralis*, *B. tumulicola*, and *B. tumbae*. Чаще встречающиеся представители из них, такие как *B.pertussis*, *B. parapertussis*, *B. bronchiseptica*, *B. holmesii*, *B. avium* и *B. hinzii* известны тем, что вызывают острые респираторные заболевания среди животных и человека [4]. Бактерия *B. trematum* была выделена в 1980 г из ушных инфекций и ран, а описана впервые в 1996 году Vandamme et al. [3]. Из-за низкой частоты встречаемости изолятов, о биологии, механизмах вирулентности и патогенетической значимости *B. trematum* известно мало [1].

Профилирование протеома *B. trematum* может пролить свет на патогенез и заложить основу для улучшения клинической диагностики.

Поэтому целью и задачей нашего исследования является изучение протеома *B. trematum* для создания биопрепаратов.

Материалы и методы

Для опыта был использован из международной коллекции штамм *Bordetella trematum* Vandamme et. al. (ATCC 700309), хранящийся в музее кафедры микробиологии, вирусологии, эпизоотологии и ветеринарно-санитарной экспертизы ФГБОУ ВО «Ульяновская ГАУ».

Питательная среда: Основа агара Борде-Жангу (BORDET GENGOU AGAR BASE), Difco™, Франция.

Реактивы: SDS-PAGE буфер, SDS буфер, 0,9% физиологический раствор, 3% трис-глициновый буфер, бромфеноловый синий, 3% раствор уксусной кислоты, маркеры.

Анализ протеома *Bordetella trematum* был проведен методом вертикального электрофореза в полиакриламидном геле (8-16 %) в денатурирующих условиях с SDS по Лэммли [5].

Результаты исследования

Из бактериальной массы, накопленной на среде Борде-Жангу агар (при 37°C – 72 ч), делали суспензии. В соответствии с протоколом BIO RAD по проведению электрофореза в полиакриламидном геле, проводили все необходимые манипуляции с полученными суспензиями, с целью получения белков в концентрации 5 мкг/мкл. Далее осуществляли разделение белков с помощью вертикального электрофореза (при 200 Вт в течение 40 мин). Результаты протеомного разделения представлены на рисунке 1.

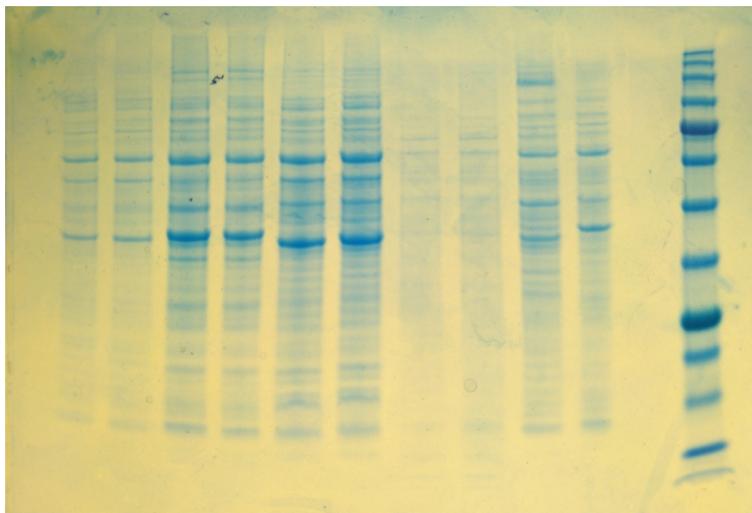


Рисунок 1. Профилограмма протеома представителей рода *Bordetella*

Затем проводили анализ полученной электрофореграммы в программном обеспечении GelAnalyzer. По данным молекулярного веса маркера был построен калибровочный график. После чего определяли молекулярный вес каждого из протеомов *B. trematum* (102 кДа, 85 кДа, 77 кДа, 67 кДа, 54 кДа, 45 кДа, 38 кДа, 34 кДа, 30 кДа, 29 кДа, 28 кДа, 27 кДа, 26 кДа, 25 кДа, 23 кДа).

В системе NCBI в соответствии с данными, полученными при секвенировании генома *B. trematum* был проведён in-silico анализ соответствия аннотированным протеомам – идентифицировано 4006 белка. Среди них отбору подлежали те, которые были подобны молекулярному весу протеомов, полученных нами при электрофоретическом их разделении.

Среди полученных белков в ходе in-silico анализ, наибольшая доля приходится на ферменты (SDR family oxidoreductase, enoyl-CoA hydratase, CoA ester lyase) и трансмембранные белки (ABC transporter permease, ABC transporter ATP-binding protein, tripartite tricarboxylate transporter substrate binding protein).

Выводы

Таким образом, в ходе работы нами было проведено профилирование протеома *B. trematum*, дана его биологическая характеристика по электрофореграмме и анализу in-silico. Полученные результаты в дальнейшем могут лечь в основу разработки соответствующих серологических диагностикумов для изучения антигенной структуры *B. trematum*.

Список литературы

1. Castro, R. Martins, N. Forno, L. Santana, F. Rossi, A. Schwarzbald, S. Costa and P. Trindade Bordetella trematum infection: case report and review of previous cases // *Infectious Diseases*. –2019. – № 19. – 6 С.
2. Daxboeck, E. Goerzer, P. Apfalter, M. Nehr and R. Krause Isolation of Bordetella trematum from a diabetic leg ulcer // *Diabetic Medicine*. – 2004. - № 21. – С. 1247–1248.
3. Halim, F. Ihibbane, H. Belabbes, K. Zerouali, Mdaghri Isolation of Bordetella trematum from bacteremia // *Ann BiolClin*. – 2014. – № 5. – С. 612–614.
4. Mattoo S, Cherry D. Molecular Pathogenesis, Epidemiology, and Clinical Manifestations of Respiratory Infections Due to Bordetella pertussis and Other Bordetella Subspecies // *Clinical microbiology reviews*. – 2005. – №2. – С. 326–382.
5. Shivanandappa K. et al. Purification of heat labile toxin from Bordetella pertussis vaccine strain 134 employed indigenous technology // *Alexandria Journal of Medicine*. – 2016. –Т.52. – № 2. – С. 107-113.

УДК 579.62

А. Н. Минаева, А. А. Ломакин, А. В. Мاستиленко

Ульяновский государственный аграрный университет имени П.А. Столыпина, г. Ульяновск, Россия

РАЗРАБОТКА ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНЫХ ТЕСТОВ *BORDETELLA TREMATUM* ДЛЯ СОЗДАНИЯ ДИАГНОСТИКУМОВ УКАЗАННОГО МИКРООРГАНИЗМА

Аннотация. В статье представлены результаты изучения основных биохимических свойств бактерий вида *B. trematum* необходимых для разработки технологических параметров схем их выделения и идентификации. *B. trematum* на протяжении не обладают способностью проявлять сахаралитическую и дезоксирибонуклеазную активность, не пептонизируют молочный белок казеин, не разжижают желатин, не утилизируют мочевины, аминокислоты и цитраты.

Ключевые слова: *Bordetella*, *B. trematum*, параметры, наработка бактериальной массы.

A.N. Minaeva, A.A. Lomakin, A.V. Mastilenko

Ulyanovsk State Agrarian University named after P.A. Stolypin, Ulyanovsk, Russia

DEVELOPMENT OF BORDETELLA TREMATUM DIFFERENTIAL TESTS FOR CREATION OF DIAGNOSTICUMES OF THE SPECIFIED MICRO-ORGANISM

Abstract. The article presents the results of a study of the basic biochemical properties of bacteria of the *B. trematum* species necessary for the development of technological parameters of their isolation and identification schemes. *B. trematum* for a long time does not have the ability to exhibit saccharitic and deoxyribonuclease

activity, do not peptone milk protein casein, do not thin gelatin, do not utilize urea, amino acids and citrates.

Key words: *Bordetella*, *B. trematum*, parameters, bacterial mass production.

Бактерии вида *B. trematum* являются грамотрицательными кокковидными палочками, относящимися к роду *Bordetella* [3]. В отличие от остальных представителей исследуемый нами микроорганизм не вызывает респираторные инфекции. Как правило, обнаруживается при полимикробной инфекции, выделяется из ушных и тканевых поражениях у больных диабетом [1]. В 2015 г. появилась информация о первом выделении от животных *B.trematum*. В результате исследованиями было установлено, что штамм, выделенного из содержимого рубца крупного рогатого скота, бактерии несет участок гена, отвечающий за действие цито-летальных токсинов (CDT) [4]. Тем не менее, механизм возможного патогенеза бактерии *B. trematum* еще не установлен. Так же не разработана стандартизированная методология для его типизации и идентификации [2].

Целью и задачей исследования является изучение основных биохимических свойств бактерий вида *B. trematum* необходимых для разработки технологических параметров схем их выделения и идентификации.

Материалы и методы

Для опыта был использован из международной коллекции штамм *Bordetella trematum* Vandamme et. al. (ATCC 700309), хранящийся в музее кафедры микробиологии, вирусологии, эпизоотологии и ветеринарно-санитарной экспертизы ФГБОУ ВО «Ульяновская ГАУ»

Питательные среды и реактивы: биохимические тест-системы для ускоренной идентификации микроорганизмов: набор Api 20 E (BIOMERIEUX, Франция) и НЕФЕРМтест 24 (PLIVA-Lachema, Чехия); бульон с лизином (HIMEDIA, Индия), бульон с аргинином (HIMEDIA, Индия), бульон с орнитином (HIMEDIA, Индия), молочный агар Эйкмана, среда для выявления ДНКазы, среды Гисса (НПО «Питательные среды», г. Махачкала); раствора

толуидиновый синий (Aldrich-sigma), тетраметил-р-фенилендиаминдигидрохлорид (Aldrich-sigma).

Биохимические свойства бордетелл изучали с использованием общепринятых микробиологических методов выделения и идентификации бактерий (Герхардт, 1984); инструкции по применению «Набора для ускоренного определения биохимических свойств».

Результаты исследования

При изучении ферментативной активности исследуемый штамм не проявлял рост на следующих средах: среды Гисса, среды с аминокислотами (лизин, аргинин, орнитин), среда с 12 % содержанием желатина, цитратный агар Симмонса. Что свидетельствует о неспособности штамма *Bordetella trematum* ферментировать сахара, аминокислоты, желатин и цитраты. Аналогичные результаты были получены и при использовании набора Api 20 E (BIOMERIEUX, Франция) (рис.1) и НЕФЕРМтест 24 (PLIVA-Lachema, Чехия) (рис.2). Помимо этого с их помощью было установлено, что штамм *Bordetella trematum* ATCC 700309: не восстанавливает нитраты до нитритов, не ферментирует β -галактозидазу, триптофандеаминазу, не продуцирует H_2S , не ферментирует уреазу, не продуцирует индол, ацетоин, не окисляет сахарозу, мелибиозу и амигдалин, фосфатазу, эскулин, глутамилтрансферазу, целлобиозу, трегалозу.



Рисунок 1. Учет результатов тестов ферментативной активности бактерий штамма *Bordetella trematum* ATCC 700309 через 24 ч культивирования при 37⁰С на наборе для идентификации Enterobacteriaceae и других неприхотливых грамотрицательных палочек Api 20 E

Инкубирование на молочной среде Эйкмана характеризовалось ростом колоний без проявления просветлений зон вокруг них. Этот факт позволяет сделать вывод о том, что данный штамм не ферментирует молочный белок казеин.



Рисунок 2. Учет результатов тестов ферментативной активности бактерий штамма *Bordetella trematum* ATCC 700309 через 24 ч культивирования при 37⁰С на наборе для идентификации грамотрицательных неферментирующих бактерий – НЕФЕРМтест 24

Для определения дезоксирибонуклеазной активности, штамм *B. trematum* ATCC 700309 культивировали на агаре для определения ДНКазы (Conda, Испания) (при 37⁰С – 24 ч). Розовое окрашивание, после добавления на выросшие колонии раствора толуидиновый синий, не произошло. Что свидетельствует об отсутствии дезоксирибонуклеазной активности у бактерий исследуемого штамма.

Так же при исследовании биохимических свойств, у культур *Bordetella trematum* была выявлена способность к образованию фермента каталазы и отрицательная реакция активности цитохромоксидазы.

Выводы

По результатам изучения биохимических свойств выявлено, что бактерии штамма *Bordetella trematum*, являются каталазоположительными, и цитохромоксидазоотрицательными. Кроме этого было установлено, что культуры *B. trematum* на протяжении своей жизнедеятельности не обладают способностью проявлять сахаралитическую и дезоксирибонуклеазную

активность, не пептонизируют молочный белок казеин, не разжижают желатин, не утилизируют мочевины, аминокислоты и цитраты.

Таким образом, в рамках проводимой работы нами были изучены основные ферментативные свойства *B. trematum*. Полученные результаты будут использованы для разработки схемы их выделения и бактериологического тестирования.

Список литературы

1. Almagro-Molto, W. Eder, S. Schubert Bordetella trematum in chronic ulcers: report on two cases and review of the literature // Infection. – 2015. – № 43. – С. 489–494.

2. Castro, R. Martins, N. Forno, L. Santana, F. Rossi, A. Schwarzbald, S. Costa and P. Trindade Bordetella trematum infection: case report and review of previous cases // Infectious Diseases. –2019. – № 19. – 6 С.

3. Majewski, M. Nogi, J. Bankowski, H. Chung Bordetella trematum sepsis with shock in a diabetic patient with rapidly developing soft tissue infection // Diagnostic Microbiology and Infectious Disease. – 2016. – № 86. – С. 112 –114.

4. Chang, T. Jin, M. Rhee, H. Jeong, S. Kim, B. Kima Draft Genome Sequence of Bordetella trematum Strain HR18 // Genome Announcements. – 2015. – № 3. – С. 1357-1358.

5. Герхардт Ф. Методы общей бактериологии // М.:Мир, 1984 г. – 472 с.

УДК 637.146.21

Э.М. Муллагулова

Башкирский государственный аграрный университет, Уфа, Россия

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА СУЩЕСТВУЮЩИХ ТЕХНОЛОГИЙ ПРОИЗВОДСТВА КЕФИРА

Аннотация. В данной статье отражена сравнительная оценка существующих технологий производства кефира, рассмотрены его органолептические и физико-химические показатели.

Ключевые слова: кефир, молоко, закваска, кефирные грибки, молочнокислые бактерии, резервуарный способ заквашивания, термостатный способ заквашивания, сквашивание.

E.M. Mullagulova

Bashkir State Agrarian University, Ufa, Russia

A COMPARATIVE ASSESSMENT OF EXISTING TECHNOLOGIES FOR THE PRODUCTION OF YOGURT

Annotation. This article reflects a comparative assessment of existing technologies for the production of kefir, its organoleptic and physico-chemical indicators are considered.

Key words: yogurt, milk, starter culture, kefir grains, lactic acid bacteria, the tank method of fermentation, the incubation method of fermentation, fermentation.

Введение. Кисломолочные напитки считаются биологически ценными, так как обладают высокими лечебно-профилактическими свойствами и высокой усвояемостью. Лечебные свойства кефира хорошо известны в народной медицине и объясняются накоплением в нем антибиотических веществ. Главное преимущество кефира - оказывать пробиотическое действие, то есть благоприятно влиять на состав микробов кишечника: кефир подавляет рост болезнетворных микроорганизмов, способствует предотвращению развития кишечных инфекций и помогает при наличии дисбактериоза. Кроме того, кефир рекомендуется употреблять при ЖКТ заболеваниях [2].

Цель исследования: сравнить типовые технологические линии производства кефира резервуарным и термостатным способами.

Задачи исследования:

- изучить технологию производства кефира резервуарным и термостатным способами;
- изучить органолептические и физико-химические свойства;

Материал и методы исследований. Кефир, соответствующий требованиям ГОСТ 31454-2012. Определение органолептических и физико-химических показателей кефира. Сравнение технологий производства кефира.

Результаты исследований. Кефир производят двумя способами-резервуарным и термостатным. Резервуарный способ производства отличается от термостатного тем, что молоко ферментируют в большой емкости и продукт со смешанным сгустком направляют на розлив. Такой способ позволяет снизить себестоимость продукции в 1,5 раза и повысить производительность труда на 35-37%. Технологический процесс состоит из следующих операций: приемка и подготовка сырья, нормализация, гомогенизация, пастеризация и охлаждение, заквашивание и сквашивание, охлаждение сгустка, созревание сгустка, фасовка. Кефир получают резервуарным способом из цельного натурального молока не ниже второго сорта, с кислотностью не более 19 °Т, плотностью не менее 1,027 кг/м³, с различной массовой долей жира, поэтому исходное молоко нормализуют до требуемой массовой доли жира [1].

Нормализованную смесь подвергают термической обработке. Пастеризуют нормализованную смесь при температуре 92±2 °С с выдержкой 2-8 мин или при температуре 85-87°С с выдержкой 10-15 минут. Высокие температуры пастеризации вызывают денатурацию сывороточных белков, одновременно повышая гидратационные свойства казеина. После пастеризации и гомогенизации смесь охлаждают до температуры заквашивания, после чего она поступает в емкость для заквашивания. В охлажденную смесь добавляют закваску, масса которой обычно составляет 5% от массы заквашиваемой смеси. Сквашивание смеси осуществляется при температуре заквашивания. В процессе сквашивания происходит размножение микрофлоры закваски, повышается кислотность, казеин свертывается и образует сгусток. Об окончании сквашивания судят по образованию достаточно плотного сгустка и достижению определенной кислотности. После окончания сквашивания продукт немедленно охлаждают. Кефир, полученный при созревании, охлаждается до 14-16°С после сквашивания и созревает при этой температуре.

Продолжительность созревания кефира составляет не менее 10-12 часов. Кисломолочные напитки упаковываются в термоуплотненные пакеты, коробки, стаканы и т.д. [4]

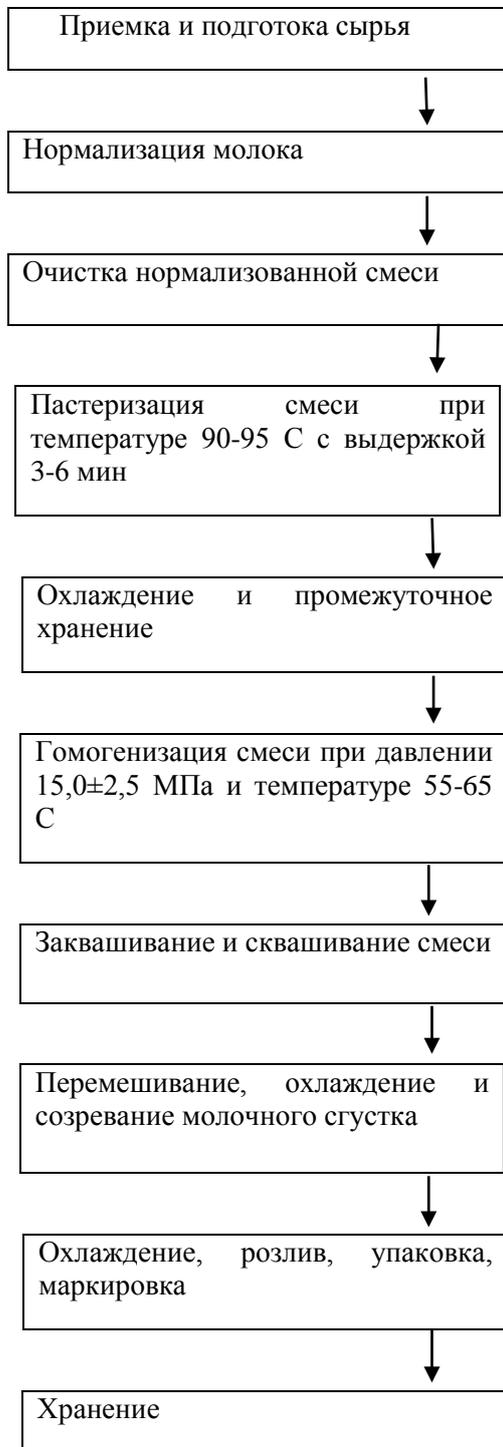


Рисунок 1. Технологическая схема производства кефира резервуарным способом

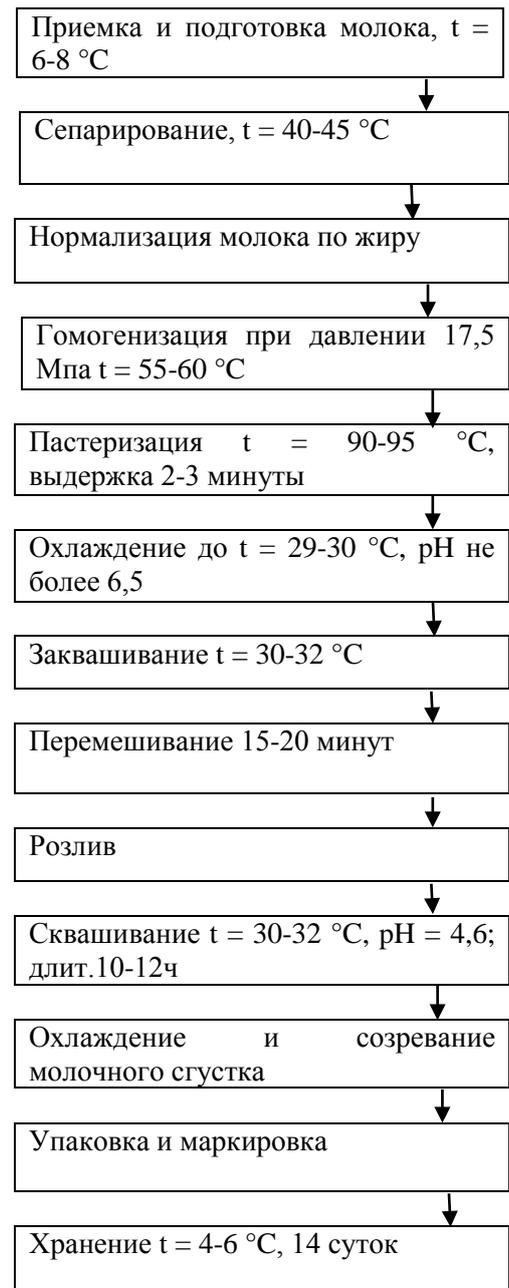


Рисунок 2. Технологическая схема производства кефира термостатным способом

При термостатном способе молоко после заквашивания сразу же разливают в емкости и помещают в термостаты для сквашивания и созревания. Готовый продукт направляется в холодильные камеры. Технологический процесс производства кефира термостатным способом состоит из тех же технологических операций, что и при производстве резервуарным способом. Приемку и подготовку сырья, нормализацию, термообработку, гомогенизацию нормализованной смеси и ее охлаждение до температуры заквашивания осуществляют так же, как и в резервуарном способе производства. Затем нормализованную смесь заквашивают в емкости. После заквашивания смесь упаковывают в потребительскую тару и направляют в термостатную камеру, где поддерживают температуру, благоприятную для развития микрофлоры закваски [5].

По органолептическим показателям кефир должен соответствовать «ГОСТ 31454-2012 Кефир. Технические условия». Определение органолептических показателей проводят методом дегустации через 24, 96 и 144 часа хранения. Выделяют следующие показатели: внешний вид и консистенция, запах и вкус, цвет.

Физико-химические показатели кефира определяют на соответствие требованиям «ГОСТ 31454-2012 Кефир. Технические условия». Важнейшими физико-химическими показателями качества кефира являются: массовая доля жира, кислотность [3].

Таблица 1

Физико-химические показатели кефира

Наименование показателя	Показатели по ГОСТ 31454-2012
Массовой долей жира, % не менее	3,2
Массовая доля белка, % не менее	2,8
Кислотность, °Т, не более	85

Органолептические показатели кефира

Наименование показателя	Характеристика	Оценка продукта по баллам (резервуарный)	Оценка продукта по баллам (термостатный)
Консистенция и внешний вид	Однородная, с ненарушенным сгустком. Допускается газообразование в виде отдельных глазков	4	5
Вкус, запах	Чисты, кисломолочные, без посторонних привкусов и запахов. Вкус слегка острый, допускается дрожжевой привкус	5	5
Цвет	Молочно-белый, равномерный по всей массе	5	5

Выводы. Проведенные исследования показывают, что резервуарный способ производства кисломолочных напитков по сравнению с термостатным имеет ряд преимуществ. Этот способ позволяет уменьшить производственные площади за счет ликвидации громоздких термостатных камер. Позволяет осуществить более полную механизацию и автоматизацию технологического процесса, сократить затраты ручного труда на 25% и повысить производительность труда на 35 %.

Список литературы

1. Барабанщиков, Н. В. Качество молока и молочных продуктов / Н. В. Барабанщиков. – Москва: Колос, 1980. – 255 с.
2. Бредихин, С. А. Технология и техника переработки молока / С. А. Бредихин, Ю. В. Космодемьянский. – Москва: Колос, 2003. – 200 с.
3. ГОСТ 31454-2012 Кефир. Технические условия.

4. Крусь, Г. Н. Технология молока и молочных продуктов / Г. Н. Крусь, А. Г. Храпцов, З. В. Волокитина, С. В. Карпычев; под ред. А. М. Шалыгиной. – Москва: Колос, 2006. – 457 с.

5. Твердохлеб, Г. В. Технология молока и молочных продуктов / Г. В. Твердохлеб, В. Н. Алексеев, Ф. С. Соколов. - Киев: Высшая школа, 2013. – 408 с.

УДК 543.54.51

Т.С. Осина, Я.Б. Древки, Б.И. Древки, О.С. Ларионова

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

**ИССЛЕДОВАНИЕ ТРАНСФОРМАЦИИ 9-ФЕНИЛ-СИММ.
ОКТАГИДРОСЕЛЕНОКСАНТЕНА ПОД ДЕЙСТВИЕМ ФЕРМЕНТОВ
НА ПРИМЕРЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ НА НЕГО *SACCHAROMYCES
CEREVISIAE***

Аннотация. В статье описано, что в присутствии *Saccharomyces cerevisiae* 9-фенил-симм.-октагидроселеноксантиен в качестве промежуточного продукта образует соответствующий пергидроселеноксантиен.

Ключевые слова: селен, хроматография, питательная среда *RPMI-1640*, масс-спектры, бензольные вытяжки.

T.S. Osina, Ya.B. Drevko, B.I. Drevko, O.S. Larionova

Saratov State Agrarian University named after N.I. Vavilova, Saratov, Russia

**A STUDY OF THE TRANSFORMATION OF 9-PHENYL-SIMM.
OCTAHYDROPHENANTHRENE UNDER THE ACTION OF ENZYMES-
FOR EXAMPLE, EXPOSURE TO *SACCHAROMYCES CEREVISIAE***

Annotation. The article describes in the presence of *Saccharomyces cerevisiae* 9-phenyl-simm.-octahydrophenanthrene as an intermediate product forms suitable pergidrolewaya.

Keywords: selenium, chromatography, RPMI-1640 culture medium, mass spectra, benzene extracts.

Селен является ультрамикроэлементом, который играет важную роль в жизнедеятельности человека и животных [1-6]. В настоящее время в медицине и ветеринарии для восполнения дефицита селена в основном используются его неорганические соединения: селенит и селенат натрия [3]. Применяемые в России менее токсичные синтетические селенорганические соединения представлены двумя препаратами в том числе 9-фенил-симм.-октагидроселеноксантином («Селен-Актив», «Селенопиран», «Селенес», «Селексен») [7], поэтому возникла необходимость исследовать возможные продукты его биотрансформации в биологических объектах. В данном случае мы выбрали в качестве модельной системы воздействие *Saccharomyces cerevisiae* на данное соединение.

Для исследования трансформации 9-фенил-симм.-октагидроселеноксантина в присутствии *Saccharomyces cerevisiae* необходимо было разработать методики определения его и продуктов его переработки в биологических объектах.

При анализе 9-фенил-симм. октагидроселеноксантина методом ГХ/МС (рисунки 1, 2) было обнаружено, что молекулярный ион имеет значительно меньшую интенсивность, чем его фрагмент, полученный после элиминирования фенильного заместителя (m/z для Se^{80} 253).

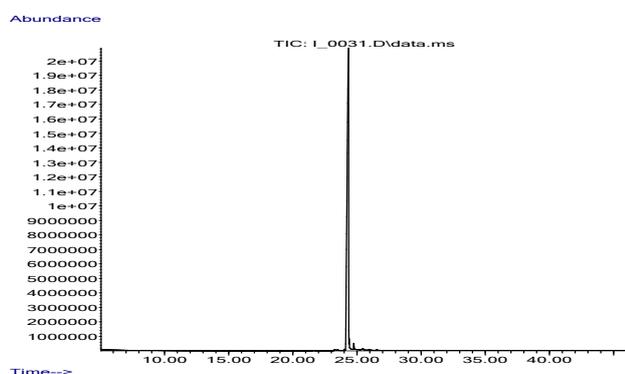


Рисунок 1. Хроматограмма 9-фенил-симм.октагидроселеноксантина

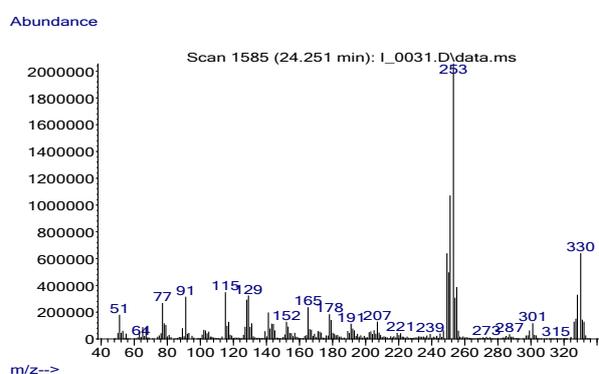


Рисунок 2. Масс-спектр 9-фенил-симм.октагидроселеноксантина

Следует отметить, что в определенных условиях может происходить изомеризация селеноксантина с миграцией двойной связи, о чем свидетельствует масс-спектр одной из микропримесей действующего вещества. Об этом говорит и несколько иная фрагментация субстрата, которая осуществляется с отрывом SeH радикала и образованием катиона с $m/z = 249$ (рисунок 3).

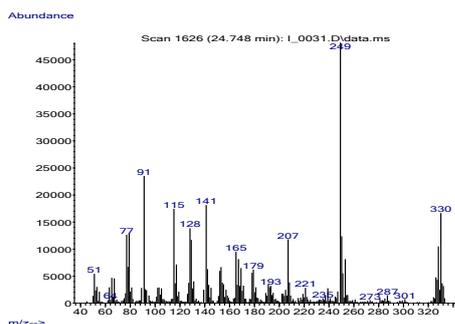


Рисунок 3. Масс-спектр изомера 9-фенилоктагидроселеноксантина

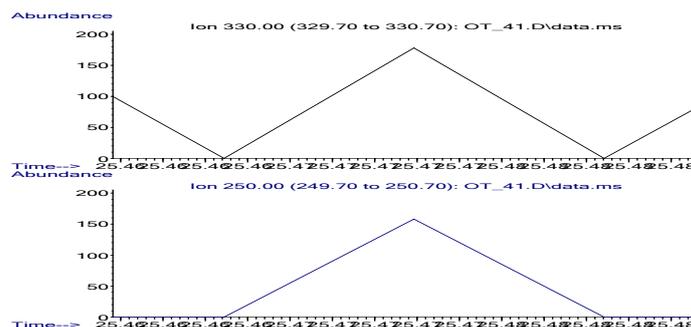


Рисунок 4. Хромотограммы записанные по ионам с m/z 330 и 250 (время процесса 10 мин)

Первоначально были записаны хромотограммы по ионам 249, 253, 328, 330, которые наиболее характерны для данного соединения (для изотопов (Se^{80} и Se^{78})). В результате выяснено, что ион 253 присутствует в основной массе биологических продуктов и создает большой фоновый сигнал, что затрудняет интерпретацию данных. Аналогичные данные получены и для других ионов.

После анализа экспериментальных данных было решено записать хромотограмму по ионам: 330 и 250, которые по интенсивности должны приближаться друг к другу, хотя изотопа Se^{77} (7,58%) в природе намного меньше, чем изотопа Se^{80} (49,82%) (рисунок 4).

Аналогично были записаны хромотограммы для процесса длившегося 30, 60 и 120 минут (рисунки 5, 6). В первых двух образцах обнаружено присутствие 9-фенил-симм.-октагидроселеноксантина. В третьем образце обнаружить исходный продукт не удалось, из-за малой концентрации субстрата, разной интенсивности совпадающих сигналов и высокой интенсивности шумов.

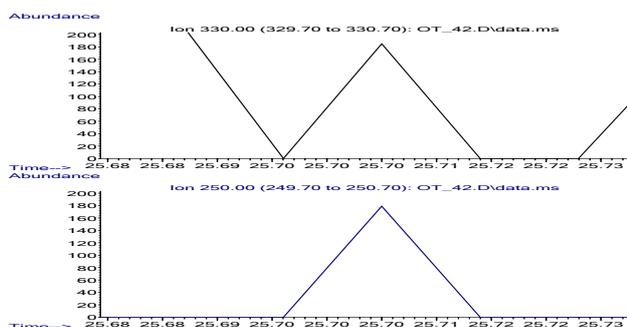


Рисунок 5. Хроматограммы записанные по ионам 330 и 250 (время процесса 30 мин)

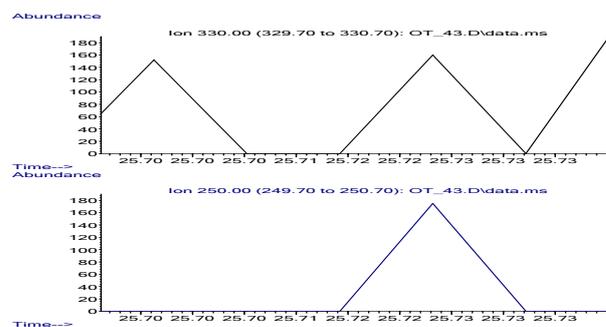


Рисунок 6. Хроматограммы записанные по ионам: 330 и 250 (время процесса 60 мин)

Затем образцы были исследованы на содержание продуктов реакции, которые могли возникнуть при восстановлении исходного субстрата.

При фрагментации молекулярного иона пергидроселеноксантина ($m/z = 334$ для изотопа Se^{80}) должна отщепляться молекула селеноводорода, из-за наличия α -протонов и образуется ион с $m/z = 250$. Таких совпадений по времени удерживания молекулярного иона и его фрагмента (24,862 мин. и 25,014 мин.) на хроматограмме обнаружено два (рисунок 7), что говорит о существовании двух геометрических изомеров пергидроселеноксантина, фрагментация которых по интенсивности сигналов может быть различной.

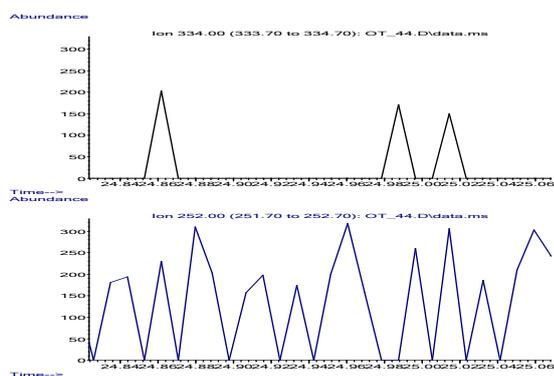


Рисунок 7. Хроматограммы записанные по ионам: 334 и 252 (время процесса 120 мин)

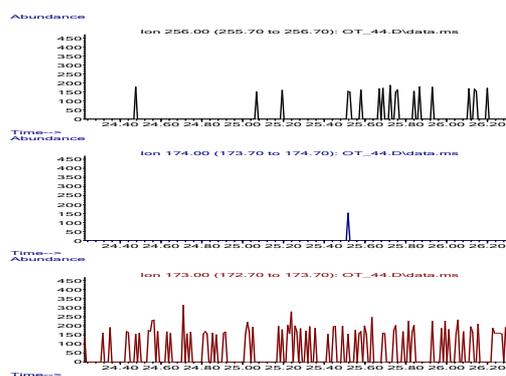
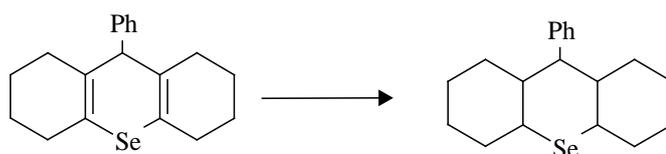


Рисунок 8. Хроматограммы записанные по ионам: 226, 174 и 173 (время 120 мин)

На основе полученных данных можно сделать вывод что, соединение с молекулярной массой 254 практически невозможно обнаружить из-за очень больших шумов, связанных с биологическим объектом, поэтому было решено искать дициклогексилфенилметан с молекулярным весом 256. Молекулярный ион данного соединения должен подвергаться фрагментации с отрывом циклогексанового радикала и образованием иона с $m/z = 173$. Однако согласно правилу Мак-Лафerti дополнительно должен образовываться ион с $m/z=174$. Совпадение по времени удерживания наблюдается для ионов с m/z : 256, 174, 173 при 25,52 мин. (рисунок 8). При времени процесса 10, 30 и 60 минут данного соединения обнаружить не удалось. При проведении процесса в среде молока наличие продуктов восстановления субстрата можно только предполагать из-за значительных шумовых сигналов, которые не дают возможности выделить индивидуальные сигналы соединений.

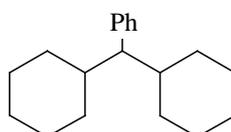
Таким образом, по данным ГХ/МС октагидроселеноксатен удалось обнаружить в пробах биотехнологической переработки только через 10, 30 и 60 минут после начала эксперимента.

При биотехнологической переработке 9-фенил-симм.-октагидроселеноксатена можно было ожидать протекание процесса его восстановления с образованием соответствующего пергидроселеноксатена.



Через 120 минут после начала эксперимента методом ГХ/МС нами был обнаружен пергидроселеноксатен в виде двух изомеров.

Следует отметить, что при анализе хроматограмм и масс-спектров пробы через 120 минут после начала эксперимента был обнаружен дициклогексилфенилметан – продукт элиминирования селена и полного восстановления органической части молекулы пергидроселеноксатена.



Можно предположить, что процесс восстановления двух двойных связей 9-фенил-симм. октагидроселеноксантина протекает с различной скоростью, что и приводит к образованию двух изомеров пергидроселеноксантина и различию в кинетических параметрах процесса.

При проведении процесса в среде молока наличие продуктов восстановления субстрата можно только предполагать из-за значительных шумовых сигналов, которые не дают возможности выделить индивидуальные сигналы соединений.

Таким образом показано, что при усвоении 9-фенил-симм.-октагидроселеноксантина происходит восстановление его до пергидроселеноксантина и, затем до фенилдициклогексилметана, то есть продукта элиминирования селена и полного восстановления органической части молекулы.

Методика переработки 9-фенил-симм. октагидроселеноксантина под воздействием Saccharomyces cerevisiae в питательной среде RPMI-1640

В плоскодонную колбу объемом 250 мл, снабженную магнитной мешалкой, к 100 мл RPMI-1640 при интенсивном перемешивании добавляют 1 мл спиртового раствора 9-фенил-симм. октагидроселеноксантина в концентрации 16 мг/мл и далее 0,5 г *Saccharomyces cerevisiae*. Для отбора пробы к 10 мл реакционной среды добавляют 10 мл бензола и перемешивают 15 минут. Далее полученный раствор переносят на делительную воронку и отделяют маточный раствор от бензольных вытяжек. Пробы отбираются через 10 мин, 30 мин, 60 мин и 120 мин. Бензольные вытяжки помещают в плоскодонную колбу с 5-10 г осушителя (безводным сульфатом натрия) на 120 мин. Далее анализируют методами ГХ/МС и ВЭЖХ. Эксперименты в среде молока проводили аналогично.

Список литературы

1. Гигиенические критерии состояния окружающей среды. Селен / Всемирная организация здравоохранения. Женева, 1989. 270 с.

2. Осина, Т.С. Биотехнологическое формирование наночастиц селена / Т.С. Осина, Я.Б. Древко, А.М. Буров, Б.И. Древко // Сб. Современные биоинженерные и ядерно-физические технологии в медицине - М. - 2014. – С. 227-230.

3. Осина, Т.С. Модифицирование селенита натрия в присутствии культуры *Saccharomyces cerevisiae* / Т.С. Осина, Я.Б. Древко, Б.И. Древко, П.В. Смутнев, А.М. Косолапова // Актуальные вопросы биомедицинской инженерии: сб. материалов VII Всерос. науч. конф. для молодых ученых. Саратов. - 2018. - С. 139-142.

4. Панкратов А. Н., Цивилева О. М., Цымбал О. А., Древко Я. Б., Тумский Р. С., Маракаева А.В. Выяснение возможности взаимодействия органических селенидов и соли дигидроселенохромилия с дифенилпикрилгидразилом // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. - 2019. - Т. 19. - Вып. 1. - С. 39-49.

5. De Rosa Viviana, Pinar Erkekog Lu, Forestier Anne, Favie Alain r, Hincal Filiz, Diamond Alan M., Douki Thierry, Rachidi Walid. Low doses of selenium specifically stimulate the repair of oxidative DNA damage in LNCaP prostate cancer cells // Free Radical Research, February. 2012. Vol. 46 (2) P. 105–115.

6. На Herena Y., Alfulaij Naghum, Berry Marla J., Seale Lucia A. From Selenium Absorption to Selenoprotein Degradation // Biological Trace Element Research. Springer Science+Business Media, LLC, part of Springer Nature 2019.

7. Sneddon Alan A. Selenium and vascular health // Pure Appl. Chem., Vol. 84, No. 2, pp. 239–248, 2012. DOI: 10.1351/PAC-CON-11-09-01.

УДК 543.544.3

Т.С. Осина, Я.Б. Древко, Б.И. Древко

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

**ИССЛЕДОВАНИЕ ТРАНСФОРМАЦИИ 2,4-ДИФЕНИЛ-7,8-БЕНЗО-
3,4,4А,5,6,10В-ГЕКСАГИДРО-2Н-СЕЛЕНОХРОМЕНА ПОД ДЕЙСТВИЕМ
ФЕРМЕНТОВ НА ПРИМЕРЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ *SACCHAROMYCES
CEREVISIAE***

Аннотация. В статье описано исследование преобразования селенорганического соединения под действием *Saccharomyces cerevisiae* в биологические селенсодержащие субстраты.

Ключевые слова: селен, хроматография, питательная среда *RPMI-1640*, масс-спектры, бензольные вытяжки.

T.S. Osina, Ya.B. Drevko, B.I. Drevko

Saratov State Agrarian University named after N.I. Vavilova, Saratov, Russia

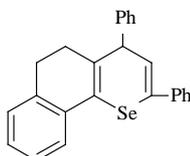
**INVESTIGATION OF TRANSFORMATION OF 2,4-DIPHENYL-7,8-BENZO-
3,4,4 A, 5, 6, 10 B-HEXAHYDRO-2H-SELENOCHROMENE UNDER THE
ACTION OF ENZYMES ON THE EXAMPLE OF *SACCHAROMYCES
CEREVISIAE***

Annotation. The article describes a study of the conversion of selenium-organic compounds under the action of *Saccharomyces cerevisiae* into biological selenium-containing substrates.

Keywords: selenium, chromatography, *RPMI-1640* culture medium, mass spectra, benzene extracts.

Селен является незаменимым микроэлементом в жизнедеятельности животных и человека, поэтому поиск новых форм его доставки в организмы является актуальной задачей. [1-5]. В настоящее время в медицине и ветеринарии для восполнения дефицита селена в основном используются его неорганические соединения: селенит и селенат натрия [5]. Применяемые в России менее токсичные синтетические селенорганические соединения представлены только двумя препаратами, поэтому исследование, обладающего

высокой биологической активностью недавно синтезированного [7] 2,4-дифенил-7,8-бензо-3,4,4a,5,6,10b-гексагидро-2H-селенохромена («Селенохромен») представляется актуальной задачей. В данной работе мы провели исследования по воздействию на указанное соединение *Saccharomyces cerevisiae*, чтобы получить данные о его биотрансформации в живых организмах.



Синтез «Селенохромена» был проведен по ранее разработанной методике [8].

Для методов контроля протекания процессов мы решили использовать методы ГХ/МС и ВЭЖХ. Однако, «Селенохромен» при анализе методом ГХ/МС разлагается на инжекторе хроматографа с образованием сложной смеси продуктов (рисунок 1). Основным продуктом при этом на хроматограмме является соединение, полученное при элиминировании элементарного селена. При этом сигналы молекулярного иона имеют довольно слабую интенсивность по сравнению ионами фрагментов (рисунок 2).

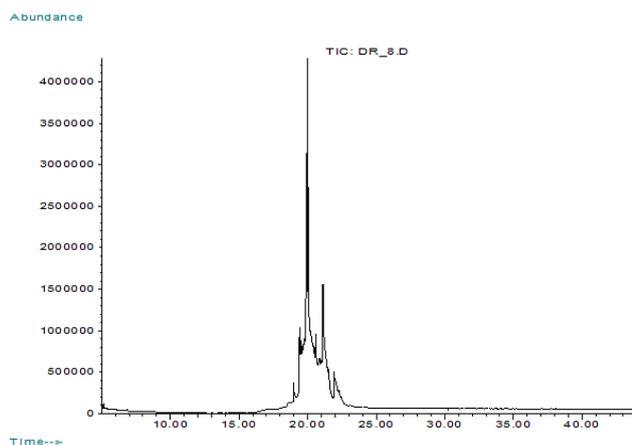


Рисунок 1. Хроматограмма «Селенохромена»

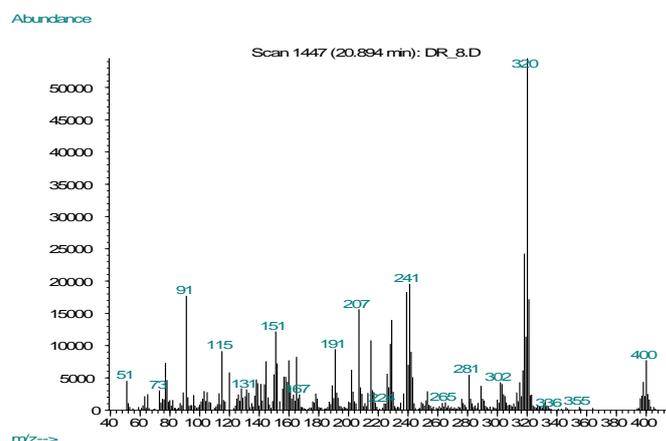
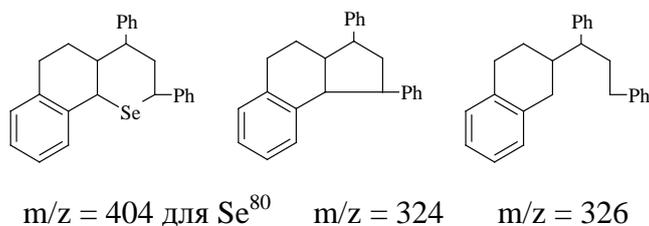


Рисунок 2. Масс-спектр «Селенохромена»

Ранее было обнаружено, что селенсодержащие дикетоны под действием *Saccharomyces cerevisiae* претерпевают процесс восстановления, поэтому мы предположили, что в данной серии экспериментов будут образовываться продукты восстановления исходного соединения следующего строения:



Для более четкой интерпретации результатов нами был разработан метод синтеза и синтезирован методом ионного гидрирования 2,4-дифенил-7,8-бензо-3,4,4а,5,6,10b-гексагидро-2H-селенохромен с $m/z = 404$ для Se^{80} .



Методом ГХ/МС установлено, что 2,4-дифенил-7,8-бензо-3,4,4а,5,6,10b-гексагидро-2H-селенохромен существуют в основном в виде двух изомеров с содержанием 48 % - 50 % каждого, которые проявлялись на хроматограмме в виде двух отдельных сигналов с разным временем удерживания (рисунок 3).

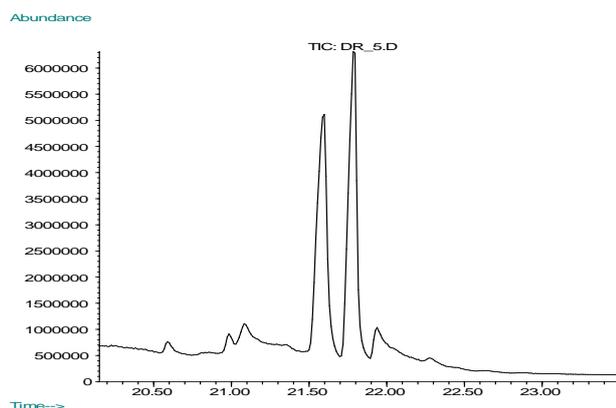


Рисунок 3. Фрагмент хроматограммы продуктов реакции ионного гидрирования

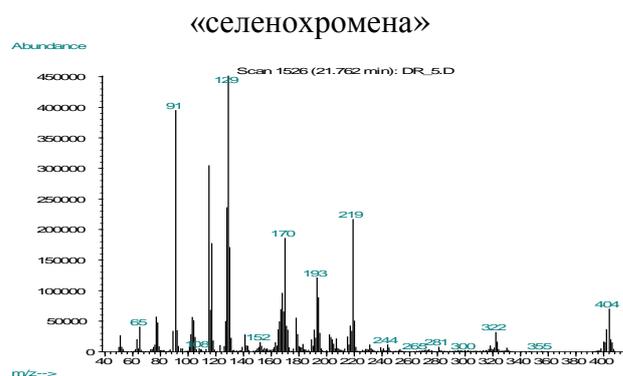


Рисунок 4. Масс-спектр изомера 2,4-дифенил-7,8-бензо-3,4,4а,5,6,10b-гексагидро-2H-селенохромена

Масс-спектры изомеров были идентичными и отличались только соотношением интенсивностей между молекулярным ионом и ионами фрагментов. Молекулярные ионы при этом были представлены в виде шести сигналов, интенсивность которых соответствовала содержанию изотопов селена в природе (рисунки 4,5).

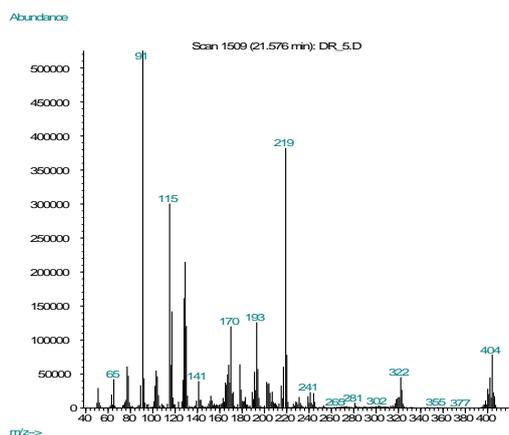


Рисунок 5. Масс-спектр изомера 2,4-дифенил-7,8-бензо-3,4,4а,5,6,10в-гексагидро-2Н-селенохромена

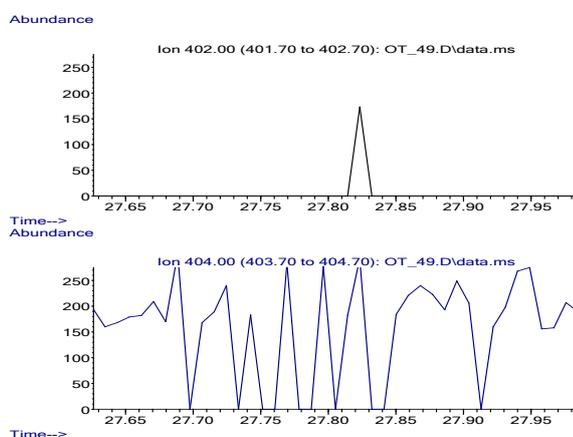


Рисунок 6. Фрагмент хроматограммы записанный по ионам с m/z 402 и 404 через 60 минут после начала эксперимента

Карбоциклические соединения в сложной смеси продуктов идентифицировать не удалось. Соединение с молекулярным весом 324 не было представлено на хроматограмме, а соединение с молекулярным весом 326 ретушировалось большим количеством сигналов (аналогичное явление наблюдалось на всех хроматограммах).

При анализе данных ГХ/МС было решено записывать хроматограммы с использованием программы “Extract Ion Chromatograms” по молекулярным ионам 2,4-дифенил-7,8-бензо-5,6-дигидроселенохромена с m/z 404 и 402 (для изотопов Se^{80} и Se^{78}), интенсивность которых должна соотноситься как 2:1.

Через 10 минут после начала эксперимента в среде RPMI-1640 гексагидроселенохромен не был обнаружен. При наличии сигнала с m/z 402, сигнал с m/z 404 отсутствовал. Аналогичные результаты были получены через

30 минут после начала эксперимента гексагидроселенохромен не был обнаружен, однако через 60 минут после начала эксперимента были обнаружены сигналы гексагидроселенохромена. В данном случае соотношение интенсивностей ионов 404 и 402 было два к одному при абсолютно одинаковом времени удерживания (рисунок 6).

Через 120 минут гексагидроселенохромен в пробе не был обнаружен. Это можно объяснить или слабой общей интенсивностью сигнала данной пробы, вызванной сбоями в ее подаче, которые характеризуют общую интенсивность сигнала) или тем, что данное соединение расходуется при протекании эксперимента.

Однако метод ГХ/МС не позволяет определить количественное содержание селенсодержащих соединений в исследуемой смеси, поэтому для установления данных параметров был проведен анализ бензольных вытяжек и самой питательной среды методом ВЭЖХ с УФ детектором (рисунок 7).

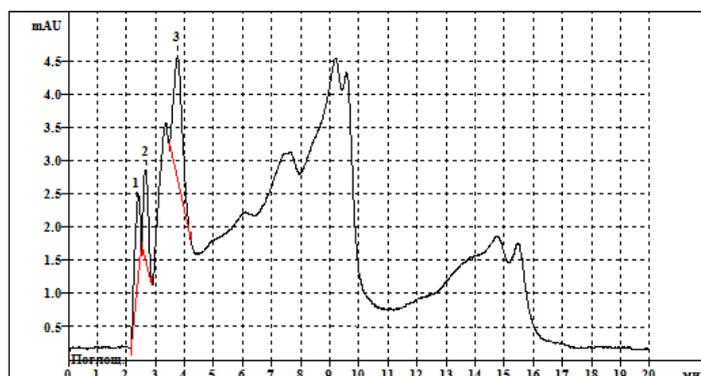


Рисунок 7. Протокол анализа бензольных вытяжек селенохромена в присутствии *Saccharomyces cerevisiae*

Таким образом показано, что усвоение селенсодержащих соединений в присутствии *Saccharomyces cerevisiae* происходит при восстановлении органической части молекулы.

Следует отметить, что соответствующий гексагидроселенохромен был обнаружен только на 60 минуте после начала эксперимента. На 10, 30 и 120 минутах эксперимента данное соединение обнаружить не удалось. Указанное свидетельствует о том, что первоначально идет восстановление органической

части молекулы, однако одновременно происходит усвоение гексагидроселенохромена, причем скорость его усвоения несколько ниже, чем скорость восстановления органической части молекулы. Таким образом показано, что усвоение селенсодержащих соединений в присутствии *Saccharomyces cerevisiae* происходит одновременно с процессом восстановления органической части молекулы.

Методика переработки 4-дифенил-7,8-бензо-5,6-дигидроселенохромена под воздействием Saccharomyces cerevisiae в питательной среде RPMI-1640.

В плоскодонную колбу объемом 250 мл снабженную магнитной мешалкой к 100 мл RPMI-1640 при интенсивном перемешивании добавляют 1 мл раствора 4-дифенил-7,8-бензо-5,6-дигидроселенохромена в концентрации 16 мг/мл и далее 0,5 г *Saccharomyces cerevisiae*. Для отбора пробы к 10 мл реакционной среды добавляют 10 мл бензола и перемешивают 15 минут. Далее полученный раствор переносят на делительную воронку и отделяют маточный раствор от бензольных вытяжек. Пробы отбираются через 10 мин, 30 мин, 60 мин и 120 мин. Бензольные вытяжки помещают в плоскодонную колбу с 5-10 г осушителя (безводным сульфатом натрия) на 120 мин. Далее анализируют методами ГХ/МС и ВЭЖХ.

Список литературы

1. Schrauzer G.N., Surai P.F. Selenium in human and animal nutrition: Resolved and unresolved issues. A partly historical treatise in commemoration of the fiftieth anniversary of the discovery of the biological essentiality of selenium, dedicated to the memory of Klaus Schwarz // *Critical Reviews in Biotechnology*. – 2009. - Vol. 29. – Is. 1. - P. 2-9.

2. Ying Huimin, Zhang Yan. Systems Biology of Selenium and Complex Disease // *Biological Trace Element Research*. Springer Science+Business Media, LLC, part of Springer Nature 2019. DOI: 10.1007/s12011-019-01781-9.

3. Sneddon Alan A. Selenium and vascular health // *Pure Appl. Chem.*, Vol. 84, No. 2, pp. 239–248, 2012. DOI: 10.1351/PAC-CON-11-09-01.

4. Древки Я.Б., Федотова О.В. Синтез первых представителей бензаннелированных дигидроселенохроменов // ХГС. 2006. №10. С.1586-1587.

5. Патент РФ № 2325155.Средство для лечения и профилактики отравлений соединениями тяжелых металлов. Древки Я.Б., Федотова О.В., Бородулин В.Б., Фомина Н.Ю., Мольченкова А.Н. 2008 27.05.2008

6. Патент РФ № 2572716. Способ получения растворимой в воде формы 2,4-дифенил-7,8-бензо-5,6-дигидроселенохромена. Древки Я.Б., Древки Б.И., Ларионова О.С., Козлов С.В., Ситникова Т.С. Опубликовано: 20.01.2016. № 2.

7. Drevko, Y.B., Sitnikova, T.S., Burov, A.M., Drevko, B.I., Shchegolev, S.Y. Reduction of diacetophenonyl selenide (DAPS-25 formulation) to acetophenone with the formation of selenium micro- and nanoparticles in the presence of *Saccharomyces cerevisiae* culture. // Applied Biochemistry and Microbiology, 2016, Vol. 52, No. 8, pp. 776–781. DOI: 10.1134/S0003683816080032

8. Реакция восстановления 2,4-диарил-7,8-бензо-5,6-дигидроселенохроменов. Древки Я.Б., Осина Т.С., Федотова О.В., Древки Б.И.. Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2015. Т. 15. № 2. С. 5-7.

УДК 619:636.22/.28:612.1

М.А. Пойманов, Е.Б. Шарафутдинова

Оренбургский аграрный университет, г. Оренбург, Россия

ВОЗРАСТНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ИНТЕГРАЛЬНЫХ ЛЕЙКОЦИТАРНЫХ ИНДЕКСОВ (ИЛИ) НЕСПЕЦИФИЧЕСКОЙ РЕЗИСТЕНТНОСТИ ОРГАНИЗМА (НРО) У ТЕЛЯТ, ПОЛУЧЕННЫХ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ РАЗНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ ВОСПРОИЗВОДСТВА

Аннотация. В статье описаны возрастные особенности формирования ИЛИ, характеризующих неспецифическую резистентность организма телят на ранних этапах постнатального онтогенеза, при расчете которых необходимо

учитывать динамичные преобразования в лейкограмме. Особенно в первую декаду жизни.

Ключевые слова: лейкоцитарные индексы, резистентность, лейкограмма, телята-трансплантанты, кровь, лейкоциты, гранулоциты, агранулоциты, постнатальный онтогенез.

M.A. Poymanov, E.B. Sharafutdinova

Orenburg State Agrarian University, Orenburg, Russia

AGE-CHANGED INTEGRAL LEUKOCITAR INDICES (ILI) OF NON-SPECIFIC RESISTANCE OF THE ORGANISM (NRO) IN CALVES OBTAINED WITH USE OF DIFFERENT REPRODUCTION TECHNOLOGIES

Annotation. The article describes the age-related features of the formation of OR, characterizing the nonspecific resistance of the calves in the early stages of postnatal ontogenesis, when calculating which it is necessary to take into account dynamic transformations in the leukogram. Especially in the first decade of life.

Keywords: leukocyte indices, resistance, leukogram, calf grafts, blood, leukocytes, granulocytes, agranulocytes, postnatal ontogenesis.

Традиционное искусственное осеменение доступно по цене, но при его применении динамика качественного обновления стада низкая. Трансплантация эмбрионов целесообразна при постановке задач по ускоренному качественному обновлению стада с кардинальным повышением продуктивности в течении ближайших 2-х – 3-х лет. Она позволяет в 5 раз быстрее, чем при искусственном осеменении, нарастить генетический потенциал племенного ядра в молочном и мясном скотоводстве [1]. Однако телята-трансплантанты уступают своим сверстникам, полученным при традиционном осеменении, по основным показателям, характеризующих неспецифическую реактивность организма [2].

Оценка качества полученного приплода можно провести по-разному, с использованием дорогостоящих лабораторных анализов с учётом основных морфологических показателей крови, а можно, используя параметры лейкограммы, оперировать ИЛИ, которые имеют диагностическое и прогностическое значение и позволяют оценить работу эффективных механизмов иммунной системы и уровень НРО [3, 4, 5].

Цель исследования – изучить возрастные особенности формирования ИЛИ, характеризующих неспецифическую резистентность организма телят на ранних этапах постнатального онтогенеза и закрепить их в статусе референтных значений.

Материал и методы исследования. Для проведения исследований в условиях НПО «Южный Урал» Саракташского района были подобраны две группы новорожденных телят герефордской породы, по 10 голов в каждой. В I-ю группу входили телята, полученные по результатам искусственного осеменения коров герефордской породы, во II-ю группу – телята-трансплантаты, родившиеся от коров-реципиентов симментальской породы, которым были подсажены эмбрионы от герефордов.

Взятие и изучение крови осуществлялось сразу после рождения, затем на: 1-е, 5-е, 10-е, 15-е, 30-е, 60-е и 90-е сутки.

Мазки крови готовили по общепринятой методике с окраской по Романовскому-Гимзе. Расчёт ИЛИ осуществляли после определения лейкограммы, с подсчётом 200 клеток. Выявляли ИЛИ по формулам в соответствии с общепринятой классификацией. В частности, были определены индексы, характеризующие НРО телят: Гаркави (иГ), стресса (ИС), Кребса (иК), Бредекка (иБ), лейкоцитарный (ЛИ), соотношения нейтрофилов и моноцитов (ИСНМ), соотношения лимфоцитов и моноцитов (ИСЛМ), иммунной реактивности (ИИР), алергизации (ИАЛ) и ядерного сдвига (ИЯС).

Результаты исследований обработаны на персональном компьютере с использованием программы Microsoft Excel.

Результаты исследования. Как было установлено ранее [6], лейкограмма у новорожденных телят характеризуется высоким содержанием нейтрофилов, причем в I-й группе диктатура нейтрофилии продолжается до 3-х, а во II-й до 5-х суток. Миелоциты исчезают из крови телят I-й группы уже в конце первой недели жизни, а у их сверстников на 30-е сутки, юные нейтрофилы в I-й группе не регистрируются уже в конце первого месяца жизни, а во II-й их находят и на 3-м месяце. Базофилы в лейкограмме телят I-й группы впервые обнаружили на 5-е сутки, у телят – трансплантантов их выявили в крови сразу после рождения. Эозинофилов у телят II-й группы по значительному количеству дней наблюдения было больше чем у животных сравняемой группы. Было установлено, что более полноценное и динамичное созревание клеток белой крови у телят I-й группы проходят в первые 14 дней, а у их сверстников из II-й группы еще не завершено к концу 2-го месяца жизни. Исходя из этого следует, что нормативной базой по ИЛИ для телят герефордской породы следует признать показатели I-й группы.

Комплексную оценку состояния организма позволяют дать лейкоцитарные индексы, которые представляют собой интегрально-математические значения лейкограммы.

Индекс адаптации Гаркави (иГ) – это суммарный показатель неспецифической реакции адаптационного синдрома, выявляли делением процента лимфоцитов на сегментоядерные нейтрофилы лейкограммы. При рождении концентрация лейкоцитов в крови телят обеих групп близки и статистически недостоверным, при существенной разнице в показателях зрелых нейтрофилов, соответственно $34,31 \pm 2,97$ в I-й группе и $30,19 \pm 2,23 \times 10^9/\text{л}$ во II-й ($p < 0,001$), поэтому значение иГ в $1,08 \pm 0,11$ и $1,22 \pm 0,13$ у.е. в первый день жизни до выпойки молозива является следствием данного сценария. Через сутки значения нивелируются, а через 5 суток разница в значениях снова существенна из-за разницы в показателях лимфоцитов: $54,63 \pm 3,74$ в I-й группе и у телят II-й группы – $47,32 \pm 2,93 \times 10^9/\text{л}$ ($p < 0,001$). Через 10 и 15 суток значения иГ близки, незначительная их разница обусловлена показателями насыщения

крови сегментоядерными нейтрофилами, их больше у телят I-й группы (табл.). Спустя 3 месяца после рождения у телят обеих групп рейтинг пула лимфоцитов стабилен и выравнивается, а пул нейтрофилов и в 1-й, во 2-й и 3-й месяцы был более представлен у телят I-й группы и поэтому иГ имеет больший бонитет у телят II-й группы (табл.).

Так как в течении стресс-реакций важную роль играют сменяющие друг друга гранулоциты и агранулоциты лейкоцитов крови, то для оперативной диагностики стресса используются индекс стресса (ИС), который определяется как частные от деления проценты сегментоядерных нейтрофилов на лимфоциты. Следует отметить, что значения данного индекса имеют очень близкие результаты, за исключением экспонентов 10-ти и 60-ти суток, когда данный признак имел статистическую достоверность ($p < 0,001$).

Индекс Бредекка (иБ) является интегральным критерием оценки функционального состояния организма, указывает на уровень его резистентности и определяется как соотношение процента лимфоцитов и палочкоядерных нейтрофилов. Следует учесть, что палочкоядерные нейтрофилы доминируют в лейкограмме первых дней жизни телят, а затем элиминируются из крови, оставаясь у взрослых животных в минимальных значениях. Однако у телят – трансплантантов в 10-ти суточном и 3-х месячном возрасте их больше почти в два раза чем у сверстников из I-й группы, поэтому значения иБ во все сроки наблюдения имели больший рейтинг у телят II-й группы причем во всех стадиях эта разница статистически достоверна (табл.)

Индекс Кребса (иК) представляет собой отношение общего количества нейтрофилов к лимфоцитам, косвенно характеризует, во-первых, активность фагоцитарных реакций и факторов специфического иммунитета, во-вторых, их участие в поддержании общей реактивности организма. Если при рождении пул нейтрофилов в крови телят I-й группы оценивался в $57,63 \pm 3,43\%$, во II-й – $53,13 \pm 4,13\%$, то через 5 суток соответственно $41,94 \pm 3,69$ и $47,69 \pm 3,93\%$, через 30 суток – $25,79 \pm 1,73$ и $25,59 \pm 1,61\%$, а лимфоциты конверсировали с $40,84 \pm 2,93\%$ при рождении до $29,21 \pm 1,43\%$ после месяца жизни.

Таблица. Возрастные изменения ИЛИ у телят полученных с использованием разных технологий воспроизводства

Индекс неспецифической резистентности	Группы	Возраст, сутки							
		До выпойки молозива	1	5	10	15	30	60	90
иГ	1	1,08±0,11	1,21±0,12	2,12±0,17	2,14±0,13	2,54±0,16	3,07±0,21	2,11±0,11	2,14±0,13
	2	1,22±0,13	1,24±0,16	1,81±0,16	2,01±0,11	2,72±0,18	3,59±0,23	2,56±0,16	2,36±0,17
ИС	1	0,93±0,07	0,82±0,06	0,47±0,05	0,41±0,03	0,39±0,04	0,32±0,06	0,47±0,05	0,47±0,04
	2	0,82±0,06	0,81±0,07	0,55±0,04	0,35±0,02	0,37±0,05	0,38±0,04	0,39±0,03	0,44±0,03
иБ	1	2,42±0,49	2,91±0,53	5,64±0,89	8,75±1,13	9,78±1,69	15,88±3,21	14,28±2,69	21,79±4,76
	2	2,13±0,33	2,52±0,46	3,91±0,34	6,92±0,69	7,12±0,07	11,34±2,19	11,36±2,09	13,41±2,96
иК	1	1,56±0,21	1,22±0,19	0,77±0,08	0,58±0,06	0,61±0,07	0,39±0,04	0,54±0,06	0,51±0,05
	2	1,61±0,17	1,48±0,22	1,01±0,11	0,57±0,04	0,59±0,04	0,38±0,03	0,48±0,03	0,52±0,06
ЛИ	1	0,64±0,09	0,75±0,08	1,29±0,19	1,69±0,29	1,66±0,31	2,57±0,38	1,83±0,19	1,95±0,24
	2	0,62±0,11	0,68±0,07	0,99±0,09	1,73±0,39	1,66±0,36	2,58±0,43	2,05±0,33	1,93±0,33
ИСНМ	1	11,98±1,49	12,02±2,36	13,23±2,27	8,68±1,69	9,71±1,78	3,84±0,58	6,06±0,67	5,27±0,89
	2	14,83±1,87	13,92±2,41	11,44±1,96	5,83±0,86	5,11±0,83	3,75±0,63	4,09±0,46	4,87±0,76
ИСЛМ	1	7,69±1,01	8,96±1,26	11,23±2,93	10,24±1,73	9,08±1,68	9,72±1,93	8,51±1,19	10,28±1,96
	2	9,31±1,19	9,39±1,23	11,34±1,19	10,12±1,68	8,49±1,68	9,73±1,88	8,42±1,44	9,51±1,81
ИИР	1	7,81±1,26	9,97±1,32	11,28±2,68	10,35±1,79	9,14±1,79	9,84±1,73	9,29±1,89	11,33±1,44
	2	9,51±1,76	9,39±1,41	11,34±1,26	10,23±1,46	8,49±1,83	9,83±1,93	9,58±1,96	10,95±1,56
ИАЛ	1	0,59±0,06	0,71±0,06	1,42±0,19	1,56±0,24	1,89±0,31	2,04±0,19	1,64±0,23	1,76±0,22
	2	0,59±0,07	0,64±0,04	0,91±0,08	1,48±0,29	1,39±0,23	2,04±0,21	1,86±0,29	1,82±0,26
ИЯС	1	0,68±0,09	0,62±0,06	0,51±0,04	0,35±0,03	0,19±0,03	0,15±0,02	0,11±0,03	0,09±0,01
	2	0,94±0,08	0,83±0,07	0,81±0,07	0,64±0,04	0,38±0,04	0,24±0,04	0,21±0,04	0,17±0,03

1- по традиционной технологии

2- путем трансплантации

Исходя из этого, иК редуцируется с $1,56 \pm 0,21$ у.е. у телят I-й группы и $1,61 \pm 0,17$ у.е., во второй до $0,58 \pm 0,06$ и $0,57 \pm 0,04$ у.е. через 10 суток, а через месяц индекс вновь имеет равные значения, но уже в пределах $0,38 \pm 0,03$ у.е. (табл.). Последующие 2-й и 3-й месяцы жизни телят ознаменованы перераспределением пулов нейтрофилов и лимфоцитов, при котором число последних уменьшается и индекс стабилизируется на уровне $0,52 \pm 0,06$ у.е. (табл.)

Лейкоцитарный индекс (ЛИ) отражает взаимоотношения гуморального и клеточного звеньев иммунной системы. По своим значениям ЛИ имеет обратные значения экспонентам иК. Так, при рождении в силу гегемонии нейтрофилов ЛИ находится в пределах $0,64-0,62$ у.е., через сутки – $0,75-0,68$, а через 5 – $1,29-0,99$ у.е., соответственно у телят I-й и II-й группы. Ранее нами [6] установлено, что у животных I-й группы лимфоциты уравнились нейтрофилами на 3-е сутки после рождения, а у II-й группы на 5-е сутки, а в последующие этапы наблюдения мы регистрировали увеличение индекса, исходя из разницы в насыщении крови наиболее представительными пулами лейкоцитов (табл.).

Индекс соотношения нейтрофилов и моноцитов (ИСНМ) позволяет судить о соотношении компонентов микро-макрофагальной системы. Референтные значения индекса до 10-ти суточного возраста телят превышают 10 у.е., что связано с солидным превосходством микрофагов над моноцитами, все последующие этапы постнатального онтогенеза сопровождались стабильными показателями в условиях 4-х – 5-ти кратного превосходства полиморфоядерных лейкоцитов над моноцитами (табл.)

Индекс соотношения лимфоцитов и моноцитов (ИСЛМ) отражает взаимоотношение аффекторного и эффекторного звеньев иммунологического процесса с учетом того, что у крупного рогатого скота лимфоцитарный тип лейкограммы и индекс соотношения на всех этапах наблюдения укладывался в лимит от 8 до 11 у.е., именно в такой кратности по отношению к моноцитам

представлены лимфоциты в лейкоформуле телят, причем она самая маленькая у телят I-й группы в первые сутки жизни (табл.)

Индекс иммунореактивности (ИИР) представляет соотношение суммы лимфоцитов и эозинофилов к моноцитам. Индекс в первые сутки жизни телят колеблется от $7,81 \pm 1,26$ до $9,97 \pm 1,32$ у.е. у животных I-й группы и от $9,51 \pm 1,76$ до $9,39 \pm 1,41$ у.е. у телят второй группы. Все последующие изменения незначительны и отличаются стабильностью на всех этапах наблюдения (табл.)

В основу индекса алергизации (ИАЛ) было положено соотношение суммы лимфоцитов и эозинофилов к остальным клеткам белой крови. Количество эозинофилов и лимфоцитов увеличивается в 70% случаев при аллергических реакциях. Колебания ИАЛ у телят I-й группы наиболее заметны в 1-е сутки жизни, когда величина была близкой к $0,7 \pm 0,06$ у.е., а у телят-трансплантантов они нарастали до единицы в течении пяти суток, в последующие этапы индекс имел небольшие изменения и стабилен в пределах от 1,4 до 2,0 у.е. (табл.)

Индекс ядерного сдвига (ИЯС) позволяет определить возрастную категорию нейтрофилов, при увеличении количества миелоцитов, метамиелоцитов и палочкоядерных нейтрофилов возрастает числитель, это означает сдвиг ядра влево. При увеличении процента сегментоядерных, повышается знаменатель, это означает сдвиг ядра вправо. ИЯС наиболее представлен у телят обеих групп в первые сутки жизни, а в последующие этапы наблюдения от нивелируется до значений взрослых животных. Однако у телят I-й группы это происходит в первые 15 суток жизни, а у животных II-й группы после 2-х месячного возраста, что связано с более поздним созреванием пула нейтрофилов (табл.)

Таким образом, при расчете референтных показателей ИЛИ на ранних этапах онтогенеза телят необходимо учитывать динамичные преобразования в лейкограмме. Особенно в первую декаду жизни.

Список литературы

1. Сюсюра Д.А., Сорокин В.И. Управление воспроизводством крупного рогатого скота в хозяйствах Оренбуржья: технологические и экологические и экономические аспекты. Известия Оренбургского государственного аграрного университета. 2019. № 6 (80). С. 237-244
2. Романов А.А. Особенности становления иммунной системы телят - трансплантантов мясных пород. Вестник Алтайского ГАУ. 2012. №5 (91). С.93-95.
3. Жуков А.П., Шарафутдинова Е.Б., Датский А.. Возрастные изменения интегральных гематологических индексов у крупного рогатого скота. Известия Оренбургского аграрного университета. 2016. № 4 (60). С. 213-216.
4. Жамбулов М.М., Калимуллин И.Ф., Жуков А.П. Лейкоцитарные индексы клеточной реактивности крови при крупозной пневмонии жеребят. Материал международной научно-практической конференции «Актуальные вопросы ветеринарных наук» Казахстан. Уральск. 2018. С. 382-390.
5. Никитин В.Н. Общие закономерности онтогенеза белой крови крупного рогатого скота, свиней, лошадей. М.: Агропромиздат, 1947. С. 4-39.
6. Жуков А.П., Сорокин В.И., Шарафутдинова Е.Б., Пойманов М.А. Особенности формирования лейкограммы у телят – трансплантантов на раннем этапе постнатального онтогене. Известия Оренбургского государственного аграрного университета. 2019. №6 (80). С. 244-246.

УДК 632.3.01/.08

Б.Ж. Рыскалиева, Д.А. Васильев, Н.А. Феоктистова, Е.А. Ляшенко

Ульяновский государственный аграрный университет имени П.А. Столыпина, г. Ульяновск, Россия

**ИССЛЕДОВАНИЕ НЕКОТОРЫХ БИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ
БАКТЕРИОФАГОВ *PESTOVACTERIUM CAROTOVORUM***

Аннотация. В статье описано исследование некоторых биологических свойств бактериофагов *Pectobacterium carotovorum*. Изучаемые бактериофаги неактивны к представителям бактерии семейства *Enterobacteriaceae*, что позволяет выбрать их для конструирования диагностического биопрепарата.

Ключевые слова: бактериофаги *Pectobacterium carotovorum*, диагностический биопрепарат, штаммы бактерии, специфичность.

B.Zh. Ryskaliyeva, D.A. Vasiliev, N.A. Feoktistova, E.A. Lyashenko

Ulyanovsk State Agrarian University named after P.A. Stolypin, Russia

RESEARCH OF SOME BIOLOGICAL PROPERTIES OF PECTOBACTERIUM CAROTOVORUM BACTERIOPHAGES

Abstract. The article describes the study of some biological properties of bacteriophages of *Pectobacterium carotovorum*. The studied bacteriophages are inactive to representatives of bacteria of the *Enterobacteriaceae* family, which makes it possible to select them for the construction of a diagnostic biological product.

Key words: bacteriophages of *Pectobacterium carotovorum*, diagnostic biological product, bacterial strains, specificity.

Бактериофаги - вирусы специфически нацеленные на бактерии. Относительно низкая стоимость производства фагов, чем разрабатывать новые антибиотики, амплификация только в живых бактерий-хозяев, безвредность для окружающей среды и отсутствие побочных эффектов являются дополнительными важными элементами для широкого применения фагов [1].

Бактериофаги фитопатогенных бактерий семейства *Enterobacteriaceae*, по сравнению с таковыми энтеробактерий, ассоциированных с животными и человеком, изучены недостаточно [2]. Бактериофаги пектобактерий, вызывающих заболевания картофеля (черную ножку и мягкую гниль), –

сравнительно малоизученная группа фагов. Поиск новых природных антибиотических веществ - актуальная задача для исследователей. Большой интерес вызывает *Pectobacterium carotovorum* [3.4].

Исследование биологических свойств бактериофагов является важным условием при конструировании биопрепаратов [5]. Специфичность действия бактериофагов характеризуется отсутствием литической активности бактериофагов в отношении гетерологичных бактерий.

Специфичность бактериофагов *Pectobacterium carotovorum* проводилось на плотном мясо-пептонном агаре с применением метода Отто «стекающая капля» [3] к бактериям семейства *Enterobacteriaceae*: *Escherichia coli*, *Yersinia enterocolitica*, *Yersinia pseudotuberculosis*, *Proteus vulgaris*, *Proteus mirabilis*, *Salmonella enteritidis*, *Salmonella typhimurium*, *Shigella sonnei*, *Klebsiella pneumoniae*, *Erwinia amilowora*, *Pectobacterium carotovorum* spp. *atrosepticum*, а также *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas syringae*, *Aeromonas hydrophila*, *Xanthomonas campestris* (табл.1).

Таблица 1

Специфичность бактериофагов *Pectobacterium carotovorum*

Штаммы бактерий	Количество штаммов	РСС-1 УлГАУ	РСС-37 УлГАУ	Контроль МПБ
<i>Escherichia coli</i>	2	–	–	–
<i>Yersinia enterocolitica</i>	1	–	–	–
<i>Yersinia pseudotuberculosis</i>	1	–	–	–
<i>Proteus vulgaris</i>	1	–	–	–
<i>Proteus mirabilis</i>	1	–	–	–
<i>Salmonella enteritidis</i>	1	–	–	–
<i>Salmonella typhimurium</i>	1	–	–	–
<i>Shigella sonnei</i>	1	–	–	–
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	2	–	–	–
<i>Erwinia amilowora</i>	1	–	–	–
<i>Pectobacterium atrosepticum</i>	2	–	–	–
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1	–	–	–
<i>Pseudomonas syringae</i>	3	–	–	–
<i>Aeromonas hydrophila</i>	1	–	–	–
<i>Xanthomonas campestris</i>	2	–	–	–

Примечание: «+» – лизис культуры; «-» – отсутствие лизиса.

По проведенным исследованиям по изучению специфичности действия установлено, что бактериофаги *Pectobacterium carotovorum* неактивны к представителям бактерии. Отсутствие литической активности исследуемых бактериофагов позволяют выбрать их для конструирования диагностического биопрепарата.

Список литературы

1. Kim, H. Colanic Acid Is a Novel Phage Receptor of *Pectobacterium carotovorum* subsp. *Carotovorum*. Phage POP72. Kim H, Kim M, Bai J, Lim J. A, Neu S, Ryu S. *Frontiers in Microbiology*. 2019. doi: 10.3389/fmicb.2019.00143.
2. Андрийчук, Е.Н. Особенности бактериофагов, изолированных из картофеля с симптомами бактериального заболевания / Е.Н. Андрийчук // Материалы III Санкт-Петербургского международного экологического форума. - Санкт-Петербург: Специальный выпуск, 2014. - С. 65.
3. Воронина, М.В. Характеристика бактериофага *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* pp16, перспективного для биоконтроля мягкой гнили картофеля / М.В. Воронина, Е.Н. Бугаева, Д.М. Васильев, А.П. Кабанова, А.П. Бараник, М.М. Шнейдер, Е.Е. Куликов, А.А. Корженков, С.В. Тощак, А.Н. Игнатов, К.А. Мирошников // *Микробиология*. – 2019. - №4. – С. 458-469.
4. Максименко, Л.А. Изучение свойств изолятов пектолитических фитопатогенных бактерий, выделенных в Украине / Л.А. Максименко, Н.И. Пархоменко, С.Н. Мороз, Т.Е. Горб // *Микробиологический журнал*. – 2013. - №6. - С.66-72.
5. Васильев Д. А. Изучение основных биологических свойств бактериофагов *Bordetella bronchiseptica*, выделенных методом индукции / Е. Н. Семанина, С.Н. Золотухин, И.Н. Хайруллин, Ю.Б. Васильева, А. Г. Шестаков // *Вестник Ульяновской ГСХА*. 2011. №1 (13). URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/izuchenie-osnovnyh-biologicheskikh-svoystv->

bakteriofagov-bordetella-bronchiseptica-vydelennyh-metodom-induktsii (дата обращения: 08.11.2019)

6. Ганюшкин, В.Я. Бактериофаги сальмонелл и их применение в ветеринарии. – Ульяновск, 1988. – 45 с.

УДК 664.644.9

И.А. Сазонова, С.В. Шпуль, А.А. Амиян

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

ВЛИЯНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ ЛИМОННИКА КИТАЙСКОГО НА КАЧЕСТВО ХЛЕБА БЕЛОГО ПШЕНИЧНОГО

Аннотация. В статье описаны биологические активные свойства лимонника китайского, применение его в качестве биологически активной добавки в тесто в качестве улучшителя при производстве хлеба белого. Показано положительное влияние данной добавки на интенсивность биохимических процессов при созревании теста и качество готовых изделий.

Ключевые слова: биологически активные вещества, улучшители теста, хлеб, химические свойства.

I.A. Sazonova, S.V. Spool, A.A. Amiyan

Saratov State Agrarian University named after N.I. Vavilova, Saratov, Russia

INFLUENCE OF BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES OF SCHISANDRA CHINENSIS ON THE QUALITY OF WHITE WHEAT BREAD

Annotation. The article describes the biological active properties of Schisandra chinensis, its use as a biologically active additive in the dough as an improver in the production of white bread. The positive effect of this additive on

the intensity of biochemical processes during maturation of the test and the quality of the finished products is shown.

Keywords: biologically active substances, dough improvers, bread, chemical properties.

Хлебобулочные изделия - популярные у населения пищевые продукты, в технологии которых используется биотехнологический процесс и поэтому практически важным и актуальным является расширение их ассортимента выпускаемой продукции и улучшение качества.

Для обеспечения стабильно высокого качества хлебобулочных изделий различных сортов на предприятиях хлебопекарной отрасли используют добавки с разными биологически активными свойствами, оказывающие положительное воздействие на основное сырье, модифицирующие свойства тестовых заготовок, обеспечивающие стабильное качество готовой продукции [1]. К тому же, потребители стремятся приобретать продукцию, обладающую лечебно-профилактическими свойствами, с целью поддержания своего здоровья [4].

Показатели качества хлеба в значительной степени зависят от хлебопекарных свойств муки – состояния и степени изменения свойств белково-протеиназного и углеводно-амилазного комплекса в процессе приготовления теста. Учитывая, что на хлебопекарные предприятия России в отдельные периоды поступает мука с пониженными свойствами: пониженным содержанием клейковины, неудовлетворительным ее качеством – слабой или короткорвущейся клейковиной, пониженной или повышенной активностью ферментов и др., проблемой является выработка хлеба из такой муки.

Нами предлагается использовать биологически активные вещества лимонника дальневосточного, как альтернативу улучшителям при производстве хлеба белого из муки первого сорта. Плоды лимонника дальневосточного (*Schisandra chinensis*) – являются богатым источником

биологически активных веществ. Стимулирующие, тонизирующие, адаптогенные вещества обнаружены практически во всех частях лимонника: в мякоти, кожице, плодоносах ягод, листьях, коре, побегах, корневищах и корнях. Основными активными компонентами лимонника являются лигнаны, эфирные масла, дубильные вещества, органические и жирные кислоты, витамины и микроэлементы [3]. Ягода его богата катехинами, антоцианами, эфирными маслами, пектином и органическими кислотами. Она является источником витамина С. Сушеные плоды и экстракты лимонника используют при производстве специализированных пищевых продуктов, в том числе при питании спортсменов [2]. Большое количество полезных компонентов, содержащихся в этом растении, позволяет широко использовать его в фармацевтической промышленности. Их комплексом и обусловлено его лечебное действие.

В работе использовали следующее сырье:

- пшеничная мука первого сорта (ГОСТ 26574-2017);
- дрожжи прессованные (ГОСТ Р 54731-2011);
- соль поваренная пищевая (ГОСТ Р 51574-2000);
- сахар белый (ГОСТ 33222-2015);
- вода питьевая (ГОСТ Р 51232-98),
- лимонник дальневосточный (ТУ 9185-003-0137771770-2012).

В качестве контрольного образца взята рецептура хлеба белого. В первую очередь исследовалось влияние БАВ на интенсивность биохимических процессов при созревании теста, затем качество булочных изделий.

При проведении эксперимента тестовые полуфабрикаты замешивали из муки пшеничной высшего сорта с дозировкой прессованных дрожжей 2 % от массы муки. В опытных образцах была осуществлена замена воды на водный экстракт лимонника дальневосточного различной концентрации (образец 1 - 1 % г/л, образец 2 – 10 г/л, образец 3 – 15 г/л, образец 4 – 20 г/л).

По результатам органолептической оценки готовых изделий опытные образцы не уступали контрольному. Форма была правильной, цвет корки

коричнево-золотистый, мякиш белого цвета с достаточно равномерной пористостью. Все образцы имели вкус и аромат, свойственный дрожжевому хлебу, опытные образцы 2, 3, 4 с легка уловимым цитрусовым ароматом.

Качественные показатели готовых изделий, полученных в результате проведения контрольных выпечек, отражают, что БАВ лимонника дальневосточного, оказывают положительное влияние на физико-химические показатели качества готовых изделий (таблица 1). Как видно из данных таблицы, добавление настоев лимонника принятых концентраций несколько снижает показатель пористости хлеба, но результаты не выходили из нормативных величин. С увеличением концентраций лимонника в рецептуре хлеба наблюдается рост кислотности (в пределах норматива по ГОСТу), что обусловлено химическим составом исходного сырья.

Таблица 1

Показатели качества готовых изделий

Наименование показателей	Контрольный образец	Образец 1	Образец 2	Образец 3	Образец 4
Масса, г	310	309	310	309	310
Удельный объем см ³	900	850	900	900	900
Объемный выход, см ³ /100 г.	2,94	2,75	2,94	2,94	2,94
Пористость, %	77,4±1,5	72,4±1,3	73,8±1,4	74,6±1,2	73,8±1,5
Кислотность, град.	1,4±0,1	1,6±0,1	2,4±0,2	1,9±0,1	2,6±0,1
Влажность, %	43,1±1,7	40,6±1,6	41,2±1,5	41,4±1,5	41,1±1,6

Резюмируя результаты проведенных исследований, можно сделать заключение, что замена в составе пшеничного теста воды на настой лимонника дальневосточного повышает кислотность теста, тем самым ускоряя процесс брожения и сокращая время технологического процесса. Белый хлеб опытных образцов не уступал контрольному по

органолептическим показателям и имел высокую бальную оценку. Таким образом, водные настои лимонника дальневосточного возможно использовать как альтернативу улучшителям при производстве хлеба белого из муки первого сорта, обогащая тем самым готовые изделия биологически активными веществами.

Список литературы

1. Аникеева, Н. В. Научное обоснование и разработка технологий хлебобулочных изделий функционального назначения / Н. В. Аникеева // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. – 2012. - №1. – С. 77-81.

2. Ошкина, Е.В. Лимонник дальневосточный – дальневосточный эфирнонос/ Е.В. Ошкина, Р.Д. Колесникова, Н.В. Выводцев, Ю.Г. Тагильцев// Лесной журнал. – 2014. - №5 – С. 35-41.

3. Перова, И.Б. Исследование лигнанов и антоцианинов как основных биологически активных веществ полифенольной природы плодов лимонника дальневосточного/ И.Б. Перова, А.Д. Малинкин, В.В. Бессонов, К.И. Эллер// Вопросы питания. – 2018. – Т. 87, - № 3. - С. 79-87.

4. Сорокина, Е.С. Характеристика современного рынка хлебобулочных изделий для функционального питания/ Е.С. Сорокина, Л.З. Габдукаева//Вестник технологического университета. – 2017 - №1 –Т. 20 – С.151-154.

УДК 636.084

¹*А.А. Сидоров, ¹М.Ф. Григорьев, ²А.И. Григорьева*

¹Якутская государственная сельскохозяйственная академия, г. Якутск, Россия

²Северо-Восточный федеральный университет имени М.К. Аммосова, г. Якутск, Россия

ВЛИЯНИЕ НЕТРАДИЦИОННЫХ КОРМОВЫХ ДОБАВОК НА ПРОДУКТИВНОСТЬ ЛОШАДЕЙ

Аннотация. В статье представлены результаты исследования влияния местных нетрадиционных кормовых добавок на продуктивность лошадей в условиях Якутии. Так опытные группы лошадей потребляющие нетрадиционные кормовые добавки лучше переваривали компоненты рациона, повышению продуктивности и улучшения качества продукции коневодства.

Ключевые слова: коневодство, продуктивность, кормление, рационы, эффективность.

¹*A.A. Sidorov, ¹M.F. Grigorev, ²A.I. Grigoreva*

¹Yakut State Agricultural Academy, Yakutsk, Russia

²North-Eastern Federal University named after M.K. Ammosova, Yakutsk, Russia

INFLUENCE OF NON-TRADITIONAL FEED ADDITIVES ON HORSE PRODUCTIVITY

Annotation. The article presents the results of a study of the influence of local non-traditional feed additives on horse productivity in Yakutia. So, experimental groups of horses consuming unconventional feed additives better digested the components of the diet, increasing productivity and improving the quality of horse products.

Keywords: horse breeding, productivity, feeding, diets, efficiency.

Цель настоящих исследований заключалась в исследовании влияния Сунтарского цеолита на молочную продуктивность кобыл мегежекской породы и производство кумыса в условиях Якутии.

Основные результаты работы являются:

- применение в кормлении дойных кобыл цеолито-сапропелевых кормовых добавок способствовало повышению молочной продуктивности, а также улучшению качественных показателей получаемого молока;

- включение цеолито-сапропелевых кормовых добавок в кормовой рацион дойных кобыл улучшило интенсивность переваривания питательных веществ рациона, а также обмен азота, кальция и фосфора;

- цеолито-сапропелевые кормовые добавки способствовали улучшению картины крови, нормализации морфологического состава крови кобыл;

- использование цеолито-сапропелевых кормовых добавок в кормлении дойных кобыл влияет на показатели произведенного кумыса;

- включение цеолито-сапропелевых кормовых добавок в рацион дойных кобыл повышает рентабельность производства молока и кумыса.

Были проведены два научно-хозяйственных и один балансовый опыты на кобылах мегежекской породы. Опыты были организованы в условиях экспериментального резервата «Табсылын» ФГБОУ ВО Якутская ГСХА и КФХ «Эйгэ» МО г. Якутска Республики Саха (Якутия).

В научно-хозяйственном опыте, где исследовалось эффективность использования цеолито-сапропелевых кормовых добавок в кормлении дойных кобыл, показали положительные результаты. Кобылы I и II опытных групп по показателю среднего суточного удоя превзошли контрольную группу на 10,42% ($P>0.95$) и 14,89% ($P>0.999$). Анализ молочной продуктивности за 90 дней лактации показал, что с опытных групп кобыл было надоеено больше молока на 10,43% ($P>0.95$) и 14,98% ($P>0.999$). При этом более высокими показателями обладала II опытная группа, которая превзошла I опытную группу на 16,5 л. При этом отмечено, что кормовые добавки повлияли на химический состав молока. Так показатель жира у опытных групп был выше, чем в контрольной группе на 0,15% и 0,16% соответственно. Разница достоверна $P>0.999$. По показателю белка опытные группы превзошли контрольную группу на 0,19% и 0,32%. Разница достоверна $P>0.95$. Результаты физиологического (балансового) опыта

установило положительное влияние цеолито-сапропелевых кормовых добавок на интенсивность переваримости питательных веществ рациона, а также на усвоение азота, кальция и фосфора, которые в свою очередь описывают картину обмена веществ в организме подопытных кобыл. Дойные кобылы I и II опытных групп, потреблявшие с основным рационом цеолито-сапропелевые добавки коэффициент переваримости питательных веществ был сравнительно выше, чем в контрольной группе. Так дойные кобылы опытных групп лучше переваривали по: сухому веществу на 0,89% и 1,10%, органическому веществу на 0,90% и 1,17%, сырому протеину на 1,07% и 1,48%, сырому жиру на 2,16% и 5,08%, сырой клетчатке на 1,70% и 2,43%, БЭВ на 0,63% и 0,77% соответственно. При этом имелась разница между опытными группами в пользу II опытной группы, которая лучше переваривала питательные вещества: сухое вещество на 0,21%, органическое вещество на 0,27%, сырой протеин на 0,41%, сырой жир на 2,92%, сырую клетчатку на 0,73% и БЭВ на 0,14%. Изучение данных балансов азота, кальция и фосфора установил, что во всех группах кобыл балансы были положительные, но лучшее усвоение было у дойных кобыл II опытной группы, которые дополнительно потребляли Сунтарский цеолит 0,5 г на кг живой массы с 300 г сапропелем.

Изучения влияния цеолито-сапропелевых кормовых добавок на морфобиохимический состав крови установило, что в конце научно-хозяйственного опыта в опытных группах наблюдалась положительная динамика. Так по уровню общего белка I и II опытные группы кобыл превзошли контрольную группу животных на 0,43% и 1,70% соответственно. Схожая тенденция наблюдалась по содержанию альбумину, опытные группы превосходили на 5,95% и 9,52%. По содержанию глобулинов в крови животных контрольная группа уступила опытным группам на 1,37% и 3,42% соответственно. Показатель гемоглобина крови опытных групп кобыл был выше на 1,74% и 3,20%. Увеличения биохимических показателей крови обычно характеризуются у животных с хорошим обменом веществ. Оценка

морфологического состава крови кобыл установило некоторые отличия по содержанию форменных элементов крови. Опытные группы кобыл превосходили контрольную группу по количеству эритроцитов на 26,74% и 33,16%. Но по количеству лейкоцитов они уступили контрольной группе на 14,55% ($P>0.999$) и 26,11% ($P>0.999$) соответственно. Улучшения физиологического состояния кобыл опытных групп объясняется положительным воздействием цеолито-сапропелевых кормовых добавок на их физиологию и обмен веществ. В соответствии с программой исследований была проведена оценка кумыса произведенного из молока кобыл подопытных групп по общепринятым методикам. Было установлено что кумыс произведенный из молока кобыл I и II опытных групп характеризовалось высоким содержанием жира, чем в кумысе контрольной группы на 14,94% и 18,51% ($P>0.999$). По содержания белка также отмечены качественные изменения. Контрольная группа уступила опытным группам на 8,91% и 14,50% ($P>0.99$). По кислотности и плотности опытные группы превосходили контрольную группу на 1,81% и 0,10% соответственно. По СОМО высокими показателями характеризовался кумыс опытных групп, которые были выше контрольной группы на 0,94% и 2,15% ($P>0.99$). Оценка витаминного состава кумыса установило, что опытные группы образцов имели наиболее высокие показатели, чем в контрольной группе. По содержанию витаминов в кумысе во всех группах имелись отличия. Содержание витамина А в опытных группах было выше на 19,5% и 25,8%. По содержанию в кумысе витамина С в опытных группах было больше на 2,3% и 4,4%. При этом по группе витаминов В имелась схожая тенденция, в опытных группах было больше по В1 – 14,2% и 19,0%, В2 – 25,0% и 50,0%, В6 – 6,0% и 9,0%, В12 – 5,8% и 9,3% соответственно. Это доказывает, что использование цеолито-сапропелевых кормовых добавок в кормлении дойных кобыл влияет и на качество производимой продукции молочного коневодства. Проведенная органолептическая оценка кумыса показала, что

по критериям оценки внешнего вида, вкуса, запаха, консистенции и цвета отличий не было выявлено.

При содержании в одинаковых условиях дойных кобыл, было надоено в контрольной группе 362,6 л товарного молока, а с I опытной группы животных было надоено 400,5 л, в II опытной группе удой за опыт составил 417,0 л. По среднесуточному удою имелась разница: в контрольная группа - 4,03 л, в I опытная группа – 4,45 л, во II опытная группа – 4,63 л молока. При этом отмечаем, что I и II опытные группы по удою превзошли контрольную группу на 10,42% и 14,89% соответственно. Оценка экономической эффективности от использования цеолито-сапропелевых кормовых добавок в I опытной группе составил 1200 тыс. руб., во II опытной группе показатель был равен 1251 тыс. рублей соответственно. Технология кормления кобыл с использованием цеолито-сапропелевых добавок обуславливает снижение затрат на получение дополнительного литра молока.

Производственная проверка проведена по итогам второго научно-хозяйственного опыта по схеме контрольной и опытной группы дойных кобыл, которые получали с основным рационом цеолито-сапропелевую кормовую добавку (Сунтарский цеолит 0,5 г на кг живой массы и 300 г сапропеля). Экономический эффект производственной апробации составил 2066 тыс. рублей. Для совершенствования ведения молочного коневодства в Республике Саха (Якутия) нужно организовать рациональное кормление дойных кобыл с учетом их биологических потребностей в макро- и микроэлементах. По результатам опытов и лабораторных исследований было установлено, что включения цеолито-сапропелевых кормовых добавок компенсирует дефицит минеральных веществ в рационах дойных кобыл мегежекской породы в условиях Якутии.

Таким образом, цеолито-сапропелевые кормовые добавки в рационе дойных кобыл мегежекской породы повышают их молочную продуктивность, улучшают качество продукции, повышается эффективность молочного коневодства.

Список литературы

1. Сидоров А.А. Изучение молочной продуктивности кобыл в центральной Якутии при использовании ресурсосберегающих технологий / А.А. Сидоров, А.Г. Черкашина, В.В. Панкратов, М.Ф. Григорьев, А.И. Григорьева // Теоретические и прикладные проблемы АПК. - 2019. - №2 (40) - 40-42.

3. Сидоров А.А. Использование минеральных кормовых добавок в молочном коневодстве Якутии / А.А. Сидоров, М.Ф. Григорьев, А.И. Григорьева // Научное обеспечение устойчивого функционирования и развития АПК Якутии: сборник научных трудов. – Якутск : Алаас, 2019. – С. 65-69.

УДК: 573.6.086.83:619

К.Ю. Смирнова, А.П. Пермякова, Л.С. Крылова, В.А. Шпакова, В.О. Соловьева

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

БИОТЕХНОЛОГИЯ ПОЛУЧЕНИЯ СЛОЖНЫХ ЭФИРОВ ЖИРНЫХ КИСЛОТ И ИЗУЧЕНИЕ ИХ ПРОТИВООЖГОВОЙ АКТИВНОСТИ

Аннотация. Нами было проведено экспериментальное лечение ожогов у морских свинок препаратом с уникальной формулой мицеллярной композиции, впервые полученных сложных эфиров жирных кислот из биомассы личинок *Musca domestica* и была изучена его регенерирующая активность. Применение опытного образца обогащенного комплексом жирных кислот показало более высокую пролиферацию и регенерацию тканей, о чем свидетельствует сокращение сроков полного восстановления кожного покрова у морских свинок опытной группы по сравнению с контрольными животными. В ходе исследования установлено, что во всех группах наблюдалась последовательная смена фаз ожогового раневого

процесса. За период наблюдения отсутствовали случаи смертельного исхода, нагноения ран и осложненного течения раневого процесса.

Ключевые слова: сложные эфиры жирных кислот, противоожоговая активность, *Musca domestica*, морские свинки.

K.Yu. Smirnova, A.P. Permyakova, L.S. Krylova, V.A. Shpakova, V.O. Solovyova

Saratov State Agrarian University named after N. I. Vavilov, Saratov, Russia

BIOTECHNOLOGY OF OBTAINING OF FATTY ACID ESTERS AND THE STUDY OF THEIR ANTIFLASH ACTIVITY

Annotation. The experimental treatment of burns in guinea pigs with a unique formula of drug of micellar composition, first obtained of fatty acids esters from the biomass of *Musca domestica* larvae we conducted and studied its regenerating activity. The use of a pilot sample enriched with a complex of fatty acids showed higher tissue proliferation and regeneration, as evidenced by a reduction in the time of complete restoration of the skin in guinea pigs of the experimental group compared to control animals. The study found that in all groups there was a consistent change in the phases of the burn wound process. There weren't cases of fatal outcome, suppuration of wounds and complicated course of the wound process during the observation period.

Keywords: fatty acid esters, antiflash activity, *Musca domestica*, guinea pigs.

Актуальность. В настоящее время термические ожоги составляют десятую часть от общего числа всех травм в мире [10]. Установлено, что неправильная и несвоевременная терапия ожогов кожных покровов влечет за собою отрицательные последствия для организма: инфекция и углубление раны, торможение процесса регенерации, образование чрезмерного рубца [1].

Поэтому необходимо осуществить подбор препарата, который будет обладать антисептическим и ранозаживляющим действием.

Сложные эфиры жирных кислот занимают особое место в лечении кожных заболеваний и широко применяются в медицине и ветеринарии. Они обладают противовоспалительными, антиаллергическими, регенирирующими, бактерицидными и противоопухолевыми свойствами [3]. Сложные эфиры жирных кислот являются исходным материалом для получения, например, фармацевтического, диетического и косметического продукта, дизельного топлива, а также как промежуточный продукт для получения жирных спиртов, поверхностно-активных веществ, смазочных материалов[8].

В последнее десятилетие во всем мире наблюдается повышенный интерес к насекомым [4, 5]. Кормовой белок, полученный путем переработки насекомых, представляет собой муку (шрот) из взрослых особей или их личинок. Его можно использовать в качестве компонента корма в рационе свиней, крупного рогатого скота, домашней птицы и рыбы [11]. Помимо этого существует ряд других уникальных компонентов, которые можно получать из биомассы насекомых, например, фракции жирных кислот, антимикробные пептиды, хитозан и другие [2, 6, 7]. Область применения ингредиентов полученных из биомассы личинок *Musca domestica* очень широка и исследования по получению новых продуктов переработки этих личинок ведутся учеными многих стран мира [10].

В этой связи поиск новых объектов для получения и изучения сложных эфиров жирных кислот представляет особую значимость.

Материалы и методы

Для проведения исследований использовали опытный образец обогащенного комплекса жирных кислот. Данный образец получали методом прессования из биомассы личинок *Musca domestica*. В качестве препарата сравнения использовали Пантенол крем универсальный, производитель: Аванта, Россия, действующее вещество: Декспантенол. Материалом для

исследования послужили лабораторные животные – морские свинки. Была проведена работа по формированию опытных и контрольной групп животных по принципу аналогов (таблица 1). На момент исследований животные (морские свинки) были клинически здоровы.

Исследования выполнялись согласно «Правилам лабораторной практики в Российской Федерации» (Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации № 708н от 23.08.2010 г.). Эксперименты на животных проводились в соответствии с правилами, принятыми Европейской Конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей (European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and other Scientific Purposes (ETS 123) . Strasbourg, 1986).

После включения в исследование животных распределили по группам:

- 1 опытная группа (n=3) – на ожоговую рану животным наносили обогащенный комплекс жирных кислот, в течение 20 дней;
- 2 опытная группа (n=3) – на ожоговую рану животным наносили Пантенол крем универсальный, в течение 20 дней;
- 3 группа (n=3) животных была контрольной, ожоговая рана оставалась без лечения.

Таблица 1

Дизайн эксперимента

Группа	Препарат / схема	Способ применения	Общее количество животных
1-я опытная	Обогащенный комплекс жирных кислот полученных из биомассы личинок <i>Musca domestica</i>	Наружно	3
2-я опытная	Пантенол крем универсальный	Наружно	3
3-я контрольная	-	-	3

Экспериментальным группам животных непосредственно после нанесения ожога и затем ежедневно наносили лекарственные вещества в дозе 0,5 г.

Ежедневно с начала эксперимента фиксировали общее состояние морских свинок на основании поведенческих реакций.

Площадь экспериментальных ожогов измеряли планиметрическим способом с использованием линейки. Измерение площади раны производили на 1-й, 5-й, 10-й и 20-й день после нанесения ожоговой раны.

Результаты. На вторые сутки после нанесения ожоговой травмы во всех группах животных отмечается гиперемия кожи по периферии ожога. В области ожога отмечаются некрозы, в некоторых местах поражается только поверхностный слой собственно кожи, в других ожог распространяется на всю ее толщу, сопровождаясь полным некрозом сосочкового слоя. Образуется поверхностный сухой белесовато-серый струп (Рис. 1). Внешне различия между животными разных групп не наблюдается.



1 опытная группа

2 опытная группа

Контрольная группа

Рисунок 1. Внешний вид ожоговой раны у морских свинок контрольной, первой и второй опытной группы на 2 день эксперимента

К седьмым суткам эксперимента в первой опытной группе животных отмечается появление розово-красных сосочков кожи по всей поверхности раны. Происходит формирование грануляционной ткани и начало эпителизации со стороны здоровой кожи. Площадь раны уменьшается. У животных второй опытной группы, которым в качестве противоожогового

средства применяли коммерческий препарат Пантенол, регенеративные процессы выражены более ярко. По периферии раны отмечается интенсивная эпителизация со стороны здоровой кожи. Рана заметно уменьшается в размерах. Большая часть ожоговой раны покрыта струпом, который начинает отторгаться разросшимися эпителиальными клетками.

Вместе с этим в контрольной группе животных к этому времени наблюдается формирование демаркационного вала между здоровой и некротизированной тканями. Поверхность ожога имеет пестрый вид. На фоне белесовато-серых некротизированных тканей только начинают появляться розово-красные сосочки кожи.

На 14 день эксперимента, у животных первой опытной группы, которым в качестве противоожогового средства применяли обогащенный комплекс жирных кислот, отмечается ярко выраженная положительная динамика. Рана заметно уменьшается в объеме, на грануляциях заметны островки эпителизации, происходит заметное отторжение струпа.

Вместе с этим, у животных второй опытной группы, которым в качестве противоожогового средства назначали коммерческий препарат Пантенол, наблюдается более интенсивная положительная динамика репаративных процессов по сравнению с животными первой опытной группы. Объем раны уменьшен в 2 раза. Происходит интенсивная эпителизация со стороны здоровой кожи.

В контрольной же группе животных на 14 день после нанесения ожоговой травмы отмечают слабые положительные изменения в ране. Репарация происходит очень медленно и исключительно за счет физиологических механизмов организма. Наблюдается альтерация, выраженная гиперемия, аутолиз клеток, распад их соединительной ткани под действием коллагеназы, элптазы, разрушающих белковый остов соединительной ткани (Рис. 2).



Рисунок 2. Внешний вид ожоговой раны у морских свинок контрольной, первой и второй опытной группы на 14 день эксперимента

К 20 дню эксперимента в первой опытной группе морских свинок происходит полное восстановление эпителиальной ткани, разрастание волосяного покрова со стороны здоровой кожи. Однако волосяной покров не полностью покрывает раневую поверхность.

Во второй опытной группе на 20 е сутки эксперимента отмечается полное заживление раневой поверхности.

В контрольной группе животных к 20 суткам эксперимента отмечаются физиологические процессы купирования ожоговой раны. Интенсивная эпителизация со стороны здоровой кожи. Заметное уменьшение в объеме раневой поверхности (Рис. 3).



Рисунок 3. Внешний вид ожоговой раны у морских свинок контрольной, первой и второй опытной группы на 20 день эксперимента

Выводы. Таким образом, на основании вышеизложенного, можно заключить, что обогащенный комплекс сложных эфиров жирных кислот, полученный из биомассы личинок *Musca domestica*, обладает ярко выраженными ранозаживляющими свойствами. О чем свидетельствует сокращение сроков полного восстановления кожного покрова после нанесения ожоговой травмы морским свинкам по сравнению с контрольными животными.

В результате экспериментальных исследований на животных на модели термического ожога установлена выраженная противоожоговая активность обогащенного комплекса сложных эфиров жирных кислот. Обогащенный комплекс сложных эфиров жирных кислот также обладает ранозаживляющим действием.

Список литературы

1. Алексеев А. А. Местное лечение ожоговых ран / А. А. Алексеев, М. Г. Крутиков // Рос. мед. журн. – 2000. – № 5. – С. 51-53.
2. Крылова Л.С. Индикация пептидов из биомассы личинок насекомых и изучение их антимикробной активности / Крылова Л.С., Ремизов Е.К., Смирнова К.Ю., Ларионова О.С.// Актуальные вопросы ветеринарной биологии.- 2019. № 4 (44). С. 3-6.
3. Машковский М. Д. Лекарственные средства: в 2-х т. / М.Д. Машковский. 13-е изд., новое. – Харьков: Торсинг, 1998. – 592 с.
4. Маннапова Р.Т., Афанасьев Г.Д., Иссе М.Я., Комачев А.С. Влияние пчелиного подмора на кроветворение и продуктивность перепелов «Пчеловодство» -2018.-№4, С.53-55.
5. Маннапова Р.Т., Иссе М.Я. Биологическая активность экстракта пчелиного подмора «Пчеловодство».-2016.-№6.-С.50-52.
6. Патент на изобретение № 2018142602, 04.12.2018.
Композиция антимикробных пептидов, полученных из личинок *musca domestica*, и способ ее получения // Патент на изобретение RU 2714128 С1, 12.02.2020. / Крылова Л.С., Древяко Б.И., Фауст Е.А.,[и др.]

7. Патент на изобретение № 2016110254, 21.03.2016.

Способ получения хитозана // Патент на изобретение RU 2615636 С, 06.04.2017./ Ларионова О.С., Древки Я.Б., Банникова А.В., [и др.]

8. Патент на изобретение № 2004108942/04, 2004.03.23.

Способ получения смеси высших ненасыщенных жирных кислот // Патент на изобретение RU 2264444 С1, 20.11.2005./ Губанов А.В., Постолов Ю.М., Лисицын А.Н., [и др.]

9. European Convention for Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and other Scientific Purposes (ETS 123). Strasbourg, 1986.

10. Józefiak D., Józefiak A., Kierończyk B., Rawski M., Świątkiewicz S., Długosz J., Engberg R.M. Insects – a natural nutrient source for poultry – a review // *Annals of Animal Science*. 2016. P. 36.

11. Kovtunova A., Drevko Y., Faust E., Larionova O., Bannikova A. Dynamics of amino acid profile of *Musca domestica* larva during cultivation on substrate enriched with microelements / *Proceedings of the National Academy of Sciences India Section B - Biological Sciences*. 2018. T. 88. № 3. С. 1257-1264.

УДК 664.664.9

П.В. Смутнев, Г.В. Швец

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

ПРИМЕНЕНИЕ НЕТРАДИЦИОННОГО СЫРЬЯ В ПРОИЗВОДСТВЕ ХЛЕБОБУЛОЧНЫХ ИЗДЕЛИЙ

Аннотация. В статье рассмотрено влияние порошка имбиря на органолептические и некоторые физико-химические показатели хлеба дарницкий. Установлено, что добавление специи не оказывает отрицательного влияния на исследуемые показатели и позволяет расширить ассортимент хлебобулочных изделий.

Ключевые слова: влажность, кислотность, пористость, хлеб.

P.V. Smutnev, G.V Shvec

Saratov State Agrarian University named after N.I. Vavilova, Saratov,
Russia

APPLICATION OF NON-TRADITIONAL RAW MATERIALS IN THE PRODUCTION OF BAKERY PRODUCTS

Annotation. The article considers the effect of ginger powder on organoleptic and some physical and chemical parameters of Darnitsky bread. It was found that the addition of spices does not have a negative effect on the studied indicators and allows you to expand the range of bakery products.

Keywords: humidity, acidity, porosity, bread.

Производство хлебобулочных изделий являются незаменимой отраслью в пищевой промышленности страны. От развития этой отрасли зависят не только экономические показатели российского рынка, но и здоровье населения. В последнее время при производстве продуктов питания, в том числе и хлеба, весьма актуальным является использование новых видов сырья, объединенных термином «нетрадиционное». Применение такого сырья позволяет повысить пищевую ценность хлебобулочных изделий, улучшить их физико-химические и органолептические показатели, увеличить срок хранения, стабилизировать качество изделий, разнообразить ассортимент хлебопекарных изделий, разработать лечебные изделия.

Исследовано влияние порошка имбиря на органолептические и некоторые физико-химические показатели хлеба дарницкий. Корень имбиря содержит витамины А, С, В1, В2, магний, фосфор, железо, кальций, натрий, цинк и калий. Он стимулирует аппетит и при этом помогает перевариванию пищи. Специя добавлялась в количестве 0,5г на 1 кг теста в процессе замеса.

Установлено, что большая часть органолептических показателей экспериментального продукта соответствует ГОСТу 26983-86 «Хлеб дарницкий. Технические условия». Форма хлеба не расплывчатая соответствует той, в которой изготавливалась выпечка. Поверхность шероховатая имеет небольшие сколы, что допускается по ГОСТу, цвет насыщенный, темно коричневый. Мякиш пропечённый, на ощупь не липкий, влажность так же не обнаружена, форма эластичная, при лёгком нажатии экспериментальный продукт возвращается в исходную форму. В разрезе хлеб без комочков, пористость без пустот, мякиш не отходит от корки. Запах и вкус экспериментального продукта имеет пряный, лёгкий аромат с характерным запахом имбиря, на вкус чувствуется слегка жгучие ноты.

Далее было исследовано влияние порошка имбиря на некоторые физико-химические показатели хлеба «Дарницкий» (таблица 1).

Таблица 1

Физико-химические показатели готовой продукции

Наименование показателя	Хлеб «Дарницкий» (значения по ГОСТУ-26983-86)	Экспериментальный образец
Влажность мякиша, в %, не более	45,3±3,7	46,4±2,9
Кислотность мякиша, град, не более	7,8±1,1	7,6±1,5
Пористость мякиша, в %, не более	54,6±4,8	55,8±3,2

Установлено, что все исследуемые показатели показателей соответствуют ГОСТу 26983-86. Влажность экспериментального продукта при добавлении порошка имбиря по сравнению контролем повысилась на 2,4%, но при этом соответствовала ГОСТу-26983-86. Повысилась и пористость мякиша на 2,2%, улучшалась его структура и упруго-механические свойства. Кислотность готового продукта напротив

незначительно снизилась по сравнению с контролем и соответствовала требованиям ГОСТа-26983-86.

В результате проделанной работе улучшена рецептура хлеба дарницкий путем добавлением порошка имбиря. Выполненные исследования могут быть положены в основу разработки рецептуры нового изделия.

Список литературы

1. Ауэрман Л.Я. Технология хлебопекарного производства./ Под общ.ред. Л.Я. Пучковой. - СПб.: Профессия, 2002. - 414с.
2. ГОСТу 26983-86. Хлеб дарницкий. Технические условия.

УДК 661.691:615.322

*Д.А. Солдатов¹, И.Ю. Домницкий¹, С.В. Козлов¹, А.С. Фомин²,
К.П. Габалов², А.А. Волков¹, Л.А. Дыкман², С.А. Староверов^{1,2}*

¹Саратовский государственный аграрный университет им. Н.И. Вавилова, г. Саратов Россия

²Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН, г. Саратов Россия

ПОЛУЧЕНИЕ КОНЬЮГАТОВ НАНОЧАСТИЦ СЕЛЕНА С СИЛИМАРИНОМ И ИЗУЧЕНИЕ ИХ ЦИТОТОКСИЧЕСКИХ СВОЙСТВ

Аннотация. В статье описываются свойства силимарина и предлагается его возможное применение, в совокупности с наночастицами селена, в качестве противоопухолевого препарата. Показан положительный цитотоксический эффект на клеточные линии опухолей.

Ключевые слова: онкология, силимарин, цитотоксичность, наночастицы.

D.A. Soldatov¹, I.Yu Domnitsky¹, S.V. Kozlov¹, A.S. Fomin², K.P. Gabalov², A. A. Volkov¹, L.A. Dykman², S.A. Staroverov^{1,2}

¹Saratov State Agrarian University named after N.I. Vavilova, Saratov, Russia

²Institute of biochemistry and physiology of plants and microorganisms RAS, Saratov Russia

OBTAINING CONJUGATES OF NANOPARTICLES WITH SELENIUM AND SILYMARIN, THE STUDY OF THEIR CYTOTOXIC PROPERTIES

Annotation. The article describes the properties of silymarin and suggests its possible use, in combination with selenium nanoparticles, as an antitumor drug. Positive cytotoxic effect on tumor cell lines is shown.

Keywords: Oncology, silymarin, cytotoxicity, nanoparticles.

Экстракты цветов и листьев расторопши пятнистой (*Silybum marianum* (L.) Gaertn.) использовали в течение многих веков при лечении заболеваний печени. Janiak и Hänsel [1] изолировали биологические активные компоненты растения, чья химическая структура была установлена в работах [2] и [3]. Из расторопши пятнистой исследователи выделили смесь активных компонентов, под названием силимарин, с которым в последующем было проведено множество клинических исследований.

Значительный объем результатов клинических исследований силимарина можно обобщить термином «повышение регенерации печени». Так, установлено, что введение силимарина после токсического поражения печени, заметно ускоряло нормализацию значений АСТ и АЛТ [4]. Показано наличие выраженной причинно-следственной связи между ускорением процесса транскрипции в печени крыс и мышей в естественных условиях и воздействием силимарина, как и его очищенного компонента силибинина [5].

Таким образом, силимарин перспективен в качестве средства дополнительной терапии целого ряда заболеваний, однако уровень биодоступности флаволигнанов низок в силу низкой растворимости в воде и, как следствие, плохой кишечной абсорбции. Одним из путей преодоления

низкой биодоступности силимарина является разработка новых растворимых биосоединений на основе силибина, таких как бис-полисукцинатсилибина, комплекс с β -циклодекстрином, силибин-N-метилглюкамин, 11-O-фосфат силибина и силибин-фосфатидилхолин [6]. При этом необходимо учитывать такой немаловажный фактор, как возможность частичного изменения активности некоторых конъюгатов по сравнению с силибином. Например, поглощающая свободные радикалы активность 20-O- β -D-глюкуронидасилибина значительно ниже, чем у свободного силибина, но у 7-O- β -D-глюкуронидасилибина, напротив, она заметно выше, что не объясняется только введением глюкуронильной части [7]. Введение различных радикалов в состав силибина также влияет на его антиоксидантную активность [8]. Таким образом, химическая модификация силимарина различным образом изменяет биологическое действие силибина.

Целый ряд фармакологических активностей силибина может быть модифицирован различными биоинженерными методами. В частности, в последнее время многие группы исследователей уделяют большое внимание синтезу и изучению свойств различных наноматериалов, прилагая большие усилия для развития коммерческого направления новых нанотехнологий в академическом и в промышленном масштабах [9-11]. Под наночастицами подразумевают объекты размером от 1 до 100 нанометров (10^{-9} м), которые нашли широкое применение в биомедицинских исследованиях [12-14].

Наночастицы селена (SeNPs) проявляют противораковую активность на фоне низкой токсичности по сравнению с различными видами солей Se. Кроме того, имеются данные по применению SeNPs при различных заболеваниях, включая рак, диабет, воспалительные заболевания, фиброз печени и отравления, вызванные лекарственными средствами [15].

SeNPs показывают лучшую биодоступность и биологическую активность по сравнению с неорганическими и органическими соединениями Se. Тем не менее, слабое клеточное проникновение является основным

недостатком SeNPs. Были предприняты попытки решить эту проблему путем конъюгации нацеливающих лигандов на внешней поверхности наночастиц.

Целью настоящего исследования было получение конъюгата силимарина с SeNPs и изучение его цитотоксических свойств на онкологических линиях клеток.

Материалы и методы

Препарат синтезировали из селенистой кислоты и силимарина. Диаметр синтезированных наночастиц был определен методами трансмиссионной электронной микроскопии (ТЭМ) и динамического светорассеяния (DLS). Определение концентрации силимарина в препарате осуществляли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии.

Исследования цитотоксичности проводили на клеточных линиях МН-22а, Ерnt, HeLa, Нер 2 и SPEV. Клетки выращивали в культуральном 96 луночном планшете в среде ДМЕМ с антибиотиками пенициллином и стрептомицином. Препарат вносили после покрытия клеточной культурой более 80% поверхности лунки.

Результаты

По данным TEM и DLS средний диаметр полученных наночастиц был в диапазоне от 13.5 до 50 нм с пиком максимума на 21 нм (рис. 1). Концентрация силимарина в полученном препарате составила 2 мг/мл.

При проведении исследований по изучению цитотоксического действия препарата на онкологических линиях клеток получены результаты, представленные на рисунке 2. Наилучшую чувствительность к препарату показали клеточные линии Ерnt глиобластомы в виде снижения клеточной активности на 89% относительно контроля (чувствительность к препарату в концентрации 7.13 мкг/мл). Остальные линии также обладали чувствительностью к препарату, только в более высокой концентрации (14.25 мкг/мл). МН 22а 85% гибели показала при концентрации препарата 28.5 мкг/мл.

В заключение отметим, что препарат селена/силимарина обладает ярко выраженным цитотоксическим эффектом в отношении опухолевых линий клеток.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ, грант 19-14-00077.

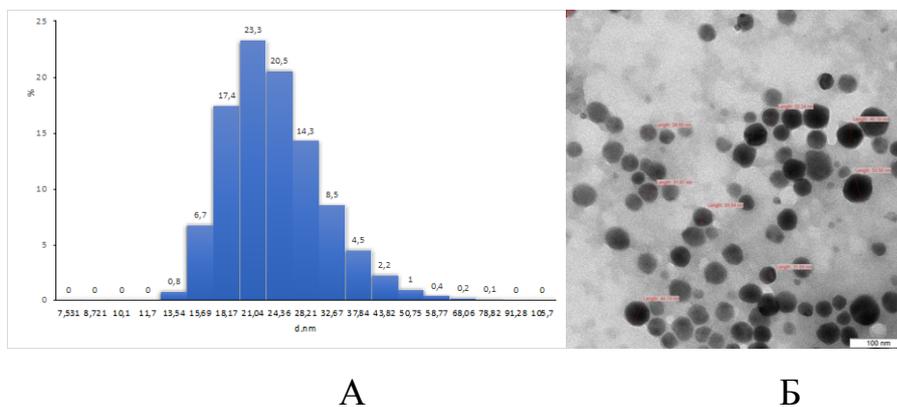


Рисунок 1. Распределение полученных наночастиц селена по размерам (А) и ТЭМ изображение (Б)

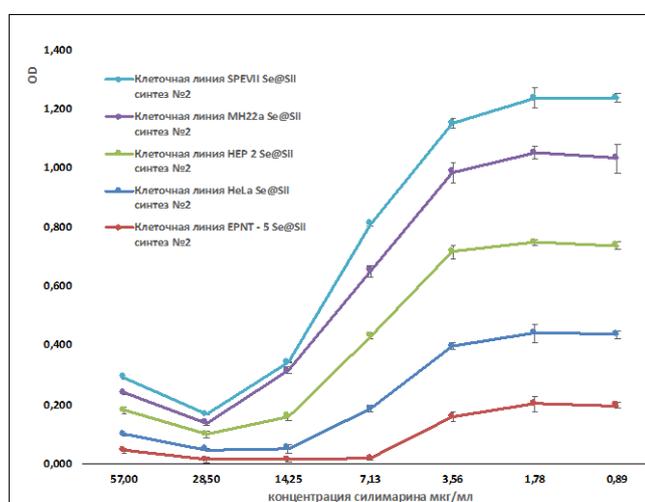


Рисунок 2. Изучение влияния препарата селен/силимарин на различные линии опухолевых клеток

Список литературы

1. Janiak B., Hänsel R. Phytochemisch - pharmakognostische Untersuchungen über Fructuscardui Mariae. *Planta Med* 8:71–84 (1960).
2. Pelter A., Hänsel R. The structure of silybin (silybum substance E6), the first flavonolignan. *Tetrahedron Lett* 25:2911–2916 (1968).

3. Wagner H., Seligmann O., Hořhammer L., Seitz M. Sonnenbichler J. Zur Struktur von Silychristin, einem zweiten Silymarin-Isomeren aus *Silybum marianum*. *Tetrahedron Lett* 22:1895–1899 (1971).
4. Sonnenbichler J., Scalera F., Sonnenbichler I., Weyhenmeyer R. Stimulatory effects of silibinin and silicristin from the milk thistle *silybummarianum* on kidney cells. *JPET* 290:1375–1383 (1999).
5. Sonnenbichler J., Mattersberger J. Rosen H. Stimulation of RNA synthesis in rat liver and isolated hepatocytes by silybin, an antihepatotoxic agent from *Silybum marianum* L. Gaertn. *Hoppe Seyler's Z PhysiolChem* 357:1171–1180 (1976).
6. Loguercio C., Festi D. Silybin and the liver: From basic research to clinical practice. *World J Gastroenterol* 17(18):2288-2301 (2011).
7. Kosina P., Kren V., Gebhardt R., Grambal F., Ulrichová J., Walterová D. Antioxidant properties of silybin glycosides. *Phytother Res Suppl* 1:33-39 (2002).
8. Yang L., Gong J., Wang F., Zhang Y., Wang Y., Hao X., Wu X., Bai H., Stöckigt J., Zhao Y. Synthesis and antioxidant evaluation of novel silybin analogues. *J Enzy Inhib Med Chem* 21(4):399–404 (2006).
9. Devalapally H., Chakilam A., Amiji M.M. Role of nanotechnology in pharmaceutical product development. *J Pharm Sci* 96(10):2547–2565 (2007).
10. Naahidi S., Jafari M., Edalat F., Raymond K., Khademhosseini A., Chen P. Biocompatibility of engineered nanoparticles for drug delivery. *J Control Release* 166 (2):182–194 (2013).
11. Petros R.A., DeSimone J.M. Strategies in the design of nanoparticles for therapeutic applications. *Nat Rev Drug Discov* 9(8):615–627 (2010).
12. Nanoanalytics: Nanoobjects and Nanotechnologies in Analytical Chemistry / Ed. Shtykov S.N. -Berlin: De Gruyter, 2018.
13. Metal Nanoparticles: Properties, Synthesis and Applications / Eds. Saylor Y., Irby V. -New York: Nova Science Publishers, 2018.

14. Dykman L.A., Khlebtsov N.G. Gold Nanoparticles in Biomedical Applications. -Boca Raton: CRC Press, 2017. -332 p.

15. Huang Y., He L., Liu W., Fan C., Zheng W., Wong Y.-S., Chen T., Selective cellular uptake and induction of apoptosis of cancer-targeted selenium nanoparticles. *Biomaterials* 34(29):7106–7116 (2013).

УДК 576.893.192.6

***С.А. Староверов^{1,2}, А.С. Фомин¹, С.В. Козлов², А.А. Волков²,
Е.С. Козлов², К.П. Габалов¹, Л.А. Дыкман¹***

¹Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН,
г. Саратов Россия

²Саратовский государственный аграрный университет им. Н.И.
Вавилова, г. Саратов Россия

ВЫДЕЛЕНИЕ КУЛЬТУРАЛЬНОГО АНТИГЕНА *BABESIA CANIS* И РАЗРАБОТКА ДИАГНОСТИКУМА НА ЕГО ОСНОВЕ

Аннотация. Разработана методика выделения и очистки антигенов *Babesia canis*. Полученные антигены проверяли методом ИФА и иммунодот анализом с использованием сыворотки от спонтанно зараженных собак, положительно реагирующих на бабезиозные антитела в иммунохроматографическом тесте. Установлено что полученный антиген реагирует с сыворотками спонтанно зараженный животных. Таким образом, антиген и полученные на выделенный антиген антитела можно использовать для эффективной иммунодиагностики бабезиозов собак.

Ключевые слова: *Babesia canis*, антиген, ИФА, иммуноглобулины, собака, бабезиоз собак.

S. A. Staroverov^{1,2}, A. S. Fomina¹, S. V. Kozlov², A. A. Volkov², E. S. Kozlov², K.P. Gabalov¹, L. A. Dykmana¹

1 Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms,
Russian Academy of Sciences, Russia

2 Saratov State Agrarian University named after N.I. Vavilova, Saratov,
Russia

ISOLATION OF THE BABESIA CANIS CULTURAL ANTIGEN AND DEVELOPMENT OF A DIAGNOSTICUM ON ITS BASIS

Abstract. A technique for the isolation and purification of *Canis Babesia* antigens has been developed. The resulting antigens were tested using ELISA and immunodot analysis using serum from spontaneously infected dogs that respond positively to infant antibodies in an immunochromatographic test. It was found that the antigen reacts with the sera of spontaneously infected animals. Thus, the antigen and antibodies resulting from an isolated antigen can be used for the effective immunodiagnosics of dogs with babesiosis.

Key words: *Babesia canis*, antigen, ELISA, immunoglobulins, dog.

Впервые возбудитель пироплазмоза был описан в 1888 г. румынским ученым Виктором Бабешем, который выделил инфекционный агент, вызывающий гемоглинурию у крупного рогатого скота [1]. *Babesia canis* – возбудитель пироплазмоза собак – был впервые выделен и описан в 1895 г. [2]. Через семь лет опубликованы обширные экспериментальные исследования по биологии и патологии *B. canis*, проведенные на собаках [3]. В Европе *B. canis* является наиболее распространенным видом бабезиоза собак [4]. Однако в отношении антигенного состава *B. canis* имеется большое количество противоречивых и неполных данных. Это, в основном, связано со сложностью культивирования и выделения данного паразита.

Целью наших исследований была изоляция патогенных штаммов бабезий, оптимизация методов их культивирования, выделение растворимых антигенов и изучение их иммуногенных свойств.

Материалы и методы

Антигенный материал (эритроциты, зараженные *B. canis*) выделяли из крови спонтанно зараженных собак с клиническими признаками, характерными для пироплазмоза. Диагноз был подтвержден микроскопическим выявлением пораженных бабезиями эритроцитов в капиллярной крови, иммунохроматографически и с помощью ПЦР [5].

Выделение и культивирование *B. canis* проводили по протоколу, описанному в [6]. Процент паразитемии в субкультуре рассчитывали путем подсчета 1000 суммарных инфицированных и неинфицированных эритроцитов [7]. Рост бабезий в течение всего культивирования контролировали микроскопически и с помощью ПЦР с использованием общевидовых праймеров и праймеров на секретируемый антиген BcSA1 *B. canis* [8].

После получения достаточного количества антигена проводили его концентрирование и очистку согласно методу, предложенному Tewari и соавт. [9]. Хроматографическую очистку препарата проводили на колонке с карбоксиметилцеллюлозой (Servacel) на хроматографе NGC Quest 10.

Образцы, элюированные из колонки с карбоксиметилцеллюлозой, разделяли электрофорезом в 5-15% градиентном полиакриламидном геле [10]. По окончании электрофореза гели окрашивали кумасси бриллиантовым голубым G-250.

Выделенный культуральный антиген конъюгировали с наночастицами золота [11]. Синтезированный конъюгат был использован для иммунизации лабораторных животных. Специфичность полученных антител определяли при помощи твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА) [12] и дот- и блот-иммуноанализа [13].

Результаты и обсуждение

Присутствие *B. canis* при культивировании *in vitro* было обнаружено во всех образцах на третий и четырнадцатый день после начала культивирования (рис. 1). Культуры пассировали с интервалом в 1 неделю.

До первого пассажа (7 день) паразитемия составляла 0.09–0.18%. При втором пассаже (14 день) паразитемия во всех культурах была одинаковой (0.25–0.34%). Наибольшая степень паразитемии, 1–2%, была отмечена при третьем пассаже. Лунки после третьего пассажа объединяли, проводили замену среды на безсывороточную и проводили наработку растворимых антигенов.

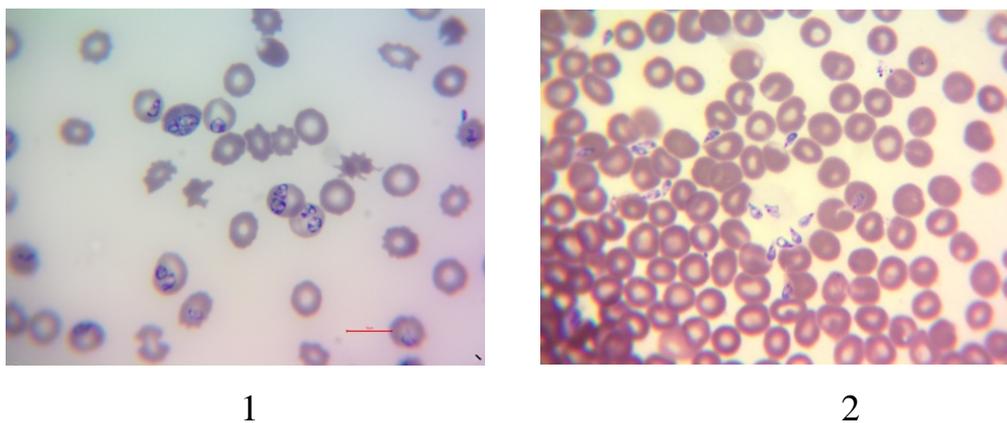


Рисунок 1. *Babesia canis* на 3 (1) и 14 день (2) культивирования

Фракционирование супернатанта культуры *B. canis* проводили с помощью хроматографии на СМ-целлюлозе. Был выявлен 1 пик из осадка, полученного при высаливании 77% сульфатом аммония. Пик элюированных фракций выходил в интервале от 0.1 до 0.4 М градиента NaCl.

При проведении электрофореза в 5-15% ПААГ полученных после ионообменной хроматографии фракций катионных белков, выделенных из супернатанта культуры *B. canis*, наблюдали специфические полосы, расположенные в интервале от 80 до 25 кДа. Обнаружили 3 полосы в интервале от 80 до 60 кДа, одну полосу в интервале от 40 до 30 кДа и одну полосу в пределах 25 кДа. Полученная антисыворотка специфически распознавала в блот-анализе белки с молекулярной массой ~66 кДа как у антигена *B. canis*, который был использован для иммунизации, так и у антигенов *B. canis*, выделенных от спонтанно зараженных собак.

Полученные после ионообменной хроматографии антигены проверяли методом ИФА и иммунодот анализом с использованием сыворотки от

спонтанно зараженных собак, положительно реагирующих на бабезиозные антитела в иммунохроматографическом тесте. Для проведения ИФА была взята кровь от 6 спонтанно зараженных животных, которые положительно реагировали на наличие возбудителя и имели ярко выраженные клинические признаки. В качестве контроля использовали сыворотку крови от клинически здоровых животных (рис. 2А). Показано, что уровень IgG к культуральному антигену *B. canis* в группе спонтанно заболевших животных повышался примерно в 5 раз ($A_{490}=0.17\pm 0.1$) по сравнению с контрольной группой ($A_{490}=0.03\pm 0.02$). При проверке полученного антигена в иммунодот анализе (рис. 2Б) можно отметить, что все антигены реагируют с сывороткой, полученной от спонтанно заражённых животных, в отличие от лизата эритроцитов собак.

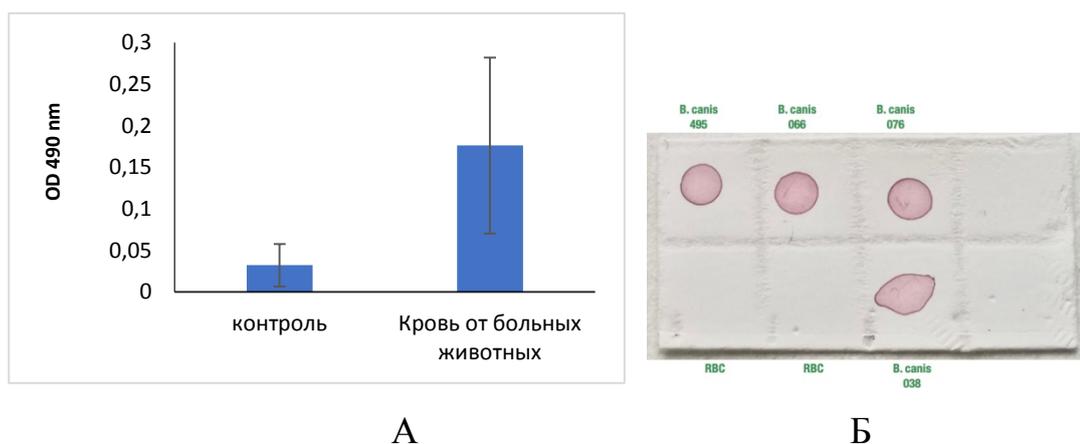


Рисунок 2. Выявление уровня IgG к *B. canis* у спонтанно зараженных собак при использовании растворимого антигена в анализе в ИФА (А) и дот анализе (Б)

Таким образом, полученные на выделенный антиген антитела можно использовать для эффективной иммунодиагностики бабезиозов собак.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ, грант 19-14-00077.

Список литературы

1. Babeş V. Sur l'hémoglobinurie bactérienne du boeuf. C. R. Acad. Hebd. Séances Acad. Sci. 1888. 107. 692–694.

2. Piana G.P., Galli-Valerio B. Su di un'infezione del cane con parassiti endoglobulari. Mod. Zoiatro. 1895. 6. 163–169.
3. Nocard E., Motas C. Contribution à l'étude de la piroplasmose canine. Ann. Inst. Pasteur. 1902. 16. 257–290.
4. Matijatko, V., Torti, M., Schetters Th, P., Canine babesiosis in Europe: how many diseases? Trends Parasitol. 2012. 28. 99–105.
5. Wahlang L., Lakshmanan B., Thomas N., Bosewell A., Sunanda J.J.K., Aravindakshan T.V. Comparative analysis of conventional and real time PCR for detection of haemoparasites in dogs. Indian J. Biotechnol. 2019. 18. 9–15.
6. Adaszek Ł., Winiarczyk S. In vitro cultivation of *Babesia canis canis* parasites isolated from dogs in Poland. Parasitol. Res. 2011. 108. 1303–1307.
7. Lehtinen L.E., Birkenheuer A.J., Droleskey R.E., Holman P.J. In vitro cultivation of a newly recognized *Babesia* sp. in dogs in North Carolina. Vet. Parasitol. 2008. 151. 150–157.
8. Zhou M., Cao S., Luo Y., Liu M., Wang G., Moumouni P.F.A., Jirapattarasate C., Iguchi A., Vudriko P., Terkawi M.A., Löwenstein M., Kern A., Nishikawa Y., Suzuki H., Igarashi I., Xuan X. Molecular identification and antigenic characterization of a merozoite surface antigen and a secreted antigen of *Babesia canis* (BcMSA1 and BcSA1). Parasit. Vectors. 2016. 9. 257.
9. Tewari A.K., Mishra A.K., Rao J.R. Isolation and purification of cationic proteins from microaerophilous stationary phase culture supernatants of *Babesia bigemina*. J. Appl. Anim. Res. 2000. 18. 41–48.
10. Laemmli U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of head of bacteriophage T4. Nature. 1970. 227. 680–685.
11. Dykman L.A., Khlebtsov N.G. Immunological properties of gold nanoparticles. Chem. Sci. 2017. 8. 1719–1735.
12. Furuta P.I., Oliveira T.M., Teixeira M.C., Rocha A.G., Machado R.Z., Tinucci-Costa M.G. Comparison between a soluble antigen-based ELISA and IFAT in detecting antibodies against *Babesia canis* in dogs. Rev. Bras. Parasitol. Vet. 2009. 18. 41–45.

13. Bogatyrev V.A., Dykman L.A., Matora L.Y., Schwartsburd B.I. The serotyping of *Azospirillum* Spp by cell gold immunoblotting. FEMS Microbiol. Lett. 1992. 96. 115–118.

УДК 579.222.3; 579.862.1

Г.Т. Урядова, Н.А. Фокина, Л.В. Карпунина

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

ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ЗНАЧИМОСТЬ ЭКЗОПОЛИСАХАРИДОВ МОЛОЧНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ В ОРГАНИЗМЕ ЖИВОТНЫХ

Аннотация. В настоящем исследовании описана функциональная значимость экзополисахаридов молочнокислых бактерий – *Lactococcus lactis* В-1662 и *Streptococcus thermophilus* в организме животных. Показано, что оба экзополисахарида в разной степени оказывают влияние на фагоцитарную активность макрофагов, регулируют цитокиновый баланс, стимулируют кроветворную функцию, а также экзополисахарид *S. thermophilus* при введении в корм цыплятам-бройлерам влиял на прирост массы тела и увеличивал число молочнокислых бактерий.

Ключевые слова: экзополисахариды, *Lactococcus lactis* В-1662, *Streptococcus thermophilus*, фагоцитоз, цитокины, лейкоциты, масса тела, мыши, крысы, цыплята-бройлеры.

Г.Т. Урядова, Н.А. Фокина, Л.В. Карпунина

Saratov State Agrarian University named after N.I. Vavilova, Saratov, Russia

FUNCTIONAL SIGNIFICANCE OF EXOPOLYSACCHARIDES OF LACTIC ACID BACTERIA IN ORGANISM OF ANIMAL

Annotation. This study describes the functional significance of exopolysaccharides of lactic acid bacteria – *Lactococcus lactis* B-1662 and *Streptococcus thermophilus* in animals. It was shown that both exopolysaccharides to varying degrees affect the phagocytic activity of macrophages, regulate the cytokine balance, stimulate hematopoietic function, and exopolysaccharide of *S. thermophiles*, when introduced into the feed of broiler chickens, influenced body weight gain and increased the number of lactic acid bacteria.

Keywords: exopolysaccharides, *Lactococcus lactis* B-1662, *Streptococcus thermophilus*, phagocytosis, cytokines, leukocytes, body weight, mice, rats, broiler chickens.

Экзополисахариды (ЭПС) бактерий в связи с их большой функциональной значимостью в организме животных и человека находят все большее применение в медицине, ветеринарии, поскольку они способны оказывать иммуностимулирующее, противовоспалительное, ранозаживляющее, противоопухолевое и др. действие [1-5]. Поэтому поиск и исследование биологических свойств биополимеров полисахаридной природы среди микроорганизмов является актуальной задачей. Была изучена роль экзополисахаридов молочнокислых бактерий *Lactococcus lactis* B-1662 и *Streptococcus thermophilus* в организме животных. Показано, что оба ЭПС в концентрации 0,06 г/кг способны в разной степени оказывать влияние на фагоцитарную активность макрофагов как альвеолярных, так и перитонеальных при фагоцитозе бактерий *Staphylococcus aureus* 209-P. Обнаружено участие их в регуляции цитокинового баланса (ИЛ-1 α и ФНО- α) в сыворотке крови лабораторных мышей. При этом ЭПС термофильного стрептококка, по сравнению с ЭПС лактококка, оказывал более выраженное воздействие на синтез провоспалительных цитокинов, в особенности ФНО- α , и на процесс фагоцитоза. Исследование различных форм лейкоцитов (эозинофилы, нейтрофилы, лимфоциты, моноциты) крови белых крыс – лейкограммы показало, что наибольшее стимулирующее влияние на

кровообразную функцию оказал ЭПС *S. thermophilus*. Установлено, что при введении в корм цыплятам-бройлерам кросса Хаббард ИЗА Ф-15 ЭПС *S. thermophilus* (0,06 г/кг) происходил прирост их массы тела на протяжении двух месяцев, а также увеличение молочнокислых бактерий на протяжении 4 месяцев.

Полученные данные открывают перспективы использования ЭПС молочнокислых бактерий в экспериментальной биологии, фармацевтической и ветеринарной медицине. К тому же способность ЭПС *S. thermophilus* увеличивать массу тела и количество молочнокислых бактерий в организме птицы, может быть использована в птицеводстве в качестве пребиотической добавки.

Список литературы

1. Ботвинко, И.В. Экзополисахариды бактерий / И.В. Ботвинко // Успехи микробиологии. – 1985. — Т. 20. – С. 79 – 122.
2. Елинов Н. П. Некоторые микробные полисахариды и их практическое применение / Н. П. Елинов // Успехи микробиологии. – М.: Наука, 1982. – С. 158 – 177.
3. Ермольева, З.В. Стимуляция неспецифической резистентности организма и бактериальные полисахариды / З.В. Ермольева, Г.Е. Вайсберг. – М.: Медицина, 1976. – 184 с.
4. Cerning, J. Exopolysaccharides produced by dairy lactic acid bacteria / J. Cerning, V.M.E. Marshall // Recent Results Develop. Microbiol. – 1999. – N3. – P. 195 – 209.
5. Gorbach S.L. Probiotics in the third millennium / S.L. Gorbach // Digest Liver Dis. – 2002. – 34 (Suppl. 21). – P. 2 – 7.

УДК 637.524.2

Д.Д. Хазиев, О.В. Изимариева, М.А. Казанина

Башкирский государственный аграрный университет, г. Уфа, Россия

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПШЕНИЧНОЙ МУКИ ПРИ ПРОИЗВОДСТВЕ ВАРЕННЫХ КОЛБАС

Аннотация. В статье представлены результаты оценки качества вареных колбас при различном уровне включения пшеничной муки в состав мясного фарша.

Ключевые слова: вареная колбаса, мука пшеничная, фарш, мясные изделия.

D.D. Khaziev, O.V. Izimarieva, M.A. Kazanina

Bashkir State Agrarian University, Ufa, Russia

USE OF WHEAT FLOUR IN THE PRODUCTION OF BOILED SAUSAGES

Abstract. The article presents the results of assessing the quality of wheat flour in the composition of minced meat.

Keywords: boiled sausage, wheat flour, minced meat, meat products.

Удовлетворение потребности населения в высококачественных и полноценных мясных продуктах напрямую связано с совершенствованием их технологии изготовления. Одним из способов улучшения качества продукции и структуры питания населения является включение в состав мясных изделий новых нетрадиционных видов растительного сырья. Это позволяет получить продукцию с новыми функционально-технологическими свойствами, расширить ассортимент и снизить себестоимость продукции при сохранении должного их качества.

Существующая в настоящее время технология производства мясных изделий учитывает использование различного крахмало-содержащего сырья, способствующее небольшому повышению влаго- и жиросвязывающей способности мясной продукции. Есть определенный опыт использования крахмала и различных видов муки зерновых для повышения вязкости и

влажностоудерживающей способности мясного фарша разных видов колбасных изделий [4-5]. Однако открытым остается вопрос качества мясных изделий при использовании растительных добавок в зависимости от уровня их включения в состав мясного фарша. В связи с этим целью наших исследований явилась оценка качества вареных колбас при различном уровне включения пшеничной муки в состав мясного фарша.

Исследования проводились в условиях АО «Уфимский мясоконсервный комбинат» г. Уфы Республики Башкортостан. Объектом исследования служили вареные колбасы. В качестве добавки была выбрана пшеничная мука. В лабораторных условиях были изготовлены три группы образцов вареных колбас. Первый образец – контрольный, приготовлен по стандартной рецептуре производства вареной колбасы «Молочная». В рецептуру образца второй группы вводили пшеничную муку в мясной фарш вместе с другими ингредиентами в количестве 5% от основного сырья, третьей группы – 10%. Для приготовления колбасных изделий была использована стандартная технология производства вареных колбас.

При проведении органолептической оценки вареных колбас полученных образцов был определен внешний вид, консистенция, вид фарша на разрезе, аромат и вкус по 5-бальной системе, согласно которой каждый показатель имел соответственно 5-ть степеней качества: 5 – отличное качество; 4 – хорошее; 3 – удовлетворительное; 2 – неудовлетворительное, но допустимое; 1 – неудовлетворительное. Дегустировали исследуемые группы образцов в произвольном порядке и оценивали органолептические характеристики. Анализ результатов экспертной оценки органолептических свойств вареных колбас проводился с использованием процедур расчета средних величин.

Проведена физико-химическая оценка вареных колбас в ходе, которой была определена массовая доля влаги, жира, белка, золы. Оценку физико-химических показателей готовых изделий проводили по общепринятым методикам.

Одним из основных потребительских свойств мясных изделий выступает их свойства, которые может оценить конечный потребитель в связи с этим мы в первую очередь, провели их органолептическую оценку. Органолептическая оценка – это оценка ответной реакции чувств человека на качества и свойства продукции как исследуемого объекта, определяемая с помощью количественных и качественных методов [1-3].

Органолептическая оценка опытных и контрольных групп вареных колбас показала, что по вкусу, аромату и цвету они близки к друг к другу, однако, оценка консистенции колбас опытной группы значительно превышает оценку того же показателя колбас контрольной группы. Кроме того, выход продукции опытных образцов был выше на 2,4 % по сравнению с контрольным. Результаты приведены в таблице 1.

Таблица 1

Органолептическая оценка колбасных изделий, в баллах

Показатель	Группа		
	контрольная	опытная-1	опытная-2
Запах	4,6	4,5	4,3
Вкус	4,4	4,3	4,1
Консистенция	4,7	4,8	4,5
Внешний вид	4,8	4,6	4,5
Цвет	4,6	4,5	4,3
Средний балл	4,6	4,5	4,3

Включение пшеничной муки в состав мясного фарша не сказалось отрицательно на основные органолептические показатели вареных колбас.

По анализируемым показателям все колбасы имели достаточно высокую оценку. Однако необходимо отметить, что увеличение включения пшеничной муки до 10% незначительно снизила показатели органолептической оценки вареных колбас.

Результаты химического анализа готовых колбасных изделий (таблица 2) показывали, что меньшее содержание влаги было выявлено в контрольном образце продукта.

Более высокое содержание влаги в сравнении с другими группами продукта отличались образцы 2 опытной группы, где уровень включения пшеничной муки составил 10 % – 67,8 %, что больше на 1,8-2,8%.

Таблица 2

Химический состав готовых колбасных изделий, %

Показатель	Группа		
	контрольная	опытная-1	опытная-2
Влага	65,0	66,0	67,8
Белок	17,8	17,5	16,9
Жир	14,6	14,1	13,0
Зола	2,6	2,4	2,3

Отмечено снижение содержания белка, жира, золы при включении в мясной фарш пшеничной муки. Так, в контрольном образце содержание белка по сравнению с образцами готовой продукции первой и второй опытной была выше на 0,3 % и 0,9 %. По содержанию белка и жира опытные образцы первой и второй опытной группы отличались друг от друга на 0,6 % и 0,9 % соответственно. Среди опытных групп лучшими показателями отличались образцы первой опытной группы.

Оценивая данные характеристики также необходимо учитывать уровень содержания золы в образцах. В отношении массовой доли золы просматривалась следующая тенденция. Наивысшим уровнем ее содержания отличались опытные образцы первой опытной группы – 2,6%. Преимущество показателей по сравнению с образцами 2 и 3 групп – 0,2 и 0,3% соответственно. Необходимо отметить, что снижение общей питательности колбас опытных групп было незначительно. В целом все образцы готовой продукции характеризовались оптимальным химическим составом.

В результате исследования было выявлено, что включение пшеничной муки в мясной фарш обеспечило хорошую влагоудерживающую способность, это обеспечивается на наш взгляд нерастворимыми, но набухающими биополимерами: целлюлозой, гемицеллюлозами и белками.

Удержанию воды также способствовало наличие в составе пшеничной муки гелеобразующих при повышенных температурах крахмалов и белков. Эмульсионные свойства пшеничной муки связаны с наличием эмульгаторов водорастворимых белков. Устойчивость эмульсий обеспечивается загустителями и структурообразователями, роль которых выполняют крахмалы и водорастворимые белки. Все эти характеристики и функционально-технологические свойства пшеничной муки обеспечило повышение выхода продукта за счет лучшего удержания влаги мясным фаршем, что повысило и сочность готового продукта.

На основе полученных результатов исследований при производстве варёных колбас рекомендуем добавлять в мясной фарш до 5% пшеничной муки, что обеспечит повышение выхода готовой продукции, улучшение их функционально-технологических свойств и качества.

Список литературы

1. Антипова Л.В. Методы исследования мяса и мясных продуктов / Л.В. Антипова, И.А. Глотова, И.А. Рогов – Москва: Колос, 2007. – 266 с.
2. Алехина Л.Т. Технология мяса и мясопродуктов / Л.Т. Алехина, А.С. Большаков, В.Г. Боресков и др. – Москва: Агропромиздат, 2010. – 576 с.
3. Гиро Т.М. Мясные продукты с растительными ингредиентами для функционального питания / Т.М. Гиро, О.И. Чиркова // Мясная индустрия. – 2007. – № 1. – С. 43-46.
4. Головина Я.О. Характеристики и показатели качества колбасных изделий / Я.О. Головина // Научные записки ОрелГИЭТ. – 2016. – № 2. – С. 168-172.
5. Шарипова А.Ф. Анализ качественных характеристик замороженных полуфабрикатов с использованием рисовой муки и морской капусты / Шарипова А.Ф., Хазиев Д.Д. // Сборник научных статей международной научно-научно-практической конференции научных сотрудников и преподавателей «Приоритетные и инновационные технологии в

животноводстве – основа модернизации агропромышленного комплекса России». - 2018. - С. 339-342.

УДК 636.053:636.087.8 (470.57)

А.З. Хакимова, А.В. Андреева

Башкирский государственный аграрный университет, г. Уфа, Россия

ИММУНОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ОРГАНИЗМЕ ТЕЛЯТ ПОД ВЛИЯНИЕМ ПРЕПАРАТА «НОРМОСИЛ»

Аннотация. В статье приведены данные по изучению влияния пробиотика «Нормосил» на иммунобиологические показатели организма и прироста живой массы телят.

Ключевые слова: телята, пробиотик, «Нормосил», эритроциты, лейкоциты, гемоглобин, белковый спектр, иммуноглобулины, живая масса

A.Z. Khakimova, A.V. Andreeva

Bashkir State Agrarian University, Ufa, Russia

IMMUNOLOGICAL CHANGES IN THE ORGANISM OF CALVES UNDER THE INFLUENCE OF THE DRUG «NORMOSIL»

Annotation. The article presents data on studying the influence of probiotic "Normosil" on immune parameters of the body and live weight gain of calves.

Keywords: calves, probiotic, "Normosil", erythrocytes, leukocytes, hemoglobin, protein spectrum, immunoglobulins, live weight.

Введение. На естественные защитные свойства организма в условиях промышленного животноводства действует комплекс факторов: вакцинальный и технологический стресс, ухудшение экологической ситуации, использование антибиотиков и других антибактериальных

химиопрепаратов, что ведет к нарушению эволюционно сложившегося естественного микробиоценоза организма [1,9].

Для восстановления нарушенной микрофлоры в ветеринарной медицине применяют биологически активные вещества различных групп [2,10]. Особое внимание заслуживают пробиотики [3,4,5]. Включение пробиотиков и пробиотических микроорганизмов в технологию выращивания молодняка – наиболее современный способ профилактики желудочно-кишечных болезней, основанный на экологически безопасных механизмах поддержания высокого уровня колонизационной резистентности кишечника [6,7,8, 11].

Таким требованиям может отвечать пробиотический препарат нового поколения «Нормосил», содержащий в своем составе лактобактерии (*Lactobacillus brevis*, *L. plantarum*, *L. acidophilus*) и инактивированные дрожжи – *Enterococcus faecium*. Лактобактерии активно участвуют в метаболизме, синтезе витаминов, активации фагоцитоза, стимулируют синтез иммуноглобулинов, способны образовывать молочную кислоту и перекись водорода, бактерицидный эффект которого связан с окислением и разрушением клеточных белков аэробной флоры, что сдерживает их численность.

В связи с вышеизложенным, целью наших исследований явилось изучения влияния пробиотика «Нормосил» на иммунобиологические показатели организма и прирост живой массы телят.

Материалы и методы исследований. Научно-исследовательский опыт проводили в ГУСП совхоз-заводе «Алексеевский» Уфимского района Республики Башкортостан. Для опыта сформировали две группы телят 30-дневного возраста черно-пестрой голштинизированной породы по пять голов в каждой. Животные опытной группы получали пробиотик «Нормосил» в дозе 20 мл с молоком один раз в день в течение 21-го дня. Контрольная группа - находилась на обычном рационе.

Кровь для исследований брали из яремной вены до утреннего кормления перед началом и после окончания опыта.

Исследование содержания эритроцитов, лейкоцитов, гемоглобина проводилось на гематологическом автоматическом анализаторе Sysmex XN 1000.

Белковый спектр и иммуноглобулины (IgA, IgM, IgG) определяли на автоматическом биохимическом и иммуноферментном модульном анализаторе нового поколения Cobas 6000 фирмы Roche Diagnostics Deutschland GmbH.

Взвешивание телят проводилось с помощью механических рычажных весов в начале опыта и в трехмесячном возрасте.

Статистическую обработку цифровых данных проводили с использованием пакета статистического анализа для Microsoft Excel. Достоверность различий между группами по количественным признакам оценивали при помощи t-критерия Стьюдента.

Результаты исследований и их обсуждение. Обобщенные результаты исследований представлены в таблице 1.

Таблица 1

Иммунобиологические параметры крови телят ($M \pm m$, $n=5$)

Показатели Показатели	Контрольная группа		Опытная группа	
	до начала опыта	в конце опыта	до начала опыта	в конце опыта
Эритроциты, $10^{12}/л$	5,30±0,400	5,76±0,398	5,22±0,220	6,06±0,121
Лейкоциты, $10^9/л$	16,66±2,169	12,20±0,735	11,36±1,209	10,86±1,64
Гемоглобин, г/л	95,60±3,265	96,60±4,986	93,40±6,860	102,20±4,831
Общий белок, г/л	61,42±1,717	67,40±3,696	62,09±1,979	62,00±2,387
Альбумины, г/л	34,40±0,678	31,60±2,786	33,80±2,289	32,16±0,727
Глобулины, г/л	65,60±0,678	71,00±2,950	67,04±0,839	66,20±2,289
IgA, г/л	4,52±0,322	5,00±0,447	5,20±0,210	5,26±0,189
IgM, г/л	2,60±0,084	1,70±0,071***	2,66±0,133	1,38±0,080***
IgG, г/л	16,16±0,673	16,62±0,425	15,28±0,539	18,16±0,248

Примечание: здесь ***- $P < 0,001$

Как видно из таблицы 1 все показатели крови у телят в начале опыта были близки по абсолютным величинам, что указывает на хороший подбор аналогов. В процессе опыта, через двадцать один день, под влиянием пробиотика «Нормосил» произошли изменения морфологических, биохимических и иммунологических показателей крови телят опытной группы по отношению к контролю. В конце опыта количество эритроцитов в крови телят опытной группы увеличилось в 1,05 раза, количество лейкоцитов уменьшилось в 1,12 раза, содержание гемоглобина повысилось в 1,06 раз. Из биохимических показателей крови, количество общего белка было меньше в 1,08 раза в крови телят опытной группы. Наблюдалось достоверное уменьшение альбуминовых и глобулиновых фракций.

Дальнейшие исследования показали, что в сыворотке крови у опытных телят на фоне использования пробиотика «Нормосил», по сравнению с контрольными аналогами, количество иммуноглобулинов класса «А» повысилось в 1,05 раза, количество иммуноглобулинов класса «G» повысилось в 1,09 раза. Наблюдалось достоверное уменьшение количества иммуноглобулинов класса «M».

Из данных таблицы 2 видно, что живая масса телят контрольной группы к трехмесячному возрасту составила $77,2 \pm 6,621$ кг. В опытной группе данный показатель составил $91 \pm 2,097$ кг, превысив контроль в 1,17 раз.

Таблица 2

Показатели живой массы телят

Группа животных (n=5)	Сроки исследования	
	до начала опыта (M±m), кг	в 3 месяца (M±m), кг
Контрольная	$52,4 \pm 1,326$	$77,2 \pm 6,621$
Опытная	$52 \pm 4,086$	$91 \pm 2,097$

Заключение. Таким образом, отмеченные изменения морфологических, биохимических и иммунологических показателей крови и прироста живой массы телят свидетельствуют о положительном влиянии

пробиотика «Нормосил» на процессы обмена веществ и иммунного статуса организма.

Список литературы

1. Алексеев И.А. Иммунологические показатели крови и сохранность телят при использовании пробиотической кормовой добавки «Басулифор» / И.А. Алексеев, Р.А. Егоров // Вестник Чувашской государственной сельскохозяйственной академии.– 2018. – №4(7).– С. 38-41.

2. Андреева А.В. Применение новых экологически безопасных препаратов в ветеринарной практике Республики Башкортостан/ А.В. Андреева, О.Н. Николаева// Российский журнал Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии. 2016. № 2 (18). С. 96-104.

3. Андреева А.В. Влияние биологических препаратов "Споровит" и "Ветоспорин" на микробиоценоз кишечника/ А.В. Андреева, О.Н. Николаева// Современные проблемы науки и образования. 2016. №6. С. 550.

4. Андреева А.В. Пробиотическая поддержка микробиоты желудочно-кишечного тракта/ А.В. Андреева, О.Н. Николаева// Российский электронный научный журнал. 2017. №3. С. 112-121.

5. Ахсанова А.Р. Действие пробиотика на организм животных //А.Р. Ахсанова, А.В. Андреева// Молодежь - науке и практике АПК: Материалы 101-й Международной научно-практической конференции студентов и магистрантов. 2016. С. 7.

6. Иваненко О.Ю. Лечебно-профилактическая эффективность пробиотического препарата при диспепсии телят /О.Ю. Иваненко, М.Г. Зухрабов, О.А. Грачева // Ученые записки КГАВМ. 2013. Т.215. С. 137-141.

7. Малик Е.В. Восстановление колонизационной резистентности при синдроме диспепсии новорожденных телят/ Е.В. Малик, Р.Т. Маннапова, И.А. Русанов// Аграрный вестник Урала. 2011. № 10 (89). С.26-31.

8. Маннапова Р.Т. Бактерии-пробионты для активизации биологических и повышения продуктивных показателей телят / Р.Т.

Маннапова, И.М. Файзуллин, Р.Р. Шайхулов// Вестник Саратовского государственного аграрного университета. 2012. № 2. С.41-44.

9. Султангазин Г.М. Неспецифическая резистентность организма телят при применении пробиотиков «Энзимспорин» и «Лактоамиловорин-СП» / Г.М. Султангазин, А.В. Андреева // Актуальные проблемы интенсивного развития животноводства: Сборник научных трудов Национальной научно-практической конференции, посвященной памяти доктора биологических наук, профессора Е. П. Ващекина. Брянск, 2020. С. 174-178.

10. Федюнина А.В. Пробиотики различного происхождения и их влияние на организм животных / А.В. Федюнина, А.В. Андреева// Вклад молодых ученых в инновационное развитие АПК России: Сборник статей Международной научно-практической конференции молодых ученых, посвященная 65-летию ФГБОУ ВО Пензенская ГСХА. 2016. С. 239-241.

11. Хакимова А.З. Применение пробиотика «Ветоспорин Ж» для профилактики желудочно-кишечных заболеваний телят / А.З. Хакимова// Актуальные проблемы интенсивного развития животноводства: Сборник научных трудов Национальной научно-практической конференции, посвященной памяти доктора биологических наук, профессора Е. П. Ващекина. Брянск, 2020. С. 201-204.

УДК 630*443.3+630*232.41:630*181.522:633.873.1

О.В. Халикова

Башкирский государственный аграрный университет, г. Уфа, Россия

ОПЫТ ВВЕДЕНИЯ ДУБА ЧЕРЕШЧАТОГО (*QUERCUS ROBUR*) В КУЛЬТУРУ *IN VITRO* ДЛЯ СОЗДАНИЯ СОРТОВ, УСТОЙЧИВЫХ К МУЧНИСТОЙ РОСЕ И БУРОЙ ПЯТНИСТОСТИ

Аннотация. Дуб черешчатый (*Q. robur*) является наиболее распространенным видом древесных растений, ареал которого представлен по всей территории европейской части России до Башкирского Предуралья.

Устойчивость данного вида и его естественное возобновления в пределах городских территорий с каждым годом существенно снижается [1]. Вид повсеместно подвержен таким грибковым заболеваниям как мучнистая роса и бурая пятнистость. Поэтому целью работы является создание культур дуба, которые будут характеризоваться повышенными сортовыми качествами и устойчивостью к поражению возбудителями грибковых болезней. Это, в свою очередь, и определяет актуальность исследований.

Ключевые слова: селекция, семеноводство, *in vitro*, грибковые заболевания древесных растений, дуб черешчатый (*Q. robur*), каллусная структура.

O.V. Halikova

Bashkir State Agrarian University, Ufa, Russia

EXPERIENCE OF INTEGRATING OAK OIL (QUERCUS ROBUR) IN IN VITRO CULTURE FOR CREATION OF VARIETIES RESISTANT TO POWDER AND BROWN SPOT

Abstract. Petiolated Oak (*Q. robur*) is the most common species of woody plants, whose range is represented throughout the European part of Russia to the Bashkir Urals. The stability of this species and its natural renewal within urban areas decreases significantly every year [1]. The species is universally susceptible to fungal diseases such as powdery mildew and brown spotting. Therefore, the aim of the work is to create oak crops that will be characterized by increased varietal qualities and resistance to fungal disease pathogens. This, in turn, determines the relevance of research.

Keywords: selection, seed production, *in vitro*, fungal diseases of woody plants, petiolate oak (*Q. robur*), callus structure.

Как известно, лесонасаждения являются основным источником производимой биомассы, они оздоравливают окружающую среду и являются

объектом рекреационных мероприятий [2]. В ранних работах автора уже описывалось то, что наибольшей продуктивностью и количеством производимой биомассы обладают именно дубовые насаждения в городах и на лесных землях [3]. В условиях нехватки площади, занимаемых зелеными насаждениями, актуальным остается вопрос восстановления и дальнейшего озеленения территорий. Для наилучшего результата выбираются, как правило, местные виды древесных растений, одним из которых является дуб черешчатый. Основным фактором во время восстановления является подбор видов, устойчивых к различным биотическим и абиотическим факторам окружающей среды [4]. Поэтому открытым остается вопрос выведения новых сортов дуба для озеленения и искусственного лесовосстановления [5], т.к. в населенных пунктах данный вид встречается повсеместно, хорошо плодоносит, имеет хорошую жизнеспособность, но обладает медленным ростом. Так же по ранним проведенным исследованиям было выявлено, что относительно других видов древесных растений, дуб в условиях неблагоприятных климатических условий и уровня плодородия почв обладает наилучшими биометрическими показателями [6], в отличие от других видов, произрастающих в таких же условиях.

Первостепенной задачей для введения в культуру *in vitro* являлся подбор маточных растений с наивысшими иммунологическими качествами (способность противостоять вредителям и болезням), а также лучшими физиолого-биохимическими и анатомо-морфологическими свойствами [7]. При выборе маточников оценивалась устойчивость по процентной доле пораженных древесных растений основными видами заболеваний и вредителями [8]. Из всех изученных растений на заложенной площади мучнистой росе были подвержены в той или иной степени более 65% деревьев, бурой пятнистости около 15% учтенных растений. Не грибковыми видами в целом поражены около 90% древесных растений на ПП [9,10]. Основная часть селекционных работ направлена на индивидуальный отбор, ведь дуб является культурой, которая обладает четко выраженной

географической и индивидуальной изменчивостью. Важным фактором во время проводимых исследований стало оценка экологической приспособленности дуба к тем или иным факторам абиотического характера [11,12]. Опыт введения дуба черешчатого в культуру *in vitro* направлен на повышение таких показателей, как раннее распускание, зимостойкость, повышение ростовых качеств и устойчивость к грибковым инфекциям, как основной причины плохого роста и развития дуба [13]. Экспериментальные посадки планируется провести в ближайшие 5-10 лет и оценить результат полностью в течение 20 лет. На данный момент проведенные работы уже показывают хорошие результаты и можно смело судить о том, что опыт имеет место быть успешным. И полученные новые культуры дуба при грамотном соблюдении агротехники и своевременном уходе могут занять почетное место в озеленении городских территорий и стать незаменимой культурой при искусственном лесовосстановлении [14,15].

Список литературы

1. Халикова, О.В. Влияние рекреации на состояние формаций дуба скального (*quercus petraea*) на территории Пшадского участкового лесничества (г. Геленджик) [Текст] / О.В. Халикова, С.И. Муфтахова // Инновации природообустройства и защиты окружающей среды: Материалы I Национальной научно-практической конференции с международным участием. – Саратов: ООО Издательство «КУБиК», 2019. – С. 161-165.

2. Халикова, О.В. Влияние живого напочвенного покрова, подлеска и подстилки на возобновление лесов Черноморского побережья России [Текст] / О.В. Халикова // Управление объектами недвижимости и развитием территорий: Сборник статей международной научно-практической конференции. – Саратов: ФГБОУ ВО Саратовский ГАУ, 2018. – С. 137-142.

3. Халикова, О.В. Анализ видового состава и биоэкологическая характеристика насаждений зеленой зоны г. Краснодара [Текст] / О.В. Халикова // Качественное экологическое образование и инновационная деятельность – основа прогресса и устойчивого развития: Сборник статей

международной научно-практической конференции. – Саратов: ООО "Центр социальных агроинноваций СГАУ", 2019. – С. 122-126.

4. Халикова, О.В. Оценка биоэкологической продуктивности лесов Черноморского побережья России на примере дубовых лесных массивов и особо ценных хвойных насаждений [Текст] / О.В. Халикова // Леса России: политика, промышленность, наука, образование: Материалы IV научно-технической конференции. – Санкт-Петербург: Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования "Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого", 2019. – С. 187-190.

5. Халикова, О.В. Экология лесных древесных растений в природно-климатических условиях Северного Кавказа [Текст] / О.В. Халикова // Актуальные проблемы природообустройства, водопользования, агрохимии, почвоведения и экологии: Материалы Всероссийской (национальной) конференции, посвященная 90-летию гидромелиоративного факультета ОмСХИ (факультета водохозяйственного строительства ОмГАУ), 55-летию факультета агрохимии и почвоведения, 105-летию профессора, доктора географических наук, заслуженного деятеля науки РСФСР Мезенцева Варфоломея Семеновича. – Омск: Омский государственный аграрный университет имени П.А. Столыпина, 2019. – С. 421-427.

6. Халикова, О.В. Оценка санитарного состояния особо ценных лесных массивов в Михайловском лесничестве Геленджикского лесхоза [Текст] / О.В. Халикова, Р.Р. Исяньюлова // Российский электронный научный журнал. – Уфа: Башкирский государственный аграрный университет, 2019. – №1 (31). – С. 136-144.

7. Халикова, О.В. Анализ изменения структуры лесных насаждений за 2017-2018 г.г. на территории Джубгского, Абинского и Афипского лесничеств Краснодарского края [Текст] / О.В. Халикова // Российский электронный научный журнал. – Уфа: Башкирский государственный аграрный университет, 2019. – №2 (32). – С. 182-197.

8. Халикова, О.В. Актуальные технологии селекции и производства цитрусовых культур на примере Уфимского лимонария [Текст] / О.В. Халикова // Безопасность и качество товаров: Материалы XIII Международной научно-практической конференции. / Под ред. С.А. Богатырева – Саратов: ООО "ЦеСАин", 2019. – С. 271-277.

9. Халикова, О.В. Опыт ведения лесного хозяйства в рекреационных лесах Черноморского побережья России [Текст] / О.В. Халикова // Современное состояние, традиции и инновационные технологии в развитии АПК: материалы международной научно-практической конференции в рамках XXIX международной специализированной выставки «Агрокомплекс – 2019». – Уфа: Башкирский государственный аграрный университет, 2019. – С. 378-382.

10. Халикова, О.В. Особенности влияния антропогенных факторов на естественное возобновление особо ценных лесных массивов Пшадского участкового лесничества (г. Геленджик) [Текст] / О.В. Халикова, Р.Р. Исяньюлова // Современное состояние, традиции и инновационные технологии в развитии АПК: материалы международной научно-практической конференции в рамках XXIX международной специализированной выставки «Агрокомплекс – 2019». – Уфа: Башкирский государственный аграрный университет, 2019. – С. 382-386.

11. Халикова, О.В. Актуальные проблемы использования, защиты и воспроизводства особо ценных лесов Черноморского побережья России [Текст] / О.В. Халикова // Наука и образование: опыт, проблемы, перспективы развития: материалы международной научно-практической конференции. – Красноярск: Красноярский государственный аграрный университет, 2019. – С. 209-211.

12. Халикова, О.В. Актуальность лесовосстановительных мероприятий в защитных лесах и особо охраняемых природных территориях Черноморского побережья России [Текст] / О.В. Халикова // Наука и образование: опыт, проблемы, перспективы развития: материалы

международной научно-практической конференции. – Красноярск: Красноярский государственный аграрный университет, 2019. – С. 212-214.

13. Халикова, О.В. Анализ изменения санитарного состояния древесных растений в парке культуры и отдыха «Первомайский» г. Уфы за 2017-2019 г.г. [Текст] / О.В. Халикова, М.В. Мартынова, С.И. Муфтахова // Российский электронный научный журнал. – Уфа: Башкирский государственный аграрный университет, 2019. – №3 (33). – С. 216-228.

14. Халикова О.В., Исяньюлова Р.Р. Влияние рекреации на состояние почвенного покрова Черноморского побережья России // Лесной вестник / Forestry Bulletin, 2019. – Т. 23. – № 6. – С. 51–59.

15. Khalikova O.V., Isyanyulova R.R., Muftakhova S.I. Recreational loading as a factor of changes in the process of moisture ground soil in protected natural territories of the Black sea coast of Russia. IOP Publishing Ltd - International scientific and practical conference "Forest ecosystems as global resource of the biosphere: calls, threats, solutions", 2019. Pages 012-017.

УДК 637.1

Б.Г. Цугкиев, А.Г. Петрукович, Э.В. Рамонова, Р.Г. Кабисов, А.М. Хозиев

ФГБОУ ВО Горский ГАУ, г. Владикавказ, Россия

СИСТЕМАТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ МОЛОЧНОКИСЛЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ В КУРТАТИНСКОМ УЩЕЛЬЕ РСО-АЛАНИЯ

Аннотация. В статье описываются свойства штаммов молочнокислых бактерий, изолированных из образцов растений, которые произрастают в Куртатинском ущелье Алагирского района в Республике Северная Осетия – Алания. Установлена видовая принадлежность новых штаммов микроорганизмов в НИИ биотехнологии ФГБОУ ВО Горский ГАУ.

Ключевые слова: антагонистическая активность, селекция, молочнокислые микроорганизмы, штамм.

*B.G. Tsugkiev, A.G. Petrukovich, E.V. Ramonova, R.G. Kabisov,
A.M. Khoziev*

Gorsky State Agrarian University, Vladikavkaz, Russia

SYSTEMATIC DIVERSITY OF LACTIC-ACID MICROORGANISMS IN THE KURTATIN GORGE OF NORTH OSSETIA-ALANIA

Annotation. The article describes the properties of strains of lactic acid bacteria isolated from plant samples that grow in the Kurtatin gorge of the Alagir district in the Republic of North Ossetia-Alania. The species affiliation of new strains of microorganisms at the Research Institute of Biotechnology, Federal State Budget Educational Institution of Higher Education Gorsky GAU.

Key words: antagonistic activity, selection, lactic microorganisms, strain.

В течение последних десятилетий исследователи уделяли повышенное внимание пользе для здоровья от различных видов микроорганизмов, населяющих желудочно-кишечный тракт животных и людей. Причина в том, что кишечная микробиота считается самым большим бактериальным резервуаром у животных и человека [6].

Кроме хорошо изученных и применяющихся в качестве заквасочной микрофлоры представителей родов *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Lactococcus* и *Streptococcus* к молочнокислым также относят бактерии родов *Pediococcus*, *Aerococcus*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Oenococcus*, *Sporolactobacillus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus* и *Weissella* [3].

Применение нативных штаммов молочнокислых бактерий в качестве пробиотиков способствует профилактике болезней у животных [7].

В новом издании справочника Берджи (2001–2011) все молочнокислые бактерии отнесены к порядку *Lactobacillales*, включающему семейства *Aerococcaceae*, *Carnobacteriaceae*, *Enterococcaceae*, *Lactobacillaceae*, *Leuconostocaceae*, *Streptococcaceae* [3].

Некоторые молочнокислые микроорганизмы способны вырабатывать бактериоцины, которые подавляют рост нежелательной микрофлоры. Кроме того, ряд молочнокислых палочек относят к пробиотикам, которые используются для получения лечебно-профилактических продуктов [3].

Антагонистические свойства у лактобактерий могут проявляться по-разному не только в рамках видового разнообразия, но и внутри одного вида. Поэтому ведется постоянный поиск промышленно ценных микробов обладающих ярко выраженными заданными свойствами [2, 8].

В настоящее время все методы изучения антагонистической активности микроорганизмов можно подразделить на две группы: методы *in vitro* и методы *in vivo* [4].

Целью исследований явилось изучение свойств штаммов молочнокислых бактерий, изолированных из образцов растений, произрастающих в Куртатинском ущелье Алагирского района в Республике Северная Осетия – Алания (рис. 1).



Рисунок 1. Географическое место взятия образцов растений для изолирования молочнокислых микроорганизмов (высокогорье РСО-Алания) [1].

Традиционно используемыми методами из микробиоты образцов разных видов растений, отобранных в высокогорье РСО-Алания, изолированы чистые культуры молочнокислых микроорганизмов. У всех новых штаммов микроорганизмов в НИИ биотехнологии ФГБОУ ВО Горский ГАУ установлена видовая принадлежность изучением их морфологических, культуральных, тинкториальных и физиолого-биохимических свойств.

Таблица 1

Систематическое разнообразие молочнокислых микроорганизмов, выделенных из микробиоты Куртатинского ущелья РСО-Алания

Вид штамма	<i>Lactobacillus delbrueckii</i>	<i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>Streptococcus salivarius</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Enterococcus mundtii</i>	<i>Enterococcus hirae</i>
Коллекционный номер	ВКПМ В-13108	ВКПМ В-13052	ВКПМ В-13056	ВКПМ В-13049	ВКПМ В-13057	ВКПМ В-13055

Заключительная идентификация изучаемых штаммов микроорганизмов осуществлена методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) и изучением гена 16S рДНК в Биоресурсном Центре Всероссийская коллекция промышленных микроорганизмов (БРЦ ВКПМ) НИЦ «Курчатовский институт» - ГосНИИгенетика. Все штаммы депонированы в БРЦ ВКПМ и им присвоены коллекционные номера.

У вновь идентифицированных штаммов молочнокислых микроорганизмов методом диффузии в агар изучена антагонистическая активность по отношению к *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Candida albicans*, *Proteus vulgaris*. Результаты показаны на рисунке 2. Исходя из его данных, можно сделать вывод о том, что все штаммы местной селекции обладают существенными антагонистическими свойствами. Наибольшую чувствительность к продуктам метаболизма *Lactobacillus delbrueckii* установлена у штамма *Klebsiella pneumoniae* при зоне стерильности до 30 мм, что является высоким результатом. Дрожжи рода

Candida albicans оказались наиболее чувствительны к *Enterococcus hirae*, при зоне стерильности 28 мм. По отношению всех тест-культур антагонистическая активность *Enterococcus mundtii* составила, в среднем, 26 мм.

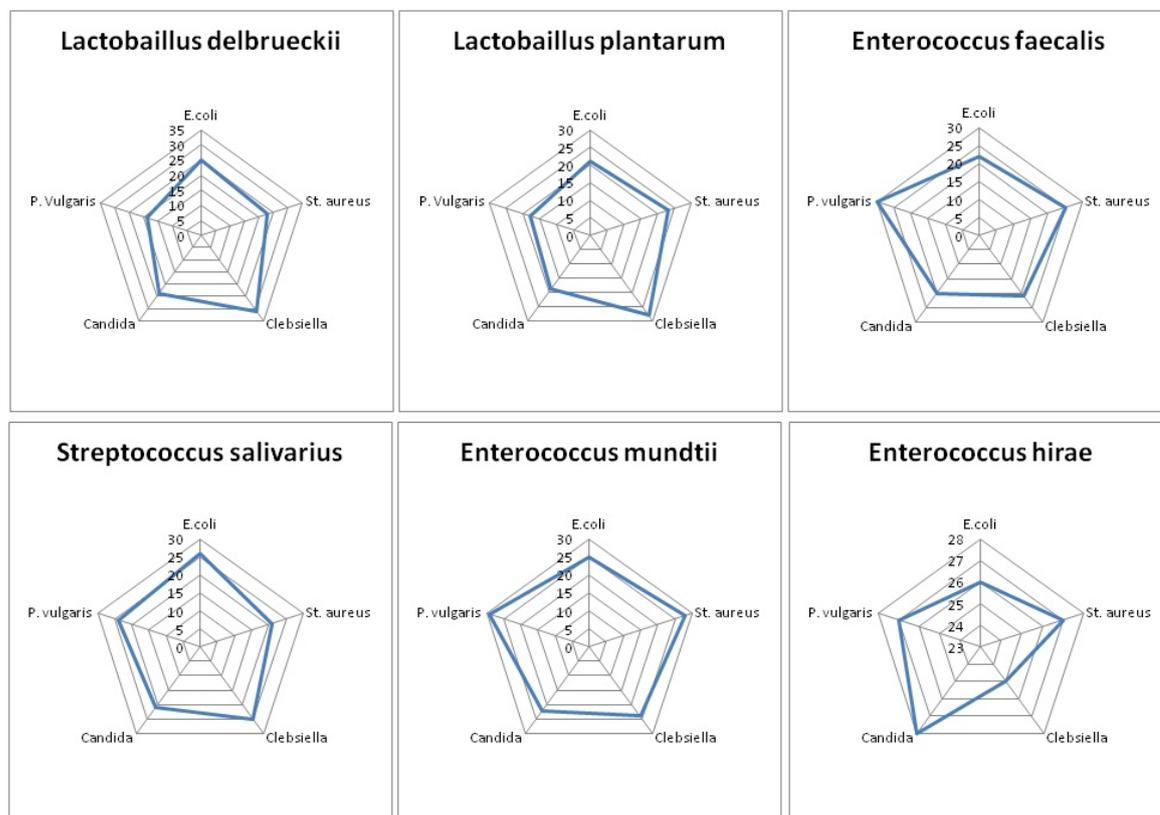


Рисунок 2. Антагонистические свойства изучаемых штаммов микроорганизмов

Заключение

Куртатинское ущелье РСО-Алания в своей микробиоте, отличается большим систематическим разнообразием молочнокислых микроорганизмов.

Учитывая высокую антагонистическую активность идентифицированных штаммов разных видов молочнокислых микроорганизмов, они являются перспективными для производства пробиотических продуктов питания и препаратов.

Список литературы

1. Интерактивная карта мира / Google. - Изображение (картографическое; неподвижное; двухмерное): электронное // Maps-of-world.ru = Карта мира: [сайт]. - URL: <http://maps-of-world.ru/inter.html> .

2. Иркитова А.Н. Сравнительный анализ методов определения антагонистической активности молочнокислых бактерий/ А.Н. Иркитова, Я.Р. Каган, Г.Г. Соколова // Известия Алтайского государственного университета. 2012. – С. 41-44.

3. Рябцева, С.А. Микробиология молока и молочных продуктов: учебное пособие / С.А. Рябцева, В.И. Ганина, Н.М. Панова. — 2-е изд., стер. — Санкт-Петербург: Лань, 2019. — ISBN 978-5-8114-4502-8. — Текст: электронный // Лань: электронно-библиотечная система. — URL: <https://e.lanbook.com/book/121456>. — Режим доступа: для авториз. пользователей. — С. 13-15.

4. Цугкиев Б.Г. Синбиотические кисломолочные продукты функционального назначения / Б.Г. Цугкиев, Р.Г. Кабисов, Э.В. Рамонова // Известия Горского государственного аграрного университета. 2016. Том 53. №3. – С. 102-108.

5. Червинец Ю.В., Бактериоциногенные высокоантагонистические штаммы лактобацилл / Ю.В. Червинец, В.М. Бондаренко, Н.А. Шабанова, А.М. Самоукина, В.М. Червинец // Микробиология. - 2006. - №7.

6. Blajman J, Cristian G, María VZ, Lorena S, Diego A, Ayelén B, et al. In vitro and in vivo screening of native lactic acid bacteria toward their selection as a probiotic in broiler chickens. Res Vet Sci. 2015;101:50–6. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2015.05.017>.

7. Reuben H., Roy R.C, Sarkar P.C., Alam S.L., , Jahid R.-U., Isolation, characterization, and assessment of lactic acid bacteria toward their selection as poultry probiotics. BMC microbiology. Volume 19, Issue 1, 12 November 2019, Page 253.

8. Tsugkiev B.G. Antagonistic activity of lactic acid bacteria. Asian Journal of Pharmaceutics. / Tsugkiev B. G. , Ramonova E.V., Kabisov R.G., Khoziev A.M., et al.; Vol 12, No 03 – 2018 <https://www.asiapharmaceutics.info/index.php/ajp/article/view/2569>

УДК 637.52 : 579.67

Е.А. Шultzhenko, О.В. Вахринева, Е.А. Фауст

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

СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ СЫРОКОПЧЕНОЙ КОЛБАСЫ «ЮБИЛЕЙНАЯ» С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ СТАРТОВОЙ КУЛЬТУРЫ *LACTOBACILLUS PLANTARUM*

Аннотация. В статье представлены результаты усовершенствования технологии сырокопченной колбасы «Юбилейная» путем замены традиционной стартовой культуры «СМ-96» на стартовую культуру, содержащую штамм *Lactobacillus plantarum* ВКПМ В-10816. Замена стартовой культуры не оказала существенного влияния на органолептические и физико-химические показатели готового продукта. Вместе с тем, использование штамма *Lactobacillus plantarum* позволило исключить риски заражения готовой продукции бактериями группы кишечной палочки.

Ключевые слова: стартовая культура, сырокопченая колбаса, *Lactobacillus plantarum*, патогенная микрофлора, бактерии группы кишечной палочки.

Е.А. Shulzhenko, О.В. Vakhreneva, Е.А. Faust

Saratov State Agrarian University named after N.I. Vavilov, Saratov, Russia

IMPROVING THE TECHNOLOGY OF DRY SAUSAGE "YUBILEYNAYA" USING THE STARTER CULTURE OF *LACTOBACILLUS PLANTARUM*

Annotation. The results of improving the technology of dry sausage "Yubileynaya" by replacing the traditional starter culture "SM-96" with a starter culture containing the strain of *Lactobacillus plantarum* VKPM В-10816 are presented in the article. Replacement of the starting culture did not significantly affect the organoleptic and physical and chemical parameters of the final product.

At the same time, the use of the *Lactobacillus plantarum* strain made it possible to eliminate the risks of infection of the final product with coliform bacteria.

Keywords: starter culture, dry sausage, *Lactobacillus plantarum*, pathogenic microflora, coliform bacteria.

На всех этапах технологического процесса приготовления колбасных изделий возможно микробное обсеменение колбасного фарша. Исходная микробная обсемененность колбасного фарша зависит от санитарно-гигиенических условий производства и соблюдения технологических режимов. Так, микроорганизмы могут попасть в фарш из сырья, при подготовке мяса, посоле, изготовлении колбасного фарша, наполнении оболочки колбасным фаршем, а также с рук рабочих, со спецодежды, с инструментов, столов, инвентаря, тары, из воздуха производственных помещений. Высокая бактериальная обсемененность, как правило, отрицательно влияет не только на производственный процесс, но и может привести к ухудшению качества получаемых продуктов, их микробной порче, сокращению сроков хранения готовой продукции [2].

Для обеспечения надлежащего гигиенического качества в такие изделия вводят специально подобранные пробиотические стартовые культуры в качестве конкурирующей микрофлоры или для активного снижения pH, а также для формирования вкусоароматических характеристик готового продукта, его биологической ценности, структурно-механических свойств и т.д. [5].

Проведенные ранее исследования доказали определяющую роль молочнокислых бактерий *Lactobacillus plantarum* в технологии изготовления сырокопченых и сыровяленых мясных изделий, а именно, в формировании характерного качества, в интенсификации образования окраски и ее стабилизации, в снижении содержания остаточного нитрита, в снижении величины pH и увеличении количества молочной и пировиноградной кислот, диацетила и ацетоина, в угнетении нежелательной микрофлоры и др. [1, 3, 4].

Однако несмотря на длительную практику промышленного применения стартовых культур при изготовлении сырокопченых колбас, их правильный выбор для достижения высоких потребительских характеристик этой продукции все же остается проблемным в условиях предприятий. Неоднозначность получаемых в производственных условиях результатов, прежде всего, определяется сложностью формирования качества сырокопченых колбас как биотехнологического процесса, многочисленные составляющие которого находятся под воздействием огромного числа факторов.

Исходя из вышесказанного, целью данной работы явилось совершенствование технологической рецептуры сырокопченной колбасы «Юбилейная» с использованием стартовой культуры, содержащей штамм *Lactobacillus plantarum* ВКПМ В-10816, в условиях ООО «Мясокомбинат «Родина» (Саратовская обл., Энгельсский район). В основу исследований положена следующая рабочая гипотеза: введение в колбасный фарш стартовой культуры на основе штамма *Lactobacillus plantarum* будет способствовать подавлению развития бактерий группы кишечной палочки.

Материал и методы исследования. Объект исследования – сырокопченая колбаса «Юбилейная», производимая по ТУ 9213-004-96954603-14 с использованием стартовой культуры, содержащей штамм *Lactobacillus plantarum* ВКПМ В-10816 (в количестве 0,016 кг на 100 кг сырья). Контролем служили образцы колбасы той же торговой марки, производимые с использованием стартовой культуры «СМ-96» (в количестве 0,012 кг на 100 кг сырья). Следует отметить, что на выходе контрольные образцы колбасы систематически оказывались зараженными бактериями группы кишечной палочки.

Анализ сырья, вспомогательных материалов и готовой продукции проводили по следующим показателям:

Показатель	Стартовая культура	Сырье					Готовая продукция*
		фарш куриный II категории	жир-сырец свиной	шкура свиная	филе куриное (малое)	специи	
Органолептические показатели:							
Внешний вид, консистенция, запах, цвет, качество бульона при варке		+	+	+	+	+	
Вкус, цвет, запах, консистенция, вид на срезе (с участием дегустационной комиссии)						+	+
Физико-химические показатели:							
Массовая доля белка (ГОСТ 25011-2017)		+		+	+		+
Массовая доля жира (ГОСТ 8285-91)		+		+	+		+
Массовая доля влаги (определяется косвенным методом путем высушивания до постоянной массы)		+		+	+	+	+
Перекисное число (ГОСТ 8285-91)			+				
Кислотное число (ГОСТ 13496.18-85)			+				
pH (ГОСТ Р 51478-99)		+		+	+		+
Массовая доля костного остатка (ГОСТ 52417-2005)		+					
Температура плавления (ГОСТ 8285-91)			+				
Реакция с сернокислой медью (ГОСТ 23392-78)		+	+	+	+		
Содержание нитрита натрия (ГОСТ 8558.1-78)							+
Содержание хлористого натрия (ГОСТ 9957-2015)							+
Микробиологические показатели:							
КМАФАнМ (МУК 4.2.2884-11)	+	+	+	+	+	+	
Количество бактерий группы кишечных палочек (БГКП) (ГОСТ 31747-2012)	+					+	
Количество БГКП (ГОСТ Р 54374-2011)		+	+		+	+	
Наличие БГКП (на средах Coliform agar и VRBD) (ГОСТ 30726-2011)						+	+
Дрожжи и плесени (ДП) (ГОСТ 10444.12-2013), <i>Salmonella</i> (ГОСТ 31659-2012)	+	+	+		+	+	
<i>Salmonella</i> (ГОСТ Р 50455-92)							+
<i>Listeria monocytogenes</i> (ГОСТ 32031-2012)	+	+	+		+		
<i>Staphylococcus aureus</i> (ГОСТ 31746-2012)	+					+	
<i>Clostridium perfringens</i> (ГОСТ 29185-2014)		+	+		+	+	
<i>Clostridium perfringens</i> (ГОСТ 10444.9-88)							+

* 10-й день технологического процесса.

Дополнительно проводили микробиологическое исследование вспомогательных материалов (смывов с оболочки Фиброуз) на наличие КМАФАнМ, БГКП, ДП, *Staphylococcus aureus* по лабораторным методическим указаниям ООО «МК» Родина» (РК-МПА-001-01-20, РК-МПА-004-01-20, РК-МПА-002-02-20, РК-МПА-005-12-19).

Результаты и их обсуждение. Установлено, что для производства сырокопченой колбасы «Юбилейная» были взяты стартовые культуры «СМ-96» и *Lactobacillus plantarum* ВКПМ В-10816, микробиологические показатели которых соответствовали нормативным требованиям: КМАФАнМ – $1,8 \times 10^{14}$ и $2,0 \times 10^{14}$ соответственно, патогенных микроорганизмов и ДП не обнаружено. Кроме того, сырье, специи и вспомогательные материалы (оболочка Фиброуз), поставляемые для производства сырокопченой колбасы «Юбилейная» по органолептическим, физико-химическим и микробиологическим показателям также соответствует всем нормируемым показателям. Иными словами, сырье, специи и вспомогательные материалы не являются потенциальными источниками посторонней микрофлоры.

Далее было показано, что замена стартовой культуры в производстве сырокопченой колбасы «Юбилейная» не оказала существенного влияния на её органолептические и физико-химические показатели (таблица 1).

Следует отметить, что использование стартовой культуры, содержащей штамм *Lactobacillus plantarum* ВКПМ В-10816, оказалось эффективным для предупреждения заражения готовой продукции бактериями группы кишечной палочки (таблица 2).

Таблица 1

Влияние стартовой культуры *Lactobacillus plantarum* на физико-химические показатели сырокопченой колбасы «Юбилейная»

Наименование показателя	Стартовая культура		Норма (ТУ 9213-004-96954603-14)
	СМ-96 (контроль)	<i>Lactobacillus plantarum</i> ВКПМ В-10816 (опыт)	
Массовая доля белка, %	$18,10 \pm 0,10$	$16,20 \pm 0,10$	Не менее 14,0
Массовая доля жира, %	$28,80 \pm 0,10$	$31,40 \pm 0,10$	Не более 44,0
Массовая доля влаги, %	$39,60 \pm 0,20$	$41,20 \pm 0,16$	Не более 45,0
Массовая доля нитрита натрия, %	0,005	0,005	Не более 0,005
Массовая доля хлористого натрия, %	$3,20 \pm 0,20$	$3,30 \pm 0,12$	Не более 6,0
Дегустационная оценка	$3,90 \pm 0,35$	$4,10 \pm 0,20$	-

Таблица 2

Влияние стартовой культуры *Lactobacillus plantarum* на
микробиологические показатели сырокопченной колбасы «Юбилейная»

Наименование показателя	Стартовая культура						Норма (ТР ТС 021/2011, ТР ТС 034/2013)
	СМ-96 (контроль)			<i>Lactobacillus plantarum</i> ВКПМ В-10816 (опыт)			
	№ партии			№ партии			
	1	2	3	1	2	3	
БГКП	+	+	-	-	-	-	Не допускается в 0,1 г
<i>Clostridium perfringens</i>	-	-	-	-	-	-	Не допускается в 0,1 г
<i>Salmonella</i>	-	-	-	-	-	-	Не допускается в 25 г
<i>Listeria monocytogenes</i>	-	-	-	-	-	-	Не допускается в 25 г

Выводы. Итак, нами установлена целесообразность использования стартовой культуры, содержащей штамм *Lactobacillus plantarum* ВКПМ В-10816 В-10816 (в количестве 16 г на 100 кг сырья), в производстве сырокопченной колбасы «Юбилейная» с целью подавления развития бактерий группы кишечной палочки в готовом продукте. Такое технологическое решение позволит мясокомбинатам избежать рисков забракования на выходе больших объемов готовой продукции.

Список литературы

1. Вильц К.Р. Влияние стартовых культур на качество сырокопченных колбас // Инновационная наука. 2015. Т. 2. № 5 (5). С. 33-36.
2. Гончукова Е.С. Микробиологическое обсеменение сырокопченных колбас в условиях производства // Поколение будущего: взгляд молодых ученых: Сборник научных статей 4-й международной молодежной научной конференции: в 3 томах. Курск, 2016. С. 348-351.
3. Рогатин А.И., Семенова А.А., Насонова В.В., Куликовский А.В., Вострикова Н.Л., Иванкин А.Н. Формирование сырокопченной колбасы под влиянием стартовых культур // Все о мясе. 2014. № 1. С. 24-26.
4. Рогов И.А., Забашта А.Г., Казюлин Г.П. Общая технология мяса и мясопродуктов. – М.: Колос, 2000. 294 с.

5. Фауст Е.А. Использование препарата молочнокислых микроорганизмов в производстве сырокопченых колбас // Состояние и перспективы инновационного развития АПК: Сборник статей по материалам Международной научно-практической конференции, посвященной 5-летию Института ДПО кадров АПК ФГБОУ ВПО Саратовский ГАУ им. Н.И. Вавилова. Саратов: Типография «Сателлит», 2012. С. 215-217.

УДК: 631.454(631.427.22) +579.64

Н.Н. Щербакова¹, З.Ю. Ханцев², С.Б. Вениз¹, А.М. Захаревич¹, В.Г. Сержантов¹

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

²Саратовский государственный аграрный университет им. Н.И.Вавилова, г. Саратов, Россия.

К ВОПРОСУ О ПЕРСПЕКТИВАХ ИСПОЛЬЗОВАНИИ ГЛАУКОНИТА КАК КОМПЛЕКСНОГО ИСТОЧНИКА МИКРОЭЛЕМЕНТОВ И НОСИТЕЛЯ ИММОБИЛИЗОВАННЫХ ФОРМ БИОФУНГИЦИДОВ

Аннотация. Показана возможность получения технологически удобных форм носителя (гранул) и сохранения сорбционных свойств при термообработке: материал не препятствует газообмену и отводу продуктов жизнедеятельности, имеет место надежное удержание фермента и клетки носителем. Высокая пористость и гидрофильность разработанных глауконитовых носителей обеспечивает возможность реакций в водной среде, снабжению иммобилизованного препарата субстратами. Перспективы использования глауконитовых сорбентов могут быть основаны на их способности адсорбировать вещества полярной гидрофильной поверхностью из неполярных и слабополярных жидкостей, глауконит как природный

мелиорант способен аккумулировать влагу из атмосферы и снижать жёсткость почвенной влаги.

Ключевые слова: сорбент, глауконит, ИК-спектроскопия, ИК-спектры, микроорганизмы, биофунгицид, иммобилизация на неорганических носителях, тяжелые металлы.

N.H. Shcherbakova¹, Z.Yu. Khaptsev², S.B Venig¹, A.M Zakharevich¹, V.G. Sergeantov¹

¹Saratov national research State University named after N.G. Chernyshevsky, Saratov, Russia

²Saratov State Agrarian University named after N.I. Vavilov, Saratov, Russia

ON THE PROSPECTS OF USING GLAUCONITE AS A COMPLEX SOURCE OF TRACE ELEMENTS AND A CARRIER OF IMMOBILIZED FORMS OF BIOFUNGICIDES

Annotation. It is shown that it is possible to obtain technologically convenient forms of media (granules) and save sorption properties during heat treatment: material does not prevent gas exchange and removal of waste products, there is a reliable retention of the enzyme and cell carrier. The high porosity and hydrophilicity of the developed glauconite carriers provides the possibility of reactions in the aqueous medium, supply of the immobilized drug with substrates. Prospects for the use of glauconite sorbents can be based on their ability to adsorb substances polar hydrophilic surface of nonpolar and weakly polar liquids, glauconite as a natural ameliorant is able to accumulate moisture from the atmosphere and reduce the hardness of soil moisture.

Key words: sorbent, glauconite, microorganisms, IR spectroscopy ir-spectrums, biofungicide, immobilization on inorganic carriers, heavy metals.

Для нормальной жизнедеятельности растений необходимы микроэлементы: в листьях растений содержится до сотых долей процента марганца, тысячные доли процента цинка, содержание меди не более десяти тысячных долей процента. Железо участвует в окислительном и энергетическом обмене, образовании хлорофилла, содержится в больших количествах в тканях растений, т.к. входит в состав органических соединений, необходимых при дыхании и фотосинтезе. Поэтому для улучшения продуктивности почв в состав удобрений вводят комплексоны цинка, меди, марганца, кальция, магния и других элементов. Однако необходимое содержание микроэлементов различно для разных видов растений, как различно и его распределение в их организме. При высоком содержании в почвах больше предельно-допустимой концентрации меди и свинца, а они в основном накапливаются в корнях растений, наблюдалось уменьшение содержания хлорофилла, а под влиянием малых концентраций меди отмечено увеличение содержания хлорофилла в листьях ячменя сорта «Оренбургский 16» [2]. Недостаток меди сказывается на растениях при содержании в почвах меньше 2 - 3 мг/кг, усвоение ее растениями связано с влажностью почвы. Медь повышает устойчивость растений против грибных и бактериальных болезней, снижает заболеваемость зерновых культур, повышает устойчивость растений против бурой пятнистости и т.д. С урожаем сельскохозяйственных культур ее выносятся от 10 до 300 г/га. Медные удобрения действуют на протяжении 4-5 лет, но на осушенных торфяниках их целесообразно вносить ежегодно [1-2].

Калий играет важную роль в метаболизме растений, и значительные потери его зерновыми злаками после фазы колошения сказываются на их продуктивности. В регионах с преобладанием атмосферных осадков во второй половине вегетации имеет место вымывания калия, при традиционной системе допосевного внесения калийных удобрений под зерновые культуры. Для восполнения потерь калия оправдано будет применение калийных удобрений с пролонгированным периодом действия,

это составляет в среднем 71 кг K_2O в год в расчете на 1 га севооборотной площади. Для серых лесных почв ополья Центральной России оно характеризуется величинами содержания обменного калия в пахотном слое почвы в пределах 10–13 мг/100 г, необменного калия по Пчелкину – 38–41 мг/100 г, фиксированного калия – 180–184 мг/100 г [3].

Цель разрабатываемой технологии - повышение продуктивности земель с помощью внесения минерального удобрения пролонгированного действия, обогащенного микроэлементами, и содержащего иммобилизованные штаммы бактерий, способствующих повышению плодородия почв и являющихся одновременно антагонистами фитопатогенных грибов.

Особенно важным является получение такого носителя с определенным набором свойств и микроэлементов. Авторами уже представлялись некоторые результаты работ по выбору минерального носителя для иммобилизации бактерий и исследования природных минеральных сорбентов металлов [4-7].

Были исследованы различные природные минералы-сорбенты бентонит, глауконит, цеолит и др. и их композиции. Наиболее приемлемым для означенной цели глауконит — листовый слоистый силикат, минерал переменного состава с высоким содержанием железа и калия, водный алюмосиликат, что важно для организации продуктивной почвы. В таблице 1 представлен результат определения минералогического состава природного глауконитового песка, использованного для изготовления образцов сорбента - минеральной матрицы для иммобилизации бактерий.

Таблица 1

Результаты анализа пробы сырьевого глауконитового песка методом РКФА

№ пробы	Содержание минералов, вес. %					
	Глауконит	Кварц	Слюда (мусковит)	Полевые шпаты	Цеолит	Хлорит
P-2/15	37±6	46±6	4±1	8-2	4±1	1+0,5

Свойства глауконита определяет слоистая структура - двухмерный слой из радикалов $[\text{Si}_2\text{O}_5]^{2-}$, в межслоевом пространстве располагаются OH^- группы и катионы металлов (Fe^{3+} , Al^{3+} , Mg^{2+} , K^+). При этом атомы металлов расположены между двумя слоями кислорода и гидроксила OH^- , находящегося в центрах гексагональных сеток, образованных этими атомами кислорода. Каждый атом металла связан с шестью группами OH^- или шестью атомами кислорода, находящимися от него на одинаковых расстояниях. Координационно ненасыщенные ионы Al^{3+} , Fe^{3+} и Mg^{2+} присутствуют на боковых гранях слоистых силикатов, так и кислые Si-OH , основные Al-OH , Fe-OH и Mg-OH группировки, которые определяют сорбционные и каталитические свойства глауконита.

Исследования процессов сорбции свидетельствуют, что поверхностные гидроксильные группы глауконита участвуют в ионном обмене с ионами тяжелых металлов и образовании на поверхности сорбента гидроксокомплексов с ионами тяжелых металлов, в области высоких значений pH происходит процесс депротонирования поверхности минерала и она заряжается отрицательно. Емкость катионного обмена глауконита обуславливают замещения четырехвалентного кремния трехвалентным алюминием в тетраэдрических сетках внутри структуры и трехвалентного алюминия ионами низшей валентности в октаэдрических сетках. В результате появляется отрицательный нескомпенсированный заряд структурной ячейки, в глауконите K^+ является ионом компенсатором [8].

Поскольку при изготовлении глауконитового сорбента возможно изменение структуры, проведены сравнения инфракрасных спектров исходного глауконита и полученных на его основе гранул для определения степени изменения структуры материала.

Спектры регистрировались на Фурье-спектрометре Infracum FT-81 в таблетках с KBr . Как пример сравнения, на рисунке 1 представлены ИК-спектры исходного глауконита и полученных на его основе гранул.

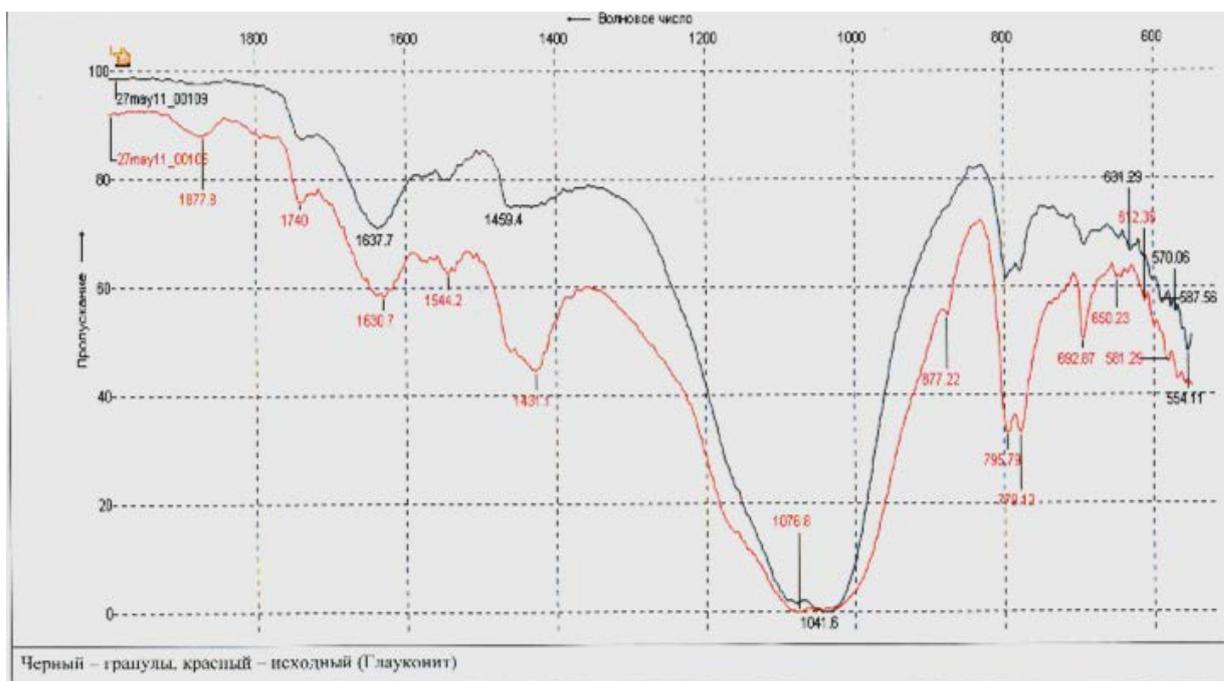


Рисунок 1. ИК-спектры: нижняя линия - исходное сырье глауконит, верхняя - гранулы, полученные на его основе

Сравнение проводилось по наиболее сильным деформационным полосам в области валентных колебаний ОН-групп, Si-O, ОН- $\text{Me}(\text{Fe}, \text{Al})$ связям. Выраженная широкая полоса при 1040см^{-1} соответствует валентным колебаниям Si-O-Si тетраэдров кремнекислородного каркаса, замещение Al на Mg и Fe вызывает смещение сильной полосы в область $1076,8$ и $1041,6\text{ см}^{-1}$. Характерная полоса поглощения при $1420\text{-}1430\text{ см}^{-1}$ для CO - продукта карбонизации гидратированных образцов. Слабые максимумы при 1431см^{-1} , обусловленные валентными колебаниями CO_3 -групп указывают на присутствие карбоната кальция - продукта карбонизации гидрата окиси кальция, полоса при увеличении CaO становится более интенсивной.

Что касается динамики состояния и количества воды в глауконите кроме ОН-группировок, практически нет никаких других летучих компонентов, поглощающих в области $4000\text{-}2500\text{ см}^{-1}$. Присутствуют ОН-группировки двух форм, одна из которых характеризуется полосами поглощения с максимумами около 3400 и 1630 см^{-1} и представляет собой связанные молекулы воды, а другая - SiOH-группы - полосами 3550 и 1450

см⁻¹. В исследованных нами материалах присутствуют ОН-группировки: одна относится к ОН-валентным и деформационным колебаниям свободной и связанной воды и характеризуется полосами поглощения с максимумами около 1630,7 см⁻¹ (исходный глауконит) и 1637,7 см⁻¹ (гранулы). Другая SiOH-группы: полоса 1459,4 см⁻¹ на ИК-спектре гранулированного материала менее интенсивна [4-5].

Таким образом, проведенные исследования подтверждают способность изготовленных глауконитовых сорбентов к ионному обмену и образованию гидроксокомплексов с ионами тяжелых металлов и поверхностными гидроксогруппами минерала.

По проведенным предварительным исследованиям просматривается широкая перспектива использования глауконита как сорбента с одной стороны, так и поставщика микроэлементов, когда они начинают высвобождаться из его структуры в почве в определенных условиях (концентрация металла, влажность, pH, сезон-температура). Глауконит так же весьма перспективен как минеральная почвенная матрица-носитель биофунгицидов.

Основными приемами борьбы с болезнями и вредителями является обработка растений фунгицидами и инсектицидами на различных стадиях вегетации, вместо химических препаратов в последнее время используются биопрепараты.

Обработка растений элементами минерального питания композициями соединений кальция, магния, марганца, цинка, фосфора, бора, азота и других элементов также используется в качестве приемов, повышающих устойчивость растений и плодов к различным заболеваниям. Введение биопрепаратов позволяет отказаться от использования дорогостоящих пестицидов, перейти на производство экологически чистой продукции, обеспечить увеличение урожая культур, повышение плодородия почв, оздоровление почвенной микробиоты.

Выбор глауконита как носителя для иммобилизации биофунгицидов определили его высокая механическая, химическая и биологическая устойчивость, обеспечивающая стабильность получаемых иммобилизованных препаратов, не токсичен, исключает нежелательные воздействия на клетки.

Выше нами показана возможность получения технологически удобных форм (гранул, мембран, листов и т. д.) и сохранения сорбционных свойств при термообработке: материал глауконит не препятствует газообмену и отводу продуктов жизнедеятельности, имеет место надежное удержание фермента и клетки носителем. Высокая пористость и гидрофильность разработанных глауконитовых сорбентов обеспечивает возможность реакций в водной среде, снабжению иммобилизованного препарата субстратами. Немаловажным является и то, что, внесение в почву глауконитовой муки повышает урожайность ряда зерновых культур и картофеля, увеличивает урожайность плодовых деревьев, отмечается снижение кислотности почвы на 0,1-0,3 ед. рН. Еще одно весьма важное свойство глауконита – стимулирование действия минеральных удобрений [10-13].

С целью создания биоминерального комплекса для почвовосстановления и защиты растений от грибковых фитопатогенов проводилось изучение возможности получения иммобилизированной формы биофунгицида Псевдобактерин-2, содержащего антагониста фитопатогенных грибов *P. aureofaciens* BS 1393 (рис. 2) с целью изучения на влияния глауконита на *P. aureofaciens* BS 139. Препарат зарегистрирован в Государственном каталоге пестицидов и агрохимикатов, разрешенных к применению на территории РФ на 2019 г для защиты сельскохозяйственных культур от фузариозной снежной плесени, фузариозной и гельминтоспориозной корневой гнили, мучнистой росы. Рекомендуемые культуры: пшеница, ячмень яровые и озимые, рожь озимая, свекла сахарная, огурец защищенного грунта.

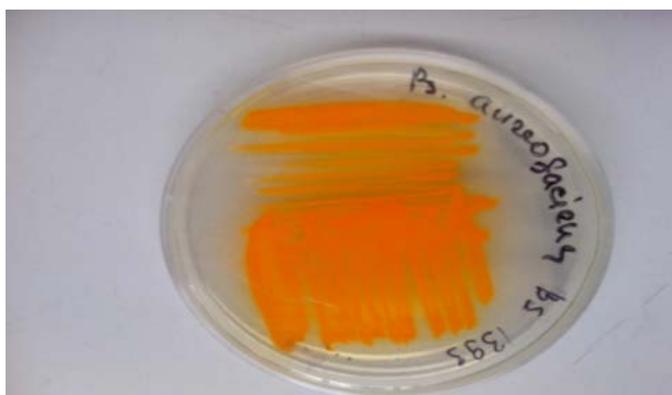


Рисунок 2. *P. aureofaciens* BS 1393 на среде Кинга А

Для увеличения эффективности действия агентов биопрепаратов необходимо повысить уровень их приживаемости, конкурентоспособности и устойчивости к фунгистазису и бактериостазису в почвенной экосистеме. Добиться этого можно изменением препаративной формы, создав условия, в которых микроорганизмы были бы максимально приближены к условиям, возникающим в почвенной экосистеме. Известна способность фитопатгенных микроорганизмов образовывать биопленки [9]. Поэтому логичным является внесение биопрепаратов в почву в иммобилизованном состоянии.

Для создания иммобилизованных биопрепаратов нами были изготовлены глауконитовые гранулы на грануляторе из расчета “биомасса: носитель (глауконит)” 1:4. Процесс изготовления происходил в течение 10-15 мин., температура при изготовлении не более 40⁰С. Высушивание гранул проводили в течение 24 часов при 22-24⁰С (рис. 3).

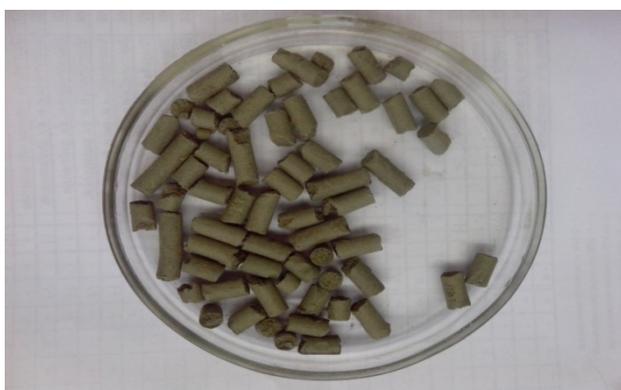


Рисунок 3. Гранулы глауконита с иммобилизованными клетками *Pseudomonas aureofaciens* BS 1393

Способность иммобилизированных клеток *P. aureofaciens* BS 1393 выходить из гранул в окружающую среду определяли при помощи среды Кинга А (рис. 4).



Рисунок 4. Рост иммобилизированных клеток *P. aureofaciens* BS 1393 на среде Кинга А

На следующем этапе были проведены исследования по определению антагонистической активности иммобилизированных клеток *Pseudomonas aureofaciens* BS 1393 в отношении *Fusarium oxysporum* BPPH 543.

Методика эксперимента. Споры гриба *Fusarium oxysporum* BPPH 543 вносили в расплавленную и охлажденную до 45-50⁰С среду Сабуро с глицерином, перемешивали и разливали по стерильным чашкам Петри.

После застывания агаризованной среды в ней делали лунки и вносили по 0,1 мл суспензии клеток *Pseudomonas aureofaciens* BS 1393, высвобожденных из глауконитовых гранул путем растворения в 0,1М фосфатном буфере. Посевы помещали в термостат при 26⁰С на 72-96 часов, после чего проводили учет результатов (рис. 5).



Рисунок 5. Противогрибковая активность *Pseudomonas aureofaciens* BS 1393, выделенного из иммобилизированных препаратов в отношении *Fusarium oxysporum* BPPH 543, где: 1- иммобилизированные клетки; 2 - свободные псевдомонады; 3 - капсулы с иммобилизированными псевдомонадами; К – контроль.

Таким образом, клетки *Pseudomonas aureofaciens* BS 1393, сохранили свою жизнеспособность после иммобилизации на глауконите, не потеряли своих биологических свойств и обладали антагонистической активностью в отношении фитопатогенного гриба *Fusarium oxysporum*, что свидетельствует об отсутствии негативного воздействия глауконита на микробные клетки.

Перспективы использования глауконитовых сорбентов могут быть основаны на их способности адсорбировать вещества полярной гидрофильной поверхностью из неполярных и слабополярных жидкостей, глауконит как природный мелиорант способен аккумулировать влагу из атмосферы и снижать жёсткость почвенной влаги.

Список литературы

1. Кушнарёва, О.П. Влияние различных концентраций солей меди и свинца на содержание хлорофилла и содержание углерода в листьях растений / О.П. Кушнарёва, Е.Н. Перекрестова // Вестник Оренбургского государственного университета — 2015. — № 10 (185). — С. 294-297.
2. Никитишен, В.И. Эколого-агрехимические основы сбалансированного применения удобрений в адаптивном земледелии / В. И. Никитишен – М.: Наука, 2003. - 182 с.
3. Никитишен, В.И. Эффективность калийного удобрения в агроэкосистемах на серых лесных почвах ополья Центральной России / В.И. В.И. Никитишен, В.И. Личко // Питание растений. — 2011. — №3 — С.10-15.
4. Синельцев, А.А. Развитие сорбционной способности керамического композита / А.А. Синельцев, Н.Н. Щербакова, Т.А. Губина, В.А. Кулаков // Доклады международной конференции "Композит –2013".- Саратов, СГТУ — 2013.— С. 66-68.
5. Щербакова, Н.Н. Эффективный комплексный сорбент для очистки воды на основе природного сырья / Н.Н. Щербакова // Материалы III Международной конференции по химии и химической технологии НАН РА 16-20 сентября, Ереван. — 2013. — С. 616-617.

6. Щербакова, Н.Н. Микроскопические исследования минеральной матрицы для создания био-минерального композита. / Щербакова Н.Н., Хапцев З.Ю., Захаревич А.М., Сержантов В.Г. // Перспективные полимерные композиционные материалы. Альтернативные технологии. Переработка. Применение, Экология. Доклады Международной конференции "Композит – 2019". Энгельс, 21-23 июня 2019. — 2019. — С112-116.

7. Щербакова, Н.Н. Перспективные разработки кафедры сорбционных материалов в направлении внедрения глауконита в экотехнологии. / Н.Н. Щербакова, В.Г. Сержантов, В.П. Сплюхин // Нано- и биомедицинские технологии. Управление качеством. Проблемы и перспективы. Сборник научных статей. под ред. д.ф.-м.н. проф. С.Б. Венига. Саратов, СГУ — 2019. — Вып.3 — 256 с.

8. Григорьева, Е.А. Закономерности и описание сверхстехиометрической сорбции редкоземельных элементов глауконитом / Е.А. Григорьева, Е.Г. Антошкина // Молодой ученый. — 2012. — №6. — С. 86-90.

9. Рахуба, Д.В. Формирование биопленок фитопатогенными бактериями / Д.В. Рахуба, Г.И. Новик, А.Д. Гречиха // Микробные биотехнологии: фундаментальные и прикладные аспекты.— 2011. — Т.3.— С.170-191.

10. Глаз, Н.В. Оценка эффективности глауконита как компонента почвенных смесей при выращивании саженцев абрикоса в контейнерах./ Н.В. Глаз, А.А. Кухтурский, Т.В. Лебедева, Л.В. Уфимцева // Вестник КрасГАУ.— 2016.— №4. — С. 153-161.

11. Васильев, А.А. Глауконит-эффективное природное минеральное удобрение картофеля. / А.А. Васильев // Аграрный вестник Урала. — 2009.— №6. - С. 35-37.

12. Цыганкова, Л.Е. Глауконит Бондарского месторождения Тамбовской области-перспективный полифункциональный сорбент / Л.Е.

Цыганкова А.С. Протасов, В.И. Вигдорович, А.И. Акулов // Вестник ТГУ.– 2012. – Т.17, Вып.2. – С. 735-741.

13. Яковлева, Е.А. Глауконит как потенциальное местное удобрение на Кубани /Е.А. Яковлева, А.Н. Бакалов // Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета – 2012. – Выпуск № 82.

Стендовый доклад

Лариса Ричардсон¹, Джеймс Уэст¹, Филипп Прентис², Дэвид Данжер², Альберт Коулман¹

¹MRC Human Nutrition Research, 120 Fulbourn Road, Кембридж, Великобритания.

²Кафедра педиатрии, Кембриджский университет, Великобритания

DEVELOPING METHODS OF MICROBIOME IDENTIFICATION FOR MIXED (FORMULA AND BREAST) BABIES

Many studies have shown that formula- and breast-fed babies have different microbiota. Developing of gut microbiome depends on many factors: genome, method of feeding, method of delivery, antibiotics consumption, etc. One of the task of our study is developing methods for gut microbiome identification for the babies with mixed feeding. Our objective to evaluate differences in bile acids, fatty acids, aqueous metabolites between breast fed, formula fed and mixed fed babies.

There is a clear evidence that bile acids and some aqueous metabolites are associated with gut microbiome activity. We are using LC-MS/MS to measure these compounds from plasma, faeces and DBS. We want to validate these markers for gut microbiome activity in subset of new CBGS control infants, for which stool samples shall be collected and the gut microbiome is going to be evaluated.

Additionally we are going to identify microbial DNA in faecal samples using sequencing and qPCR technic. We will combine these data with metabolite identification and give recommendations on mixed feeding.

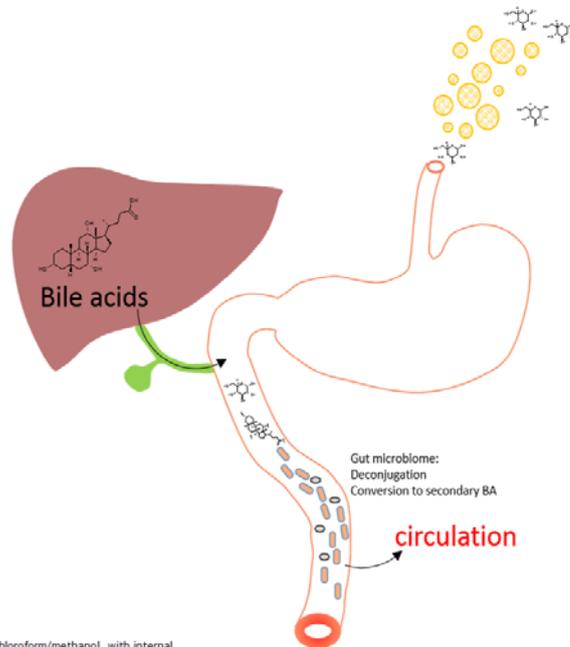
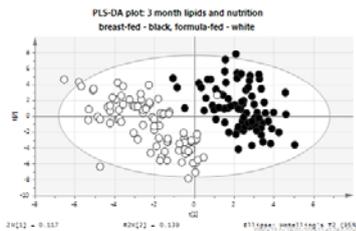
Bile acid analysis as markers of gut microbiome activity

Larissa Richardson¹, James West¹, Philippa Prentice², David Dunger², James West¹, Albert Koulman¹

1: MRC Human Nutrition Research, 120 Fulbourn Road, Cambridge, UK. 2: Department of Paediatrics, University of Cambridge, UK

Introduction

Recent studies have shown that breastfeeding significantly affects the blood lipid profile of infants in comparison to formula feeding (Koulman et al., 2014). Moreover, further investigations have shown the profile of breastfed infants to change within the first year and that specific lipids are associated with the growth trajectories. In contrast, formula fed infants have displayed much less pronounced differences in the lipid profile within the first year and these were found not to be associated with the growth rates.



There have been a range of studies that have shown that formula- and breast-fed infants have different gut microbiota (Yatsunenko et al., 2012). It has been well established that the gut microbiome has a significant impact on different metabolic pathways (Nicholson et al., 2012), such as bile acids (Vrieze et al., 2014). Not all of the common markers of the gut microbiome activity can be assessed in infants, but there is clear evidence that bile acids are associated with gut microbiome activity. These compounds can be measured in plasma by LC-MS/MS, and for bile acids this has been validated with DBS. We expect that our current lipidomic profiling method of DBS can be extended to incorporate these metabolites that reflect gut microbiome activity. We want to validate these markers for gut microbiome activity in subset of new CBGS control infants, for which stool samples shall be collected and the gut microbiome

Methods

For plasma extraction:

- 1) Add 100µl of 4:1 MeOH:H₂O with internal standard mix at 250nM to 10µl of plasma.
- 2) Vortex for 10s.
- 3) Spin down (20000g, 5 minutes).
- 4) Transfer supernatant to 300µl glass vials with inserts.

For Dried Blood Spots (DBS) extraction:

- 1) Add 50µl of 4:1 MeOH:H₂O with internal standard mix at 250nM to a dried blood spot.
- 2) Vortex for 10s.
- 3) Sonicate for 10 minutes.
- 4) Spin down (20000g, 5 minutes).
- 5) Transfer supernatant to 1.5ml glass vials with 200µl inserts.

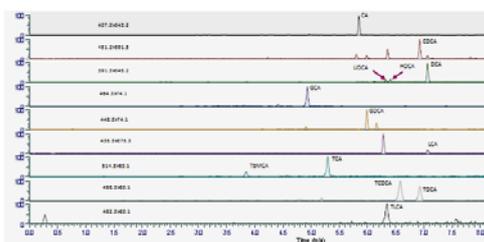
For faecal extraction:

- 1) To 20mg of faeces add 1ml 2:1 chloroform/methanol with internal standard mix at 50nM followed by 400µl water.
- 2) Homogenise faecal samples using Tissue Lyser at 25Hz for 10min and centrifuge at 20000g for 10min.
- 3) Transfer upper aqueous layer and organic layer into two separate plastic tubes.
- 4) Repeat steps 1 to 3 with the remaining sample.
- 5) Mix half of the aqueous extract and half of the lipid extract and dry down.
- 6) Reconstitute in 80% Methanol in water (200µl) vortex, sonicate spin down.
- 7) Transfer sample to a 300µl vial with insert and cap for analysis.

Bile acid	Internal standard	Conc./nM
Cholic acid-d4		250
Glycocholic acid-d4		250
Clydoxycholic acid-d4		250
Chenodeoxycholic acid-d4		250
Ursodeoxycholic acid-d4		250

LC-MS Analysis

Samples were analysed using an SRM method on a Thermo™ Quantiva™ coupled to Thermo™ Vanquish™ triple quad mass spectrometer.



Extracted ion chromatogram showing bile acids in a plasma sample with the relevant SRMs.

Column: Waters T3 (100mmx2.1 mm, 1.8 µm).
Mobile phase A: 0.1% acetic acid(aq).
Mobile phase B: 0.1% acetic acid in acetonitrile.
Needle wash: 9:1 MeCN:water.
Injection volume: 5 µl.

No.	Time (min)	Flow (µl/min)	%B	Curve
1	0.000		Equilibration	
2	0.000	0.700	20.0	%
3	0.000		Flow Stop	
4	0.000		Run	
5	0.000	0.700	20.0	%
6	4.300	0.700	40.0	%
7	4.000	0.700	50.0	%
8	5.000	0.700	100.0	%
9	5.100	0.700	20.0	%
10	5.000		Flow Stop	
11	11.000		Stop Run	

Liquid chromatography gradient for analysis of bile acids



References

- Koulman A, Prentice P, Wong MY, Matthews L, Bond N, Eiden M, et al. The development and validation of a fast and robust dried blood spot based lipid profiling method to study infant metabolism. *Metabolomics*.
- Yatsunenko T, Rey FE, Manary MJ, Trehan I, Dominguez-Bello MG, Contreras M, et al. Human gut microbiome viewed across age and geography. *Nature*. 2012;486:222-7.
- Nicholson JK, Holmes E, Kinross J, Burcelin R, Gibson G, Jia W, et al. Host-gut microbiota metabolic interactions. *Science*. 2012;336:1262-7.
- Vrieze A, Out C, Fuentes S, Jonker L, Reuling I, Koorte RS, et al. Impact of oral vancomycin on gut microbiota, bile acid metabolism, and insulin sensitivity. *J Hepatol*. 2014;60:824-31.

Conclusion

This methodology facilitates the easy collection of breast milk samples with minimal intrusiveness, and the requirement of little sample storage space. The method will be applied to gain a clearer understanding of the inter-feed and inter-day variations of the lipid profile of breast milk; obtaining an in-depth analysis of the lipid profile of current marketed formula milks in the UK and in South Africa.

СОДЕРЖАНИЕ

<i>Артемьев Д.А., Козлов С.В.</i> МИКРОСПЕКТРАЛЬНЫЙ АНАЛИЗ КАК СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ АГРУНОЛОЦИТОВ КРС ПРИ РЕТРОВИРУСНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ.....	3
<i>Артемьев Д.А., Козлов С.В.</i> АНАЛИЗ СТРУКТУРНО-МЕТАБОЛИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ АГРУНОЛОЦИТОВ КРС ПРИ РЕТРОВИРУСНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ.....	10
<i>Белякова А.С., Павленко В.В.</i> БИОХИМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ КРОВИ КРЫС ПРИ РАЗЛИЧНЫХ СПОСОБАХ ВОСПРОИЗВЕДЕНИЯ <i>BLV</i> -ИНФЕКЦИИ.....	17
<i>Белякова А.С., Павленко В.В.</i> ОБЩИЙ АНАЛИЗ КРОВИ КРЫС ПРИ РАЗЛИЧНЫХ СПОСОБАХ ВОСПРОИЗВЕДЕНИЯ <i>BLV</i> -ИНФЕКЦИИ.....	24
<i>Белякова А.С.</i> ЦИТОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ <i>BLV</i> -ИНФЕКЦИИ.....	30
<i>Буряков Н.П., Буряков М.А., Касаткина И.А., Смирнова Л.В., Заикина А.С., Ставцев А.Э., Алешин Д.Е.</i> ВЛИЯНИЕ БЕЛКОВОГО КОНЦЕНТРАТА НА ПРОДУКТИВНОСТЬ И ПЕРЕВАРИМОСТЬ ПИТАТЕЛЬНЫХ ВЕЩЕСТВ РАЦИОНОВ КОРОВ.....	35
<i>Волкова Е.Н., Здоровцева А.Г., Галушко А.С., Журавлева А.С., Панова Г.Г.</i> ПОИСК ТЕРМОФИЛЬНЫХ НЕФТЕРАЗРУШАЮЩИХ ПОЧВЕННЫХ БАКТЕРИЙ НА МЕСТЕ НЕСАНКЦИОНИРОВАННОЙ СВАЛКИ НА ОКРАИНЕ Г. САНКТ-ПЕТЕРБУРГА.....	41
<i>Воротников А.П.</i> ИЗУЧЕНИЕ ВОЗМОЖНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ АЗИДА НАТРИЯ ПРИ КОНСТРУИРОВАНИИ СЕЛЕКТИВНОЙ СРЕДЫ ДЛЯ <i>Y.RUSKERI</i>	46
<i>Воротников А.П.</i> ИЗУЧЕНИЕ ВОЗМОЖНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ ДОДЕЦИЛСУЛЬФАТА НАТРИЯ ПРИ КОНСТРУИРОВАНИИ СЕЛЕКТИВНОЙ СРЕДЫ ДЛЯ <i>Y.RUSKERI</i>	51
<i>Галлямова М.Ю., Ишмухаметов К.Т., Фролов А.В., Идрисов А.М., Василевский Н.М.</i> РАДИОЗАЩИТНОЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ КОМПОЗИЦИОННОГО АПИСОГЕННО-МОНТМОРИЛЛОНИТОВОГО ПРЕПАРАТА	54

<i>Зяйнитдинов Д.Р., Евтеев А.В., Блинохватов А.С., Банникова А.В.</i> ХАРАКТЕРИСТИКА ПРЕБИОТИЧНЫХ СВОЙСТВ ЭКСТРАКТОВ КСИЛООЛИГОСАХАРИДОВ ИЗ ОТРУБЕЙ ОВСА.....	59
<i>Кондрашова А.В.</i> ОЧИСТКА СТОЧНЫХ ВОД ПРИРОДНЫМ СОРБЕНТОМ И БИОПРЕПАРАТОМ.....	65
<i>Ловцова Л.Г., Усков К.Ю., Ловцов И.В.</i> СИСТЕМНЫЙ ПОДХОД К ЛЕЧЕНИЮ С/Х ПТИЦЫ ИОНОФОРНЫМИ КОКЦИДИОСТАТИКАМИ СОВМЕСТНО С АНТИБИОТИКАМИ МЕТОДОМ МНОГОМЕРНОЙ РЕГРЕССИИ.....	69
<i>Маниесон В.Э., Иващенко С.В., Фомин А.С., Габалов К.П., Староверов С.А., Дыкман Л.А.</i> ПОЛУЧЕНИЕ КОНЬЮГАТА НАНОЧАСТИЦ ЗОЛОТА С АНТИГЕНОМ <i>YERSINIA ENTEROCOLITICA</i> И ИЗУЧЕНИЕ ЕГО ИММУНОГЕННОГО И ПРОТЕКТИВНОГО ЭФФЕКТА.....	74
<i>Маринченко Т.Е.</i> ОТЕЧЕСТВЕННЫЕ РАЗРАБОТКИ ДЛЯ ПОВЫШЕНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ КОРМЛЕНИЯ.....	80
<i>Мастиленко А.В., Картакаева С.С., Ломакин А.А.</i> РАЗРАБОТКА БИОТЕХНИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ ДЛЯ ИДЕНТИФИКАЦИИ МИКРООРГАНИЗМА <i>BORDETELLA HOLMESII</i>	86
<i>Мастиленко А.В., Картакаева С.С., Ломакин А.А.</i> РАЗРАБОТКА СХЕМЫ ПОЛУЧЕНИЯ БАКТЕРИАЛЬНОЙ МАССЫ МИКРООРГАНИЗМА <i>BORDETELLA HOLMESII</i> ДЛЯ СОЗДАНИЯ ДИАГНОСТИКУМА.....	90
<i>Мастиленко А.В., Ломакин А.А., Васильев Д.А.</i> РАЗРАБОТКА И ПОДБОР ОПТИМАЛЬНОГО ПИТАТЕЛЬНОГО СУБСТРАТА ДЛЯ НАРАБОТКИ БАКТЕРИАЛЬНОЙ МАССЫ ДЛЯ СОЗДАНИЯ ДИАГНОСТИКУМА ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ <i>V.PETRII</i>	94
<i>Мастиленко А.В., Минаева А.Н., Ломакин А.А.</i> ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОТЕОМА <i>BORDETELLA TREMATUM</i> ДЛЯ СОЗДАНИЯ БИОПРЕПАРАТОВ.....	98
<i>Минаева А.Н., Ломакин А.А., Мастиленко А.В.</i> РАЗРАБОТКА ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНЫХ ТЕСТОВ <i>BORDETELLA TREMATUM</i> ДЛЯ СОЗДАНИЯ ДИАГНОСТИКУМОВ УКАЗАННОГО МИКРООРГАНИЗМА.....	102
<i>Муллагулова Э.М.</i> СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА СУЩЕСТВУЮЩИХ ТЕХНОЛОГИЙ ПРОИЗВОДСТВА КЕФИРА.....	106

- Осина Т.С., Древки Я.Б., Древки Б.И., Ларионова О.С.* ИССЛЕДОВАНИЕ ТРАНСФОРМАЦИИ 9-ФЕНИЛ-СИММ. ОКТАГИДРОСЕЛЕНОКСАНТЕНА ПОД ДЕЙСТВИЕМ ФЕРМЕНТОВ НА ПРИМЕРЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ НА НЕГО *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*112
- Осина Т.С., Древки Я.Б., Древки Б.И.* ИССЛЕДОВАНИЕ ТРАНСФОРМАЦИИ 2,4-ДИФЕНИЛ-7,8-БЕНЗО-3,4,4А,5,6,10В-ГЕКСАГИДРО-2Н-СЕЛЕНОХРОМЕНА ПОД ДЕЙСТВИЕМ ФЕРМЕНТОВ НА ПРИМЕРЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* 118
- Пойманов М.А., Шарафутдинова Е.Б.* ВОЗРАСТНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ИНТЕГРАЛЬНЫХ ЛЕЙКОЦИТАРНЫХ ИНДЕКСОВ (ИЛИ) НЕСПЕЦИФИЧЕСКОЙ РЕЗИСТЕНТНОСТИ ОРГАНИЗМА (НРО) У ТЕЛЯТ, ПОЛУЧЕННЫХ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ РАЗНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ ВОСПРОИЗВОДСТВА.....125
- Рыскальева Б.Ж., Васильев Д.А., Феоктистова Н.А., Ляшенко Е.А.* ИССЛЕДОВАНИЕ НЕКОТОРЫХ БИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ БАКТЕРИОФАГОВ *РЕСТОВАСТЕРИУМ САРОТОВОРУМ*133
- Сазонова И.А., Шпунль С.В., Амлян А.А.* ВЛИЯНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ ЛИМОННИКА КИТАЙСКОГО НА КАЧЕСТВО ХЛЕБА БЕЛОГО ПШЕНИЧНОГО.....137
- Сидоров А.А., Григорьев М.Ф., Григорьева А.И.* ВЛИЯНИЕ НЕТРАДИЦИОННЫХ КОРМОВЫХ ДОБАВОК НА ПРОДУКТИВНОСТЬ ЛОШАДЕЙ.....141
- Смирнова К.Ю., Пермякова А.П., Крылова Л.С., Шпакова В.А., Соловьева В.О.* БИОТЕХНОЛОГИЯ ПОЛУЧЕНИЯ СЛОЖНЫХ ЭФИРОВ ЖИРНЫХ КИСЛОТ И ИЗУЧЕНИЕ ИХ ПРОТИВООЖГОВОЙ АКТИВНОСТИ.....147
- Смутнев П.В., Швец Г.В.* ПРИМЕНЕНИЕ НЕТРАДИЦИОННОГО СЫРЬЯ В ПРОИЗВОДСТВЕ ХЛЕБОБУЛОЧНЫХ ИЗДЕЛИЙ.....155
- Солдатов Д.А., Домницкий И.Ю., Козлов С.В., Фомин А.С., Габалов К.П., Волков А.А., Дыкман Л.А., Староверов С.А.* ПОЛУЧЕНИЕ КОНЬЮГАТОВ НАНОЧАСТИЦ СЕЛЕНА С СИЛИМАРИНОМ И ИЗУЧЕНИЕ ИХ ЦИТОТОКСИЧЕСКИХ СВОЙСТВ.....158
- Староверов С.А., Фомин А.С., Козлов С.В., Волков А.А., Козлов Е.С., Габалов К.П., Дыкман Л.А.* ВЫДЕЛЕНИЕ КУЛЬТУРАЛЬНОГО АНТИГЕНА *VABESIA CANIS* И РАЗРАБОТКА ДИАГНОСТИКУМА НА ЕГО ОСНОВЕ.....164

<i>Урядова Г.Т., Фокина Н.А., Карпунина Л.В.</i> ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ЗНАЧИМОСТЬ ЭКЗОПОЛИСАХАРИДОВ МОЛОЧНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ В ОРГАНИЗМЕ ЖИВОТНЫХ.....	170
<i>Хазиев Д.Д., Изимариева О.В., Казанина М.А.</i> ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПШЕНИЧНОЙ МУКИ ПРИ ПРОИЗВОДСТВЕ ВАРЕННЫХ КОЛБАС.....	172
<i>Хакимова А.З., Андреева А.В.</i> ИММУНОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ОРГАНИЗМЕ ТЕЛЯТ ПОД ВЛИЯНИЕМ ПРЕПАРАТА «НОРМОСИЛ»...	178
<i>Халикова О.В.</i> ОПЫТ ВВЕДЕНИЯ ДУБА ЧЕРЕШЧАТОГО (<i>QUERCUS ROBUR</i>) В КУЛЬТУРУ <i>IN VITRO</i> ДЛЯ СОЗДАНИЯ СОРТОВ, УСТОЙЧИВЫХ К МУЧНИСТОЙ РОСЕ И БУРОЙ ПЯТНИСТОСТИ.....	183
<i>Цугкиев Б.Г., Петрукович А.Г., Рамонова Э.В., Кабисов Р.Г., Хозиев А.М.</i> СИСТЕМАТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ МОЛОЧНОКИСЛЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ В КУРТАТИНСКОМ УЩЕЛЬЕ РСО-АЛАНИЯ.....	189
<i>Шульженко Е.А., Вахринева О.В., Фауст Е.А.</i> СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ СЫРОКОПЧЕНОЙ КОЛБАСЫ «ЮБИЛЕЙНАЯ» С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ СТАРТОВОЙ КУЛЬТУРЫ <i>LACTOBACILLUS PLANTARUM</i>	195
<i>Щербакова Н.Н., Хапцев З.Ю., Вениг С.Б., Захаревич А.М., Сержантов В.Г.</i> К ВОПРОСУ О ПЕРСПЕКТИВАХ ИСПОЛЬЗОВАНИИ ГЛАУКОНИТА КАК КОМПЛЕКСНОГО ИСТОЧНИКА МИКРОЭЛЕМЕНТОВ И НОСИТЕЛЯ ИММОБИЛИЗОВАННЫХ ФОРМ БИОФУНГИЦИДОВ.....	201
<i>Ричардсон Л., Уэст Д., Прентис Ф., Данжер Д., Коулман А.</i> DEVELOPING METHODS OF MICROBIOME IDENTIFICATION FOR MIXED (FORMULA AND BREAST) BABIES.....	213
СОДЕРЖАНИЕ	215

Сдано в набор 29.06.20. Дата размещения на сайте 20.07.20. Сайт: [http:// www.sgau.ru](http://www.sgau.ru)
 Формат 60×84 1 1/16. Гарнитура Times New Roman.

Печ. л. 13,6. Объем 3,9 Мбайт

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования
 «Саратовский государственный аграрный университет им. Н.И. Вавилова»

410012, Саратов, Театральная пл., 1.